

00366
16



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**MODIFICACIÓN DEL BALANCE IÓNICO E HÍDRICO DE
Bathygobius ramosus (GOBIIDAE) EN RESPUESTA A LA
DESECACIÓN POR EXPOSICIÓN AL AIRE E HIPOXIA.**

T E S I S

que para obtener el grado académico de

**Maestro en Ciencias
(Biología Marina)**

presenta

Biol. Héctor Eduardo Ríos Torres

Director de Tesis: Dr. Xavier Chiapa Carrara

Comité tutorial:

Dr. Antonio Peña Díaz
Dr. Rene Cárdenas Vázquez
Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldía
Dr. F. Nuno Dias Marques Simões

México, Distrito Federal a 2003

A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DEDICATORIAS.

La realización de este trabajo no fue fácil, hubo momentos de penas, pero también de alegrías; y son estas las que me motivaron a concluir este proyecto, así que quisiera dedicarlo a las personas que me brindaron de su energía para continuar.

A mi madre Estefana Torrez Torrez, preocupada y abnegada cuya fuerza y amor siempre presentes me han demostrado que todo se puede.

A la memoria de mi padre Héctor Gil Ríos Ávila, cuyo recuerdo me motiva día con día .

"Serenidad y Paciencia".....

A la memoria de mi abuelo Gilberto Ríos, cuyo espíritu rebelde y vagabundo perdura en mi.

A mis hermanos Dulce y Gustavo, la unión hace la fuerza.

A Marisol por todo su amor y comprensión.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Xavier Chiappa Carrara por su orientación, apoyo moral, académico y experimental durante la realización de este trabajo, así como de los valiosos comentarios al escrito. Muchas gracias por ser mi gurú.

A la Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldía por sus valiosos comentarios a este trabajo y durante la realización de la fase experimental.

Al Dr. Rene Cárdenas por su inestimable participación en la realización de este proyecto.

Al Dr. Nuno Simões por su ayuda en el desarrollo del modelo de respiración en Stella, y por sus comentarios durante el desarrollo de este proyecto y por compartir algo del humor portugués con los mexicanos.

Al Dr. Pedro Duarte, por sus comentarios y sugerencias durante la realización del modelo computacional en Stella.

Al Dr. Antonio Peña por la revisión de este manuscrito.

A la Familia Chiappa-Zugazagoitia por su amistad y hospitalidad brindada.

A todo el personal del laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias: Cecy Vanegas, Cecy Robles, Susy, Sebas, Caty, Rosy y el colado Beto.

Al taller de la Facultad de Ciencias en especial al Sr. Pablo.

A la empresa Ozono Ecological Equipments por las facilidades otorgadas para la obtención del ozonificador.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

A la Dirección General de estudios de Posgrado por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por todas las facilidades otorgadas para el inicio, realización y conclusión de este proyecto.

A todo el personal del Posgrado en CMYL porque sin su ayuda esto jamás se habría completado.

Al Dr. Martín Merino por sus consejos y su apoyo académico.

Y a todos aquellos que me quisieron acompañar en este viaje aun sin saber el destino exacto.

Muchas Gracias.

C



El presente trabajo se realizó en el marco del proyecto "Estudio de las adaptaciones fisiológicas y conductuales de *Bathygobius ramosus* Ginsburg 1947 (Pisces Gobiidae) en un sistema intermareal del estado de Guerrero" bajo la responsabilidad del Dr. Xavier Chiappa Carrara y con apoyo del PAPIIT-DGAPA-UNAM clave IN211999.

0

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

Se trabajó con individuos de *B. ramosus* (± 7 g) provenientes de la zona intermareal rocosa en Troncones, Guerrero. Se evaluaron las concentraciones de proteína plasmática total ($\mu\text{g mL}^{-1}$) y de los iones plasmáticos Na^+ , Cl^- y K^+ (mmol L^{-1}). Asimismo, se evaluó el contenido de agua corporal y muscular, además de la estimación de la pérdida de agua corporal en individuos expuestos a cuatro condiciones experimentales: NMA, NMB, HMA y HMB. El bioensayo consistió en colocar a 7 organismos en cada una de las condiciones donde se simularon condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el agua y exposición al aire. En la primera condición se simuló un ambiente de marea alta con una concentración de oxígeno normóxica (6.8 mg L^{-1}) en el agua (NMA). En la segunda condición se mantuvo constante la concentración del oxígeno, pero el nivel de agua se disminuyó (NMB); la tercera condición consistió en mantener a los peces en una condición de baja disponibilidad de oxígeno en el agua (2.0 mg L^{-1}) sin acceder a la atmósfera (HMA), en la última condición se mantuvo a los peces en una condición de baja disponibilidad de oxígeno en el agua y se simuló la desecación ocurrida por una marea baja (HMB). La duración del experimento fue de 2 horas. Se observaron disminuciones en las concentraciones de potasio y proteína en HMB; mientras que se registró una pérdida de agua corporal en los peces mantenidos en NMB, HMA y HMB, el músculo perdió agua en los peces mantenidos en la condición de NMB. Se observó una tendencia a la respiración aérea en los organismos mantenidos en condiciones de marea baja. Por otro lado, estos organismos presentan una capacidad de regulación iónica muy elevada, a pesar de la pérdida de agua corporal. La tolerancia que presentan a las condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el medio son menores a peces que no emergen al aire.

ÍNDICE

I	INTRODUCCIÓN.....	1
II	ANTECEDENTES.....	6
III	JUSTIFICACIÓN.....	10
IV	HIPÓTESIS.....	11
V	OBJETIVOS GENERALES.....	12
	OBJETIVOS PARTICULARES.....	12
VI	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
VII	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	24
VIII	RESULTADOS.....	26
IX	DISCUSIÓN.....	33
X	CONCLUSIONES:.....	41
XI	CONSIDERACIONES FINALES.....	42
XII	PERSPECTIVAS:.....	43
XIII	BIBLIOGRAFÍA.....	44
XIV	APÉNDICE.....	47

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

I Introducción.

El ambiente intermareal rocoso es considerado como un ecosistema altamente productivo, con una alta biodiversidad de autótrofos y heterótrofos. Este tipo de sistemas presentan una amplia variación temporal de los parámetros fisicoquímicos tales como la salinidad, el pH, la temperatura y el oxígeno disuelto (Horn *et al.* 1990). Los principales factores que intensifican la variabilidad tanto diurna como estacional de los parámetros mencionados en estos sistemas son la poca profundidad de los ambientes, la distribución espacial de los sistemas en una zona costera, la cantidad de radiación solar que reciben, la acción de los vientos dominantes y el efecto de las mareas (Truchot, 1988; Horn *et al.*, 1990; Foster *et al.*, 1991).

La combinación de dos o más factores físicos, como la insolación y los ciclos mareales, pueden causar cambios rápidos y radicales en la salinidad y la temperatura del medio. Estos cambios, a su vez, modifican las concentraciones de O₂ y CO₂ disueltos en el agua. La presencia de organismos en las pozas de marea modifica estas condiciones; durante el día los organismos fotosintéticos liberan O₂, aumentando la concentración de este en el medio, y captan CO₂, disminuyendo la concentración de este gas en el ambiente. Asimismo, los procesos de respiración que ocurren durante la noche causan un decremento en la concentración de O₂ y en el pH del medio (Truchot, 1988; Bridges, 1993).

Las zonas intermareales rocosas se dividen físicamente en 4 áreas (Fig. 1). La primera es la de mayor elevación, conocida como zona de salpicadura y sólo es humedecida por olas de tormentas o la brisa, suele estar constituida por roca desnuda. La región dos es la zona de marea alta y usualmente está expuesta al aire por largos periodos de tiempo al menos una vez al día. El área tres, comúnmente llamada zona de mejillones, es la región media intermareal y generalmente está dominada por la marea alta y baja. La cuarta, es la zona baja intermareal; sólo se encuentra al descubierto durante las mareas más bajas y permanece más tiempo cubierta por agua (Foster *et al.* 1991).

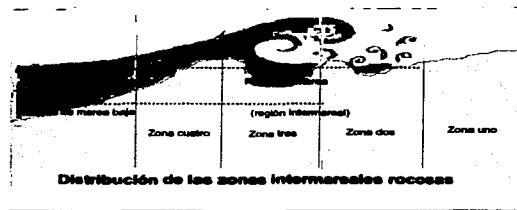


Figura 1. Zonación del ambiente intermareal rocoso. Modificado de Horn *et al.*, 1990.

Los peces intermareales pueden clasificarse como visitantes si pasan sólo alguna parte de su vida en la zona intermareal, o residentes si ocupan permanentemente este ambiente. Además, estos organismos presentan adaptaciones fisiológicas y conductuales que les permiten permanecer en estos ambientes (Horn *et al.* 1990; Bridges, 1988). Asimismo, se distribuyen verticalmente, abarcando cualquiera de las regiones intermareales y su abundancia está controlada principalmente por la tolerancia a la hipoxia y a la desecación.

Algunos de los peces residentes presentan características morfológicas, fisiológicas y conductuales que les permiten respirar aire. Entre los organismos más representativos están los saltarines del fango (*Periophthalmus* sp; Gobiidae) y los saltarines de las rocas (*Blennius* sp.; Blenniidae). Estos peces, al contrario de sus similares de agua dulce, no poseen órganos para la respiración aérea, por lo que el intercambio gaseoso debe llevarse a cabo a través de las mismas superficies, tanto en agua como en aire (Graham, 1985; Horn, 1990). Las estructuras más importantes relacionadas con esta función son las branquias, la piel y en ocasiones, las membranas de los opérculos y las cavidades bucales (Evans *et al.* 1990). Por lo tanto, como organismos que respiran O₂ a través de estas barreras difusivas, una modificación en el consumo de oxígeno causa cambios proporcionales en la pérdida de iones por difusión, originando

desequilibrios en el compromiso osmoregulatorio, ya que tanto el consumo de O₂ y la pérdida de iones dependen del área branquial expuesta (Gonzalez y McDonald, 1994).

Entre los factores que causan el abandono de las pozas por parte de los peces, están las variaciones de los niveles de agua por efecto de las mareas, el aumento de la salinidad por desecación, la variación de la temperatura del agua y el aire, el decremento del pH y el incremento en los niveles de CO₂ (Horn *et al.* 1990). La mayoría de estos peces presentan flotabilidad negativa por la ausencia de una vejiga natatoria. Esta característica define su actividad locomotora, caracterizándolos como organismos demersales, que en ocasiones se fijan o escalan en las rocas con ayuda de las modificaciones que presentan en las aletas pélvicas. Algunos de estos organismos están adaptados a respirar aire muy bien y la tasa de consumo de oxígeno es la misma tanto en agua como en aire (Horn y Riegle, 1978).

En función de la conducta de los organismos se consideran tres tipos de emersión (Horn, 1990):

- Saltadores, que pueden emerger activamente de las pozas, en un desplazamiento activo entre el agua y la tierra.
- Emergentes, que pueden dejar las pozas de marea cuando las condiciones llegan a ser inhóspitas.
- Remanentes que pueden llegar a estar fuera del agua por medios pasivos, simplemente por permanecer en un sitio usualmente cubierto por agua pero que, durante la marea baja, queda expuesto al aire. Estos organismos pueden emerger completamente del agua, aunque en ocasiones únicamente la cabeza y los opérculos se encuentran expuestos al aire.

Los peces una vez fuera del agua generalmente son inactivos, pero pueden desplazarse en la tierra ciertas distancias, a veces para escapar de depredadores o para moverse entre las pozas. Este desplazamiento es por saltos a través de

movimientos de la cola o escalando con ayuda de las aletas pectorales. Durante la exposición al aire, los problemas que enfrentan estos peces son: los cambios en el balance ácido-base interno por efecto de la hipoxia e hipercapnia durante la noche y la hiperoxia e hipocapnia durante el día (Evans *et al.* 1990), los cambios en la temperatura del medio (Martin y Lighton, 1989), y las variaciones en las presiones parciales de CO_2 y O_2 en el medio interno y externo (Bridges, 1988). De estos cambios, en particular el transporte de gases (O_2 y CO_2) entre el medio acuático y las células es un proceso fisiológico extremadamente sensible a los cambios ambientales.

