

UNIVERSIDAD
NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL OXÍGENO DISUELTO Y LA TEMPERATURA EN EL METABOLISMO
RESPIRATORIO DE JUVENILES TEMPRANOS DE *OCTOPUS MAYA*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

GUADALUPE BÁRCENAS PAZOS

Asesor

Dr. Carlos Rosas Vázquez

México D.F 2015



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.



Agradecimientos

Quiero agradecer a esta institución, la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me brindaron todo lo necesario para tener una educación de primer nivel.

A CONACYT-CB-150810 y PAPIIT-UNAM-212012 por el financiamiento para la realización de este estudio.

A mi asesor el Doctor Carlos Rosas Vázquez por brindarme esta gran oportunidad de trabajar en su área y proyectos, los inmensos conocimientos, el apoyo, la paciencia para contestar y explicar mis dudas, por ampliar mi visión de la veterinaria hacia esta rama tan bonita de la acuicultura y por último la experiencia de conocer Sisal y la Unidad Académica.

A Ariadna Sánchez, Estefany López, Claudia Caamal por ayudarme en la parte experimental de la tesis, a Doña Silvia y a Don Antonio por ayudarme y la comida riquísima, y a todo el equipo de pulpo por las pláticas, las risas y los buenos ratos.

Agradezco a los miembros del sínodo, MVZ. Maricela Ortega, Biol. María E. Loeza, MVZ. A. Tatiana Lugo, MVZ. Dianina López, MVZ. Fernando Y. García, por los aportes y correcciones para esta tesis.

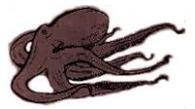
A los médicos que conforman la parte del departamento de organismos acuáticos de la FMVZ, donde realicé mi servicio social y donde tuve un primer acercamiento real a la acuicultura.

Gracias a mi familia, mis tías Cristina, Guadalupe y Mona, primas Mónica y Teresa, pero sobre todo a mi madre Ángeles por todo lo que me han brindado hasta hoy, y que por fin ven los resultados de todo el amor, dedicación y esfuerzo.

A dos excelentes médicos veterinarios, la Dra. Yareli y a al Dr. Eduardo que hace 9 años que los conocí me inclinaron a formarme en esta profesión.

Miriam, Viridiana, Daniel, Fernando y Sol, que con la amistad que me brindaron hicieron de mi estancia durante la realización de esta tesis, una experiencia única.

A Fer, Jessica, Josa, Cristina, Hugo, Manuel, Santiago, Beto, Jonathan, grandes amigos y compañeros de aprendizaje a lo largo de la carrera, a Diana y Gabi que juntas nos enfrentamos a la gran ciudad y el enorme cariño que nos tenemos desde hace muchos años. A Laila y mis buenos amigos de Xalapa por la amistad y el tiempo juntos.



Dedicatoria

A mi mamá, a mi familia
y
a los pulpos con los que se llevó a cabo este trabajo.



Contenido

Resumen	1
I. introducción	2
1.1 Situación acuícola	2
1.2 Generalidades de cefalópodos	3
1.3 <i>Octopus Maya</i>	3,4
1.4 Oxígeno disuelto: Función, sus efectos y mecanismos de transporte	4-6
1.4.1 Punto crítico de oxígeno disuelto	6,7
1.5 La temperatura y su relación con el metabolismo	7,8
1.5.1 Acción Dinámica Específica	9
1.7 Justificación	9,10
II. Hipótesis	10
III. Objetivos: General y específicos	10,11
IV. Material y Métodos	11
4.1 Origen	11
4.2 Aclimatación y mantenimiento	12,13
4.3 Crecimiento	13
4.4 Experimento 1: control manual del oxígeno disuelto: efecto de la temperatura y oxígeno disuelto	14
4.4.1 Dispositivo Experimental	14,15
4.4.2 Consumo de Oxígeno	15
4.4.2.1 Normoxia	15,16
4.4.2.2 Hipoxia	16
4.5 Experimento 2: control automático del oxígeno disuelto: efecto del oxígeno disuelto	17,18
4.6 Cálculo de la acción dinámica específica	18
4.7 Análisis estadístico	18
V. Resultados	19
5.1 Experimento 1: control manual del oxígeno disuelto: efecto de la temperatura y oxígeno disuelto	19
5.1.1 Crecimiento	19
5.1.2 Variaciones de oxígeno disuelto (Figs. 8 y 9)	20,21,22
5.1.3 Respuesta metabólica a condiciones de ayuno por 24 horas	23
5.1.3.1 Normoxia	23
5.1.3.1 Hipoxia	23-24
5.1.4 Respuesta metabólica a la alimentación (Figs. 12,13,14)	24-28
5.2 Experimento 2: control automático del oxígeno disuelto: efecto del oxígeno disuelto (F. 15A, 15B)	29,30
VI. Discusión	31
6.1 Aportaciones metodológicas	31
6.2 Experimento 1	31-34
6.3 Experimento 2	34,35
VII. Conclusiones	35,36
VIII. Bibliografía	37-40



Bárcenas Pazos Guadalupe. Efecto del oxígeno disuelto y la temperatura en el metabolismo respiratorio en juveniles de *Octopus maya* (bajo la dirección de: Dr. Carlos Rosas Vázquez)

En el presente estudio se evaluaron los efectos que tiene una disminución en la disponibilidad de oxígeno disuelto y dos temperaturas (24 y 26 °C) en el metabolismo respiratorio de los juveniles de *Octopus maya*. Para esto, se formaron dos grupos experimentales cada uno de los cuales fue expuesto a una reducción manual y semi-automática del oxígeno disuelto, utilizando nitrógeno gaseoso. El nitrógeno se inyectó una columna de intercambio de gases que permitió controlar los niveles de oxígeno del agua de mar en 6 mg/L, 3- 4 mg/L, 2-3 mg/L y 1-2 mg/L, para las dos temperaturas experimentales: 24 °C y 26 °C.

El metabolismo respiratorio se evaluó midiendo el consumo de oxígeno. El análisis de varianza efectuado mostró que las reacciones de los animales expuestos a las diferentes condiciones experimentales fueron significativamente afectadas tanto por la temperatura como por el oxígeno disuelto. Se observó que los animales mantenidos en 26 °C tuvieron mecanismos de compensación a las bajas de oxígeno más eficientes que los expuestos a 24 °C. Así mismo, se observó que el oxígeno disuelto controla la alimentación de los pulpos; los animales expuestos a 26°C tuvieron una mayor demanda de oxígeno al ser alimentados que los expuestos a 24 °C. La concentración de oxígeno crítica, calculada a partir del momento en que el consumo de oxígeno se hace dependiente de la concentración de oxígeno, fue de 2.3 mg/L, sugiriendo que por debajo de este valor el metabolismo de los pulpos se reduce, comprometiendo el abasto de energía para la movilidad y las funciones básicas de los pulpos. Así, los resultados obtenidos ahora sugieren que para el cultivo de *O. maya* deben de mantenerse niveles de oxígeno por arriba de 2.3 mgO₂/L y una temperatura de 26 °C.



I. Introducción

1.1 Situación acuícola

Hoy en día la creciente demanda de alimentos a nivel mundial ha hecho de la pesquería y acuicultura un importante sector productivo pues representan una fuente adicional de proteína de calidad para consumo humano. Así pues, en el caso de consumo de pulpo, al contener en peso seco de un 70% a 90% de proteína animal contribuye, junto con otros productos, a la seguridad alimentaria humana ¹, por otro lado la explotación de especies acuícolas fomenta el desarrollo regional a través de la creación de nuevas fuentes de empleo, ayuda a la generación de divisas y además reduce la presión que existe sobre los recursos naturales, particularmente en áreas costeras.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ² publicó que la producción acuícola de pescado en México, donde la organización incluye peces de aleta, crustáceos, moluscos y otros animales destinados al consumo, alcanzó una cifra de 143 747 millones de toneladas en 2012, CONAPESCA ³ en 2013 reportó avances en la pesca de pulpo en la península de Yucatán, que la colocan en el décimo lugar por volumen de producción de especies marinas del país y en quinto lugar por valor comercial; como resultado de un aumento en la demanda también se registró un crecimiento en el sector acuícola para lograr el suministro de pescado comestible cultivado.

Para mejorar el sector acuícola se han realizado numerosos estudios en el mundo, en búsqueda de las mejores condiciones para lograr el cultivo de distintas especies de organismos acuáticos con potencial comercial, entre ellas las de los moluscos.

Para eso hay diversas propuestas que incluyen el diseño de las instalaciones adecuadas a la ecología de la especie y las condiciones de cultivo como los sistemas de recirculación de agua, calidad del agua, densidad de cultivo y el tipo de alimentación

⁴.



Generalidades de los cefalópodos

Los cefalópodos pertenecen al Phylum Mollusca y a la Clase Cephalopoda y son considerados como los moluscos más evolucionados. Existen cuatro grandes grupos de moluscos: con concha externa (*Nautilus*), con concha interna (*Loligo*) como los calamares y las sepias, y aquéllos que no tienen concha (*Octopus*, *Eledone*). La mayoría de estas especies son pelágicas y tienen la capacidad de una locomoción rápida, a través de un sistema de propulsión a chorro ⁵.

Los pulpos son organismos marinos altamente especializados de amplia distribución, pues habitan desde las aguas someras a las profundas; presentan dimorfismo sexual y se reproducen mediante huevos. Su alimentación es carnívora, basada principalmente en moluscos bivalvos, crustáceos, y caracoles ⁶.

Se ha reportado que los pulpos silvestres capturados y llevados a condiciones experimentales, tienen un alto nivel de adaptación al cautiverio y a las dietas artificiales, lo que facilita su mantenimiento ⁷. Estas características hacen de ciertas especies de pulpo, organismos aptos para investigaciones en condiciones controladas.

1.2 *Octopus maya*

El pulpo rojo del caribe (*Octopus maya*) habita exclusivamente en la península de Yucatán y su pesca se ha desarrollado desde hace ya más de 50 años en la zona, el volumen de pesca ha oscilado entre 16,000 y 20,000 toneladas por año en el periodo de 1998-2002. Se tiene información de que solo en el 2011 se capturaron 11,972 toneladas, generando fuentes de empleo e ingresos como se mencionó anteriormente ⁸.

La pesca de cefalópodos ha aumentado en los últimos años por diversos factores, y para disminuir el impacto ambiental que esto representa, se ha intentado el cultivo de estos organismos ⁹. Para lograr un cultivo con alto rendimiento, es necesario conocer la manera en que los factores ambientales modulan el crecimiento y la sobrevivencia de los animales en cultivo, y cómo deberían diseñarse las instalaciones



para lograr el máximo rendimiento y crecimiento de los animales en el menor tiempo posible.

Octopus maya es una de las especies de pulpo con características adecuadas para cultivo: rápido crecimiento, un ciclo de cultivo corto, tolerancia a los cambios en la calidad del agua, altas tasas de consumo de alimento, altas tasas de conversión alimenticia, capacidad de adaptación y de reproducción en cautiverio ¹⁰. Esta es una especie de huevos grandes con desarrollo embrionario directo (sin etapa de paralarva), de los que eclosionan juveniles con conducta bentónica, característica que aumenta la tasa de sobrevivencia durante el cultivo ^{11, 12, 13, 14}.

