

**CONSUMO DE OXIGENO, EXCRECION DE AMONIO Y  
OSMORREGULACION DE JUVENILES DE *Callinectes similis* WILLIAMS  
(CRUSTACEA: PORTUNIDAE)  
EXPUESTOS A SALINIDADES FLUCTUANTES**

**OXYGEN CONSUMPTION, AMMONIA EXCRETION AND  
OSMOREGULATION OF *Callinectes similis* JUVENILES  
(CRUSTACEA: PORTUNIDAE)  
EXPOSED TO FLUCTUATING SALINITIES**

Fernando Díaz-Herrera<sup>1</sup>  
Estela Pérez-Cruz<sup>2</sup>  
Jorge Luna-Figueroa<sup>2</sup>  
Angel Tapia-Gamas<sup>2</sup>  
Carlos Rosas-Vázquez<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Acuicultura  
Centro de Investigación Científica y  
de Educación Superior de Ensenada (CICESE)  
Avenida Espinoza 843  
Ensenada 22800, Baja California, México

<sup>2</sup> Laboratorio Acuario, Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Autónoma de México  
04510 D.F., México

<sup>3</sup> Laboratorio de Ecofisiología, Departamento de Biología  
Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Autónoma de México  
04510 D.F., México

*Recibido en septiembre de 1991; aceptado en diciembre de 1991*

**RESUMEN**

El consumo de oxígeno de *Callinectes similis* sometido a fluctuaciones de salinidad no se modificó significativamente ( $P > 0.05$ ) y se mantuvo en un intervalo metabólico de 1.23 a 2.08 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. que correspondió al tipo de respuesta IV propuesta por Kinne (1971). La tasa de excreción de amonio aumentó significativamente a 0.028 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. ( $P < 0.05$ ) al disminuir la salinidad de 35 a 26‰; en el intervalo de salinidad de 18-12-18‰ se mantuvo constante en 0.021 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. Al incrementar la salinidad a 26‰ el valor fue de 0.029 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S., y el mínimo de 0.012 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. se obtuvo en 35‰. La relación atómica O:N calculada para *C. similis* demostró que las jaibas no fueron afectadas de manera significativa ( $P > 0.05$ ) por el estrés osmótico al que fueron sometidas, ya que en las salinidades altas catabolizaron carbohidratos y en las bajas utilizaron como los principales sustratos energéticos una mezcla de lípidos y carbohidratos. El patrón de osmorregulación de *C. similis* fue el típico de un organismo osmoconformador debido a que el medio interno en las salinidades altas se mantuvo ligeramente hiperosmótico e isosmótico en las bajas.

## ABSTRACT

The oxygen consumption of *Callinectes similis* was determined under salinity fluctuations. The metabolic rate remained unchanged ( $P > 0.05$ ) and within a metabolic range of 1.23 to 2.08 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W., exhibiting a type IV response according to Kinne (1971). Ammonia excretion rose significantly to 0.028 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. ( $P < 0.05$ ) as the salinity decreased from 35 to 24‰; in a salinity range of 18-12-18‰ it remained unchanged at 0.021 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. It increased at 26‰ to 0.029 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. and there was a minimum value of 0.012 mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. at 35‰. The O:N atomic ratio calculated for *C. similis* indicates that the crabs were not significantly affected ( $P > 0.05$ ) by osmotic stress. In high salinities catabolism is based on carbohydrates and in lower salinities on a mixture of lipids and carbohydrates. The osmoregulatory pattern exhibited by *C. similis* is of an osmoconforming organism, the hemolymph was only slightly hyperosmotic in higher and isosmotic in lower salinities.

## INTRODUCCION

El efecto de los cambios en la salinidad ambiental sobre la tasa de consumo de oxígeno ha sido estudiado en varias especies de crustáceos (Kinne, 1971). No obstante que entre los organismos se han encontrado diferencias en sus respuestas respiratorias a salinidades sub y supranormales, muchos decápodos incluyendo al género *Callinectes* incrementan la tasa de consumo de oxígeno al reducirles la salinidad (Findley *et al.*, 1978; Rosas *et al.*, 1989).

La excreción nitrogenada en los crustáceos puede incrementar o disminuir en respuesta a las variaciones de la salinidad, lo que permite postular una relación entre la magnitud de la producción de amonio y la actividad de la bomba de intercambio Na<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> debido a un aumento del metabolismo de los aminoácidos en respuesta al estrés osmótico (Armstrong *et al.*, 1981; Spaargaren *et al.*, 1982).

El ambiente lagunar estuarino en el cual habita *Callinectes similis* en la Laguna de Tamiahua, Veracruz, está sujeto a fluctuaciones rítmicas de la salinidad (Rosas, 1989). La adaptación de los crustáceos a estos cambios de salinidad puede ser el resultado de recurrir a dos tipos de mecanismos de osmorregulación: regulación anisomótica que involucra un intercambio osmótico e iónico entre la hemolinfa y el medio externo y la regulación isomótica intracelular en la cual los aminoácidos desempeñan un papel importante (Florin, 1962; Lockwood, 1962; Schoffeniels y Gilles, 1970).

Se han realizado un gran número de estudios ecofisiológicos en los crustáceos

## INTRODUCTION

The effect of changes in environmental salinity on the rate of oxygen consumption has been studied in several species of crustaceans (Kinne, 1971). Even though differences have been found in their respiratory response to subnormal and supranormal salinities, many decapods, including the genus *Callinectes*, increase the rate of oxygen consumption when their salinity is reduced (Findley *et al.*, 1978; Rosas *et al.*, 1989).

Nitrogen excretion in crustaceans can increase or decrease in response to salinity variations. A relationship can therefore be assumed between the magnitude of ammonia production and the activity of the Na<sup>+</sup>/NH<sub>4</sub><sup>+</sup> exchange pump due to an increase in the metabolism of amino acids in response to osmotic stress (Armstrong *et al.*, 1981; Spaargaren *et al.*, 1982).