El transporte de oxígeno del medio hacia las células consiste en cuatro pasos: a) ventilación de las branquias; b) difusión del O_2 del agua a la sangre; c) transporte del gas en la sangre; d) difusión del O_2 de la sangre hacia los tejidos (Jensen *et al.* 1993). El transporte de CO_2 se realiza por medio del HCO_3^- plasmático, que es la forma más abundante de CO_2 en la sangre de los peces. La mayor parte de este compuesto es eliminado a través de las branquias como HCO_3^- , que es transportado hacia el epitelio de las branquias y es deshidratado a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ antes de difundir hacia el agua (Haswell y Randall, 1977).

Ante todos estos cambios y para mantener el estado estable, los peces deben iniciar procesos fisiológicos de regulación, como el mantenimiento del balance ácido-base, la regulación iónica y la regulación hídrica (Zagha y Val-Sella, 1985). Sin embargo, en los peces intermareales se han reportado diferencias tanto en las concentraciones iniciales de solutos como en el pH del plasma sanguíneo, lo que hace suponer que estos procesos de regulación se realizan de manera diferente a la que ocurre en peces pelágicos (Holmes y Donaldson, 1969; Evans *et al.*, 1990; Satchel, 1991; Bridges, 1993; Takei, 1993).

Los peces durante la osmoregulación ajustan y regulan la ganancia y la pérdida de agua y osmolitos, especialmente de los iones Na^+ y Cl^- (Evans *et al.* 1990). Algunas de las sustancias en solución en el plasma, como las proteínas

plasmáticas, pueden ser incapaces de cruzar la pared de los capilares y pueden ser empleadas en el mantenimiento de la presión osmótica (Takei, 1993).

La regulación iónica involucra el intercambio de los iones Na^+ , Cl^- y K^+ , y se realiza a través del epitelio branquial, que es un sitio de difusión de iones e intercambio activo de elementos osmóticamente activos (Pequeux, 1995; Evans *et al.*, 99), manteniendo la presión osmótica del medio interno menor que la del medio externo (Holmes y Donaldson, 1969; Evans *et al.*, 1990).

El presente estudio tiene como objetivo investigar el efecto en el medio interno de *Bathygobius ramosus*, durante los cambios en la disponibilidad de oxígeno en el agua y la exposición al aire.

II Antecedentes.

En los peces considerados como residentes de la zona intermareal, se han realizado numerosos estudios que abordan aspectos ecológicos, fisiológicos y conductuales ante variaciones en alguno de los parámetros fisicoquímicos.

En el caso de *Blennius pholis*, Bridges (1984), analizó el efecto fisiológico de los cambios en la temperatura de las pozas, la presión parcial de oxígeno y los cambios en la concentración de CO₂.

En estudios anteriores se ha descrito que los organismos habitantes de esta zona se encuentran sometidos a cambios en la concentración de oxígeno en el medio, que originan una serie de respuestas compensatorias para permitir al organismo escapar o mantenerse en ese ambiente (McMahon, 1988).

Los peces de la familia Gobiidae son parte de la ictiofauna béntica que se encuentra presente en arrecifes coralinos y ambientes intermareales rocosos. Estos organismos han sido objeto de estudios conductuales (Aronson, 1951; Aronson, 1971; Gee y Gee, 1991) y fisiológicos (Zagha y Val-Sella, 1985; Takei, 1993), debido a las adaptaciones que presentan como respuesta a las presiones abióticas de este ambiente tan dinámico.

Algunos autores han señalado que los peces de esta familia son importantes para la comprensión de los fenómenos de selección de hábitat, tolerancia a los factores ambientales y tolerancia al impacto ambiental (Castro-Aguirre, 1999). Dentro de esta familia se encuentra el género *Bathygobius*, representado por cerca de 15 especies, de las cuales *B. soporator*, *B. curaçao* y *B. ramosus*, están ampliamente distribuidas en las costas mexicanas. *B. soporator* y *B. curaçao* se localizan principalmente en la costas del Atlántico y el Golfo de México, mientras que *B. ramosus* tiene una distribución que abarca desde la costa suroccidental de Baja California sur y el Golfo de California, hasta Perú (Fig. 2; Castro-Aguirre, 1999; Eli, 2000).

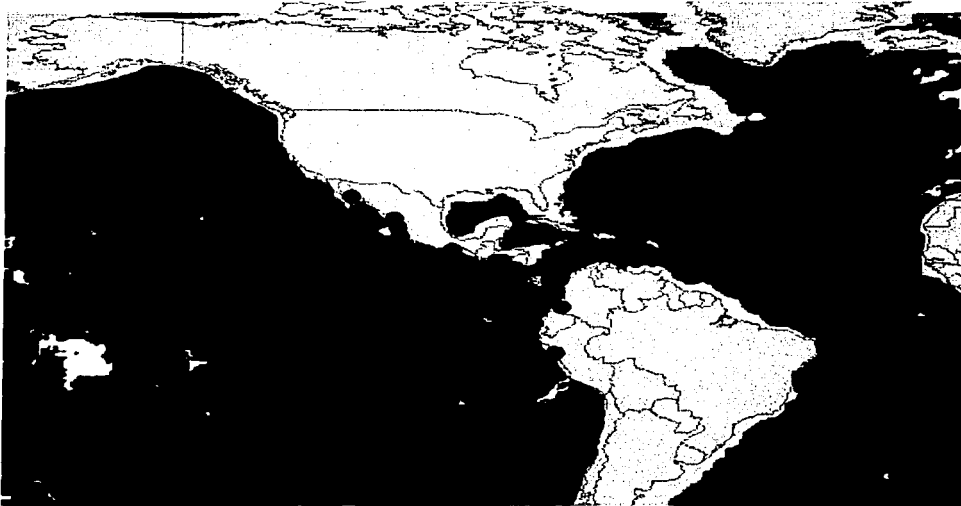


Figura 2. Distribución mundial de *Bathygobius ramosus* (Eli, 2000).

Bathygobius ramosus es considerado como un residente de las zonas intermareales rocosas (Eli, 2000) y también se ha reportado como especie ocasional en sistemas estuarino-lagunares (Castro-Aguirre, 1999).

En particular para *Bathygobius soporator*, existen estudios preliminares que lo definen como un organismo euritérmico y eurihalino (Zagha y Val-Sella, 1985), además de que es capaz de soportar períodos prolongados de exposición directa al aire (Beebe, 1931).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

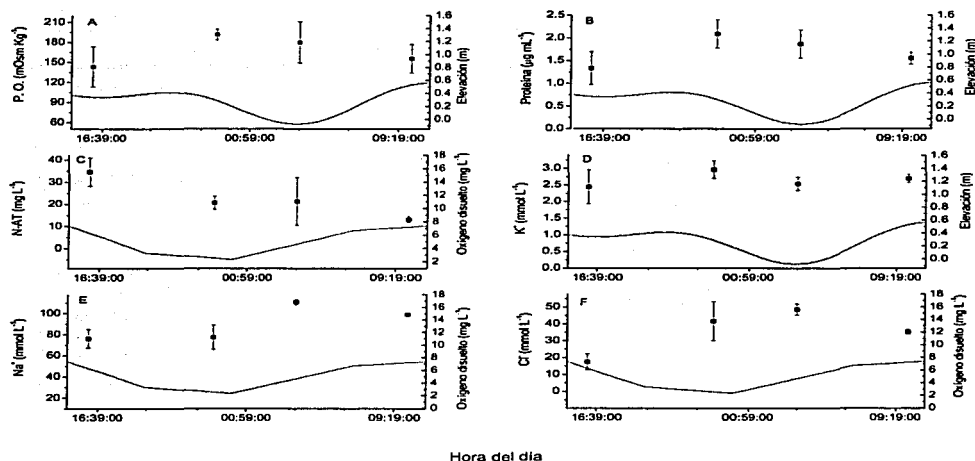


Figura 3. Comportamiento de la presión osmótica (A), proteína plasmática total (B), nitrógeno de amonio total (N-AT; C), iones plasmáticos K^+ (D), Na^+ (E) y Cl^- (F) en el plasma de organismos de *B. ramosus* durante un ciclo de marea en Agosto de 2000. Se evaluaron grupos de 5 organismos en cada muestreo. Se compara el comportamiento con las condiciones de marea (—) y la disponibilidad de oxígeno en el agua (---). Las barras indican error estándar.

A partir de estudios previos en *B. ramosus* durante el mes de agosto de 2000, se observó un incremento de la presión osmótica (Fig. 3A) correspondiente a las 02:00 H del día, con una posterior disminución en la presión durante el día. Dicho incremento es similar al ocurrido con la concentración de potasio (Fig. 3D) y proteína total (Fig. 3B), relacionados directamente con el nivel de la marea que se presentó durante esas fechas, e inversamente con la concentración de oxígeno disuelto en las pozas.

Sin embargo, aun falta mucho por conocer en la fisiología de organismos intermareales, en particular para los peces residentes, ya que los pocos estudios que hay sólo se limitan a describir comportamientos observados en campo. Son

pocos los estudios que abordan directamente lo que pasa con el balance interno de estos peces, y la relación que hay entre el balance iónico y el equilibrio ácido-base en el plasma sanguíneo.

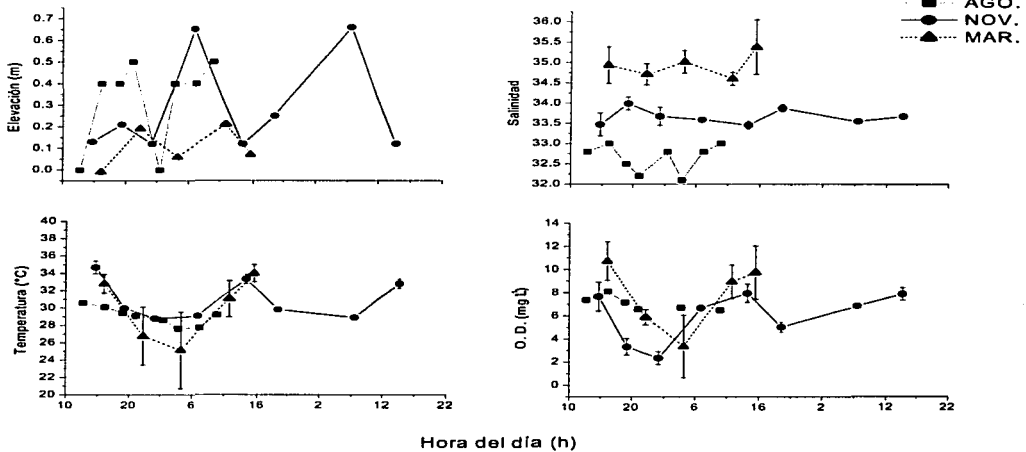


Figura 4. Variación de la elevación del nivel del mar (m), salinidad, temperatura (°C) y oxígeno disuelto (mg L^{-1}) en un ambiente intermareal rocoso en la localidad de Troncones, Guerrero, durante los meses de Agosto (■) y Noviembre (●) de 2000 y Marzo (▲) de 2001.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

III Justificación.

Pocos estudios han abordado el problema del balance osmótico en los peces intermareales expuestos al aire (Gordon *et al.* 1969; Marusic *et al.* 1981; Lee *et al.* 1987). En estos trabajos sólo se evaluó el aumento de la presión osmótica en función de la evaporación del agua corporal a través de la piel.

Para *B. ramosus* no existen reportes sobre la actividad osmoreguladora durante la exposición al aire, a pesar de que se ha observado que presenta un comportamiento de emersión durante algunos minutos, ya sea para evadir las capturas o para desplazarse a otras pozas a través del sistema de canales. Este desplazamiento en ocasiones se realiza sobre una película de agua que cubre únicamente la parte dorsoventral del pez. Además, se ha observado que algunos animales quedan atrapados en pozas aisladas, las cuales posteriormente se desecan casi en su totalidad.