A pesar de los avances que se tienen en el conocimiento sobre esta especie, la administración del alimento aún representa una problemática, pues aunque se sabe que una dieta balanceada elaborada a base de pasta de calamar y jaiba cubre los requerimientos nutricionales de *O. maya*, obteniendo crecimiento de los organismos ¹⁵, la preparación y forma de presentación del alimento es compleja, pues requiere tiempo y trabajo extra. Cuando se mejore este proceso, se estará más cerca de lograr un cultivo rentable de esta especie con gran potencial para la acuicultura.

1.3 Oxígeno Disuelto: función , sus efectos en el consumo de Oxígeno y mecanismo de transporte.

El oxígeno es indispensable en la mayoría de los organismos para llevar a cabo la respiración, que es el intercambio gaseoso que se lleva a cabo en tejidos especializados según la especie. El oxígeno consumido por los organismos es llevado a la célula en donde participa en los procesos que transforman los nutrientes en la energía. El resultado de este proceso permite a los organismos realizar sus funciones básicas como la circulación sanguínea, la digestión, la locomoción, la reproducción y el crecimiento.



La hemocianina es una proteína transportadora de oxígeno que circula extracelularmente en la hemolinfa de los cefalópodos ¹⁶, cada molécula de proteína tiene sitios activos compuestos por dos átomos de Cobre, con la capacidad de unirse de manera reversible al oxígeno ¹⁷. Ha sido señalado que en pigmentos acarreadores de oxígeno tales como la hemocianina, por cada 100 ml de hemolinfa hay una concentración de 25 ml de oxígeno; a la unión de la hemocianina con el oxígeno se le denomina oxihemocianina y se caracteriza por un cambio de color, de incolora a azul ¹⁸. La capacidad de unión de la hemocianina al oxígeno es muy sensible al cambio de pH en la hemolinfa (efecto de Bohr), por tanto, cuando existe una disminución del pH también hay una mayor liberación de Oxígeno a los tejidos oxifílicos, el proceso inverso ocurre para la liberación de bióxido de carbono ¹⁹.

En cefalópodos se ha visto que tanto la frecuencia ventilatoria como el transporte de oxígeno en la hemolinfa, a través de la hemocianina, se ven afectados al incrementar la temperatura. Esto se debe a la disminución en la afinidad entre el oxígeno y la hemocianina; este efecto provoca limitaciones de oxígeno en los tejidos a temperaturas extremas, contribuyendo a que cada especie según su naturaleza tenga un rango de termo tolerancia ^{20,21}.

En algunos cefalópodos como los pulpos, se ha reportado que son capaces de regular el consumo de oxígeno dependiendo de la concentración de oxígeno en el ambiente ²². A los animales con esta capacidad se les llama oxígeno reguladores ²³, es decir que cuando disminuye la concentración de oxígeno disuelto (OD) ambiental, estos organismos despliegan mecanismos de compensación como aumento en la frecuencia ventilatoria, aumento en la frecuencia cardiaca, aumento en la afinidad de hemocianina al oxígeno y mayor superficie de intercambio de oxígeno en las branquias, los cuales dependerán de la intensidad, duración y condiciones de la hipoxia ²⁴.

En el caso de *O. vulgaris*, se ha reportado que estos animales son capaces de reducir el consumo de oxígeno al mínimo en condiciones de severa hipoxia. Esta



capacidad de regular el consumo de oxígeno o no, a través de mecanismos de compensación, dependerá de cada especie y de la naturaleza de su hábitat ¹⁹.

1.3.1 Punto crítico de oxígeno disuelto

El punto crítico (Pc) del oxígeno disuelto, varía según la especie, y se define como la concentración de OD por debajo de la cual, las funciones vitales del organismo se verán afectadas o disminuidas, por ejemplo la respiración, locomoción, alimentación, reproducción, etc ²³. Por esto, mantener los niveles de oxígeno disuelto estables es de suma importancia, pues contribuye a las condiciones adecuadas para el desarrollo de los animales.

Se ha visto que en la mayoría de los octópodos el consumo de oxígeno está relacionado a varios factores: los internos como la locomoción y la alimentación, y los externos, como la concentración de oxígeno en el ambiente, a la cual son altamente sensibles. Estos animales, como otros invertebrados, son capaces de soportar periodos de hipoxia gracias a mecanismos fisiológicos como la regulación del metabolismo y la afinidad de hemocianina al oxígeno, los cuales permiten que los organismos tengan suficiente oxígeno para realizar las funciones básicas que los mantienen con vida ²⁵.

El efecto que el ambiente tiene sobre los organismos acuáticos se puede medir a través de datos obtenidos sobre su metabolismo, reflejando el costo energético que estos factores ambientales tienen para los animales. El consumo de oxígeno tiene un alto grado de asociación con la actividad metabólica y con la cantidad de energía que el organismo utiliza para mantener la homeostasis.

En un estudio realizado en el calamar gigante *Dosidicus gigas* ²⁶ se reportó una reducción del 82 % de la tasa metabólica en animales expuestos a 1 % de oxígeno disuelto y a una temperatura de 10°C, poniendo en evidencia que por debajo del Pc los organismos experimentan disminuciones dramáticas en la tasa respiratoria y por ende de la energía metabólica. También en crustáceos ²⁷ se observó que por debajo del Pc, la tasa respiratoria por la vía aerobia se vio limitada, provocando que los



organismos pusieran en marcha otras rutas como la anaerobia, para el abasto temporal de energía. Incrementos en la producción de ácido láctico y la actividad de la lactato deshidrogenasa han sido utilizados como evidencia de esas otras rutas metabólicas.

1.4 La temperatura y su relación con el metabolismo

Para el cultivo de especies ectotermas, un parámetro muy importante es la temperatura, pues esta actúa directamente sobre su metabolismo ²⁸, ejemplo de esto es el efecto positivo o negativo que esta tendría sobre la fase exponencial de crecimiento en juveniles tempranos, ²⁹ elemento clave para la productividad acuícola.

La respiración implica una demanda de oxígeno, elemento que actúa como último aceptor de electrones para la producción de ATP, compuesto que contribuye a la energía requerida en múltiples procesos biológicos ³⁰. Para lograr el crecimiento en un organismo es necesario consumir mayor cantidad de energía (mayores cantidades de alimento) de la requerida por el metabolismo basal, que se puede definir como el conjunto de funciones biológicas que únicamente mantienen vivo a un organismo ³¹. Por lo tanto procesos como el crecimiento somático y gonadal se ven comprometidos por cambios en el metabolismo, como la acción dinámica específica (ADE, que es el aumento en el metabolismo asociado a la alimentación) por el alto costo energético que esto representa ³².

En el cálculo del gasto energético de un cefalópodo se considera la energía de digestión, la energía utilizada en la respiración, la energía utilizada en la reproducción y crecimiento de tejidos, la energía no absorbida (eliminada en heces), y la energía que se pierde como nitrógeno y otros desechos excretados en la orina. A través de una ecuación que divide la energía ingerida en unidades medibles, es posible saber la eficiencia de digestión y la eficiencia en el crecimiento.

Según la capacidad para controlar o no la temperatura corporal, existen dos tipos de organismos, los homeotermos y los poiquilotermos (que están dentro del grupo de los ectotermos). Los organismos homeotermos, como la mayoría de los mamíferos y



aves, son aquellos que tienen la capacidad de controlar la temperatura corporal a través de procesos bioquímicos que transforman la energía en calor. Los poiquilotermos, son organismos cuyo metabolismo es dependiente de la temperatura externa, la cual modula muchos de los procesos bioquímicos y metabólicos involucrados en la obtención de energía ³³.

En los organismos poiquilotermos, el metabolismo es proceso de generación de energía dentro de las células y es directamente afectado por la temperatura. Este efecto puede cuantificarse a partir del cociente respiratorio denominado Q_{10} , que cuantifica la dependencia de un proceso biológico en un rango limitado de temperatura. Por tanto la tasa metabólica de un organismo es afectada por la temperatura a través de los efectos que esta tiene sobre las reacciones bioquímicas en las células de un organismo (factor de Boltzmann) ²⁸.

Como ya se mencionó, el metabolismo de los organismos ectotermos está fuertemente ligado a la temperatura ambiental ³⁴. Esta dependencia es aún más marcada en los organismos acuáticos ³². Se sabe que estos organismos termo dependientes, tienen una ventana de termo tolerancia y que esta tolerancia está ligada a la capacidad aeróbica de la especie. Existe un punto crítico de temperatura que se define como los límites por abajo o por encima del rango de termo tolerancia, a partir del cual por la falta de oxígeno, se activa el metabolismo anaeróbico, con menor capacidad de proporcionar energía a nivel celular ³³. Al irse recuperando los niveles de oxígeno, los compuestos generados por el metabolismo anaeróbico son eliminados y la aerobiosis se restablece ³¹.

1.5.1 Acción Dinámica específica

La alimentación representa un costo energético para los organismos, que se puede medir a través del consumo de oxígeno. El aumento instantáneo en el consumo de oxígeno después de la alimentación y la posterior recuperación en los niveles de consumo de oxígeno se le llama Acción dinámica específica (ADE) o metabolismo post



prandial (MPP), y representa la energía requerida por un organismo para llevar a cabo reacciones conductuales, fisiológicas, y bioquímicas que conforman la alimentación ³⁵.

1.5 Justificación

En algunos cefalópodos y crustáceos ya se ha estudiado la estrecha relación entre la concentración de OD en el ambiente y el consumo de este elemento, ^{23, 36} así como los efectos que combinados el OD y la temperatura causan en el metabolismo, en estos estudios se han identificado algunos de los mecanismos de compensación que los organismos despliegan como respuesta a estas variaciones.

En ensayos con *Palaemonetes pugio* y *Triops longicaudatus* se observó un mecanismo similar para compensar bajas concentraciones de oxígeno ambiental, en ambas especies de crustáceos hubo un cambio en la expresión genética para incrementar la producción de ATP en la cadena respiratoria mitocondrial y para la síntesis de hemocianina ^{37, 38}. En el cangrejo *Cancer magister* ³⁹ se vio que en ambientes con hipoxia media y severa, hubo respuestas a corto plazo, como la de canalizar el flujo de hemolinfa que normalmente va al hepatopáncreas, a otros tejidos para incrementar el intercambio gaseoso, esta misma estrategia permitió a los animales en estado post prandial disminuir la demanda de oxígeno que implica el proceso de la digestión; estos mismos organismos al ser sometidos a una severa hipoxia, disminuyeron de manera drástica la frecuencia con la que ingerían el alimento.

Existe poca información sobre los efectos que tienen las variaciones de los factores ambientales sobre los cefalópodos. En este trabajo se estudiara el efecto de la combinación de dos temperaturas y la disminución del oxígeno disuelto en dos experimentos en *O. maya*. Se espera que los resultados de este trabajo sean una aportación para empezar a conocer que otros mecanismos utilizan los animales para sobrellevar periodos de hipoxia, así como establecer las condiciones óptimas de cultivo de esta especie con gran potencial acuícola, y con esto poder obtener la mayor productividad posible, que es uno de los principales objetivos de la acuicultura.



II. Hipótesis

Se sabe que en animales ectotermos, los factores externos afectan el metabolismo, por lo tanto se espera que en juveniles tempranos de *Octopus maya* en condiciones controladas, al aumentar la temperatura y disminuir el oxígeno disuelto, se genere un cambio en el metabolismo, ya sea un incremento por el aumento de la temperatura, o una disminución debido a las restricciones del oxígeno disuelto, la magnitud de estos efectos deberán aumentar cuando los animales se alimentan, a causa de una mayor demanda de energía y por ende de oxígeno.

