

61



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EFECTOS DEL FOTOPERIODO Y LA INTENSIDAD
DE LUZ SOBRE LA FRECUENCIA CARDIACA Y
RESPIRATORIA DEL ACOCIL *PROCAMBARUS
CLARKII*”.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ABUD JOSE FARCA LUNA



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

**TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN**

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARIA LUISA FANJUL PEÑA DE MOLES

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
"Efectos del Fotoperiodo y la Intensidad de Luz sobre la Frecuencia
Cardiaca y Respiratoria del Acocil *Procambarus clarkii*".

realizado por Abud José Farca Luna

con número de cuenta 9324797-3 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario Dra. Maria Luisa Fanjul Peña de Moles
Propietario Biol. Julio Alejandro Prieto Sagredo
Propietario M. en C. Jorge Luis Hernández Aguilera
Suplente Dra. Maria Eugenia Gonsebatt Bonaparte
Suplente Dra. Elsa Guadalupe Escamilla Chimal

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Consejo Departamental de Biología

DRA.-PATRICIA RAMOS MORALES

DEPARTAMENTO

Amis padres

Mercedes y Abad:

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Abud y Mercedes:

Por brindarme siempre su apoyo, su atención y su cariño. Por enseñarme el camino y dejar que lo experimentaré libremente.

A mis hermanos Isaac, Tere y Sara:

Por todos los momentos que compartimos, por alegrar cada día el lugar en que vivimos, por ser mis compañeros y amigos de toda la vida.

A mis abuelitas Magos y Sara:

Por darme tantos momentos de alegría, por su experiencia y toda su dulzura.

A Claudia:

Por compartir juntos todos esos momentos de amor, alegría, esperanza; por compartir momentos de dificultades. Por todos nuestros deseos de superarnos más cada día juntos.

A mis Tíos y Primos:

Moisés y Abraham, Chela y Armando †, Adela y Chavo, Rodolfo, Chura y Alejandro, Mariano y Cata, Susana, Luis, Paty, Yenny, Carlos, Nayeli, Nancy, Noemi, Lilia, Mariano, Caro, Manuel, Fer y Ale. A los del Sol. Por ser una gran familia

A Dra. Maria Luisa Fanjul:

Por darme una oportunidad y un espacio para cumplir mis deseos de superarme, por su experiencia y su cariño. Por ser un ejemplo y por todo su apoyo.

A Julio Prieto:

Por tu invaluable amistad, por tus enseñanzas, tu experiencia y tu interminable paciencia.

A Elsa:

Por tus palabras de aliento, por compartir tu experiencia, alegrías y preocupaciones, por ser una gran amiga y compañera.

A mis compañeros y amigos:

Mary, Manuel, Octavio, Mario y Magally. Dra. Nora Galindo, Dr. Rafael Lamothe. Lorena López, Adrián, Nelson, Alejandro, Amparo, Carlos, Carlos (hijo), Bertha, Mónica, Karla, David. Anita, José Ureña, Edith, Belem, Arturo y Meche, Ivonne, Jessica, Comic, Citlalli, Isis, Gustavo, Pilar, Ricardo, Beta, Jorge, Abraham. Elena Miranda. Adolfo, Mónica, Hector David, Katia, Alinka, Sara, Luz, Tadeo. Al Sup, Cuahutemoc, Rosario y Manuel. Y a todos aquellos que por falta de memoria he omitido. Por su apoyo, su ejemplo y amistad gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México:

Por tu espacio, tu grandeza, por la raza que en ti se supera día con día. Por tu espíritu que da fuerza y ejemplo a México. Por la oportunidad que me brindas.

A CONACYT y PROBETEL por el apoyo del proyecto.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurofisiología Comparada de Invertebrados de La Facultad de Ciencias, UNAM, bajo la dirección de la Dra. María Luisa Fanjul Peña de Moles y fue financiado por el proyecto CONACYT No. PM31858-N y por la beca PROBETEL.

1 RESUMEN	4
2 INTRODUCCIÓN	5
2.1 GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN DEL ACOCIL.....	5
2.1.1 MORFOLOGÍA EXTERNA.....	6
2.1.2 TAGMOSIS	6
2.1.3 ECDISIS	8
2.1.4 SISTEMA ENDOCRINO.....	9
2.1.5 SISTEMA CIRCULATORIO	10
2.1.6 SISTEMA RESPIRATORIO.....	12
2.1.7 SISTEMA NERVIOSO	15
2.1.7.1 Control central del corazón y el escafnatito	16
2.1.8 SISTEMAS SENSORIALES	18
2.2 RITMOS BIOLÓGICOS	22
2.2.1 DEFINICIÓN, CARACTERÍSTICAS Y CLASIFICACIÓN DE LOS RITMOS.....	22
2.2.2 LOS RITMOS CIRCADIANOS.....	25
2.2.3 OSCILACIÓN LIBRE O ESPONTÁNEA	26
2.2.3.1 Sincronización.....	28
2.2.4 RITMOS CIRCADIANOS EN EL ACOCIL.....	29
2.3 ESTRÉS	30
2.3.1 DEFINICIÓN DE ESTRÉS.....	30
2.3.2 ESTRÉS Y LUZ.....	30
2.3.2.1 Adaptaciones de los organismos a la luz.....	30

2.3.2.2	Adaptaciones respiratorias a estrés por luz en crustáceos.....	31
3	JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
4	HIPÓTESIS.....	34
4.1	GENERAL	34
4.2	PARTICULARES.....	34
5	OBJETIVOS	35
5.1	GENERAL	35
5.2	PARTICULARES.....	35
6	METODOLOGÍA.....	36
6.1	MATERIAL BIOLÓGICO	36
6.2	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	36
6.2.1	CONDICIONES LUMÍNICAS	36
6.2.2	PREPARACIÓN PARA EL REGISTRO.....	37
6.2.3	TÉCNICAS DE REGISTRO	38
6.2.3.1	Registro de la frecuencia respiratoria	38
6.2.3.2	Registro de la frecuencia cardíaca	38
6.2.4	ANÁLISIS DE DATOS	39
7	RESULTADOS	42
7.1	MORTALIDAD.....	42
7.2	ANÁLISIS ELECTROFISIOLÓGICO.....	42
7.2.1.1	Análisis del efecto de las condiciones de luz.....	43
7.3	CORRELACIÓN	45

7.3.1.1	Análisis de los ritmos	46
8	DISCUSIÓN	55
9	CONCLUSIONES.....	58
10	BIBLIOGRAFÍA.....	59

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Tagmosis del acocil <i>Procambarus</i> en vista dorsolateral.....	8
Figura 2.	Morfología interna del acocil.....	12
Figura 3.	Sistema respiratorio del acocil.....	14
Figura 4.	Sistema nervioso central del acocil.....	16
Figura 5.	Diagrama del sistema nervioso periférico del acocil <i>Procambarus clarkii</i>	18
Figura 6.	Omatidias, migración de pigmentos y tallo ocular del acocil.....	21
Figura 7.	Representación de los conceptos de oscilación y sus ciclos.....	24
Figura 8.	Diseño experimental.....	40
Figura 9.	Diagrama del animal durante el registro de la actividad cardíaca y respiratoria en el acocil.....	41
Figura 10.	Registro de un electrocardiograma y del escafognatito derecho de un acocil <i>Procambarus clarkii</i>	48
Figura 11.	Registro continuo de la frecuencia cardíaca y respiratoria de un acocil <i>Procambarus clarkii</i>	49
Figura 12.	Registros de frecuencia cardíaca y de batido del escafognatito derecho del acocil <i>Procambarus clarkii</i> bajo distintos fotoperiodos.....	50
Figura 13.	Frecuencia cardíaca del acocil <i>Procambarus clarkii</i> bajo distintas condiciones de luz.....	51
Figura 14.	Frecuencia de batido del escafognatito derecho del acocil <i>Procambarus clarkii</i> bajo distintas condiciones de luz.....	52
Figura 15.	Correlación de la frecuencia cardíaca con la frecuencia de batido del escafognatito derecho del acocil <i>Procambarus clarkii</i> bajo distintas condiciones de luz.....	53
Figura 16.	Registro continuo de un animal bajo condición LO12:12 alta irradiancia y uno bajo condición OO.....	54

ABREVIATURAS

e.e.	error estándar
E	registro de la actividad del batido del escafognatito
ECG	registro de la actividad cardiaca (electrocardiograma)
ERG	electroretinograma
Fc	frecuencia cardiaca
Fr	frecuencia respiratoria
LO	ciclo luz-oscuridad
O-X	órgano X
O-Y	órgano Y
OO	oscuridad constante
τ	periodo de oscilación libre
T	periodo del "zeitgeber" o sincronizador

1 RESUMEN

Con el objeto de cuantificar y comparar el efecto de la variación en el fotoperiodo y la irradiancia sobre los cambios diarios en la frecuencia cardiaca y respiratoria del acocil *Procambarus clarkii* se registraron 15 animales adultos en periodo de intermuda, divididos en cinco grupos: uno en condición control (n=3), otro en fotoperiodo LO 12:12 alta irradiancia (n=3), dos grupos en fotoperiodo LO 20:4 uno en baja (n=3) y otro en alta irradiancia (n=3) y uno en oscuridad constante (n=3); todos estos animales se registraron cada hora de las 10:00 a las 18:00 h durante tres días. Otros dos animales se registraron cada hora durante cincuenta horas bajo las condiciones de los grupos 2 y 5. Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA de una vía y LSD *post hoc*, así como por correlación y Cosinor simple. El ANOVA reveló diferencias significativas entre la condición LO 20:4 baja intensidad y el resto de las condiciones en ambas variables. Los resultados obtenidos mediante el Cosinor sugieren ritmos circadianos en oscilación espontánea ($F_c \tau = 22.6$ h y $F_r \tau = 24.1$ h) y $T=24$ h en condición LO 12:12 alta intensidad para ambas variables. Se observa una correlación de los dos sistemas en todos los fotoperiodos, excepto en oscuridad constante. Lo anterior confirma la existencia de un ritmo circadiano de frecuencia cardiaca y demuestra la existencia de un ritmo circadiano de frecuencia respiratoria.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 GENERALIDADES Y CLASIFICACIÓN DEL ACOCIL

Los acociles son los únicos crustáceos decápodos de agua dulce pertenecientes al grupo *Macrura-Reptantia*. Estos se clasifican dentro del grupo más grande de los crustáceos, el Orden Decapoda, el cual cuenta con 1,200 géneros y 10,000 especies (Holdich y Lowery, 1988). Los acociles se dividen en dos grupos, el Astacoidea con dos familias y el Parastacoidea con una familia. De las tres familias, Astacidae y Cambaridae (a la que pertenece el género *Procambarus*) se distribuyen en el hemisferio Norte, coincidiendo en algunas regiones. En algunos casos es difícil distinguir entre especies naturales e introducidas, tal es el caso de *Procambarus clarkii*, una especie introducida capaz de sobrevivir fuera de sus rangos normales (Holdich y Lowery, 1988) la cual se ha reportado en el Norte de México (Hobbs, 1962) desplazando al acocil *Procambarus digueti* (Fanjul-Moles et al., 1998). A continuación se presenta la clasificación según Holdich y Lowery (1988):

Subphylum Crustacea

Clase Malacostraca

Orden Decapoda

Infraorden Astacidea

Superfamilia Astacoidea

Familia Cambaridae

Subfamilia Cambarinae

Género *Procambarus*

Especie *Procambarus (Cambarus) clarkii* (Girard, 1852:91)

La especie *Procambarus clarkii* se encuentra en aguas con salinidades que van desde 10 ups hasta agua casi pura. La distribución nativa está en el Noreste de México y el Sureste de Estados Unidos. *Procambarus clarkii* habita los cuerpos de agua como lagos y estanques, se caracteriza por ser cavernícola y tener hábitos nocturnos. En latitudes menores es activo durante los meses fríos y estiva durante los cálidos, este comportamiento se invierte en latitudes mayores.

2.1.1 Morfología Externa

El plan corporal de los acociles es típico de crustáceos superiores presentando veinte segmentos corporales (Holdich y Lowery, 1988). El cuerpo está encapsulado en un exoesqueleto rígido (excepto en las articulaciones donde la cutícula es delgada y flexible) el cual es cambiado para permitir el crecimiento del animal. El exoesqueleto está constituido por dos capas: la epicutícula (superficial) y la procutícula (interna). La primera está compuesta principalmente de sales de calcio, proteínas y calcio; la quitina se encuentra en la segunda capa junto con sales de calcio y proteínas; esta capa se subdivide en exocutícula, endocutícula y una capa membranosa, sin embargo, la exocutícula está ausente en las membranas articulares (Thorp y Covich, 1991; Holdich y Lowery, 1988).

Los adultos maduros son ovalados en sección transversal, de cuerpo elongado y rostro en forma de V, presentan arcolas obliteradas y abdomen relativamente angosto. Son de color rojizo en la región lateral y muy oscuros, casi negros en la dorsal.

2.1.2 Tagmosis

Los acociles son poco comprimidos lateralmente, una segmentación extensiva del cuerpo y la presencia de apéndices en todos los metámeros le dan una apariencia primitiva (Thorp y Covich, 1991). En vista dorsal se pueden distinguir dos regiones del cuerpo: el cefalotórax (anterior) y el abdomen (posterior) (figura 1). El cefalotórax está compuesto por seis segmentos anteriores (cefalón con partes bucales) y ocho segmentos torácicos (tórax con apéndices locomotores). Funcionalmente el cefalotórax se puede dividir en dos tagma: 1) una cabeza (protocefalo) de donde se originan las antenas, ojos pedunculados y

labrum y 2) gnatotórax donde se ubican las partes bucales. El caparazón es una placa que recubre el cefalotórax y encierra las cámaras branquiales, se fusiona en la parte dorsal del tórax y se extiende por las superficies laterales como el branquiosteguito.

Los ocho segmentos torácicos incluyen tres pares de toracópodos desarrollados como maxilípedos, estos ayudan en la manipulación del alimento. Los otros cinco pares de toracopodos son unirramosos (1-5), están adaptados como pereiópodos estenopodiales (en forma de tubo) y consisten de un par de quelípedos y cuatro pares de patas ambulatorias (Holdich y Lowery, 1988).

El abdomen está claramente segmentado y compuesto de seis tubos calcificados conectados por membranas articulares. Cada anillo está compuesto de cuatro escleritas, un tergum dorsal ancho, otro más delgado y un esternum ventral que está conectado a un lado por una pleura lateral. En hembras, los segmentos abdominales 2-5 originan cada uno un par de pleópodos plumosos. En machos, los pleopodos 1 y 2 están modificados con propósitos copulatorios en gonopodios y estiletes.

El abdomen termina en un telson aplanado que está dividido por una ranura transversa bajo la cual se sitúa el ano. Los apéndices del sexto segmento abdominal modificados como un urópodo birramoso, junto con el telson forman una cola en forma de abanico de área grande que permite un movimiento natatorio rápido (Holdich y Lowery, 1988).

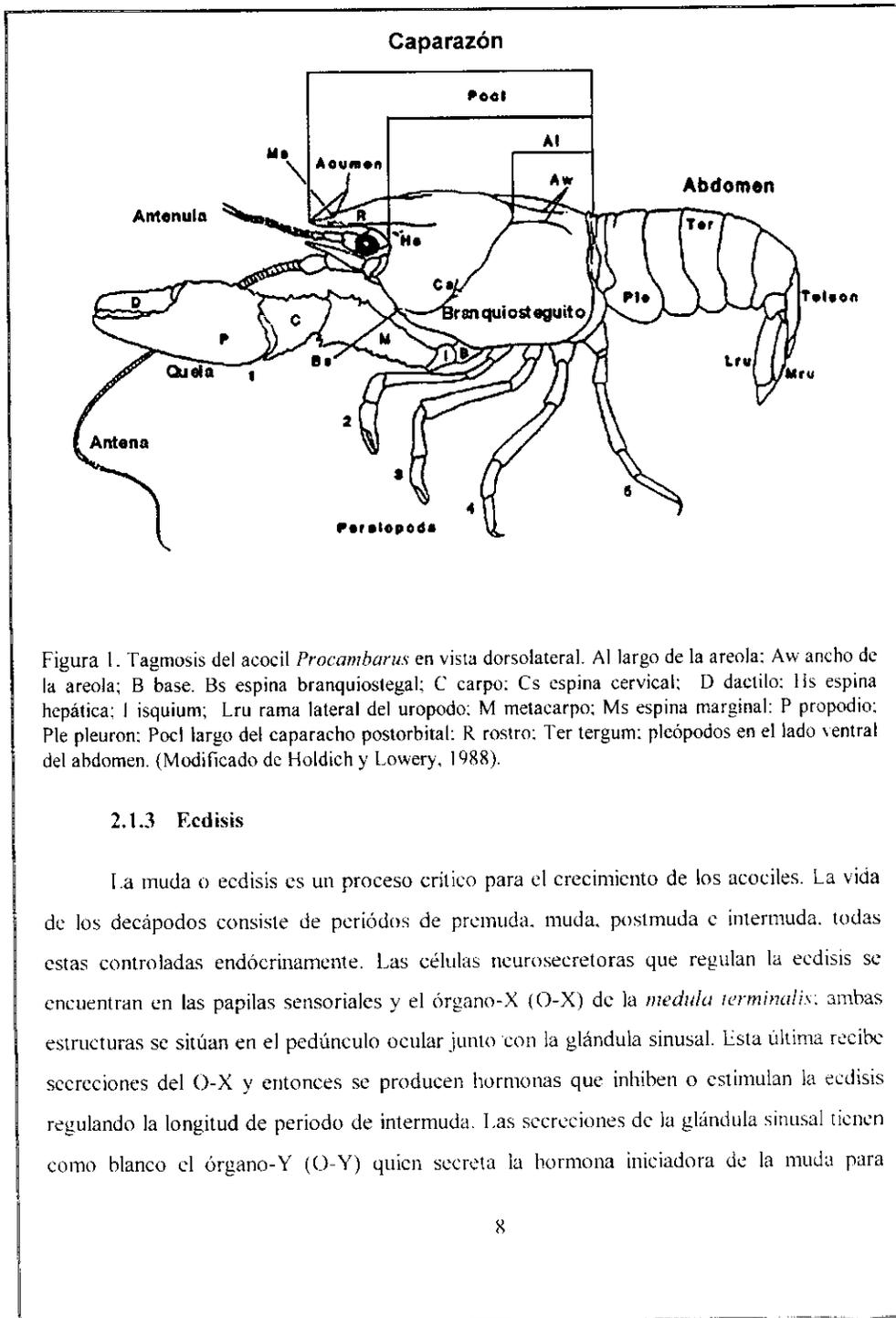


Figura 1. Tagmosis del acocil *Procamburus* en vista dorsolateral. Al largo de la areola: Aw ancho de la areola; B base. Bs espina branquiostegal; C carpo; Cs espina cervical; D daquilo; Hs espina hepática; I isquium; Lru rama lateral del uropodo; M metacarpo; Ms espina marginal; P propodio; Ple pleuron; Pool largo del caparacho postorbital; R rostro; Ter tergum; pléopodos en el lado ventral del abdomen. (Modificado de Holdich y Lowery, 1988).