A partir de estas observaciones y considerando los reportes en la literatura sobre la especie *Bathygobius soporator* (Beebe, 1931), surge la inquietud de conocer ampliamente los mecanismos osmoreguladores enfocándose en el balance iónico e hídrico para entender las adaptaciones de estos organismos a las zonas intermareales rocosas y generar información que sirva de base para posteriores estudios de carácter fisiológico, biológico o ecológico. Asimismo, el estudio más profundo en esta especie permitirá aportar datos para la creación de ambientes protegidos basados en especies plenamente conocidas en ecosistemas amenazados. Por último, es importante cualquier estudio que permita conocer más la biología de esta especie que presenta una amplia distribución en las costas del Pacífico mexicano.

Considerando que los litorales de la costa del Pacífico tropical mexicano son una región con una amplia diversidad de especies, el conocimiento de una especie que se distribuye en casi toda la república es un avance en el conocimiento de la fauna marina.

IV Hipótesis.

Durante la marea baja, los individuos de *Bathygobius ramosus* que quedan expuestos a condiciones hipóxicas o de exposición al aire, presentarán los siguientes cambios:

- Los peces de *Bathygobius ramosus* mantenidos en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno disuelto, exhibirán las adaptaciones con que cuentan para respirar oxígeno directamente del aire.
- Como consecuencia de la permanencia en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno disuelto las concentraciones de los iones plasmáticos presentaran una variación en la concentración interna.
- A causa de la exposición a condiciones de desecación, en el medio interno de los peces se registrara una variación en la concentración de iones plasmáticos, principalmente en el Na^+ y el Cl^- .
- Habrá un incremento en la concentración de proteínas plasmáticas como resultado de una pérdida de agua corporal.
- Habrá un aumento de las proteínas plasmáticas como parte del mecanismo para el mantenimiento de la presión osmótica. La tolerancia al incremento de la presión osmótica puede resultar parte de las adaptaciones fisiológicas a la deshidratación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V Objetivos generales

Evaluar el efecto de la exposición al aire de *Bathygobius ramosus* en el balance iónico e hídrico de los organismos.

Evaluar el efecto de las condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el agua en la regulación de los iones sodio, cloro y potasio, en *Bathygobius ramosus*.

Objetivos particulares

- Determinar la concentración de iones sodio, cloro y potasio y, proteína total en el plasma de *B. ramosus* expuestos al aire.
- Determinar la concentración de iones sodio, cloro y potasio y, proteína total en el plasma de *B. ramosus* expuestos a condiciones normales y de baja concentración de O₂ en el agua, con y sin exposición al aire.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI Materiales y Métodos.

Se capturaron 28 organismos adultos (16 ♂ y 14 ♀; 8 ± 1 g) en una zona intermareal rocosa, ubicada en la localidad de Troncones, Guerrero (Fig. 5) con la ayuda de redes de cuchara y una red diseñada para atraparlos entre los canales de comunicación entre las pozas de marea (Fig. 6), durante la marea baja (Secretaría de Marina, 2000).

Una vez capturados se mantuvieron en jivas con salinidad y temperatura constante, oxígeno a saturación y pH de 8.0-8.2, un mínimo de 24 horas a fin de minimizar los efectos del estrés de captura. Para de evitar el aumento de las concentraciones de amonio y nitrito, se realizaron recambios parciales del 50% agua de mar en las jivas.

La concentración de oxígeno disuelto se determinó con un oxímetro digital (YSI; $\text{mg L}^{-1} \pm 0.005$); la temperatura y la salinidad con un salinómetro digital (YSI; $^{\circ}\text{C} \pm 0.05$; $\% \pm 0.05$) y el pH con un potenciómetro de campo (WalkLab; ± 0.05). Con el propósito de evitar cambios en la condición fisiológica del organismo, durante la fase previa al experimento no se les suministró alimento.

El agua utilizada durante todo el bioensayo fue agua libre de microorganismos a fin de evitar una variación en la concentración de oxígeno en el agua. Para lograr esta condición, el agua fue circulada con ozono durante 4 horas con un ozonificador (Ozone Ecological Equipments) para eliminar materia orgánica y microorganismos. Posteriormente, el agua se hizo pasar por un filtro de carbón activado para eliminar los residuos de radicales libres presentes por el tratamiento con ozonificación. Para generar la condición de baja disponibilidad de oxígeno en el agua, se inyectó nitrógeno gaseoso en el reservorio antes de la realización del ciclo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

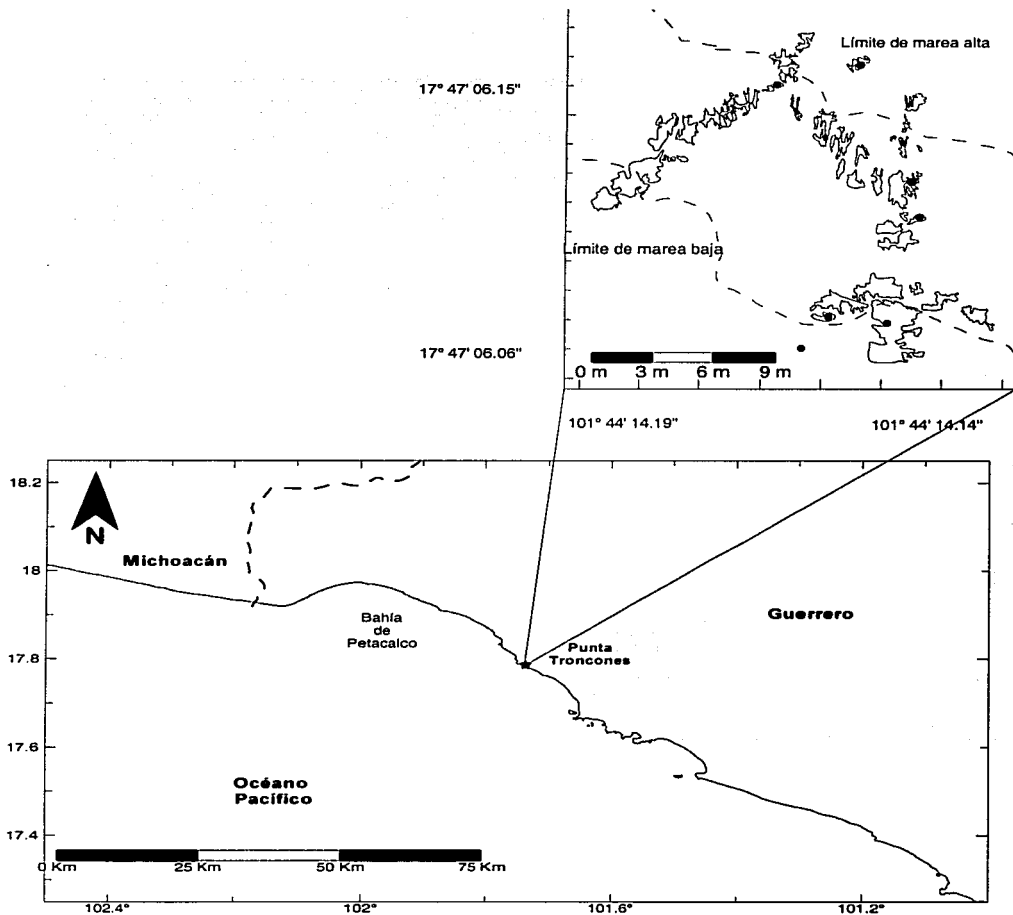


Figura 5. Ubicación geográfica de la zona de estudio y puntos de captura de *B. ramosus* en Troncones, Guerrero.

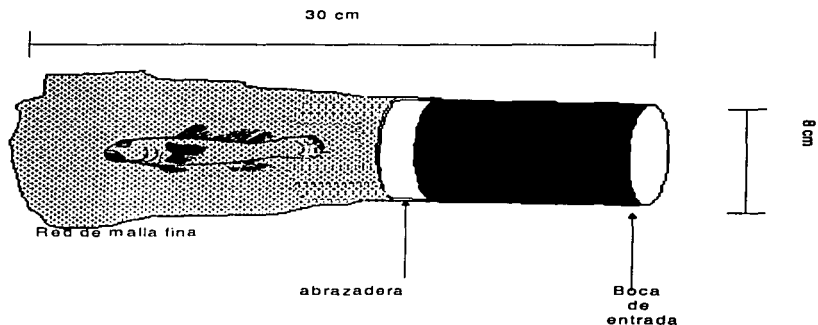


Figura 6. Dispositivo de captura, diseñado para atrapar a *B. ramosus* durante la marea baja.

La figura 7 muestra el diseño con el cual se evaluaron las condiciones de normoxia y baja disponibilidad de oxígeno en el agua. Los organismos colectados se dividieron en cuatro lotes de 7 individuos, cada lote se expuso durante 2 horas a las siguientes condiciones experimentales. En la primera, los organismos se mantuvieron en una cámara llena de agua con oxígeno disuelto a saturación, simulando condiciones de normoxia y sin exposición al aire (NMA).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

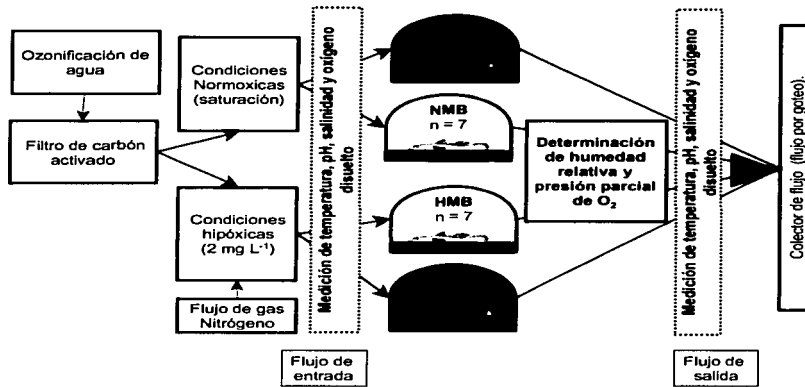


Figura 7. Diseño experimental para simular condiciones de marea alta, baja y concentraciones de oxígeno normóxicas y de baja disponibilidad de oxígeno en el agua de una zona intermareal rocosa.

En la siguiente condición, el nivel de agua se mantuvo cubriendo la mitad del cuerpo del organismo (0.5 cm), procurando dejar al descubierto la parte dorsal de los mismos; la concentración de oxígeno disuelto del agua fue a saturación (NMB; 6.8 mg L⁻¹). En la tercera condición, la cámara se mantuvo llena de agua pero la concentración de oxígeno se abatió hasta 2.0 ± 0.1 mg L⁻¹ O₂ bombeando nitrógeno gaseoso, simulando una condición de baja disponibilidad de oxígeno en el agua (HMA). En la cuarta condición, el nivel de agua en las cámaras fue similar al mantenido en la segunda condición (HMB), pero la concentración de O₂ se mantuvo en niveles de 2.0 ± 0.1 mg L⁻¹ O₂.

A fin de comprobar que la condición de baja disponibilidad de oxígeno en el agua, se mantenía en 2.0 ± 0.1 mg L⁻¹ O₂, aún en condiciones de oxígeno ambiental durante la condición de hipoxia en marea baja (HMB), se realizó un modelo de simulación (Liu *et al.* 1997), donde se consideró el volumen de las cámaras, la difusión de oxígeno del aire al agua y la concentración de O₂ en la

entrada y salida de la cámara, así como la duración del experimento. (Fig. 8; Apéndice 2). De esta forma fue posible simular la condición hipóxica del agua en las cámaras mantenidas en marea baja (Fig. 9).