III. Objetivos

Partiendo de la necesidad de establecer los niveles de oxígeno disuelto más apropiados para el cultivo de *Octopus maya* el presente estudio fue diseñado para cumplir con los siguientes objetivos:

Objetivo general

Conocer los efectos combinados de la temperatura y del oxígeno disuelto en el metabolismo respiratorio, metabolismo energético basal y el post alimentario de juveniles de *Octopus maya* obtenidos y mantenidos en condiciones de cultivo. Con estos elementos se podrán establecer tanto las condiciones propicias de cultivo como el punto crítico de oxígeno disuelto.

Objetivos específicos.

1. Conocer los efectos combinados de la temperatura y el oxígeno disuelto en el consumo de oxígeno basal y post prandial de juveniles tempranos de *O. maya*



2. Establecer el punto crítico de oxígeno disuelto en el agua, a partir del cual, el consumo de oxígeno de los pulpos se hace dependiente de la concentración de este elemento en el agua.

IV. Material y métodos

4.1 Origen

Los juveniles utilizados en el presente estudio fueron obtenidos de los desoves de hembras silvestres de *O. maya* (Fig. 1) Las hembras fueron aclimatadas por 30 días en el área de maduración en la UMDI (Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación), de la UNAM en Sisal, Yucatán en donde se les colocó en tanques negros de 120L con agua de mar. Los animales fueron alimentados con una pasta elaborada con una mezcla de calamar con jaiba y se les proporcionó una caja de fibra de vidrio como refugio. Los huevos fueron incubados sin las hembras en un sistema con recirculación de agua de mar, filtrada y esterilizada con luz ultravioleta. Los desoves fueron mantenidos en el área de incubación con temperatura (24°C) y aeración controladas por 45 días, hasta la eclosión. Posteriormente los juveniles se colocaron en tanques de 2000 L en el área de pre engorda de la misma unidad.



Figura 1. Hembra en el nido ofrecido para el desove (izquierda). Desove obtenido de una hembra silvestre *O. maya* (derecha).



4.2 Aclimatación y Mantenimiento

Se utilizaron 64 pulpos con un peso promedio de 0.90 g, que fueron colocados individualmente en contenedores de plástico (Fig. 2), acondicionados con una concha de caracol *Melangena corona bispinosa*, provista como refugio.

Los contenedores se distribuyeron dentro de 8 tinas más grandes que recibían el flujo de agua de un sistema de recirculación y aireación constante (Fig. 3).



Figura 2. Contenedor de plástico individual



Figura 3. Tinas con contenedores de plástico.

Para mantener la calidad del agua del sistema, éste se conectó a un abasto permanente de agua de mar, que se mantenía con un flujo constante de agua filtrada con antracita y grava, espumadores para controlar las proteínas solubles y bolsas con apertura de malla de 5 μm . Este sistema de filtración permitió mantener los parámetros de la calidad del agua (amonio, nitrito, nitratos, pH) estables durante todo el experimento. Estos parámetros fueron medidos una vez por semana. Así mismo, cada dos a tres días se retiraban las conchas y los restos de alimentos y excretas. La temperatura, oxígeno disuelto y salinidad se midieron diariamente. Los pulpos fueron alimentados dos veces al día durante todo el periodo experimental con 1 gr de una



pasta hecha a base de jaiba, calamar, suplementos vitamínicos y grenetina. La fue proporcionada en una concha de bivalvo como base, para llevar el alimento al fondo (Fig. 4).



Figura 4. Alimento para juveniles de *O. maya* en conchas de moluscos bivalvos de la localidad de Sisal

4.3 Crecimiento

Una vez aclimatados los organismos al sistema de individualización se procedió a la evaluación del crecimiento, el cual se utilizó como un indicador de bienestar de los animales en las condiciones experimentales. Para determinar el crecimiento de los juveniles de *O. maya*, se realizaron tres biometrías en las cuales se registró el peso de cada individuo. Se utilizó una balanza granataria (ADAM) con sensibilidad de 0.005g. La primera medición fue realizada antes de la aclimatación, lo que permitió tener pulpos de tallas uniformes que se colocaron en el sistema experimental. La segunda se llevó a cabo después de la evaluación del consumo de oxígeno y la tercera al final del experimento. Para calcular la tasa de crecimiento por día se utilizó la siguiente formula:



$$\text{CDC, \%día}^{-1} = \{[\text{Ln}(P_2) - \text{Ln}(P_1)]/t, \text{ días}\} \times 100$$

12

Donde P_2 es el peso final de un intervalo de tiempo t , P_1 es el peso inicial antes de ese intervalo de tiempo, y t es el tiempo (días). Tomando en cuenta que el crecimiento de los pulpos es exponencial ¹², la diferencia entre los pesos fue calculada como logaritmo natural (Ln) ya que de esta manera el peso, en una relación exponencial, se lineariza.

4.4 Experimento 1. Control manual del oxígeno disuelto: Efecto de la temperatura y el OD

4.4.1 Dispositivo experimental

Se utilizaron 9 cámaras respirométricas conectadas a un sistema de abasto de agua de mar que permite la determinación de la tasa respiratoria de los pulpos en un sistema de flujo continuo. Este sistema se conectó a una columna de intercambio de gases ⁴⁰ en la que el agua que alimenta la columna proviene de un reservorio con circulación y aireación constantes (Fig. 5). El oxígeno disuelto en la columna se controló utilizando nitrógeno gaseoso, que es un gas inerte que desplaza al oxígeno. Para esto, se dispuso de un flujómetro que fue conectado al tanque de nitrógeno y a partir del cual se reguló en forma manual la cantidad de nitrógeno necesario para proporcionar un nivel de oxígeno determinado. Las presiones de nitrógeno utilizadas fueron de 5, 10 y 15 kPa a diferentes tiempos para lograr disminuir el oxígeno dentro de la columna y llegar a concentraciones de entrada a las cámaras de 3, 2 y 1 mg/L de OD.



Figura 5. Cámara respirométrica utilizada para la evaluación del consumo de oxígeno de *O. maya* (izquierda). Columna de intercambio de gases acoplada a tanque de nitrógeno (derecha).

4.4.2 Consumo de oxígeno

Se midió el consumo de oxígeno de 64 pulpos provenientes del ensayo de crecimiento. Estos ensayos se realizaron con 4 niveles de oxígeno (normoxia 6 mg/L e hipoxia: 3, 2, 1 mg/L OD) y dos temperaturas (24 y 26 °C). Las mediciones se llevaron a cabo considerando si los pulpos serían expuestos a concentraciones normales de OD (es decir cercanas al OD en saturación) o serían sometidos a un nivel de hipoxia.

4.4.2.1 Normoxia

Los animales seleccionados al azar, que tuvieron 12 h de ayuno fueron acondicionados a las cámaras respirométricas por un lapso de 60 minutos, tiempo que se consideró suficiente para reducir el estrés del traslado y la manipulación ⁴¹ (Briceño-Jacques et al. 2010a). Una vez transcurrido este tiempo, se realizaron tres mediciones del consumo de oxígeno con intervalos de alrededor de 20 minutos. Posteriormente, los animales fueron alimentados en las cámaras con 1g de alimento/animal, registrándose el consumo de oxígeno otras tres veces, con intervalos de 20 minutos. Al final de las



mediciones los pulpos fueron retirados de las cámaras y pesados como se describió anteriormente.

4.4.2.2 Hipoxia

Las mediciones del consumo de oxígeno se llevaron a cabo en forma similar a las de normoxia con la diferencia de que en estos experimentos el consumo de oxígeno de los pulpos fue medido tres veces en normoxia; en hipoxia (tres mediciones en ayuno) y finalmente en hipoxia y con presencia de alimento tres mediciones con 1g de alimento/animal. Al igual que en la normoxia, el peso de los pulpos fue registrado al final de cada medición. Posteriormente los pulpos fueron regresados a su contenedor.

El consumo de oxígeno se determinó a partir de la diferencia entre la concentración de oxígeno a la entrada y a la salida de cada cámara respirométrica y de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$VO_2 = \{([O_2]_e - [O_2]_s) \times F\} / \text{Peso, g}$$

Donde VO_2 es el consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$), $[O_2]_e$ y $[O_2]_s$ son las concentraciones de OD en mg L^{-1} a la entrada(e) y salida(s) de la cámara, respectivamente y F es el flujo de agua que pasa a través de cada cámara y es expresado en L h^{-1} . El flujo de salida de las cámaras respirométricas se midió con una probeta de 10 ml y un cronómetro, mientras que las variaciones de la concentración de OD se determinaron utilizando un oxímetro marca YSI modelo 55 conectado a un sensor polarográfico (Fig. 6)



Figura 6. Equipo para la medición del oxígeno disuelto en las muestras de agua de mar procedentes de las cámaras respirométricas.

Para las mediciones de consumo de OD se requirió de contenedores, un calentador, un oxímetro calibrado, un agitador electromagnético y magnetos.

4.5 Experimento 2. Control automático del OD: Efecto del oxígeno disuelto.

Para la realización de este experimento se utilizó un sistema de control de oxígeno el cual consta de un registrador que controla una válvula solenoide que abre o cierra el abasto de nitrógeno a la columna dependiendo de la concentración de oxígeno deseada. El registrador fue conectado a un sensor de oxígeno galvanométrico el cual al final era el responsable de mantener los niveles de oxígeno en el dispositivo experimental. Así mismo y con el fin de lograr una mayor precisión en los niveles de OD, el agua de mar que salía de la columna fue almacenada en un tanque de 80 L desde el cual se bombeó a las cámaras respirométricas, proporcionando así un flujo constante a partir de un volumen de agua almacenada a la concentración de OD deseada. Este experimento se llevó a cabo con un grupo de 40 pulpos procedentes de un sistema de cultivo semi-piloto. Los pulpos utilizados tenían un peso promedio de 2.90 ± 1.3 g. Para hacer este experimento se utilizaron grupos de 8 animales provenientes de un estanque y colocados en las cámaras respirométricas en donde



permanecieron en ayuno por 12 horas. Posteriormente, se realizó una serie de mediciones siguiendo el mismo protocolo que en el experimento 1, aunque en esta ocasión las mediciones se llevaron a cabo únicamente a 26°C.

4.6 Cálculo de la acción dinámica específica (ADE).

Para poder obtener la acción dinámica específica en el presente estudio, se ofreció 1 g de alimento en pasta a los organismos que habían permanecido en ayuno por 12 h. Treinta minutos después de haberlos alimentado se realizaron 3 mediciones simultáneas del consumo de oxígeno, con el fin de detectar los efectos post prandiales en la tasa respiratoria de los pulpos. La ADE se calculó como la diferencia entre el pico de consumo de oxígeno registrado después de la alimentación y el consumo de oxígeno obtenido en ayuno. Así mismo se registró el tiempo para alcanzar el pico de consumo de oxígeno.

4.7 Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de ANOVA para establecer si los diferentes niveles de oxígeno disuelto, tanto en animales mantenidos en ayuno como alimentados, afectaron significativamente el consumo de oxígeno de los pulpos. Se consideró un nivel de $P < 0.05$ como límite para establecer el efecto significativo de las condiciones experimentales. Para la determinación de la presión crítica de oxígeno se utilizó un análisis de regresión por segmentos, la cual permitió visualizar de una forma precisa el punto en el que las rectas obtenidas de la relación entre el consumo de oxígeno y la concentración de oxígeno se cruzan. La concentración de oxígeno en ese punto fue definida como presión de oxígeno crítico la cual define la concentración de OD a partir de la cual el consumo de oxígeno se hace dependiente de éste.