2.1.3 Ecdisis

La muda o ecdisis es un proceso crítico para el crecimiento de los acociles. La vida de los decápodos consiste de períodos de premuda, muda, postmuda e intermuda, todas estas controladas endócrinamente. Las células neurosecretoras que regulan la ecdisis se encuentran en las papilas sensoriales y el órgano-X (O-X) de la *medula terminalis*; ambas estructuras se sitúan en el pedúnculo ocular junto con la glándula sinusal. Esta última recibe secreciones del O-X y entonces se producen hormonas que inhiben o estimulan la ecdisis regulando la longitud de periodo de intermuda. Las secreciones de la glándula sinusal tienen como blanco el órgano-Y (O-Y) quien secreta la hormona iniciadora de la muda para

comenzar la muda. En esta etapa las reservas de glucógeno aumentan y los minerales son reabsorbidos y almacenados. Una enzima suaviza la cutícula provocando el desprendimiento de las células epidérmicas, lo que estimula la formación de una epicutícula que es impermeable a dicha enzima. A continuación, el cuerpo acumula líquidos aumentando el volumen para que la cutícula vieja se desprenda del cuerpo. Los tejidos se desarrollan rápidamente durante un periodo corto de postmuda, mientras que la nueva capa se hace rígida por la deposición de minerales en la cutícula. Después de la postmuda entra el periodo de intermuda (Holdich y Lowery, 1988; Thorp y Covich, 1991). A continuación se describen algunos sistemas fisiológicos fundamentales que se requieren para la expresión del ritmo respiratorio y cardíaco.

2.1.4 Sistema Endocrino

Muchos de los procesos fisiológicos y de desarrollo en los crustáceos están bajo el control hormonal (Cooke, 1982; Highnam y Hill, 1969; Lockwood, 1968). Tres tipos principales de hormonas se producen en el sistema endocrino de los acociles: 1) neurohormonas, 2) hormonas y 3) feromonas.

Existen tres órganos neurohemales involucrados principalmente en el almacenamiento y liberación de hormonas a la hemolinfa: la glándula sinusal situada en el pedúnculo ocular; el órgano postcomisural ubicado detrás de la comisura tritocerebral y los órganos pericárdicos cercanos al corazón. Las hormonas controlan procesos a largo plazo y más lentos que los del sistema nervioso. El sitio principal de producción de neurohormonas (polipéptidos) es el pedúnculo ocular. La ablación de esta estructura tiene un marcado efecto en muchos aspectos fisiológicos y de comportamiento en los acociles. En el pedúnculo ocular un grupo de neuronas estrechamente unidas, llamadas órgano-X (órgano-X de la *médula terminalis*), secreta neurohormonas que migran a lo largo de los axones para ser almacenados en la glándula sinusal, y después ser liberadas a la hemolinfa. Las hormonas del complejo O-X regulan varios procesos como la migración de cromatóforos, concentración de azúcares en la sangre, niveles de agua en el cuerpo, metabolismo e inhibición de la muda. Hormonas relacionadas a este proceso son producidas en los complejos supra-, circum- y

subesofágicos (Holdich y Lowery, 1988).

El O-Y, ubicado en la base de cada maxila, también es necesario para el desarrollo del ovario, ya que las hormonas de éste determinan características sexuales temporales y permanentes en las hembras. Los testículos y los ovarios producen hormonas sexuales esteroideas que regulan el ciclo reproductivo. Los machos poseen también una glándula androgénica localizada en los vasos deferentes, sus hormonas controlan el desarrollo de características sexuales primarias y secundarias, y se cree que son responsables del cambio a la forma sexualmente activa en *Procambarus clarkii*.

Por último, las feromonas son usadas en comunicación intraespecífica, aunque su origen es incierto. En algunos casos las feromonas son especie específicas, por lo menos las encontradas en *Procambarus clarkii*, *Orconectes sanborni* y *Cambarus virilis* (Holdich y Lowery, 1988).

2.1.5 Sistema Circulatorio

El sistema circulatorio de los acociles es abierto. Las arterias salen del corazón y llegan directamente a senos y lagunas, pero no existen venas que lleven la hemolinfa de regreso al corazón (Maynard, 1960; McLaughlin, 1983). El corazón es un saco muscular corto de forma hexagonal constituido por una sola cámara, se sitúa debajo de la división cardíaca del caparazón, suspendido en un seno pericárdico y unido a seis ligamentos, las *alae cordis*. El seno pericárdico es una extensión del hemoceloma y no constituye una cavidad celómica verdadera como en los vertebrados (McMahon y Wilkens, 1983). Internamente el corazón está dividido por músculos transversos y otros que corren de la pared anterodorsal a la posteroventral (Maynard, 1960). El corazón está controlado neurogénicamente por un ganglio cardíaco dorsal alargado que tiene función de marcapaso. El bombeo está regulado por un nervio inhibitorio y dos excitatorios. La hemolinfa entra en el seno pericárdico vía el seno branquiocárdico, pasando por los órganos pericárdicos que contienen gránulos neurosecretorios que al ser liberados incrementan el bombeo cardíaco (Cooke, 1982).

La hemolinfa entra al corazón para ser llenado en la diástole, a través de pares de

hostias dorsales, ventrales y laterales, para luego ser distribuida durante la sistole desde las arterias a los senos y lagunas a varias partes del cuerpo. Las válvulas presentes en las hostias, arterias y senos previenen el contraflujo de la hemolinfa que es bombeada anteriormente por la arteria oftálmica media y las arterias laterales pareadas antenulares y hepáticas. Una bomba accesoria al corazón, la *cor frontale* que se presenta como una distensión de la arteria media se encarga de mandar la hemolinfa a la parte anterior del cuerpo. El movimiento de un par de músculos causa una contracción rítmica que provoca la circulación de la hemolinfa al ganglio cerebral, localizado anteriormente (Maynard, 1960).

El bombeo de la hemolinfa al abdomen se lleva a cabo por medio de la arteria dorsal que surge del *bulbus arteriosus*, el cual se encuentra en la cavidad pericárdica; aquí una arteria esternal pasa ventralmente por el lado derecho del intestino y cruza el cordón nervioso ventral entre el tercer y cuarto ganglio torácico, este a su vez se conecta con las arterias ventral torácica (rostral subneural) y ventral abdominal (caudal subneural). Después de varias subdivisiones, todas las arterias se abren a los espacios hemocélicos que rodean a todos los órganos (figura 2). La hemolinfa se colecta eventualmente en un seno esternal, localizado debajo del sistema endofragmal torácico. Después es llevada al corazón por los canales aferentes localizados en las branquias, una vez realizado el intercambio gaseoso la hemolinfa es expulsada por los canales eferentes y distribuida a seis senos branquiocardiales continuando al seno pericárdico. La contracción del corazón y el movimiento del músculo alado en el seno pericárdico impulsa a la hemolinfa hacia las arterias, esto reduce la presión en el seno pericárdico impulsando la hemolinfa de los senos branquiales eferentes (Holdich y Lowery, 1988).

El intercambio gaseoso requiere de la actividad coordinada del corazón y el escafoognatito, que responden directamente a la presión parcial de oxígeno en la hemolinfa. Parece haber un flujo de contracorriente entre el agua branquial y la hemolinfa en el canal eferente del filamento branquial, el cual acoplado con esta estructura provee un potencial alto para el intercambio de gas (Burggren et al., 1974; McMahon, 1986).

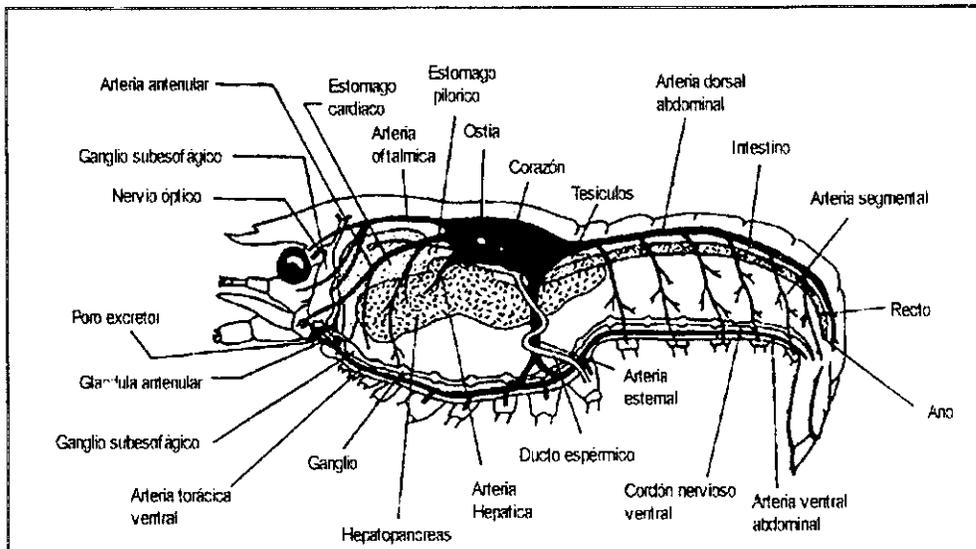


Figura 2. Morfología interna del acocil. En el esquema se pueden observar las distintas arterias que distribuyen la hemolinfa del corazón hacia el resto del cuerpo (Modificado de Holdich y Lowery, 1988).

2.1.6 Sistema Respiratorio

Como en todos los organismos aeróbicos pluricelulares, el término “respiración” puede dividirse en varios procesos. El proceso comienza con la ventilación o transporte de oxígeno del medio al área de intercambio gaseoso, continúa con la toma de oxígeno del ambiente a través del área de intercambio para después llevarse a cabo la perfusión, o remoción de oxígeno del área de intercambio. Posteriormente se lleva a cabo el transporte de oxígeno a los tejidos por medio de los líquidos extracelulares, en este caso la hemolinfa, el metabolismo aeróbico o utilización del oxígeno por los tejidos es el último paso de este proceso (Varnberg y Varnberg, 1983).

El caparazón de estos animales es abultado y alargado por el incremento del plano cefálico caudal de los branquiosteguitos. (Holdich y Lowery, 1988). El branquiosteguito se proyecta hacia adelante en cada lado, formando entre éste y la pared del cuerpo, la cámara branquial, esta encierra y protege las branquias que son bañadas constantemente por un flujo

de agua lo que permite el intercambio gaseoso. La corriente respiratoria es creada por el batido de los exopoditos maxilares. Estas estructuras alargadas y aplanadas se llaman escafofnatitos, se proyectan en una angosta cámara prebranquial con el lóbulo posterior apoyado en la concavidad dorsal del epipodito del maxilipedo I (figura 3). Cuando el escafofnatito bate, su lóbulo posterior es deprimido y el anterior se mueve cerrando la salida de la cámara prebranquial, esto es seguido por un movimiento en reversa. El sistema sensorial de los escafofnatitos consiste de una sensila innervada, receptores epidermales y el órgano oval, este último es un receptor especializado localizado en la superficie dorsal del escafofnatito, sobre el eje de flexión dorsoventral (Pasztor, 1969, 1979; Young y Coyer, 1979).

En los acociles no es posible un intercambio gaseoso rápido debido a la cubierta relativamente gruesa del exoesqueleto. El intercambio se lleva a cabo en las branquias que tienen una amplia área de superficie, un exoesqueleto delgado en comparación con el del resto del cuerpo y una irrigación eficiente. Las branquias individuales (pleurobranquias) están unidas a la pared lateral del cuerpo, algunos apéndices y un par de branquias (artrobranquias) que pueden estar unidas a la membrana articular entre la coxa y la pared del cuerpo (figura 3). Las branquias de los acociles son tricobranquias formadas por filamentos branquiales en varios lados del eje central, presentan placas epipodales. En los acociles pueden haber solo 200 filamentos por tricobranquia en comparación con los 10.000 que presentan las langostas (Kaestner, 1979). Sin embargo, las branquias de los primeros pueden extraer hasta el 70% del oxígeno, en tanto el flujo de hemolinfa a través de las podobranquias asegura una máxima oxigenación en la superficie epitelial. Además, la superficie epitelial basal adyacente a este abastecimiento de hemolinfa es plegada y está mejor adaptada para el transporte activo de iones acoplados con un flujo pasivo de agua.

La mayoría de las especies de acociles pueden vivir fuera del agua por periodos largos, debido a que las cámaras branquiales acumulan aire húmedo lo cual les permite extraer suficiente oxígeno para sobrevivir. Esta característica es importante para especies cavadoras como *Procambarus clarkii*, quien puede sobrevivir por varios meses en cuevas con niveles bajos de oxígeno (Holdich y Lowery, 1988).

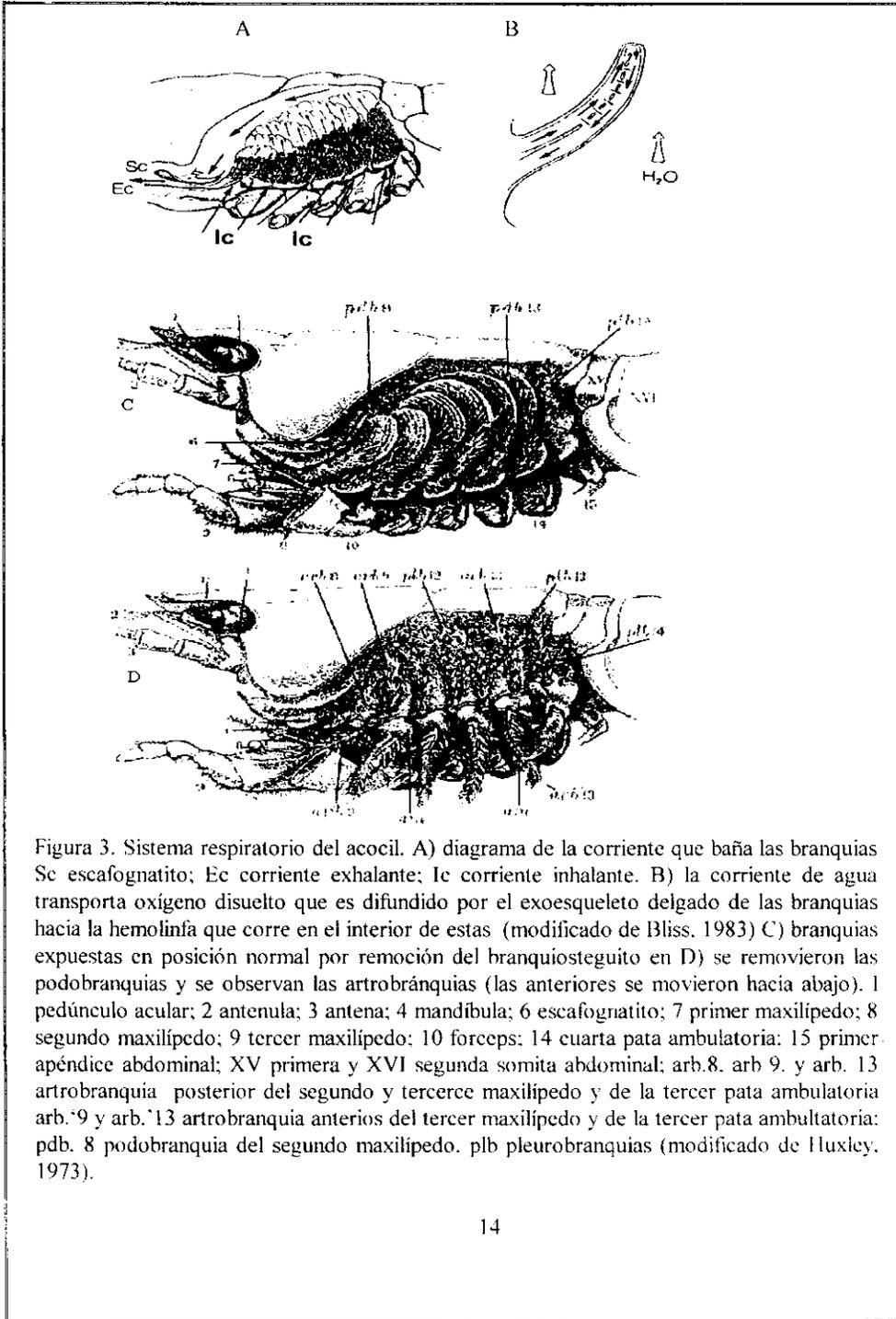


Figura 3. Sistema respiratorio del acocil. A) diagrama de la corriente que baña las branquias Sc escafofnatito; Ec corriente exhalante; Ic corriente inhalante. B) la corriente de agua transporta oxígeno disuelto que es difundido por el exoesqueleto delgado de las branquias hacia la hemolinfa que corre en el interior de estas (modificado de Bliss, 1983) C) branquias expuestas en posición normal por remoción del branquiosteguito en D) se removieron las podobranquias y se observan las artrobránquias (las anteriores se movieron hacia abajo). 1 pedúnculo acular; 2 antenula; 3 antena; 4 mandíbula; 6 escafofnatito; 7 primer maxilípedo; 8 segundo maxilípedo; 9 tercer maxilípedo; 10 forceps; 14 cuarta pata ambulatoria; 15 primer apéndice abdominal; XV primera y XVI segunda somita abdominal; arb.8, arb. 9, y arb. 13 artrobránquia posterior del segundo y tercer maxilípedo y de la tercer pata ambulatoria; arb. 9 y arb. 13 artrobránquia anterior del tercer maxilípedo y de la tercer pata ambulatoria; pdb. 8 podobranquia del segundo maxilípedo. plb pleurobranquias (modificado de Huxley, 1973).

2.1.7 Sistema Nervioso

El sistema nervioso de los crustáceos consiste en ganglios formados por pares embrionarios unidos a lo largo de la línea media por comisuras y longitudinalmente por conectivos. En los decápodos éste consiste de un cordón ventral doble y series de ganglios (Sandeman, 1982): un ganglio cerebral, conectivos circumesofágicos, un ganglio subesofágico, 5 ganglios torácicos y 6 ganglios abdominales (figura 4). De la mayoría de los ganglios surgen tres pares de nervios, los dos primeros contienen elementos motores y sensoriales, mientras el tercero solo contiene fibras motoras (Huges y Wiersa, 1960). La fusión medial resulta en el ganglio de cada segmento dando la apariencia de una unidad sencilla con conectivos longitudinales unidos estrechamente. La arteria esternal pasa entre las comisuras en los segmentos torácicos tres y cuatro, a este nivel el cordón nervioso yace en el seno esternal del sistema endofragmal. Debajo del esófago hay un ganglio subesofágico formado por seis ganglios cefalotorácicos fusionados que innervan las partes bucales. Los decápodos macruros poseen un número grande de ganglios ventrales no fusionados, cinco torácicos y seis abdominales. Solo los tres primeros ganglios torácicos están fusionados con el ganglio subesofágico. El primer ganglio torácico inerva los quelípedos, mientras que del segundo al quinto inervan las patas ambulatorias. Los ganglios abdominales 1-5 inervan los músculos extensores y flexores así como a los pleópodos. El sexto inerva los urópodos, telson y la región anal del intestino. El ganglio subesofágico y el supraesofágico (ganglio cerebral o cerebro) se conectan mediante conectivos circumesofágicos. El cerebro se puede dividir en tres regiones: protocerebro, deutocerebro y tritocerebro. El protocerebro innerva la región óptica, las del deutocerebro las antenulas y las del tritocerebro las antenas y el intestino. La comisura del tritocerebro es postoral (Holdich y Lowery, 1988).

Además del sistema nervioso central, en el acocil hay un sistema nervioso periférico el cual surge de un ganglio en cada uno de los conectivos circumesofágicos; éste controla mecanismos viscerales como el latido del corazón y la función intestinal. De cada ganglio surge un nervio sencillo que se fusiona con el del otro lado para formar un ganglio anterior. De este ganglio anterior un nervio conecta al ganglio estomatogástrico en la pared dorsal del

proventrículo y se ramifica al hepatopáncreas y otra rama inerva al corazón haciendo sinapsis en el ganglio cardiaco.

