

**EFFECTO DE LA DISPONIBILIDAD DE OXÍGENO AGUDA Y CRÓNICA SOBRE
LA FISIOLÓGÍA Y METABOLISMO DE JAIBA MARMOLA, *Metacarcinus
edwardsii* (Bell 1835), A DIFERENTES TALLAS.**

MAURICIO ALEXANDER CHAMORRO ARÉVALO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2017**

**EFFECTO DE LA DISPONIBILIDAD DE OXÍGENO AGUDA Y CRÓNICA SOBRE
LA FISIOLÓGÍA Y METABOLISMO DE JAIBA MARMOLA, *Metacarcinus
edwardsii* (Bell 1835), A DIFERENTES TALLAS.**

MAURICIO ALEXANDER CHAMORRO ARÉVALO

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
en Producción Acuícola**

Director

**ÁLVARO BURGOS ARCOS
Zootecnista, M.Sc., PhD**

Codirector

**KURT PASCHKE LA MANNA
Biólogo Marino, M.Sc., PhD**

Asesor estadístico:

**MARCO ANTONIO IMUÉS FIGUEROA
Zoot., Esp., M.Sc**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2017**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones de este trabajo son responsabilidad exclusiva de sus autores.

Artículo 1° del acuerdo No 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Superior de la Universidad de Nariño

NOTA DE ACEPTACIÓN

ÁLVARO BURGOS ARCOS
Zootecnista, M.Sc., PhD
(Director)

KURT PASCHKE LA MANNA
Biólogo Marino, M.Sc., PhD
(Codirector)

MARIO DAVID DELGADO GÓMEZ
Ingeniero en Producción Acuícola Mg_(c)
(Jurado delegado)

GUSTAVO ADOLFO TORRES VALENCIA
Profesional en Acuicultura M.Sc.
(Jurado)

San Juan de Pasto, Enero de 2017.

Las ganas de aprender se ven reflejadas en metas cumplidas, enseñanzas de la vida que quedan enmarcadas en jeroglíficos abstractos, o simples. Todos a disposición de cualquier ser humano con ganas de hacer lo mismo.

Dedico este trabajo a las primeras personas que por mí les brotó una lágrima, las que bajo su valentía me formaron como la persona que ahora soy, mis padres. Y como padre también se lo dedico a mi hija y a mi compañera dadora de vida y alegría de mi ser. También está dedicado a mis hermanos familiares y amigos que en su momento me dieron su apoyo y energía para poder finalizar este proceso.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa los más sinceros agradecimientos:

ÁLVARO BURGOS ARCOS. Zootecnista, M.Sc., PhD Acuaculture Biotechnology, Profesor asociado. Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

KURT PASCHKE LAMANN. Biólogo Marino, M.Sc., PhD Ciencias Naturales, Director e investigador Laboratorio de Ecofisiología de Crustáceos (LECOFIC)

MARIO DAVID DELGADO GÓMEZ. Ingeniero en Producción Acuícola. Mg(c)., Profesor asociado. Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

GUSTAVO ADOLFO TORRES VALENCIA. Profesional en Acuicultura M.Sc., Profesor asociado. Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

PAULINA GEBAUER MERY. Bióloga Marina, PhD Ciencias, con mención en sistemática y ecología, investigadora en Centro de Investigación y Desarrollo en Recursos y Ambientes Costeros, i- mar

RICHARD MARCELO MIRANDA TORRES. Ingeniero pesquero, PhD. Investigador asociado Universidad Austral de Chile.

MARCO ANTONIO IMUÉS FIGUEROA. Zootecnista Esp., M.Sc. Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño

CLAUDIA VERA. Ingeniera en Acuicultura.

MIGUEL HERRERA. Ingeniero en Acuicultura, Asistente de investigación laboratorio LECOFIC

ESTEBAN MONCAYO ERAZO. Ingeniero en Producción Acuícola.

PIEDAD MEJÍA SANTACRUZ. Secretaria Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño.

LUÍS ALFONSO SOLARTE PORTILLA. Zootecnista, Especialista. Secretario Académico de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

AL proyecto HUAM AQ12I0010. “Hacia Una Acuicultura Mundial” (HUAM), del Programa FONDEF, denominado “Paquete Tecnológico: Diversificación Productiva de las APES Mediante Sistema de Cultivos Integrados”, dirigido por el Dr. Richard Miranda Torres. Al programa de Ingeniería en Producción Acuícola, al personal de Laboratorio de Eco fisiología de Crustáceos de la Universidad Austral sede Puerto Montt y a todas las personas que de alguna u otra manera colaboraron en el desarrollo de esta investigación.

CONTENIDO

	Pág.
1.INTRODUCCIÓN	20
2. OBJETIVOS.....	24
2.1 OBJETIVO GENERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	25
3.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	25
3.2 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE	26
3.3 DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	26
3.4 EFECTOS DE HIPOXIA EN EL METABOLISMO	27
3.5 MECANISMOS DE ADAPTACIÓN	28
3.6 DESARROLLO ONTOGÉNICO DE CRUSTÁCEOS	31
4. DISEÑO METODOLÓGICO.....	34
4.1 LOCALIZACIÓN.....	34
4.2 CONDICIÓN EXPERIMENTAL.....	34
4.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
4.3.1 Animales experimentales.....	35
4.3.3 Sistema de inyección de burbujas de nitrógeno.....	37
4.3.4 Exposición aguda a diferentes concentraciones de oxígeno	38
4.3.5 Exposición crónica a diferentes concentraciones de oxígeno.....	39
4.4 RECOLECCIÓN DE DATOS Y MUESTRAS	39
4.5 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS BIOQUÍMICOS	41
4.6 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS Y VARIABLES A EVALUAR.....	42
4.6.2 Consumo de oxígeno.....	42
4.6.3 Determinación de proteínas	43
4.6.4 Determinación de oxihemocianina.	44
4.6.5 Lípidos totales (L).	44
4.6.6 Determinación de Lactato.	45
4.6.7 Actividad enzimática de lactato deshidrogenasa (LDH	45

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
4.7.1. Formulación de hipótesis.:	46
5. RESULTADOS.....	48
5.1 MORTALIDAD	48
5.2 CONSUMO DE OXÍGENO.....	48
5.2.1 Consumo de oxígeno exposición aguda	48
5.2.2 Consumo de oxígeno exposición crónica.....	49
5.3 PROTEÍNAS	52
5.3.1 Proteínas hemolinfa exposición aguda	52
5.3.2 Proteínas hemolinfa exposición crónica.....	52
5.3.3 Proteínas hepatopáncreas exposición aguda	54
5.3.4 Proteínas hepatopáncreas exposición crónica.....	54
5.4 ACTIVIDAD OXIHEMOCIANINA	57
5.4.1 Oxihemocianina exposición aguda	57
5.4.2 Oxihemocianina exposición crónica.....	57
5.5 LÍPIDOS.....	60
5.5.1 Lípidos hepatopáncreas exposición aguda.....	60
5.5.2 Lípidos hepatopáncreas exposición crónica	60
5.6 LACTATO	63
5.6.1 Lactato hemolinfa exposición aguda.....	63
5.6.2 Lactato hemolinfa exposición crónica	63
5.6.3 Lactato hepatopáncreas exposición aguda.....	66
5.6.4 Lactato hepatopáncreas exposición crónica	66
5.7 LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)	68
5.7.1 Actividad LDH en hemolinfa exposición aguda	68
5.7.2 Actividad LDH en hemolinfa exposición crónica	68
5.7.3 Actividad LDH en hepatopáncreas exposición aguda.....	71
5.7.4 Actividad LDH en hepatopáncreas exposición crónica	72
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	74
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	84
7.1 CONCLUSIONES	84

7.2 RECOMENDACIONES.....85
BIBLIOGRAFÍA.....88
ANEXOS.....95

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplar adulto de Jaiba Marmola (<i>M. edwardsii</i>).	25
Figura 2. Ubicación Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt, Laboratorios LECOFIC.	34
Figura 3. Cámaras respirométricas (A 20L y B 0,25L)	37
Figura 4. Sistema de inyección de nitrógeno gaseoso.....	37
Figura 5. Consumo de oxígeno jaibas <30 y 30-40 mm	38
Figura 6. Consumo de oxígeno jaibas 80-100 y 110 -120 mm	39
Figura 7. Mediciones de peso y longitud.....	40
Figura 8. Extracción de muestras hemolinfa y hepatopáncreas.	41
Figura 9. Preparación de muestras(A) y lectura de las muestras analizadas (B), laboratorio LECOFIC, Universidad Austral de Chile.	42
Figura 10. Equipo para la medición de oxígeno Presens, Modelo MICROX Tx-3.	43
Figura 11. Consumo de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$] en exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de <i>M. edwardsii</i> a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$].....	51
Figura 12. Concentración de la proteína en hemolinfa [$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de <i>M. edwardsii</i> a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$].....	53
Figura 13. Concentración de la proteína en hepatopáncreas [$\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de <i>M. edwardsii</i> a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$].....	56
Figura 14. Actividad de la oxihemocianina [$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de <i>M. edwardsii</i> a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$].....	59
Figura 15. Concentración de lípidos en hepatopáncreas [$\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de <i>M. edwardsii</i> a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$].....	62

Figura 16. Concentración de lactato en hemolinfa [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].65

Figura 17. Concentración de lactato en hepatopáncreas [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].67

Figura 18. Actividad de LDH en hemolinfa [$\text{U}\cdot\text{mg P}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].70

Figura 19. Actividad de LDH en hepatopáncreas [$\text{U}\cdot\text{mg P}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].73

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Posibles combinaciones entre los factores Talla y Concentración de oxígeno	35
Tabla 2. Mortalidad total para los tratamientos de exposición aguda y crónica para las diferentes concentraciones de oxígeno.....	48
Tabla 3. Datos promedio \pm SD consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$) exposición aguda.....	95
Tabla 4. Datos promedio \pm SD consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$) exposición crónica	95
Tabla 5. Datos promedio \pm SD proteína hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición aguda.....	95
Tabla 6. Datos promedio \pm SD proteína hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición crónica ..	95
Tabla 7. Datos promedio \pm SD proteína hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición aguda.....	96
Tabla 8. Datos promedio \pm SD proteína hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición crónica	96
Tabla 9. Datos promedio \pm SD oxihemocianina ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) exposición aguda.....	96
Tabla 10. Datos promedio \pm SD oxihemocianina ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) exposición crónica ..	96
Tabla 11. Datos promedio \pm SD lípidos hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición aguda.....	97
Tabla 12. Datos promedio \pm SD lípidos hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición crónica	97
Tabla 13. Datos promedio \pm SD lactato hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición aguda ...	97
Tabla 14. Datos promedio \pm SD lactato hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición crónica..	97
Tabla 15. Datos promedio \pm SD lactato hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición aguda.....	97
Tabla 16. Datos promedio \pm SD lactato hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición crónica	98
Tabla 17. Datos promedio \pm SD lactato deshidrogenasa (LDH) hemolinfa ($\text{U} \cdot \text{mg} \cdot \text{P}^{-1}$) exposición aguda	98

Tabla 18. Datos promedio \pm SD lactato deshidrogenasa (LDH) hemolinfa ($U \cdot mg P^{-1}$) exposición crónica.....	98
Tabla 19. Datos promedio \pm SD lactato deshidrogenasa (LDH) hepatopáncreas ($U \cdot mg P^{-1}$) exposición aguda	98
Tabla 20. Datos promedio \pm SD lactato deshidrogenasa (LDH) hepatopáncreas ($U \cdot mg P^{-1}$) exposición crónica.....	99

GLOSARIO

DISPONIBILIDAD DE OXÍGENO: se refiere a la cantidad de oxígeno presente disuelto en ese ambiente.

HIPOXIA: es una disminución de la presión parcial de oxígeno en fase gaseosa o de la tensión de esta en fase líquida. Provocando la disminución del oxígeno disponible para las células del organismo, produciéndose alteraciones en su normal funcionamiento.

HIPOXIA AGUDA: es una exposición puntual a la hipoxia, los sujetos se exponen un corto período de tiempo (minutos, horas o pocos días).

HIPOXIA CRÓNICA: cuando la exposición a la hipoxia es prolongada y se inducen unas respuestas de aclimatación compensatoria.

HEMOLINFA: tejido líquido que tienen los invertebrados y es homólogo a la sangre y la linfa de vertebrados. La hemolinfa cumple las funciones similares a las que cumple la sangre de vertebrados, pero en invertebrados.

HEPATOPÁNCREAS: órgano del aparato digestivo de artrópodos y moluscos. Realiza las mismas funciones que en los mamíferos realizan el páncreas y el hígado.

LÍPIDOS TOTALES: es la suma del colesterol en las partículas de LDL, HDL y triglicéridos.

LACTATO: sustancia producida en el interior del organismo a través de la oxidación de la glucosa en la célula y que afecta de manera activa al ejercicio muscular.

LACTATO DESHIDROGENASA (LDH): enzima que cataliza la conversión de piruvato a lactato, principal producto final de la hipoxia en crustáceos.

NORMOXIA: es la situación normal donde hay una relación equilibrada entre la aportación de oxígeno y la demanda o necesidad de esta.

OXIHEMOCIANINA: proteína presente en la sangre de algunos crustáceos, arácnidos y moluscos que se encarga del transporte del oxígeno.

PROTEÍNAS TOTALES: son un conjunto de compuestos orgánicos macromoleculares, de un peso molecular elevado.

RESUMEN

Jaiba marmola, *Metacarcinus edwardsii* es un género de cangrejos anteriormente incluida en el género *Cancer*, de gran tamaño máximo 22 cm de cefalotórax. Se distribuye entre el intermareal y submareal en profundidad de 0 a 70 metros. Posee una distribución latitudinal que abarca gran parte de las costas del Océano Pacífico oriental, desde Guayaquil sur de Ecuador, hasta estrecho de Magallanes, esta especie presenta alto valor comercial. Por su amplia distribución se ha visto afectado por la industria pesquera y por presencia de bajas de oxígeno sobre los ambientes marinos costeros de todo el mundo que se han venido presentando por factores ambientales y por factores antropogénicos. Afectando la disponibilidad de oxígeno disuelto (DO) creando zonas con mayor duración y severidad de hipoxia, haciéndose más frecuentes este tipo de zonas.

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de disponibilidad de oxígeno aguda (24 horas) y crónica (7 días) sobre la fisiología y metabolismo de *M. edwardsii* en diferentes tallas. Se evaluó el factor talla con los siguientes niveles (<30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y el factor concentración de oxígeno con los niveles (1, 2, 4, 6 y 9 mgO₂*L⁻¹) bajo condiciones de laboratorio. Se utilizaron 100 animales distribuidos en grupos de cinco animales con la misma talla aproximadamente para cada tipo de exposición. Para determinar consumo de oxígeno se utilizó cámaras respirométricas de 20 y 0,25 L. Se midió el consumo de oxígeno para todas las concentraciones en exposición aguda y crítica en flujo abierto, se determinó la tención crítica de oxígeno (Pc) y para determinar el efecto de la DO en el metabolismo se recolectó hemolinfa y tejido de hepatopáncreas para análisis bioquímico de: oxihemocianina, Lactato deshidrogenasa (LDH), lactato, proteínas (P), lípidos totales (L).

Los resultados encontrados mostraron que tanto las jaibas adultas como las jaibas juveniles al ser expuestas a una disminución en la concentración de oxígeno todas estas reducen en alguna medida el metabolismo frente a la menor DO para exposiciones agudas y crónicas, todas las tallas evaluadas presentan punto crítico (Pc) entre 1 y 2 mgO₂*L⁻¹.

Las tallas de jaiba experimentadas (<30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) posee la capacidad para realizar el metabolismo anaeróbico en exposición aguda. En exposición crónica, el bajo contenido de lactato en hemolinfa y al no encontrarse diferencias en el análisis de lactato en hepatopáncreas para las tallas 80-100 y 110-120 mm demuestra que este no se llevó a cabo. Sin embargo, para tallas <30-30-40 mm se encontró bajo contenido de lactato en hemolinfa en exposición crónica, pero el aumento de lactato en hepatopáncreas para estas tallas demuestra que el metabolismo anaeróbico se llevó a cabo como mecanismo a la baja disponibilidad de oxígeno.

Se determinó que los individuos jóvenes son más sensibles a bajas en la disponibilidad de oxígeno en el medio. *M. edwardsii* durante su ciclo de vida tienden disminuir los efectos de la hipoxia, regulándolos total o parcialmente durante los periodos de exposición y DO. Exposiciones crónicas necesita de mecanismos más eficientes para la obtención de energía para hacer frente a bajas en la DO. Estos mecanismos se desarrollan de mejor manera a largo plazo a través de cambios relevantes en la síntesis de enzimas y metabolitos, además los mecanismos de cambio están ligados al medio donde se desarrolla la etapa del ciclo de vida y a las necesidades fisiológicas, que de una u otra manera intervienen en los mecanismos de adaptación.

ABSTRACT

Jaiba marmola, *Metacarcinus edwardsii* is a genus of crabs previously included in the genus *Cancer*, large size maximum 22 cm of cephalothorax. It is distributed between the intertidal and subtidal depths from 0 to 70 meters. It has a latitudinal distribution that covers much of the coasts of the eastern Pacific Ocean, from Guayaquil to the south of Ecuador to the Strait of Magellan, this species has a high commercial value. Due to its wide distribution, it has been affected by the fishing industry and by the presence of oxygen depletion on coastal marine environments around the world that have been presented by environmental factors and by anthropogenic factors. Affecting the availability of dissolved oxygen creating zones with longer duration and hypoxia severity, becoming more frequent this type of zones.

The objective of this research is to evaluate the effect of acute (24 hours) and chronic (7 days) oxygen availability on the physiology and metabolism of *M. edwardsii* in different sizes. The size factor was evaluated with the following levels (<30, 30-40, 80-100 and 110-120mm) and the oxygen concentration factor with the levels (1, 2, 4, 6 and 9 mgO₂ * L⁻¹) Under laboratory conditions. We used 100 animals distributed in groups of five animals of the same size approximately for each type of exposure. Oxygen consumption was measured for all concentrations in acute and critical exposure in open flow, critical oxygen demand (P_c) was determined and to determine the oxygen consumption. Effect of DO on metabolism hemolymph and hepatopancreas tissue were collected for biochemical analysis of oxyhemocyanin, lactate dehydrogenase (LDH), lactate, proteins (P), total lipids (L).

The results showed that both adult crabs and juvenile crabs when exposed to a decrease in oxygen concentration all reduce to a certain extent the metabolism compared to lower DO for acute and chronic exposures, all sizes evaluated present a critical point (P_c) between 1 and 2 mgO₂ * L⁻¹.

Experienced cage sizes (<30, 30-40, 80-100 and 110-120 mm) have the ability to perform anaerobic metabolism in acute exposure. In chronic exposure, the low lactate content in hemolymph and, because no differences were found in the lactate analysis in hepatopancreas for sizes 80-100 and 110-120 mm, showed that this was not carried out. However, for sizes <30 -30-40 mm, low levels of lactate were found in hemolymph in chronic exposure, but the lactate increase in hepatopancreas for these sizes shows that anaerobic metabolism was performed as a mechanism for the low availability of oxygen.

It was determined that young individuals are more sensitive to low oxygen availability in the medium. *M. edwardsii* during their life cycle tend to diminish the effects of hypoxia, regulating them totally or partially during periods of exposure and DO. Chronic exposures need more efficient mechanisms for obtaining energy to cope with falls in the DO. These mechanisms are best developed in the long

term through relevant changes in the synthesis of enzymes and metabolites, in addition the mechanisms of change are linked to the environment where the stage of the life cycle is developed and the physiological needs, Another way they intervene in the mechanisms of adaptation.

1. INTRODUCCIÓN

Según la FAO: “La acuicultura es una de los sectores de producción dentro de ciencias agropecuarias que tiene mayor desarrollo en porcentaje de producción anual en aumento a diferencia de otros sectores”¹.

En Chile se presenta la mayor explotación acuícola en Sur América en lo que concierne al cultivo de salmónidos, mitílidos y explotación pesquera tanto de peces como de crustáceos. Uno de los recursos pesqueros que corresponde a crustáceos es la Jaiba Marmola (*M. edwardsii*) siendo una especie de importancia acuícola comercial, sustenta una de las principales pesquerías de crustáceos de Chile esta especie tiene un amplio rango de distribución latitudinal, habita sobre fondos rocosos, arenosos y de arena-fango donde puede ser encontrado enterrado o semienterrado.

La explotación de este recurso en Chile se posiciona en el cuarto lugar como exportador a los EE.UU. Solo superado por China, mientras que por orden de importancia el año 2007 fueron: Canadá, China, Tailandia, y Chile. “Según el diagnóstico de algunas empresas de décima región de los lagos, en Chile la escasa diversificación de especies a cultivar, sustentada en un 97% por la industria salmonera y mitilicultura, desarrolladas en un 63% y 99.9% en la región de Los Lagos, respectivamente”².

Según la FAO:

Los mitilicultores de acuicultura de pequeña escala (APE), generan el 35% de la producción total de mitílidos, caracterizados por bajos capital de trabajo, tecnologías limitadas, escasa calificación de mano de obra, informalidad en el ejercicio de la actividad, predominado significativamente por cultivos extensivos, donde el 88% son mono cultivadores además de pesca extractiva a través de artes de pesca tradicionales³.

De las 141 especies de Brachyuros registradas en sus costas chilenas, 9 son extraídas comercialmente. Todas incluidas en la pesquería dentro del recurso

¹ ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). FAO 2012. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s.pdf

² ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en Chile. Chile: Iker Uriarte Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile CIEN Austral Puerto Montt, Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. FAO. 2010. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014]. Disponible en internet: [file:///C:/Users/MUNDO%20SISTEMAS/Downloads/146853%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/MUNDO%20SISTEMAS/Downloads/146853%20(3).pdf)

³ ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA) Óp. Cit.

llamado “Jaiba”. Retamal expresa que: “Se destacan cuatro especies pertenecientes a la Familia Cancridae, principalmente por su gran tamaño, alta abundancia y amplia distribución, en el caso de *M. edwardsii*.”⁴

Este recurso, históricamente, ha sido extraído sólo por el sector pesquero artesanal, razón por la cual no existe a nivel nacional un levantamiento completo de los datos de captura, quedando de esta manera subestimados los volúmenes de desembarco que son entregados anualmente por el “Servicio Nacional de Pesca en sus Anuarios Estadísticos”⁵. De acuerdo con SERNAPESCA: “ los datos de desembarque de crustáceos disponibles indican que el recurso “Jaiba” es el producto con mayor porcentaje de desembarco en los últimos años (2005-2011) seguido por *Cervimunida Johni* (Porter, 1903) (Langostino Amarillo) y *Heterocarpus reedi* (Bahamonde, 1955) (Camarón Nailon)”⁶.

Según el informe técnico pesquero (IFOP- 2006): “la extracción de jaibas es un 42% del total de crustáceos capturados y se concentra desde la IV a la X Región, siendo *M. edwardsii* la especie de mayor captura, correspondiendo a un 86% del total de jaibas extraídas”⁷. Al igual que lo ocurrido con otros recursos bentónicos, la presión extractiva sobre *M. edwardsii* es el resultado de una continua demanda de materia prima generada por las empresas procesadoras. Esto ha llevado a una franca y sostenida disminución de los tamaños de captura pasando al comercio tallas inferiores a las permitidas con gran variabilidad de ellas.

Fuentes afirma:

Tanto la amplia distribución latitudinal como la diversidad de sustratos donde habita, exponen a la especie a variaciones en factores ambientales que incluyen temperatura, disponibilidad de oxígeno (OD), entre otros. Por su hábitat, también está expuesta a eventos de hipoxia de origen antropogénico producto de la actividad acuicultora, portuaria, cambio climático, entre otros. Por lo general, en estos ecosistemas se desarrolla una gran actividad antropogénica a través de pesquerías, acuicultura⁸.

⁴ RETAMAL, M. et al. Estado actual del conocimiento de las principales especies de Jaibas a nivel nacional. Bogotá: Fondo Investigación Pesquera, Informes Técnicos FIP, 2009. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: <http://www.fip.cl/FIP/Archivos/pdf/informes/inffinal%202007-39.pdf>

⁵ SERVICIO NACIONAL DE PESCA. Anuario estadístico de pesca. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. Sección Desembarques y acuicultura. Bogotá: SERNAPESCA, 2011. pp. 1-10.

⁶ *Ibíd.*, p. 8.

⁷ INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP). Monitoreo de la pesquería nacional de jaibas en las X y XI regiones. Proyecto FIP N° 2004-16. s.l.: Valparaíso, 2006. p. 275.

Para esta investigación teniendo en cuenta que esta especie es sometida a una extracción pesquera permanente, detectar la utilización de áreas de crianza y su estudio es de suma relevancia ya que la productividad futura de las poblaciones depende del desempeño de estas áreas. Es por eso que el estudio de esta especie como alternativa de cultivo, aprovechando desechos orgánicos e inorgánicos producidos por otros cultivos acuícolas optimiza el espacio físico disponible dentro de cada lugar de cultivo promoviendo la diversificación acuícola, generando un ingreso económico alternativo para este sector y reduciendo la problemática ambiental que actualmente se encuentra en el sector, (sobreproducción, reducción de la demanda y la sobre explotación del recurso marino).

Teniendo en cuenta lo anterior, uno de los objetivos del Proyecto HUAM AQ12I0010. “Hacia Una Acuicultura Mundial” (HUAM) es: “La aplicación de alternativas de cultivo como la acuicultura multitrofica integrada (AMTI), que es una práctica en la que los desechos de una especie son reciclados para convertirse en aportes (fertilizantes, alimentos) para otra. Práctica que para el caso de jaiba marmola (*M. Edwardsii*), permitiría al miticultor aumentar su competitividad utilizando cultivos integrados en sus unidades productivas”⁹.

Según Aguilar et al: “Para los crustáceos la demografía puede ser influenciada tanto por factores ambientales (temperatura, profundidad, sustrato), como por los atributos de los individuos que componen la población, tales como la frecuencia de ecdisis y la condición reproductiva”¹⁰. Para Grantham et al: “En el ambiente marino, la disponibilidad de oxígeno (OD) es altamente variable tanto espacial como temporalmente. Eventos de hipoxia son frecuentes y varían en intensidad y duración”¹¹.