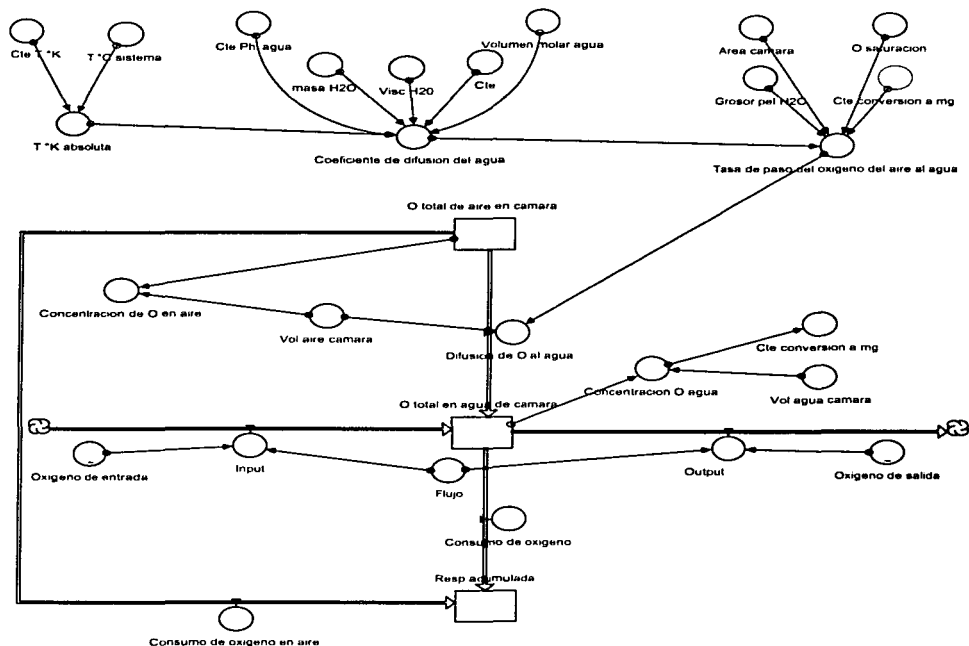


Figura 8. Modelo computacional desarrollado con el programa Stella para corroborar la condición hipóxica en cámaras respirométricas de flujo abierto.

Los resultados del modelo indican que el aumento en la concentración de oxígeno en el agua por difusión es mínimo y no rebasa las concentraciones de 2 mg $O_2 L^{-1}$ debido al flujo constante de agua impidiendo que se acumule en el sistema experimental. En el aire, aunque la concentración disminuye por efecto de la difusión, no se afecta la condición normóxica del aire (Fig. 9).

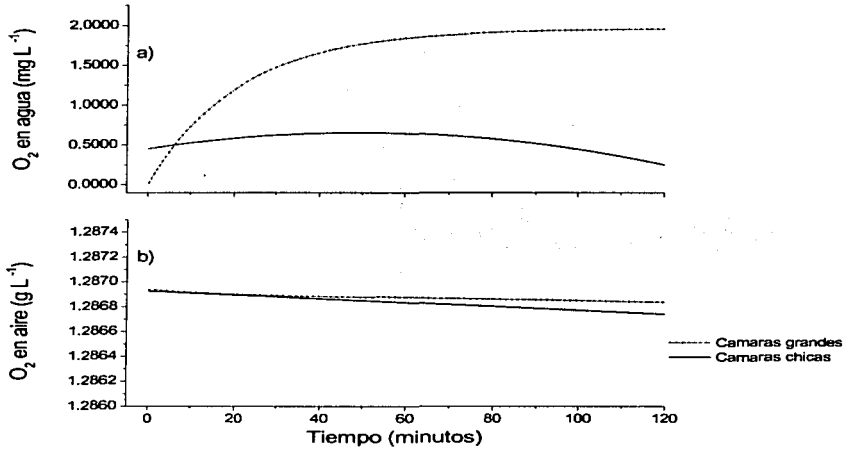


Figura 9. Comportamiento del oxígeno en el aire (g L^{-1} ; a) y oxígeno en el agua (mg L^{-1} ; b) durante 120 minutos en cámaras respirométricas mantenidas en condiciones de hipoxia en marea baja (HMB), sin organismos.

Al simular la presencia de un organismo en el modelo, se consideró una tasa respiratoria de $0.0159231 \text{ mg L}^{-1}\text{org}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Apéndice 3), y se observó que cuando la respiración en agua era mayor al 2% del total de la tasa respiratoria, la concentración de oxígeno en el agua llegaba a 0.0 mg L^{-1} ; considerando un consumo del 1% de la tasa respiratoria en el agua y el restante 99% en el aire, la concentración de oxígeno en agua disminuía, pero no se abatía totalmente en el transcurso del bioensayo (Fig. 10c), y la concentración de oxígeno en el aire disminuía más que en las cámaras mantenidas sin organismos (Fig. 10b). A partir de estos resultados se observó que el agua de las cámaras en HMB sí se mantuvo en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el agua durante todo el bioensayo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

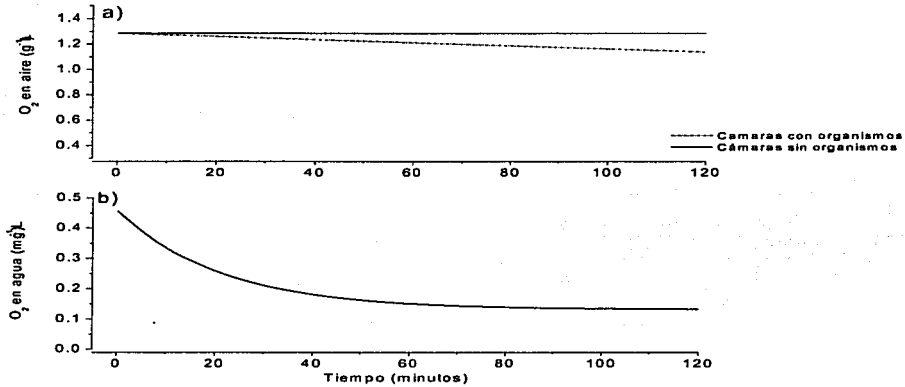


Figura 10. Comportamiento de la concentración de oxígeno en aire (a; $g\ L^{-1}$) y agua (b; $mg\ L^{-1}$), así como respiración acumulada de *Bathygobius ramosus*, durante condiciones simuladas de HMB en cámaras con organismos.

Durante el periodo de experimentación en las 4 condiciones se monitoreo de manera constante el oxígeno disuelto, el pH, la temperatura y la salinidad. El flujo de agua se controló por medio de válvulas, para evitar modificaciones en la concentración de oxígeno y en la temperatura. Además, en las condiciones 2 y 4 se determinó la humedad relativa y la presión parcial de O_2 (Fig. 11).

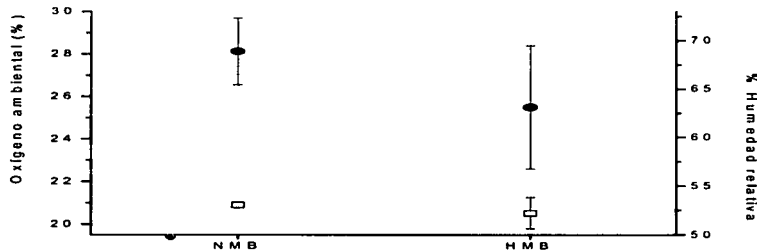


Figura 11. Valores promedio de oxígeno ambiental (□) y humedad relativa (●), en el interior de las cámaras experimentales donde se mantuvo a *B. ramosus*. NMB: Normoxia marea baja; HMB: Hipoxia marea baja. Las barras indican error estándar.

Parte de las variaciones en la temperatura del agua durante los experimentos, se debieron a las condiciones de nubosidad imperantes en el momento de los bioensayos (Fig. 12). Sin embargo, la variación entre los experimentos no afectó de manera significativa el comportamiento de los peces durante los bioensayos.

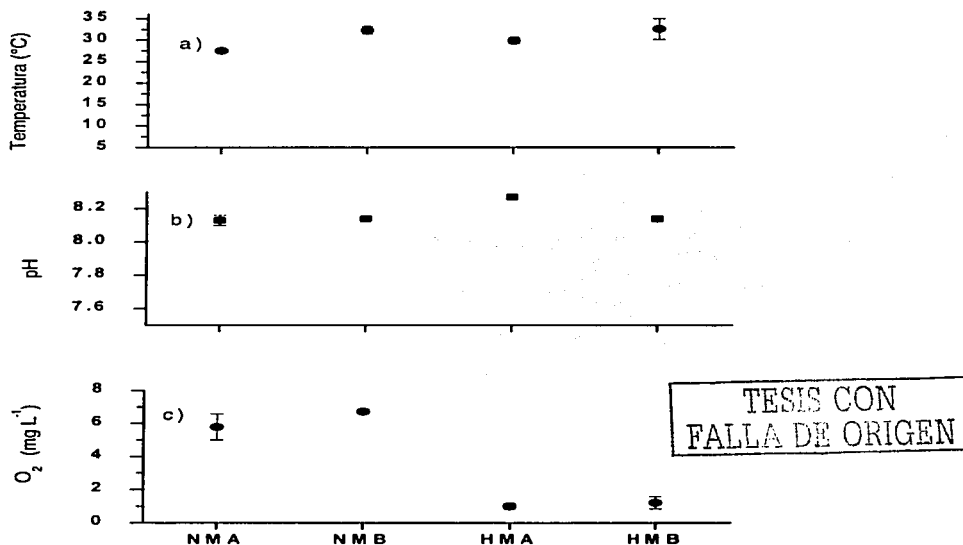


Figura 12. Comportamiento de la temperatura (a); pH (b) y Oxígeno disuelto (c) en los sistemas experimentales donde se mantuvo a *B. ramosus*. Se señalan valores promedio y las barras indican error estándar.

La sangre se obtuvo tras mantener 2 horas a los organismos en cada una de las condiciones, por medio de un corte en la región posterior en la base de la aleta caudal y en la región cefálica en la base del opérculo. El volumen mínimo de muestra fue de 50 μ L. El procedimiento de extracción de sangre se realizó en frío y con ayuda de una micropipeta de 5-50 μ L cuyas puntas se mantuvieron en heparina sódica (2000 U.I.), con el fin de evitar la coagulación.

Las muestras extraídas se colocaron en tubos eppendorf de 1 ml y se centrifugaron durante 10 min. a 2500 rpm a 4°C (Eppendorf, 5417R), para separar el plasma de las células sanguíneas. Posteriormente se extrajo el plasma, se diluyó 1:20, partiendo de la ecuación obtenida con muestras de plasma sanguíneo, evaluadas con anterioridad (Fig. 13) y se colocó en un recipiente de nitrógeno líquido, a fin de evitar cambios en la composición del plasma, hasta su posterior análisis en el laboratorio.

Las muestras evaluadas con anterioridad provinieron de un lote de 6 organismos mantenidos en condiciones de reposo (30°C, 12-12 h luz / oscuridad, 35 ups y O₂ a saturación), a estos se les extrajo el plasma sanguíneo, se determinó la concentración de iones en muestras sin diluir y se hicieron diluciones al 1:2, 1:5 y 1:10 con el fin de encontrar la mejor dilución y aprovechar al máximo de volumen de muestra. Una vez en el laboratorio, se determinó la concentración de los iones de sodio, cloro y potasio con un multianalizador de iones (Easylite) y la concentración de proteína total (BioRad). A fin de obtener los valores reales de la concentración de cloro, sodio y potasio, se hizo una corrección por dilución, a partir de una ecuación obtenida al comparar la dilución esperada contra la dilución observada (Fig. 13) de las concentraciones obtenidas en una análisis anterior con muestras de *B. ramosus*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

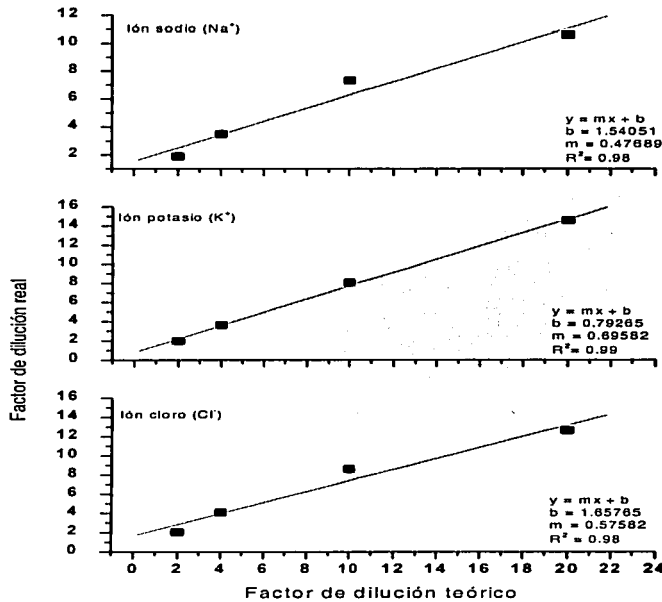


Figura 13. Relación de los valores de dilución real y teórica en los iones plasmáticos Na⁺, Cl⁻ y K⁺ de *B. ramosus*.