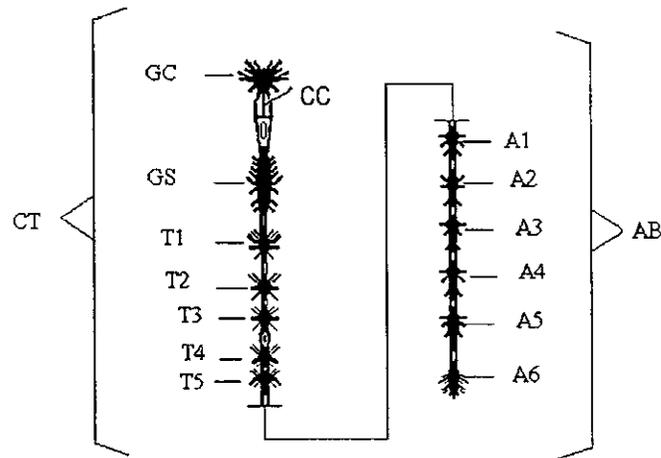


Figura 4. Sistema nervioso central del acocil. CT. Cefalotorax; AB abdomen; GC ganglio circumesofágico; CC conectivos circumesofágicos; GS ganglio subesofágico; T1-T5 ganglios torácicos; A1-A6 ganglios abdominales. (Modificado de Sandeman, 1982).

2.1.7.1 Control central del corazón y el escafofnatito

En respuesta a estímulos ambientales el acocil responde en forma simultánea tanto en el latido cardíaco como en el del escafofnatito (Larimer, 1964). Larimer y Tindel (1966) encontraron cambios en la frecuencia cardíaca del acocil en respuesta a estímulos táctiles y químicos. Por otra parte, McMahon y Wilkens (1972) reportaron periodos simultáneos de apnea (suspensión del batido del escafofnatito), paro cardíaco en la langosta ante estímulos eléctricos a distintos niveles del sistema nervioso.

En los decápodos el corazón recibe un par de nervios inhibitorios y dos pares de excitatorios del sistema nervioso central. Estos controladores se localizan en la región torácica posterior y surgen de segmentos homólogos del cordón nervioso ventral. Los

axones viajan hacia las paredes laterales del tórax pasando por los órganos pericárdicos y se unen como nervios dorsales. Los nervios dorsales viajan a través de los ligamentos alados posterodorsales entrando a la pared dorsal del corazón y haciendo sinápsis en el ganglio cardiaco (Wilkens, 1999) (figura 5).

Las fibras comando de los conectivos circumesofágicos inervan al corazón y a los osciladores respiratorios. estas son las vías por las cuales se median las respuestas reflejo antes mencionadas. Las observaciones en la langosta sugieren que muchas de estas fibras nerviosas centrales afectan tanto al corazón como al escafognatito. Wilkens y cols. (1974) observaron en el cangrejo *Cancer magister* que el 68 % de las fibras comando de los conectivos del ganglio circumesofágico son bisinápticas, es decir, hacen sinapsis tanto en el sistema cardiaco como en el respiratorio. 29% de estas fibras modulan únicamente al escafognatito y 3% solo al corazón. Este hecho sugiere una interdependencia de los sistemas circulatorio y respiratorio, pues las fibras comando parecen controlar dos tipos de funciones, una separando diferentes tipos de respuestas del corazón y de los escafognatitos, y otra causando un tipo de respuestas simultaneas y no variables en todas las frecuencias de estimulación (Wilkens et al., 1974).

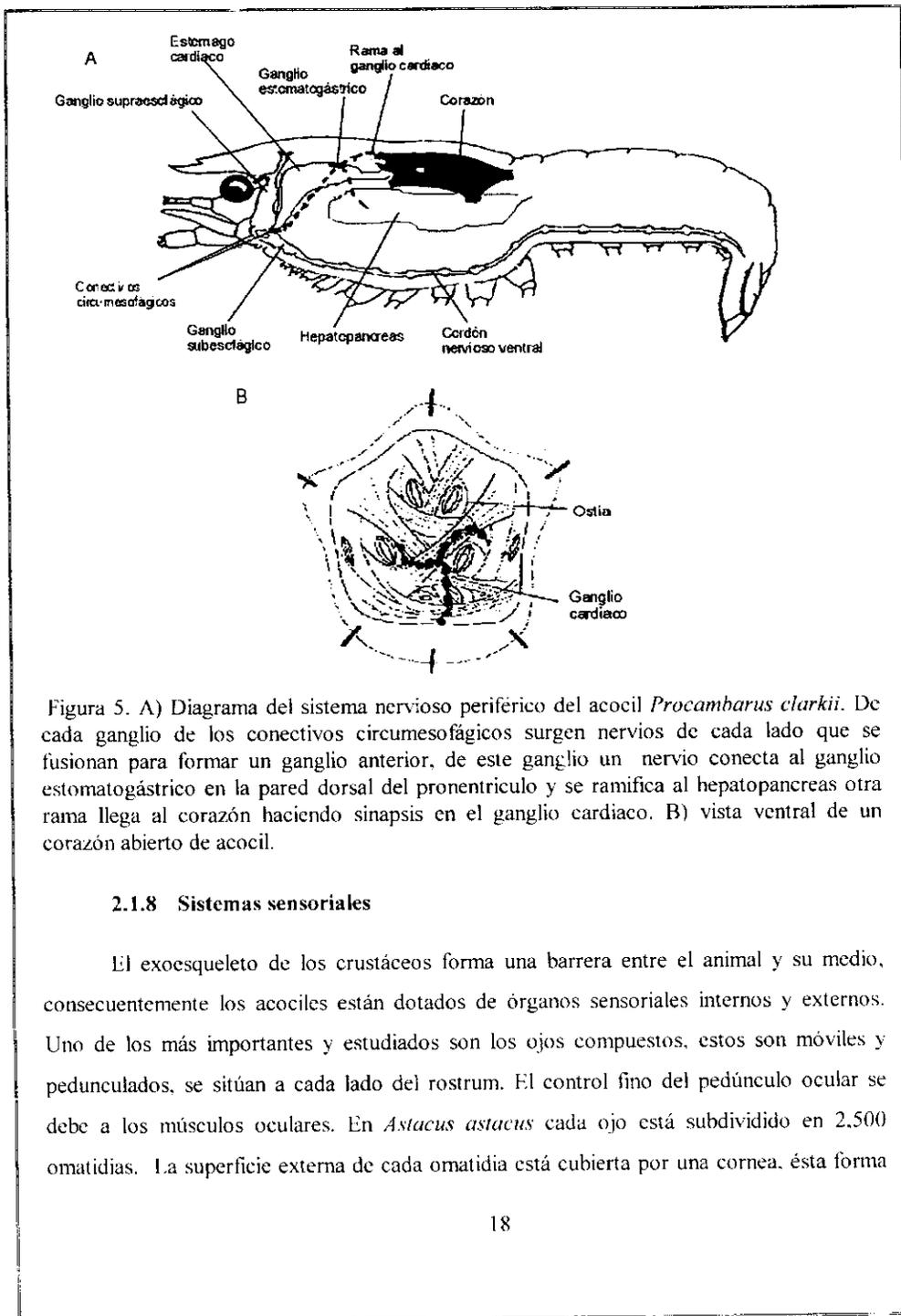


Figura 5. A) Diagrama del sistema nervioso periférico del acocil *Procambarus clarkii*. De cada ganglio de los conectivos circumesofágicos surgen nervios de cada lado que se fusionan para formar un ganglio anterior, de este ganglio un nervio conecta al ganglio estomatogástrico en la pared dorsal del pronotriculo y se ramifica al hepatopáncreas otra rama llega al corazón haciendo sinapsis en el ganglio cardiaco. B) vista ventral de un corazón abierto de acocil.

2.1.8 Sistemas sensoriales

El exoesqueleto de los crustáceos forma una barrera entre el animal y su medio, consecuentemente los acociles están dotados de órganos sensoriales internos y externos. Uno de los más importantes y estudiados son los ojos compuestos, estos son móviles y pedunculados, se sitúan a cada lado del rostrum. El control fino del pedúnculo ocular se debe a los músculos oculares. En *Astacus astacus* cada ojo está subdividido en 2.500 omatidias. La superficie externa de cada omatidia está cubierta por una cornea, ésta forma

el límite óptico entre el medio líquido o gaseoso y el acuoso que constituye el cristalino, éste como es la estructura óptica que conduce la luz a las células fotorreceptoras. Los rabdómeros están formados por miles de invaginaciones de la membrana de las células retinulares conocidas con el nombre de microvellosidades. Cada omatida está formada por ocho de aquellas células; las microvellosidades de siete de ellas forman un rabdomo central constituido por la unión de los rabdómeros individuales, la octava célula retinular no contribuye al rabdomo principal, sino que forma un rabdomo pequeño, que probablemente actúa como un filtro de luz antes de que esta llegue al rabdomo principal. Los axones de las células retinulares que están rodeadas de senos venoso, se extienden a la membrana basal por debajo de la cual se encuentra la *lámina ganglionaris*. En cada omatidia se encuentran células pigmentarias que contienen los pigmentos de blindaje, estos son pigmentos oscuros que en los crustáceos, al parecer están formados por omocromos y pterinas. Entre estos pigmentos se encuentran: el pigmento distal, el proximal y uno reflector. Las células pigmentales rodean cada cono cristalino, el pigmento se mueve dependiendo del grado de adaptación a la luz. En luz intensa el pigmento se extiende y separa de cada omatidia de su vecina creando una imagen en mosaico. Un pequeño ajuste en la posición de un objeto estimulará otra omatidia y el ojo percibe movimiento. En niveles de baja intensidad de luz el pigmento se retira de la zona clara y los rayos de luz provenientes de varias omatidias pueden superponerse por reflexión en un solo rabdomo originando una imagen superpuesta. Cada omatidia descansa proximalmente en la membrana basal, la cual es penetrada por axones que viajan desde las células retinulares proveyendo conexiones nerviosas por cuatro vías del ganglio óptico, hacia el nervio óptico y además al ganglio supraesofágico (figura 6). El nervio óptico en el acocil contiene cerca de 17.000 axones (Holdich y Lowery, 1988).

La fotorrecepción en acociles ha sido muy estudiada (Shaw y Stowe, 1982) por su integración neural en el sistema óptico. En *Procambarus* un sistema de búsqueda optocinética sigue objetos en movimiento en el campo visual, mientras un sistema de control estabiliza la posición del ojo relativa al marco espacial de referencia (Neil, 1982). Los movimientos del cuerpo con respecto al medio son detectados por los ojos, estatocistos y propioceptores de las extremidades y la integración de estos inician movimientos

compensatorios apropiados.

Por otra parte, se ha demostrado la existencia de un sistema receptor caudal ubicado en el sexto ganglio caudal, Welsh (1934) fue el primero en estudiarlo en *Orconectes virilis* y *Procambarus clarkii* al observar que la frecuencia de movimiento de las patas era afectada por la iluminación de esta región. Además, se observó que los acociles sin ojos evadían la luz de igual forma que aquellos con ojos. Posteriormente se mostró que respuestas eléctricas a la iluminación del ganglio caudal podían ser obtenidas en la región abdominal y torácica del cordón nervioso ventral, en las comisuras faríngeas y además que se podían obtener de un solo lado a la vez (Prosser, 1934). En 1976 Wilkens y Larimer revelaron una respuesta de neuronas fotorreceptoras abdominales, sugiriendo que su posible relación con reflejos del comportamiento no puede ser menos importante que el sistema fotorreceptor mayor. El sistema receptor caudal consiste solo de dos neuronas, el axón de cada una de ellas se alarga rostralmente con cambios considerables en su diámetro. El soma no parece intervenir en la transducción de señales fóticas, se ha demostrado que el área gangliónica sensible a la luz corresponde estrechamente al árbol dendrítico originado en la célula contralateral del cuerpo (Holdich y Lowery, 1988). La respuesta espectral de estos fotorreceptores indica que el fotorpigmento involucrado es una rodopsina muy parecida a la que regula la recepción fótica en el ojo del acocil (Bruno y Kennedy, 1962; Larimer y Tindel, 1966).

El exoesqueleto de los acociles tiene numerosas proyecciones, algunas como las espinas son sólidas y se originan en la cutícula, otras como las setas son flexibles y se forman desde la epidermis. Algunas de estas son sensibles (sensilas) (Dennell, 1960) y se localizan en casi toda la superficie corporal, principalmente en las antenas, el caparazón anterior, quelípedos, apéndices orales, la región ventral del abdomen y el borde del telson. Receptores en las depresiones cuticulares de los pelos están presentes en *Procambarus*, estos responden a deflexiones de setas táctiles por movimientos del agua cerca del cuerpo, además, sensilas quimiorreceptoras se concentran en las anténulas, apéndices orales y pereópodos. Por otra parte, receptores internos (propiorreceptores) controlan la tensión muscular e informan al Sistema Nervioso Central de las posiciones relativas de los músculos (Cohen y Dijkgraaf, 1961).

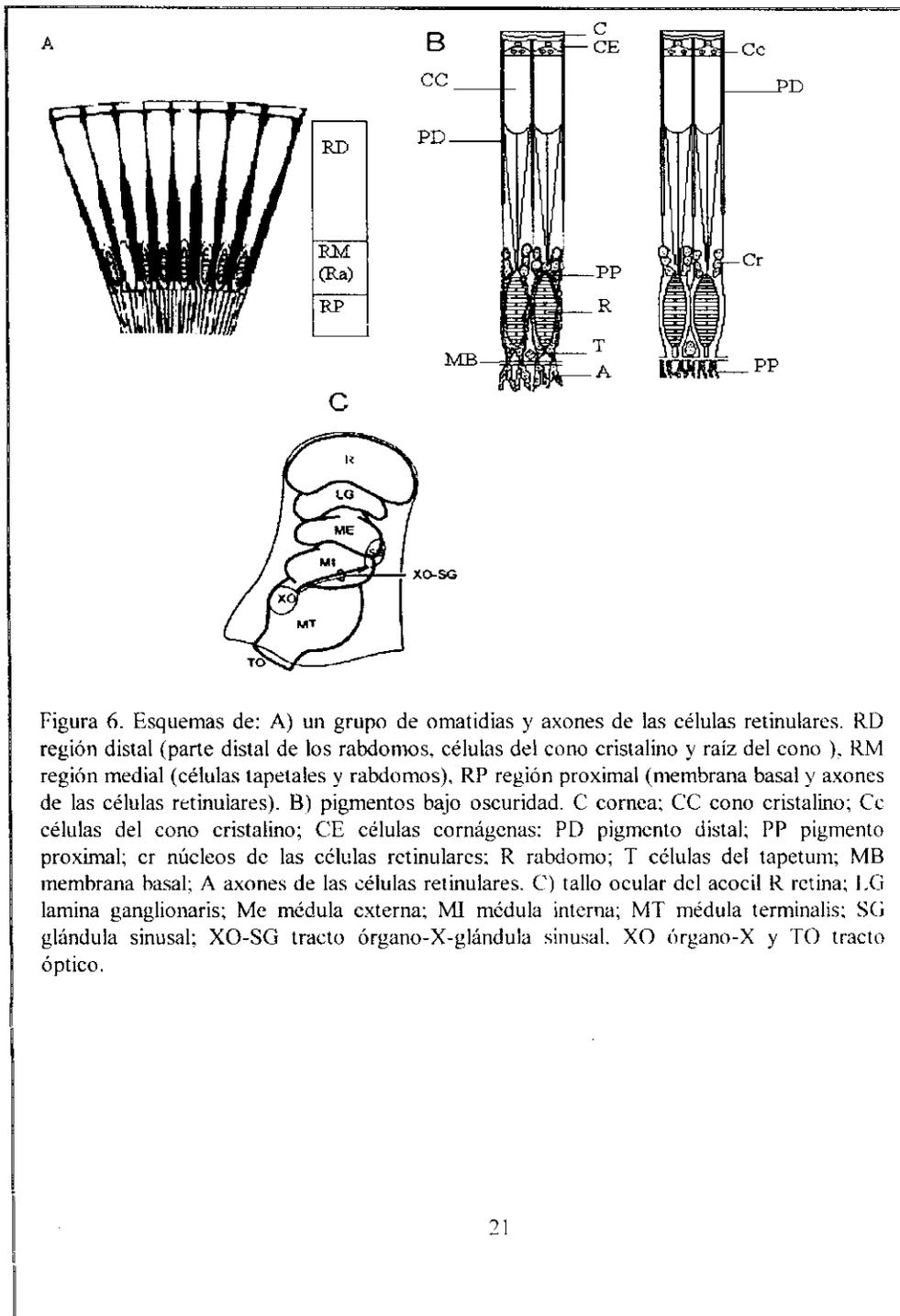


Figura 6. Esquemas de: A) un grupo de omatidias y axones de las células retinulares. RD región distal (parte distal de los rabdomos, células del cono cristalino y raíz del cono), RM región medial (células tapetales y rabdomos), RP región proximal (membrana basal y axones de las células retinulares). B) pigmentos bajo oscuridad. C cornea; CC cono cristalino; Cc células del cono cristalino; CE células cornágenas; PD pigmento distal; PP pigmento proximal; cr núcleos de las células retinulares; R rabdomo; T células del tapetum; MB membrana basal; A axones de las células retinulares. C) tallo ocular del acicil R retina; LG lamina ganglionaris; Me médula externa; MI médula interna; MT médula terminalis; SG glándula sinusal; XO-SG tracto órgano-X-glándula sinusal. XO órgano-X y TO tracto óptico.

2.2 RITMOS BIOLÓGICOS

2.2.1 Definición, características y clasificación de los ritmos

El ambiente físico se caracteriza por varias periodicidades que derivan de los movimientos de la Tierra y la Luna con respecto al Sol. La vida, desde sus orígenes hace varios millones de años, se ha enfrentado a pronunciados ciclos diarios de luz y temperatura, estas periodicidades físicas originaron una selección natural. La única estabilidad de estos ciclos basados en la mecánica celestial presentó una clara oportunidad para la selección: la predicción hace que una programación anticipadora sea viable. Una de las funciones más importantes del sistema circadiano es asegurar que el comportamiento y los ajustes metabólicos sean programados con respecto a los eventos diarios en el ambiente. Esta relación entre los ritmos circadianos y las señales ambientales de tiempo probablemente aumentan la supervivencia de las especies en un mundo donde la provisión de alimento y la actividad depredadora son cíclicas. El resultado se encuentra en una gran cantidad de sistemas eucarióticos con programa temporal innato (de regulación genética) para el metabolismo y el comportamiento durante una fracción del cambio físico externo (Aschoff, 1984).

Los marcapasos que dirigen el programa temporal son un grupo de osciladores caracterizados por varios atributos que le confieren su función de relojes. Los marcapasos son una entidad localizable, capaz de oscilar autosostenidamente y capaz de detectar y sincronizarse a cambios rítmicos externos, además impone el periodo y la fase a los procesos orgánicos. Los marcapasos son relojes biológicos para la medición del tiempo ambiental en dos formas conceptualmente distintas: a) obteniendo del cambio ambiental una fase propia del programa, es decir, que reconocen el tiempo local y b) en dar una secuencia temporal apropiadamente estable en el evento sucesivo del programa, estos miden el lapso de tiempo (sideral) (Brady, 1979).