Morales expresa: “Estos se pueden relacionar con zonas de surgencia, siendo afectados por oscilaciones interanuales como el ENSO (fenómeno del Niño Oscilación Sur), y también como resultado de la eutrofización costera (por acción

⁸ FUENTES, Juan Pablo. Distribución espacio temporal de *Metacarcinus edwardsii* (Bell 1835) (Decápoda: *Brachyura*) en el sistema estuarino de los Ríos Valdivia y Tornagaleones. [Tesis de Grado de Licenciado en Biología Marina y Título Profesional de Biólogo Marino]. Chile: Valdivia, 2013. p.10.

⁹ Proyecto HUAM AQ12I0010. “Hacia Una Acuicultura Mundial” (HUAM), del Programa FONDEF, denominado “Paquete Tecnológico: Diversificación Productiva de las APES Mediante Sistema de Cultivos Integrados”, Chile: Región de los Lagos, 2013. p. 25.

¹⁰ AGUILAR, R. et al. The timing and route of movement and migration of postcopulatory female blue crabs, *Callinectes sapidus* Rathbun, from the upper Chesapeake Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 2005. 319 (1): 130.

¹¹ GRANTHAM, B.A. et al. Upwelling-driven nearshore hypoxia signals ecosystem and oceanographic changes in the northeast Pacific. *Nature*: 2004. 429 (2): 749-754.

antrópica) y el cambio climático”¹². Según Turner: “El último puede explicar los extensos eventos de hipoxia que ocurren en California, que dura alrededor de 5 meses y se encuentra en aguas poco profundas (60 m de profundidad)”¹³.

Debido a lo anterior Chan et al. Afirman que: “Para enfrentar estos eventos de hipoxia algunos invertebrados marinos pueden mantener relativamente constante su tasa metabólica (oxireguladores) dentro de un rango y otros la reducen en forma proporcional al PO₂ del medio (oxíconformadores)”¹⁴. Según Hochachka, and Somero, “La supresión metabólica (reducción de la tasa metabólica) se ha descrito como un mecanismo eficiente de ahorro de energía durante la hipoxia y se puede lograr de varias formas como por ejemplo la disminución en la síntesis y degradación de proteínas debido al alto costo en ATP que conlleva”¹⁵.

Dado a la importancia del efecto ambiente sobre la fisiología del individuo, Levin expresa que: “Teniendo en cuenta que la macrofauna y megafauna a menudo presentan densas segregaciones en el OML (límite mínimo de oxígeno) y bordes costeros debido a sedimentos orgánicos de estas regiones, el estudio de las respuestas fisiológicas de los organismos bentónicos aclimatados bajo condiciones hipóxicas son importantes para conocer cómo los ambientes adversos modulan su fisiología”¹⁶.

¹² MORALES, C.E; HORMAZÁBAL, S.E. and BLANCO, J.L. Interannual variability in the mesoscale distribution of the depth of the upper boundary of the oxygen minimum layer off northern Chile (18 24 S): Implications for the pelagic system and biogeochemical cycling. *J. Mar. Res.* 57. 1999. 2 (1): 909- 932.

¹³ TURNER, R.E; RABALAIS, N.N. and JUSTIC, D. Gulf of Mexico hypoxia: alternate states and a legacy. *Environ. Sci. Technol.* 2008. 42 (1): 2323–2327.

¹⁴ CHAN, F. et al. Emergence of Anoxia in the California Current Large Marine Ecosystem. *Science.* 2008. 319 (5865): 920.

¹⁵ HOCHACHKA, P.W. and SOMERO, G.N. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. New York: Oxford University Press, 2002. p.40.

¹⁶ LEVIN, L.A. Oxygen minimum zone benthos: adaptation and community response to hypoxia. *Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev.* 2003. 41(1): 1–45.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de disponibilidad de oxígeno aguda y crónica sobre la fisiología y metabolismo de la jaiba marmola (*M. edwardsii*) en diferentes tallas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar el efecto de la disponibilidad de oxígeno a diferentes concentraciones a través de su consumo en $\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{g}$ en jaiba marmola (*M.edwardsii*).
- ✓ Determinar los mecanismos de reacción metabólica bajo diferentes concentraciones de oxígeno a través de análisis de metabolitos; Oxihemocianina, Lactato deshidrogenasa (LDH), Lactato, Proteínas y Lípidos.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Según Fuentes: “*Metacarcinus* es un género de cangrejos Anteriormente incluida en el género *Cancer*. El estado taxonómico de las especies pertenecientes a la Familia Cancridae ha estado sujeto a fuertes modificaciones en el último periodo”.¹⁷

Figura 1. Ejemplar adulto de Jaiba Marmola (*M. edwardsii*).



Fuente: INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP), Óp. cit., p 1.

Reino: Animalia
Filo: Arthropoda
Subphylum: crustáceos
Clase: Malacostraca
Orden: Decapoda
Suborden: Brachyura
Familia: Cancridae
Género: *Metacarcinus*
Especie: *edwardsii*
N.C: *Metacarcinus edwardsii* (Bell, 1835) [*Cancer*]

¹⁷ FUENTES, Óp. cit., p 15.

3.2 BIOLOGÍA DE LA ESPECIE

Según Centro Regional de Estudios y Educación Ambiental (CREA):

De caparazón convexo ligeramente rugoso, excepto los bordes marginales que son planos, región cardíaca muy bien delimitada, superficie ligeramente rugosa, márgenes laterales multidentados o lobulados con nueve dientes separados por estrechas fisuras, tres dientes frontales anchos y cortos, el central más pequeño, pereiópodos ligeramente largos desnudos con gránulos gruesos, dactilopoditos curvos y gruesos y tamaño máximo 22 cm. de cefalotórax¹⁸.

Según el Fondo de Investigación Pesquera: “El color del dorso y de las patas es rojo violáceo en el lado dorsal y amarillento en el lado ventral. Una de las claves principales para identificación de esta especie es la presencia de 14 a 15 dientes laterales”¹⁹.

3.3 DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

Parar Zagal y Hermosilla “Se distribuye entre el intermareal y submareal, en profundidad de 0 a 70 metros. *M. edwardsii* posee una distribución latitudinal que abarca gran parte de las costas del Océano Pacífico oriental, desde Guayaquil, al sur de Ecuador, hasta estrecho de Magallanes (chile)”²⁰.

Zagal y Hermosilla expresan que:

Habita sobre fondos rocosos, arenosos y de arena-fango en la zona submareal. Se ha detectado su presencia hasta una profundidad de hasta 80 metros. En la décima región, los antecedentes disponibles indican que esta jaiba es especialmente abundante en el mar interior de Calbuco y también en la zona estuarina de Maullín; en la zona costera de Puerto Montt esta especie presenta una batimetría que va desde los 5 metros a los 60 metros de profundidad²¹.

¹⁸ CENTRO REGIONAL DE ESTUDIOS Y EDUCACIÓN AMBIENTAL. CREA. Proyecto Mecesup Ant0003 “Incorporación de Valores de Desarrollo Sustentable en los Profesionales que forma la Universidad de Antofagasta”. Chile: Guía de biodiversidad, 2013. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: <http://www.uantof.cl/crea/guia%20crustaceos.pdf>.

¹⁹ FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA. Estado actual del conocimiento de las principales especies de jaibas a nivel nacional. FIP. Chile: Universidad de Concepción, Departamento de Oceanografía, 2007. p. 233.

²⁰ ZAGAL, Carolina y HERMOSILLA, Consuelo. Guía de invertebrados marinos del sur Chile. Chile: Fantástico Sur Birding Ltda, 2007. p.175.

²¹ Ibid., p. 181.

3.4 EFECTOS DE HIPOXIA EN EL METABOLISMO

Wolvekamp, & Waterman, Afirman que: “El metabolismo intermediario en crustáceos no difiere en sus principales componentes y mecanismos de la de la mayoría de los otros organismos, es decir, gran parte de los procesos metabólicos dependen del oxígeno”²². Es por esto que bajo condiciones de hipoxia una de las primeras estrategias para la supervivencia, es reducir el gasto energético a través de la depresión del metabolismo. Esto puede ser mediado a través de una reducción en el metabolismo general, regulación de la síntesis de proteínas, disminución y/o modificación de ciertas enzimas reguladoras en las vías aeróbicas y anaeróbicas. Según Taylor “También se observa un aumento en la concentración de lactato lo que sugiere que tanto el lactato y el CO₂ son responsables del cambio de pH. En los crustáceos adultos, la síntesis de hemocianina se incrementa como resultado de la hipoxia en cangrejo verde”²³. DE Wachter; Sartoris, and Pörtner, afirman que: “Además el incremento en el lactato en los crustáceos también se reconoce como un mecanismo de señalización bajo condiciones de estrés”²⁴.

En los animales la vía anaerobia más común es el glucólisis anaeróbico con deshidrogenasas de lactato deshidrogenasas como terminales y lactato como producto final. Adicionalmente a los hidratos de carbono algunos aminoácidos pueden ser fermentados, por ejemplo, el aspartato, siendo fermentado a succinato o propionato en algunos moluscos).

Hochachka, & Somero afirma que:

Los lípidos son una fuente importante de energía, pero pueden ser tan reducidas que no pueden ser fermentado en células animales (presumiblemente no hay oxidante con "poder" suficiente, o no hay una afinidad electrónica lo suficientemente alta en receptores de electrones orgánicos tales como piruvato para fermentar grasas a nivel molecular²⁵.

²² WOLVEKAMP, H. & WATERMAN, T. Respiration. In *The Physiology of Crustacea*. Volume I Metabolism and Growth (ed. T. H. Waterman). New York: Academic Press, 1960. pp. 35–100.

²³ TAYLOR, H.H. and ANSTISS, J.M. Copper and haemocyanin dynamics in aquatic invertebrates. *Mar. Freshw. Res.* 48, 1999. 1(2): 889–897.

²⁴ DE WACHTER, B; SARTORIS, F.J. and PÖRTNER, H. The anaerobic end product lactate has a behavioural and metabolic signalling function in the shore crab *Carcinus maenas*. *En: J. Exp. Biol.* 1997. 200 (2): 1015–1024.

²⁵ HOCHACHKA, & SOMERO, Óp. cit., p. 137.

Semenza afirma:

El factor inducible por hipoxia (HIF), es altamente conservado en los animales artrópodos a vertebrados, juega un papel central en la adaptación a la baja disponibilidad de oxígeno, HIF regula la transcripción de varios genes implicados y en el control de las respuestas sistémicas a la hipoxia a corto y largo plazo, tales como la glucólisis, la eritropoyesis, la respiración, la vasodilatación y angiogénesis en vertebrados e invertebrados²⁶.

Según LI, and Brouwer, “Hay por lo menos cuatro isoformas de subunidad HIF- α 1-4 en los vertebrados, pero sólo uno se ha identificado en los crustáceos. En condiciones de normoxia, HIF- α se degrada rápidamente a través de la vía proteosoma, pero bajo condiciones de hipoxia esta subunidad se estabiliza y se une con HIF- β permitiendo así una específica orientación de genes en el núcleo”²⁷.

Para Blouin y otros “El HIF puede funcionar para modular múltiples vías de respuesta al estrés en tanto a hipoxia y normoxia”²⁸. Recientemente, analizando la respuesta prolongada (12 días) de hipoxia sobre rendimiento de hemocianina (Hc), en *Cancer magister* mostró una disminución inicial en la concentración de Hc hasta los 4-5 primeros días atribuibles a la hipoxia inducida por el ayuno, y sugieren que HIF-1 podrían estar involucrados en la regulación Hc dependiente de oxígeno en la exposición de largo tiempo también concluyó que la proteína respiratoria crustáceo, Hc, es sensible a la hipoxia en *C. magister*, y proponer, tras el descubrimiento de un homólogo de HIF-1 α en *C. magister* GenBank DQ535030 (adhesión), que HIF-1 podría estar involucrado en el oxígeno-regulación Hc dependiente y que los análisis de HIF-1 α expresión de la proteína en estos cangrejos pueden demostrar ser un biomarcador útil para el estrés hipóxico en las poblaciones de *C. magister* experimentando bajas tensiones de oxígeno en su hábitat natural”.

3.5 MECANISMOS DE ADAPTACIÓN

Las adaptaciones de los animales acuáticos pelágicos a las capas mínimas de oxígeno fueron revisadas por Childress y Seibel (1998). Se postula que, dado el mayor rendimiento energético de metabolismo aeróbico, sería de esperar que no

²⁶ SEMENZA, G.L. Hypoxia-inducible factor 1 and the molecular physiology of oxygen homeostasis. *J Lab Clin. En: Rev Med.* 1998. 131 (2). 207–214.

²⁷ LI, T. and BROUWER, M. Hypoxia-inducible factor, gsHIF, of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*: molecular characterization and response to hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.* 2007. 147 (1): 11–19.

²⁸ BLOUIN, C.C., Pagé; SOUCY, G.M. and D.E, R. Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor-1 α . *Rev. Blood.* 2004. 103 (1): 1124– 1130.

habría una fuerte selección para los mecanismos para tomar eficazmente oxígeno de las presiones parciales bajas del ambiente, sin embargo, en algún punto, el gradiente de oxígeno disponible sería demasiado pequeño para apoyar totalmente el metabolismo aeróbico, incluso con mecanismos de captación altamente desarrollados, y esto podría dar lugar, ya sea en un cambio de metabolismo anaeróbico o de una reducción en las tasas metabólicas. Por lo tanto, los modos de adaptación a las concentraciones mínimas de oxígeno que han sido propuestas por Childress y Seibel son los siguientes:

- ✓ “Las capacidades ventilatorias mejoradas.
- ✓ Mayor porcentaje de eliminación de O₂ del flujo ventilatorio.
- ✓ Grandes superficies aéreas branquiales.
- ✓ Las distancias de difusión corta desde el agua a la sangre.
- ✓ Las proteínas respiratorias hemocianina con una muy alta afinidad por el O₂, alta cooperatividad y grandes efectos de Bohr²⁹”.

Según Childress y Seibel:

En resumen, dada la presencia estable de muy bajos niveles de O₂, las adaptaciones primarias de animales pelágicos que viven dentro de ellos son los que apoyan el metabolismo aeróbico dando a los animales notables habilidades para extraer O₂ del agua. Estas capacidades son notablemente mejores que las de animales adaptados a entornos hipóxicos inestables, tales como marismas intermareales, mientras que los últimos animales dependen en un grado mucho mayor en la anaerobiosis y tal vez en la supresión metabólica de sobrevivir a períodos de anoxia³⁰.

Además, Levin afirmó que:

La respiración anaerobia parece utilizarse principalmente por la migración vertical de plancton que puedan pagar sus deudas de oxígeno incurridos durante las migraciones diarias a aguas con mayor oxigenación. También declaró que, en general, todas estas posibles adaptaciones son poco estudiadas en especies bentónicas, sin embargo, hay pruebas de que bentos OML también maximizan la absorción de oxígeno a través de la adaptación morfológica y fisiológica³¹.

Según Díaz y Rosenberg:

Animales de aguas poco profundas marinas pueden sufrir hipoxia en forma permanente, como ocurre en los cuerpos de agua cerrados sujetos a eutrofización

²⁹ CHILDRESS, J.J. and SEIBEL, B.A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. *Rev. J. Exp. Biol.* 1998. 201(1): 1223–1232.

³⁰ *Ibid.*, p.1227.

³¹ LEVIN, *Op. cit.*, p. 35.

extrema (por ejemplo, el Mar Báltico y el Mar Negro), pero más a menudo la hipoxia ambiental superficial será estacional, episódica o corto plazo, lo que resulta cuando los nutrientes o la carga de aguas residuales, el drenaje, la temperatura y los ciclos bióticos interactúan (por ejemplo, Golfo de México, la Bahía de Chesapeake, aguas escandinavas)³².

Para Gordon: “Los ciclos de hipoxia también pueden ocurrir con mayor frecuencia en hábitats específicos, como los sedimentos intermareales o charcos de las rocas durante la marea baja”³³. Estudios recientes han sintetizado las respuestas y adaptaciones de bentos de aguas poco profundas a la falta de oxígeno, y en general están de acuerdo con la mencionada anteriormente. Grieshaber y otros expresan que “Las diferencias en la duración y la previsibilidad de los eventos de hipoxia en aguas poco profundas inducen respuestas de estrés específicas, típicamente concentraciones mucho más altas de oxígeno en los ecosistemas poco profundos que en los OML, donde los animales han evolucionado para hacer frente a la hipoxia permanente”³⁴.

Levin expresa:

En aguas poco profundas, los peces son más sensibles y pueden exhibir reducido crecimiento de las larvas, la producción, y la alimentación a concentraciones de oxígeno por debajo de $4,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ con la mortalidad entre $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Sin embargo, saltarines del fango y otros peces de fondo pueden responder sólo después del oxígeno cae por debajo de $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Alimentación y otras actividades no relacionadas con la respiración pueden disminuir o terminar. La mayor parte de estas respuestas dará lugar a una mayor exposición a los depredadores (o pescadores) y por lo tanto a una elevada mortalidad³⁵.

Sin embargo, hay acuerdo en que uno de los mecanismos más importantes para hacer frente a la hipoxia, es la mejora de la utilización de la energía disponible, a través de la reducción de la tasa metabólica. De hecho, los organismos considerados bien adaptados a los eventos de hipoxia muestran un menor consumo de ATP, para equilibrar la reducción en la capacidad para generar ATP. Entre las actividades que consumen ATP son: i) la síntesis de proteínas, ii)

³² DÍAZ, R.J. and ROSENBERG, R. Marine benthic hypoxia. A review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanogr. Rev. Mar. Biol. Annu.* 1995. 33 (1): 245–303.

³³ GORDON, M. S. Anaerobiosis in marine sandy beaches. *Rev. Science.* 1960. 132 (1): 616 –617.

³⁴ GRIESHABER, M.K; HARDEWING, I; KREUTZER, U. and PÖRTNER, H.O. Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. *Rev. Physiol. Biochem. Phamacol.* 1994. 125 (1): 44–118.

³⁵ LEVIN, Óp. cit., p. 38.

degradación de la proteína, iii) de la bomba de iones, tales como Na^+ y K^+ , y otros procesos de biosíntesis.

Según Hochachka & Somero “Durante la hipoxia, la bomba de iones disminuye ligeramente, pero la más importante es la baja en la síntesis y degradación de proteínas”³⁶. La reducción en el resultado de la síntesis de proteínas en un mecanismo de ahorro de energía eficiente y, al mismo tiempo, un mecanismo eficaz para hacer frente a eventos hipóxicos. Como se dijo antes, uno de los primero y más dramáticos efectos de la hipoxia en el metabolismo celular es una inhibición rápida y gran magnitud de la síntesis de proteínas. Para Hagerman “En general, los niveles de tolerancia a la hipoxia son más altos para los organismos que viven en los sedimentos, mientras que los organismos móviles, como los peces y crustáceos, pueden presentar respuestas de comportamiento para evitar zonas hipóxicas”³⁷.

Childress y Seibel afirman que: “Hipoxia de fondo es común, pero las capas mínimas de oxígeno entre dos aguas (OML, típicamente menos de $0,3\text{-}0,5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$,”³⁸ también afectan a los animales que se someten a la migración vertical diaria. A pesar de las adaptaciones mencionadas aquí se describen, por un nivel de especie, se debe considerar válida sólo para la fase adulta del ciclo de vida de la especie, ya que la mayoría de los experimentos y las mediciones se realizaron con individuos adultos. En muchos invertebrados con ciclos de vida complejos, algunas fases de su ciclo de vida se producen en diferentes ambientes, y adaptaciones válidas para una fase pueden no ser aplicables a otras fases, especialmente si éstos están expuestos a diferentes intensidades ambientales del factor de interés.

3.6 DESARROLLO ONTOGÉNICO DE CRUSTÁCEOS

Anger afirma que: “Especies bentónicas con ciclos de vida complejos, muestran cambios extremos ontogenéticos en el hábitat, así como otros procesos biológicos que pueden implicar modificaciones drásticas en la locomoción, alimentación, así como otras funciones vitales”³⁹. Un cangrejo braquiuro adulto, por ejemplo, puede ser un depredador bentónico mientras que las larvas de la misma especie son

³⁶ HOCHACHKA & SOMERO, Óp. cit., p. 138.

³⁷ HAGERMAN, L. Physiological flexibility; necessity for life in hypoxia and sulphidic habitats. *Hydrobiologia*. 1998. 375(376): 241–254.

³⁸ CHILDRESS, J.J. and SEIBEL, B.A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. *Rev. J. Exp. Biol.* 1998. 201(1): 1223–1232.

³⁹ ANGER, K. Contributions of larval biology to crustacean research: a review. *Invert. Reprod. Develop.* 2006. 49(1):176-205.

filtradores de plancton, que difieren en gran medida en el hábitat, la locomoción, alimentación, comportamiento.

Para Belman, y Childress:

La concentración de oxígeno afecta a la supervivencia y el desarrollo de las larvas de decápodos, pero relativamente poco, sin embargo, se sabe acerca de la influencia de dicha variable sobre otros rasgos larvarios Childress y Seibel (1998), Este efecto se demostró experimentalmente en cangrejo real (*Paralithodes camtschaticus*; Nakanishi 1987), la langosta espinosa (*Panulirus interruptus*), y el cangrejo braquiuro (*Cancer productus*) larvas⁴⁰.

Para Taylor: “Muchas especies de crustáceos decápodos residen en zonas con regímenes fluctuantes de oxígeno, estas variaciones pueden ser episódicas (minutos/horas) o crónicas (meses/semanas)”⁴¹. Según Airries y McMahon, “Los Mecanismos fisiológicos mejoran la capacidad de estos crustáceos para hacer frente a los episodios agudos de la hipoxia. Muchos decápodos son capaces de mantener la absorción de oxígeno durante la hipoxia mediante el aumento de su ventilación de las cámaras branquiales”⁴². Airries y McMahon expresan que: “Por debajo de la tensión de oxígeno crítica (Pc), sin embargo, los aumentos en la tasa de ventilación no son capaces de compensar la hipoxia, y la ventilación disminuye junto con la captación de oxígeno”⁴³.

Según McMahon: “En ambientes de hipoxia, la mayoría de especies de crustáceos también responden al exhibir bradicardia, por lo tanto, limitando la cantidad de energía gastada por el sistema cardiovascular. Además, los crustáceos pueden alterar el flujo de sangre durante la hipoxia, la reorientación de la sangre a los tejidos que requieren niveles más altos de oxígeno”⁴⁴.

⁴⁰ BELMAN, B. W. and CHILDRESS. J. J. Oxygen consumption of the larvae of the lobster *Panulirus interruptus* (Randall) and the crab *Cancer productus* Randall. *Comp. Biochem. Physiol.* 1973. 44A(1): 821-828.

⁴¹ TAYLOR, DL & DB, EGGLESTON. Effects of hypoxia on an estuarine predator-prey interaction: foraging behavior and mutual interference in the blue crab *Callinectes sapidus* and the infaunal clam prey *Mya arenaria*. *Marine Ecology Progress Series.* 2000. 196 (1): 221-237.

⁴² AIRRIES, C.N. and MCMAHON, B.R. Cardiovascular adaptations enhance tolerance of environmental hypoxia in the crab *Cancer magister*. *Rev. J Exp Biol.* 1994. 190 (1): 50.

⁴³ *Ibid.*, p. 36.

⁴⁴ MCMAHON, B.R. Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Rev. Resp. Physiol.* 2001. 128(1): 349–364.

McGaw y McMahon observaron que: “ en *Cancer magister* tiende a dejar de alimentar a continuación 3,2 kPa oxígeno. Se observó una disminución del gasto cardíaco, junto con una desviación del flujo sanguíneo lejos de la hepatopáncreas. Una reducción en la síntesis de proteínas se interpretó como una consecuencia de esta respuesta”⁴⁵. Cisterna y otros expresan que: “*Cancer setosus* cambia su tamaño de la selección de la presa y la tasa de consumo en condiciones de hipoxia y prefiere presas de menor tamaño que implica un menor gasto de energía”⁴⁶. Según Gebauer, Paschke, y Anger, “En *Lithodes santolla* juveniles también expuestos a la hipoxia, la ingestión fue afectada severamente y mostró una relación lineal con el oxígeno disuelto (DO) entre 2 y 13 kPa (0,59 y 1,92 mg de peso seco h⁻¹ ind⁻¹, respectivamente)”⁴⁷.

⁴⁵ MCGAW, I.J. and MCMAHON, B.R. Balancing tissue perfusion demands: cardiovascular dynamics of *Cancer magister* during exposure to low salinity and hypoxia. *J. Exp. Zool.* 2003. 295A(1): 57– 70.

⁴⁶ CISTERNA, J; SALDÍAS, G.S. and CÁCERES, C. Efecto de la hipoxia en la conducta de forrajeo de *Cancer setosus* (Molina, 1782) (Crustacea: Decapoda) alimentado con *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* 2008. 43 (2): 419-423.

⁴⁷ GEBAUER, P; PASCHKE, K. and ANGER, K. Seasonal variation in the nutritional vulnerability of first-stage larval porcelain crab, *Petrolisthes laevigatus* (Anomura: Porcellanidae) in southern Chile. *Rev. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2010. 386 (1):103-112.

4. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en Laboratorio de Ecofisiología de Crustáceos (LECOFIC) de la Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt, en la ciudad de Puerto Montt, Región de los Lagos (Figura 2.), con las siguientes coordenadas. Según el Instituto Nacional de Estadística: “Latitud 41°29'30” sur y longitud 72° 53'45” oeste, a una altura de 24 msnm, precipitación anual de 1.200 a 3.000 mm y humedad relativa de 80 % y temperatura promedio anual de 11,2°C ”.⁴⁸

Figura 2. Ubicación Universidad Austral de Chile, Campus Puerto Montt, Laboratorios LECOFIC.



4.2 CONDICIÓN EXPERIMENTAL

Para la determinación del efecto de la disponibilidad de oxígeno aguda experimento (A) (24 horas) y crónica experimento (B) (una semana), se consideró dos factores a evaluar: Talla de la cual se evalúan 4 tratamientos (< 30 mm, 30-40mm, 80-100mm y 110 - 120mm) y concentración de oxígeno con 5 tratamientos (1, 2, 4, 6 y 9 mg O₂*L⁻¹), obteniendo 20 posibles combinaciones entre tratamientos. Para cada combinación entre tratamientos se realizaron 5 repeticiones utilizando un total de 100 individuos de jaiba Marmola.