V. Resultados

5.1 Experimento 1. Control manual del oxígeno disuelto: Efecto de la temperatura y el OD

5.1.1 Crecimiento

Los juveniles tempranos de *O. maya* fueron mantenidos por 60 días individualmente y alimentados a saciedad. Durante este tiempo los organismos aumentaron de peso desde 1.85 a 3.93 g con una tasa promedio de crecimiento de 1.27 % día⁻¹ (Fig. 7).

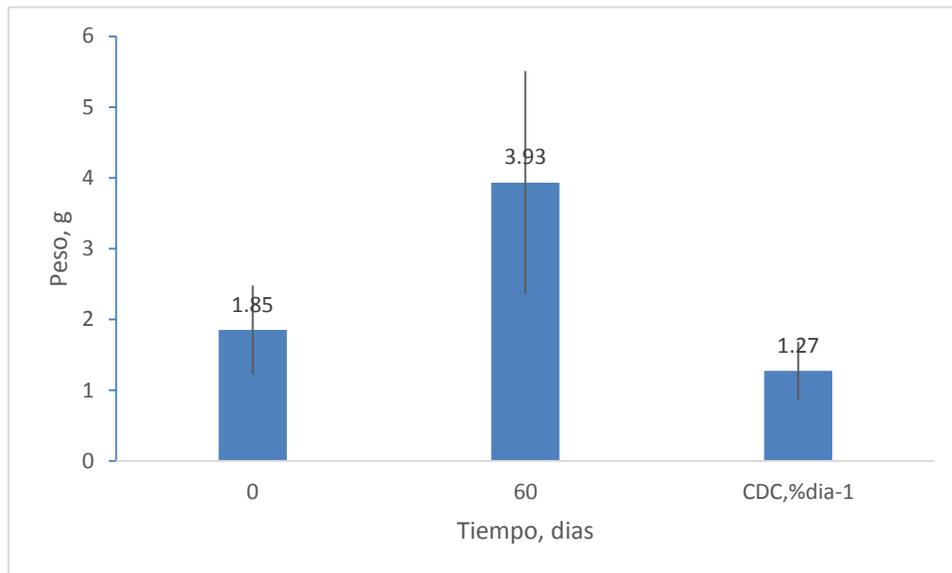


Figura 7. Crecimiento de juveniles tempranos de *O. maya* utilizados en el presente estudio. Valores dados como promedio + DS.



5.1.2 Variaciones en las concentraciones de oxígeno disuelto

Durante las mediciones de consumo de oxígeno en los animales expuestos a 24 y 26°C, los niveles de OD fueron controlados mediante el uso de nitrógeno gaseoso. Esto se llevó a cabo utilizando una columna de intercambio de gases la cual permitió mantener concentraciones de OD dentro de los intervalos 1-2, 2-3, 3-4 y 6-7 mg/L, los cuales fueron identificados como concentraciones nominales de 1, 2, 3, y 6 mg O₂/L (Figs. 8 y 9). Es importante hacer notar que estas variaciones se debieron a la velocidad con que se disuelve el nitrógeno en el agua de mar y a la relación que este guardaba con la distancia entre la columna de intercambio y cada una de las cámaras respirométricas.

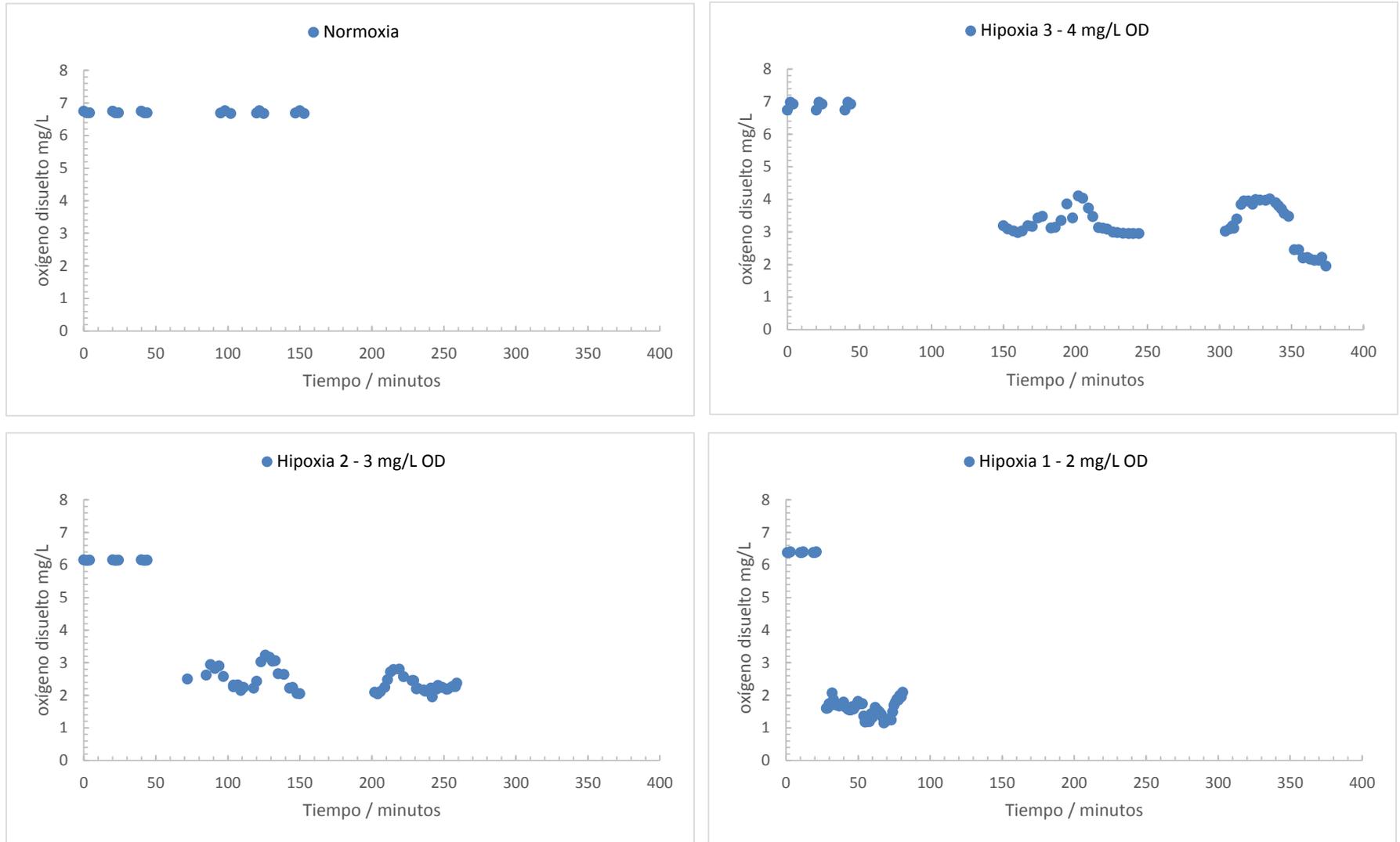


Fig. 8. Niveles de oxígeno en el agua de mar que ingreso a las cámaras respirométricas en las que se determinó el efecto del oxígeno disuelto en juveniles de *O. maya* mantenidos a 24°C

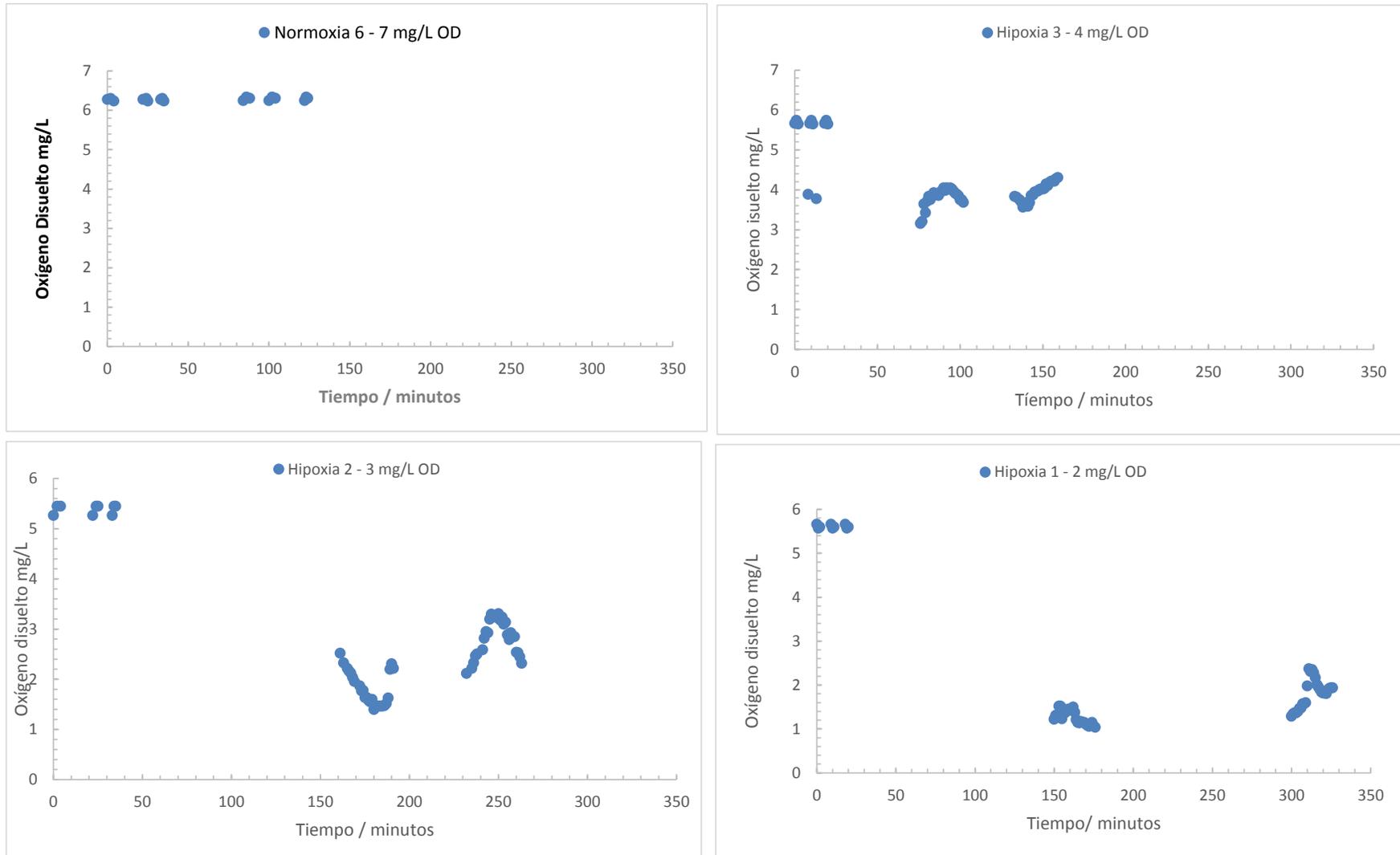


Figura 9. Niveles de oxígeno en el agua de mar que ingresó a las cámaras respirométricas en las que se determinó el efecto del oxígeno disuelto en juveniles de *O. maya* mantenidos a 26°C.