Se considera ritmo biológico a la recurrencia de un fenómeno biológico en intervalos regulares de tiempo. La noción de ritmo para describir una variedad de fenómenos que

pueden reflejar diferentes mecanismos puede ser vaga si no es definida en términos físicos, es por ello que los ritmos se clasifican y describen de acuerdo a 1) su frecuencia; 2) el sistema biológico en el que se observa el ritmo (por ejemplo la población); 3) el tipo de procesos que generan el ritmo; o 4) la función que desempeña el ritmo (Aschoff, 1984). Existen 4 clases de ritmos como procesos biológicos:

- a) Un amplio rango de procesos rítmicos de alta frecuencia como el latido del corazón, los movimientos respiratorios y la generación de espigas en las neuronas.
- b) Ritmos relacionados con los ciclos ambientales como los diarios, marcales, lunares (mensuales) y anuales.
- c) Los fenómenos de fotoperiodismo, como el ajuste de diversas funciones a las estaciones (como la reproducción) regulados por los relojes que miden la longitud del día.
- d) Los intervalos de tiempo de un fenómeno que ocurre cuando la dormancia o diapausa terminan por una duración mínima establecida.

La frecuencia de los ritmos es la razón para una subdivisión del espectro en ritmos ultradianos e infradianos. Los ritmos ultradianos se definen como un fenómeno que se presenta recurrentemente en periodos menores a 19 horas, por lo que se presentan con una frecuencia mayor a la de un día, entre estos se encuentra el sueño MOR (movimiento rápido de ojos) durante el ciclo sueño-vigilia. Los ritmos infradianos tienen periodos mayores a 29 horas, por lo que su frecuencia es menor a un día, un ejemplo de estos ritmos es el ciclo menstrual en mamíferos. Los ritmos de diferentes frecuencias pueden estar relacionados de varias formas, es bien conocida la regulación del ritmo cardíaco por la respiración. Existen observaciones que sugieren un orden jerárquico de los ritmos, es decir, un ritmo puede ser esencial para la acción propia de otro ritmo. Los ritmos de alta frecuencia, por lo general regulan y estabilizan ritmos de baja frecuencia; mientras estos ritmos desempeñan funciones importantes en el organismo, los cuatro circa-ritmos (circadiano, circamareal, circamensual y circanual) principalmente sirven a la interacción del organismo con el medio. Esta es una adaptación a nichos de tiempo generados a la estructura temporal del ambiente. Se ha propuesto que debido a la incorporación de copias aproximadas del programa temporal externo, un organismo adquiere un programa temporal endógeno llamados relojes biológicos

(Pittendrigh, 1984).

Los conceptos básicos de un oscilador son simples, para esto usemos el ejemplo de una rueda de bicicleta, si en ella marcamos un punto y la movemos hacia adelante el punto trazará una onda sinusoidal. Una revolución de la rueda ocurre cuando el punto recorre la distancia desde a hasta a' con respecto al tiempo, entonces se completa un ciclo de la oscilación (figura 7). La amplitud de la oscilación, que en muchos casos es igual al diámetro de la rueda, depende del tiempo, el tiempo que se usa para recorrer la distancia de a hasta a' o completar una oscilación es el periodo, este puede ser constante.

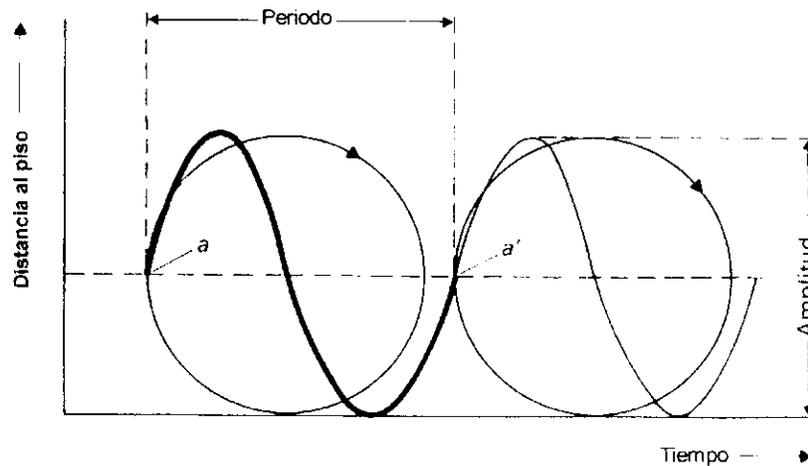


Figura 7. Representación gráfica de los conceptos de oscilación y sus ciclos. La línea delgada contra tiempo de la onda sinusoidal desplazados del punto (fase) a hasta a' en la rueda a través de un ciclo completo de rotación: Nótese que la ordenada es una distancia verdadera (amplitud de la oscilación), pero la abscisa representa el tiempo y no la distancia. Debido a que los ritmos biológicos generalmente no son simétricos a la línea media, los biólogos utilizan generalmente el término "amplitud" para definir el pico máximo; sin embargo, la definición física es la mitad de, por ejemplo el radio más que el diámetro de la rueda en esta figura. (Tomado de Brady, 1979)

La rueda puede cambiar su velocidad alterando su frecuencia, es decir, el número de oscilaciones (revoluciones) de la rueda por unidad de tiempo. La frecuencia es recíproca del periodo, al aumentar el periodo de oscilación la frecuencia disminuye. Un punto o zona cualquiera en el ciclo de una oscilación es una fase, en un ritmo biológico endógeno la fase del ritmo establece un ángulo de fase con el ciclo ambiental que lo sincroniza, si el ángulo de fase es igual a cero ambos ritmos están en fase, pero si ese segmento de un ritmo ocurre tarde, o se adelanta en respuesta a un cambio ambiental se dice que está desfasado (Brady, 1979).

2.2.2 Los ritmos circadianos.

Los ritmos circadianos son los ritmos que se presentan con periodos aproximados a las 24 horas, si se toman en cuenta los ritmos ultradianos e infradianos podemos decir que los ritmos circadianos son mayores de 19 horas y menores de 29 horas. Los ritmos circadianos tienen las siguientes características: 1) son endógenos y programados genéticamente, 2) son susceptibles a ser sincronizados, 3) al ser endógenos persisten en oscilación espontánea en ausencia de señales externas, 4) en general el periodo es mayor a 24 horas para especies diurnas y menor en especies nocturnas, cuando los organismos están expuestos a oscuridad constante, 5) son capaces de compensar cambios de temperatura y 6) generalmente desaparecen bajo luz intensa constante.

Los ritmos biológicos están determinados genéticamente, por lo que se presentan aun cuando los individuos se encuentran aislados del medio ambiente. Algunas señales externas sincronizan a los organismos vivos con los cambios temporales periódicos, a estas señales se les llaman sincronizadores. El sincronizador fácilmente observable y el más estudiado es el ciclo nictemeral, es decir, la sucesión de luz y oscuridad provocado por la rotación de la tierra en un periodo de 24 horas. Este ritmo geológico, probablemente como una presión de selección, dio lugar en los organismos a ritmos biológicos internos con un periodo similar, pero no exactamente igual al externo, a este se le conoce como circadiano (del latín *circa* que significa "cerca" y *die* que quiere decir "día"). El prefijo "circa" fue introducido por Halberg (1959) para los ritmos diarios y después fue utilizado para los otros tres ciclos

(circamareales, circalunares y circanuales). Los ritmos circadianos o diarios son primitivos, ubicuos y fundamentales para la vida, pero no son la única forma de medir el tiempo.

2.2.3 Oscilación libre o espontánea

Al ser endógenos los ritmos circadianos oscilan en forma espontánea liberándose del oscilador externo en condiciones constantes como oscilaciones autosostenidas. Estas pueden ser sincronizadas por factores periódicos en el ambiente, los *zeitgebers* (del alemán que significa “dador del tiempo”) o sincronizadores. El periodo (τ) del ritmo en oscilación libre varía según la especie, los individuos, su estado fisiológico y la historia experimental.

Los periodos en oscilación libre son una evidencia de que los ritmos circadianos están dirigidos por un reloj autónomo del organismo y no son producto de algún estímulo ambiental no detectado. La mayoría de las especies eucariontes tienen periodos en oscilación libre que varían alrededor de las 24 horas. El hecho de que los ciclos no sean de exactamente 24 horas no es un error evolutivo sino todo lo contrario, pues confieren plasticidad al sistema para ajustarse al ciclo externo (Moore-Ede et al., 1982). Los ritmos circadianos pueden diferir ligeramente de las 24 horas, por ejemplo, en las cucarachas se ha observado una variación de 0.5 horas, sin embargo se considera que estos ritmos pueden variar en un rango entre 22 y 28 horas por ciclo, es decir los ritmos circadianos pueden sincronizar a ciclos de luz-oscuridad (LO) en un intervalo o límite de sincronización que varía entre $T = 22$ h y $T = 28$ h, donde T es el periodo del ciclo externo (Moore-Ede et al., 1982).

En ciclos de luz artificial que no rebasan las 24 horas, los ritmos circadianos pueden verse por varias horas acelerados o retrasados, pero si las condiciones se manipulan por tiempos prolongados en frecuencias no naturales pueden haber efectos patológicos. Muchos organismos muestran oscilación libre de ritmos circadianos en luz constante así como en oscuridad constante, pero si la luz es demasiado brillante (intensa) por lo general se elimina cualquier ritmicidad después de algunos ciclos y el reloj suele detenerse. La luz al igual que la temperatura son factores importantes en la oscilación de un ritmo.

Un factor determinante para la longitud del periodo de un reloj circadiano que oscila en un medio constante, es la intensidad de luz a la que el organismo es expuesto. Al ser más

intensa la luz disminuye la longitud del periodo de libre oscilación en organismos diurnos, pero se alarga en organismos nocturnos (a este postulado se le conoce como ley de Aschoff) (Aschoff, 1960).

Por otro parte, cuando es mayor el tiempo de exposición a luz intensa el tiempo de actividad de un animal, comparado con el tiempo en reposo, aumenta en las especies diurnas, pero disminuye en las nocturnas. Aschoff fue más cuidadoso en cuanto a la tercera generalización, el periodo de oscilación libre es más largo de 24 horas para animales diurnos en oscuridad constante y más corto de 24 horas para especies nocturnas en las mismas condiciones.

En la mayoría de las especies el periodo τ de un ritmo de oscilación libre cambia al exponerse a la luz dependiendo de la intensidad de la iluminación. En algunas especies diurnas τ decreciente al incrementar la intensidad de la luz, el periodo se alarga en las especies nocturnas, aunque en los artrópodos no existe una regla general. (Pittendrigh, 1984).

Los animales y las plantas están expuestos a cambios de temperatura que llegan a fluctuar hasta varias decenas de grados centígrados durante un día. Debido a que la tasa metabólica de la mayoría de los procesos fisiológicos se duplican o triplican ante un aumento de temperatura de 10 grados (como sucede en algunas reacciones químicas que muestran $Q_{10}=2.0$ o 3.0) esto podría ocasionar severas dificultades para un reloj biológico en el supuesto de que éste reaccionara de igual forma ante los cambios de temperatura. Pero esto no sucede así, pues los ritmos biológicos son capaces de compensar los cambios de temperatura mostrando un $Q_{10} \cong 1$ (Brady, 1979). Varios experimentos han demostrado que los periodos de todos los ritmos circadianos resultan poco afectados por cambios de temperatura. Un incremento o decremento de 10 °C algunas veces causan diferencias de hasta el 20% en la longitud del periodo. Descrito en términos termoquímicos, los coeficientes de temperatura para los ritmos normalmente varían entre 0.9 y 1.2, es decir una variación significativa con respecto a los coeficientes de otros sistemas químicos que varían en intervalos de 2.0 a 4.0 (Brady 1979; Aschoff, 1984).

2.2.3.1 Sincronización

Es evidente que en condiciones naturales los organismos raras veces se encuentran bajo condiciones constantes, donde sus ritmos oscilen libremente. Este prerrequisito da una explicación general de porqué la selección natural ha generado programas en quienes dentro del marco temporal es un oscilador autosostenido más que un simple reloj de arena. Un reloj de arena puede en principio dar una referencia de tiempo programado, pero sólo si el inicio de su descarga estuviera en fase (diario) con algún marcador externo bien definido del tiempo local. Un oscilador tiene varias ventajas en este contexto, incluyendo, especialmente su previsión para ser separado completamente del *zeitgeber* por varios ciclos y manteniendo su capacidad para medir la longitud del periodo externo cuando es sincronizado. Por el contrario, un modelo de reloj de arena funcionaria con un encendido y apagado diario. Para un ritmo circadiano, el reloj se voltearía cada noche o cada mañana para disparar o inhibir el proceso fisiológico que regula (Ashoff, 1984).

Los marcapasos pueden ser ajustados a una periodicidad externa con una frecuencia razonablemente cercana (Ashoff, 1984). En los casos biológicos, el ciclo externo (ambiental) es llamado *zeitgeber* o agente sincronizador. En los ciclos circadianos, el ciclo de luz-oscuridad (LO) que dura 24 horas es virtualmente un *zeitgeber* universal, cuando el periodo del marcapasos (τ) es sincronizado por un ciclo luz-oscuridad (LO) de periodo T, el periodo del marcapasos τ es cambiado a $\tau^*=T$. Por ejemplo, un ratón muestra un ritmo circadiano con $\tau = 23.2$ h, en oscuridad constante, pero asume un periodo de 24 horas cuando es expuesto a LO 12:12 ($T=24$). En el estado constante de sincronía se establece una relación de fase específica (ϕ) entre los marcapasos del programa temporal del organismo y el ciclo de luz externa; esto es en virtud de su sincronización estable con el ciclo, el marcapaso se encarga de la medición del tiempo, por ejemplo, la síntesis de enzimas digestivas anterior a la alimentación durante las primeras horas de la noche (Ashoff, 1984).

2.2.4 Ritmos circadianos en el acocil.

Los crustáceos son conocidos por exhibir varios ritmos circadianos (Pollard y Larimer, 1977), por lo que son un modelo para el estudio de mecanismos medidores del tiempo, por ejemplo: Palmer (1971) reportó ritmos de actividad locomotora en varias especies de cangrejos de tierra; Schalleck (1942) reportó el mismo ritmo para acociles del género *Cambarus*; posteriormente Page y Larimer (1972) reportaron ritmos de actividad locomotora en los acociles del género *Procambarus*. Se conocen también fluctuaciones rítmicas en otras funciones fisiológicas específicas de crustáceos incluyendo la migración de los pigmentos filtrantes retinianos en el acocil (Welsh, 1941), el cambio circadiano de color (Brown et al. 1953); la toma de oxígeno (Brown 1960; Fingerman y Lago, 1957), así como el ritmo circadiano de la amplitud del electroretinograma (ERG) (Arechiga, 1974; Page y Larimer 1975) y el ritmo de la frecuencia cardíaca (Pollard y Larimer, 1977).

Se ha sugerido que el cerebro del acocil aloja importantes osciladores circadianos que se comportan como marcapasos de diferentes ritmos. Además se han descrito fotorreceptores circadianos para los ritmos locomotor y de ERG (Fanjul-Moles et al., 1992; Fanjul-Moles y Prieto-Sagredo, 1996; Miranda-Anaya y Fanjul-Moles, 1997; 1998; Bernal-Moreno et al., 1996). Existe la hipótesis de que los mecanismos de acoplamiento de estos ritmos son principalmente neurales (Page y Larimer, 1975 a y b; Barrera-Mera y Block, 1990). Otros autores enfatizan la participación de hormonas circulantes en el acoplamiento de varios ritmos como el de actividad del ERG (Arechiga y Naylor, 1976) y el cardíaco (Pollard y Larimer, 1977).

2.3 ESTRÉS

2.3.1 Definición de estrés

Un estresor puede ser definido como un perturbador del medio exterior que altera la homeostasis (Moeberg, 1985), la respuesta al estrés es el conjunto de adaptaciones neurales y endocrinas que ayudan a restablecerla. Si un organismo es sometido a un estresor físico agudo y la respuesta a éste no es la adecuada, las condiciones suelen ser fatales, pero si la respuesta es activada en forma tónica o crónica puede causar varias patologías.

Un adelanto importante en la comprensión biológica de la teoría del estrés se debe a Selye (1950) quien enfatizaba que una variedad de estímulos externos o internos (estresores) como el miedo, las sustancias tóxicas, el frío, el calor, etcétera, producen cambios fisiológicos (estrés) que se relacionan con el estado patológico en los animales. Selye observó que las respuestas fisiológicas de un animal estresado eran similares, dependiendo de la naturaleza del factor estresante. Este autor propuso el Síndrome General de Adaptación como un mecanismo para sobrevivir al estrés, el cual constituye un conjunto de respuestas biológicas no específicas que se pueden clasificar en tres fases: en la primera el individuo responde al estímulo estresante con una reacción de alarma o emergencia, está es seguida por una fase de resistencia, cuando el individuo es biológicamente capaz de resistir las demandas fisiológicas del estrés, pero si el estrés continúa el individuo experimenta una fatiga del sistema biológico de defensa que lo puede llevar a la muerte (Moberg, 1985).

2.3.2 Estrés y Luz

2.3.2.1 Adaptaciones de los organismos a la luz.

La actividad de muchos animales es regulada por la presencia o ausencia de luz y las características de su espectro, pero la luz ha sido poco estudiada como un factor limitante de la distribución animal (Prosser, 1954; Fanjul-Moles et al., 1998). Una respuesta a la luz sugiere la participación de pigmentos que absorben la energía lumínica. Las formas bénticas son frecuentemente luminosas y pueden ser no pigmentadas, las especies diurnas y nocturnas

a menudo difieren, pero parece no haber animales en transición diurna-nocturna, sin embargo, es poco conocida la fisiología relacionada con la luz

Los casos más conocidos de adaptación racial y específica con respecto a la luz son los animales excavadores. Breder (1942, 1943 y 1953) estudió el pez cavador de México *Anoptichthys jordani* que convive con otro pez de río en la entrada de la cueva. Estos peces cavadores prosperan donde el alimento es abundante y la selección es asumida por la fuerza de las razas ciegas dentro de las cuevas. El pez cavador de Sudamérica *Pimelodella kronei* desarrolla pigmentos al permanecer en la luz del día por varias semanas, pero no muestra control alguno de los pigmentos en correspondencia con su historia o alguna fototaxia (Pavan, 1946). Esto es de particular importancia para comparar la respuesta de los pigmentos, la fototaxia y los ritmos diurnos en algunos peces caracínidos intermediarios reportados (Breder, 1942).

La pigmentación oscura de los insectos está asociada con el cambio de color como protección ante la pérdida de agua, la entrada de sustancias tóxicas o la irradiación de onda corta (Kalmus, 1941). Otro efecto de la luz que tiene un valor aparte es el fotoperiodismo, donde las diferencias ante el estrés a la luz pueden establecer tiempos de reproducción diferentes entre depredadores y depredados como sucede en las aves.

2.3.2.2 Adaptaciones respiratorias a estrés por luz en crustáceos.

La sensibilidad a la energía electromagnética de longitudes de onda que van desde el ultravioleta hasta el infrarrojo es una función adaptativa de los crustáceos y en general de todos los organismos.

El decápodo *Hemigrapsus oregonensis* colectado en el verano y sometido a un fotoperiodo LO 8:16 muestra un consumo de oxígeno mayor al presentado por cangrejos de la misma especie sometidos a la misma temperatura y salinidad pero con fotoperiodos de LO 16:8 u oscuridad constante. Poblaciones de cangrejos *H. nudus* colectados en verano muestran el mismo incremento en el consumo de oxígeno al mantenerlos en el mismo fotoperiodo de día corto LO 8:16 en comparación con uno de día largo LO 16:8 u oscuridad constante, pero las diferencias no son tan pronunciadas como en *H. oregonensis*. La respuesta es evidente después de una semana y persiste durante semanas subsecuentes

(Vanberg y Varnberg, 1983).