⁴⁸ INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. Informe anual medio ambiente. Chile: s.n., 2010. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/estadisticas_medio_ambiente/pdf/anuario_medio_ambiente_2010.pdf

Se realizó el mismo diseño experimental para los dos experimentos, se midió consumo de oxígeno y se extrajo hemolinfa y hepatopáncreas para análisis bioquímicos; oxihemocianina, proteínas, lactato, lactato deshidrogenasa (LDH) y lípidos.

Tabla 1. Posibles combinaciones entre los factores Talla y Concentración de oxígeno

		Factor 1: Talla (mm)			
Factor 2: Concentración de oxígeno (mg O₂*L⁻¹)	Niveles	<30	30-40	80-100	100-120
	1	T1	T6	T11	T16
	2	T2	T7	T12	T17
	4	T3	T8	T13	T18
	6	T4	T9	T14	T19
	9	T5	T10	T15	T20

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Animales experimentales. Se utilizaron un total de 200 individuos de origen natural de *M. Edwardsii* para los experimentos de disponibilidad de oxígeno aguda y crónica distribuidos en tallas: < 30 mm, 30-40mm, 80-100mm y 110 - 120mm. Fueron adquiridos a pescadores de la zona, como también a través de recolección en áreas de cultivo de mejillón chileno (chorito) (*mitilus chilensis*) de la zona de Ilque sector Puerto Montt.

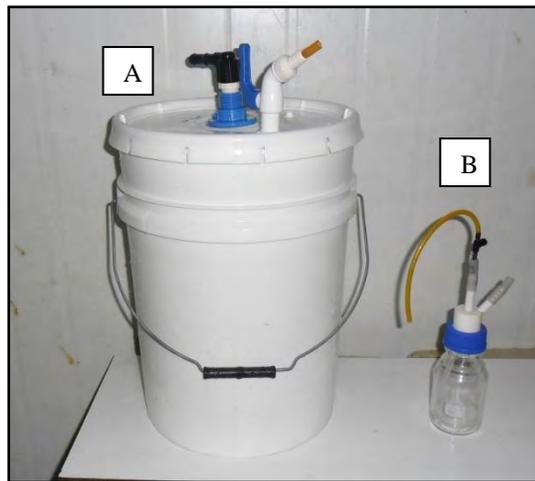
Los animales recolectados fueron transportados hacia la Universidad Austral, donde se colocaron en un tanque de reserva de 10 m³, con recambio constante de agua de mar a una temperatura de 12 °C, para el caso individuos de mayor tamaño. Los individuos de menor tamaño se acondicionaron en estanques rectangulares de 500 litros de agua de mar con recambio constante y temperatura de 12°C en laboratorio.

Todos los individuos experimentales se alimentaron con choritos (*mitilus chilensis*) antes del experimento, posteriormente fueron sometidos a ayuno durante 24 horas antes de entrar a medir consumo de oxígeno.

4.3.2 Cámaras respirométricas. Para medir el consumo de oxígeno se construyó dos tipos de cámaras respirométricas utilizando recipientes de 20 L. y frascos de 0,25 L. los dos con un sistema de entrada y salida del agua a través de válvulas para regular el flujo de entrada del agua y de salida donde se controló un recambio

constante (flujo abierto), además de controlar la concentración de oxígeno al interior de la cámara. (Figura 3.).

Figura 3. Cámaras respirométricas (A 20L y B 0,25L)



4.3.3 Sistema de inyección de burbujas de nitrógeno. Las concentraciones bajas de oxígeno disuelto (1, 2, 4 y 6 mg O₂*L⁻¹) se lograron por medio de un sistema de inyección de burbujas con nitrógeno gaseoso al agua de mar. El cual funciona de la siguiente manera: el agua de mar filtrada es impulsada a una columna a través de una electrobomba, esta se mezcla con nitrógeno gaseoso y baja la concentración de oxígeno hasta llegar a ser anoxica. Desde la columna se distribuye a 5 tanques de almacenamiento de 100 litros donde mezcla con agua de mar sin adición de nitrógeno (normoxia), para conseguir la concentración deseada para el experimento. Cada tanque de almacenamiento consta de 12 salidas para el agua de mar tratada las cuales se conectaban a cada una de las cámaras respirométricas.

Figura 4. Sistema de inyección de nitrógeno gaseoso.



4.3.4 Exposición aguda a diferentes concentraciones de oxígeno. Los individuos fueron expuestos a concentraciones de 1, 2, 4, 6 y 9 mg O₂*L⁻¹ durante un periodo de 24 horas. Para la incubación se utilizaron cámaras respirométricas de 20 L. para tallas entre 80 – 100 y 110 – 120 mm (Figura 6.) y de 0,25 L para tallas <30 y 30 40 mm (Figura 5.). Al introducir las jaibas a las cámaras se eliminó las burbujas de del interior de la cámara y se regulo flujo de recambio, se utilizó agua de mar filtrada (1 µm), tratada con U.V, a una salinidad de 32 PSU y 12°C, con flujo abierto, sin suministro de alimento.

Estas cámaras respirométricas independiente del tamaño estaban conectadas al sistema de inyección de burbujas de nitrógeno durante 24 horas para medir el efecto de la disponibilidad de oxígeno aguda. Todas las concentraciones evaluadas fueron constantes durante el experimento mediante la regulación del flujo determinando el recambio constante.

Figura 5. Consumo de oxígeno jaibas <30 y 30-40 mm



Figura 6. Consumo de oxígeno jaibas 80-100 y 110 -120 mm

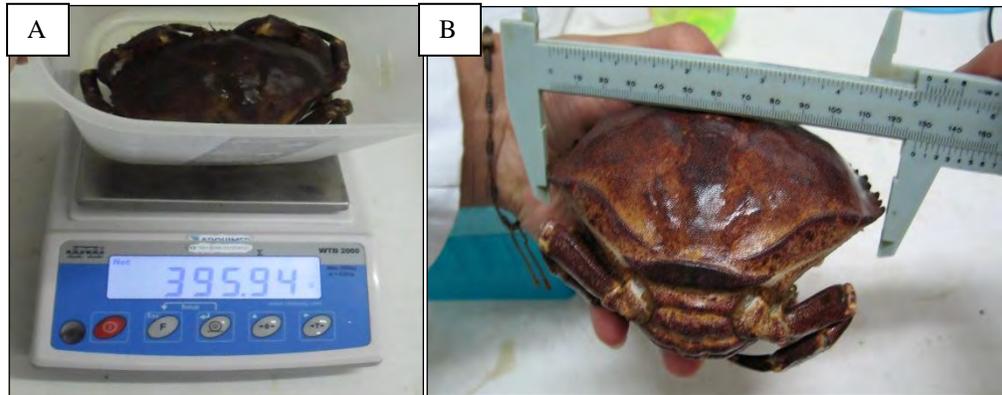


4.3.5 Exposición crónica a diferentes concentraciones de oxígeno. Los individuos fueron expuestos a concentraciones de 1, 2, 4, 6 y 9 mg O₂*L⁻¹ durante un periodo de una semana. Para la incubación se utilizó igual metodología que para la disponibilidad de oxígeno aguda a diferentes concentraciones de oxígeno.

4.4 RECOLECCIÓN DE DATOS Y MUESTRAS

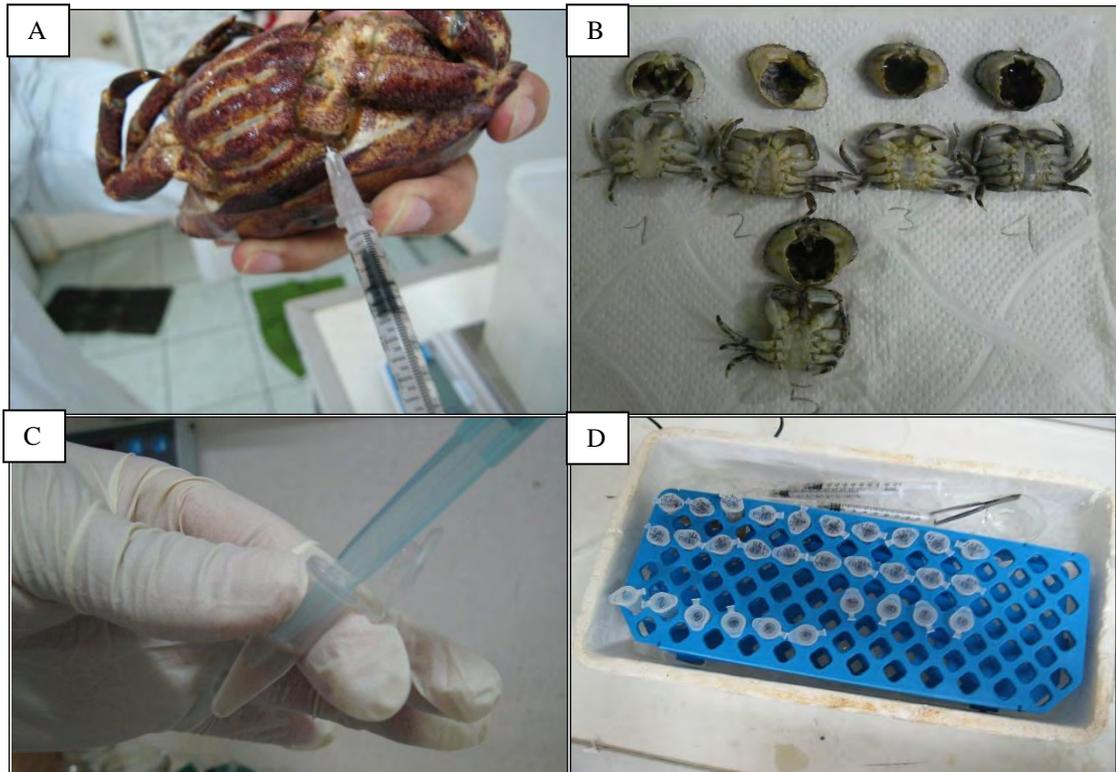
Una vez terminada la exposición y medido el consumo de oxígeno de las jaibas se registró el peso (W) gr utilizando una balanza Precisa 95SM, Germany (Figura 7A), y longitud de cefalotórax (LC) del caparazón utilizando un pie de metro. (Figura 7B)

Figura 7. Mediciones de peso y longitud



La hemolinfa se la extrajo de la parte inferior de la coxa del último par de pereiópodos con dirección al seno venoso (Figura 8A), se extrajo una cantidad mayor a 30 micro litros, se mezcló con agua destilada para llegar a una concentración de 50% agua y 50% hemolinfa, la extracción de la hemolinfa se utilizó jeringas de 1ml; Una vez extraída la hemolinfa se disecciono el animal separando el caparazón, dejando expuesto el hepatopáncreas para extraer una cantidad superior 100 miligramos.(Figura 8B) La extracción de hemofilia y hepatopáncreas se depositó en micro tubos de 1.5 ml libres de pirógenos, las muestras fueron mantenidas en hielo (Figura 8C y 8D), se llevó inmediatamente a - 80°C en un ultrafreezer (Thermo Scientific™ Forma Series 700).

Figura 8. Extracción de muestras hemolinfa y hepatopáncreas.



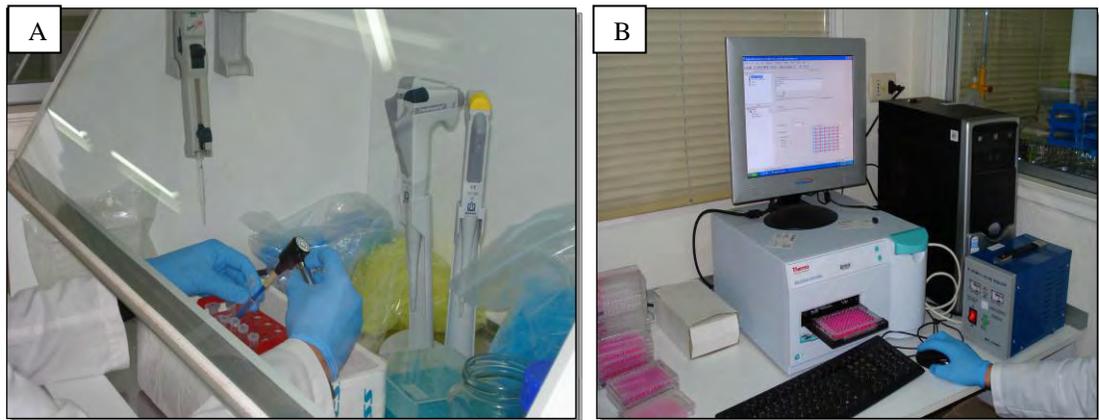
4.5 PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS BIOQUÍMICOS

Una vez terminadas las mediciones de consumo de oxígeno se sacó las muestras de hepatopáncreas de -80°C para luego ser liofilizadas por 48 horas en un liofilizador (Savant, Novalyphe NL 150), se determinó el peso inicial y peso después de haber transcurrido el tiempo de liofilizado en una balanza Precisa 95SM, Germany para estimar su peso seco (DW), en seguida se almacenaron en un ultra freezer a -80°C para su posterior análisis.

Las muestras liofilizadas fueron homogenizadas en un gabinete de trabajo tipo campana de laboratorio, sin extractor (Figura 9 A). Previo al procesamiento de las muestras, el gabinete fue higienizado con inactivador de enzimas nucleasas (Gene Choice™, RNase freeR) y mantenido con luz UV durante la noche previa al análisis. Los materiales a utilizar fueron previamente lavados con dimetil pirocarbonato (DMPC) al 0,1%, incubándolos (37°C , toda la noche). La homogenización de la muestra se realizó con un mortero triturador de tejido (Kontes Scientific™, Rnase-Free Disposable Pellet Pestles R), impulsado por un motor inalámbrico (Kontes Scientific™, Pellet PestleR Cordless Motor), ambos libres de nucleasas, en un micro tubo de 1,5 ml con 1000 μl de agua ultra pura (Barnstead™, EasypureR II) mantenido en hielo. Finalmente, la muestra de

hepatopáncreas homogeneizada fue separado en submuestras, para ser sometidas a análisis de cuantificación de metabolitos. Las submuestras fueron homogeneizadas en buffer fosfato (0,05 M K_2HPO_4 ; 0,05M KH_2PO_4 , pH 7,0), el homogenizado se destinó para el análisis (proteínas, lactato, lactato deshidrogenasa (LDH) y lípidos). Las muestras de hemolinfa obtenidas fueron diluidas al 50% del contenido extraído con agua destilada, se homogenizo para el posterior análisis de (proteínas, lactato, LDH y oxihemocianina).

Figura 9. Preparación de muestras(A) y lectura de las muestras analizadas (B), laboratorio LECOFIC, Universidad Austral de Chile.



4.6 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS Y VARIABLES A EVALUAR

4.6.1 Mortalidad. Se cuantifico el número de animales muertos por tratamiento para los dos experimentos y su resultado se expresó en % de mortalidad.

4.6.2 Consumo de oxígeno. Para medir la concentración de oxígeno se utilizó equipo Presens, Modelo MICROX TX3 (Figura 10). El cual tiene un rango de medición de 0 a 250 % de la saturación del aire con un límite de detección de 0.2 % de saturación del aire, con un porcentaje de error del 1% de la saturación del aire. Cada concentración de oxígeno fue monitoreada hasta que se estabilizó. Se realizaron 3 mediciones de oxígeno, desde el inicio al final del experimento para el caso de disponibilidad de oxígeno aguda (24 horas) y 3 veces al día durante una semana para disponibilidad de oxígeno crónica. Para determinar el consumo de oxígeno se realizó 5 repeticiones (cámaras respirométricas con jaiba) más dos controles (cámaras respirométricas sin jaiba), tanto las repeticiones con jaiba como los controles a flujo abierto, con el mismo flujo de recambio, determinado de esta manera la concentración constante durante el tiempo de exposición.

Figura 10. Equipo para la medición de oxígeno Presens, Modelo MICROX Tx-3.



El consumo de oxígeno se midió bajo metabolismo rutinario, definido como el metabolismo mínimo de actividad según Wilmer et al. “es el nivel del metabolismo para una actividad mínima (normal y sin restricciones) y se define en la práctica”⁴⁹

El consumo de oxígeno se determinó mediante la siguiente formula:

$$\text{Consumo de oxígeno} = \frac{([O_2]In - [O_2]Fin) * F_{l/h}}{W_{gr}Jaiba}$$

Dónde:

[O₂]In = Promedio de la concentración de oxígeno (mg*L) de controles sin jaiba

[O₂]Fin = Concentración de oxígeno (mg*L) de replica

F(l/h) = Flujo en litros por hora

W_{gr}Jaiba = Peso de jaiba en gramos

Los valores de consumo de oxígeno fueron expresados en mgO₂*h⁻¹*gr⁻¹.

La cuantificación de lactato, proteínas y la actividad de LDH (lactato deshidrogenasa) se realizó mediante el uso de kits comerciales, por lo tanto, para los análisis señalados se trabajó siguiendo los protocolos del fabricante.

4.6.3 Determinación de proteínas. La cuantificación de proteínas se realizó mediante el uso del kit DC Protein Assay (BIO RAD Laboratories, Hercules, USA), el cual consiste en una determinación colorimétrica de la concentración de

⁴⁹ WILMER, P., G. STONE & I. JOHNSTON, 2000. Environmental Physiology of Animals. Blackwell Science, Ltd. Oxford. p. 142.

proteínas, donde la reacción obtenida es similar a la documentada por Lowry et al. (1951). El análisis se basa en la reacción de proteína con una solución de tartrato de cobre alcalino y reactivo de Folin.

Al igual que con el análisis de Lowry existen dos pasos que conducen a desarrollo de color: La reacción entre la proteína y el cobre en un medio alcalino, y la posterior reducción del reactivo de Folin por la proteína de cobre tratada. Lo que finalmente formará una coloración azul y la intensidad de esta, será proporcional con la concentración de proteínas presentes en la muestra). Este complejo soluble en agua presenta una fuerte absorbancia a 750 nm siendo linealmente positiva a medida que aumenta la concentración de proteínas.

4.6.4 Determinación de oxihemocianina. Los niveles de hemocianina en hemolinfa se llevó cabo a través de la metodología (Chen & Cheng 1993). Se determinó máximo de absorción de la oxihemocianina ajustando el pH de la hemolinfa a 8 con tampón Tris. Posteriormente, 100 µl de hemolinfa serán diluidos en 100 µl de agua destilada y rápidamente oxigenados, registrándose los valores de absorbancia a una longitud de onda de 335 nm.

4.6.5 Lípidos totales (L). Los lípidos totales se cuantificaron de acuerdo al método de sulfofosfovainillina para lípidos totales según Zollner & Kirsh (1962), utilizando colesterol como estándar. Los lípidos séricos incluyendo el colesterol, forman con el ácido sulfúrico un Ion de carbono que reacciona con la fosfovainillina produciendo un complejo de color violeta cuya intensidad se mide colorimétricamente.

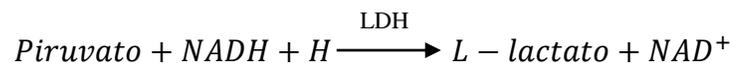
En microtubos Eppendor previamente rotulados se depositaron 10µl del homogeneizado inicial, luego a cada tubo se le agregaron 450µl de cloroformo metanol (CHCl₃/CH₃OH) (2:1) agitándose en vortex. Luego los microtubos fueron centrifugados (8000g, 4°C, 20 min). Posteriormente, se traspasaron 150µl de la fase inferior, conteniendo los lípidos, a un nuevo set de microtubos rotulados, dejando que se evapore el solvente con las tapas abiertas. El estándar (3µg · µl⁻¹) se diluyó para preparar la solución de trabajo (WSCol): 200µl de solución estándar se diluyeron en 400µl de CHCl₃/CH₃OH a 4°C (1µg · µl⁻¹), luego se procedió a realizar la curva de calibración por duplicado.

La curva de calibración se dejó evaporar al igual que las muestras. Una vez evaporadas las muestras y la curva de calibración se procedieron a resuspender los lípidos en 100µl de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) y agitándose en vortex. Inmediatamente después, las muestras con el ácido se calentaron a 100°C durante 10 minutos con las tapas cerradas. Luego se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 20 minutos y se agito en un vortex, llevando 20µl en duplicado a la microplaca. Por último, se agregaron 300µl del reactivo fosfovainillina y se midió la absorbancia a 530 nm en el lector de microplacas.

4.6.6 Determinación de Lactato. La cuantificación de lactato se realizó mediante el uso del kit Láctate LO-POD, (Spinreact), el principio se basa en que el lactato es oxidado por el lactato oxidasa (LO) a piruvato y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) el cual en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 4-clorofenol formará un compuesto rojo de quinona. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra.

Siguiendo el protocolo del fabricante los reactivos contenidos en el kit fueron mezclados y la solución obtenida fue pre-incubada a 25°C en un Thermomixer® (Eppendorf), la medición de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Multiskan Spectrum). El tejido previamente homogenizado en buffer fosfato fue centrifugado a 6800g*10 minutos a 4°C. La lectura se realizó a 550 nm y los resultados fueron expresados en nano moles por miligramo peso seco (mmol*mg PS⁻¹).

4.6.7 Actividad enzimática de lactato deshidrogenasa (LDH) . La actividad de lactato deshidrogenasa (LDH) se midió utilizando el kit LDH-LQ (Spinreact). El método se basa en que la LDH cataliza la reducción del piruvato por el NADH, según la siguiente reacción:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de LDH en la muestra.

Los reactivos contenidos en el kit fueron mezclados y la solución obtenida fue pre-incubada a 25°C en un Thermomixer® (Eppendorf), la medición de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Multiskan Spectrum).

Para este análisis se centrifugó la muestra previamente homogenizada en buffer fosfato a 6800x g*10 minutos a 4°C. Los resultados de la actividad de la enzima fueron expresados en unidades por miligramo de proteína (U*mg P⁻¹).

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó un diseño completamente al azar (Dos vías), con arreglo factorial 4 × 5, en donde el factor 1, corresponde a las tallas con cuatro niveles (<30, 30-40 y 80-100 mm) y el factor 2 corresponde a las concentraciones de oxígeno con cinco niveles (1,2,4,6 y 9 mg O₂*L⁻¹). Para cada combinación de los niveles de los factores se realizaron 5 repeticiones, El modelo matemático corresponde a la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} : Variable respuesta.

μ : Media poblacional.

α_i : Efecto medio del i-ésimo nivel correspondiente al Factor 1.

β_j : Efecto medio del j-ésimo nivel correspondiente al Factor 2.

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de los diferentes niveles de los Factores 1 y 2.

ε_{ij} : Error experimental el cual se distribuye $(0, \sigma^2)$.

4.7.1. Formulación de hipótesis. Se plantearon las siguientes hipótesis:

- ✓ **Hipótesis nula:** los resultados medios obtenidos para cada variable no presentan diferencias significativas.

$$H_0 = \mu_i = \mu_j; i = j; i$$

- ✓ **Hipótesis alterna:** Por lo menos uno de los tratamientos presenta resultados medios con diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos en las diferentes variables:

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j; i \neq j; i$$

Se llevaron a cabo análisis estadísticos para determinar el efecto de la concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) y la talla (mm), frente a las variables consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$), contenido de proteínas en hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) y hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$), concentración de Lípidos en hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$), Lactato en hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) y hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$), Oxihemocianina ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) y la Actividad Lactato Deshidrogenas en hemolinfa ($\text{U} \cdot \text{mg} \cdot \text{P}^{-1}$) y hepatopáncreas ($\text{U} \cdot \text{mg} \cdot \text{P}^{-1}$). Se realizó el mismo análisis para exposición aguda y exposición crónica y se probó la distribución normal y homogeneidad de las varianzas con test de Kolmogorov-Smirnov y de Levene respectivamente.

En la variable Oxihemocianina exposición aguda, se llevó a cabo (ANOVA) de dos vías solo para tallas 80-100 y 110-120 mm. Datos de consumo de oxígeno fueron analizados por (ANOVA) de dos vías a través de modelo lineal generalizado transformando los valores a la raíz cuadrada para exposición aguda y crónica, al igual que lípidos hepatopáncreas exposición aguda y Oxihemocianina exposición crónica. Se realizó transformación logarítmica (Ln) (Zar, 1999) para obedecer supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza para datos de; proteínas

hepatopáncreas, lactato hepatopáncreas y hemolinfa y LDH hepatopáncreas para exposición aguda.

En exposición crónica se transformó a (Ln); proteínas hepatopáncreas, lípidos hepatopáncreas, lactato hepatopáncreas y LDH hepatopáncreas. Para proteína hemolinfa, LDH hemolinfa exposición aguda y lactato hemolinfa exposición crónica donde los análisis, los supuestos de normalidad y homogeneidad no se cumplieron, se aplicó la prueba no paramétrica Scheirer-Ray-Hare, que es una extensión de la de Kruskal Wallis (Scheirer et al 1976; Sokal y Rohlf 1995).

No se realizó ninguna transformación para oxihemocianina exposición aguda como también para proteínas hemolinfa y LDH hemolinfa exposición crónica. Para los tratamientos diferentes fueron identificados mediante test a posteriori de Tukey considerando una probabilidad de $<0,05$ para rechazar la hipótesis nula. Los datos se muestran como media \pm SD.

5. RESULTADOS

5.1 MORTALIDAD

Tabla 2. Mortalidad total para los tratamientos de exposición aguda y crónica para las diferentes concentraciones de oxígeno.

Tallas (mm)	Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L-1)	Repeticiones y Número de individuos (n)	Mortalidad exposición aguda %	Mortalidad exposición crónica %
<30	1	5	0	20
	2	5	0	0
	4	5	0	40
	6	5	0	20
	9	5	0	20
30-40	1	5	0	0
	2	5	0	0
	4	5	0	20
	6	5	0	0
	9	5	0	0
80 -100	1	5	0	20
	2	5	0	20
	4	5	0	0
	6	5	0	0
	9	5	0	0
110 -120	1	5	0	0
	2	5	0	0
	4	5	0	0
	6	5	0	20
	9	5	0	20

En diferentes experimentos se realizó la exposición aguda y crónica encontrándose para la exposición aguda 0 % mortalidad para todos los niveles de concentración de oxígeno, en exposición crónica se presentaron mortalidades para todas las tallas siendo la talla < 30 mm la que mayor mortalidad presento.