The estuarine environment inhabited by *Callinectes similis* in Tamiahua Lagoon, Veracruz, is subject to rhythmic salinity fluctuations (Rosas, 1989). The crustaceans may adapt to these changes in salinity by resorting to two types of osmoregulatory mechanisms: anisomotic regulation involving an osmotic and ionic exchange between the hemolymph and the external medium, and intracellular isosmotic regulation in which the amino acids play an important role (Florin, 1962; Lockwood, 1962; Schoffeniels and Gilles, 1970).

Many ecophysiological studies have been carried out on crustaceans acclimatized to low or high salinities. Therefore, these results are representative of organisms in stable conditions (Taylor, 1977; Findley and Stickle, 1978).

aclimatados a bajas o altas salinidades por lo que estos resultados son representativos de organismos en condiciones estables (Taylor, 1977; Findley y Stickle, 1978).

El género *Callinectes* es un habitante típico de los sistemas lagunares-estuarinos y en esos ambientes están sujetos a fluctuaciones de la salinidad. El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de los cambios graduales de la salinidad sobre el consumo de oxígeno, la excreción de amonio y la osmorregulación simulando un ciclo de marea en juveniles de *Callinectes similis* de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México.

## MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron 40 juveniles de *Callinectes similis* en el estero Milpas en la zona sur de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, con el sistema de aros jaiberos. Los organismos se transportaron en cajas de poliuretano con agua del medio al laboratorio donde se colocaron en 10 acuarios de 60 l. Ahí se mantuvieron durante seis días en una salinidad de 35‰ y una temperatura de  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  que fueron las condiciones registradas durante la colecta. El fotoperíodo se mantuvo en 12 h luz durante todo el período experimental. Diariamente se alimentaron con trozos de pescado fresco. El intervalo de peso húmedo de las jaibas fue de 10.1 a 42.30 g.

Posteriormente, las jaibas en estadio de intermuda fueron seleccionadas y colocadas individualmente en dos lotes de 20 cámaras respirométricas de 3 l cada una, donde los organismos fueron expuestos a los efectos de una simulación de la marea cambiando la salinidad cada tres horas durante un ciclo de 24 horas, de acuerdo con la metodología recomendada por Vanegas *et al.* (1988). La fluctuación de la salinidad durante el período experimental fue de 35, 30, 24, 18, 12, 18, 24, 30 y 35‰.

Las mediciones del consumo de oxígeno y excreción de amonio se hicieron con organismos en inanición previa (24 h).

Para cuantificar el consumo de oxígeno y la excreción de amonio, se utilizaron 20 respirometros que permanecieron cerrados durante 30 minutos para evitar alteraciones en la tasa metabólica de las jaibas causado por el descenso de la concentración de oxígeno y la acumulación de productos de excreción.

Species of the genus *Callinectes* are typical inhabitants of lagoon-estuarine systems where they are exposed to salinity fluctuations. The objective of the present study was to evaluate the effect of gradual changes in salinity on oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation, by simulating a tidal cycle, in *Callinectes similis* juveniles from Tamiahua Lagoon, Veracruz, Mexico.

## MATERIALS AND METHODS

Forty *Callinectes similis* juveniles were collected from Estero Milpas in the southern part of Tamiahua Lagoon, Veracruz. The organisms were transported to the laboratory in polyurethane boxes with water from the environment. They were placed in ten 60-l tanks for six days at a salinity of 35‰ and temperature of  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ , which were the conditions recorded during the collection. They were fed daily with pieces of fresh fish. The photoperiod was 12 h light throughout the experiment. The wet weight of the crabs ranged from 10.01 to 42.30 g.

Crabs intermolt were selected and placed individually in two groups of 20 respiratory chambers of 3 l. The organisms were exposed to the effects of a simulation of the tide, changing the salinity every three hours during a 24-hour cycle according to the methodology recommended by Vanegas *et al.* (1988). Salinity fluctuation during the experiment was 35, 30, 24, 18, 12, 18, 24, 30 and 35‰.

Oxygen consumption and ammonia excretion measurements were made with organisms in starvation (24 h).

To quantify oxygen consumption and ammonia excretion, 20 respirometers were used that remained closed for 30 minutes to avoid alterations in the metabolic rate of the crabs caused by the decrease in the concentration of oxygen and the accumulation of excretion products. Oxygen consumption was measured with a YSI 54ARC oximeter and a polarographic sensor. These results were corrected with the data obtained from the control chambers for each experimental group of organisms. Simultaneous to the determination of oxygen consumption, the production of ammonia was quantified with the indophenol blue technique (Rodier, 1980).

Las mediciones del oxígeno consumido se hicieron con un oxímetro YSI 54ARC y un sensor polarográfico. Estos resultados se corrigieron con los datos recabados de las cámaras control para cada grupo experimental de organismos. Simultáneamente a las determinaciones del consumo de oxígeno se cuantificó la producción de amonio mediante el método de azul de indofenol (Rodier, 1980).

Antes de cambiar la salinidad del segundo lote, se tomaron al azar cinco jaibas a las cuales se les extrajo una muestra de 100  $\mu$ l de hemolinfa mediante una punción con un capilar heparinizado de la membrana arthro-dial en la base del quinto par de apéndices, previamente secada con papel absorbente para evitar contaminación con agua del medio. Las muestras de hemolinfa fueron congeladas en hielo seco para determinarles la presión osmótica mediante el método del punto de fusión de Gross (1954) con el crioscopio modificado por Díaz-Herrera (1989).

Terminados los experimentos, los organismos fueron sacrificados y secados en una estufa a 60°C hasta peso seco constante y los resultados se expresaron en  $\text{mg O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  P.S. y  $\text{mg N-NH}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  P.S.