La proporción de agua de los individuos se determinó a partir del peso corporal y del peso muscular con la relación:

Ecuación 1

$$P_{AC} = \frac{PH_{Cl} - PS_C}{PH_{Cl}}$$

La proporción de agua muscular, utilizando 1 cm³ del músculo del pez, se obtuvo a partir de la relación

Ecuación 2

$$P_{AM} = \frac{PH_M - PS_M}{PH_M}$$

TRISIS CON
FALLA DE ORIGEN

La pérdida de agua corporal se obtuvo a partir de la relación

Ecuación 3

$$P_{PAC} = \frac{PH_{C_i} - PH_{C_f}}{PH_{C_i}}$$

Donde:

PH_{C_i} : Peso húmedo inicial del organismo.

PH_{C_f} : Peso húmedo final del organismo

PS_{C_f} : Peso seco del organismo después de mantenerse en una estufa de secado a 60°C hasta la estabilización.

PH_M : Peso húmedo de 1 cm³ de músculo del tronco del pez.

PS_M : Peso seco de 1 cm³ de músculo tras haberse mantenido en una estufa de secado hasta llegar a un peso estable.

Para la determinación del peso se utilizó una balaza analítica (Sartorius ± 0.0005 g).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VII Análisis estadístico.

Una vez obtenidos los datos se procedió a un análisis exploratorio para observar tendencias significativas ($p < 0.05$). Posteriormente se observó que el valor promedio de cada tratamiento no presentaba una aditividad entre el grupo control y los grupos experimentales y, a fin de minimizar la presencia del error tipo II (Zar, 1999), se procedió a aplicar una transformación estadística de los datos, para establecer un comportamiento de aditividad y aplicar un análisis de varianza, debido a que se desconocía el comportamiento de los iones Na^+ , Cl^- , K^+ y la proteína plasmática total. En función de los cambios en $[\text{O}_2]$ y la exposición al aire, se transformaron los datos utilizando la transformación Box-Cox (Ecuación 4), utilizada para datos cuyo comportamiento se desconoce *a priori* (Krebs, 1999), Para las proporciones de agua corporal, agua muscular y pérdida de agua corporal, los datos se transformaron utilizando el método arco seno, utilizado para corregir la tendencia binomial de datos provenientes de proporciones (Ecuación 5; Zar, 1999; Krebs, 1999).

Ecuación 4

$$X^\lambda = \frac{(X^\lambda - 1)}{\lambda}$$

Ecuación 5

$$X' = \arcsin \sqrt{X}$$

Posteriormente los datos transformados se analizaron con un paquete estadístico (Statsoft, 1998) para obtener los estadísticos descriptivos, y se realizó un análisis de varianza en contrastes (Zar, 1999) donde se definió una condición de control (NMA), y se evaluaron las diferencias significativas entre la condición control y las otras condiciones. Con el fin de establecer diferencias significativas entre las variables a evaluar definidas con anterioridad de los organismos mantenidos en cada una de las condiciones ya mencionadas; los contrastes fueron de la siguiente forma:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Relación entre NMA y NMB;
- relación entre NMA y HMA;
- relación entre NMA y HMB.

Se graficó el valor promedio y el intervalo de confianza de los valores de la variables dependientes, a partir de una retransformación por el método de Box-Cox (Ecuación 6) para los valores de los iones Na^+ , Cl^- , K^+ y proteína plasmática total, y por el método de arco seno para las proporciones de agua corporal, agua muscular y pérdida de agua corporal. Para el método Box-Cox se utilizó la siguiente fórmula:

Ecuación 6
$$X = [X' \cdot (\lambda + 1)]^{\frac{1}{\lambda}}$$

Donde:

X = Valor retransformado del promedio o intervalo de confianza de los datos provenientes de la transformación Box-Cox

X' = Valor transformado en Box-Cox.

λ = Parámetro de estimación para la transformación Box-Cox.

Nota: Debido a que las diferencias significativas se estimaron a partir de los datos transformados, se observó una diferente magnitud entre el intervalo de confianza positivo y negativo.

Para el método arco seno (Ecuación 7) se utilizó la siguiente fórmula para su retransformación.

Ecuación 7
$$P = (\sin X')^2$$

Donde:

P = Valor retransformado en proporción

X' = Valor transformado utilizando la transformación arco seno.



VIII Resultados

El comportamiento del Na^+ no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la condición control (NMA) y las otras condiciones (NMB, HMA y HMB; Apéndice 2, tabla 1; Fig. 14).

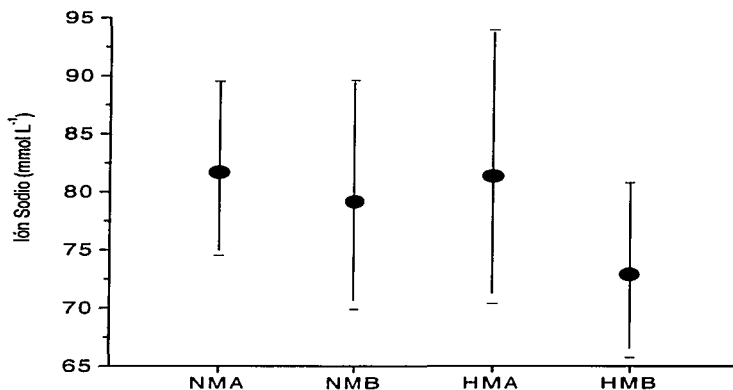


Figura 14. Comportamiento del ión sodio (mmol L^{-1}) del plasma sanguíneo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para el ión potasio, con relación a la condición de NMA se observó una disminución significativa ($P < 0.05$) del 59.6% en el bioensayo de HMB (Apéndice 2, tabla 2; Fig. 15).

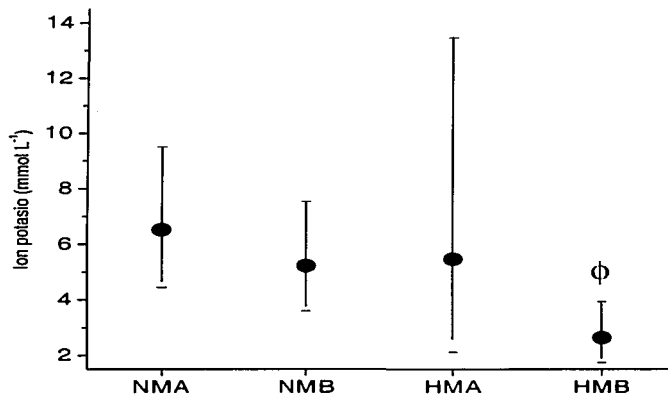


Figura 15. Comportamiento del ión potasio (mmol L^{-1}) del plasma sanguíneo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza y las diferencias significativas (Φ).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La concentración del ión cloro no mostró una variación significativa entre los diferentes tratamientos, en relación con la condición NMA (Apéndice 2, tabla 3; Fig. 16).

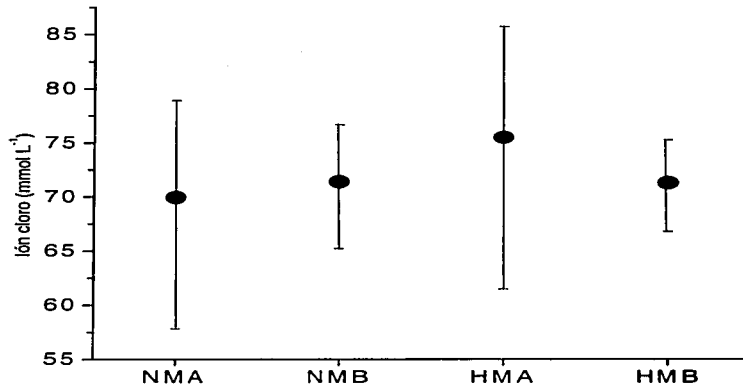


Figura 16. Comportamiento del ión cloro (mmol L^{-1}) del plasma sanguíneo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El contenido de proteína total en el plasma sanguíneo de los organismos presentó una disminución significativa ($P < 0.05$) del 15.3% en la condición de HMB, mientras que en el resto de las condiciones no se observaron cambios (Apéndice 2, tabla 4, Fig. 17).

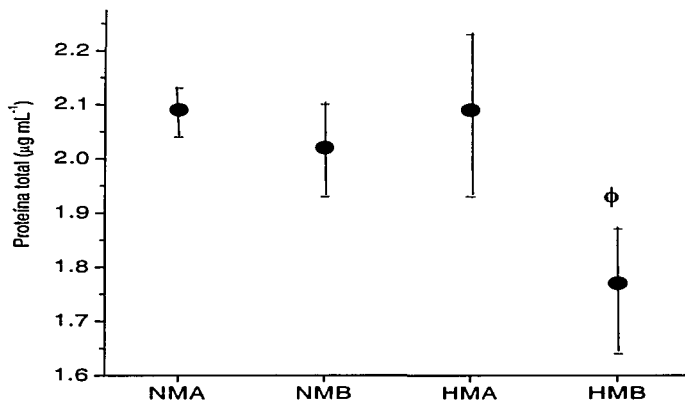


Figura 17. Comportamiento de la proteína total ($\mu\text{g mL}^{-1}$) del plasma sanguíneo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza y las diferencias significativas (Φ).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El contenido de agua corporal en los organismos mostró un decremento significativo ($P < 0.05$) del 1.7, 3.5 y 2.2 % para las condiciones de HMB, NMA y HMA respectivamente (Apéndice 2, tabla 5; Fig. 18).

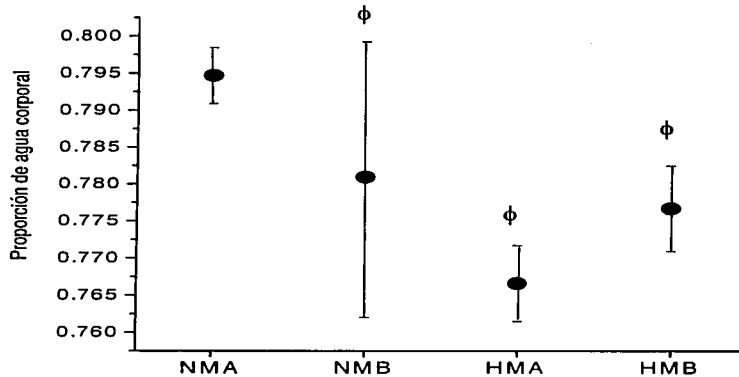


Figura 18. Proporción de agua en el cuerpo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza y las diferencias significativas (Φ).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El contenido de agua en el músculo de los organismos de *Bathygobius* mantenidos en las condiciones experimentales, mostró un decremento significativo ($p < 0.05$) del 2.66% en NMB, mientras que en las condiciones de HMA y HMB no se observaron cambios (Apéndice 2, tabla 6, Fig. 20).