5.2 CONSUMO DE OXÍGENO

5.2.1 Consumo de oxígeno exposición aguda. Al evaluar *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que la talla y la concentración de oxígeno influye sobre el consumo de oxígeno en mgO₂*h*gr⁻¹, encontrándose diferencias

significativas ($P < 0,05$). La interacción entre ambos factores fue significativa ($P < 0,05$). La talla > 30 mm presenta mayor consumo respecto a las concentraciones de oxígeno 1, 2, 4 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ con disminución frente a normoxia 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ con diferencias ($p < 0,05$). Los individuos de la talla < 30 mm aumentaron su consumo a medida que aumento la concentración de 1 a 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ manteniéndose estable en la concentración 2 y 4 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ y finalmente disminuyendo en normoxia (Figura. 11A). Para los individuos de la talla 30 – 40, 80 – 100 y 110 – 120 mm se encontró diferencias significativas entre la concentración 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ frente a normoxia 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ($p < 0,05$) respectivamente (Figura: 11A). (ver anexos Tabla 3.)

El consumo de oxígeno también fue diferente en las tallas < 30 y 30-40 mm para concentraciones 2, 4 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, presentando diferencias significativas $p < 0,05$ (Figura: 11A). Las tallas de jaibas adultas 80-100 y 110 -120 mm no presentaron diferencias significativas en consumo de oxígeno frente a concentraciones expuestas (Figura: 11A). En la concentración 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ el consumo de oxígeno es menor para todas las tallas de jaiba analizadas en comparación a las concentraciones analizadas (Figura: 11A). (ver anexos Tabla 3.)

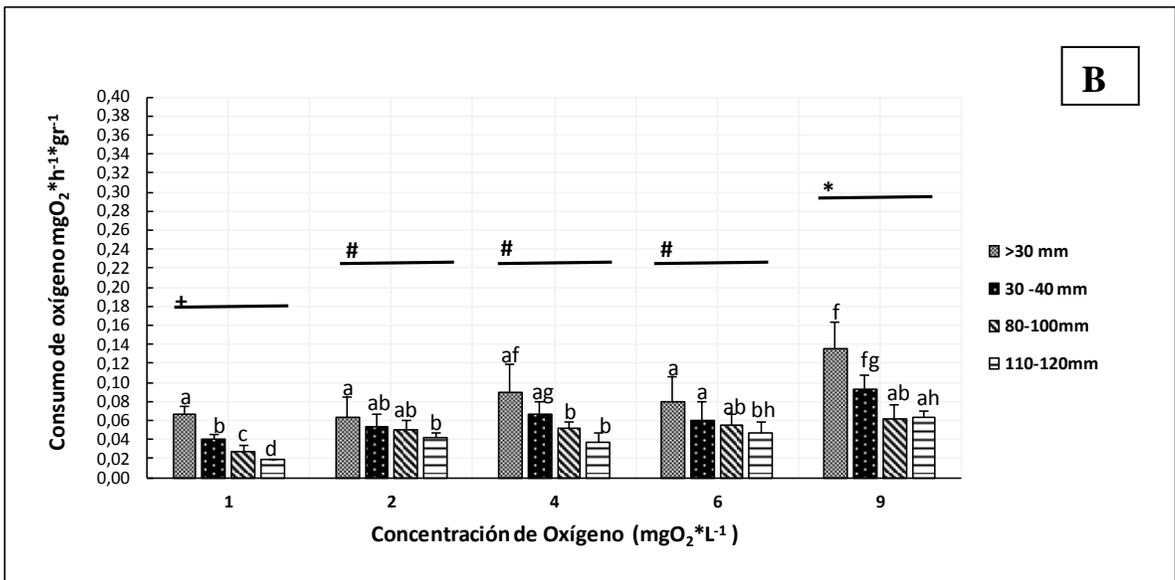
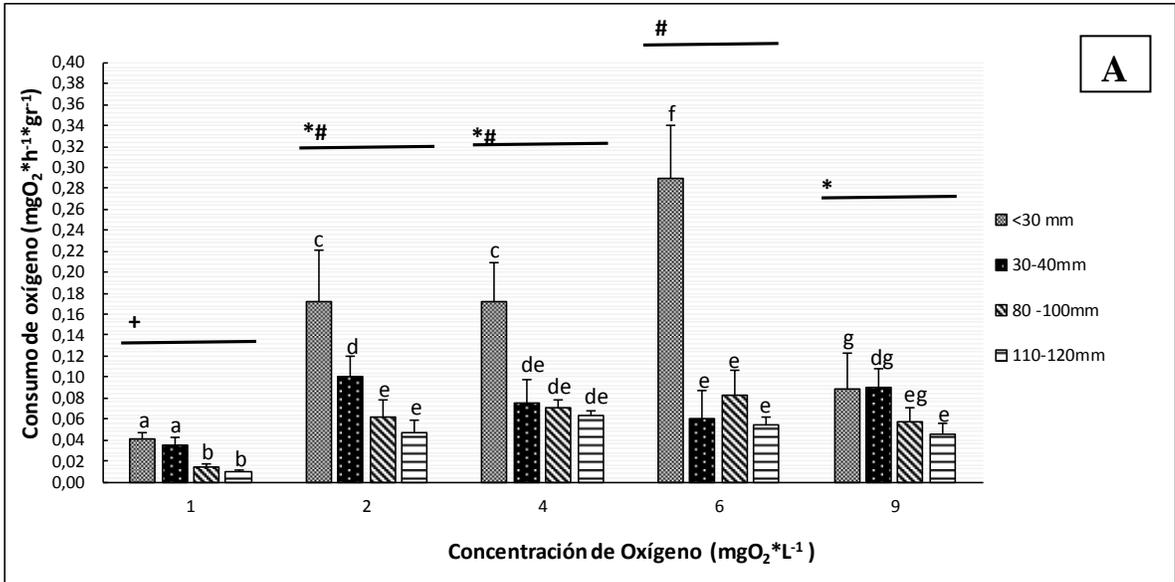
5.2.2 Consumo de oxígeno exposición crónica. Al evaluar *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que la talla y la concentración de oxígeno influye sobre el consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$), se encontró diferencias significativas ($P < 0,05$). La interacción entre ambos factores fue significativa ($P < 0,05$). La talla > 30 mm presenta mayor consumo para todas las concentraciones de oxígeno evaluadas 1, 2, 4, 6 y 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, (ver anexos Tabla 4.). El consumo de la talla < 30 mm en las concentraciones de 1, 2, 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ es diferente significativamente ($p < 0,05$) frente a la concentración 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ siendo la concentración donde mayor consumo se presentó (Figura: 11B).

Para los individuos jóvenes de la talla 30 – 40 mm se encontró que en la concentración 1, 2 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ son diferentes frente a normoxia ($p < 0,05$). Además, la concentración 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ es la que menor consumo de oxígeno presenta siendo diferente a todas las concentraciones. Jaibas adultas de 80 – 100 mm presenta diferencia significativa entre la concentración 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ frente a normoxia, ($p < 0,05$) respectivamente. Jaibas adultas de 110 – 120 mm se encontró que solamente la concentración 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no presenta diferencias frente a normoxia, (Figura: 11B), (ver anexos Tabla 4.).

El consumo de oxígeno de las jaibas analizadas a una concentración de 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ para tallas < 30 , 30 - 40, 80 - 100 y 110 -120 mm son diferentes significativamente ($p < 0,05$, Figura: 11B). frente a la concentración 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, las tallas de jaiba que difieren son < 30 y 110 -120 mm, $p < 0,05$. (Figura: 11B). En la concentración 4 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ las tallas de jaibas que presentan diferencias en consumo son < 30 y 110 -120 mm (Figura: 11B). También en el consumo de las tallas de jaibas en la concentración 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ es diferente para < 30 y 110 -120

mm, $p < 0,05$. (Figura: 11B). en la concentración $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ tallas <30 y $30-40$ mm son diferentes significativamente entre tallas $80-100$ y $110 - 120$ mm, $p < 0,05$, Figura: 11B), (ver anexo Tabla 4.).

Figura 11. Consumo de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gr}^{-1}$] en exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$]



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican diferencia significativa en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.3 PROTEÍNAS

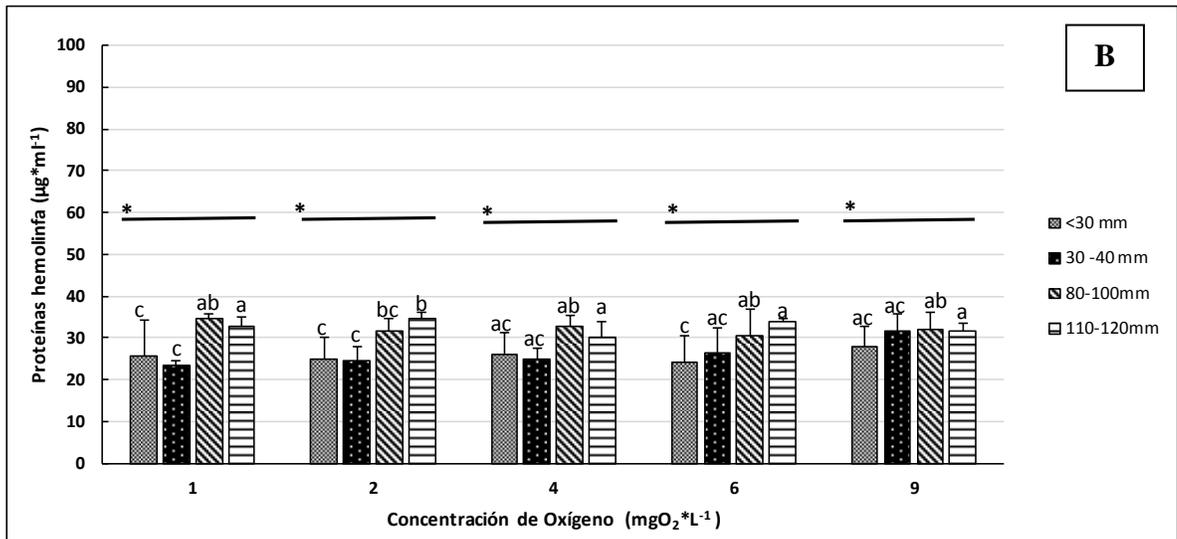
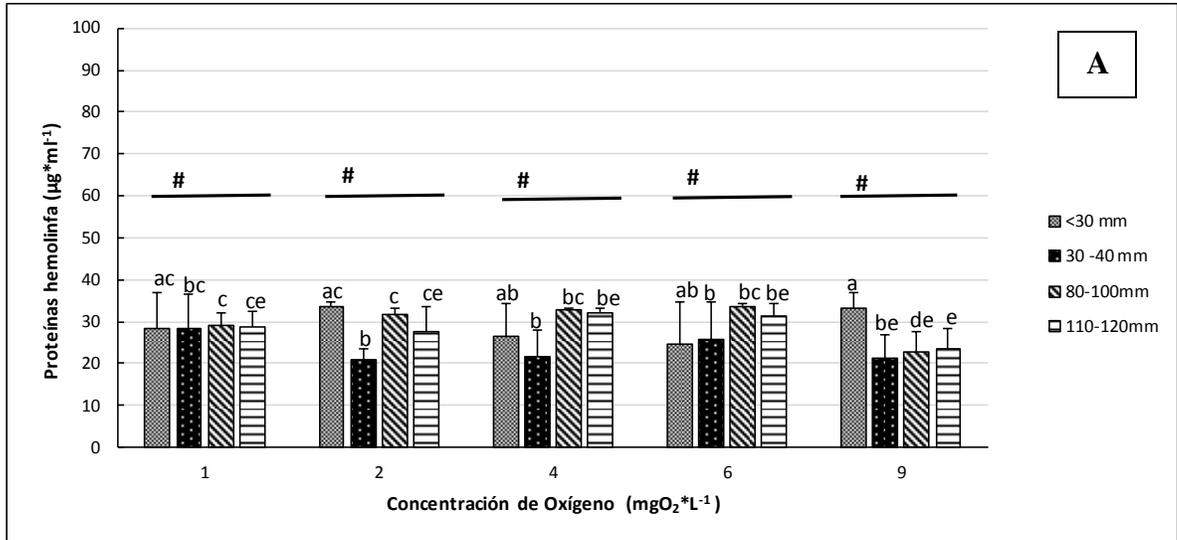
5.3.1 Proteínas hemolinfa exposición aguda. La concentración de proteína en hemolinfa ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que la talla presenta diferencias significativas ($p<0,05$). La interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P<0,05$). La talla <30 y $30 - 40$ mm se mantienen estables sin diferencias frente a las concentraciones de oxígeno expuestas. Para la talla $80 - 100$ mm se encontró que la cantidad de proteínas en hemolinfa en las concentraciones $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentan diferencias significativas frente a las demás concentraciones evaluadas (Figura: 12A). Para la talla de jaibas $110 - 120$ mm no se encontró diferencias significativas en ninguna de las concentraciones evaluadas. (Figura: 12A), (ver anexo Tabla 5.)

La cantidad de proteína en hemolinfa en jaibas en exposición aguda a concentración de $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presento diferencias entre las tallas analizadas. En la concentración $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ se encontró que la talla de jaibas $30 - 40$ mm presenta menor contenido de proteínas respecto a las tallas <30 , $80-100$ y $110 - 120$ mm. encontrándose diferencias significativas ($p<0,05$) (Figura: 12A). También en la concentración $4 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ la talla $30 - 40$ mm fue la concentración más baja respecto a $80 - 100$ y $110 - 120$ mm; ($p<0,05$), y para concentración $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presenta diferencias significativas. En la concentración $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ la única talla que presento diferencias fue la talla <30 mm; (Figura: 12A), (ver anexo Tabla 5.)

5.3.2 Proteínas hemolinfa exposición crónica. La concentración de proteína en hemolinfa ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que la talla presenta diferencias significativas ($p<0,05$). La interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P<0,05$). Las tallas de jaiba en exposición crónica evaluadas no presentaron diferencias significativas frente a las concentraciones de oxígeno evaluadas. (Figura: 12B), (ver anexo Tabla 6.)

Jaibas en exposición crónica en concentración de $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ se encontró diferencias ($P<0,05$) para las tallas <30 y $30 - 40$ mm frente $80-100$ y $110 - 120$ mm. En la concentración $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ tallas <30 y $30 - 40$ mm presentan diferencias ($p<0,05$) con menor concentración de proteínas respecto a las tallas $80-100$ y $110 - 120$ mm, ($p<0,05$). La concentración $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presento diferencias significativas ($p<0,05$). Para la talla de jaiba <30 mm respecto a las tallas de jaiba $80 - 100$ y 110 a 120 mm, la cantidad de proteína no vario significativamente para las tallas de jaiba en las concentraciones 4 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. (Figura: 12B), (ver anexo Tabla 6.)

Figura 12. Concentración de la proteína en hemolinfa [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.3.3 Proteínas hepatopáncreas exposición aguda. La concentración de proteínas en hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que la talla presenta diferencias significativas ($P<0,05$), concentración de oxígeno presenta diferencias significativas ($P<0,05$) y La interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P<0,05$). La proteína en tejido de hepatopáncreas se encontró que para talla <30 mm no presenta diferencias significativas frente a las concentraciones evaluadas. (Figura: 13A). En la talla 30 – 40 mm se encontró que la concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ es diferente ($p<0,05$) frente a los valores observados para 2,4,6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores de proteína hepatopáncreas exposición aguda en las concentraciones 2,4,6 y 9 no presentan diferencias significativas (Figura: 13A), (ver anexo Tabla 7.).

Para la talla de jaibas 80 - 100 mm concentraciones 4 y $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$; presentan diferencias significativas ($p<0,05$) frente normoxia ($9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$), además concentración 4 y $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ son diferentes ($p<0,05$) entre sí. Tallas 110 - 120 mm normoxia ($9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ es diferente ($p<0,05$) frente a concentraciones 1,2,4 y $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 13A), (ver anexo Tabla 7.).

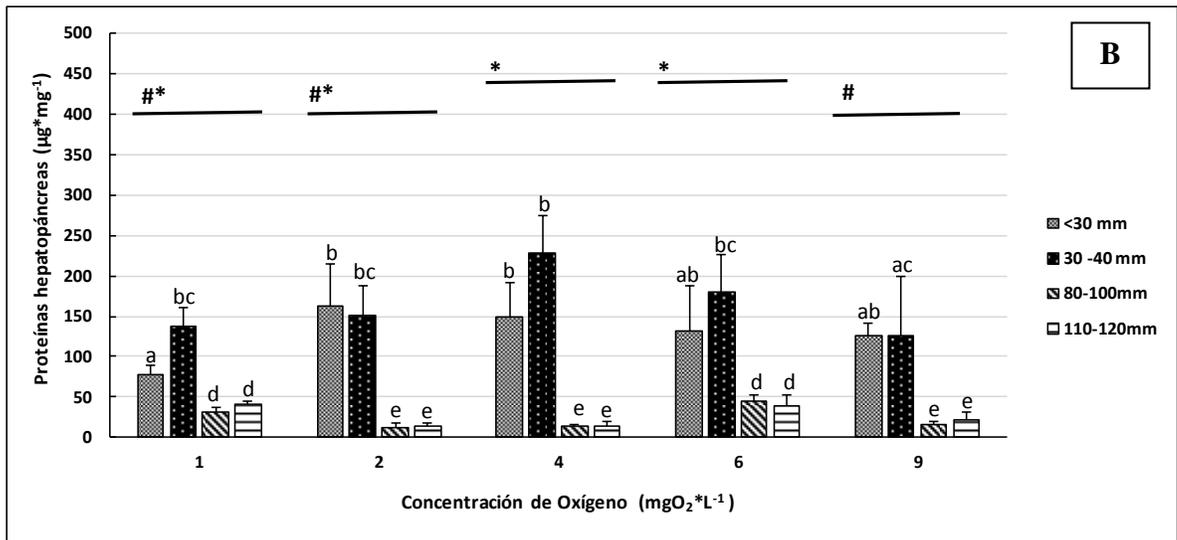
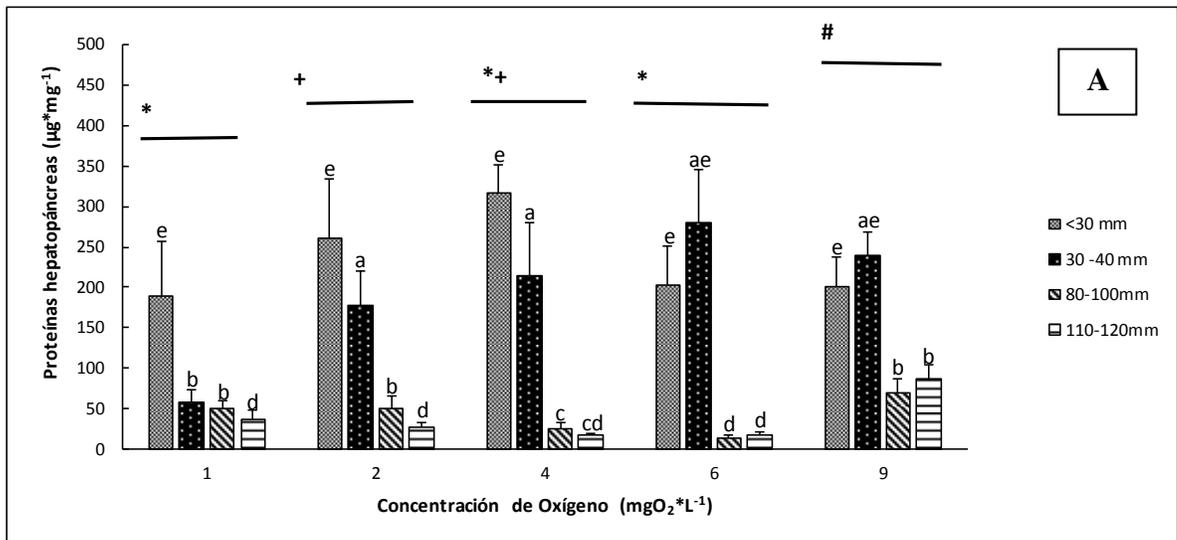
Al comparar concentración de oxígeno versus talla se encontró que en las concentraciones 2,4,6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ la proteína en hepatopáncreas fue menor para las tallas 80-100 y 110 – 120mm. Solamente para la concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ las tallas 30-40, 80-100 y 110–120 mm presentan diferencias significativas ($p<0,05$) frente a talla <30 mm (Figura: 13A). Además, se encontró diferencias significativas ($p<0,05$) en la concentración $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ para tallas <30 y 30-40 mm y para las tallas 80-100mm y 110-120 mm (Figura: 13A), (ver anexo Tabla 7.).

5.3.4 Proteínas hepatopáncreas exposición crónica. La concentración de proteínas en hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que la talla presenta diferencias significativas ($P<0,05$), concentración de oxígeno presenta diferencias significativas ($P<0,05$) y La interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P<0,05$). La talla <30 mm presenta diferencias significativas ($p<0,05$) en la concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ con menor concentración de proteínas frente a las concentraciones 2, 4, 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. En la talla 30 – 40 mm se encontró que la concentración $4 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ es diferente ($p<0,05$) frente a los valores observados en $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, además concentraciones 1,2,6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias. (Figura: 13B). (ver anexo Tabla 8.).

Para la talla 80-100 mm concentración 1 y $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentan diferencias significativas ($p<0,05$) frente normoxia ($9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$), además las concentraciones 2,4 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias (Figura: 13B); Tallas de jaiba adultas 110 - 120 mm en 1 y $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentan diferencias significativas ($p<0,05$) frente normoxia ($9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$). Las concentraciones 2, 4 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias (Figura: 13B), (ver anexo Tabla 8.).

Al comparar concentración de oxígeno versus talla se encontró que, para todas las concentraciones de oxígeno analizadas, la actividad de proteína en hepatopáncreas en exposición crónica fue mayor para las tallas <30 y 30 -40 mm, siendo diferentes ($p < 0,05$) frente a las tallas 80-100 y 110 -120 mm en todas las concentraciones (Figura: 13B), (ver anexo Tabla 8.).

Figura 13. Concentración de la proteína en hepatopáncreas [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.4 ACTIVIDAD OXIHEMOCIANINA

5.4.1 Oxihemocianina exposición aguda . La actividad de oxihemocianina ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, solo se evaluaron las tallas 80 -100 y 110 a 120 mm, encontrándose que el factor talla no presenta diferencias significativas. El factor concentración presenta diferencias significativas ($p<0,05$) y la interacción entre los dos factores evaluados fue significativa ($p<0,05$). (Figura: 14A).

Se encontró que el contenido de oxihemocianina de la talla 80 -100 mm presenta diferencias significativas entre la concentración $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ frente a las concentraciones 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, además la concentración $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ es diferente a las concentraciones 1,2,4 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 14A). La talla evaluada 110 -120 mm presenta diferencias significativas entre la concentración $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, frente a las concentraciones 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además la concentración 2 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias significativas. (Figura: 14A). También se puede observar que para esta talla las concentraciones $4 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ fue la que mayor actividad presentó frente a las demás concentraciones (Figura: 14A), (ver anexo Tabla 9.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró diferencias significativas ($p<0,05$) entre la concentración 1 ,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ tallas 80 y 100 y 110 – 120 mm concentración $4 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ entre 80 y 100 y 110 – 120 mm ($0,598 \pm 0,134$ y $0,774 \pm 0,038 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), la concentración normoxia ($9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$) presenta menor concentración de oxihemocianina (Figura: 14A), (ver anexo Tabla 9.).

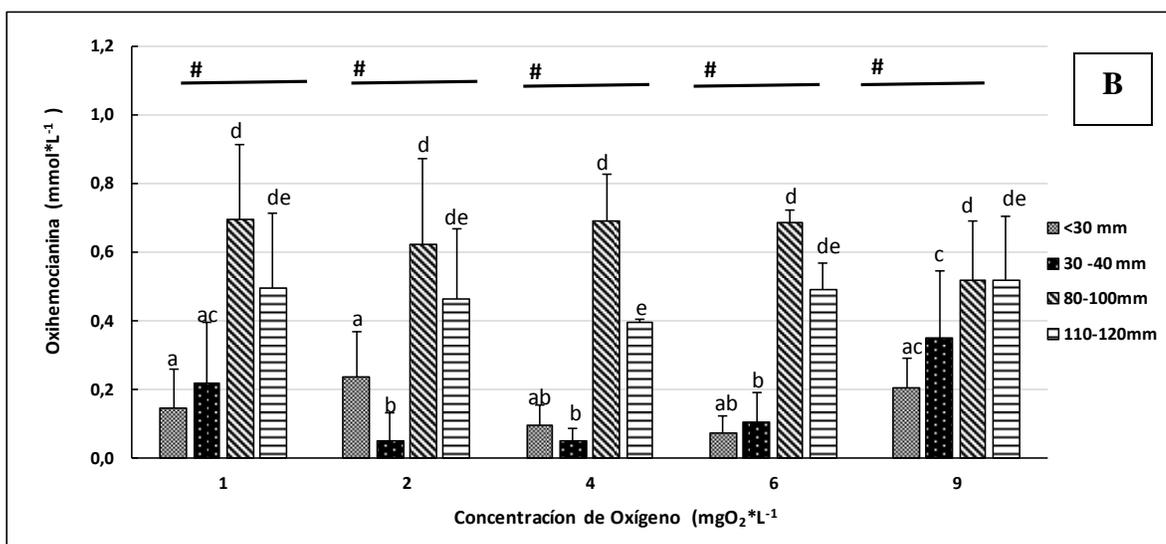
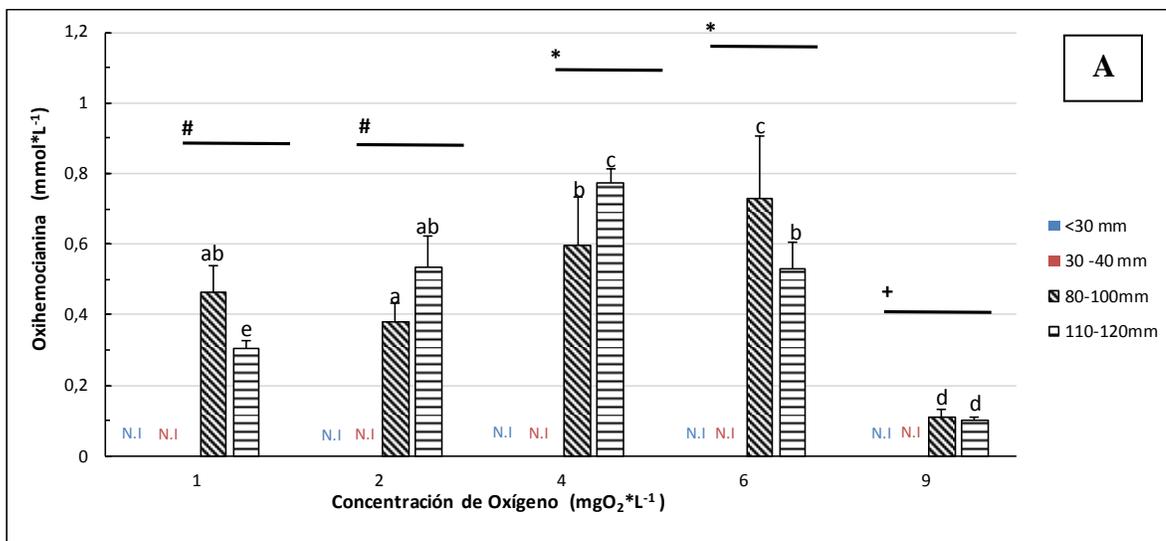
5.4.2 Oxihemocianina exposición crónica. La cantidad de oxihemocianina para *M. edwardsii* a una exposición crónica se encontró que el factor talla presenta diferencias ($P <0,05$). El factor concentración no presenta diferencias significativas y la interacción entre los factores talla vs concentración fue significativa ($p<0,05$) (Figura: 14B).