5.1.3 Respuesta metabólica a las condiciones de ayuno de 24h

5.1.3.1 Normoxia.

En la normoxia ($OD > 6 \text{ mg/L}$) la temperatura experimental afectó el consumo de oxígeno de los pulpos, y generó valores menores en organismos mantenidos a 24°C que los obtenidos en los ensayos a 26°C (Fig. 10; $P < 0.05$).

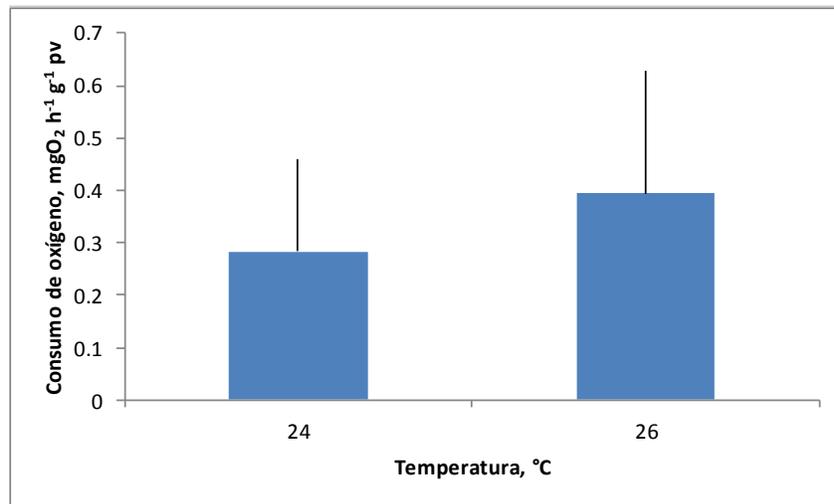


Figura 10. Efecto de la temperatura en el consumo de oxígeno de juveniles tempranos de *O. maya*. Datos obtenidos en animales con ayuno de 24h y en normoxia ($> 6 \text{ mg/L OD}$)

5.1.3.2 Hipoxia

En condiciones de hipoxia los pulpos mostraron comportamientos diferentes dependiendo de la temperatura experimental. Los animales expuestos a 24°C mostraron un consumo de oxígeno mayor en niveles de OD de 3 y 1 mg/L y menor en los expuestos a normoxia ($> 6.0 \text{ mg/L}$) y 2 mg/L (Fig. 11). En contraste los pulpos expuestos a 26°C no mostraron diferencias significativas en sus consumos de oxígeno en relación con los niveles de OD experimentales.

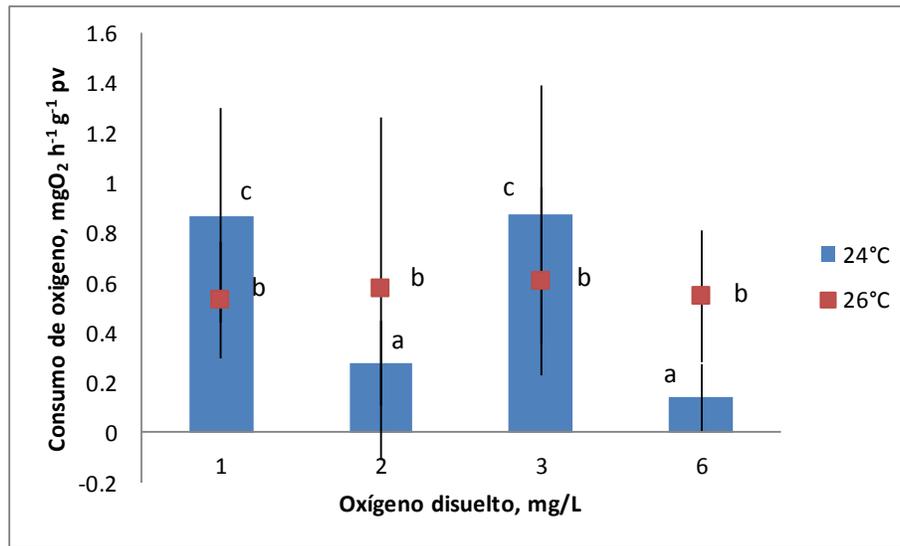


Figura 11. Efecto de la temperatura y del oxígeno disuelto en el consumo de oxígeno de juveniles tempranos de *O. maya* mantenidos en hipoxia y en ayuno por 24 h. Valores como promedio + DS. Letras diferentes indican diferencias significativas a un nivel de $P < 0.05$; a y c para 24 °C y b para 26 °C.

5.1.4 Respuesta metabólica a la alimentación

En todos los casos el consumo de oxígeno de los animales alimentados aumentó después de haber sido alimentados. El efecto post prandial del alimento fue evidente en los animales expuestos a normoxia, 3 y 2 mg/L OD en ambas temperaturas (Figs. 12 y 13).

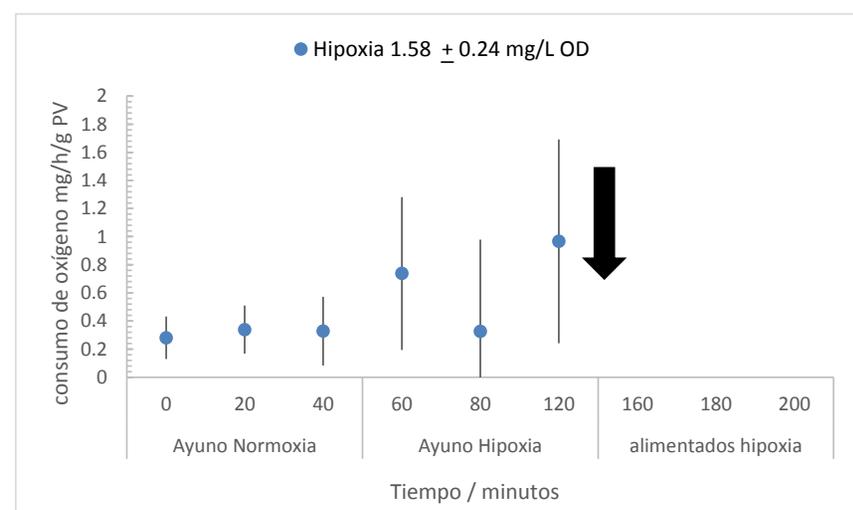
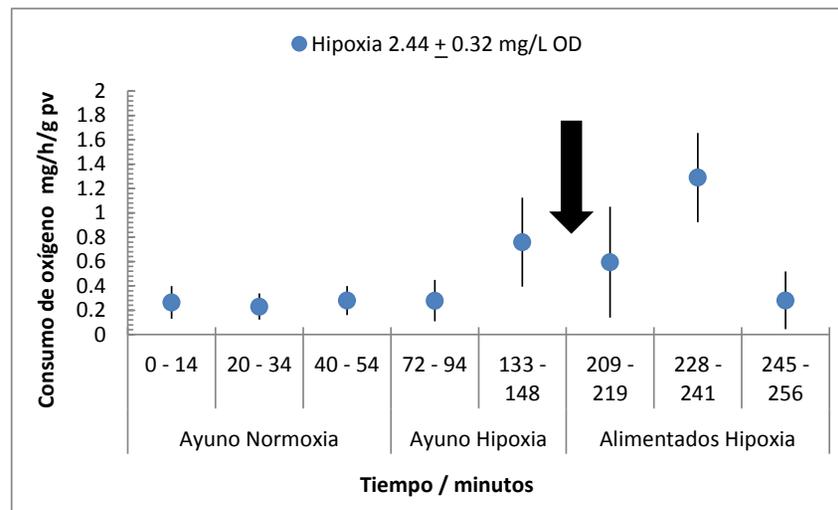
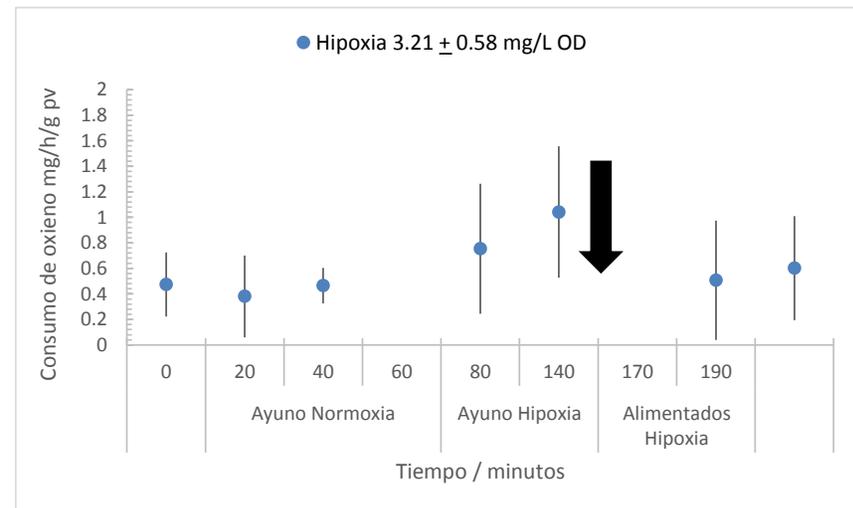
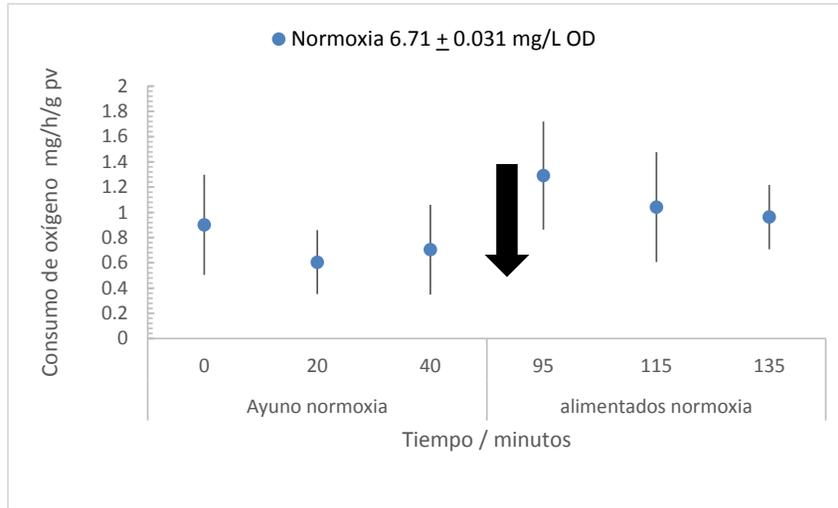


Figura 12. Efecto del OD en el consumo de oxígeno de los juveniles de *O. maya* mantenidos a 24°C en ayuno y durante la alimentación. Valores dados como promedio \pm DS, La flecha indica el momento en que se alimentó a los animales.