De acuerdo con Dahnel (1958), el incremento en el volumen de oxígeno consumido por los cangrejos expuestos a un fotoperiodo de día corto puede significar un ajuste en su tasa metabólica como una preparación para las condiciones de luz invernal. Si es así, entonces el valor adaptativo de este mecanismo sería preparar a los animales para operar a bajas temperaturas.

La longitud del fotoperiodo no afecta el nivel de metabolismo en el acocil *Orconectes nais* (Rice y Armitage, 1974). En contraste con un copépodo planctónico *Calanus finmarchicus* que responde a la luz incrementando ligeramente su tasa de respiración (Marshall et al., 1935). El efecto de la luz en el metabolismo de animales que migran verticalmente en la columna de agua ha sido cuestionado, por ejemplo, Buikema (1972,1975) correlacionó las intensidades de luz (nueve intensidades, luz polarizada y cuatro intervalos de longitud de onda) con la energía del cladóceros de agua dulce *Daphnia pulex* (conocido por su migración vertical). La eficiencia de la respiración fue menor para intensidades menores a 28 ft/cd. En 1.7 ft/cd este valor fue 9.8 %, pero para 110 ft/cd este fue de 50%, sin embargo, los valores entre 20 y 30% fueron típicos en intensidades de luz intermedias. Generalmente el efecto de la luz polarizada fue inseparable del efecto de la intensidad de la luz. Este autor también reportó que la tasa metabólica se redujo después de una aclimatación a diferentes longitudes de onda. Para especies marinas Small y Hebard (1967), Bishop (1968) y Teal (1971) encontraron un efecto notable en la respiración de crustáceos que migran verticalmente.

Por otra parte, la variación del fotoperiodo y la irradiancia influyen en parámetros metabólicos y de comportamiento en *P. clarkii* y *P. digueti*. Fotoperiodos extremos de alta irradiancia provocan un incremento en la concentración de lactato en la hemolinfa y un decremento en el consumo de oxígeno en ambas especies, lo que señala la existencia de un metabolismo anaeróbico bajo estrés foto-oxidativo, además se inhibe la actividad locomotora (Fañjul-Moles et al., 1998). Ambas especies muestran distintas respuestas metabólicas así como tolerancia ante el estrés oxidativo producido por luz, que se refleja en un aumento en la reactividad y en el estado de glutatión en la hemolita (Prieto-Sagredo et al., 2000).

3 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el acocil *Procambarus clarkii* el incremento en la irradiancia y en la longitud del fotoperiodo produce un aumento en los niveles de lactato en la hemolinfa, una disminución en el consumo de oxígeno y un decremento en la actividad locomotora. (Fanjul-Moles et al, 1998). Este efecto es similar al producido por el ejercicio y otros factores de estrés en los crustáceos. Los resultados del trabajo anterior sugieren que *P. clarkii* en condiciones de estrés lumínico puede aumentar la concentración de lactato, incrementando la glicólisis anaerobia, remplazando las vías aeróbicas por anaeróbicas y disminuyendo por lo tanto sus requerimientos energéticos. Lo anterior se traduce en cambios de comportamiento (Fanjul-Moles et al., 1998). Varios estímulos ambientales (táctiles y químicos) producen respuestas reflejas simultaneas en los escafognatitos y el corazón del acocil (Larimer, 1964) así como para cardiaco y apnea simultáneos en langosta (Wilkens y MacMahon, 1972). Los resultados los trabajos anteriores sugieren que la luz podría tener un efecto similar al de otros estímulos ambientales, en las estructuras neurales y endócrinas responsables en el control de funciones metabólicas y de comportamiento. Por otra parte se ha demostrado el control nervioso de la frecuencia cardiaca y respiratoria (Varnberg y Varnberg, 1983) así como los ritmos circadianos en la ingesta de oxígeno (Fingerman y Lago, 1955), la frecuencia cardiaca (Pollard y Larimer, 1977) y la actividad locomotora (Page y Larimer, 1972).

Varios autores han propuesto una relación estrecha entre los cambios en la frecuencia cardiaca y las fluctuaciones circádicas en la locomoción, debido a los cambios diarios en la demanda de oxígeno y el transporte de gas, lo que debe afectar al sistema respiratorio (Fingerman y Lago, 1957; McMahon y Wilkens, 1983).

Este trabajo pretende esclarecer algunos de los mecanismos subyacentes a la respuesta de la actividad cardiaca y respiratoria ante las situaciones de estrés producidas por cambios en la irradiancia y longitud del fotoperiodo, así como su relación con la hora del día en el acocil *Procambarus clarkii*.

4 HIPÓTESIS

4.1 GENERAL

La modificación de la irradiancia y la longitud del fotoperiodo es una condición estresante para el acocil que inducirá cambios en la frecuencia respiratoria (Fr) y cardíaca (Fc). Si estas dos variables tienen ritmos circadianos los efectos tendrán correlación con la hora del día.

4.2 PARTICULARES

1. Los acociles *Procambarus clarkii* tienen hábitos nocturnos y habitan lugares de baja irradiancia en altas latitudes, por lo que la condición de fotoperiodo largo y alta intensidad será un factor de estrés que modificará tanto la Fc como la Fr de estos organismos.
2. Las frecuencias cardíaca y respiratoria se encuentran reguladas por el Sistema Nervioso Central, el cual las coordina, por lo que se espera que respondan simultáneamente a los efectos de la irradiancia y la longitud del fotoperiodo.
3. Se espera que en la condición control se observe un ritmo circadiano tanto en la frecuencia cardíaca como en la respiratoria. Estos serán alterados en las condiciones experimentales como efecto del fotoperiodo y la irradiancia.

5 OBJETIVOS

5.1 GENERAL

El objetivo de este trabajo fue cuantificar y comparar el efecto de la variación en el fotoperiodo y la irradiancia sobre los cambios diarios en la frecuencia cardiaca y respiratoria del acocil *Procambarus clarkii*.

5.2 PARTICULARES

1. Someter acociles *Procambarus clarkii* adultos a distintos fotoperiodos e intensidades de luz.
2. Registrar la frecuencia cardiaca y respiratoria mediante técnicas electrofisiológicas y determinar estos parámetros en condiciones constantes y bajo la influencia de distintos fotoperiodos e irradiancias a distintas horas del día.
3. Observar cual de los parámetros lumínicos experimentales (fotoperiodo e irradiancia) tiene un efecto significativo sobre la frecuencia respiratoria y cardiaca del acocil *Procambarus clarkii*.
4. Mediante diferentes protocolos experimentales determinar si la frecuencia cardiaca y respiratoria están sincronizados tanto en la condición control como en las experimentales.

6 METODOLOGÍA

6.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron acociles *P. clarkii* en estado adulto y periodo de intermuda escogidos aleatoriamente sin importar el sexo (n=30). Los animales se escogieron teniendo un peso homogéneo (18.5 ± 0.60). Los acociles fueron colectados en Ciudad Jiménez, Chihuahua al Norte de la Republica Mexicana, a una latitud 28° N.

Los animales se aclimataron en acuarios de aproximadamente 60 litros por lo menos durante un mes. Cada acuario contenía un máximo 6 animales para evitar el estrés por sobrepoblación. Cada acuario tenía un filtro biológico y era aireado constantemente por una bomba manteniendo una concentración de oxígeno de 5.6 mg/l; la temperatura se mantuvo a 20° C y el pH en 7. La alimentación era cada tercer día por la tarde y consistía de verduras (zanahoria, calabaza y chayote) picadas y precocidas.

Durante el periodo de aclimatación los animales fueron sometidos a un fotoperiodo LO 12:12 (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad), para lo que se utilizaron lámparas fluorescentes reguladas con un timer; el encendido era a las 7:00. La irradiancia durante la fotofase fue ajustada a una intensidad de 0.02- 0.03 luxes ($8.4-12.6 \times 10^{-5} \text{ Wm}^{-2}$) para lo que se utilizó un fotorradiómetro con cuantómetro (Li-Cor Mods. LI189 y LI93SA).

6.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

6.2.1 Condiciones lumínicas

Después del periodo de aclimatación los animales fueron separados al azar para formar 5 grupos. Cada uno se sometió a un fotoperiodo diferente: I) Fotoperiodo LO12:12 y baja irradiancia (0.022 Wm^{-2}) (condición control); II) Fotoperiodo LO 12:12 alta irradiancia (6.50 Wm^{-2}); III) y IV) Se sometieron a un fotoperiodo LO 20:4 a baja y alta irradiancia respectivamente y por último V) Se sometió a un régimen OO (figura).

Se hicieron 2 grupos de animales a partir de los grupos antes mencionados (figura).

- 1) De cada acuario se tomaron tres animales para ser registrados cada hora desde las 10:00 a las 18:00. Durante el registro los animales se sometieron al mismo fotoperiodo e irradiancia a los que estaban sometidos en sus respectivos acuarios.
- 2) Un animal en fotoperiodo LO 12:12 alta intensidad y uno en OO. Estos animales se registraron continuamente cada hora por cincuenta horas consecutivas.

6.2.2 Preparación para el registro.

Los animales permanecieron en estos acuarios durante al menos una semana después de la cual se tomaba un animal al azar para trasladarlo a una cámara de registro. Antes del registro todos los animales se anestesiaron sometiéndolos a una temperatura de 4° C por aproximadamente 15 minutos. Después de la anestesia cada animal era pesado y sexado, rápidamente se le fijaba a un tapón de goma adherido dorsalmente al caparazón utilizando acrílico para dentista y se sujetaba con hilo. Lo anterior impedía el desplazamiento de los animales pero permitía el movimiento de todas las extremidades.

Posteriormente, sobre el margen lateral derecho del branquiosteguito se adhería un electrodo de tungsteno con cera de Campeche. La punta del electrodo estaba doblada en forma de gancho de tal forma que se introdujera en el canal branquial del escafnatito. Otros dos electrodos se implementaron en la parte posterior dorsal del branquiosteguito, en la región cardíaca, estos se introducían superficialmente en pequeños orificios hechos con la punta de un bisturí, a ambos lados de la sutura media cuidando no lesionar el corazón.

Una vez implantados los electrodos se sostenía al animal en un soporte universal, se utilizó una extensión y una pinza para permitir que el animal fuera sumergido en un recipiente con agua constantemente aireada (5.7 mg/l de oxígeno disuelto y pH 7). Este dispositivo se colocó dentro de una caja de Faraday para evitar interferencia, la caja estaba recubierta con papel negro para eliminar la filtración de luz.

En el interior de la caja, el dispositivo se iluminó con una lámpara de neón (luz blanca) calibrada a la irradiancia correspondiente a cada protocolo y regulada por un timer. El encendido de la luz en todos los casos fue a las 07:00 a.m. Es importante mencionar que los animales eran montados por la tarde siempre a la misma hora (aproximadamente 17:00).

un día antes de comenzar el registro para eliminar el estrés producido por la manipulación. A partir de ese momento los animales no eran alimentados. Se realizaron lecturas simultaneas de ambos órganos por dos minutos cada hora, en el grupo uno las lecturas correspondieron al intervalo entre las 9:00 y las 18:00 h, mientras que en el segundo grupo las lecturas se tomaron consecutivamente por cincuenta horas. Al final del experimento se retiraban los electrodos y se regresaban los animales a acuarios del laboratorio para registrar al animal siguiente de igual forma (figura 8).

6.2.3 Técnicas de registro

Las técnicas electrofisiológicas (Hoggart y Trucman, 1967) han sido usadas para el monitoreo de la actividad cardíaca y respiratoria en varios crustáceos (Blatchford, 1971; Uglow, 1973; Ansell, 1973). Estas técnicas requieren de la implantación y adhesión de un par de electrodos para cada órgano a investigar. Las técnicas de registro de la frecuencia respiratoria y cardíaca realizadas en este trabajo se basaron en las reportadas por Dyer y Uglow (1977) con algunas modificaciones.

6.2.3.1 Registro de la frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria (Fr) se evaluó mediante el registro de la frecuencia de batido del escafoñatito (Dyer y Uglow, 1977), para lo que se utilizaron dos electrodos. el primero o electrodo activo se enganchó en el margen lateral del branquiosteguito como se explica antes, mientras el segundo o indiferente se sumerge en el recipiente. Ambos electrodos se conectaron a un convertidor de impedancia (UFI mod. 2991) en serie con un amplificador (Grass, mod. 7P122) mediante una sonda de baja impedancia. El convertidor de impedancia produce una pequeña corriente oscilante entre los dos electrodos de tal forma que cualquier cambio de impedancia entre los electrodos, como el que crea la corriente de agua saliente de la cámara branquial, produce un cambio proporcional de voltaje el cual es amplificado y registrado por medio de un poligrafo Grass mod. 79 (figura 9).

6.2.3.2 Registro de la frecuencia cardíaca

En el caso de la frecuencia cardíaca (Fc) se utilizaron dos electrodos implantados en

la cámara cardiaca para hacer un registro monopolar de la actividad eléctrica del corazón (ECG). Se utilizó un amplificador (Grass, mod. 7P511) y una sonda de alta impedancia (Grass, mod. 7HIP5G). Entre los dos electrodos se establece una diferencia de potencial debida a la actividad cardiaca, dicho potencial era amplificado y registrado en el mismo polígrafo Grass mod. 79 (figura 9).

6.2.4 Análisis de datos.

De cada lectura (de dos minutos) se midieron sobre el registro en papel 10 ondas utilizando un vernier (pie de rey), para esta medición se consideró la distancia entre un punto de máxima deflexión de voltaje y el siguiente. Se obtuvieron los promedios y errores estándar de la longitud de las ondas. Posteriormente se obtuvo el promedio y error estándar de la Fc (latidos por minuto) y de la Fr (batidos por minuto) a cada hora y estas se graficaron contra el tiempo externo. Las frecuencias promedio por hora de todos los animales bajo una misma condición lumínica se promediaron y graficaron tanto la Fc promedio como la Fr promedio por condición (\pm e.e.).

Posteriormente, se realizaron pruebas estadísticas (ANOVA de una vía y LSD *post hoc* a los datos de los registros del grupo 1 (en el intervalo de las 10:00 a las 18:00 h). De igual forma estos datos se analizaron en grupos de tres horas: 10:00-12:00, 13:00-15:00 y 16:00-18:00 para evaluar si había cambios significativos entre cada grupo inducidos por las distintas condiciones lumínicas. Estos resultados también fueron graficados con su respectivo error estándar. Para evaluar las relaciones entre los cambios de Fc y Fr se establecieron pruebas de correlación de Pearson (figura 8).

Los registros del grupo 2 (los tomados consecutivamente por 50 horas) fueron analizados mediante la prueba estadística Cosinor (Dispac, IFC, UNAM) para obtener el periodo y el porcentaje de cada ritmo bajo condición LO 12:12 alta intensidad y en OO.

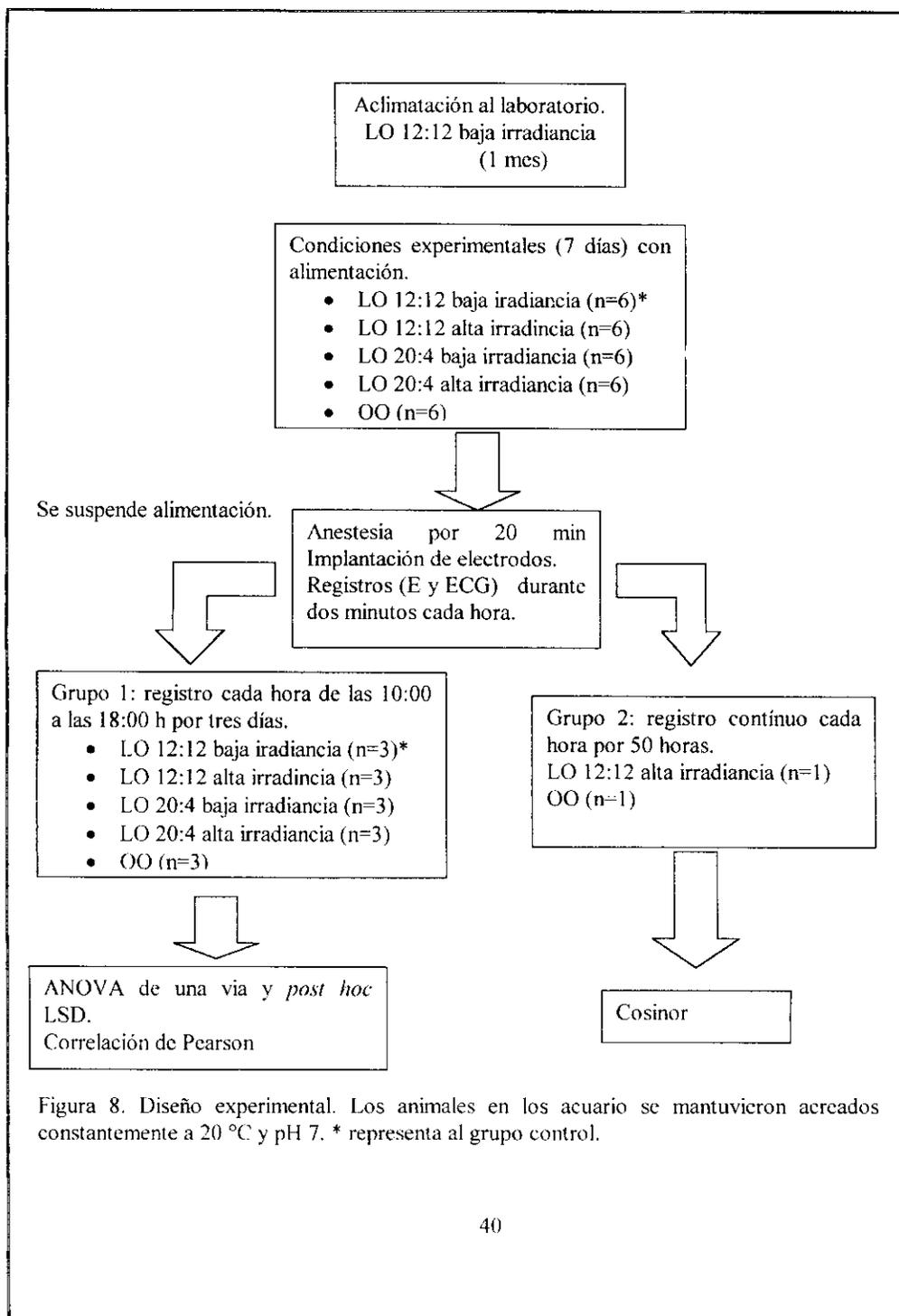


Figura 8. Diseño experimental. Los animales en los acuario se mantuvieron acreados constantemente a 20 °C y pH 7. * representa al grupo control.

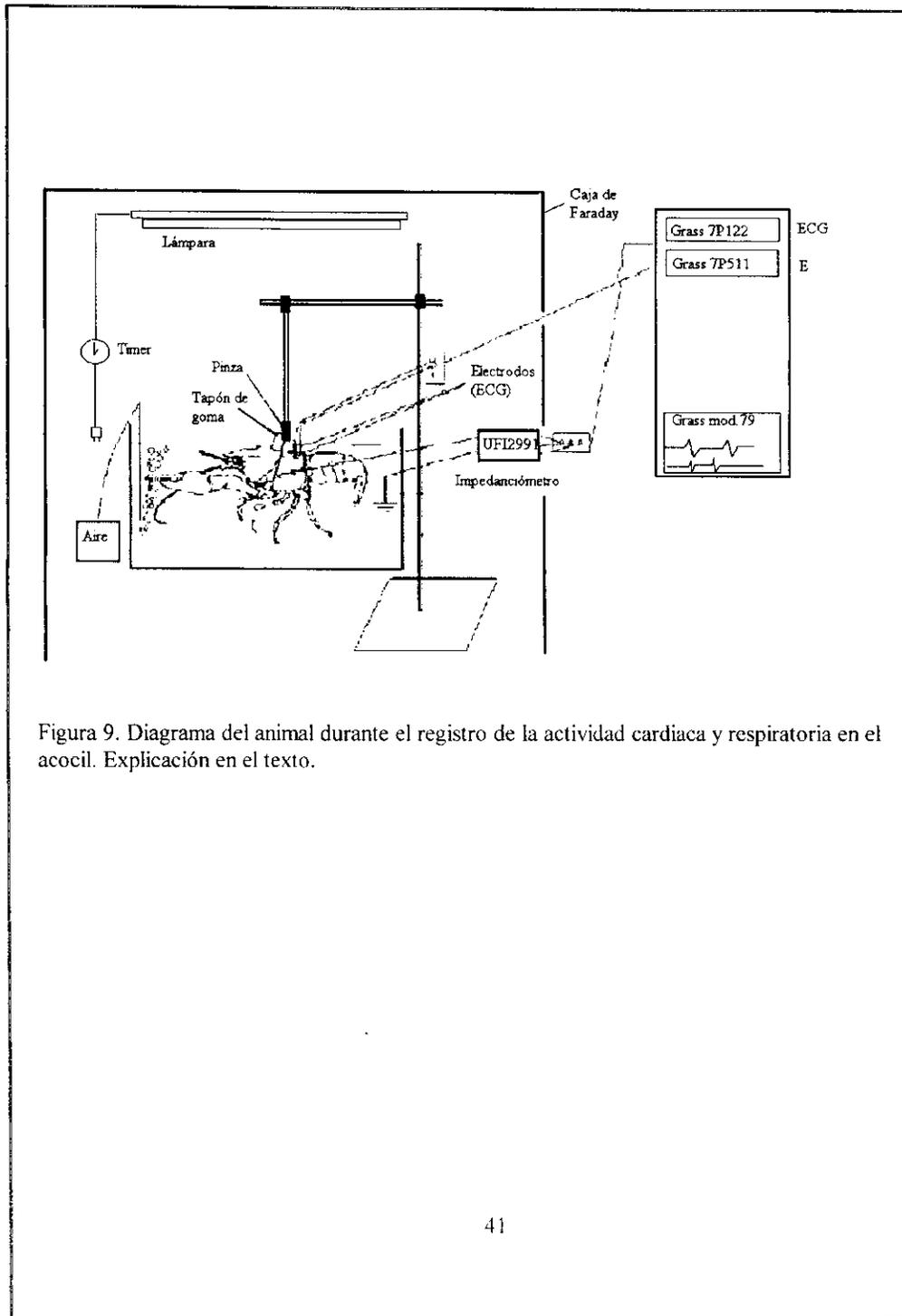


Figura 9. Diagrama del animal durante el registro de la actividad cardiaca y respiratoria en el acocil. Explicación en el texto.

7 RESULTADOS

7.1 MORTALIDAD

Del total de animales utilizados, 13 animales (el 44 %) murieron durante el experimento. Dos animales murieron algunas horas después de finalizar el registro, uno de ellos bajo la condición OO y el otro bajo la condición LO20:4 alta irradiancia. Por otro lado, 4 animales murieron algunas horas después de la implantación de los electrodos; los 7 animales restantes murieron entre el segundo y tercer día, uno de ellos bajo la condición OO, otro bajo LO12:12 alta irradiancia, 2 en LO20:4 alta y 3 en LO 20:4 baja irradiancia.

Del total de animales muertos 10 fueron machos y 3 hembras, cabe señalar que la proporción de sexos entre los animales bajo experimento fue de 3 machos por cada hembra, no se encontraron diferencias significativas de mortalidad entre los sexos.

7.2 ANÁLISIS ELECTROFISIOLÓGICO

Tanto en la Fc como en la Fr se observó una variación en la forma y la amplitud de onda a lo largo del día en ambos registros, aunque en general la forma de onda del E varió poco en cada animal sin importar la condición y la hora del día. En el caso del ECG se encontró una mayor variación en todos los animales registrados, sin embargo se encontró una forma típica para cada onda.

La onda resultante de los cambios de impedancia en el E se caracterizó por ser monomodal y de forma en general típica por presentarse en la mayoría de los animales sin importar la hora del día. En pocos registros se observaron ondas bimodales y sólo bajo las condiciones de oscuridad constante y LO 20:4 baja irradiancia.

El ECG se caracterizó por una onda típica bimodal, aunque se observó una mayor variación en cuanto a la forma y amplitud de la onda entre los individuos. En la figura 10 se ilustran las formas de onda típicas para el ECG y el E. En este caso se trata de un animal bajo la condición LO 12:12 baja irradiancia, como en muchos otros casos las formas de onda del registro del escafognatito y del corazón permanecieron constantes durante las cincuenta

horas de registro, aunque se observó variación en la amplitud de onda a lo largo del día. Como se puede observar en esta figura tanto el periodo como la amplitud y la forma de onda son muy homogéneos a lo largo de la lectura.

En la figura 11 se muestran registros de un día realizados cada hora a lo largo de 50 horas a un animal bajo condición LO 12:12 alta irradiancia. Se puede observar una mayor variación en la forma, amplitud y periodo de las ondas de ambos registros. El E muestra cambios en la amplitud y duración de la onda relacionada con el encendido y apagado de la luz, después del encendido de la luz el periodo y la duración de las ondas disminuyen cada vez más hasta el apagado de esta, momento en el cual se observa un aumento considerable en la amplitud de la onda mientras el periodo continua disminuido hasta el encendido de la luz. En el caso del ECG la amplitud parece ser mayor durante las horas de oscuridad y permanecer disminuida durante las horas de luz, la forma es un poco parecida, aunque en algunos momentos algunos picos menores se modifican aumentando o disminuyendo su amplitud.

7.2.1.1 Análisis del efecto de las condiciones de luz.

En la figura 12a se presentan los promedios de la frecuencia cardiaca y de batido del escafoñatito de los tres animales registrados por cada condición a distintas horas durante 3 días; cada condición está en un panel y el fotoperiodo y la intensidad de luz están representados por franjas en la parte superior de cada panel. En la ordenada al origen se presenta la hora consecutiva, mientras que en la abscisa se representa la frecuencia expresada en ciclos por minuto. Al observar los errores estándar se puede interpretar que existe una amplia variación individual de los organismos.

Otra observación general es que el promedio de frecuencia cardiaca es mayor que el de la frecuencia de batido del escafoñatito, aunque en la mayoría de los casos se observa que estos valores se cruzan unas horas después del encendido de la luz.

En cuanto a la Fc. en el fotoperiodo LO 12:12 se obtuvieron 114 ± 12 latidos por minuto, para baja irradiancia 123.6 ± 10.8 para alta irradiancia. En el caso del fotoperiodo

largo se obtuvo un promedio de 81.6 ± 9.6 para baja irradiancia y este se incrementó a 92.4 ± 6.6 al aumentar la irradiancia. Para la condición OO el promedio obtenido fue 124.8 ± 7.2 (figura 13a). Los promedios obtenidos en la frecuencia de batido del escafognatito bajo fotoperiodo LO 12:12 baja y alta irradiancia fueron 136.2 ± 19.8 latidos por minuto y 163.8 ± 19.2 respectivamente; 97.2 ± 12 y 112.8 ± 11.4 para la condición LO 20:4 baja y alta irradiancia y 105.6 ± 9 para la condición OO (gráfica 14a). El aumento y disminución de las variables ante cada condición lumínica fue muy parecida excepto bajo la condición OO. Al aumentar la irradiancia en ambos fotoperiodos (LO 12:12 y LO 20:4) tanto la frecuencia cardíaca como la de batido del escafognatito aumentan. Sin embargo, los promedios de las dos variables mantienen este comportamiento en el fotoperiodo LO 20:4 pero con valores menores a los del fotoperiodo LO 12:12. Por el contrario, bajo la condición OO la frecuencia cardíaca aumenta alcanzando el valor máximo mientras la frecuencia de batido del escafognatito permanece en valores intermedios. Los promedios totales obtenidos resultaron semejantes a aquellos obtenidos en cada bloque de hora (gráfica 13 y 14).

Al comparar los resultados totales de la Fc mediante la prueba estadística ANOVA generalizada de una sola vía ($p < 0.001$ y $F=11.93$) y la prueba LSD *post hoc* ($p < 0.05$) se observa que existen diferencias significativas entre el grupo control y la condición LO 12:12 alta intensidad con las condiciones LO 20:4 baja irradiancia y LO 20:4 alta irradiancia; además muestra diferencias significativas entre éstas dos últimas y la condición OO (gráfica 13a).

La misma prueba realizada a los promedios obtenidos en el bloque de las 10:00 a las 12:00 arroja diferencias entre el grupo bajo la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 baja y alta irradiancia, así como entre estas dos y la condición OO ($p=0.005$ y $F=4.31$) ($p < 0.05$ para LSD)(gráfica 13b). La prueba en el bloque de las 13:00 a las 15:00 muestra diferencias entre el grupo control y la condición LO 12:12 alta con el grupo bajo la condición LO 20:4 baja irradiancia y entre las condiciones LO 20:4 baja y alta irradiancia con la condición OO ($p=0.01$ y $F=3.74$)($P < 0.05$ para LSD) (gráfica 13c). En el último bloque, el de las 16:00 a las 18:00, se observan diferencias significativas ($p=0.007$ y $F=4.09$) ($p < 0.05$ para LSD) entre la condición control y las condiciones LO 20:4 baja y alta

irradiancia; entre la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 baja y alta irradiancia (como sucede en el primer bloque) y entre estas dos ultimas condiciones y la condición OO (como sucede en los tres bloques) (gráficas 13b, 13c y 13d).

El ANOVA para el caso de los promedios totales de la frecuencia de batido del escafnatito derecho del acocil *Procambarus clarkii* ($p < 0.001$ y $F = 10.59$) y la prueba LSD *post hoc* muestran que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) del grupo control con las condiciones LO 12:12 alta irradiancia, LO 20:4 baja irradiancia y OO. Además, se encontraron diferencias significativas entre la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 baja, LO 20:4 alta irradiancia y OO (gráfica 14a). Después de realizar la misma prueba estadística para los bloques de horas se obtiene que en el bloque de 10:00 a 12:00 hay diferencias significativas ($p < 0.001$ y $F = 1.749$ $P < 0.05$ para LSD) entre la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 alta irradiancia y OO (gráfica 14b). Las diferencias obtenidas en el bloque de las 13:00 a las 15:00 fueron entre el grupo control y la condición LO 20:4 baja irradiancia y entre la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 baja y alta irradiancia y OO ($p < 0.001$ y $F = 4.49$) ($p < 0.05$ para LSD) (gráfica 14c). Por último en el bloque de las 16:00 a 18:00 se obtienen diferencias significativas ($p = 0.00026$ y $F = 7.00$) ($p < 0.05$ para LSD) entre la condición control y la condición LO 20:4 baja irradiancia como en el caso del bloque anterior; y entre la condición LO 12:12 alta irradiancia y las condiciones LO 20:4 baja irradiancia, LO 20:4 alta irradiancia y OO (gráfica 14d) de igual forma que sucede en la comparación de promedios totales.

7.3 CORRELACIÓN

En la gráfica 15 se muestra la correlación de la frecuencia respiratoria (F_r en batidos por minuto) con respecto a la frecuencia cardiaca (F_c en latidos por minuto) para cada condición. En esta gráfica se puede observar que en las condiciones LO 12:12 baja irradiancia y LO 12:12 alta irradiancia los coeficientes son mayores a los de las condiciones LO 20:4 baja (donde se encuentra el valor menor de r) y alta irradiancia, así como en oscuridad constante. Esto puede deberse a la dispersión de los puntos en cada condición, pero también al efecto de la longitud del fotoperiodo y la irradiancia sobre el

comportamiento de la Fc y Fr de manera conjunta. El análisis de correlación entre las dos variables bajo estudio sugieren una correlación del sistema cardiaco con el sistema circulatorio.

Los coeficientes de correlación para las distintas condiciones fueron los siguientes: para LO 12:12 baja irradiancia $r=0.530$ ($F=19.78$; $p<0.01$); LO 12:12 alta irradiancia $r=0.654$ ($F=18.72$; $p<0.01$); LO 20:4 baja irradiancia $r=0.660$ ($F=19.31$; $p<0.01$); LO 20:4 alta irradiancia $r=0.294$ ($F=2.36$; $p=0.136$) y para OO, $r=0.404$ ($F=4.89$; $p<0.05$).

7.3.1.1 Análisis de los ritmos

En el registro bajo condición LO 12:12 alta irradiancia se observa que los picos de máxima frecuencia son casi a la misma hora en los dos casos, el primer pico más alto para la frecuencia de batido del escafognatito es a las 18:00 horas, solo una hora antes del apagado de la luz; mientras que el del corazón se presenta a las 20:00 horas (figura 16). Una hora después del apagado de la luz. El segundo pico de ambas variables se presenta a las 10:00, es decir, tres horas después del encendido de la luz. En el siguiente ciclo el primer pico en ambos casos se presenta a las 20:00, una hora después del apagado de la luz y se repite el segundo pico a las 10:00 en ambos casos.

Obsérvese (figura 16) que los valores de la Fr son mayores durante las horas de oscuridad (entre 130 y 190 batidos por minuto) rebasando a los de la Fc (cerca de 120 latidos por minuto), pero durante las horas de luz esto se invierte: la Fr alcanza valores de 50 batidos por minuto, mientras el corazón late casi 100 veces por minuto. Este fenómeno probablemente se asocia a la actividad nocturna de estos crustáceos.

Un comportamiento parecido se observa en el registro bajo OO, solo que en este caso los valores de Fr alcanzan valores de aproximadamente 250 batidos por minuto. El primer día hasta las 23:00 h la Fr es mayor que la Fc, a partir de ese momento la Fr se mantiene por debajo de la Fc hasta las 07:00. Después de esta hora el comportamiento ya no es uniforme, en algunos momentos la Fr rebasa a la cardiaca y en otros es menor. La Fr de este registro presenta un comportamiento circadico muy parecido a la del registro de la condición LO 12:12 alta intensidad, sólo que en el de OO se retrasa aproximadamente 5

horas. Para la Fc esto no es tan evidente, pues en algunos momentos se alcanzan valores muy altos, de hecho, en este registro se alcanzan los valores mas altos para la Fc de todo el experimento, el valor más alto es a las 17:00 horas con 390 latidos por minuto (figura 16).

Parece haber una coordinación entre Fr y la Fc. Esta relación se puede establecer al observar los picos y valles de ambas ondas en la condición OO. Aunque el primer ciclo no es tan claro se ve que al aumentar la Fc también aumenta la Fr, en este segmento parece un poco confuso por el comportamiento del escafognatito. Sin embargo, en el siguiente segmento la coordinación es mucho más visible; se pueden observar dos ondas superpuestas, una con mayor amplitud que la otra, en el momento que una aumenta la otra también lo hace (figura 16).

La prueba estadística Cosinor muestra periodos muy cercanos a las 24 horas. En el caso de la Fc, el periodo es de 24 horas en la condición LO12:12 alta intensidad y 22.6 horas para la condición OO (oscilación libre), con porcentajes de ritmo no significativos de 26.8 y 25.2 respectivamente. Para el primer caso el mesor fue de 1.738 ± 0.28 , la amplitud de 0.110, la acrofase resultante fue de 17.394 y $F=3.780$ (no significativa). Para la condición OO, el mesor resultó en 1.705, la amplitud de 0.607 y la acrofase de 4.546 (no significativo). La Fr presentó periodos de 23.9 y 24.1, con porcentajes de ritmo de 60.7 y 64.9 para LO12.12 y OO respectivamente. En el primero la amplitud fue de 0.623, la acrofase igual a 12.740 (no significativo) mientras que para OO el mesor resultante fue 1.705, amplitud de 0.607 y acrofase de 4.546 (no significativo).

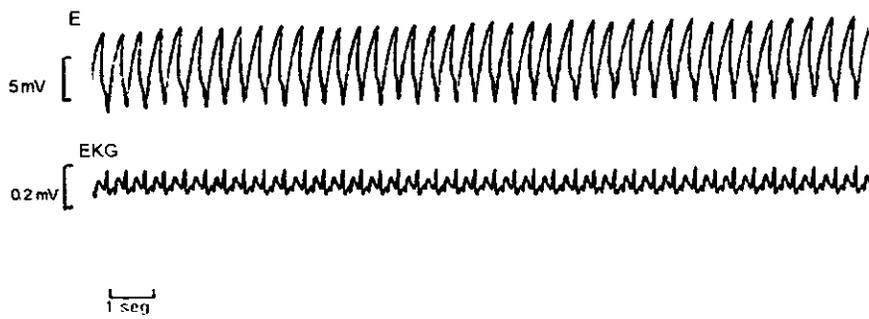


Figura 10. Registro de un electrocardiograma (ECG) y del escafognatito derecho mediante técnica impedanciométrica (E) de un acocil *Procambarus clarkii* bajo la condición LO 12:12 alta irradiancia. El registro fue tomado a las 15:00. Ver texto.

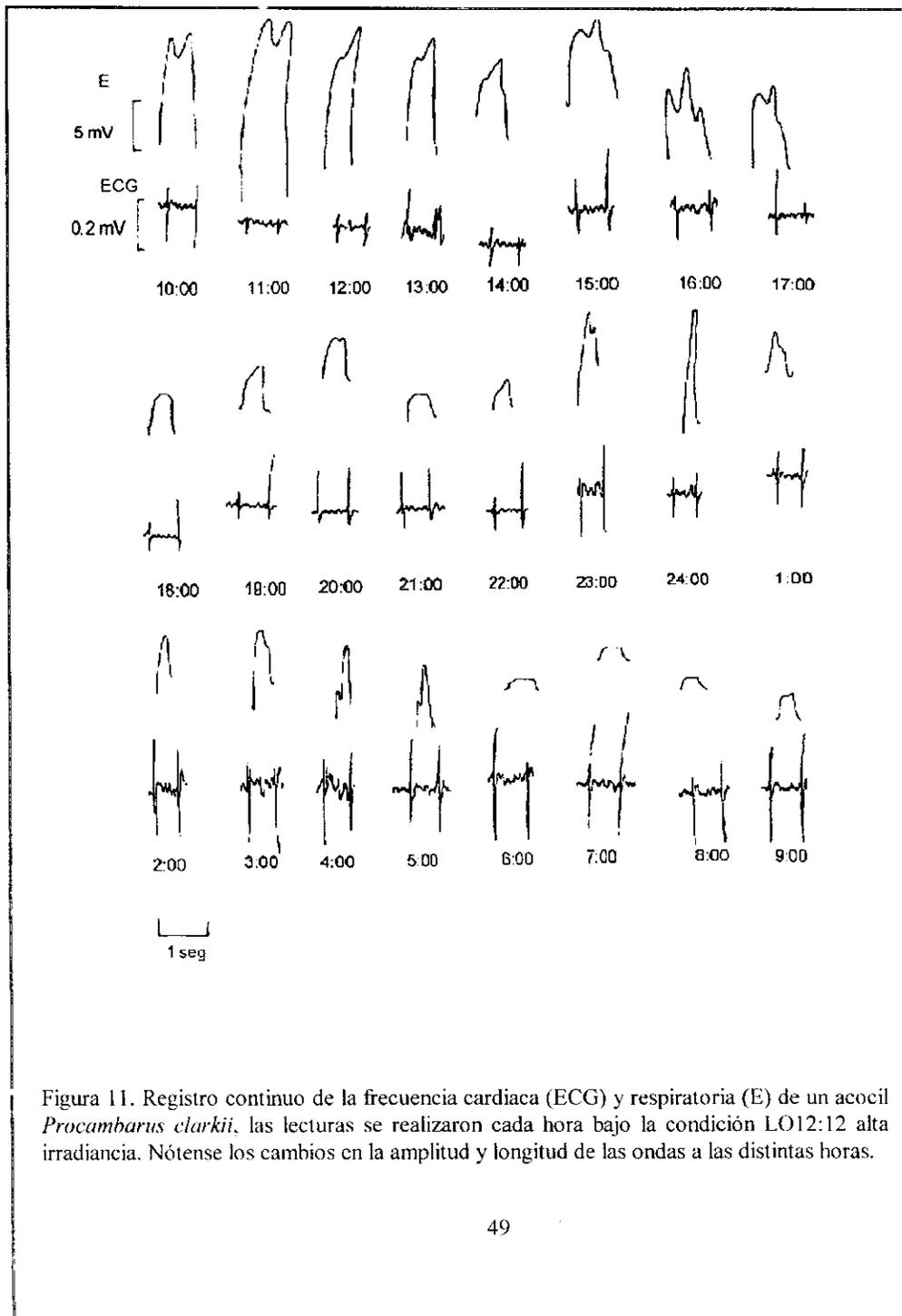


Figura 11. Registro continuo de la frecuencia cardiaca (ECG) y respiratoria (E) de un acocil *Procambarus clarkii*, las lecturas se realizaron cada hora bajo la condición LO12:12 alta irradiancia. Nótese los cambios en la amplitud y longitud de las ondas a las distintas horas.

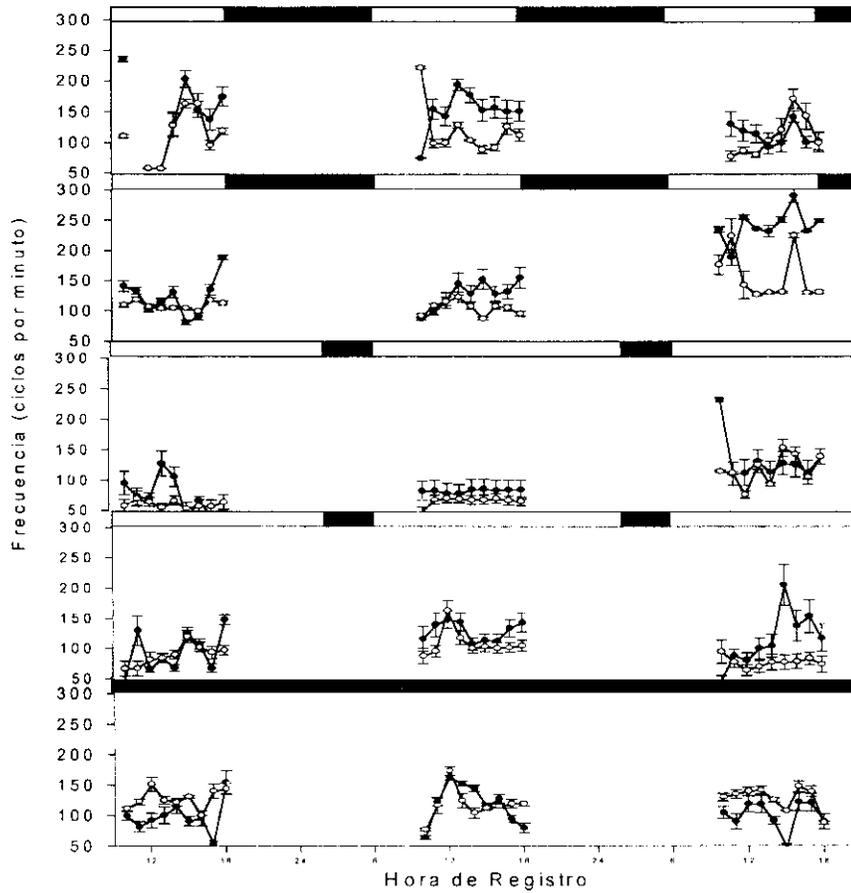


Figura 12 Registros de frecuencia cardiaca (Fc) y de batido del escafognatito derecho (Fr) del acocil *Procambarus clarkii* bajo distintos fotoperiodos. La abscisa representa batidos por minuto y la ordenada el tiempo externo de registro. ● representa la frecuencia de batido del escafognatito y ○ la frecuencia cardiaca. Ver explicación en el texto.

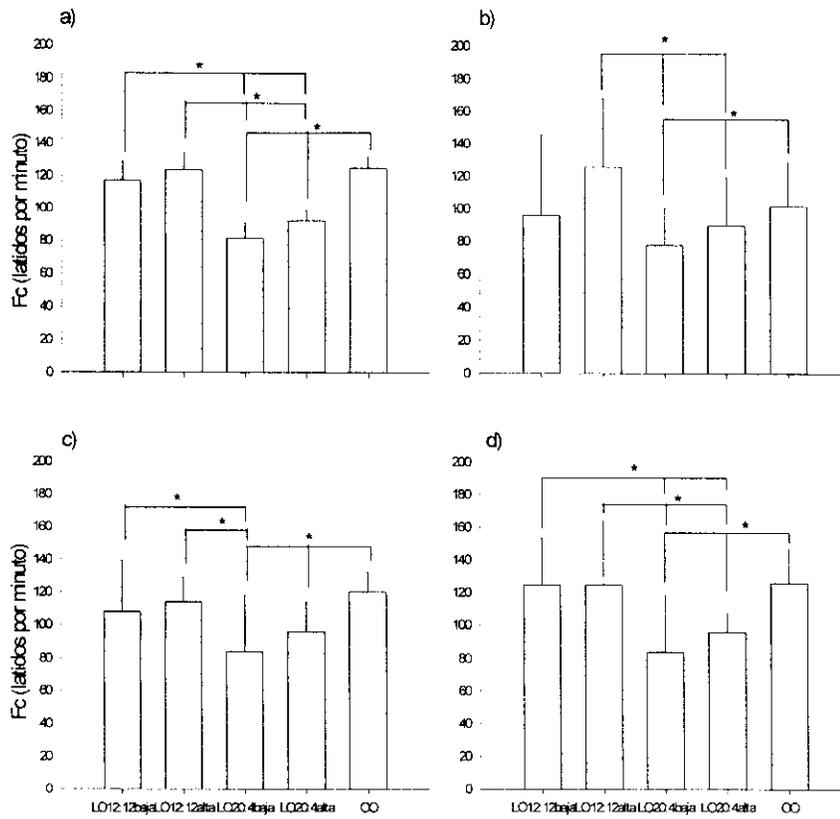


Figura 13. Frecuencia cardiaca del acicil *Procamburus clarkii* bajo distintas condiciones de luz. A) promedios de los datos obtenidos del promedio por hora de cada animal; b) promedios de los datos por horas entre las 09:00 y 12:00; c) promedio de los datos por horas obtenidos entre las 13:00 y las 15:00; y d) promedios de los datos por horas obtenidos entre las 16:00 y 18:00. (* representa diferencias significativas). Ver explicación en el texto.

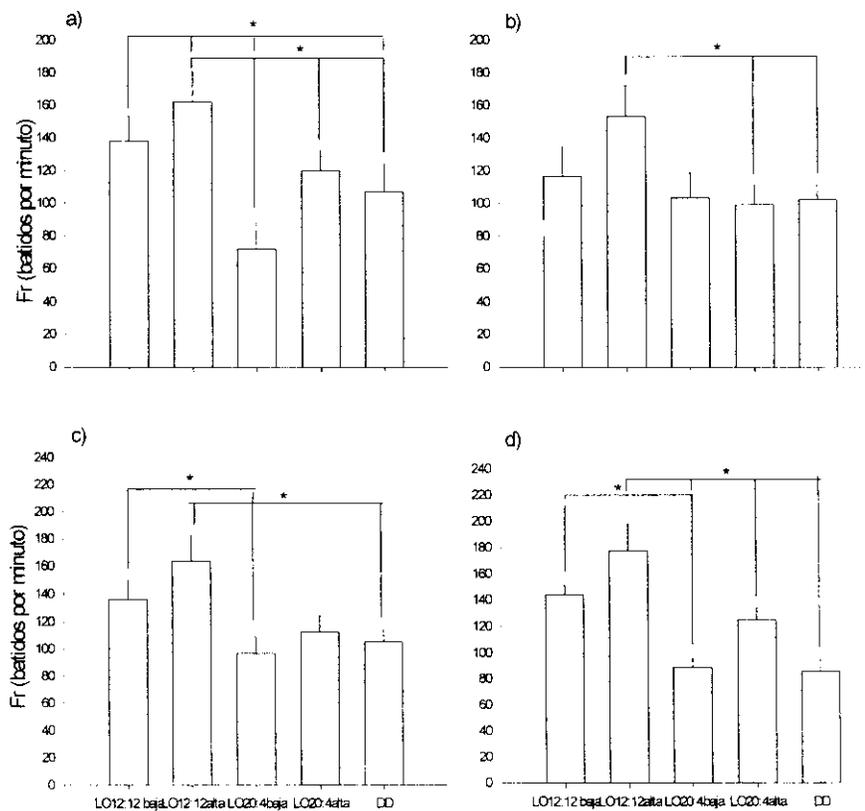


Figura 14. Frecuencia de batido del escafnognatito derecho del acicil *Procamburus clarkii* bajo distintas condiciones de luz. a) promedios de los datos obtenidos del promedio por hora de cada animal; b) promedios de los datos por horas entre las 09:00 y 12:00; c) promedio de los datos por horas obtenidos entre las 13:00 y las 15:00; y d) promedios de los datos por horas obtenidos entre las 16:00 y 18:00. (* representa diferencias significativas). Ver explicación en el texto.

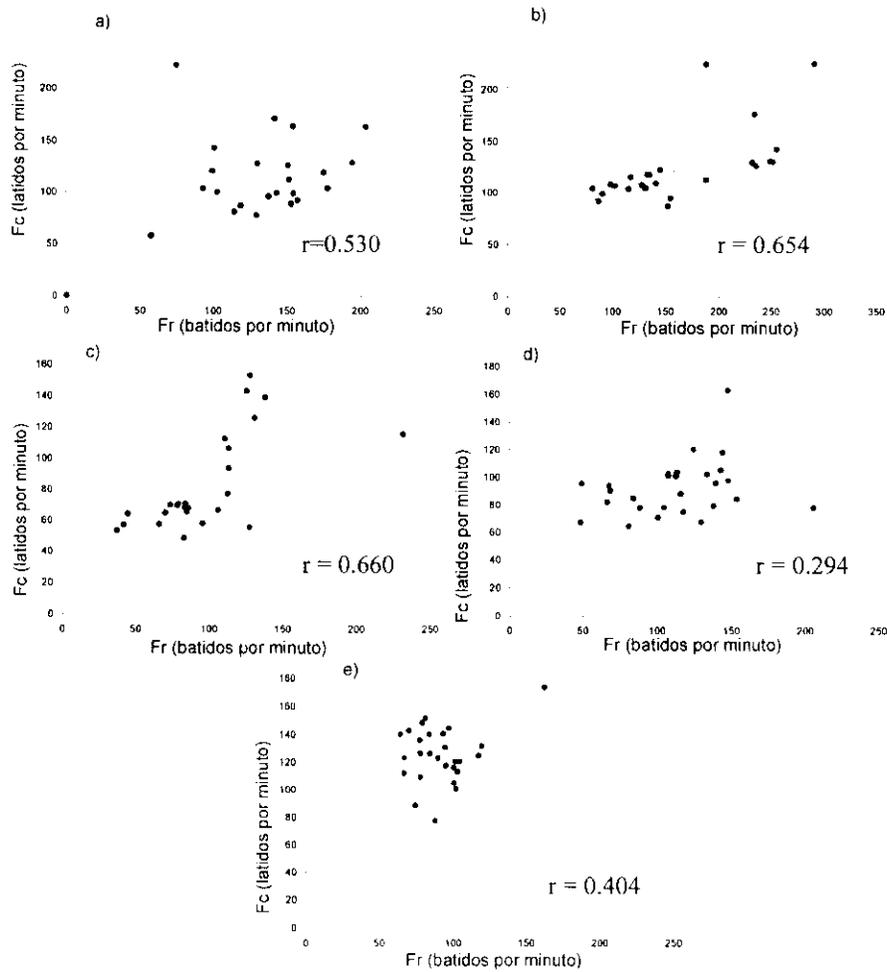


Figura 15. Correlación de la frecuencia cardiaca con la frecuencia de batido del escafofnatito derecho del acocil *Procambarus clarkii* bajo distintas condiciones de luz. a) LO12:12 baja irradiancia; b) LO12:12 alta irradiancia; c) LO20:4 baja irradiancia; d) LO20:4 alta irradiancia y e) OO.

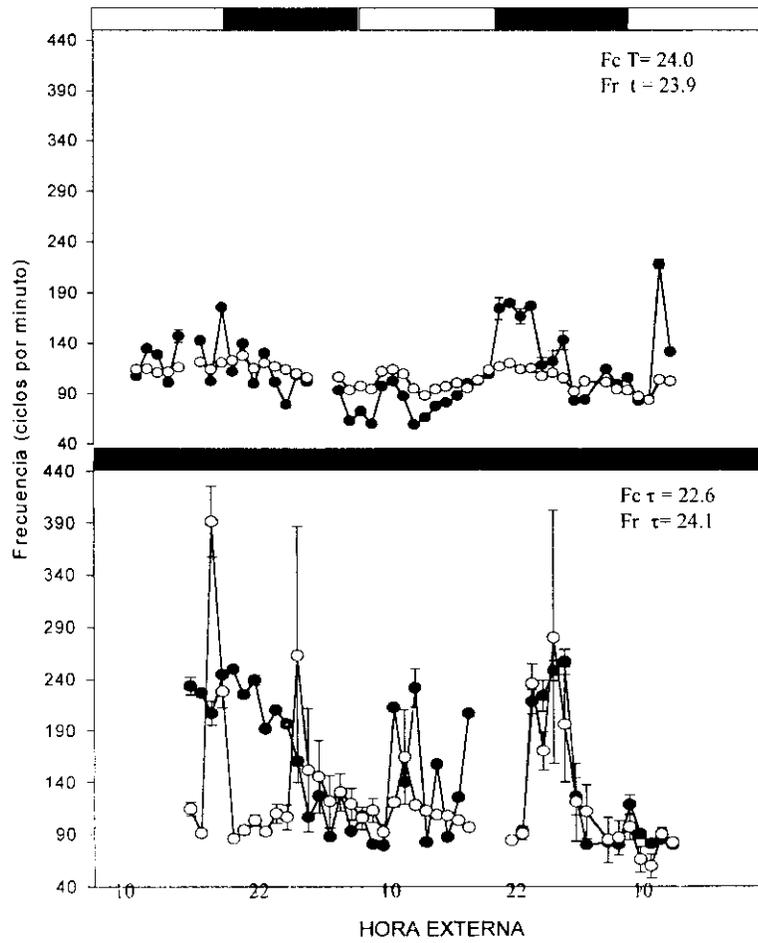


Figura 16. Registro continuo de un animal bajo condición LO12:12 alta irradiancia y uno bajo condición OO. • representa la frecuencia de batido del escafoñatito (Fr) y o la frecuencia cardíaca (Fc). Ver explicación en el texto.

8 DISCUSIÓN

Las técnicas electrofisiológicas son ampliamente utilizadas en el registro de la actividad ventilatoria (impedanciométrica) (Ansell, 1973; Uglow, 1973; Rose et al., 1998) y cardíaca (mediante ECG) (Wilkins y et al., 1974; McDonald et al., 1977; McMahon y Wilkins, 1977; Pollard y Larimer, 1977; Hernández-Falcon y Ramón, 1998) en varias especies de crustáceos. Las ventajas de estas técnicas es que se pueden monitorear varios órganos simultáneamente, en este caso un escafnatito y el corazón, sin interferir un registro en el otro (Dyer y Uglow, 1977).

Además los registros pueden ser prolongados y en general los electrodos se mantienen en su lugar durante el tiempo de registro. Una desventaja de la técnica utilizada es que se limita el desplazamiento del animal, sin embargo, durante este experimento se permitió el movimiento libre de todas las extremidades. En pocos casos los electrodos se movieron de su lugar, todos ellos como resultado de movimientos bruscos del animal. Probablemente la mayor desventaja del ECG es que es un tanto invasiva e involucra a un órgano vital, por lo que este hecho pudo haber sido una causa importante de muertes durante el experimento. Sin embargo, la practica ofrece una habilidad mayor para la implantación de los electrodos disminuyendo el riesgo de muerte y el estrés por la manipulación de los animales.

El análisis de los registros muestra que las ondas de la Fr son más homogéneas en cuanto a la forma y amplitud en comparación con las de la Fc (Figura 10 y 11). Esto puede deberse a que el electrodo activo en el E siempre se implanta en el canal del escafnatito y durante el registro permanece a la misma distancia del electrodo de referencia, en cambio en el ECG la distancia entre los electrodos y su ubicación variaba un poco entre cada organismo. Lo anterior no descarta también pueda existir una variación propia entre cada animal y cada hora de registro, esto también se refleja en los cambios de frecuencia de las variables al observar los errores estándar en las gráficas (graficas 12-14).

El efecto de las baja irradiancias combinada con el aumento en la longitud del fotoperiodo en la Fc y Fr inducen un mayor nivel de estrés en los organismos de este experimento. En la condición LO 20:4 baja irradiancia se observan los promedios más bajos

tanto en la Fc como en la Fr con diferencias significativas con respecto al control. Esto sugiere que como respuesta al estrés el consumo de oxígeno disminuye y los animales toman una ruta metabólica anaerobia, produciendo niveles mayores de lactato en la hemolinfa como se propone anteriormente (Fanjul-Moles et al., 1998) como sucede bajo hipoxia en otras especies de crustáceos (Truchot, 1980; Wheatly y Taylor, 1981; y McMahon et al., 1974) y aumentando en la reactividad y en el estado de glutatión en la hemolifa (Prieto-Sagredo et al., 2000). Los valores más altos se observan en la condición LO 12:12 alta irradiancia y OO en ambas variables, sólo que en la Fc este promedio es muy cercano al obtenido en la condición LO 12:12 alta irradiancia indicando un efecto de la irradiancia y el fotoperiodo en la función cardíaca y respiratoria (gráficas 13 y 14).

Bajo una variedad de estímulos naturales o experimentales se ha observado que existe un comportamiento coordinado entre el corazón y los escafognatitos de varios crustáceos, (Wilkens y et al., 1974; McDonald et al., 1977; McMahon y Wilkens, 1977; Rose et al., 1998; y McMahon, 1999). Este comportamiento ha sido reportado en *Homarus americanus* (Young y Coyer, 1979) mostrando una coordinación más débil que la observada entre los dos escafognatitos. La coordinación en ambos sistemas debe tener una importancia fundamental en la eficiencia de intercambio gaseoso a través de las branquias.