Se encontró que el contenido de oxihemocianina de la talla <30 mm no presenta diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas, pero si se percibe un aumento hacia las concentraciones $1,2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. (Figura: 14B). Para la talla 30 – 40 mm se encontró que concentraciones 2, 4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentan diferencias significativas ($p<0,05$) frente a concentraciones 1 y 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además estas tallas presentan baja actividad de oxihemocianina para las concentraciones 1 y 2 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 14B). Las tallas 80 – 100 y 110 -120 mm no presenta diferencias significativas para todas las concentraciones evaluadas. (Figura: 14B.) (ver anexo Tabla 10.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró que para las concentraciones 1, 4, 6 y 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ las tallas $<30\text{mm}$ y 30 -40 mm no

presentan diferencias significativas, solo la concentración $2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) para estas tallas. (Figura: 14B). Las tallas 80 - 100 y 110 - 120 mm no presentaron diferencias para las concentraciones 1,2,6 y 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, solo se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) para la concentración $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ para las tallas 80 -100 y 110 - 120 mm (Figura: 14B), (ver anexo Tabla 10.).

Figura 14. Actividad de la oxihemocianina [$\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].



N.I. (no hay información). Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.5 LÍPIDOS

5.5.1 Lípidos hepatopáncreas exposición aguda. La concentración de lípidos en hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que la talla y la concentración de oxígeno presenta diferencias significativas ($P<0,05$). La interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P<0,05$). La talla <30 mm no presenta diferencias significativas para las concentraciones 1,4 y 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además la concentración 2 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ son diferentes ($p<0,05$) al compararse entre si y frente a las concentraciones 1,4 y 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$. (Figura: 15A). La talla 30 – 40 mm presento diferencias ($p<0,05$) para las concentraciones 4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ frente a la concentración 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además concentraciones 1,2 y 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias (Figura: 15A), (ver anexo Tabla 11.).

Las tallas 80 -100 y 110-120 mm presentan mayor contenido de lípidos en hepatopáncreas para todas las concentraciones evaluadas encontrándose que para la talla 80 - 100 mm se representan diferencias significativas ($p<0,05$) entre las concentraciones 1 y 4 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ frente a 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además las concentraciones 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias (Figura: 15A). Para la talla 110 - 120 mm se representan diferencias significativas ($p<0,05$) entre las concentraciones 1,2 4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ frente a 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, además las concentraciones 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias (Figura: 15A), (ver anexo Tabla 11.).

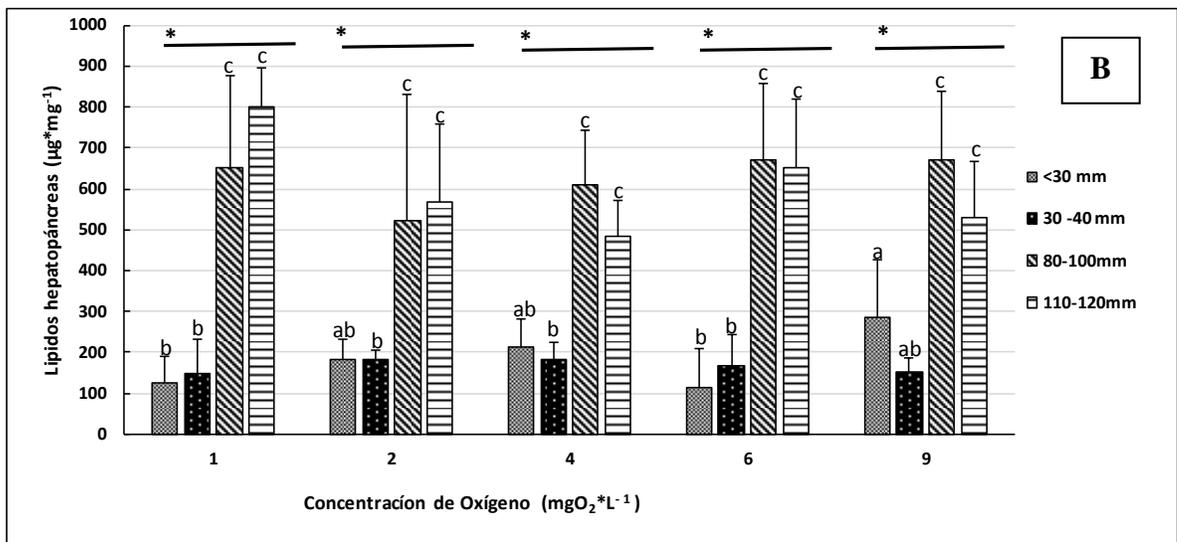
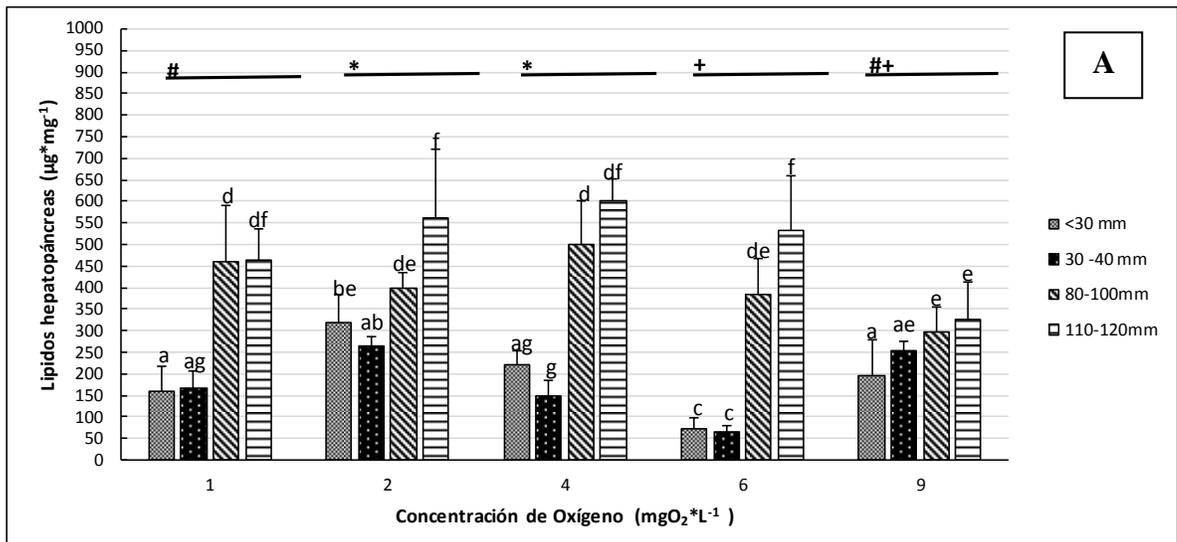
La cantidad de lípidos encontrada en la concentración 9 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ fue menor con respecto a las tallas evaluadas en cada concentración de oxígeno. En la concentración 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ se observa un aumento en la concentración de lípidos. No se presentó diferencias significativas entre las tallas <30 mm y 30-40 mm para todas las concentraciones evaluadas. Se presentó diferencias en la concentración 2 y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ para las tallas 80-100 y 110 -120 en general se observó mayor cantidad de lípidos en hepatopáncreas en jaibas adultas para en todas las concentraciones de oxígeno. (Figura: 15A), (ver anexo Tabla 11.).

5.5.2 Lípidos hepatopáncreas exposición crónica. La concentración de lípidos en hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que solo la talla presenta diferencias significativas ($P<0,05$). La concentración de oxígeno como la interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno no fue significativa ($P<0,05$).

El contenido de lípidos en tallas de jaiba <30 mm presenta diferencias significativas ($p<0,05$) para las concentraciones 1y 6 $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ frente a normoxia (Figura: 14B). En la talla 30 – 40, 80-100 y 110-120 mm no se encontró diferencias ($p<0,05$), para las concentraciones evaluadas (Figura: 15B), (ver anexo Tabla 12.).

Para todas las concentraciones 1,2,4,6 y 9 mgO₂*L⁻¹ se encontró menor cantidad de lípidos, para las tallas <30mm y 30- 40 mm y mayor cantidad de lípidos para 80-100 y 110 – 120mm, siendo diferentes significativamente (p<0,05). Las tallas jóvenes en comparación con las tallas adultas, la concentración de lípidos para las tallas jóvenes se encontró entre 100 y 300 µg*mg⁻¹ de peso seco de hepatopáncreas y para las tallas adultas se encontró una concentración de lípidos entre 500 y 800 µg*mg⁻¹ de peso seco de hepatopáncreas. (Figura: 15B). (ver anexo Tabla 12.).

Figura 15. Concentración de lípidos en hepatopáncreas [$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.6 LACTATO

5.6.1 Lactato hemolinfa exposición aguda. Actividad de lactato en hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que el factor talla presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor concentración presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) y la interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P < 0,05$). En talla < 30 mm se encontró que concentraciones 1 y 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presentan mayor concentración de lactato frente a las concentraciones 4, 6 y 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$. Se encontró diferencias ($p < 0,05$) para esta talla entre la concentración de oxígeno normoxia y la concentración 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$; siendo la última la de menor concentración (Figura: 16A), (ver anexo Tabla 13.).

Concentraciones de lactato en hemolinfa a una exposición aguda se observó que en la talla de jaibas 30 – 40 mm presenta diferencia a los valores observados para normoxia (9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) frente a la concentración 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ($p < 0,05$) respectivamente, también en las concentraciones 4 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presentan diferencias con normoxia en menor proporción (Figura: 16A). Para la talla 80 -100 mm presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en normoxia (9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) frente a las concentraciones 1 y 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura: 16A). Talla 110 - 120 mm evaluada presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a normoxia (9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) en las concentraciones 1 y 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura: 16A), (ver anexo Tabla 13.).

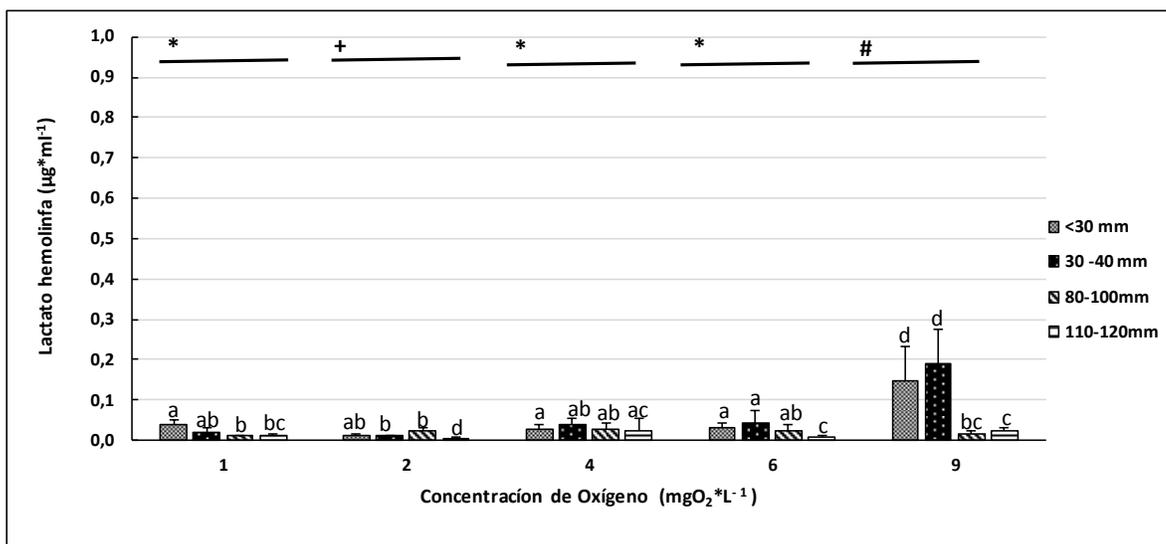
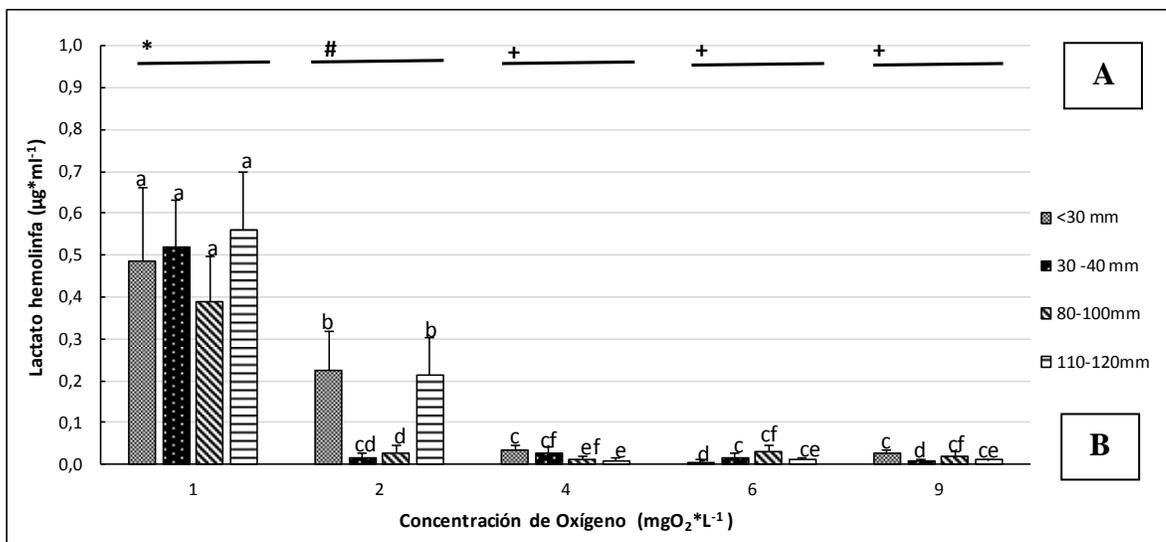
La actividad de lactato hemolinfa en jaibas expuestas en forma aguda presento que las tallas de jaiba expuestas en concentraciones 1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no presentaron diferencias. La concentración 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se observa mayor cantidad de lactato sobre las tallas < 30 y 110 - 120 mm presentando diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a la talla 30 – 40 mm, el cual presento menor cantidad de lactato (Figura: 16A). Para la concentración 4 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se encontró que la talla 110-120 mm; fue diferente ($p < 0,05$) frente a las tallas < 30 y 30-40 mm, además las tallas < 30 y 30-40mm y 30-40 y 80-100mm no presentan diferencia. En la concentración 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se encontró que la talla < 30 mm es diferente significativamente a las tallas 30-40, 80-100 y 110-120 mm. En normoxia, 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no existe diferencias significativas para las tallas evaluadas (Figura: 16A), (ver anexo Tabla 13.).

5.6.2 Lactato hemolinfa exposición crónica. La concentración de lactato en hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que el factor talla presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor concentración presenta diferencias significativas ($P < 0,05$) y la interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno fue significativa ($P < 0,05$). La talla < 30 mm solo presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) la concentración normoxia 9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ frente a concentraciones 1,2,4 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura: 16B). Concentraciones de

lactato en hemolinfa en la talla de jaibas 30 – 40 mm presenta diferencias ($p < 0,05$) respecto a normoxia ($9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) en la concentración $1,2,4$ y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ además las concentraciones 2 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ son diferentes ($p < 0,05$) (Figura: 16B). Las tallas $80 - 100 \text{ mm}$ no presentaron diferencias significativas en las concentraciones evaluadas (Figura: 16B). en la talla $110-120 \text{ mm}$, solo la concentración $2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ es diferente ($p < 0,05$) frente a las demás concentraciones evaluadas; $1,4,6$ y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, (Figura: 16B), (ver anexo Tabla 14.).

La concentración de lactato en hemolinfa para tallas de jaibas bajo una exposición crónica se observa que la concentración $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presenta diferencias ($p < 0,05$) entre la talla $< 30 \text{ mm}$, frente a las tallas $80-100$ y $110-120 \text{ mm}$ (Figura: 16B). En la concentración de oxígeno 2 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ solo la talla $110-120 \text{ mm}$ presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a tallas < 30 , $30-40$ y $80-100 \text{ mm}$ (Figura: 16B). En la concentración $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, no presenta diferencias significativas (Figura: 16B). En la concentración $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ entre las tallas < 30 y $30 - 40 \text{ mm}$ con mayor cantidad de lactato en exposición crónica presentó diferencias ($p < 0,05$) en comparación a las tallas $80- 100$ y 110 a 120 mm ; (Figura: 16B), (ver anexo Tabla 14.).

Figura 16. Concentración de lactato en hemolinfa [$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.6.3 Lactato hepatopáncreas exposición aguda. La concentración de lactato en hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que el factor talla presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor concentración presenta diferencias significativas ($P < 0,05$) y la interacción entre los factores talla y concentración de oxígeno no fue significativa.

El efecto de la talla frente a la concentración de oxígeno, tenemos que la concentración de lactato en hepatopáncreas de jaiba expuestas de forma aguda se observa que en la talla de jaibas < 30 mm en $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a concentración 1 y $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ que tienen mayor concentración de lactato en hepatopáncreas. Además, las concentraciones 4 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencia frente a la concentración $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 17A). La talla 30 – 40 mm no presenta diferencias. (Figura: 17A), (ver anexo Tabla 15.).

Las jaibas adultas 80-100 mm presentan aumento en la concentración de lactato hepatopáncreas exposición aguda para las concentraciones 1 y $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ además estas concentraciones no presentan diferencias significativas frente a las concentraciones 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 17A). Las tallas 110 a 120 mm presentan un incremento en la concentración de lactato hepatopáncreas a medida que la concentración de oxígeno desciende la concentración de 6 a $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$, siendo la concentración $6 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ la que menor actividad presento. Y la concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presento diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a 2, 4, 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 17A), (ver anexo Tabla 15.).

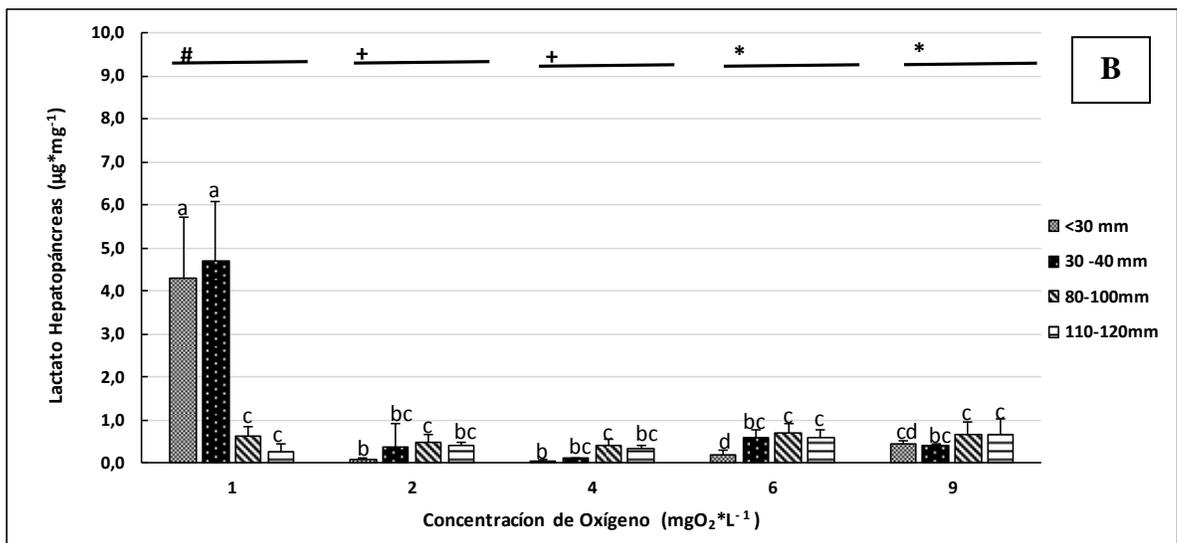
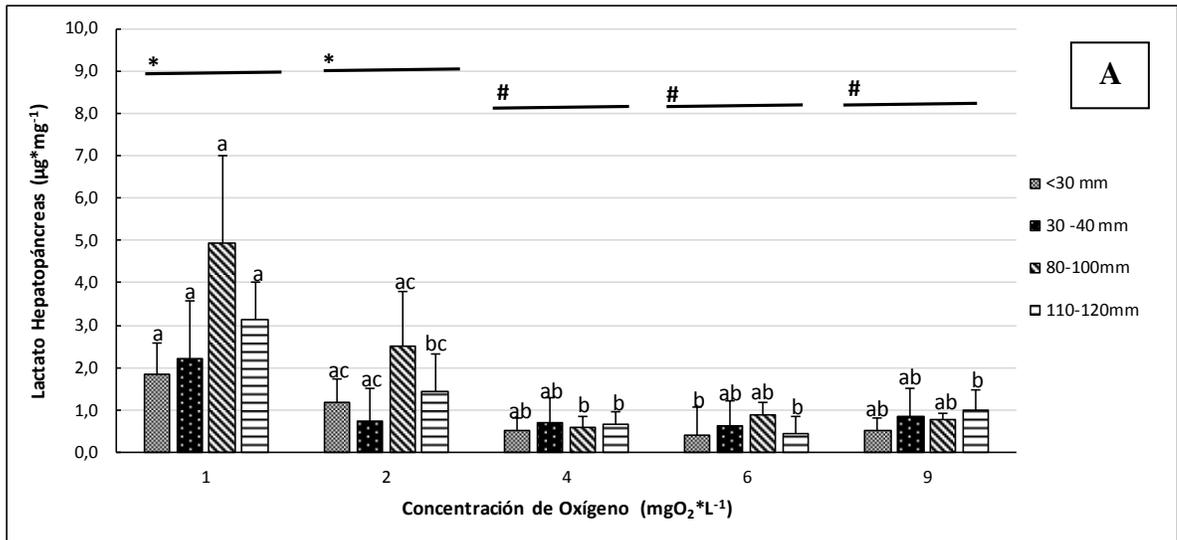
Al evaluar la concentración de oxígeno se observa las concentraciones 4, 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ son diferentes ($p < 0,05$) frente a 1 y $2 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura: 16A). También se encontró que en la concentración 1, 2, 4, 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ no presentan diferencias significativas entre las tallas evaluadas (Figura: 17A), (ver anexo Tabla 15.).

5.6.4 Lactato hepatopáncreas exposición crónica. La concentración de lactato hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que el factor concentración presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor talla y la interacción entre los dos factores evaluados no se encontraron diferencias. (Figura: 17B).

La concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ fue diferente ($p < 0,05$) frente a las demás concentraciones evaluadas. La concentración 2 y $4 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ en comparación con las concentraciones 6 y $9 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) (Figura: 16B). Al evaluar el factor concentración se encontró que el contenido de lactato hepatopáncreas exposición crónica en tallas < 30 y 30-40 mm en la concentración $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ presentaron superior concentración de lactato en hepatopáncreas siendo diferentes ($p < 0,05$) frente a las demás concentraciones evaluadas, también se encontró que las tallas evaluadas no presentaron

diferencias para las concentraciones 2,4,6 y 9 mgO₂*L⁻¹. (Figura: 17B). (ver anexo Tabla 16.).

Figura 17. Concentración de lactato en hepatopáncreas [µg*mg⁻¹] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [mgO₂*L⁻¹].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, p <0,05). Promedio ± SD, n = 3 - 5 repeticiones por tratamiento.

5.7 LACTATO DESHIDROGENASA (LDH)

5.7.1 Actividad LDH en hemolinfa exposición aguda. La actividad de LDH en hemolinfa ($U \cdot mg P^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que el factor talla no presenta diferencias significativas. El factor concentración presenta diferencias significativas ($P < 0,05$) y la interacción entre talla y concentración evaluados fue significativa ($P < 0,05$). (Figura: 18A).

Al evaluar la interacción talla y concentración de oxígeno se encontró que el contenido de la actividad LDH en hemolinfa para talla <30 y $30-40$ mm presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de oxígeno; 4 y 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ que presentó menor actividad con respecto a la concentración $1,2$ y 9 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ (Figura: 18A), (Figura: 18A), (ver anexo Tabla 15.). Las tallas $80 - 100$ mm presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de oxígeno; 4 y 6 y 9 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ que presentó mayor actividad con respecto a la concentración 1 y 2 $mgO_2 \cdot L^{-1}$, (Figura: 18A). Talla mayor $110 - 120$ mm se encontró que concentraciones $2,4$ y 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ (presentan mayor actividad LDH encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a 1 y 9 $mgO_2 \cdot L^{-1}$, (Figura: 18A), (ver anexo Tabla 17.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró que para todas las concentraciones evaluadas las tallas de jaibas juveniles <30 y $30 - 40$ mm no presentan diferencias significativas en la actividad LDH, encontrándose también la menor actividad LDH en las concentraciones 4 y 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ para estas tallas (Figura: 18A). Las tallas adultas $80 - 100$ y $110 - 120$ mm presentaron diferencias ($p < 0,05$) en las concentraciones; 1 , 2 y 4 $mgO_2 \cdot L^{-1}$. Además, la menor actividad LDH para tallas adultas se presentó en la concentración 1 $mgO_2 \cdot L^{-1}$, tallas $110 - 120$ mm, (Figura: 18A), En la actividad LDH para la concentración 2 $mgO_2 \cdot L^{-1}$; exposición aguda presentó baja actividad para la talla $80-100$ mm, siendo diferente ($p < 0,05$) para las tallas <30 , $30-40$ y $110 - 120$ mm, (Figura: 18A). (ver anexo Tabla 17.).

La actividad LDH para la concentración 4 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ para tallas superiores $80 - 100$ y $110 - 120$ mm presenta diferencias ($p < 0,05$) entre si y frente a tallas inferiores <30 mm y $30 - 40$ mm. La actividad LDH concentración 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$, tallas $80 - 100$ y $110 - 120$ mm presenta diferencias ($p < 0,05$) frente a tallas inferiores <30 mm y $30 - 40$ mm (Figura: 18A). Comparaciones para la concentración 9 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ mostro estable para las tallas <30 , $30-40$ y $80-110$ mm siendo la talla $110 - 120$ mm con menor actividad y diferencias ($p < 0,05$) frente a las demás tallas evaluadas (Figura: 18A), (ver anexo Tabla 17.).

5.7.2 Actividad LDH en hemolinfa exposición crónica. La actividad de LDH en hemolinfa para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que el factor

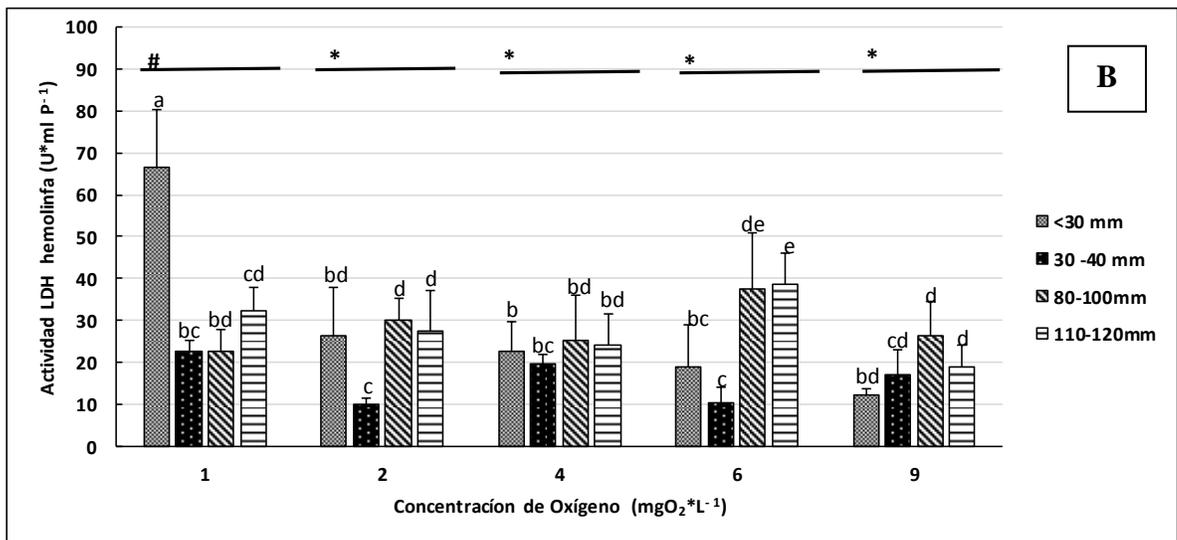
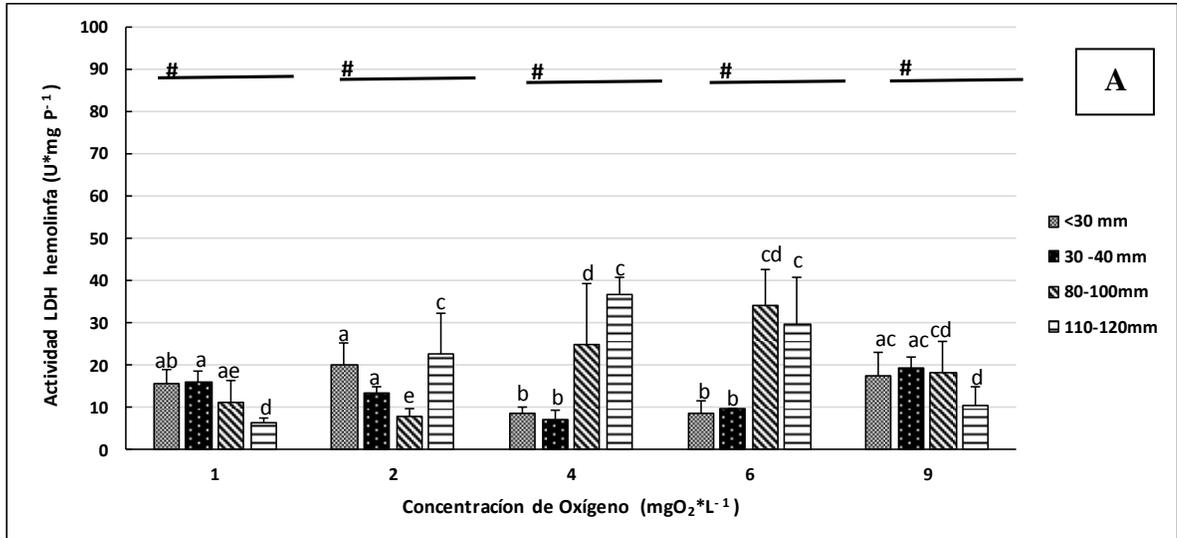
talla presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor concentración presenta diferencias significativas ($P < 0,05$) y la interacción entre los dos factores fue significativo ($P < 0,05$). (Figura: 18B).

Al evaluar la actividad LDH en hemolinfa sobre los factores de interacción talla y concentración de oxígeno se encontró que la talla <30 mm presenta mayor actividad en la concentración $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, siendo diferente significativamente ($p < 0,05$) respecto a la concentración normoxia ($9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$), las concentraciones $2,4$ y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se mantuvieron estables para esta talla sin diferencias y con la actividad LDH inferior a las otras concentraciones evaluadas (Figura: 18B). Tallas comprendidas entre $30 - 40$ mm se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de oxígeno; 2 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ que presentaron menor actividad con respecto a la concentración normoxia ($9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$), concentraciones $1, 4$ y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se mantuvieron estables para esta talla. (Figura: 18B). (ver anexo Tabla 18.).

Las tallas $80 - 100$ mm no presenta diferencias significativas, aunque se observa un aumento de la actividad LDH en la concentración $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura: 18B). En la talla adulta $110 - 120$ mm se encontró que la concentración $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presenta mayor actividad LDH en hemolinfa exposición crónica encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a la concentración normoxia ($9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) las demás concentraciones para esta talla se comportan con una actividad estable (Figura: 18B). (ver anexo Tabla 18.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró que para las concentraciones $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ las tallas de jaiba jóvenes <30 y $30 - 40$ mm presentan diferencias ($p < 0,05$), encontrándose también la mayor actividad LDH; además las tallas $30-40, 80-100$ y $110 - 120$ mm no presentan diferencias (Figura: 18B). La actividad LDH hemolinfa exposición crónica en concentración $2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presenta diferencias ($p < 0,05$) para talla $30-40$ mm, frente a las Tallas $<30, 80-100$ y $110-120$ mm además $<30, 80-100$ y $110-120$ mm no presentan diferencias (Figura: 18B). La actividad LDH hemolinfa exposición crónica para la concentración $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no presenta diferencias significativas. La actividad LDH concentración $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, tallas adultas $80 - 100$ y $110 - 120$ mm presenta diferencias ($p < 0,05$) frente a tallas jóvenes <30 mm y $30 - 40$ mm (Figura: 18B). Comparaciones para la concentración $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no mostro que las tallas $<30, 30-40$ y $80-100$ y $110-120$ mm presentaran diferencias (Figura: 18B). (ver anexo Tabla 18.).

Figura 18. Actividad de LDH en hemolinfa [$U \cdot mg P^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$mgO_2 \cdot L^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

5.7.3 Actividad LDH en hepatopáncreas exposición aguda. La actividad de LDH en hepatopáncreas ($U \cdot mg P^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición aguda, se encontró que el factor talla presenta diferencias significativas ($p < 0,05$). El factor concentración presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) y la interacción entre los dos factores evaluados se encontró diferencias ($P < 0,05$). (Figura: 19A).

Al evaluar la interacción talla y concentración de oxígeno se encontró que el contenido de la actividad LDH en hemolinfa para talla de jaibas < 30 mm no presentó diferencias, además presentó menor actividad LDH en todas las concentraciones de oxígeno. (Figura: 19 A). Tallas comprendidas entre $30-40$ mm se encontró mayor actividad LDH en las concentraciones de oxígeno; $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ con diferencias ($p < 0,05$) frente a las concentraciones 2, 4, 6 y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ las cuales se mantuvieron estables sin diferencias, además las concentraciones 2 y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no presentan diferencias, al igual que las concentraciones 4 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, al comparar las concentraciones 2 y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ frente a las concentraciones 4 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ estas son diferentes significativamente ($p < 0,05$) (Figura: 19A). (ver anexo Tabla 19.).

La actividad LDH hepatopáncreas en jaibas expuestas de forma aguda se observó que las tallas de jaibas $80 - 100$ mm se encontró que presentan mayor actividad LDH hepatopáncreas concentraciones de oxígeno; 1, 4 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, la concentración 1 y $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ no presenta diferencias. Las concentraciones 2 y $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presentando menor actividad LDH hepatopáncreas sin diferencias entre estas mismas. (Figura: 19A). Talla adulta $110 - 120$ mm se encontró que concentraciones 1, 2,4 y $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presentan mayor actividad LDH encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) frente a la concentración $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura: 19A), (ver anexo Tabla 19.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró que la actividad LDH hepatopáncreas a exposición aguda en la concentración $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se encontró la menor actividad para la talla < 30 mm siendo diferente ($p < 0,05$) frente a concentraciones evaluadas de $30 - 40$, $80 - 100$ y $110 - 120$ mm no existiendo diferencias entre estas mismas. (Figura: 19A). La concentración $2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ presenta mayor actividad de LDH para la talla $110 - 120$ mm siendo diferente ($p < 0,05$) frente a tallas de < 30 , $30 - 40$ y $80 - 100$ mm (Figura: 19A), (ver anexo Tabla 19.).

Concentración $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$; La actividad LDH hepatopáncreas exposición aguda para las tallas < 30 , $30-40$ mm presentó diferencias ($p < 0,05$) frente a la talla $80-100$ y $110 - 120$ mm, además las tallas < 30 y $30-40$ mm $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ son diferentes ($p < 0,05$). (Figura: 19A). La actividad LDH concentración $6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, para las tallas < 30 , $30-40$ mm presentó diferencias ($p < 0,05$) frente a las tallas $80-100$ y $110 - 120$ mm, además las tallas $80-100$ y $110 - 120$ mm presentan diferencias ($p < 0,05$). (Figura: 19A). Comparaciones para la concentración $9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ se encontró que la talla < 30 mm presenta menor actividad LDH encontrándose

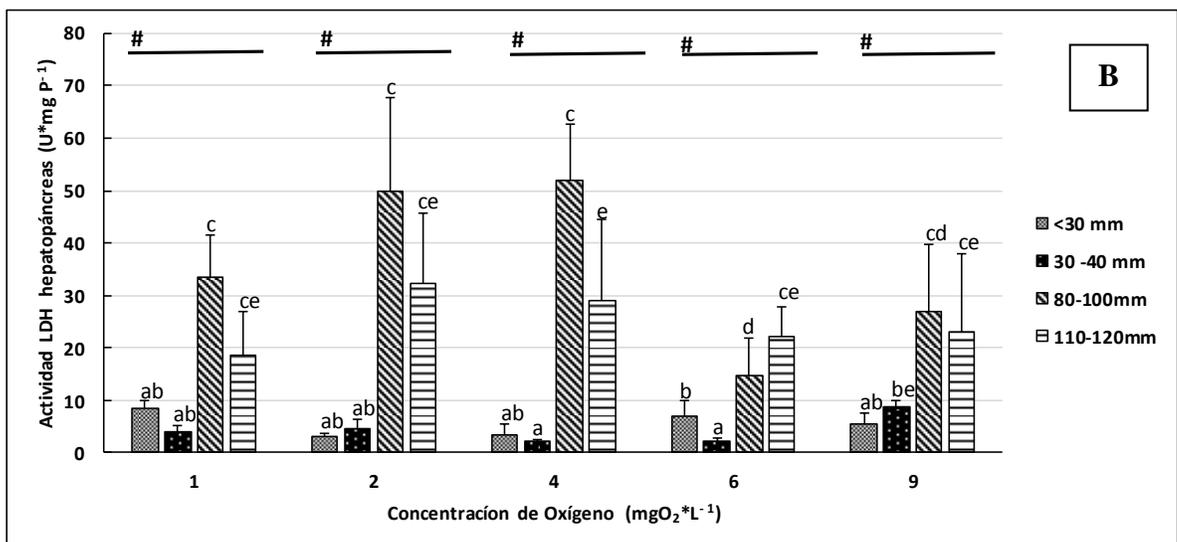
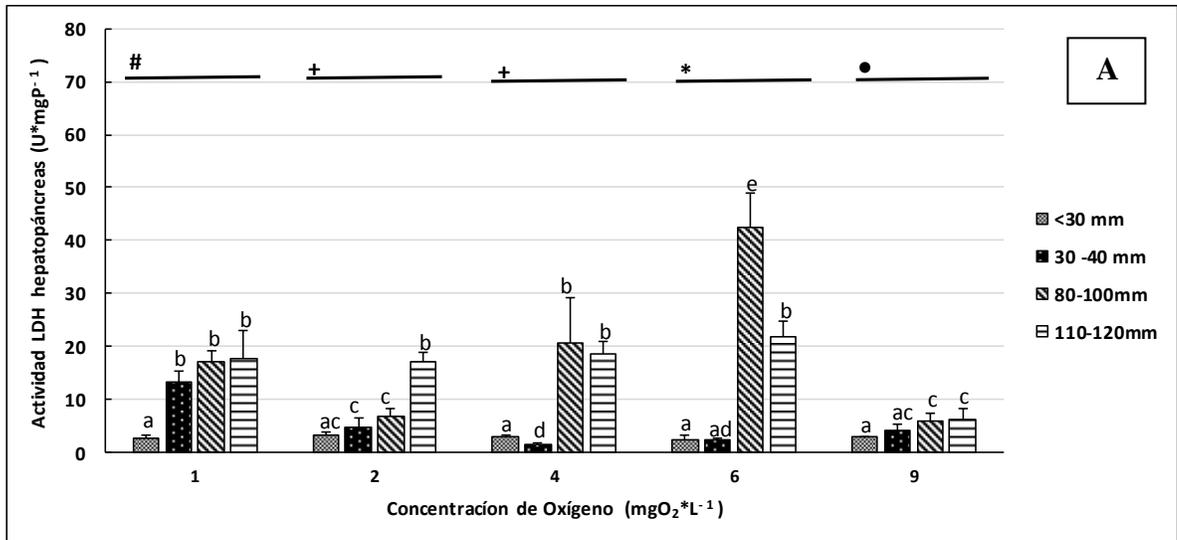
diferencias ($p < 0,05$) frente a las tallas 30-40, 80-100 y 110-120 mm (Figura: 19 A), (ver anexo Tabla 19.).

5.7.4 Actividad LDH en hepatopáncreas exposición crónica. La actividad de LDH en hepatopáncreas ($U \cdot mg P^{-1}$) para *M. edwardsii* a una exposición crónica, se encontró que el factor talla presenta diferencias significativas ($P < 0,05$). El factor concentración no presenta diferencias y la interacción entre los dos factores evaluados se encontró diferencias ($P < 0,05$). (Figura: 19B).

Al evaluar la interacción talla y concentración de oxígeno se encontró que el contenido de la actividad LDH en hepatopáncreas a exposición crónica para talla <30 , 30-40 y 110-120 mm. No presentaron diferencias significativas para ninguna de las concentraciones evaluadas las tallas 80 - 100 mm se encontró que la actividad LDH en las concentraciones de oxígeno; 1, 2 y 4 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ presenta diferencias ($p < 0,05$) al encontrar mayor actividad LDH hepatopáncreas frente a concentración 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ ($p < 0,05$); La concentración 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ no presenta diferencias frente a normoxia (Figura: 19B). (ver anexo Tabla 20.).

Al evaluar la interacción concentración de oxígeno versus tallas se encontró que la actividad LDH hepatopáncreas a exposición crónica en todas las concentraciones evaluadas las tallas <30 y 30-40 mm son menores frente a tallas 80-100 y 110-120 mm, siendo diferentes ($p < 0,05$) en las concentraciones 1, 2, 4 y 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$; las únicas tallas donde se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$). Fueron concentración 6 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ en las tallas <30 y 30-40 mm también para la concentración 4 $mgO_2 \cdot L^{-1}$ las tallas 80 -100 y 110 -120 mm presenta diferencias ($p < 0,05$) (Figura: 19B), (ver anexo Tabla 20.).

Figura 19. Actividad de LDH en hepatopáncreas [$U \cdot mg P^{-1}$] exposición aguda (A) y exposición crónica (B) de *M. edwardsii* a diferentes tallas (>30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) y concentraciones de oxígeno [$mgO_2 \cdot L^{-1}$].



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos concentración vs tallas. Signos sobre barra indican si existe diferencia en consumo de oxígeno frente concentración de oxígeno. Tukey, $p < 0,05$). Promedio \pm SD, $n = 3 - 5$ repeticiones por tratamiento.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Según Hochachka:

En los animales marinos, la adaptación a baja disponibilidad de oxígeno incluye la reducción de las tasas metabólicas, es por esto que bajo condiciones de hipoxia una de las primeras estrategias para la supervivencia, es reducir el gasto energético a través de la depresión del metabolismo. Esto puede ser mediado a través de una reducción en el metabolismo general, regulación de la síntesis de proteínas, disminución y/o modificación de ciertas enzimas reguladoras en las vías aeróbicas y anaeróbicas⁵⁰.

En términos generales la tendencia registrada para las tallas de *M. Edwardsii*, mostró que al ser expuestos a una disminución en la concentración de oxígeno las cuatro tallas evaluadas reducen el metabolismo frente a la menor disponibilidad de oxígeno para exposiciones agudas y crónicas.

Pörtner et al afirman que: “el umbral de la demanda de oxígeno del metabolismo de un animal se denomina tensión de oxígeno crítica (Pc) y se puede utilizar como un índice para medir la sensibilidad de las especies a la hipoxia”⁵¹. Morris y Callaghan reportaron que: “de acuerdo a los valores reportados para crustáceos adultos, la presión parcial crítica (Pc) de O₂ en el agua (PwO₂) para la ventilación y la anaerobiosis en *Cherax destructor*, es inferior a 2,7 kPa”⁵² y Rosas et al: “encontró valores alrededor de 5,9 kPa para camarones *L. setiferus*. En este estudio se puede observar que, para todas las tallas evaluadas, el punto crítico donde los animales presentaron mayor tensión fue entre 1 y 2 mgO₂*L⁻¹ en exposición aguda y crónica”⁵³. El punto crítico se puede describir más sensible para las tallas <30 y 30-40 mm, se puede determinar que esta talla regula de alguna manera su consumo de oxígeno en la exposición crónica tratando de disminuir el punto donde se enfrenta a una exposición severa. En general se puede decir que para esta especie los individuos adultos 80-100 y 110 -120 mm fueron similares de acuerdo a los valores reportados por estos autores.

⁵⁰ HOCHACHKA, PW. Oxygen – A Key Regulatory Metabolite in Metabolic Defense Against Hypoxia. Amer Zool. 1997. 37(1): 595–603.

⁵¹ PÖRTNER, H; DUPONT, S; MELZNER, F; STORCH, D. & THORNDYKE, M. Studies of metabolic rate and other characters across life stages. In: RIESBELL, U; FABRY, VJ; HANSSON, L. & GARRUSO, JP (eds) Guide for best practices in ocean acidification research and data reporting. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010. pp.176–180.

⁵² MORRIS, S. & CALLAGHAN, J. Respiratory and metabolic responses of the Australian Yabby *Cherax destructor* to progressive and sustained environmental hypoxia. Rev. J Comp Physiol. 1998. 168B(1):377– 388.

⁵³ ROSAS, C, et al. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. Rev. Mar Ecol Prog Ser. 1998. 174 (1):67–75.

La tención de oxígeno aguda y crítica para las tallas <30 mm y 30-40 mm indica que en esta especie las tallas inferiores, individuos jóvenes son más sensibles a bajas en la disponibilidad de oxígeno en el medio y su mecanismo de reacción se mantiene en exposiciones largas. Para referirse a estos tipos de adaptaciones Childress y Seibel afirman que:

Existen una amplia variedad de crustáceos pelágicos de diferentes hábitos que viven profundidades oceánicas sobre la capa mínima de oxígeno, agrupándose en dos grupos: organismos capaces de mantener su metabolismo aeróbico en tasas aún más bajas que la concentración de oxígeno en sus entornos y organismos cuyas P_c es mayor que o similar a la concentración de oxígeno más bajo en sus entornos⁵⁴.

Estos autores sugirieron que, para el primer grupo de crustáceos, los valores por debajo de 4 kPa :<2,0 mgO₂*L⁻¹, indican adaptaciones específicas relacionadas con su capacidad para mantener su metabolismo aeróbico a bajas concentraciones de oxígeno. Valores superiores a 4 kPa parecen ser típico de los animales que viven en altos niveles de oxígeno ambiental consecuencia que trae la adaptación limitada para responder a bajos niveles de concentraciones de oxígeno.

Según Guzmán y otros:

En este estudio, las tallas de individuos evaluadas fueron mayormente afectados en las concentraciones 1 y 2 mgO₂*L⁻¹ y que el tiempo de exposición también regula de alguna manera la forma de enfrentarse a dicho evento, de acuerdo a las referencias se encontró que para todas las tallas evaluadas estuvieron por debajo de 4 kPa: <2,0 mgO₂*L⁻¹ para este experimento. Esto indica que esta especie presenta adaptaciones específicas con capacidad para mantener el metabolismo aeróbico a bajas concentraciones de oxígeno, además que las tallas mayores tienen mayor capacidad que las tallas menores porque las tallas jóvenes necesitan de alto nivel de oxígeno ambiental. En jaibas adultas un intervalo de punto crítico podría estar alrededor o superior la mínima Concentración de oxígeno informada para la zona de distribución de crustáceos adultos (3,5 mg O₂ L⁻¹: 8,3 kPa) .^{55,56}.

⁵⁴ CHILDRESS, J.J. & SEIBEL, B.A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. Rev. J Exp Biol. 1998. 201(1):1223–1232.

⁵⁵ GUZMÁN, D. & SILVA, N. Caracterización física y química y masas de agua en los canales australes de Chile entre Boca del Guafo y Golfo Elefantes (Crucero Cimar Fiordo 4). Rev. Cienc Tecnol Mar. 2002. 25(2):45–76.

⁵⁶ SILVA, N. y GUZMÁN, D. Condiciones oceanográficas y químicas entre Boca del Guafo y Fiordo Aysén (Crucero Cimar 7 Fjordos). Rev. Cienc Tecnol Mar. 2006. 29(1):25–44.

Autores como Grieshaber et al “sugirieron que la transición de oxíconformadores en oxireguladores está ligada principalmente a la aparición de procesos anaeróbicos”⁵⁷, Childress y Seibel “sugieren que adaptaciones a bajas concentraciones de oxígeno incluyen cambios en metabolismo y mecanismos para facilitar el consumo de oxígeno anaeróbico”⁵⁸. Según Mangumy Paul et al. “Con estos mecanismos los crustáceos responden a hipoxia mediante el control de transporte de oxígeno y el aumento del gasto cardíaco y la síntesis de hemocianina”^{59,60}.

Según Morris y otros “Algunas de estas respuestas han sido observadas en varias especies de crustáceos, tanto en agua dulce y las especies marinas”^{61,62,63}. Para este estudio un cambio en la concentración oxihemocianina se observó de acuerdo a los niveles de concentración de oxígeno altas 4 y 6 mgO₂* L⁻¹ para las tallas adultas 80 -100 y 110-120 mm en exposición aguda en comparación con los tratamientos con concentración de oxígeno inferior, en individuos jóvenes de jaiba <30 y 30-40 mm en exposición aguda no se analizó el contenido de oxihemocianina. En esta situación, *M. Edwardsii* fue capaz de activar el mecanismo para mejorar cualquiera afinidad de la concentración real o OxyHc al aumentar el nivel de hemocianina. En normoxia 9 mgO₂* L⁻¹ fue inferior la concentración de oxihemocianina, indicando que no hubo ningún mecanismo de reacción frente a esta concentración de oxígeno.

Según Paschke et al. “Todos los mecanismos que pone en marcha los individuos frente a un cambio en el medio y la restricción de energía es provocado por una baja en las concentraciones de oxígeno esto altera la homeostasis en *L. santolla*

⁵⁷ GRIESHABER, MK; HARDEWING, I; KREUTZER, U. & PÖRTNER, HO. Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 1994. 125 (1):44–118.

⁵⁸ CHILDRESS y SEIBEL, Op. cit., pp. 1223–1232.