Los datos de las mediciones del consumo de oxígeno y la excreción de amonio durante el ciclo de 24 horas, se relacionaron con el peso seco de las jaibas con el fin de obtener las rectas de regresión correspondientes que se computaron con el método de regresión resistente (Tuckey, 1977; Mosteller y Tuckey, 1977; Curts, 1986). Con las regresiones se calcularon los valores esperados del consumo de oxígeno y de la producción de amonio, que fueron suavizados con la técnica 3RSSH del programa de cómputo *Statgraphics* para absorber los casos extremos.

Los valores del consumo de oxígeno, excreción de amonio y osmorregulación de las jaibas se representaron en digramas de cajas en paralelo (Tuckey, 1977). Dentro de la caja se encuentran el 50% de los datos, la mediana y el intervalo de confianza. El otro 50% queda repartido en cada una de las cotas cuyo valor representa el 25% de los datos.

Con el fin de conocer si las diferencias observadas eran significativas ( $P < 0.05$ ), se calcularon los intervalos de confianza de la mediana utilizando la expresión:

Prior to changing the salinity of the second group, five crabs were chosen at random and a sample of 100  $\mu$ l of hemolymph was extracted by means of a puncture with a heparinized capillary of the arthro-dial membrane in the base of the fifth pair of appendages, previously dried to avoid contamination with the water of the medium. The hemolymph samples were frozen on dry ice to determine the osmotic pressure by means of the fusion point method of Gross (1954) with the cryoscope modified by Díaz-Herrera (1989).

Once the experiments had concluded, the organisms were sacrificed and dried in an oven at 60°C until constant dry weight. The results were expressed in  $\text{mg O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  D.W. and  $\text{mg N-NH}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$  D.W.

The oxygen consumption and ammonia excretion data obtained during the 24-hour cycle were related to the dry weight of the crabs in order to compute the corresponding linear regression with the resistant regression method (Tuckey, 1977; Mosteller and Tuckey, 1977; Curts, 1986). The values of oxygen consumption and ammonia production expected were calculated with the regressions, that were smoothed with the 3RSSH program of the *Statgraphics* package to manage the extreme cases.

The values of oxygen consumption, ammonia excretion and osmoregulation of the crabs were represented in diagrams of parallel boxes (Tuckey, 1977). Fifty percent of the data, the median and confidence limits are found within the box. The other 50% is distributed in each limit whose value represents 25% of the data.

In order to know whether the differences observed were significant ( $P < 0.05$ ), the confidence limits, of the median were calculated with the expression:

$$M \pm 1.58 \Delta H / \sqrt{n}$$

where 1.58 is a constant,  $\Delta H$  is the size of the box and  $\sqrt{n}$  is the number of observations in each treatment. The constant is equivalent to the  $\alpha$  value of Student's *t* tables (Velleman and Hoaglin, 1981).

$$M \pm 1.58 \Delta H / \sqrt{n}$$

donde 1.58 es una constante,  $\Delta H$  es la amplitud de la caja y  $\sqrt{n}$  es el número de observaciones en cada tratamiento. La constante es equivalente al valor  $\alpha$  de las tablas de *t* de Student (Velleman y Hoaglin, 1981).

## RESULTADOS

El consumo de oxígeno de los juveniles de *Callinectes similis* expuestos a las fluctuaciones de salinidad se muestra en la Figura 1. La tasa de consumo de oxígeno de las jaibas se mantuvo en un intervalo metabólico de 1.23 a 2.08 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. Los cambios no fueron significativos ( $P > 0.05$ ) en todo el perfil de salinidad experimentado.

Al disminuir la salinidad de 35‰ a 26‰, la tasa de excreción se incrementó de manera significativa ( $P < 0.05$ ) hasta  $0.029 \pm 0.0016$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S., disminuyendo a  $0.021 \pm 0.0024$  en el intervalo de salinidad de 18-12-18‰, para volver a aumentar en la salinidad de 26‰ a  $0.029 \pm 0.005$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S., y en 35‰ se obtuvo la tasa mínima de  $0.012 \pm 0.002$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>P.S. (Fig. 2).

Los valores de la relación atómica O:N calculada señalaron que los cambios de salinidad tuvieron un efecto directo sobre esta relación ya que a medida que disminuyó la salinidad, la relación atómica O:N también descendió a un valor de 38 en el intervalo de 12-18‰; al incrementarse la salinidad la relación se incrementó hasta un valor máximo de 65 en 35‰ (Fig. 3).

La Figura 4 representa los cambios en la concentración de la hemolinfa de *C. similis* durante las fluctuaciones de la salinidad. La osmolaridad de la hemolinfa siguió el mismo patrón de cambio que la salinidad ambiental, se mantuvo ligeramente hiperosmótica en casi todo el intervalo de salinidades, excepto en 18-12-18‰ donde fue isosmótica con respecto al medio.

## DISCUSION

Dentro de la zona de adaptación de las especies estuarinas, las fluctuaciones temporales en la salinidad ambiental pueden producir variaciones en el consumo de oxígeno.

## RESULTS

Oxygen consumption by *Callinectes similis* juveniles exposed to salinity fluctuations is shown in Figure 1. The rate of oxygen consumption remained within a metabolic range of 1.23 to 2.08 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. The changes were not significant ( $P > 0.05$ ) in all the salinities tested.

The rate of excretion increased significantly ( $P < 0.5$ ) to  $0.029 \pm 0.0016$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. as the salinity decreased from 35‰ to 26‰. It decreased to  $0.021 \pm 0.0024$  in the 18-12-18‰ salinity range and increased again at 26‰ to  $0.029 \pm 0.005$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. The minimum rate of  $0.012 \pm 0.002$  mg N-NH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>D.W. was obtained at 35‰ (Fig. 2).

The calculated values of the O:N atomic ratio indicated that the changes in salinity had a direct effect on this ratio. As salinity decreased, the O:N atomic ratio also decreased to a value of 38 in the 12-18‰ range. As salinity increased, the ratio increased to a maximum value of 65 at 35‰ (Fig. 3).

Figure 4 shows the changes in the concentration of the hemolymph of *C. similis* during the salinity fluctuations. The osmolarity of the hemolymph followed the same pattern as the environmental salinity, remaining slightly hyperosmotic in nearly all the salinities, except in the 18-12-18‰ range where it was isosmotic relative to the medium.

## DISCUSSION

Within the adaptation zone of estuarine species, temporal fluctuations in environmental salinity can cause variations in the consumption of oxygen. Kinne (1971) has noted four types of respiratory response to transitory salinity variations: (I) the rate of oxygen consumption may increase in subnormal salinities and/or decrease in supranormal salinities; (II) increase in sub- and supranormal salinities; (III) decrease in sub- and supranormal salinities; (IV) remain unaffected.

The respiratory behaviour pattern obtained for *Callinectes similis* was of type IV (Kinne, 1971), in which oxygen consumption remained unaffected (Fig. 1). This reflected a metabolic independence of the crabs to salinity variations. Rosas *et al.* (1989) and Vanegas *et al.* (1988) exposed this species to tempera-

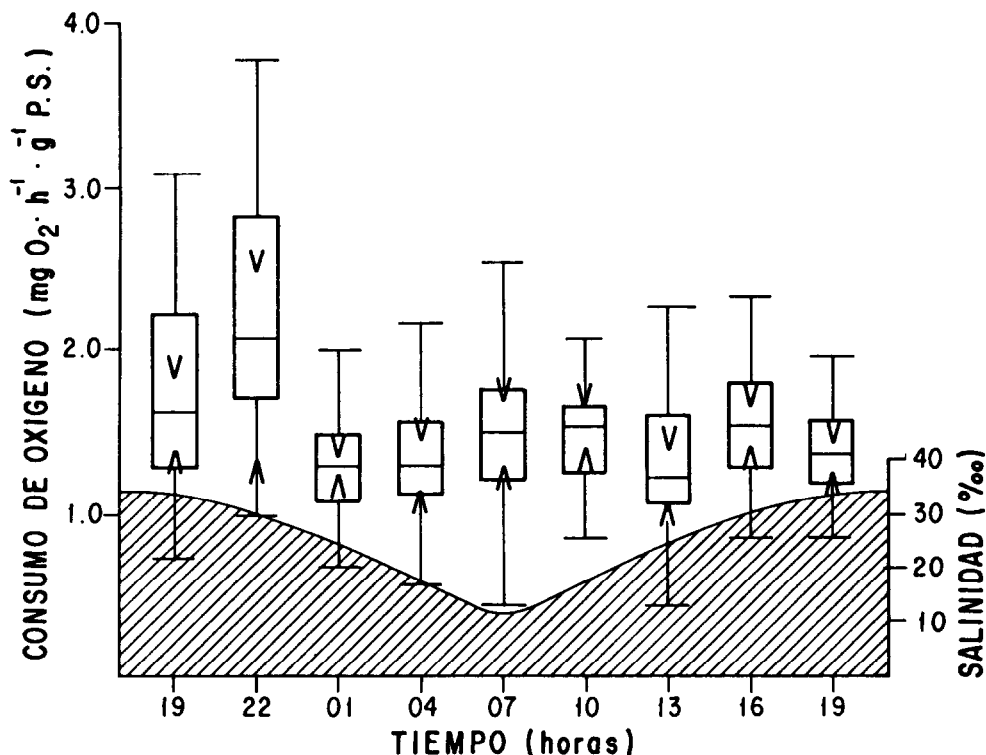


Figura 1. Consumo de oxígeno de *C. similis* expuesto a salinidades fluctuantes. Mediana  $\pm$  intervalo de confianza al 95%.

Figure 1. Oxygen consumption by *C. similis* exposed to fluctuating salinities. Median  $\pm$  confidence limits at 95%.

Kinne (1971) ha distinguido cuatro tipos de respuesta respiratoria a alteraciones transitorias de la salinidad: (I) la tasa de consumo de oxígeno puede incrementarse en salinidades subnormales y/o descender en salinidades supranormales; (II) aumentar en salinidades sub y supranormales; (III) descender en salinidades sub y supranormales; (IV) no ser alterada.

El patrón del comportamiento respiratorio obtenido para *Callinectes similis* fue del tipo IV (Kinne, 1971), en el cual el consumo de oxígeno no se alteró (Fig. 1), y esto reflejó una independencia metabólica de las jaibas ante las variaciones de la salinidad. Resultados similares para la misma especie obtuvieron Rosas *et al.* (1989) y Vanegas *et al.* (1988) al someterlas a variaciones de temperatura y de salinidad. La literatura respecto a la fisiología

and salinity fluctuations and obtained similar results. Literature on the physiology of *C. similis* is scarce and these results indicate a probable independence of oxygen consumption to salinity fluctuations that could correspond to an osmoconforming organism, as reported by Birchard *et al.* (1982) for *Ovallipes ocellatus*. Thus, *C. similis* would not need to expend energy on regulation processes to maintain the osmotic concentration of the internal medium and consequently the crabs would not have to alter their metabolic rate.

When the salinity decreased from 35 to 24‰, the response obtained for *C. similis* was an increase in the rate of ammonia excretion. Similar results have been reported for several euryhaline crustaceans like *Carcinus maenas* (Needham, 1957), *Callinectes sapidus* (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*,

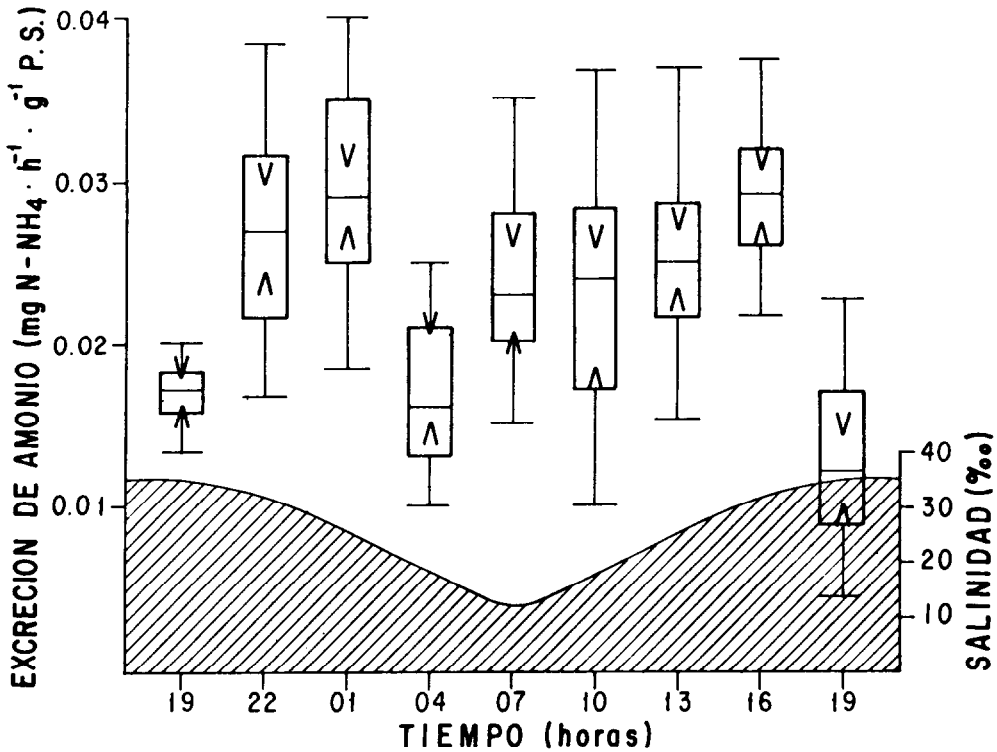


Figura 2. Tasa de excreción de amonio de *C. similis* expuesto a fluctuaciones de la salinidad. Mediana  $\pm$  intervalo de confianza al 95%.

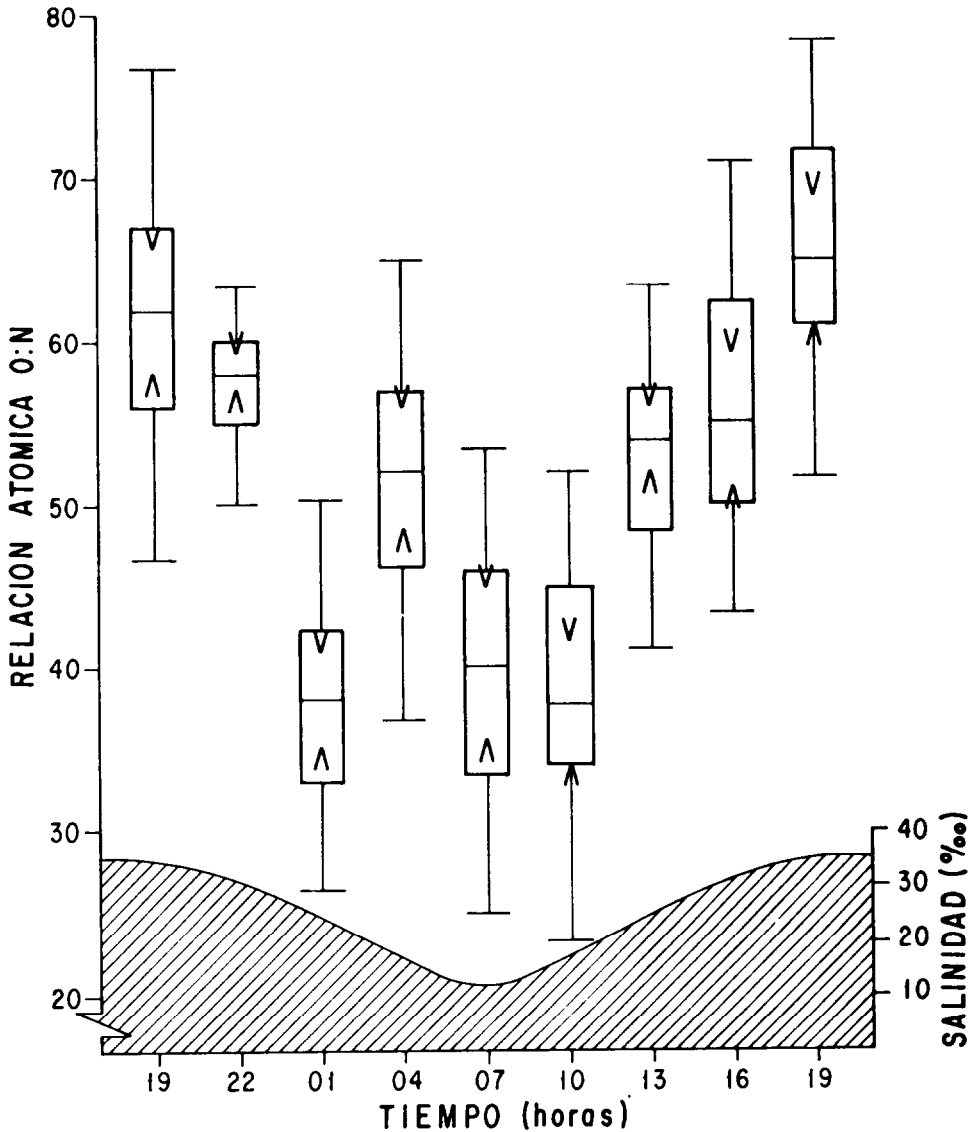
Figure 2. Rate of ammonia excretion of *C. similis* exposed to fluctuating salinities. Median  $\pm$  confidence limits at 95%.

de *C. similis* es escasa y estos resultados indican una probable independencia del consumo de oxígeno a las variaciones de la salinidad que podría corresponder a un organismo osmoconforme, como lo reportó Birchard *et al.* (1982) para *Ovallipes ocellatus*. Entonces, *C. similis* no necesitaría utilizar energía en los procesos de regulación para el mantenimiento de la concentración osmótica del medio interno y en consecuencia las jaibas no tendrían por que alterar su tasa metabólica.

Al disminuir la salinidad de 35 a 24‰, la respuesta obtenida para *C. similis* fue un incremento en la tasa de excreción de amonio, resultado que ya ha sido reportado para varias especies de crustáceos eurihalinos como *Carcinus maenas* (Needham, 1957), *Callinectes sapidus* (Mangum *et al.*, 1976; Pressley *et al.*, 1981), *Crangon crangon* (Regnault, 1984) y

1981), *Crangon crangon* (Regnault, 1984) and *Palaemon elegans* (Taylor *et al.*, 1987). When salinity decreases, the increase in ammonia excretion can be attributed to the active uptake of sodium required by the animals to compensate for the loss in hypotonic media, as mentioned by Mangum *et al.* (1976) and Pressley *et al.* (1981). This suggests that the increase in the rate of ammonia excretion of *C. similis* in response to the decrease in salinity made the active uptake of sodium easier in order to remain hyperosmoconformed in diluted media.

In the 18-12-18‰ salinity range, the rate of ammonia excretion of the crabs remained constant because the internal medium of *C. similis* was isosmotic, probably not requiring an active uptake of sodium. The apparent absence of a  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  exchange



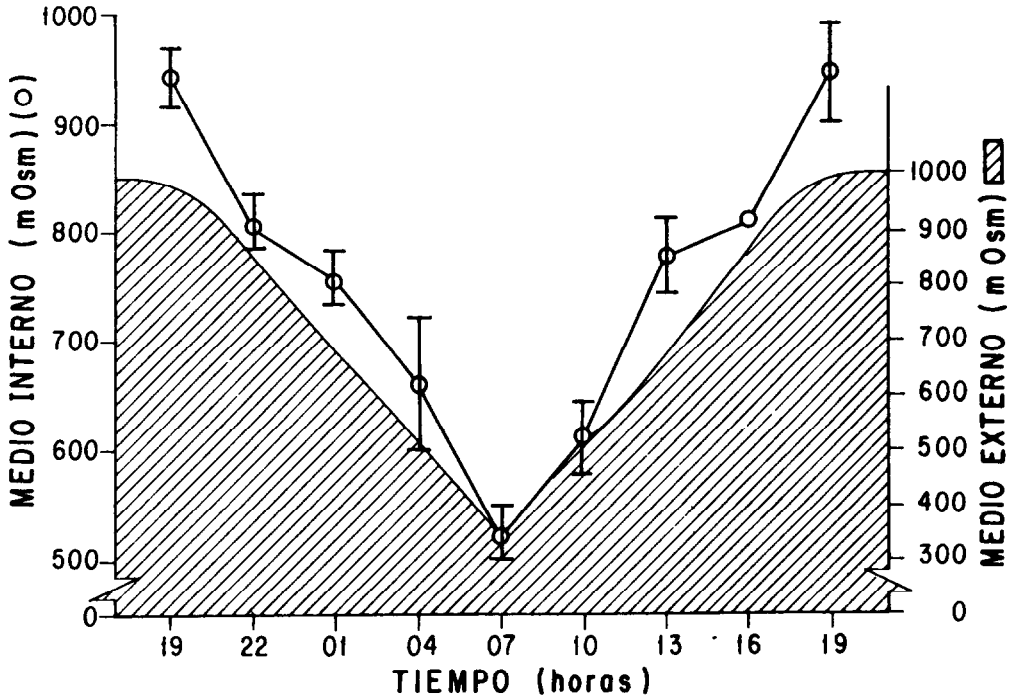
**Figura 3.** Efecto de la salinidad fluctuante sobre la relación atómica O:N de *C. similis*. Mediana  $\pm$  intervalo de confianza al 95%.

**Figure 3.** Effect of fluctuating salinities on the O:N atomic ratio of *C. similis*. Median  $\pm$  confidence limits at 95%.

*Palaemon elegans* (Taylor *et al.*, 1987). Cuando la salinidad disminuye el incremento en la excreción de amonio puede ser atribuido a lo mencionado por Mangum *et al.* (1976) y Pressley *et al.* (1981), que explican que los animales requieren de una captación activa de sodio para compensar la pérdida en los medios hipotónicos. Esto sugiere que el incremento en

mechanism in these media can be due to that mentioned by Kormanik and Cameron (1981), that in diluted salinities ammonia excretion occurs by passive diffusion, and they suggest that the presence of a  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  active exchange pump, in diluted media, could be disadvantageous from an energetic point of view.





**Figura 4.** Cambios en la osmolaridad de la hemolinfa de *C. similis* sometidos a salinidades fluctuantes. La barra representa el 95% del límite de confianza.

**Figure 4.** Changes in the osmolarity of the hemolymph of *C. similis* exposed to fluctuating salinities. Error bars represent 95% confidence limits.

la tasa de excreción de amonio de *C. similis* en respuesta al descenso de la salinidad pudo facilitar la captación activa de sodio para mantenerse hiperosmoconformado en medios diluidos.

En el intervalo de salinidades de 18-12-18‰, la tasa de excreción de amonio de las jaidas se mantuvo constante porque el medio interno de *C. similis* fue isosmótico y probablemente no requiere de una captación activa de sodio. La aparente ausencia de un mecanismo de intercambio  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  en esos medios puede deberse a lo mencionado por Kormanik y Cameron (1981) que en salinidades diluidas la excreción de amonio ocurre por difusión pasiva y sugieren que la presencia de una bomba  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  de intercambio activo, en ambientes diluidos, podría ser desventajoso desde el punto de vista energético.

La relación atómica (O:N) ha sido utilizada para evaluar el efecto de los factores ambientales, como un índice cualitativo de la

The O:N atomic ratio has been used to evaluate the effect of environmental factors, as a qualitative index of the type of metabolic substrate used, since it provides an estimate of the balance of the catabolism of proteins, lipids and carbohydrates in the tissue of the organisms (Mayzaud and Conover, 1988).

On exposing *C. similis* to fluctuating salinities, a change in the energetic substrate used in relation to the osmotic stress to which they were exposed is inferred. In high salinities (35-24‰) the crabs used carbohydrates as the main energetic source, whereas in the 18-12-18‰ range they used a mixture of lipids and carbohydrates.

For the American lobster *Homarus americanus*, Cappuzo and Lancaster (1979) reported a reduction of 26.7 to 22.1 in the O:N ratio, signifying an increase in the catabolism of proteins relative to lipids and carbohydrates. For *Macrobrachium rosen-*

utilización del tipo de sustrato metabólico ya que proporciona una estimación del balance del catabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos en el tejido de los organismos (Mayzaud y Conover, 1988).

Al someter a *C. similis* a salinidades fluctuantes se deduce que hubo un cambio en el sustrato energético utilizado en relación con el estrés osmótico al que fueron sometidos; en las altas salinidades 35-24‰ las jaibas recurrieron a los carbohidratos como la principal fuente energética, en tanto que en el intervalo de 18-12-18‰ los organismos emplearon una mezcla de lípidos-carbohidratos.

En otros crustáceos como *Homarus americanus*, Cappuzzo y Lancaster (1979) reportaron una reducción de la relación O:N de 26.7 a 22.1 que significó un incremento del catabolismo de las proteínas con respecto a los lípidos y los carbohidratos. Para *Macrobrachium rosenbergii* sometidos a diferentes medios salinos e iónicos se obtuvo una relación O:N que varió de 22.6 a 12.2, en consecuencia en los medios diluidos los langostinos utilizaron lípidos-carbohidratos (22.6) y en las salinidades altas se incrementó el catabolismo de las proteínas (12.2) (Stern *et al.*, 1984). En esta investigación, el cambio en el tipo de sustrato energético catabolizado por las jaibas indicó que fueron ligeramente afectadas por el estrés osmótico al que fueron sometidas.

Vernberg y Vernberg (1972) proponen cuatro tipos de respuestas osmóticas. De acuerdo al patrón de respuesta osmorreguladora obtenido para *C. similis* este animal pertenece al tipo II, ya que el medio interno de las jaibas se mantuvo ligeramente hiperosmótico en el intervalo de salinidades de 35-24‰ e isosmótico en las bajas. Engel (1977) reporta que, al someter a *C. similis* a medios diluidos, las concentraciones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en la hemolinfa disminuyeron significativamente. Rosas (1989) menciona que *C. similis* se distribuye en la Laguna de Tamiahua entre 22 a 34‰, con una mayor abundancia entre 26-30%. Los resultados de osmorregulación indicaron que las jaibas no tienen la capacidad de tolerar salinidades menores de 12‰, por no tener los mecanismos de regulación del medio interno ya que a partir de esa salinidad la hemolinfa de los organismos es isosmótica con respecto al ambiente.

Las respuestas fisiológicas determinadas en este estudio para *C. similis* a las bajas

*bergii* exposed to different saline and ionic media, Stern *et al.* (1984) obtained an O:N ratio that varied from 22.6 to 12.2, consequently in diluted media the prawns used lipids-carbohydrates (22.6) and in high salinities the catabolism of proteins increased (12.2). In this study, the change in the type of energetic substrate catabolized by the crabs indicated that they were slightly affected by the osmotic stress to which they were exposed.

Vernberg and Vernberg (1972) propose four types of osmotic response. According to the osmoregulatory response pattern obtained for *C. similis*, this animal belongs to type II since the internal medium of the crabs remained slightly hyperosmotic in the 35-24‰ range and isosmotic in the low salinities. Engel (1977) exposed *C. similis* to diluted media and found that the concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in the hemolymph decreased significantly. Rosas (1989) mentions that in Tamiahua Lagoon *C. similis* is distributed between 22 and 34‰, with greater abundance between 26-30‰. The osmoregulation results indicated that the crabs do not have the ability to tolerate salinities below 12‰ because they do not have the regulation mechanisms of the internal medium, since as of this salinity the hemolymph of the organisms is isosmotic relative to the environment.

The physiological responses determined in this study for *C. similis* at low salinities may indicate the presence of a limit called *horohalanicum* (Kinne, 1971), which according to Rosas (1989) and Rosas *et al.* (1989) is the salinity of 12‰. This can be considered an ecophysiological barrier limiting the distribution of these organisms in Tamiahua Lagoon, Veracruz.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank L. Fernando Bückle R. for his helpful comments and criticisms.

English translation by Christine Harris.

---

salinidades podrían evidenciar la presencia de un límite denominado *horohalanicum* (Kinne, 1971), el que de acuerdo a lo mencionado por Rosas (1989) y Rosas *et al.* (1989) es la

salinidad de 12‰, la que puede ser considerada como una barrera ecofisiológica que limita la distribución de estos organismos en la Laguna de Tamiahua, Veracruz.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a L. Fernando Bückle R. por la revisión crítica y las atinadas sugerencias para el mejoramiento de este escrito.

#### LITERATURA CITADA

- Armstrong, D.A., Strange, K., Crowe, J., Knight, A. and Simmons, M. (1981). High salinity acclimation by the prawn *Macrobrachium rosenbergii*: uptake of exogenous ammonia and changes in endogenous nitrogen compound. *Biol. Bull.*, 160: 349-365.
- Birchard, G.F., Drolet, L. and Mantel, L.H. (1982). The effect of reduced salinity on osmoregulation and oxygen consumption in the lady crab *Ovallipes ocellatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 71A: 321-324.
- Cappuzo, J.M. and Lancaster, B.A. (1979). Some physiological and biochemical considerations of larval development in the American lobster *Homarus americanus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 40: 53-62.
- Curtis, J. (1986). Regresión lineal resitente en biología. *Biótica* (en prensa).
- Díaz-Herrera, F. (1989). Estudio ecofisiológico del langostino gigante *Macrobrachium rosenbergii*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, 105 pp.
- Engel, D.W. (1977). Comparison of the osmoregulatory capabilities of two portunid crabs, *Callinectes sapidus* and *C. similis*. *Mar. Biol.*, 41: 275-279.
- Findley, A.M. and Stickle, W.B. (1978). Effects of salinity fluctuation on the hemolymph composition of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Mar. Biol.*, 46: 9-15.
- Findley, A.M., Belisle, B.W. and Stickle, W.B. (1978). Effect of salinity fluctuations on the respiration rate of the southern oyster drill *Thais hemastoma* and the blue crab *Callinectes sapidus*. *Mar. Biol.*, 49: 59-67.
- Florkin, M. (1962). La regulation isosmotique intracellulaire chez les invertebrates marins euryhalins. *Bull. Acad. of Belgium Collection. Science*, 48: 687-694.
- Gross, W.J. (1954). Osmotic responses in the sipunculid *Dendrostomum zostericolum*. *J. Exp. Biol.*, 31: 402-423.
- Kinne, O. (1971). Salinity. In: O. Kinne (ed.), *Marine Ecology*, Vol. I, Part 2. Wiley-Interscience, New York, pp. 821-995.
- Kormanik, G.A. and Cameron, J.N. (1981). Ammonia excretion in the sea water blue crab *Callinectes sapidus* occurs by diffusion and not  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$  exchange. *J. Comp. Physiol.*, 141: 457-462.
- Lockwood, A.P.M. (1962). The osmoregulation of Crustacea. *Biol. Rev.*, 37: 257-305.
- Mangum, C.P., Silverthorn, S.V., Harris, J.L., Towle, D.W. and Krall, A.R. (1976). The relationship between blood pH, ammonia excretion and adaptation to low salinity in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Zool.*, 195: 129-136.
- Mayzaud, P. and Conover, R.J. (1988). O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 45: 289-302.
- Mosteller, F. and Tuckey, J.W. (1977). *Data Analysis and Regression*. Addison Wesley Pub. Co., Readings, Massachusetts, 588 pp.
- Needham, A.E. (1957). Factors affecting nitrogen excretion in *Carcinus maenas*. *Physiologia Comparata et Oecologia*, 4: 209-239.
- Pressley, T.A., Graves, J.S. and Krall, A.R. (1981). Amiloride-sensitive ammonium and sodium ion transport in the blue crab. *Amer. J. Physiol.*, 241: 370-378.
- Regnault, M. (1984). Salinity induced changes in ammonia excretion rate of the shrimp *Crangon crangon* over a winter tidal cycle. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 20: 119-125.
- Rodier, J. (1980). *Análisis de las aguas*. Omega, Barcelona, 1059 pp.
- Rosas, C. (1989). Aspectos de la ecofisiología de las jaibas *Callinectes sapidus*, *Callinectes rathbunae* y *Callinectes similis* de la zona sur de la Laguna de Tamiahua, Veracruz (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM, 220 pp.
- Rosas, C., Barrera, G. y Lázaro-Chávez, E. (1989). Efecto de las variaciones de la

- salinidad y de la temperatura estacional sobre el consumo de oxígeno de *Callinectes rathbunae* y *C. similis*. Trop. Ecol., 30: 193-204.
- Schoffeniels, E. and Gilles, R. (1970). Osmoregulation in aquatic arthropods. In: M. Florkin and B.T. Scheer (eds.), Chemical Zoology. Vol. 5, Part A. Academic Press, New York, pp. 255-286.
- Spaargaren, D.H., Richard, P. and Ceccaldi, H.J. (1982). Excretion of nitrogenous products by *Penaeus japonicus* in relation to environmental osmotic conditions. Comp. Biochem. Physiol., 72A: 673-678.
- Stern, S., Borut, A. and Cohen, D. (1984). The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii*. Comp. Biochem. Physiol., 79A: 271-274.
- Taylor, A.C. (1977). The respiratory responses of *Carcinus maenas* to changes in environmental salinity. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 29: 197-210.
- Taylor, A.C., Spicer, J.I. and Preston, T. (1987). The relationship between osmoregulation and nitrogen metabolism in the intertidal prawn *Palaemon elegans*. Comp. Biochem. Physiol., 88A: 291-298.
- Tuckey, J.W. (1977). Exploratory Data Analysis. Addison Wesley Pub. Co., Massachusetts, USA, 688 pp.
- Vanegas, C., Pérez, G. Merino, E., Díaz, F. y Rosas, C. (1988). Efecto de las fluctuaciones de la salinidad sobre el consumo de oxígeno de *Callinectes similis*. Rev. de Investigaciones Marinas, IX: 67-78.
- Velleman, P.F. and Hoaglin, D.C. (1981). Application Basic and Computing of Exploratory Data Analysis. Duxbury Press, Boston, USA.
- Vernberg, W.B. and Vernberg, F.J. (1972). Environmental Physiology of Marine Animals. Springer-Verlag, New York, 346 pp.