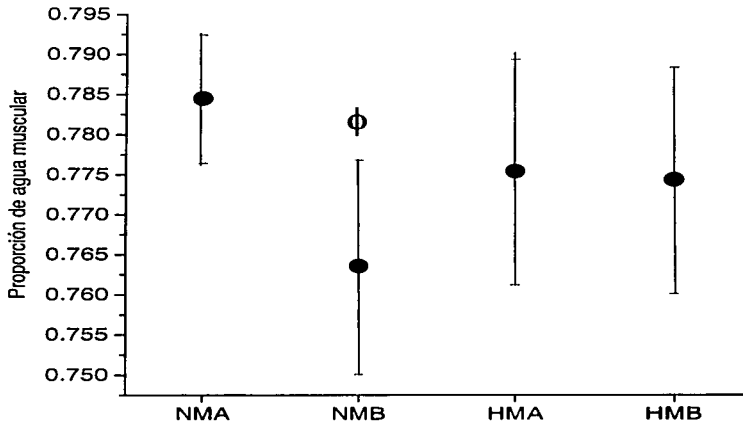


Figura 19. Proporción de agua en el músculo de *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza y las diferencias significativas (Φ).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la condición de NMB hubo una pérdida de agua corporal 300% mayor ($p < 0.05$) a la observada en NMA, mientras que en las condiciones de HMA y HMB no se registraron cambios (Apéndice 2, tabla 7, Fig. 20).

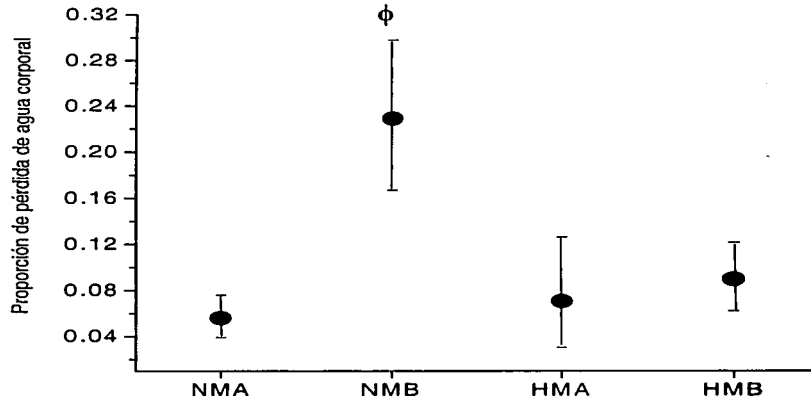


Figura 20. Proporción de pérdida de agua corporal *B. ramosus* durante las condiciones simuladas de NMA, NMB, HMA y HMB. Se señalan los intervalos de confianza y las diferencias significativas (Φ).

En HMA, se registró una mortalidad del 20% y se observó que el agua corporal influía en la disminución del ión potasio en el contraste entre NMA y HMB.

Adicionalmente se observó en los organismos expuestos a NMB, HMA e HMB, la formación de una cubierta de mucosa

Estos resultados muestran que la principal condición que modifica el balance iónico e hídrico, así como la concentración de proteína plasmática en los organismos de *B. ramosus*, es en HMB (Apéndice 2, Figs. 13, 15, 17, 18, 19 y 20).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IX Discusión

Entre las adaptaciones que presenta *Bathygobius ramosus* como habitante de las zonas intermareales rocosas, se incluyen los mecanismos de regulación iónica e hídrica. En estos ambientes se presentan periodos en los que la concentración de oxígeno en el agua se mantiene en condiciones normóxicas y el nivel del agua forma pozas en las cuales los peces están totalmente inmersos.

Durante estos periodos, el organismo no está sujeto a un estrés respiratorio a causa de condiciones hipóxicas, y tampoco está expuesto al aire, lo que evita el estrés de desecación. Por tal motivo, esto no genera cambios en la proporción de agua corporal y en las concentraciones de sodio, cloro, potasio y proteína plasmática de los individuos. Eso se traduce en el mantenimiento del compromiso osmorespiratorio (Gonzalez y McDonald, 1994). Lo anterior permitió utilizar la condición de NMA como referencia y compararla con los otros bioensayos (NMB, HMA y HMB).

En otras especies de peces intermareales como *Cottus scorpius*, *Cottus bubbalis* (Foster, 1969) y *Periophthalmus cantonensis* (Gordon *et al.* 1978) se ha reportado que la presión osmótica del plasma sanguíneo es generada principalmente por los iones Na^+ y Cl^- . En los organismos de *B. ramosus* mantenidos en NMA, la concentración de los iones sodio y cloro fue similar a la de las especies antes mencionadas, por lo que se sugiere que también en *B. ramosus* estos iones son los principales generadores de la presión osmótica del plasma sanguíneo. Además, se observó una proporción ~12:1 en las concentraciones de Na^+ y K^+ en el plasma sanguíneo de las especies de teleósteos marinos demersales como *Scomberomorus maculatus* y *Acipenser sturio* (Holmes y Donaldson, 1969), y en residentes permanentes de zonas intermareales como *Periophthalmus chrysopilos* (Lee *et al.* 1987) y *Sicyopterus sanguineus* (Marusic *et al.* 1981). Esta misma proporción se observó en *B. ramosus*, (81.70 mmol L^{-1} del ión Na^+ y 6.52 mmol L^{-1} del ión K^+) y nos permite suponer que aunque la modificación en las baja concentración del ión K^+ no

influyen en la regulación iónica del plasma sanguíneo, sí hay una relación entre las bajas concentraciones del ión K^+ y una concentración elevada del ión Na^+ ; este último contribuye con ~40% de la concentración de solutos que participan en el balance iónico.

Cabe señalar que la concentración de iones observada en el plasma sanguíneo de *B. ramosus* fue más baja que la reportada para especies neríticas de ambientes mucho más estables. Este comportamiento probablemente sea efecto de una serie de mecanismos, como la respiración aérea (que compromete el balance ácido-base), la tolerancia temporal a la baja disponibilidad de oxígeno en el agua y la capacidad de desplazamiento por tierra que presentan los peces como respuesta a la amplia variación de los ambientes que habitan, lo que permite regular las concentraciones de iones en el interior mediante la exclusión de agua o la regulación de los iones Na^+ y Cl^- .

En lo que respecta al contenido de agua corporal en los organismos colocados en NMA, se observó una amplia variación de un individuo a otro. Similares comportamientos presentaron *Cebidichthys violaceus*, *Xiphister mucosus* (Horn y Riegle, 1978) y *P. chrysopilos* (Lee et al. 1987). En relación con la amplia variación del contenido de agua corporal y la baja concentración de iones en el plasma sanguíneo de los organismos mantenidos en NMA, se han reportado comportamientos semejantes en las especies *P. chrysopilos* (Lee et al. 1987), *S. sanguineus* (Marusic et al. 1981), *C. bubbalis* y *C. Scorpius* (Foster, 1969). Esto permite suponer que como parte de la adaptación a la exposición al aire, estos organismos tienen mecanismos de regulación iónica que permiten mantener en niveles constantes la concentración de los iones plasmáticos, a pesar de que haya una pérdida de agua a través del organismo.

En relación con la proteína plasmática total, se ha observado que en especies de peces y mamíferos expuestos a condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el agua, hay una disminución de las concentraciones de proteína. Este

decremento es consecuencia del incremento en los requerimientos energéticos de los individuos, en respuesta al aumento del movimiento muscular para adquirir más oxígeno del medio. Tal aumento de las necesidades energéticas causa una disminución de todos los compuestos energéticos; como consecuencia de esto, los organismos deben utilizar las proteínas como sustrato para obtener energía y seguir respirando O_2 del medio, con el resultado neto de la disminución en la concentración de proteínas (Heisler, 1989). Sin embargo, este comportamiento de la concentración de proteína sólo se observó en los organismos expuestos en HMB, mientras que los organismos mantenidos en NMA, NMB e HMA no mostraron cambios significativos en la concentración de la proteína plasmática total.

Sin embargo, estos resultados son diferentes a los obtenidos durante la evaluación preliminar (Fig. 3). Esto se puede deber a que todas las evaluaciones que se realizaron en los bioensayos fueron a la misma hora del día, sin exponer a los organismos a los cambios durante una serie de tiempo en la que tuviéramos oportunidad de evaluar lo mismo a diferentes horas del día; asimismo, el período de experimentación pudo haber sido insuficiente para permitirnos observar cambios en la concentración de proteína plasmática total.

Para los peces colocados en NMB, tanto la concentración de los iones Na^+ , Cl^- y K^+ , como la concentración de proteína plasmática en el plasma sanguíneo se mantuvieron en niveles similares a los encontrados en los peces provenientes de NMA; en cambio, se observó que estos mismos organismos provenientes de NMB fueron incapaces de regular el contenido corporal de agua.

La exposición al aire causó la desecación de los organismos de *B. ramosus* en NMB por la pérdida de agua corporal a través de las superficies expuestas del organismo. Aunque se registraron cambios significativos en la proporción de agua corporal entre los peces de las condiciones de NMA y NMB, estos cambios no tuvieron diferencias significativas en la proporción de agua muscular. Esto puede

ser debido a que el agua no está disponible de la misma manera en la piel y en el músculo; mientras que en piel la mayor parte del agua se encuentra en los compartimientos extracelulares, en el músculo la mayor parte está dentro de las células (Davson, 1968). A causa de esto el agua se pierde mucho más rápido por la piel, la cual puede deshidratarse en cerca del 40% antes de que el músculo llegue a mostrar signos de deshidratación, la cual no puede exceder el 10%, pues se comprometerían los mecanismos de contracción y relajación muscular (Davson, 1968; Wilkie, 1968). Otros peces como *Periophthalmus cantonensis* (Gordon *et al.* 1978) son capaces de mantenerse fuera del agua por mas de 12 horas, registrando cambios similares en el contenido de agua corporal a los que presentó *B. ramosus* en 2 horas.

Por otro lado, a pesar de permanecer expuestos al aire durante 2 horas, la supervivencia de todos los peces del bioensayo en NMB y HMB sugiere la capacidad que tiene este pez para respirar oxígeno directamente del aire; este es el primer reporte que se hace para la especie *Bathygobius ramosus*; ya se habían reportado especies emergentes como *Clinocottus recalvus*: Cottidae (Wright y Raymond, 1978; Marusic *et al.* 1981), *Dialommus fuscus*: Blenniidae (Nieder, 2001), *Alticus kirki*: Blenniidae (Martin y Lighton, 1989), *Blenny entomacrodus*: Blenniidae (Graham, 1985) y especies de la familia Gobiidae como: *Periophthalmus chrysopilos* (Lee *et al.* 1987), *P. sobrinus* (Gordon *et al.* 1969), *P. cantonensis* (Gordon *et al.* 1978) y *Bathygobius soporator* (Beebe, 1931; Aronson, 1971; Aronson, 1951).

El mantenimiento de la concentración de iones en el plasma sanguíneo, junto con los mecanismos de regulación hídrica y la capacidad de respiración aérea, son los mecanismos que han permitido a *Bathygobius ramosus* estar fuera del agua respirando aire durante periodos de marea baja en las zonas intermareales rocosas, a pesar de que, en estos ambientes la desecación y la indisponibilidad para incorporar iones disueltos que mantengan el equilibrio iónico del plasma

sanguíneo son algunas de las limitantes para impedir la colonización por organismos marinos.

Con respecto a los organismos de *B. ramosus* mantenidos en HMA, las concentraciones de los iones Na^+ , Cl^- y K^+ , así como de la proteína plasmática total en el plasma sanguíneo fueron similares a las observadas en los organismos provenientes de NMA. Por otro lado, el contenido corporal de agua sí mostró una variación significativa, igual a lo ocurrido en NMB; sin embargo, esta diferencia no se debió a la exposición de los organismos al aire. Además se observó la formación de una película mucosa que envolvió completamente a los peces. A partir de esto, se sugiere que, tanto la secreción de moco, como la pérdida de agua corporal en los organismos se relacionan como parte del mecanismo que permite a los organismos abandonar las pozas que presentan condiciones hipóxicas; al parecer, este moco los protege, preparándolos contra la desecación durante la exposición al aire, en la búsqueda de pozas con mejores condiciones fisicoquímicas.