Otra evidencia de esta coordinación se observa en las gráficas 13 y 14 que muestran comportamientos muy parecidos en las cuatro condiciones de LO. pero no en la de OO, en esta última la Fc se mantiene por encima de la obtenida en la condición control (sin ser significativa) mientras que la Fr disminuye significativamente (gráfica 14a). El acoplamiento de ambas funciones se refleja también en los resultados obtenidos en las correlaciones, donde el índice más bajo se presenta en la condición LO 20:4 alta intensidad ($r=0.294$), seguido por la condición OO ($r=0.404$). Los índices de mayor correlación se observan en las condiciones LO 20:4 baja intensidad ($r=0.660$) y LO 12:12 alta irradiancia ($r=0.654$). La condición control muestra un índice de correlación intermedio ($r=0.530$).

Estos resultados hacen pensar que existe una sincronía entre ambos sistemas, el respiratorio y el cardíaco, dicha sincronía es afectada por el fotoperiodo largo con baja irradiancia, donde se observa una disociación de las dos variables (figura 15). Las

observaciones bajo condición OO en el cual el ritmo de Fc oscila con periodo $\tau = 22.6$ h y el de Fr $\tau = 24.1$ (figura 16) perdiendo el control de fase de forma temporal sugieren una posible participación de al menos dos marcapasos uno cardiaco y otro respiratorio, pues en esta condición se observa un comportamiento distinto al observado en condiciones con luz (LO 12:12 alta irradiancia) donde ambas variables se sincronizan al *zeitgeber*.

Tanto la Fc como la Fr sugieren la presencia de ritmos circadianos bajo los dos fotoperiodos probados (LO 12:12 alta irradiancia y OO). Es importante remarcar que los registros son de solo un animal por condición, esto da una idea del comportamiento rítmico, sin embargo se requieren repeticiones para obtener una mayor validez estadística. El periodo de la Fc en oscilación libre fue de $\tau = 22.6$ h y fue sincronizado por la luz en la condición LO 12:12 alta irradiancia donde $T = 24$ h (figura 16). Estos resultados son comparables a los obtenidos por Pollard y Larimer (1977) y Hernández-Falcon y Ramón (1998) para la misma especie utilizada en este trabajo.

En el caso de la Fr en OO $\tau = 24.1$ h, muy cercano al obtenido en la condición LO 12:12 alta irradiancia con $T = 23.9$ h. Para este parámetro solo existía un reporte donde se menciona la presencia de un ritmo circadiano en el metabolismo de *Orconectes nais* bajo distintos fotoperiodos (Rice y Armitage, 1974), pero no habla de ninguna relación con la Fc. Los aumentos y descensos de la Fr de este experimento coinciden con los del metabolismo reportados en el trabajo mencionado.

Los periodos de oscilación libre indican que las actividades cardiaca y respiratoria están dirigidas por un reloj endógeno del organismo. En el registro continuo se observan dos picos (gráfica 16), descritos también por Pollard y Larimer (1977), quienes mencionan que el pico observado durante el encendido de las luces es de carácter exógeno o reflexivo, mientras que el pico cercano al apagado es endógeno. Los periodos obtenidos bajo condiciones de luz artificial sugieren que los posibles ritmos se sincronizan con el *zeitgeber*, en el caso de la Fc atrasándose y en la Fr adelantándose

9 CONCLUSIONES.

En este trabajo se concluye que: 1) La condición de fotoperiodo largo y baja irradiancia produce una disminución significativa en la frecuencia respiratoria y cardíaca del acocil *Procambarus clarkii*; 2) Existe una correlación positiva de ambas variables que disminuyó en las condiciones LO 20:4 baja irradiancia y fue casi nula en la condición OO y 3) Tanto la frecuencia cardíaca como la respiratoria muestran ritmos circadianos, en oscilación libre la $F_c \tau = 22.6$ h mientras que para la $F_r \tau = 24$ h. Estos ritmos sincronizan a la luz en la condición LO 12: 12 alta irradiancia.

10 BIBLIOGRAFÍA.

- Ansell, A. D. (1973). Changes in oxygen consumption, heart rate and ventilation accompanying starvation in the Decapod crustacean *Cancer pagurus*. *Neth. J. Sea Res.* 7: 455-75.
- Arechiga, H. (1974). Circadian rhythm of sensory input in the crayfish. The neurosciences third study program. F. O. a. W. Schmitt, F.G. Cambridge, MIT Press: 517-523.
- Arechiga, H., y Naylor, E. (1976). Endogenous factors in the control of rhythmicity in the Decapod crustaceans. *Biological Rhythms in the Marine Environment*. P. J. DeCoursey. Columbia, University South Carolina Press: 1-16.
- Aschoff, J. (1984). A survey in Biological rhythms. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Aschoff, J. Vol.4. Biological rhythms. New York, Plenum Press. 3-8.
- Ashoff, J. (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. En: *Biological Clock, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*.
- Barrera -Mera, B. y Block G. D. (1990). Protocerebral circadian pacemaker in crayfish: evidence for mutually coupled pacemakers. *Brain Res.* 522: 241-245.
- Bernal-Moreno J. A., M. Miranda Anaya y M. L. Fanjul-Moles(1996). Phase shifting the ERG amplitude circadian rhythm of juvenile crayfish by caudal monochromatic illumination. *Biol. Rhythm Res.* 27(3): 299-301.
- Bishop, J. W. (1968). Respiratory rates of migration zooplankton in natural habitat. *Limnol. Oceanogr.* 13: 58-62.
- Blatchford, J. G. (1971). Aspects of the ecological physiology of littoral crustacea. *Zoology*, University of Manchester.
- Brady, J. (1979). *Biological Clocks*. London, Edward Arnold. 60 p.
- Breder, C. M. (1942). Descriptive ecology of La Cueva Chica. with especial reference to the blind fish *Apnotichthys*. *Zoological* 27: 7-15.
- Breder, C. M. (1943). Problems in the behavior and evolution of a species of blind cave fish. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 2(5): 168-76.

59
**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

- Breder, C. M. (1953). Cave fish evolution. *Evolution* 7: 179-81.
- Brown, F. A., Fingerman, M., Sandeen, M. y Webb, H. (1953). Persistent diurnal and tidal rhythms of color changes in the fiddler crab, *Uca pugnax*. *J. Exp. Zool.* 123: 29-60.
- Brown, F. A. (1960). Physiological rhythms. *Physiology of Crustacea*. T. H. Waterman. New York, Academic Press. 2: 401-430.
- Bruno M. S. Y D. Kennedy (1962) Spectral sensitivity of photoreceptor neurons in the sixth ganglion of the crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 6: 41-46
- Buikema, A. L. Jr. (1972). Oxygen consumption of the cladoceran *Daphnia pulex*, as a function of body size, light, and light acclimation. *Comp. Biochem. Physiol.* A42A: 877-888.
- Buikema, A. L. J. (1975). Some effects of light on the energetics of *Daphnia pulex* and implications for the significance of vertical migration. *Hidrobiologia* 47: 43-58.
- Burggren, W. W., McMahon y Costeron J.W. (1974). Branchial water and blood flow patterns and the structure of the gill of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Can. J. Zool.* 52: 1511-18.
- Cohen. M. J. y S. Dikgraff. (1961). Mechanoreception. En: *The Physiology of Crustacea*. T. H. Waterman. Vol. 2 Academic Press. New York. 65-108.
- Cooke, I. M. (1982) Hormones and neurosecretion En: *The Biology of Crustacea*. Atwood, H. L and Sanderman, D.C. Vol. 3. Academic Press. New York. 205-90.
- Dahnell, P. A. (1958). Effect of photoperiod on the oxygen consumption of two intertidal crabs. *Nature* 84: 1415-17.
- Dennell, R. (1960). Integument and exoskeleton. En: *The Physiology of Crustacea*. T. H. Waterman. Vol. 1 Academic Press. New York. 449-72.
- Dyer, M. F. y R. F. Uglow (1977). On a technique for monitoring heart and scaphognathite activity in natantia. *J. Exp. Mar. Biol.* 27: 117-124.

- Fanjul-Moles M. L., M. Miranda-Anaya y Fuentes-Pardo (1992). Effect of monochromatic light upon the ERG circadian rhythm during the ontogeny in crayfish. *Comp. Biochem. Physiol* 102 A 1:99-108.
- Fanjul-Moles M. L. y Prieto-Sagredo J. (1996). Effect of the temperature upon ultradian and circadian ERG amplitude rhythms during ontogeny of crayfish *Procambarus clarkii*. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 44:12-19.
- Fanjul-Moles, M. L., M. Miranda-Anaya y J. Prieto-Sagredo (1996). Circadian locomotor activity rhythm during ontogeny in crayfish *Procambarus clarkii*. *Chronobiol Int.* 13 (1): 15-26.
- Fanjul-Moles M. L., T. Bosques-Tistler, J. Prieto-Sagredo, O. Castañón-Cervantes y Fernández-Rivera R. (1998). Effect of variation in photoperiod and light intensity on oxygen consumption, lactate concentration and behavior in crayfish *Procambarus clarkii* and *Procambarus digueti*. *Comp. Biochem. Physiol.* 119A (1): 263-269.
- Fingerman, M., y A. D. Lago (1957). Endogenous twenty-four hour rhythms of locomotor activity and oxygen consumption in the crawfish *Orconectes clypeatus*. *Am. Mid. Nat.* 58: 383-393.
- Garner W.W. y H. A. Allard. (1920). *J. Agr. Res.* 18, 553
- Halberg, F. (1959). Physiologic 24-hour periodicity in human beans and mice, the lighting regimen and daily routine. En: *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*. R. G. Withrow. Washington, American Association for the advancement of Science.: 803-78.
- Hernández-Falcón, J. y F. Ramón (1998). The circadian rhythm of cardiac frequency in crayfish: a Multioscillator system? *Biological Rhythm Research* 29 (5): 464-470.
- Highman, V. V. y Hill, L. H. (1969). *The comparative endocrinology of the invertebrates*. London, Edward Arnold. 20-30.
- Hobbs, H. H. (1962). La presencia de *Procambarus clarkii* (Girard) en los estados de Chihuahua y Sonora, México. (Decapoda, Astacidae). *Anales del Instituto de Biología (Univ. Mex.)* Vol. 33 (1-2): 273-276.

- Hoggarth, K. R. y E. R. Truman (1967). Techniques for recording the activity of aquatic invertebrates. *Nature*. 213: 1050-51.
- Holdich, D. M. y R. S. Lowery (1988). *Freshwater crayfish biology management and exploitation*. New York, Timber Press. 1-262
- Huges, G. M. y C. A. G. Wiersa (1960). Neuronal pathways and connections in the abdominal cord of the crayfish. *J. Exp. Biol.* 37: 291-307.
- Huxley, T. H. (1974). *The Crayfish: an introduction to the study of zoology*. MIT Press. London. 26.
- Kaestner, A. (1979). *Invertebrate zoology, Crustacea*. New York, John Wiley.
- Kalmus, H. (1941). Physiology and ecology of cuticul colour in insects. *Nature*, 148: 428-31.
- Larimer, J. L. (1964). Sensory modifications of ventilation and heart rate in crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 12: 25-36.
- Larimer, J. L. y J. R. Tindel (1966). Sensory modifications of heart rate in crayfish. *Animal Behav.* 14: 239-245.
- Lockwood, A. P. M. (1968). *Aspects of the physiology of Crustacea*. Edinburg. Oliver and Boyd.
- Mantel, L. H. y L. L. Farmer (1983). Osmotic and ion regulation. En: *The Biology of Crustacea*. Bliss D. y L. H. Mantel. Vol. 5, Internal Anatomy and Physiological regulation Academic Press. New York. 53-161.
- Marshall, S. M. et al., (1935). On the biology of *Calanus finmarchicus* VI Oxygen consumption in relation to environmental conditions. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 20: 1-28.
- Maynard, D. M. (1960). Circulation and heart function. En: *The Physiology of the Crustacea*. Waterman T.H. Vol. 1. Academic Press. New York. 161-226.
- McDonald D. G., B. R. McMahon y C. M. Wood (1977). Patterns of Heart and Scaphognathite activity in the crab *Cancer magister*. *J. Exp. Biol* 202: 33-44.

- McLaughlin, P. A. (1983). Internal anatomy and physiological regulation. En: The Biology of Crustacea. Bliss D. y L. H. Mantel Vol. 5. Internal Anatomy and Physiological Regulation. Academic Press. New York. 1-52.
- McMahon, B. R. (1986). The adaptable crayfish: mechanisms of physiological adaptation. En: Freshwater crayfish. 6: 59-74.
- McMahon, B. R. (1999). Intrinsic and extrinsic influence on cardiac rhythms in crustaceans. Comp. Biochem. Physiol. Part A. 124: 539-547.
- McMahon, B. R., W.W. Burggren y J. L. Wilkens (1974). Respiratory responses to long term hypoxic stress in the crayfish *Orconectes virilis*. J. Exp. Biol. 60: 195-206.
- McMahon, B. R. y J. L. Wilkens. (1972). Simultaneous apnea and bradycardia in the lobster *Homarus americanus*. Canad. J. Zool. 50: 165-170.
- McMahon, B. R. y J. L. Wilkens. (1977). Periodic respiratory and circulatory performance in the red rock crab *cancer productus*. J. Exp. Zool. 202: 363-374.
- McMahon, B. R. y J. L. Wilkens. (1983). Ventilation, Perfusion and Oxygen Uptake. En: The Biology of Crustacea. D. Bliss y Mantel L. H. Vol. 5. Internal Anatomy and Physiological Regulation. Academic Press. New York. 290-373.
- Miranda-Anaya M. y Fanjul-Moles M. L. (1997). Nonparametric effects of monochromatic light on the activity rhythm of the juvenil crayfish. Chronobiology International 14(1) 25-34.
- Moberg, G. P. (1985). Biological Response to Stress: Key to assessment of animal well-being? En: Animal stress. G. Moberg. Maryland, American Physiological Society: 27-49.
- Moore-Ede, M. C., F. M., Sulzman y C. A. Fuller. (1982). The clocks that time us. Cambridge, Harvard University Press. 1-60.
- Neil, D. M. (1982). Compensatory eye movements. En: The biology of Crustacea. D. E. Bliss, Sandeman, D.C. y Atwood, H. L. Vol. 4. Academic Press. New York., 133-63.

- Page, T. L., y J.L. Larimer. (1972). Entrainment of the circadian locomotor activity rhythm in crayfish. The role of the eyes and caudal photoreceptor. *J. Comp. Physiol.* 78: 107-120.
- Page, T. L. y J.L. Larimer. (1975). Neural control of circadian rhythmicity in the crayfish. I. The locomotor activity rhythm. *J. Comp. Physiol.* 97: 81-96.
- Palmer, J. D. (1971). Comparative studies of circadian locomotory rhythms in four species of terrestrial crabs. *Am. Mid. Nat.* 85: 97-107.
- Pasztor, V. M. (1969). The neurophysiology of respiration in decapod crustacea II. The sensory system. *Can. J. Zool.* 47: 435-441.
- Pasztor, V. M. (1979). The ultrastructure of the oval organ, a mechanoreceptor in the second maxilla of decapod crustacea. *Zoomorph.* 193: 171-191.
- Pavan, C. (1946). Observations and experiments on the cave fish *Pimelodela kronei* and its relatives. *Amer. Nat.* 80: 343-61.
- Pittendrigh C. S. (1984). Circadian Systems: general perspective. En: *Handbook of Behavioral Neurobiology* Aschoff J. Vol.4. Biological Rhythms. Plenum Press. New York. 57-77.
- Pollard, T. G. y J. L. Larimer. (1977). Circadian rhythmicity of heart rate in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp. Biochem. Physiol.* 57A: 221-226.
- Prieto-Sagredo, J., Ricalde-Rechia, I., Durán-Lizarraga, M. E., Gonsebatt, M. E. y Fanjul-Moles, M. L. (2000). Changes in Hemolymph Glutathione Status After Variation in Photoperiod and Light-irradiance in Crayfish *Procambarus clarkii* and *Procambarus digueti*. *Photochem. and Photobiol.* 71(4): 487-492.
- Prosser, C. L. (1934). Responses to illumination of the eye and caudal ganglion. *J. Cell. Comp. Physiol.* 4: 363-77.
- Prosser, L. C. (1954). Physiological variation in animals. *Biol. Rev.* 30: 239-261.
- Rice, P. R. y K. B. Armitage (1974). The effect of photoperiod on oxygen consumption of the crayfish *Orconectes nais* (Faxon). *Comp. Bioch. Physiol.* 47A: 261-270.

- Riegel, J. A. (1971). Excretion- Arthropoda. En: Chemical Zoology. M. Florin. New York, Academic Press. 6: 249-77.
- Rose, R. A., J.L. Wilkens et al., (1998). The effect of walking on heart rate, ventilation rate, and acid-base status in the lobster *Homarus Americanus*. J. Exp. Biol 201: 2601-2608.
- Sandeman, D. C. (1982). Organization of the central nervous system. En: The Biology of Crustacea. H. L. a. S. Atwood, D.C. New York, Academic Press. 3: 1-61.
- Schallek, W.(1942). Some mechanisms controlling locomotor activity in the crayfish. J. Exp. Zool. 91: 155-166.
- Selye, H. (1950). Stress. Montreal: Acta.
- Shaw, R. S. y S. Stower (1982). Photoreception. In: The biology of Crustacea. H. L. a. S. Atwood, D.C. New York. Academic Press. 3: 291-367.
- Small, L. F. y J.F. Hebard (1967). Respiration of a vertically migrating crustacean *Euphausia pacifica*. Limnol. Oceanogr. 12: 272-280.
- Teal, J. M. (1971). Pressure effects on the respiration of vertically migrating decapod crustacean. Am. Zool. 11: 571-76.
- Thorp, J. y A. Covich. (1991). Ecology and classification of North American fresh water invertebrate. New York, Academic Press.
- Truchot, J. P. (1980). Lactate increases the oxygen affinity of crab hemocyanin. J. Exp. Zool. 214: 205-208.
- Uglow, R. F. (1973). Some effects of acute oxygen changes on heart and scaphognathite activity in some portunid crabs. Neth. J.Sea Res. 7: 447-54.
- Varnberg, F. J. y B. V. Varnberg. (1983). Environmental adaptations. In: The Biology of Crustacea. D. E. Bliss. Vol.8 Academic Press. New York.
- Welsh, J. H. (1934). The caudal photoreceptor and response of the crayfish to light. J. Cell. Comp. Physiol. 4: 379-88.

- Welsh, J. H. (1941). The sinus glands and 24-hour cycles of retinal pigment migration in the crayfish. *J. Exp. Zool.* 86: 35-49.
- Wheatly M.G., y E. W. Taylor. (1981). The effect of progressive hipoxia on heart rate, ventilation, respiratory gas exchange and acid-base status in the crayfish *Austropotambius Pallipes*. *J. Exp. Biol.* 92: 125-141.
- Wilkens, J. L., L. A. Wilkens y B. R. McMahon (1974). Central control of cardiac and scaphognathite pacemarkers in the Crab, *Cancer magister*. *J. Comp. Physiol.* 90: 80-104
- Wilkens, J. L. y B. R. McMahon. (1972). Aspects of branchial irrigation in the lobster *Homarus americanus*. Functional analysis of scaphognathite bite, water pressures and currents. *J. Exp. Biol.* 56: 469-479.
- Wilkens, L. A. y J. L. Larimer. (1976). Photosensitivity in the sixth abdominal ganglion of Decapod crustaceans: a comparative study. *J. Comp. Physiol.* 106: 69-75.
- Wilkens J. L. (1999). The control of cardiac rhythmicity and of blood distribution in crustaceans. *Comp. Biochem and Physiol. Part A* 124: 531-538.
- Young, R. E. y Coyer P.E. (1979). Phase co-ordination in the cardiac and ventilatory rhythms of the lobster *Homarus americanus*. *J. Exp. Biol.* 82: 53-74.