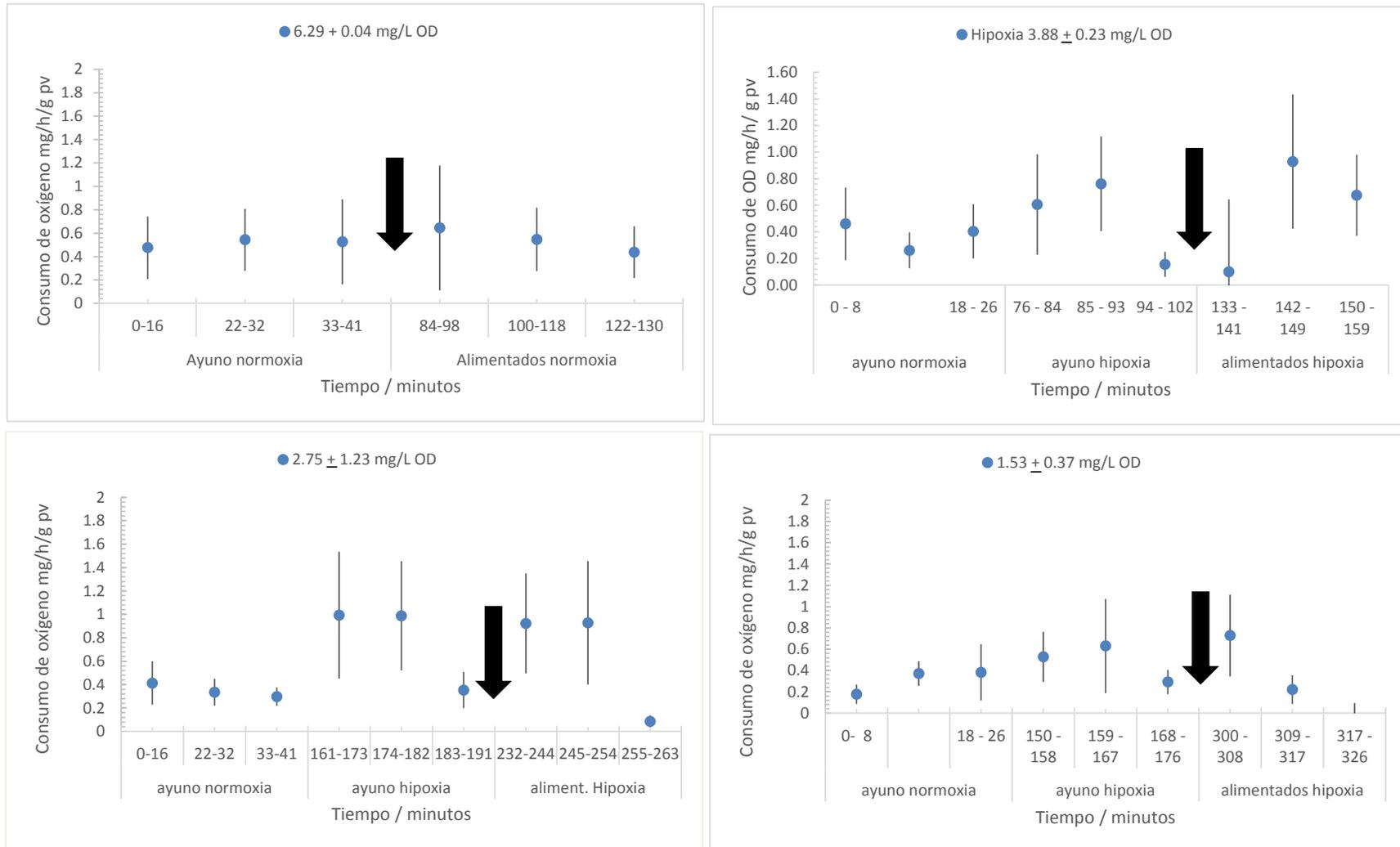
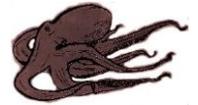


Figura 13. Efecto de OD en el consumo de oxígeno de los juveniles de *O. maya* mantenidos a 26°C en ayuno y durante la alimentación. Valores dados como promedio \pm DS. La flecha indica el momento en que los animales fueron alimentados.



Un resumen de los datos obtenidos se muestra en la tabla 1, ahí se puede observar que la energía invertida en la ADE en los animales expuestos a 24°C resultó ser prácticamente independiente de los niveles de OD (Fig. 14A). En tanto, en los animales expuestos a 26°C la R_{ADE} (respiración por ADE) aumentó 22% en los animales expuestos a 3 mg/L OD y se redujo en 14% en los expuestos a 2 mg/L (Fig. 13A). En esta temperatura los pulpos expuestos a 1 mg/L tampoco consumieron alimento. Así mismo se observó que el tiempo para alcanzar el consumo de oxígeno máximo después de alimentar aumentó con la reducción de OD en ambos grupos de pulpos con los mayores tiempos registrados (90 min) en los animales expuestos a 24°C (Fig. 14B)

TABLA 1. Consumo de oxígeno de ayuno, post prandial, acción dinámica específica (ADE) y energía invertida en la respiración post prandial (R_{ADE}) de *O. maya* expuestos a diferentes niveles de OD y temperaturas.

Oxígeno disuelto mg/L	mg O ₂ h ⁻¹ g ⁻¹ pv			joules h ⁻¹ g ⁻¹ pv R_{ADE}
	Ayuno	Máximo post prandial	ADE	
24°C				
6	0.35	1.29	0.94	13.44
3	0.87	---	---	---
2	0.28	1.29	1.01	14.44
1	0.74	---	---	---
26°C				
6	0.2	0.64	0.44	6.29
3	0.38	0.92	0.54	7.72
2	0.55	0.93	0.38	5.43
1	0.24	---	---	---

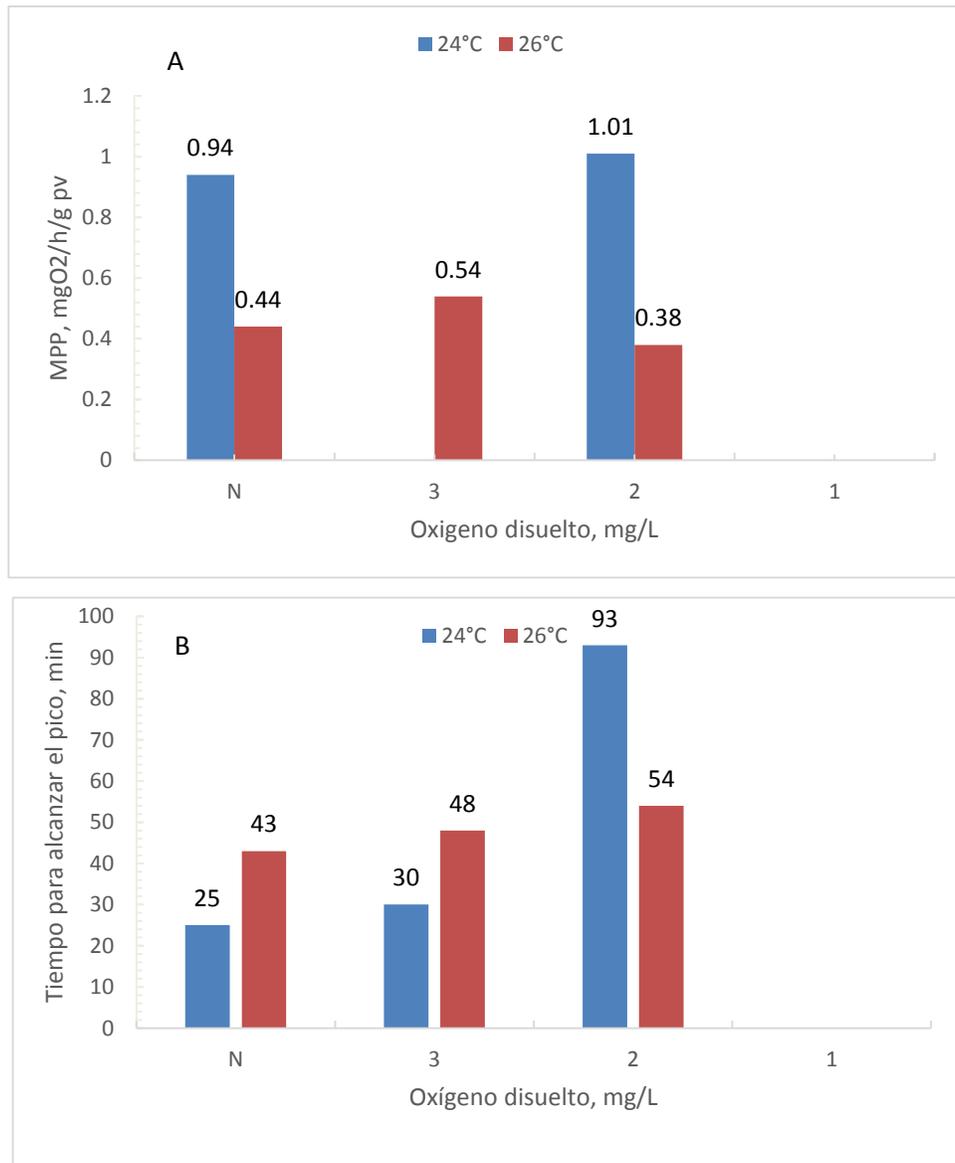


Figura 14. Efecto del oxígeno disuelto y de la temperatura en el metabolismo post prandial ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ pv}$; MPP) y el tiempo para alcanzar el pico máximo de consumo de oxígeno (min) en los juveniles tempranos de *O. maya*



5.2 Experimento 2. Control automático del OD: Efecto del oxígeno disuelto.

El oxígeno disuelto (OD) afectó significativamente la tasa metabólica de los pulpos en cultivo. Los animales sometidos a diferentes niveles de OD y en ayuno tuvieron mayor consumo de oxígeno en normoxia, (OD > 6 mg/L) (Fig. 15A). Al disminuir el OD, se observó también una reducción en el consumo de oxígeno, con valores que oscilaron entre 0.2 y 0.5 mgO₂ h⁻¹ g⁻¹ (Fig. 15A).

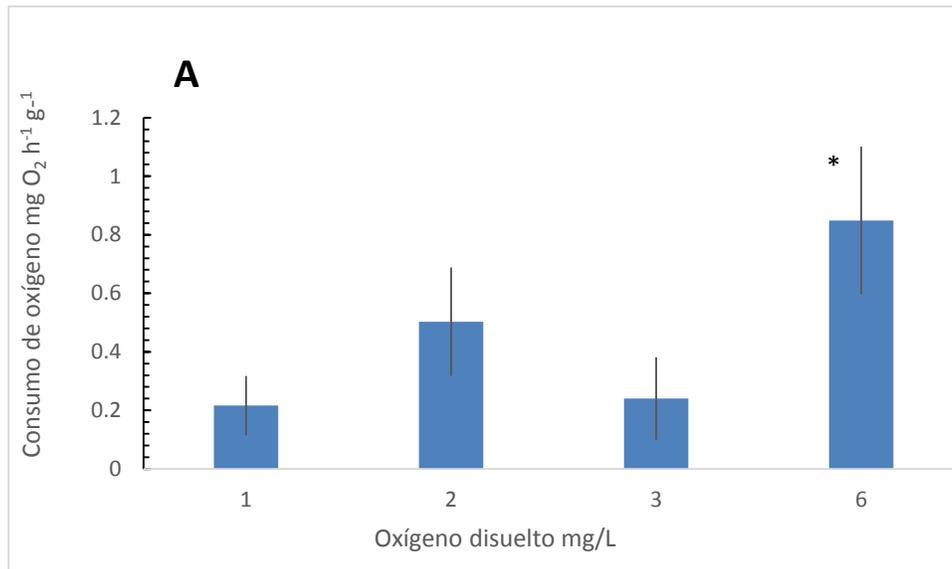


Figura 15 A. Efecto de la concentración de oxígeno disuelto en juveniles de *O. maya* mantenidos en ayuno

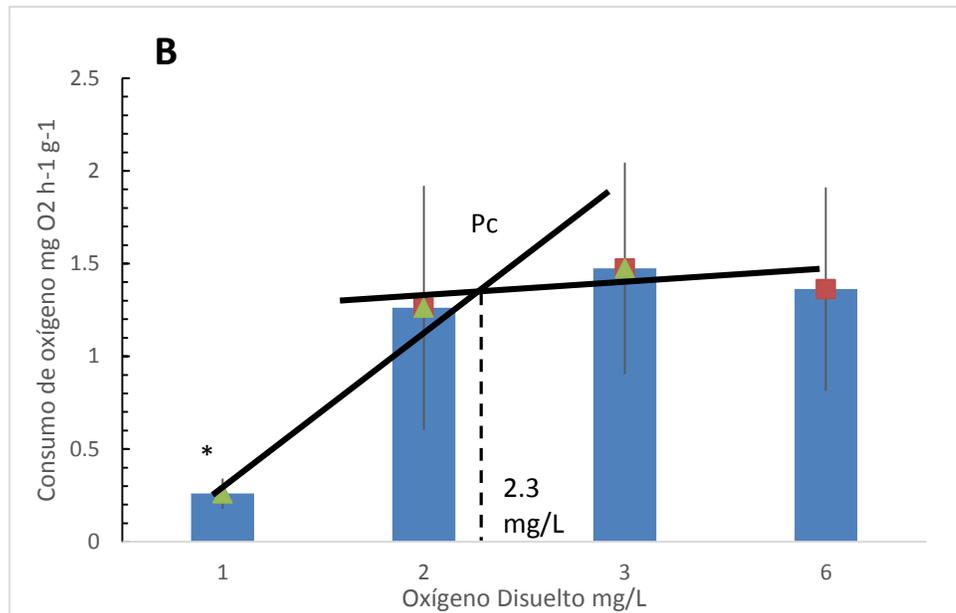


Figura 15 B. Efecto de la concentración de oxígeno disuelto en juveniles de *O. maya* alimentados. Pc = Punto crítico de oxígeno.

Una vez que los animales fueron alimentados se determinaron los efectos del OD. Los resultados de esas mediciones controlando en forma automática los niveles de OD, mostraron que durante la alimentación, los juveniles de *O. maya* son capaces de mantener su tasa metabólica casi constante dentro de un intervalo de variación del OD de 2 a 6 mg/L (Fig. 15B). Cuando los animales se expusieron a bajas concentraciones del OD (< 2 mg/L) se registró una marcada disminución del consumo de oxígeno y ausencia de ingestión de alimento por parte de los pulpos ($P < 0.05$). Con esos datos se calculó el Pc para la alimentación de los juveniles de *O. maya*. Esta concentración resultó ser de 2.3 mg/L y es el nivel de OD a partir del cual el consumo de oxígeno de los animales se hizo dependiente de la concentración de OD (Fig. 15B).



VI. Discusión

6.1 Aportaciones metodológicas

En el presente estudio se pudo constatar que es posible desarrollar estudios donde se aplique un control manual de la inyección de nitrógeno a una columna de intercambio de gases con el fin de regular los niveles de OD en un sistema experimental. Los resultados obtenidos también indican que, cuando se cuenta con sistemas de control semi-automático, el control es más preciso, hecho que sin duda coadyuva al mantenimiento de la estabilidad del ambiente experimental.

En la actualidad se cuenta con sistemas de control de mediano costo, y su uso es recomendable para el control del OD y de otras variables en sistemas experimentales, como los utilizados ahora. No obstante, en caso que esto no sea posible, el presente estudio ha demostrado que es factible realizar experimentos de esta naturaleza aplicando un control manual al abasto de nitrógeno para la regulación del OD utilizando una columna de intercambio de gases, donde se lleva a cabo el intercambio gaseoso de nitrógeno y oxígeno en el agua de mar utilizada.

6.2 Experimento 1.

De los 64 pulpos juveniles de *O. maya* mantenidos durante 60 días, se calculó una tasa crecimiento de 1.27 % diario. En otros experimentos con esta especie se obtuvieron tasas de crecimiento cercanas al resultado de este estudio, tanto con diferentes tipos de alimentos: 1.9 a 3.4 % día¹⁵, como a diferentes temperaturas: 1.8 a 4.1 % día⁴². No solo en *O. maya* se han obtenido valores similares, en juveniles tempranos de *O. pallidus*²⁹ se reportaron tasas de crecimiento de 1.293 % día; estos resultados del porcentaje de crecimiento indican



que las condiciones en las que se mantuvo a los pulpos fueron favorables para su desarrollo.

En este estudio se utilizó el consumo de oxígeno como un indicador que permite conocer los efectos de la temperatura y la concentración de oxígeno en el metabolismo respiratorio en condiciones pre y post prandiales. Era de esperar que el consumo de oxígeno disuelto se incrementara en el periodo post prandial y que la magnitud de este aumento, por un lado dependería de la temperatura, que actúa como factor gobernador del metabolismo y por otro lado del oxígeno disuelto, necesario para las reacciones que se llevan a cabo durante el procesamiento del alimento.

De acuerdo con Cerezo ²³, el oxígeno disuelto es un factor limitante del metabolismo, pues por debajo del punto crítico, éste limita la cantidad de energía disponible para realizar el trabajo metabólico. En el presente estudio se observó que en condiciones hipóxicas el metabolismo post prandial se alteró, tanto aumentado el tiempo para alcanzar el pico, como en la magnitud de éste, sugiriendo que los procesos involucrados en las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido se vieron limitadas. Este efecto fue más severo cuando los animales se mantuvieron a 24 que a 26 °C, sugiriendo que a esta última temperatura (26 °C) los organismos despliegan mejor los mecanismos de compensación ante la falta de oxígeno disuelto. Esto coincide con los resultados de Noyola ⁴³ en juveniles tempranos de *O. maya*, donde la acción dinámica específica no fue afectada en un intervalo de 18 a 26 °C, cuando los animales fueron mantenidos en normoxia, lo que indicó que en ese intervalo de temperatura, los mecanismos de compensación del metabolismo respiratorio funcionaron de mejor manera. En un estudio con *O. vulgaris* ³⁵ se encontró que en normoxia los pre adultos de esa especie también cuentan con mecanismos de compensación metabólica en la etapa post prandial para intervalos de temperatura de entre 20 y 28°C.

Se ha propuesto que la temperatura confort para los animales en condiciones de normoxia es de 24.3 °C ⁴³, sin embargo, hay que considerar que



los animales acuáticos están adaptados para tolerar las variaciones ambientales en un contexto multifactorial ⁴⁴. Estos efectos se pueden reproducir de manera experimental a través de la combinación de parámetros. En este sentido, los resultados obtenidos en este trabajo demostraron que al presentarse una variación simultánea de temperatura y oxígeno disuelto, los mecanismos de compensación de los pulpos operaron de forma diferente a como lo hacen en normoxia, indicando la existencia de valores diferentes, al que hasta la fecha, se ha reportado como la temperatura óptima para estos organismos.

Este ensayo mostró que en periodos de hipoxia la temperatura óptima esta alrededor de los 26°C, pues aun con variaciones en el oxígeno disuelto y tal vez de otros factores ambientales, a esta temperatura los pulpos son capaces de compensar las alteraciones provocadas por la hipoxia. A la fecha no se han realizado estudios que permitan establecer todos los mecanismos que se desplegarían en condiciones experimentales similares a las de este estudio, no obstante, como se mencionó en el inciso 4.1, ya existen evidencias obtenidas en otros estudios, que sugieren la presencia de varios mecanismos de compensación ante la hipoxia.

En otros invertebrados también se han estudiado los efectos del OD y la temperatura. En *Cancer magister* ³⁸, se observó que durante periodos de severa hipoxia hubo una disminución en la frecuencia de ingesta, similar a lo que ocurrido en *O. maya* al ser expuestos experimentalmente a 1 mg/L OD. Tal comportamiento indica que en estas condiciones, el crecimiento de los juveniles se ve comprometido, pues en esta fase la alimentación es un elemento clave. Estudios previos llevados a cabo en *O. maya* mostraron que los juveniles tempranos tienen la capacidad de tolerar sin daños fisiológicos permanentes hasta 10 días de ayuno, tiempo durante el cual los pulpos se mantienen movilizandando sus reservas proteicas ⁴⁵.

En *Litopaneaus stylostris* se observó un cambio en el comportamiento al haber un decremento en la concentración de oxígeno, reflejado en una marcada disminución en la actividad locomotora de los organismos, medida que reduce el

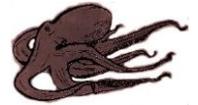


gasto de oxígeno y energético que esta implica ⁴⁶. Los resultados de este estudio coinciden con las respuestas que desplegó *O. maya* en otras condiciones experimentales similares, las cuales no son privativas de estas especies, pues también se han visto en otros organismos marinos.

Rosas ⁴⁰ en *Penaeus setiferus* estudió los efectos del oxígeno disuelto sobre el metabolismo post prandial, y notó que el tiempo en alcanzar el máximo consumo de oxígeno, se incrementó conforme el oxígeno disuelto disminuía, efecto que también se observó en los resultados durante los periodos de hipoxia en las condiciones experimentales de este estudio en juveniles de *O. maya*.

6.3 Experimento 2

El mejor control de los niveles de oxígeno disuelto en el dispositivo experimental permitió determinar el punto crítico (Pc) para juveniles tempranos de *O. maya* mediante de un análisis de regresión por segmentos. Se calculó un valor de 2.3 mg O₂/L como Pc, que es el nivel de oxígeno a partir del cual el consumo de este elemento se hace dependiente de la concentración de oxígeno en el medio. Este valor coincide con el encontrado en el estudio de Cerezo – Valverde ²³ en pre adultos de *O. vulgaris*, donde reportan un valor de 2.3 mg O₂/L como el nivel crítico de oxígeno para esa especie, estos resultados sugieren que ese nivel de oxígeno disuelto podría proponerse como un valor general para los octópodos. El hecho de que los juveniles de *O. maya* no quisieran ingerir alimento por debajo del punto crítico (Exp. 1) es evidencia de que las concentraciones bajas de oxígeno disuelto imponen restricciones metabólicas a los organismos; como también observaron Rosa y Seibel en el calamar *Dosidicus gigas* ²⁶, que en condiciones hipóxicas tampoco se alimentó. Como se mencionó anteriormente, durante la ingestión del alimento los pulpos requieren de un suministro adicional de energía denominado acción dinámica específica (ADE; Exp. 1). El hecho de que por debajo del punto crítico los animales dejaran de alimentarse sugiere una adaptación, pues en estas condiciones, no es posible que se lleven a cabo las



reacciones bioquímicas necesarias para la digestión, ya que estas requieren de energía metabólica, derivada predominantemente del metabolismo aerobio.

Aunque a la fecha no se ha podido establecer con precisión cuales otras estrategias utilizan los pulpos para tolerar las bajas de oxígeno, existe evidencia de que los cefalópodos incrementan la síntesis de citrato sintetasa así como de octopina, enzimas involucradas en la fosforilación oxidativa mitocondrial y en el metabolismo de lípidos, sugiriendo que, al igual que otros invertebrados, los cefalópodos cuentan con estrategias que les permiten la incursión en aguas hipóxicas en donde suelen encontrar alimento ^{26,47}. En este sentido, es posible establecer que los resultados obtenidos ahora abren un abanico de preguntas, entre las cuales se encuentran aquellas sobre los mecanismos fisiológicos que favorecen la tolerancia a bajas concentraciones del oxígeno disuelto por largos periodos. La identificación de los mecanismos de adaptación como el incremento de la citrato sintetasa y el aumento de los pigmentos respiratorios como la hemocianina, entre otros, deberán incluirse en los estudios para establecer los límites de tolerancia a las variaciones de oxígeno disuelto.