⁵⁹ PAUL, RJ, et al. Control of oxygen transport in the microcrustacean *Daphnia*: regulation of haemoglobin expression as central mechanism of adaptation to different oxygen and temperature conditions. Acta Physiol Scand. 2004. 182(1):259–275.

⁶⁰ MANGUM, CP. Adaptation of the oxygen transport system to hypoxia in the blue crab, *Callinectes sapidus*. Am Zool, 1997. 37(1):604– 611.

⁶¹ MORRIS, S. y CALLAGHAN, J. Respiratory and metabolic responses of the Australian Yabby *Cherax destructor* to progressive and sustained environmental hypoxia. J Comp Physiol 1998. 168B(1):377– 388.

⁶² BRIDGES, CR. Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implications in a changing world. J Exp Biol. 2001. 204(1):1021–1032.

⁶³ BROWN-PETERSON, et al. Molecular indicators of hypoxia in blue crab, *Callinectes sapidus*. Mar Ecol Prog Ser. 2005. 288(1):203–215.

(como constituyentes hemolinfáticos) y, finalmente, la concentración de Mg, afectando actividad de Hc, u otra medida que se puede dar es que los efectos de la síntesis hemocianina sean respuesta primaria para evitar la hipoxia celular.”⁶⁴ En este estudio un incremento significativo en OxyHc se observó que jaibas de 80-100 y 110 -120 mm mantenidos entre 4 y 6 mgO₂* L⁻¹ en exposición aguda, lo que sugiere que en estos niveles de oxígeno *M. Edwardsii* puede sintetizar OxyHc como una primera línea de respuesta cuándo se reduce a estos rangos, y mecanismos implicados en la síntesis de Hc serán marcadamente afectados en los niveles de concentración de oxígeno menores a los 4 mgO₂* L⁻¹. En los niveles expuesto a concentraciones de oxígeno más bajos 1, 2 mgO₂* L⁻¹, la concentración OxyHc se redujo, aunque la cantidad proteína total en glándula digestiva (hepatopáncreas) se mantuvo estable para concentración 1 y 2 mgO₂*L⁻¹ en exposición aguda.

Frente a una exposición crónica en jaibas la actividad de la oxihemocianina se encontró diferencias significativas con una tendencia a estabilizarse en comparación con normoxia para las jaibas adultas 80-100 y 110-120 mm además de presentar mayor cantidad de oxihemocianina frente individuos jóvenes <30 mm y 30 -40 mm en las concentraciones 1,2,4,6 y 9 mgO₂* L⁻¹ donde también se presentó estable frente a la disponibilidad de oxígeno, comparados con lo encontrado por Terwilliger y Dumler⁶⁵, en juveniles tempranos de *cancer magister* donde la actividad hemocianina fue 50% menor que Hc adulto, y es muy sensible a las concentraciones de magnesio. Provocando que pueda existir una alteración en la homeostasis celular.

Autores hacen referencia a eventos que se pueden presentar cuando los organismos se enfrentan exposiciones crónicas frente a eventos de disponibilidad de oxígeno. Brouwer et al. mostró que: “después de una exposición de 3 días a la hipoxia severa, *Palaemonetes pugio* fue capaz de regular al alza los genes de síntesis de ATP-fchains la síntesis de ATP-D- y (ATPsyn-dy ATPsyn-f), tres genes hemocianina (Hcy II, III Hcy y la Hcy IV), la troponina C, y la ferritina”⁶⁶. Ese estudio sugirió que un intento de los camarones para aumentar el consumo de oxígeno/ transporte (hemocianina), la síntesis de ATP, y transporte (troponina C) podría ser ejercida como una primera respuesta a niveles bajos de concentraciones de oxígeno. Estos autores observaron también que después de una exposición de 7 días a hipoxia crónica, la adaptación inducida por la

⁶⁴ PASCHKE, K. et al. Effect of dissolved oxygen level on respiratory metabolism, nutritional physiology, and immune condition of southern king crab *Lithodes santolla* (MOLINA, 1782) (Decapoda, Lithodidae). *Marine biology*, 2010. 157(1), 7-18.

⁶⁵ TERWILLIGER, NB. & DUMLER, K. Ontogeny of decapod crustacean hemocyanin: effects of temperature and nutrition. *Rev. J Exp Biol*, 2000. 204(2):1013–1020.

⁶⁶ BROUWER, M, et al. Molecular and whole animal responses of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, exposed to chronic hypoxia. *J Exp Mar Biol Ecol*. 2007. 341(2):16–31.

exposición de 3 días se vuelve insuficiente, y ATP sintetasa, hemocianina, y la troponina ya no son sobre reguladas. Estos resultados podrían ser utilizados para explicar cómo la hemocianina de la Jaiba disminuye cuando las concentraciones de oxígeno caen por debajo de $4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ cuando ocurre una exposición aguda y determinando también que el accionamiento regulador solo se presenta en periodos cortos de exposición. Además, la aparente contradicción en la disminución de la cantidad de hemocianina cuando se necesita más en concentraciones de oxígeno más baja puede ser el resultado de un suministro de energía disminuida.

La Hemocianina no sólo está regulado por el oxígeno disuelto, el resultado en la cantidad de hemocianina es muy dinámico, modulada por factores de estrés, temperatura, estado nutricional, oxígeno disponible, y parece estar sometido a una síntesis casi continua. En los camarones, la concentración OxyHc depende de características nutricionales de la dieta, lo que indica que su síntesis es modulada principalmente por proteínas de la dieta y la condición nutricional, Senkbeil y Wriston⁶⁷; Chen y Cheng^{68,69}; Chen et al⁷⁰; Pascual et al⁷¹.

Al mismo tiempo, muchos informes indican que la concentración de oxígeno afecta a consumo de alimentos en crustáceos debido principalmente a una reducción de la energía dirigida al proceso digestivo.

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que proteínas de las glándulas digestivas (hepatopáncreas) en jaibas sometidas a exposición aguda presentan una disminución en concentraciones de oxígeno de $1 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$: 2 kpa aproximadamente, evento que también fue observado en santolla mantenido a 2 kPa, Kurt et al⁷² y contrarrestado con los datos encontrados por Pascual et al⁷³ en

⁶⁷ SENKBEIL, EG. y WRISTON, JG. Hemocyanin synthesis in the American lobster, *Homarus americanus*. *Comp Biochem Physiol*, 1981. 68B(2):163–171.

⁶⁸ CHEN, JC. y CHENG, S-Y. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquat Toxicol*, 1993. 27(1):281–292.

⁶⁹ CHEN, JC. y CHENG, S-Y. Studies in hemocyanin and hemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. *Comp Biochem Physiol*, 1993. 106B:293–296.

⁷⁰ CHEN, JC; CHENG, S-Y. y CHEN, CT. Changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp Biochem Physiol*, 1994. 109A:339–347.

⁷¹ PASCUAL, C, et al. Effect of a size-based selection program on blood metabolites and immune response of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different dietary carbohydrate levels. *Aquaculture* 2004. 230(1):405–416.

⁷²PASCHKE, Op. cit., pp. 7-18.

camarones que se mantuvieron bajo condiciones de hambre para 7- 14 días, demuestra que la falta de alimentos y oxígeno disuelto regula el estado nutricional de los crustáceos. Para tal caso, Bernatis et al. mostró que: “*C. magister* prefiere un rango de tensión de oxígeno entre 8 y 17 kPa, pero que entrarían a alimentarse en aguas hipóxicas graves. Aunque *C. magister* es capaz de utilizar mecanismos fisiológicos para controlar los procesos digestivos en la hipoxia”^{74, 75}, es evidente que a partir de los resultados actuales los mecanismos fisiológicos involucrados en la respuesta en bajas disponibilidad de oxígeno (condiciones de hipoxia) pueden afectar a la síntesis de moléculas, tales como proteínas o hemocianina, con un papel importante en las adaptaciones fisiológicas de crustáceos.

En otros estudios para el camarón expuesta en el corto plazo inanición (120 h), Sanchez-Paz et al. mostraron que: “proteínas plasmáticas se mantienen constantes durante el experimento y llegado a la conclusión de que la movilización de proteínas entre el músculo, reservas y glándula digestiva podrían ser utilizados como una estrategia fisiológica del camarón para mantener durante periodos cortos de ayuno”⁷⁶.

Otro estudio de, Muhlia-Almazán y García-Carreño mostró que: “las proteasas digestivas totales, tripsina, quimotripsina de *L. vannamei* se mantuvo constante durante la inanición 120 h, indicando que la actividad, así como la síntesis de proteasas digestivas, se mantiene constante”⁷⁷.

La concentración total de proteína de hemolinfa en *M edwardsii* no cambio 1- 9 mgO₂*L⁻¹ para exposición crónica y exposición aguda. Pascual et al. y Rosas et al. Afirman que: “aunque la proteína de la sangre está constituida principalmente por hemocianina (60-90%)”^{78, 79}, valores inferiores a 50% han sido reportado para

⁷³ PASCUAL, C, et al. Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 2006. 251(1):416–429.

⁷⁴ BERNATIS, JL; GERSTENBERGER, S. y MCGAW, IJ. Behavioural responses of Dungeness crabs, *Cancer magister*, during feeding and digestion in hypoxia. *Rev. Mar Biol.* 2007. 150(1):941–951.

⁷⁵ MCGAW, IJ. Does feeding limit cardiovascular modulation in the Dungeness crab *Cancer magister* during hypoxia? *J Exp Biol*, 2005. 208(1):83–9.

⁷⁶ SÁNCHEZ-PAZ A, et al. Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J Exp Mar BiolEcol*, 2007. 340(1):184–193.

⁷⁷ MUHLIA-ALMAZÁN, A. y GARCÍA-CARREÑO, F. Influence of molting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. *Comp Biochem Physiol.* 2002. 133B(1):383–394.

⁷⁸ ROSAS, C, et al. Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). *Rev. Mar Biol.* 2004. 145(1):401–413.

Scylla serrata y *Penaeus*⁸⁰, lo que sugiere que la proteína depende del tipo de organismos, estado nutricional, y la condición ecológica, entre otros. Concentraciones OxyHc bajas se la observaron en el presente estudio encontrándose valores $< (0,2 \text{ mmol l}^{-1})$ en las tallas 80-100 y 110-120 mm en exposición aguda en normoxia, la OxyHc fue mayor para todas las tallas en exposición crónica. Los valores encontrados fueron contrastados con valores que se observaron en literatura en otros crustáceos de aguas frías y profundas, como *Homarus gammarus*, *H. Arenaeus* ($0,2 \text{ mmol l}^{-1}$), la *Cigala Norvegicus* ($0,39 \text{ mmol l}^{-1}$)⁸¹ y depurador *Liocarcinus*⁸².

Según Engel y Brouwer:

Esta similitud sugiere que la proporción relativamente baja OxyHc/proteína podría ser una condición común entre especies de crustáceos. La proporción OxyHc/proteína se vio afectados por la disponibilidad de oxígeno y siguió el mismo comportamiento que la observada para valores OxyHc: valores bajos en los animales mantenidos a 1 y 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ y altos valores en los animales mantenidos a 4 y 6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ en exposición aguda, apoyando la idea que tanto OxyHc y proteínas se modularon por la forma en el cual el flujo de hemolinfa es desviado de la glándula digestiva, el sitio principal para la síntesis de proteínas y hemocianina⁸³.

Bridges, afirma que: “en el primer caso, la actividad OxyHc se puede obtener a través del incremento de lactato que contrarresta el efecto Bohr en condiciones de hipoxia efecto que se dio en jaibas a exposición aguda en las concentraciones 1, 2 $\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ donde se encontró aumento en concentraciones de lactato y diferencias significativas frente a concentraciones oxígeno expuestas”⁸⁴.

⁷⁹ PASCUAL, C; GAXIOLA, G. y ROSAS, C. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Mar Biol*, 2003. 142(2):735–745.

⁸⁰ CHEN, JC. y CHENG, S-Y. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Rev. Aquat Toxicol*, 1993. 27(1):281–292.

⁸¹ HAGERMAN, L. y UGLOW, RF. Effects of hypoxia on the respiratory and circulatory regulation of *Nephrops norvegicus*. *Rev. Mar Biol*. 1985. 87(1):273–278.

⁸² SPICER, JI. y BADEN, SP. Natural variation in the concentrations of haemocyanin from three decapod crustaceans, *Nephrops norvegicus*, *Liocarcinus depurator* and *Hyas araneus*. *Rev. Mar Biol*. 2000. 136(1):55–61.

⁸³ ENGEL, DW. y BROUWER, M. Short-term metallothionein and copper changes in blue crabs at ecdysis. *Rev. Biol Bull*. 1991. 180(2):447–452.

⁸⁴ BRIDGES, CR. Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implications in a changing world. *J Exp Biol*. 2001. 204 (1):1021–1032.

Según Bridges & Brand “en esta investigación se analizó la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) que cataliza la conversión de piruvato a lactato, principal producto final de la hipoxia en crustáceos”⁸⁵, por lo que es considerada como el potencial que tienen los animales para llevar a cabo el metabolismo anaeróbico. Para *M. Edwardsii* en exposición aguda se encontraron diferencias significativas para esta enzima en hemolinfa entre los diferentes tratamientos de la tallas 80 - 100 mm en las concentraciones de oxígeno 1 y 2 mg O₂*L⁻¹ se observó una tendencia a disminuir su actividad, lo mismo ocurrió para la talla 110-120 mm disminuyó su actividad en la concentración 1 y 2 mg O₂*L⁻¹, para estas tallas no ocurre lo mismo con el contenido de lactato que aumenta en las concentraciones más bajas (1,2 mg O₂*L⁻¹) para las tallas adultas. Indicando que el lactato aumenta cuando la concentración de oxígeno disminuye y la actividad LDH disminuye al aumentar el lactato encontrando que *M. Edwardsii* logra sostener el metabolismo anaeróbico, frente a una exposición aguda (24 horas) según lo registrado por Alter et al. “Para tallas de jaiba juveniles < 30 y 30-40 mm presentaron mayor actividad de LDH en las concentraciones más bajas a la que fueron expuestas por 24 horas en comparación con las tallas adultas, sin embargo, contenido de lactato fue mayor para las concentraciones 1 y 2 mg O₂*L⁻¹”⁸⁶, de esta manera se puede decir que en esta etapa de vida son capaces de sostener el metabolismo anaeróbico, pero a un mayor costo energético.

La cantidad de lactato en la glándula digestiva (hepatopáncreas) en jaibas expuestas en forma aguda presento un incremento hacia las concentraciones más bajas para todas las tallas de jaiba evaluadas de las concentraciones (6 – 1 mg O₂*L⁻¹), sin embargo también se encontró que la actividad LDH para tallas adultas 80-100 y 110 -120 fue mayor que las expuestas en normoxia (9 mg O₂*L⁻¹), Para las tallas de jaiba juveniles, <30 y 30-40 mm solo se observó un incremento en la concentración 1 mg O₂*L⁻¹ si encontrarse diferencias, si bien es cierto que todas las tallas son capaces sostener el metabolismo anaeróbico, frente a una exposición aguda (24 horas), el costo para regular dicho efecto es más alto para individuos jóvenes que para individuos adultos de *M. Edwardsii*.

En contraste con la exposición aguda para todas las tallas de *M. Edwardsii* a exposición crónica (7 días), la actividad de LDH en hemolinfa, se observó que en juveniles de jaiba <30 mm, aumentó su actividad LDH al ser expuestos a la concentración más baja experimentada (1 mg O₂*L⁻¹) respecto a normoxia, la talla 30-40 mm no presentó diferencias frente a las concentraciones evaluadas pero se ve un ligero incremento en la concentración 1 mg O₂*L⁻¹ (Figura 8B). Sin embargo, el contenido de lactato disminuyó drásticamente en las concentraciones

⁸⁵ BRIDGES, C. R. y BRAND, A. R. The effect of hypoxia on oxygen consumption and blood lactate levels of some marine Crustacea. Comp. Rev. Biochem. Physiol. 1979. 1(2):3-5.

⁸⁶ ALTER, K, et al. Differential physiological responses to oxygen availability in early life stages of decapods developing in distinct environments. Mar Biol. 2015. 162(1):1111-1124.

por debajo de la normoxia (4, 2 y 1 mg O₂*L⁻¹) (Figura 5B). Tallas de jaibas adultas 80-100 y 110 -120 mm el contenido de lactato fue menor para todas las concentraciones experimentadas sin marcadas diferencias. Además, se presentó aumento en la concentración de lactato en normoxia en las tallas <30 y 30-40 mm, evento que se pudo haber presentado por estrés de los animales, siendo estas tallas para esta concentración diferentes a las demás concentraciones evaluadas (Figura 5B).

La actividad LDH de la glándula digestiva en una exposición crítica para talla <30 y 30 -40 mm no presenta diferencias para ninguna de las concentraciones evaluadas, las tallas adultas 110 – 120 mm no presentaron diferencias frente a las concentraciones evaluadas. En cuanto al contenido de lactato en hepatopáncreas en exposición crítica para las tallas <30 y 30 -40 mm la concentración 1 mg O₂*L⁻¹ es mayor con diferencias frente a las demás concentraciones evaluadas, las tallas 80 -100 y 110 -120 mm no presentan diferencias . Además cabe destacar que la actividad LDH fue mayor para tallas de jaibas adultas y menor para tallas jóvenes en la concentración 1 mg O₂*L⁻¹ y que en relación al contenido de lactato este fue mayor para tallas jóvenes y menor para tallas adulta, al encontrar este comportamiento en esta investigación se puede decir que las tallas de jaiba experimentadas (<30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) posee la capacidad para realizar el metabolismo anaeróbico en exposición aguda, además se logró demostrar que en una exposición crónica, el bajo contenido de lactato en hemolinfa y al no encontrarse diferencias en la análisis de lactato en glándula digestiva para las tallas 80-100 y 110-120 mm demuestra que este no se llevó a cabo. Sin embargo, para tallas <30 -30-40 mm se encontró bajo contenido de lactato en hemolinfa, pero el aumento de lactato en hepatopáncreas para estas tallas demuestra que el metabolismo anaeróbico se llevó a cabo como mecanismo a la baja disponibilidad de oxígeno.

Childress, sugirió que: “la tolerancia a la hipoxia en los crustáceos puede estar influenciada por las presiones parciales de oxígeno en el medio ambiente natural. Por lo que la respuesta encontrada en este estudio puede ser reconocida como una adaptación a su hábitat”⁸⁷, que según los registros de Silva, “presentan una concentración de oxígeno disuelto entre 4 y 6 mg O₂*L⁻¹ en fiordos y canales australes de Chile”⁸⁸. De acuerdo con lo registrado se postula que todas las tallas de *M. edwardsii* experimentadas al detectar una baja importante en la disponibilidad de oxígeno durante periodos prolongados, mantiene el metabolismo aeróbico por sobre el anaeróbico, debido a la baja eficiencia que representa el uso de esta

⁸⁷ CHILDRESS, J. The respiratory rates of mid-water crustaceans as a function of depth of occurrence and relation to the oxygen minimum layer off Southern California. *Comp. Biochem. Physiol.* 1975. 50^a(1): 787-799.

⁸⁸ SILVA, N. y GUZMÁN, D. Condiciones oceanográficas y químicas entre Boca del Guafo y Fiordo Aysén (Crucero Cimar 7 Fiordos). *Cienc Tecnol Mar.* 2006. 29(1):25–44.

última vía como fuente de energía. Evidenciando el uso de vías anaeróbicas probablemente solo como mecanismo de emergencia al corto plazo.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

7.1 CONCLUSIONES

Se encontró que *M. edwardsii* durante su ciclo de vida tienden disminuir los efectos de la hipoxia, regulando total o parcialmente los periodos de exposición y la concentración de oxígeno; exposiciones crónicas necesita de mecanismos más eficientes para la obtención de energía para poder llevar a cabo estos mecanismos, evidenciando que pueden sobrellevar de mejor manera esta condición en el largo plazo a través de cambios relevantes en la síntesis de enzimas y metabolitos.

En Todas las tallas evaluadas se encontró que, el punto crítico donde los animales presentaron mayor tensión fue entre 1 y 2 mgO₂*L⁻¹. Además se pudo determinar, la actividad OxyHc se puede obtener a través del incremento de lactato que contrarresta el efecto Bohr en condiciones de hipoxia efecto que se dio en jaibas a exposición aguda en las concentraciones 1, 2 mgO₂* L⁻¹ donde se encontró aumento en concentraciones de lactato y diferencias significativas frente a concentraciones oxígeno expuestas. Jaibas adultas mantenidas entre 4 y 6 mgO₂* L⁻¹ en exposición aguda, puede sintetizar OxyHc como una primera línea de respuesta disminuyendo cuando las concentraciones de oxígeno caen por debajo de 4 mgO₂* L⁻¹ cuando ocurre una exposición aguda y determinando también que el accionamiento regulador solo se presenta en periodos cortos de exposición como mecanismo de emergencia.

Todas las tallas de *M. edwardsii* experimentadas al detectar una baja importante en la disponibilidad de oxígeno durante periodos prolongados, mantiene el metabolismo aeróbico por sobre el anaeróbico, debido a la baja eficiencia que representa el uso de esta última vía como fuente de energía.

Las tallas de jaiba experimentadas (<30, 30-40, 80-100 y 110-120 mm) posee la capacidad para realizar el metabolismo anaeróbico en exposición aguda, además se logró demostrar que, en una exposición crónica, el bajo contenido de lactato en hemolinfa y al no encontrarse diferencias en el análisis de lactato en glándula digestiva para las tallas 80-100 y 110-120 mm demuestra que este no se llevó a cabo. Sin embargo, para tallas <30 -30-40 mm se encontró bajo contenido de lactato en hemolinfa, pero el aumento de lactato en hepatopáncreas para estas tallas demuestra que el metabolismo anaeróbico se llevó a cabo como mecanismo a la baja disponibilidad de oxígeno. Indicando que las tallas adultas experimentadas son las presentan una mayor capacidad para soportar la disminución de oxígeno, en contraste con las de menor tamaño, además se puede decir que los mecanismos de adaptación están ligados al medio donde se desarrolla la etapa del ciclo de vida y a las necesidades fisiológicas.

La importancia de lo observado para jaiba marmola *M. edwardsii* es un referente de la capacidad de esta especie para hacerle frente al aumento a la fluctuación constante de variables medio ambientales como la concentración de oxígeno en el mar que cada vez son más adversas debido al deterioro provocado por factores medio ambientales y factores antropogénico, además de contribuir con la oportunidad de encontrar esta especie de crustáceo como promisorio para la producción acuícola en un principio a pequeña escala al generar el cultivo de esta especie con las condiciones óptimas, que garanticen el desarrollo de un cultivo sostenible y sustentable, teniendo en cuenta también que esta especie es explotada en gran escala por la industria pesquera en todo el territorio Chileno lo que ha traído la disminución de las poblaciones naturales.

7.2 RECOMENDACIONES

En este experimento se evaluó tallas de *M. edwardsii* entre juveniles y adultos se recomienda evaluar el efecto de la exposición a hipoxia de la etapa larvaria así como también huevos fecundados de esta especie, ya que en estas etapas de vida esta especie es más sensible a bajas en la concentración de oxígeno, pudiendo conocer otras variables importantes para el estudio de estos animales frente a variaciones de la disponibilidad de oxígeno en el medio.

En este experimento se pudo determinar de efecto de consumo de oxígeno frente a diferentes concentraciones de hipoxia en diferentes tallas de *M. edwardsii* su mecanismo al enfrentarse a los casos de hipoxia en cuanto al tiempo de exposición y a la disponibilidad de oxígeno en el medio. Se recomienda aplicar otras medidas metabólicas como la actividad de enzimas como la catalasa y la oxireductasa que están involucradas en el proceso de óxido reducción metabólica, las cuales nos pueden llevar a determinar más claramente lo que pasa frente a eventos de hipoxia en el metabolismo de esta especie.

En este experimento la concentración de lactato en hemolinfa con concentraciones superiores para las tallas <30 y 30-40 mm que se debió a efecto del estrés por factores externos a la hipoxia como ruido, tránsito de personal de laboratorio y al tamaño de las cámaras respirométricas que si bien es cierto la utilización de estas cámaras logró mantener los niveles de hipoxia el tamaño de las cámaras puede generar ruido en los resultados a posterior al medio del consumo de oxígeno. Por tal razón se recomienda utilizar cámaras respirométricas más grandes para evitar ruido en los experimentos.

Debido a que el efecto de la hipoxia en el metabolismo celular se expresa como inhibición rápida y en gran magnitud de la síntesis de proteínas, la hipoxia inducida podría ocurrir en el nivel de transcripción de genes o en la traducción, afectando directamente la relación ARN/ADN. Se recomienda realizar la cuantificación de ADN y ARN que ha venido siendo en la actualidad como una herramienta prometedora para una evaluación rápida de la condición nutricional o un análisis

de las tasas de crecimiento y mecanismos, a saber, en las larvas de peces y otras especies de zooplancton.

Este experimento se llevó a cabo con la adecuación de los animales experimentados con una dieta de chorito (*Mytilus Chilensis*) y posterior ayuno antes de ser expuestos a los experimentos realizados, se recomienda evaluar la incorporación de alimento en las exposiciones aguda y crónica para todas las concentraciones evaluadas de esta manera también evaluar comportamiento frente a la presa y cantidad de ingesta y metabolismo energético que van de la mano con el consumo de oxígeno.

La temperatura es un factor que afecta la dinámica del metabolismo en los organismos por tanto se recomienda determinar si el efecto temperatura, concentración de oxígeno y talla, son factores que determinan la manera de oxiconformar u oxíregular frente a exposición aguda o crónica y poderlos comparar con los resultados obtenidos en este experimento.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR, R. et al. The timing and route of movement and migration of postcopulatory female blue crabs, *Callinectes sapidus* Rathbun, from the upper Chesapeake Bay. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 2005. 319 (1): 130.
- AIRRIES, C.N. and MCMAHON, B.R. Cardiovascular adaptations enhance tolerance of environmental hypoxia in the crab *Cancer magister*. *Rev. J Exp Biol.* 1994. 190 (1): 50.
- ALTER, K, et al. Differential physiological responses to oxygen availability in early life stages of decapods developing in distinct environments. *Mar Biol.* 2015. 162(1):1111-1124.
- ANGER, K. Contributions of larval biology to crustacean research: a review. *Invert. Reprod. Develop.* 2006. 49(1):176-205.
- BELMAN, B. W. and CHILDRESS. J. J. Oxygen consumption of the larvae of the lobster *Panulirus interruptus* (Randall) and the crab *Cancer productus* Randall. *Comp. Biochem. Physiol.* 1973. 44A(1): 821-828.
- BERNATIS, JL; GERSTENBERGER, S. y MCGAW, IJ. Behavioural responses of Dungeness crabs, *Cancer magister*, during feeding and digestion in hypoxia. *Rev. Mar Biol.* 2007. 150(1):941–951.
- BLOUIN, C.C., Pagé; SOUCY, G.M. and D.E, R. Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor-1 α . *Rev. Blood.* 2004. 103 (1): 1124– 1130.
- BRIDGES, C. R. y BRAND, A. R. The effect of hypoxia on oxygen consumption and blood lactate levels of some marine Crustacea. *Comp. Rev. Biochem. Physiol.* 1979. 1(2):3-5.
- BRIDGES, CR. Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implications in a changing world. *J Exp Biol.* 2001. 204 (1):1021– 1032.
- BROUWER, M, et al. Molecular and whole animal responses of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, exposed to chronic hypoxia. *J Exp Mar Biol Ecol.* 2007. 341(2):16–31.
- BROWN-PETERSON, et al. Molecular indicators of hypoxia in blue crab, *Callinectes sapidus*. *Mar Ecol Prog Ser.* 2005. 288(1):203–215.

CENTRO REGIONAL DE ESTUDIOS Y EDUCACIÓN AMBIENTAL.. CREA. Proyecto Mecesus Ant0003 "Incorporación de Valores de Desarrollo Sustentable en los Profesionales que forma la Universidad de Antofagasta". Chile: Guía de biodiversidad, 2013. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: <http://www.uantof.cl/crea/guia%20crustaceos.pdf>.

CHAN, F. et al. Emergence of Anoxia in the California Current Large Marine Ecosystem. *Science*. 2008. 319 (5865): 920.

CHEN, JC. y CHENG, S-Y. Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein level and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Rev. Aquat Toxicol*, 1993. 27(1):281–292.

CHEN, JC. y CHENG, S-Y. Studies in hemocyanin and hemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex, size and moulting cycle. *Comp Biochem Physiol*, 1993. 106B:293–296.

CHEN, JC; CHENG, S-Y. y CHEN, CT. Changes of hemocyanin, protein and free aminoacid levels in the hemolymph of *penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. *Comp Biochem Physiol*, 1994. 109A:339–347.

CHILDRESS, J. The respiratory rates of mid-water crustaceans as a function of depth of occurrence and relation to the oxygen minimum layer off Southern California. *Comp. Biochem. Physiol*. 1975. 50^a(1): 787-799.

CHILDRESS, J.J. and SEIBEL, B.A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. *Rev. J. Exp. Biol*. 1998. 201(1): 1223–1232.

CISTERNA, J; SALDÍAS, G.S. and CÁCERES, C. Efecto de la hipoxia en la conducta de forrajeo de *Cancer setosus* (Molina, 1782) (Crustacea: Decapoda) alimentado con *Mytilus chilensis* (Hupé, 1854) *Rev. Biol. Mar. Oceanog*. 2008. 43 (2): 419-423.

DE WACHTER, B; SARTORIS, F.J. and PÖRTNER, H. The anaerobic end product lactate has a behavioural and metabolic signalling function in the shore crab *Carcinus maenas*. *En: J. Exp. Biol*. 1997. 200 (2): 1015–1024.

DÍAZ, R.J. and ROSENBERG, R. Marine benthic hypoxia. A review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanogr. Rev. Mar. Biol. Annu*. 1995. 33 (1): 245–303.

ENGEL, DW. y BROUWER, M. Short-term metallothionein and copper changes in blue crabs at ecdysis. *Rev. Biol Bull*. 1991. 180(2):447–452.

FONDO DE INVESTIGACION PESQUERA. Estado actual del conocimiento de las principales especies de jaibas a nivel nacional. FIP. Chile: Universidad de Concepción, Departamento de Oceanografía, 2007. p. 233.

FUENTES, Juan Pablo. Distribución espacio temporal de *Metacarcinus edwardsii* (Bell 1835) (Decápoda: *Brachyura*) en el sistema estuarino de los Ríos Valdivia y Tornagaleones. [Tesis de Grado de Licenciado en Biología Marina y Título Profesional de Biólogo Marino]. Chile: Valdivia, 2013. p.10.

GEBAUER, P; PASCHKE, K. and ANGER, K. Seasonal variation in the nutritional vulnerability of first-stage larval porcelain crab, *Petrolisthes laevigatus* (Anomura: Porcellanidae) in southern Chile. Rev. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2010. 386 (1):103-112.

GORDON, M. S. Anaerobiosis in marine sandy beaches. Rev. Science. 1960. 132 (1): 616 –617.

GRANTHAM, B.A. et al. Upwelling-driven nearshore hypoxia signals ecosystem and oceanographic changes in the northeast Pacific. Nature: 2004. 429 (2): 749-754.

GRIESHABER, M.K; HARDEWING, I; KREUTZER, U. and PÖRTNER, H.O. Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1994. 125 (1): 44–118.

GRIESHABER, MK; HARDEWING, I; KREUTZER, U. & PÖRTNER, HO. Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 1994. 125 (1):44–118.

GUZMÁN, D. & SILVA, N. Caracterización física y química y masas de agua en los canales australes de Chile entre Boca del Guafo y Golfo Elefantes (Crucero Cimar Fiordo 4). Rev. Cienc Tecnol Mar. 2002. 25(2):45–76.

HAGERMAN, L. Physiological flexibility; necessity for life in hypoxia and sulphidic habitats. Hydrobiologia. 1998. 375(376): 241–254.

HAGERMAN, L. y UGLOW, RF. Effects of hypoxia on the respiratory and circulatory regulation of *Nephrops norvegicus*. Rev. Mar Biol. 1985. 87(1):273–278.

HOCHACHKA, P.W. and SOMERO, G.N. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. New York: Oxford University Press, 2002. p.40.

HOCHACHKA, PW. Oxygen – A Key Regulatory Metabolite in Metabolic Defense Against Hypoxia. Amer Zool. 1997. 37(1): 595–603.

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP). Monitoreo de la pesquería nacional de jaibas en las X y XI regiones. Proyecto FIP N° 2004-16. s.l.: Valparaíso, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. Informe anual medio ambiente. Chile: s.n., 2010. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico_estadisticas_medio_ambiente/pdf/anuario_medio_ambiente_2010.pdf

LEVIN, L.A. Oxygen minimum zone benthos: adaptation and community response to hypoxia. *Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev.* 2003. 41(1): 1–45.

LI, T. and BROUWER, M. Hypoxia-inducible factor, gsHIF, of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*: molecular characterization and response to hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.* 2007. 147 (1): 11–19.

MANGUM, CP. Adaptation of the oxygen transport system to hypoxia in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Am Zool.* 1997. 37(1):604– 611.

MCGAW, I.J. and MCMAHON, B.R. Balancing tissue perfusion demands: cardiovascular dynamics of *Cancer magister* during exposure to low salinity and hypoxia. *J. Exp. Zool.* 2003. 295A(1): 57– 70.

MCGAW, IJ. Does feeding limit cardiovascular modulation in the Dungeness crab *Cancer magister* during hypoxia? *J Exp Biol*, 2005. 208(1):83–9.

MCMAHON, B.R. Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Rev. Resp. Physiol.* 2001. 128(1): 349–364.

MORALES, C.E; HORMAZÁBAL, S.E. and BLANCO, J.L. Interannual variability in the mesoscale distribution of the depth of the upper boundary of the oxygen minimum layer off northern Chile (18 24 S): Implications for the pelagic system and biogeochemical cycling. *J. Mar. Res.* 57. 1999. 2 (1): 909- 932.

MORRIS, S. & CALLAGHAN, J. Respiratory and metabolic responses of the Australian Yabby *Cherax destructor* to progressive and sustained environmental hypoxia. *Rev. J Comp Physiol.* 1998. 168B(1):377– 388.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). FAO 2012. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s.pdf

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. Estado actual del cultivo de moluscos bivalvos en Chile. Chile: Iker Uriarte Instituto de Acuicultura, Universidad Austral de Chile CIEN Austral Puerto Montt, Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. FAO. 2010. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014]. Disponible en internet: [file:///C:/Users/MUNDO%20SISTEMAS/Downloads/146853%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/MUNDO%20SISTEMAS/Downloads/146853%20(3).pdf)

PASCUAL, C, et al. Effect of a size-based selection program on blood metabolites and immune response of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different dietary carbohydrate levels. *Aquaculture* 2004. 230(1):405–416.

PASCUAL, C; GAXIOLA, G. y ROSAS, C. Blood metabolites and hemocyanin of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: the effect of culture conditions and a comparison with other crustacean species. *Mar Biol*, 2003. 142(2):735–745.

PASCHKE, K. et al. Effect of dissolved oxygen level on respiratory metabolism, nutritional physiology, and immune condition of southern king crab *Lithodes santolla* (MOLINA, 1782) (Decapoda, Lithodidae). *Marine biology*, 2010. 157(1), 7-18.

PAUL, RJ, et al. Control of oxygen transport in the microcrustacean *Daphnia*: regulation of haemoglobin expression as central mechanism of adaptation to different oxygen and temperature conditions. *Acta Physiol Scand*. 2004. 182(1):259–275.

PÖRTNER, H; DUPONT, S; MELZNER, F; STORCH, D. & THORNDYKE, M. Studies of metabolic rate and other characters across life stages. In: RIESBELL, U; FABRY, VJ; HANSSON, L. & GARRUSO, JP (eds) *Guide for best practices in ocean acidification research and data reporting*. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010. pp.176–180.

Proyecto HUAM AQ12I0010. “Hacia Una Acuicultura Mundial” (HUAM), del Programa FONDEF, denominado “Paquete Tecnológico: Diversificación Productiva de las APES Mediante Sistema de Cultivos Integrados”, Chile: Región de los Lagos, 2013. p. 260.

RETAMAL, M. et al. Estado actual del conocimiento de las principales especies de Jaibas a nivel nacional. Santiago de Chile: Fondo Investigación Pesquera, Informes Técnicos FIP, 2009. [en línea] [Citado 25 de mayo de 2014] Disponible en internet: <http://www.fip.cl/FIP/Archivos/pdf/informes/inffinal%202007-39.pdf>

ROSAS, C, et al. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Rev. Mar Ecol Prog Ser*. 1998. 174 (1):67–75.

ROSAS, C, et al. Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). *Rev. Mar Biol.* 2004. 145(1):401–413.

SÁNCHEZ-PAZ A, et al. Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J Exp Mar Biol Ecol*, 2007. 340(1):184–193.

SEMENZA, G.L. Hypoxia-inducible factor 1 and the molecular physiology of oxygen homeostasis. *J Lab Clin. En: Rev Med.* 1998. 131 (2). 207–214.

SENKBEIL, EG. y WRISTON, JG. Hemocyanin synthesis in the American lobster, *Homarus americanus*. *Comp Biochem Physiol*, 1981. 68B(2):163–171.

SERVICIO NACIONAL DE PESCA. Anuario estadístico de pesca. Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción. Sección Desembarques y acuicultura. Santiago de Chile: SERNAPESCA, 2011. pp. 1-10.

SILVA, N. y GUZMÁN, D. Condiciones oceanográficas y químicas entre Boca del Guafo y Fiordo Aysén (Crucero Cimar 7 Fiordos). *Rev. Cienc Tecnol Mar.* 2006. 29(1):25–44.

SPICER, JI. y BADEN, SP. Natural variation in the concentrations of haemocyanin from three decapod crustaceans, *Nephrops norvegicus*, *Licarcinus depurator* and *Hyas araneus*. *Rev. Mar Biol.* 2000. 136(1):55–61.

TAYLOR, DL & DB, EGGLESTON. Effects of hypoxia on an estuarine predator-prey interaction: foraging behavior and mutual interference in the blue crab *Callinectes sapidus* and the infaunal clam prey *Mya arenaria*. *Marine Ecology Progress Series.* 2000. 196 (1): 221-237.

TAYLOR, H.H. and ANSTISS, J.M. Copper and haemocyanin dynamics in aquatic invertebrates. *Mar. Freshw. Res.* 48, 1999. 1(2): 889–897.

TERWILLIGER, NB. & DUMLER, K. Ontogeny of decapod crustacean hemocyanin: effects of temperature and nutrition. *Rev. J Exp Biol*, 2000. 204(2):1013–1020.

TURNER, R.E; RABALAIS, N.N. and JUSTIC, D. Gulf of Mexico hypoxia: alternate states and a legacy. *Environ. Sci. Technol.* 2008. 42 (1): 2323–2327.

WILMER, P., G. STONE & I. JOHNSTON. *Environmental Physiology of Animals.* Blackwell Science, Ltd. Oxford. 2000. 641pp.

WOLVEKAMP, H. & WATERMAN, T. Respiration. In *The Physiology of Crustacea*. Volume I Metabolism and Growth (ed. T. H. Waterman). New York: Academic Press, 1960. pp. 35–100.

ZAGAL, Carolina y HERMOSILLA, Consuelo. *Guía de invertebrados marinos del sur chile*. Chile: Fantástico Sur Birding Ltda, 2007.

ANEXOS

Tabla 3. Datos promedio \pm SD consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	\pm SD
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD		
1	0,041	0,006	0,035	0,007	0,014	0,004	0,009	0,002	0,025	0,015
2	0,172	0,050	0,101	0,019	0,062	0,016	0,047	0,012	0,095	0,056
4	0,172	0,038	0,075	0,023	0,071	0,008	0,064	0,005	0,095	0,050
6	0,290	0,051	0,060	0,026	0,082	0,024	0,054	0,008	0,122	0,104
9	0,089	0,034	0,090	0,018	0,057	0,014	0,046	0,011	0,070	0,028
Total general	0,153	0,094	0,072	0,030	0,057	0,028	0,044	0,020	0,081	0,067

Tabla 4. Datos promedio \pm SD consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{h} \cdot \text{gr}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	\pm SD
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD		
1	0,066	0,008	0,040	0,005	0,028	0,006	0,018	0,001	0,037	0,019
2	0,064	0,020	0,054	0,013	0,050	0,010	0,041	0,005	0,053	0,015
4	0,089	0,030	0,066	0,014	0,052	0,007	0,038	0,010	0,058	0,023
6	0,080	0,026	0,060	0,020	0,056	0,011	0,047	0,011	0,060	0,020
9	0,136	0,027	0,093	0,014	0,062	0,015	0,063	0,007	0,087	0,034
Total general	0,086	0,034	0,062	0,022	0,050	0,015	0,040	0,016	0,059	0,028

Tabla 5. Datos promedio \pm SD proteína hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	\pm SD
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD		
1	28,484	8,369	28,295	8,266	29,050	3,060	28,574	3,806	28,624	5,488
2	33,559	1,280	20,835	2,771	31,686	1,633	27,747	5,976	28,188	5,949
4	26,298	7,853	21,628	6,420	32,718	0,407	32,078	1,123	28,181	6,603
6	24,661	10,155	25,917	8,674	33,580	0,759	31,141	3,349	28,825	7,361
9	33,203	3,756	21,107	5,893	22,751	4,678	23,602	4,582	25,166	6,544
Total general	29,086	7,488	23,359	6,733	29,957	4,659	28,628	4,813	27,776	6,453

Tabla 6. Datos promedio \pm SD proteína hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	\pm SD
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD		
1	25,736	8,390	23,516	5,641	34,757	0,903	32,692	2,461	29,056	6,681
2	25,029	4,952	24,622	5,116	31,554	3,138	34,615	1,381	28,955	5,688
4	25,979	5,117	24,806	6,712	32,746	2,608	30,063	3,934	28,798	5,187
6	23,998	6,652	26,250	3,720	30,401	6,321	33,739	0,948	28,703	5,944
9	27,971	4,645	31,722	8,554	31,908	4,080	31,622	2,011	30,763	5,327
Total general	25,819	5,530	26,306	6,410	32,170	3,855	32,534	2,780	29,271	5,705

Tabla 7. Datos promedio \pm SD proteína hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	188,857	67,632	58,419	15,211	49,838	9,887	36,335	10,880	73,830	63,553
2	260,704	72,783	177,544	43,076	49,373	15,238	27,313	5,741	122,767	105,327
4	317,320	34,414	214,594	65,434	24,936	7,021	17,921	1,376	125,419	130,233
6	202,569	48,975	279,924	65,564	13,793	2,660	17,083	4,484	105,652	121,403
9	201,585	36,336	239,194	29,485	69,062	17,819	85,949	17,492	141,009	77,967
Total general	233,847	67,605	189,409	87,095	40,687	23,359	38,609	28,066	114,609	102,170

Tabla 8. Datos promedio \pm SD proteína hepatopáncreas ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	78,512	10,152	136,704	23,978	31,946	5,038	40,577	5,055	71,496	45,764
2	162,489	51,698	150,990	36,669	12,761	4,695	13,836	4,606	84,300	78,215
4	148,244	42,799	228,756	45,519	13,606	3,127	14,397	5,552	96,219	93,774
6	131,929	55,931	179,922	45,644	44,151	7,626	39,920	13,517	100,544	71,021
9	125,058	17,247	125,938	73,839	15,723	3,676	22,517	8,095	75,628	65,539
Total general	131,125	43,990	160,574	54,693	22,558	12,848	26,446	14,337	85,563	71,938

Tabla 9. Datos promedio \pm SD oxihemocianina ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	-	-	-	-	0,462	0,076	0,303	0,022	0,382	0,100
2	-	-	-	-	0,380	0,051	0,533	0,091	0,456	0,106
4	-	-	-	-	0,598	0,134	0,774	0,038	0,673	0,135
6	-	-	-	-	0,731	0,175	0,529	0,075	0,644	0,170
9	-	-	-	-	0,108	0,024	0,101	0,010	0,106	0,019
Total general	-	-	-	-	0,441	0,255	0,448	0,241	0,444	0,245

Tabla 10. Datos promedio \pm SD oxihemocianina ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	0,146	0,112	0,217	0,176	0,697	0,218	0,493	0,220	0,385	0,278
2	0,235	0,132	0,049	0,082	0,624	0,250	0,465	0,202	0,349	0,283
4	0,096	0,058	0,052	0,034	0,690	0,135	0,396	0,007	0,313	0,288
6	0,071	0,051	0,104	0,086	0,688	0,034	0,489	0,080	0,302	0,265
9	0,203	0,086	0,348	0,197	0,518	0,174	0,519	0,183	0,397	0,203
Total general	0,150	0,103	0,158	0,169	0,637	0,182	0,479	0,160	0,352	0,261

Tabla 11. Datos promedio \pm SD lípidos hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	159,582	57,696	167,315	40,051	460,008	129,534	463,444	72,556	321,461	170,227
2	317,478	68,060	264,397	22,071	396,892	38,021	562,401	156,656	388,610	139,077
4	220,897	30,792	148,572	34,724	499,881	102,586	602,281	49,803	381,694	204,317
6	71,316	28,041	66,198	12,618	383,970	84,433	531,269	129,101	258,110	213,877
9	195,182	83,212	254,216	22,581	295,529	58,666	324,266	89,606	265,502	76,282
Total general	198,824	99,519	181,789	75,942	401,936	107,533	507,242	130,402	325,412	172,197

Tabla 12. Datos promedio \pm SD lípidos hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	123,505	64,842	146,050	84,903	650,052	226,004	799,637	95,129	429,811	333,295
2	183,845	48,609	183,155	20,092	521,964	308,376	566,856	192,458	375,850	250,482
4	213,041	69,814	183,490	42,348	610,294	133,088	482,602	88,050	383,110	196,834
6	111,650	96,171	165,566	76,969	668,896	187,725	649,976	168,143	400,272	294,528
9	283,934	140,657	150,866	35,849	672,364	165,412	530,811	136,157	419,302	242,427
Total general	190,877	104,525	166,810	51,309	621,473	199,213	597,681	169,287	400,023	258,534

Tabla 13. Datos promedio \pm SD lactato hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	0,485	0,174	0,519	0,112	0,388	0,107	0,561	0,137	0,491	0,140
2	0,225	0,094	0,017	0,011	0,027	0,020	0,213	0,088	0,113	0,115
4	0,035	0,010	0,027	0,016	0,013	0,006	0,009	0,007	0,022	0,015
6	0,006	0,004	0,018	0,008	0,031	0,015	0,011	0,005	0,016	0,012
9	0,025	0,011	0,009	0,004	0,021	0,010	0,010	0,000	0,017	0,010
Total general	0,159	0,211	0,101	0,196	0,109	0,167	0,187	0,251	0,140	0,208

Tabla 14. Datos promedio \pm SD lactato hemolinfa ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) exposición crónica

Concentración de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD	Promedio	\pm SD
1	0,037	0,012	0,021	0,009	0,012	0,002	0,011	0,005	0,019	0,012
2	0,012	0,003	0,010	0,003	0,023	0,007	0,004	0,003	0,012	0,008
4	0,026	0,013	0,038	0,015	0,027	0,016	0,025	0,029	0,029	0,018
6	0,032	0,010	0,043	0,030	0,025	0,016	0,009	0,002	0,026	0,019
9	0,147	0,085	0,192	0,085	0,015	0,008	0,022	0,009	0,083	0,092
Total general	0,050	0,061	0,058	0,076	0,020	0,012	0,014	0,013	0,034	0,050

Tabla 15. Datos promedio \pm SD lactato hepatopáncreas ($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) exposición aguda

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD
1	1,829	0,734	2,224	1,362	4,927	2,075	3,134	0,885	2,917	1,590
2	1,181	0,562	0,736	0,762	2,514	1,272	1,446	0,876	1,363	0,990
4	0,512	0,285	0,707	0,569	0,588	0,266	0,679	0,272	0,626	0,360
6	0,405	0,674	0,635	0,563	0,899	0,261	0,449	0,397	0,579	0,496
9	0,521	0,297	0,829	0,663	0,769	0,150	0,988	0,474	0,774	0,445
Total general	0,851	0,732	1,035	0,972	1,799	1,862	1,407	1,156	1,248	1,238

Tabla 16. Datos promedio ± SD lactato hepatopáncreas (µg *mg⁻¹) exposición crónica

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD
1	4,282	1,452	4,682	1,413	0,618	0,235	0,271	0,185	2,295	2,276
2	0,095	0,021	0,371	0,543	0,487	0,166	0,403	0,091	0,344	0,279
4	0,055	0,009	0,106	0,004	0,395	0,149	0,320	0,090	0,229	0,170
6	0,178	0,102	0,571	0,189	0,680	0,248	0,577	0,201	0,515	0,263
9	0,441	0,076	0,389	0,036	0,658	0,290	0,655	0,358	0,536	0,237
Total general	1,010	1,786	1,304	1,931	0,575	0,224	0,433	0,229	0,806	1,293

Tabla 17. Datos promedio ± SD lactato deshidrogenasa (LDH) hemolinfa (U*mg P⁻¹) exposición aguda

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD
1	15,565	3,554	15,910	2,683	11,383	5,168	6,554	1,123	11,507	5,045
2	20,262	5,158	13,352	1,581	7,804	2,102	22,660	9,868	15,796	8,033
4	8,556	1,584	7,212	2,205	25,123	14,350	36,796	3,955	21,187	14,697
6	8,571	2,985	9,613	0,284	34,318	8,330	29,603	11,287	23,385	13,720
9	17,500	5,593	19,560	2,262	18,152	7,555	10,479	4,319	16,382	5,808
Total general	14,812	6,155	13,180	4,833	19,203	12,678	21,666	13,400	17,584	10,783

Tabla 18. Datos promedio ± SD lactato deshidrogenasa (LDH) hemolinfa (U*mg P⁻¹) exposición crónica

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120			
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD
1	66,395	13,982	22,679	2,378	22,664	5,317	32,367	5,573	34,811	18,869
2	26,181	11,508	9,946	1,666	29,901	5,520	27,318	9,783	24,305	10,503
4	22,686	7,013	19,620	2,372	25,048	11,148	24,047	7,554	22,942	6,957
6	18,793	9,999	10,408	3,473	37,680	13,150	38,583	7,562	25,139	14,998
9	12,326	1,247	17,132	5,832	26,270	8,188	18,796	5,486	18,146	7,099
Total general	28,217	21,154	15,610	6,011	28,074	9,183	28,126	9,288	25,189	13,425

Tabla 19. Datos promedio ± SD lactato deshidrogenasa (LDH) hepatopáncreas (U*mg P⁻¹) exposición aguda

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	± SD
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD		
1	2,698	0,572	13,382	2,059	17,172	1,833	17,528	5,342	12,695	6,771
2	3,256	0,563	4,644	1,677	6,620	1,705	17,050	1,791	8,216	6,067
4	2,776	0,432	1,555	0,082	20,594	8,491	18,691	2,287	10,904	9,904
6	2,366	0,902	2,273	0,393	42,356	6,680	21,689	3,187	17,519	16,902
9	2,839	0,159	3,954	1,333	5,766	1,692	6,294	2,031	4,896	1,950
Total general	2,816	0,582	5,086	4,420	17,003	14,096	16,044	6,228	10,512	10,167

Tabla 20. Datos promedio ± SD lactato deshidrogenasa (LDH) hepatopáncreas (U*mg P⁻¹) exposición crónica

Concentración de oxígeno (mgO ₂ *L ⁻¹)	Talla (mm)								Total general	
	<30		30-40		80-100		110-120		Promedio	± SD
	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD	Promedio	± SD		
1	8,315	1,692	4,092	1,161	33,383	8,209	18,488	8,547	16,586	13,103
2	2,988	0,659	4,659	1,611	49,723	18,127	32,210	13,392	20,685	21,533
4	3,404	2,172	2,282	0,086	52,081	10,632	29,028	15,617	23,068	22,985
6	6,894	3,033	2,144	0,606	14,624	7,256	22,249	5,688	10,760	9,000
9	5,371	2,193	8,834	1,072	26,901	12,773	22,956	15,124	15,197	12,582
Total general	5,172	2,732	4,406	2,507	36,212	17,456	25,251	12,097	17,500	17,093