Aunque la secreción de *mucus* se ha reportado en diversas especies de peces, no se ha profundizado en la relación existente entre tres factores presentes en *B. ramosus*: exposición al aire, secreción de *mucus* y deshidratación. De estos, la única relación descrita, es para las especies de peces que migran hacia ambientes con distintas salinidades, donde se refiere a la secreción de *mucus* como un mecanismo de protección para evitar la salida o entrada de agua al organismo, manteniendo un balance hídrico (Evans, 1967).

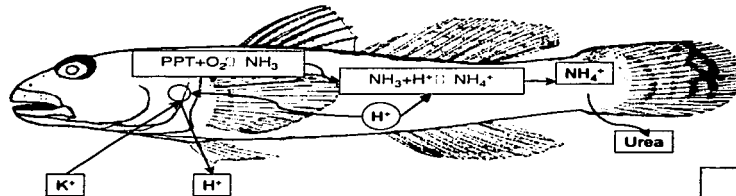
Al encontrarse en condiciones hipóxicas, en *B. ramosus* se activaron mecanismos orientados a la búsqueda de ambientes normóxicos; como parte de estos mecanismos están: la formación de *mucus* y el aumento de los movimientos musculares para iniciar un desplazamiento activo hacia otras pozas. Este incremento en las contracciones musculares generó un aumento en la demanda de oxígeno que, aunado al del batido opercular a causa de la baja disponibilidad

de oxígeno en el agua, causó, por difusión, la disminución en la concentración plasmática de CO_2 y como consecuencia, un cambio en el balance ácido-base con incrementos del pH del plasma (Haswell y Randall, 1977; Piiper, 1989; Randall y Wright, 1989; Nikinmaa y Tufts, 1989).

El 20% de mortalidad que sólo se observó en los organismos mantenidos en HMA, sugiere que *B. ramosus* tolera de manera eficiente exposiciones prolongadas a ambientes aéreos, pero es incapaz de soportar condiciones prolongadas de baja disponibilidad de oxígeno en el agua. De acuerdo con la clasificación de Horn (1990), esta característica lo ubica como un pez activo en condiciones de marea baja, con un comportamiento de emersión similar al observado en peces del género Cottidae (Horn *et al.* 1990).

En HMB se observó que tanto los iones plasmáticos Na^+ y Cl^- , como el agua corporal y muscular de *Bathygobius ramosus*, presentaron un comportamiento similar al observado en los peces de NMA. Sin embargo, la concentración de K^+ y proteína total en el plasma disminuyeron significativamente.

Por otro lado, se observó en los peces, un estrés por desecación y baja disponibilidad de oxígeno en el agua a raíz de: la reducción en la concentración de oxígeno en el agua ($\leq 2 \text{ mg L}^{-1}$), insuficiente para mantener al organismo respirando oxígeno del agua; la disminución del nivel del agua dentro de la cámara causó una reducción del área de intercambio branquial en contacto con el agua. Como resultado de este estrés conjunto pudo haber ocurrido un cese en la difusión de CO_2 al medio externo y el organismo favoreció la eliminación de bicarbonato por medio del intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$; un aumento en la concentración de CO_2 en el interior del organismo, pudo haber causado un incremento de la concentración de protones (Haswell y Randall, 1977; Piiper, 1989; Randall y Wright, 1989; Nikinmaa y Tufts, 1989), con una consecuente disminución del pH en el plasma sanguíneo.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 21. Regulación del balance ácido-base a través de la eliminación de protones (H^+) por medio de la proteína plasmática total (PPT) y el transporte activo del ión K^+ (Tomado de Heisler, 1989).

Retomando los resultados observados en las concentraciones del ión K^+ y la proteína total en el plasma sanguíneo podemos suponer que, si ocurren los mecanismos descritos en el párrafo anterior; la concentración de proteína plasmática total reflejaría estos cambios, disminuyendo su concentración como consecuencia de un metabolismo aerobio (producción de NH_3) con el propósito de mantener regulado el pH del organismo (eliminación de protones a través del ión amonio, NH_4^+). Asimismo, dentro de este mismo contexto la concentración del K^+ pudo haber disminuido como consecuencia del mecanismo de exclusión de protones a través de las proteínas; a causa de la disminución de protones no hubo un intercambiador para realizar el transporte activo de K^+/H^+ , con el posterior resultado en la disminución de la concentración del K^+ (Fig. 21).

Aunque no se ha descrito cuál de los dos es el mecanismo más utilizado para mantener el pH interno regulado, de acuerdo con nuestros resultados podría suponerse que *B. ramosus* no hace una distinción particular entre estos dos mecanismos para regular el balance ácido-base del medio interno.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El conjunto de mecanismos adaptativos que se describieron a lo largo de la discusión, permiten visualizar a *B. ramosus* como un organismo bien adaptado a los ambientes intermareales rocosos; tal vez un estudio más detallado desde el punto de vista fisiológico nos pueda ofrecer explicaciones más concretas sobre la adaptación de especies acuáticas a ambientes de transición.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

X Conclusiones:

Tras el análisis de lo que ocurrió en el medio interno de estos organismos durante su exposición a cada una de la cuatro condiciones se llegó a las siguientes conclusiones:

- *B. ramosus*, al igual que otras especies intermareales y demersales, cuenta con una regulación iónica mantenida principalmente por los iones sodio y cloro.
- No se observó un incremento en la concentración de proteína plasmática. Por el contrario hubo una disminución de la su concentración en la condición de HMB.
- La pérdida de agua en *B. ramosus* ocurre principalmente a través del epitelio y en el músculo se mantiene más estable la cantidad del agua.
- El tiempo de tolerancia en condiciones hipóxicas para esta especie es menor al encontrado en especies de agua dulce y en especies marinas bentónicas.
- *B. ramosus* puede considerarse como un pez emergente de pozas de mareas, según la clasificación de Martín y Bridges (Horn *et al.*, 1990).
- Los organismos de *B. ramosus* pueden respirar oxígeno directamente del aire.
- *B. ramosus* tolera la pérdida de agua sin comprometer la regulación iónica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XI Consideraciones finales.

No obstante que no se pudo determinar la concentración de CO_2 en agua y en la atmósfera para estimar la tasa de producción de CO_2 con respecto al O_2 respirado, ni el pH del plasma interno, este trabajo repercute como uno de los primeros esfuerzos para visualizar de manera colectiva la regulación osmótica del plasma interno y el balance ácido-base de los organismos, además de ampliar los estudios en la biología de estos organismos cuya biología es casi completamente desconocida.

A pesar de que esta especie no cuenta con una importancia económica, su amplia distribución en las costas del litoral del Pacífico Mexicano la convierten en un elemento potencial para estudios relacionados con la ecología de la zona, la biología de especies de zonas clave para la preservación de ambientes en peligro, la contaminación de ambientes costeros, la biogeografía de los peces intermareales y una amplia variedad de estudios que deben realizarse con estos organismos a fin de garantizar un conocimiento amplio y profundo en este campo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XII Perspectivas:

- Estudiar con detalle el proceso de excreción de HCO_3^- y producción de CO_2 en el plasma sanguíneo , para establecer los cambios en el pH del medio interno en condiciones de baja disponibilidad de oxígeno en el agua y en condiciones de exposición al aire.
- Especificar si las proteínas participan durante la regulación hídrica muscular, así como cuantificar la cantidad de moco producido durante la exposición al aire de estos organismos.
- Estimar la presión osmótica, con particular atención en lo que corresponde a la fracción orgánica y a los iones inorgánicos que participan, aparte de los iones sodio, cloro y potasio, con el fin de evaluar cambios puntuales ante la modificación del balance interno y correlacionar estos cambios en función de procesos energéticos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XIII Bibliografía

- Alcaraz G., C. Vanegas, and X. Chiappa-Carrara. 2002. Metabolic rate of *Bathygobius ramosus* upon a natural daytime tidal cycle. *En prensa*
- Aronson L. R. 1951. Orientation and jumping behaviour in the gobiid *Bathygobius soporator*. *American Museum Novitates*. **1486**:1-22.
- Aronson L. R. 1971. Further studies on orientation and jumping behavior in the gobiid fish, *Bathygobius soporator*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **188**:378-393.
- Beebe W. 1931. Notes on the gill-finned goby, *Bathygobius soporator* (Cuvier and Valenciennes). With an explanation of the specialized pectoral fin. *Zoologica*. **XII**. 5.55-66.
- Bridges C.R. 1984. Ecophysiological adaptations in *Blennius pholis* (L.) blood to intertidal rock pool environments. *J.Exp.Mar.Biol.and Ecol.* **77**:151-167.
- Bridges C.R. 1988. Respiratory adaptations in intertidal fish. *Am.Zool.* **28**:79-96.
- Bridges C.R. 1993. Ecophysiology of intertidal fish. Rankin J.C. and F.B. Jensen Eds. *Fish Ecophysiology* Chapman and Hall. 15.375-395.
- Castro-Aguirre J.L., H.S. Espinoza-Pérez, and J.J. Schmitter-Soto. 1999. Ictiofauna Estuarino-Lagunar y Vicaria de México. *Limusa*711.
- Davson H. 1968. Líquido extracelular y linfa. Davson H. and M.G. Eggleton Eds. *Fisiología Humana Aguilar*. 2a. Ed.. XIV.321-343.
- Eli. 2000. Occurrences for *Bathygobius ramosus*. *Fish base* www.fishbase.org
- Evans D.H. 1967. Sodium, chloride and water balance of the intertidal teleost, *Xiphister atropurpureus*. III. The roles of simple diffusion, exchange diffusion, osmosis and active transport. *Journal of Experimental Biology*. **47**:525-534.
- Evans D.H., P.M. Piermarini, and W.T.W. Potts. 1999. Ionic transport in the fish gill epithelium. *J.of Exp.Zool.* **283**. 7.641-652.
- Evans D. H., J.B. Claiborne, and G.A. Kormanik. 1990. Osmoregulation, acid-base regulation, and nitrogen excretion. Horn M.H., K.L.M. Martin, and M.A.Chotkowski Eds. *Intertidal fishes: Life in two worlds* Academic press . 5.79-92.
- Foster M.A. 1969. Ionic and osmotic regulation in three species of *Cottus* (Cottidae, Teleost). *Comparative Biochemistry and Physiology*. **30**:751-759.
- Foster M.S., A.P. De Vogelaere, J.S. Pearse, and C. Harrold. 1991. Open coast intertidal and shallow subtidal ecosystems of the northeast pacific. Mathieson A.C. and P.H. Nienhuis Eds. *Intertidal and Littoral ecosystems* Elsevier. 10.235-272.
- Gee J.H. and P.A. Gee. 1991. Reactions of Gobioid fishes to hypoxia: buoyancy control and aquatic surface respiration. *Copeia*. **1**:17-28.