VII. Conclusiones

1. Aunque es mejor controlar el oxígeno disuelto con un intercambiador de gases con un sistema automatizado, el nivel de precisión alcanzado en un sistema de control manual, aunque menor, permite tener resultados con la precisión suficiente para entender los mecanismos de adaptación que los organismos tienen a las variaciones en el OD.

2. Las condiciones de alojamiento individual proporcionaron un ambiente adecuado en mantener a los juveniles de *O.maya* en buen estado. Así mismo la formulación y la presentación de la pasta diseñada para alimentar a *O. maya* resultó ser adecuada para el mantenimiento por tiempos prolongados.



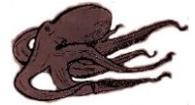
3. El resultado de la comparación de los dos ensayos a diferente temperatura y distintas concentraciones de OD, demostraron que a 26 °C los juveniles de *O. maya* despliegan mejor los mecanismos de compensación a concentraciones bajas de OD.

4. En este estudio se obtuvo un valor de 2.3 mg/L de oxígeno disuelto como punto crítico. El conocimiento de este parámetro es fundamental para la sobrevivencia y crecimiento de los juveniles tempranos en un cultivo comercial de *O. maya*.



VIII. Bibliografía

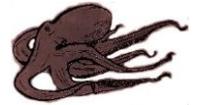
- ¹ **Domingues P, García S, Garrido D (2010)** Effects of three culture densities on growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797). *Aquacult.; Int* 18: 165-174
- ² **FAO**, http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_mexico/es 23 abril 2014
- ³ **SAGARPA**, <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/2013/agosto/Documents/2013B483.pdf>, 11 noviembre 2014
- ⁴ **Cagnetta P (2000)** Preliminary observations on the productive responses of the common octopus (*Octopus vulgaris* C.) reared free or individual net. *CIHEAM-Options Mediterraneennes*; 323-329
- ⁵ **Vaz-Pires P, Seixas P, Barbosa A (2004)** Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture*; 238: 221-238
- ⁶ **Solis M.J (1962)** Contribución al estudio del pulpo (*Octopus Vulgaris*) de la sonda de Campeche. Departamento de estudios biológicos pesqueros, trabajos de divulgación no. 24 volumen III.
- ⁷ **Walker J, Longo N, Bitterman ME (1970)** The octopus in the laboratory. Handling, maintenance, training. *Behav. Res. Meth. & Instru.*; Vol 2: 15–18.
- ⁸ **Santos (2005)** Evaluación de la población de pulpo (*Octopus Maya*) en la Península de Yucatán 2005. Instituto Nacional de la pesca, Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación
- ⁹ **Rosas C, Gallardo P, Mascaró M, Caamal-Monsreal C, Pascual C (2014)** *Octopus maya*. In: Iglesias J, et al. (eds) *Cephalopod culture*; Springer Science+Business Media, Dordrecht, pp DOI 10.1007/1978-1094-1017- 8648-1005.
- ¹⁰ **Rosas C, Pascual C, Mascaró M, Gebauer P, Farías A, Paschke K, Uriarte I. (2011)** Applied Ecophysiology: An integrative form to know how culture environment modulates the performance of aquatic species from an energetic point of view. *Aquaculture and the environment – a shared destiny*; Cap. 9: 162-194
- ¹¹ **Hanlon RT, Forsythe JW (1985)** Advances in the laboratory culture of octopuses for biomedical research. *Laboratory animal science*; 33-40
- ¹² **Briceño-Jacques F, Mascaró M, Rosas C (2010b)** GLMM-based modelling of growth in juvenile *Octopus maya* siblings: does growth depend on initial size? *ICES JMarSci*; 67: 1509-151
- ¹³ **Moguel C, Mascaró M, Avila-Poveda O, Caamal C, Sánchez A, Pascual C, Rosas C (2010)** Morphological, physiological, and behavioural changes during post-hatching development of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) with special focus on digestive system. *Aquatic Biology*; 9: 35-48



- ¹⁴ **Uriarte I, Iglesias J, Domínguez P, Rosas C, Navarro JC, Seixas P, Vidal E, Ausburger A, Pereda S, Godoy F, Pashcke K, Farías A (2011)** Current status and bottle neck of octopod acuaculture: The case of american Species. *Journal of the world Aquaculture Society*; 42: 735-752
- ¹⁶ **Martínez R, Gallardo P, Pascual C, Navarro J, Sánchez A, Caamal-Monsreal C, Rosas C (2014)** Growth, survival and physiological condition of *Octopus maya* when fed a successful formulated diet. *Aquaculture*; 426-427: 310-317
- ¹⁷ **Cuff M, Miller K.I, Van Holde K.E, Hendricks W.A (1998)** Crystal structure of a functional unit from octopus hemocyanin. *J. Mol. Biol.*; 278: 855-870
- ¹⁸ **Klotz Irving M, Klotz T. A (1955)** Oxygen carrying proteins: a comparison of the oxygenation reaction in hemocyanin and hemerythrin with that in hemoglobin.
- ¹⁹ **Seibel B, Childress J (2000)** Metabolism of benthic octopods (Cephalopoda) as a function of habitat depth and oxygen concentration. *Deep-Sea Research*; 1 47: 1247-1260
- ²⁰ **Zielinski S, Sartoris F.J, Portner H.O (2001)** Temperature effect on hemocyanin oxygen binding in an Antarctic cephalopod. *Bio. Bull*; 200: 67-76
- ²¹ **Whiteley N.M, Robertson RF, Meagor J, El Haj Aj, Taylor EW (2001)** Protein synthesis and specific dynamic action in crustaceans: effects of temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology*; Part A 128: 595-606
- ²² **Well M.J, O'Dor R.K, Mangold K, Wells J. (1983)** Oxygen consumption in movement by *Octopus*. *Mar. Behav.; Physiol.* 9: 289-303
- ²³ **Cerezo-Valverde J, Garcia-Garcia B (2005)** Suitable dissolved oxygen levels for common octopus (*Octopus vulgaris* cuvier, 1797) at different weights and temperatures: analysis of respiratory behaviour. *Aquaculture*; 244: 303-314
- ²⁴ **Issartel M. Julien (2007)** Adaptation de la faune souterraine aux basses températures: mécanismes et enjeux écologiques, diplôme de doctorat, l'Université Claude Bernard – Lyon 1
- ²⁵ **Bridges C.R (2001)** Modulation of haemocyanin oxygen affinity: properties and physiological implications in a changing world. *The Journal of Experimental Biology*; 204: 1021-1032
- ²⁶ **Rosa R, Seibel BA (2010)** Metabolic physiology of the Humboldt squid, *Dosidicus gigas*: Implications for vertical migration in a pronounced oxygen minimum zone. *Progress in Oceanography*; 86: 72-80
- ²⁷ **Paschke K, Cumillaf JP, Loyola S, Geebauer P, Urbina M, Chimal ME, Pascual C, Rosas C (2010)** Effect of dissolved oxygen level on respiratory metabolism, nutritional physiology, and immune condition of southern king



- crab *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Decapoda, Lithodidae). *MarBiol*; 157: 7-18
- ²⁸ **Gillooly J, Brown J, West G, Savage V, Charnov E (2001)** Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science*; 293: 2248-2251
 - ²⁹ **Leporati CE, Pecl G, Semmens M.J (2007)** Cephalopod hatchling growth: the effect of initial size and seasonal temperatures. *Marine Biology*; 151: 1375-1383
 - ³⁰ **Wells M, Clarke A (1996)** Energetics: The cost of living and reproducing for an individual cephalopod. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, Vol. 351, No. 1343, *The role of cephalopods in the world's ocean*: 1083-1104
 - ³¹ **Clarke A, Fraser K (2004)** Why does metabolism scale with temperature?. *Functional Ecology*; 18: 243-251
 - ³² **Clarke A, Johnston N (1999)** Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Animal Ecology*; 68: 893-905
 - ³³ **Pörtner H.O (2002)** Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology; Part A* 132: 739-761
 - ³⁴ **André J, Grist E, Semmens J, Pecl G, Segawa S (2009)** Effects of temperature on energetics and the growth pattern of benthic octopuses. *Marine Ecology Progress Series*; 374: 167-179
 - ³⁵ **Katsanevakis S, Protopapas N, Miliou H, Verriopoulos G (2005)** Effect of temperature on specific dynamic action in the common octopus, *Octopus vulgaris* (Cephalopoda). *Marine Biology*; 146: 733-738
 - ³⁶ **Goodman Larry R, Campbell Jed G (2007)** Lethal levels of hypoxia for gulf of coast estuarine animals. *Mar. Biol.*; 152: 37-42
 - ³⁸ **Guadagnoli J. A, Braun A.M, Roberts S.P, Reiber C.L (2005)** Environmental hypoxia influences hemoglobin subunit composition in the branchiopod crustacean *Triops Longicaudatus*. *The journal of Experimental Biology*; 208: 3543-3551
 - ³⁹ **Bernatis Jennifer L, Gerstenberger Shawn L, McGaw Ian J (2007)** Behavioural responses of the Dungeness crab, *Cancer magister*, during feeding and digestion of hypoxic conditions. *Mar. Biol.*; 150: 941- 951
 - ⁴⁰ **Rosas C, Martínez E, Gaxiola G, Brito R, Díaz-Iglesias E, Soto L.A (1998)** Marine Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. *Marine Ecology Progress*; 174: 67-75
 - ⁴¹ **Briceño-Jacques F, Mascaró M, Rosas C (2010a)** Energy demand during exponential growth of *Octopus maya*: exploring the effect of age and weight. *ICES JMarSci*; 67:1508-1509
 - ⁴² **Noyola J, Marcaró M, Caamal-Monsreal C, Noreña Barroso E, Díaz Fernando, Re Denisse, Sánchez A, Rosas C (2013)** Effect of temperature on energetic balance and fatty acid composition of early juveniles of



- Octopus maya*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*; 445: 156-165
- ⁴³ **Noyola J, Caamal-Monsreal C, Díaz Fernando, Re Denisse, Sánchez A, Rosas C (2013)** Thermopreference, tolerance and metabolic rate of early stages juvenile *Octopus maya* acclimated to different temperature. *Journal of Thermal Biology*; 38: 14-19
 - ⁴⁴ **Sokolva Inna M, Frederich M, Bagwe R, Lanning G, Sukhotin A.A (2012)** Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Marine Environmental Research*; 79: 1-15
 - ⁴⁵ **George – Zamora A, Viana M.T, Rodríguez S, Espinoza G, Rosas C (2011)** Aminoacid mobilization and growth of juvenile *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) under inanition and re feeding. *Aqua culture*; 314: 215-220
 - ⁴⁶ **Mugnier Chantal, Soyez Claude (2005)** Response of the blue shrimp *Litopenaeus stylostris* to temperature decrease and hypoxia relation to molt stage. *Aquaculture*; 244: 315-322
 - ⁴⁷ **Oellermann M, Pörtner HO, Mark FC (2012)** Mitochondrial dynamics underlying thermal plasticity of cuttlefish (*Sepia officinalis*) hearts. *The Journal Experimental Biology*; 215: 2992-3000