- Gonzalez R. J. and D.G. McDonald. 1994. The relationship between oxygen uptake and ion loss in fish from diverse habitats. *J.Exp.Biol.* **190**:95-108.
- Gordon M.S., I. Boëtius, D.H. Evans, R. McCarthy, and L.C. Oglesby. 1969. Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes. *J.Exp.Biol.* **50**:141-149.
- Gordon M.S., W.W. Ng, and A.Y. Yip. 1978. Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes. III. The chinese mudskipper *Periophthalmus cantonensis*. *J.Exp.Biol.* **72**:57-75.
- Graham J. B., C.B. Jones, and I. Rubinoff. 1985. Behavioral, physiological, and ecological aspects of the amphibious life of the pearl blenny *Entomacrodus nigricans* Gill. *J.Exp.Mar.Biol.and Ecol.* **89**:255-268.
- Haswell M.S. and Randall D.J. 1977. The pattern of Carbon Dioxide Excretion in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J.Exp.Biol.* **72**:17-24.
- Heisler N. 1989. Interactions between gas exchange, metabolism, and ion transport in animals: an overview. *Can.J.Zool.* **67**:2923-2935.
- Holmes W.N. and E.M. Donaldson. 1969. Fish Physiology. Hoar Eds. Fish Physiology. 1.1-89.
- Horn M.H. and K.C. Riegler. 1978. Evaporative water loss and intertidal vertical distribution of stichaeoid fishes from California. *J.Exp.Mar.Biol.and Ecol.* **50**:273-288.
- Horn M.H., K.L.M. Martin, and M.A. Chotkowski. 1990. Introduction. Horn M.H., K.L.M.Martin, and M.A.Chotkowski Eds. Intertidal Fishes: Life in two worlds Academic press. 1.1-5.
- Jensen F.B., M. Nikkinmaa, and Roy E. Weber. 1993. Environmental perturbations of oxygen transport in teleost fishes: causes, consequences and compensations. Rankin J.C. and F.B.Jensen Eds. Fish Ecophysiology Chapman and Hall. 6.161-179.
- Krebs C. 1999. Ecological Methodology. Addison Wesley Longman. 2nd ed.: 1-616.
- Lee C.G.L., W.P. Low, and Y.K. Ip. 1987. Na⁺, K⁺ and volume regulation in the mudskipper, *Periophthalmus chrysospilos*. *Comp.Biochem.and Physiol.* **87**. A.439-448.
- Liu W., L. Hulbert, T. Havens, M. Newcomb, B. Gellersted, J. Wallis, S. Peterson, and B. Richmond. 1997. Stella Research. 5.0.
- Martin K.L.M. and J.R.B. Lighton. 1989. Aerial CO₂ and O₂ exchange during terrestrial activity in an amphibious fish, *Alticus kirki* (Blenniidae). *Copeia*. **3**:723-727.
- Marusic E.T., F. Balbontin, S.M. Galli-Gallardo, M. Garretton, P.K.T. Pang, and R.W. Griffith. 1981. Osmotic adaptations of the chilean clingfish, *Scyases sanguineus*, during emersion. *Comp.Biochem.and Physiol.* **68**. A.123-126.
- McMahon B.R. 1988. Physiological responses to oxygen depletion in intertidal animals. *Am.Zool.* **28**:39-53.
- Nieder J. 2001. Amphibious behaviour and feeding ecology of the four-eyed blenny (*Dialommus fuscus*, Labrisomidae) in the intertidal zone of the island of Santa Cruz (Galapagos, Ecuador). *J.Fish Biol.* **58**:755-767.
- Nikinmaa M. and B.L. Tufts. 1989. Regulation of acid and ion transfer across the membrane of nucleatae erythrocytes. *Can.J.Zool.* **67**:3039-3045.

- Pequeux A. 1995. Osmotic Regulation in crustaceans. *J.Crust.Biol.* **15**. 1.1-60.
- Piiper J. 1989. Factors affecting gas transfer in respiratory organs of vertebrates. *Can.J.Zool.* **67**:2956-2960.
- Randall D.J. and P.A. Wright. 1989. The interaction between carbon dioxide and ammonia excretion and water pH in fish. *Can.J.Zool.* **67**:2936-2942.
- Satchell G.H. 1991. Physiology and form of fish circulation. Cambridge University press 235.
- Secretaría de Marina . 2000. Tablas de mareas. 2000. Océano Pacífico. Secretaria de Marina. **415**.
- Shuttleworth T. J. 1989. Overview of epithelial ion-transport mechanisms. *Can.J.Zool.* **67**:3032-3038.
- StatSoft. 1998. STATISTICA
- Takei Y. 1993. Role of peptide hormones in fish osmoregulation. Rankin J.C. and F.B. Jensen Eds. Fish Ecophysiology Chapman and Hall. 5.137-160.
- Truchot J. P. 1988. Problems of acid-base balance in rapidly changing intertidal environments. *Am.Zool.* **28**:55-64.
- Wilkie D.R. 1968. Músculo. Davson H. and M.G.Eggleton Eds. Fisiología Humana Aguilar. 2a Ed.. XXXIV.842-847.
- Wright W.G. and J.A. Raymond. 1978. Air-breathing in a California sculpin. *J.Exp.Zool.* **203**:171-176.
- Zagha A.K.Y and M.V. Val-Sella. 1985. Análise estrutural da hipófise e alterações na adenohipófise em função da salinidade, em *Bathygobius soporator*. *Boletim du Fisiologia Animal.* **85**. 111.118-
- Zar J. H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall. 4ª ed.:663.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XIV Apéndice

Apéndice 1. Fórmulas para el programa de simulación de respiración en cámaras respirométricas, desarrollado a partir del programa Stella.

$$O_{2_{aire}} = O_{2_{aire}}(t - \Delta t) + (-D_{O_{2_{agua}}} - C_{O_{2_{aire}}}) \cdot dt$$

$$D_{O_{2_{agua}}} = T_{O_{2_{agua}}} \cdot V_{aire}$$

$$C_{O_{2_{aire}}} = 0.0115923 \cdot 0.997$$

$$O_{2_{agua}} = O_{2_{agua}}(t - \Delta t) + (input + D_{O_{2_{agua}}} - output - C_{O_{2_{agua}}}) \cdot dt$$

$$input = flujo \cdot [O_{2_{atmosfera}}]$$

$$output = [O_{2_{respiracion}}] \cdot flujo$$

$$C_{O_{2_{agua}}} = 0.0115923 \cdot 0.00318$$

$$R_{O_{2_{O_2}}} = R_{O_{2_{O_2}}}(t - \Delta t) + (C_{O_{2_{aire}}} + C_{O_{2_{agua}}}) \cdot dt$$

$$T^{\circ}K = T_{amb}^{\circ}C + 273.15$$

$$CD_{O_{2_{agua}}} = cte \cdot \left(\frac{T^{\circ}K \{ (\Phi_{agua} \cdot M_{agua})^{0.5} \}}{(Visc_{agua} \cdot VM_{agua})^{0.6}} \right)$$

$$T_{O_{2_{agua}}} = \frac{\{ A_{camara} \cdot CD_{O_{2_{agua}}} \cdot (O_{2_{aire}} - O_{2_{agua}}) \}}{G}$$

Donde

A_{camara} = Area de la camara = 174.37 cm²

G = Grosor de la pelicula de agua = 0.5 cm

$O_{2_{sat}}$ = Oxígeno a saturación = 0.0078 mg • mL⁻¹

M_{agua} = Peso molecular del agua = 18 g • mol⁻¹

VM_{agua} = Volumen molar del agua = 25.6 cm³ • (g • mol)⁻¹

$Visc_{agua}$ = Viscosidad del agua a 29.4 °C = 0.81 centipoises

Φ_{agua} = Constante adimensional del agua como solvente = 2.26

t_0 = Tiempo inicial

t_f = Tiempo final

Δt = Paso de calculo = 1 minuto

$O_{2_{agua}}$ = Oxígeno total en agua

$O_{2_{aire}}$ = Oxígeno total en aire

$C_{O_{2_{aire}}}$ = Concentración de oxígeno en aire = mg • L⁻¹

$C_{O_{2_{agua}}}$ = Concentración de oxígeno en agua = mg • L⁻¹

$D_{O_{2_{agua}}}$ = Difusión del oxígeno al agua = mg • seg⁻¹

$flujo$ = cantidad de agua a través de la camara = 0.156 L • seg⁻¹

$T_{O_{2_{agua}}}$ = Tasa de paso del oxígeno del aire al agua = mg • seg⁻¹

V_{aire} = Volumen aire en camara = 0.778 L

$input$ = Cantidad de oxígeno que entra al sistema = mg • seg⁻¹

$output$ = Cantidad de oxígeno que sale del sistema = mg • seg⁻¹

$[O_{2_{aire}}]$ = Concentración de oxígeno inicial mg • mL⁻¹

$[O_{2_{agua}}]$ = Concentración de oxígeno final mg • mL⁻¹

R_{O_2} = Cantidad de oxígeno que respiran los peces = mg • min⁻¹

$T^{\circ}K$ = Temperatura ambiental en grados Kelvin

$T_{amb}^{\circ}C$ = Temperatura ambiental en grados Celsius

cte = Constante de integracion = 7.4⁴

$CD_{O_{2_{agua}}}$ = Coeficiente de difusión de aire al agua = mg • seg⁻¹

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Apéndice 2. Tablas de resultados de los organismos y del plasma sanguíneo de *Bathygobius ramosus*, mantenidos en condiciones simuladas de normoxia en marea alta (NMA); normoxia marea baja (NMB); hipoxia marea alta (HMA) e hipoxia marea baja (HMB) durante 2 horas de exposición. Se señalan los valores promedio y los intervalos de confianza.

Tabla 1. Concentración del ión sodio (mmol L⁻¹).

Condición	Promedio (mmol L ⁻¹)	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	81.70	74.52	89.52
NMB	79.16	69.89	89.60
HMA	81.35	70.38	93.92
HMB	72.90	65.75	80.78

Tabla 2. Concentración del ión potasio (mmol L⁻¹).

Condición	Promedio (mmol L ⁻¹)	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	6.52	4.45	9.50
NMB	5.22	3.59	7.53
HMA	5.46	2.12	13.46
HMB	2.63 *	1.74	3.93

Tabla 3. Concentración del ión cloro (mmol L⁻¹).

Condición	Promedio (mmol L ⁻¹)	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	69.93	57.84	78.90
NMB	71.39	65.21	76.66
HMA	75.49	61.46	85.69
HMB	71.27	66.79	75.25

Tabla 4. Concentración de proteína total (µg mL⁻¹).

Condición	Promedio (µg mL ⁻¹)	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	2.09	2.04	2.13
NMB	2.02	1.93	2.10
HMA	2.09	1.93	2.23
HMB	1.77*	1.64	1.87

Tabla 5. Proporción de agua corporal de *Bathygobius ramosus*.

Condición	Promedio	-95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	0.7947	0.7909	0.7984
NMB	0.7809	0.7620	0.7992
HMA	0.7666	0.7615	0.7717
HMB	0.7767	0.7709	0.7824

Tabla 6. Proporción de agua en el músculo de *Bathygobius ramosus*.

Condición	Promedio	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	0.7845	0.7764	0.7924
NMB	0.7636*	0.7501	0.7768
HMA	0.7754	0.7612	0.7893
HMB	0.7744	0.7601	0.7883

Tabla 7. Proporción de pérdida de agua corporal de *Bathygobius ramosus*

Condición	Promedio	- 95% I.C.	+ 95% I.C.
NMA	0.0560	0.0390	0.0758
NMB	0.2292*	0.1670	0.2980
HMA	0.0707	0.0303	0.1263
HMB	0.0897	0.0622	0.1217

*: Denota diferencias significativas entre los tratamientos y el tratamiento control (NMA).

Apéndice 3. Cálculos realizados para obtener los valores promedio respiratorios de los organismos de *B. ramosus*.

Nota: estos cálculos se realizaron en segundos por conveniencia, ya que durante la simulación computacional utilizando el modelo generado, el paso de cálculo para el tiempo fue expresado en segundos.

Para convertir los valores de $\frac{\text{mL O}_2}{\text{g org} \cdot \text{hora}}$ obtenidos de tablas

a valores en unidades de $\frac{\text{mg O}_2}{\text{g org} \cdot \text{seg}}$ se utilizo la siguiente ecuacion

$$O_2 \left(\frac{\text{mg O}_2}{\text{g org} \cdot \text{seg}} \right) = \frac{\left[\left(\frac{P(\text{atm}) \cdot V(L) \cdot N(\text{g})}{R \cdot T(^{\circ}\text{K})} \right) \cdot 1000 \right]}{3600}$$

Donde:

R=Constante de los gases, 0.082054

N=Peso atomico del oxigeno 31.8 g

P=Presion atmosferica, 1 atm

V=Volumen de aire en camaras, L

T=Temperatura absoluta del sistema, °K

$O_2 \left(\frac{\text{mg O}_2}{\text{g org} \cdot \text{seg}} \right)$ = Tasa respiratoria de *Bathygobius ramosus*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA