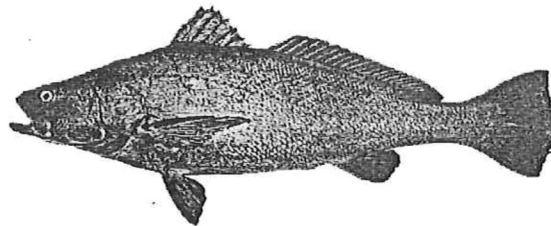


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



REGULACIÓN IÓNICA Y OSMÓTICA DE
LOS JUVENILES DE *Totoaba macdonaldi*
ANTE CAMBIOS DE SALINIDAD.



T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

DANIEL ORTIZ VIVEROS



Ensenada, Baja California. Marzo de 1999.

REGULACIÓN IÓNICA Y OSMÓTICA DE LOS JUVENILES
DE *Totoaba macdonaldi* ANTE CAMBIOS DE SALINIDAD.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA :

DANIEL ORTIZ VIVEROS

Aprobada por:



M. en C. Conal David True
Presidente de Jurado



M. en C. Antonio Silva Loera
Sinodal propietario



M. en C. Mark Andrew Drawbridge
Sinodal propietario

ÍNDICE

TEMA	PÁGINA
Resumen	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Lista de Tablas y Figuras	v
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	
2.- OBJETIVOS	6
3.- METODOLOGÍA	7
3.1 Obtención de los organismos	
3.2 Diseño experimental	
3.3 Experimento 1	
3.3.1 Obtención y tratamiento de las muestras	
3.3.1a Metabolismo	
3.3.1b Razón de excreción de orina	
3.3.1c Muestras de sangre	
3.3.1d Muestras de tejido	
3.3.1e Disección y toma de muestras de agua y orina de la “vejiga urinaria”	
3.3.1f Análisis de las muestras de líquido	
3.4 Experimento 2	
3.4.1 Porcentaje de humedad en el tiempo	
3.5 Análisis estadístico	
4.- RESULTADOS	22
4.1 Metabolismo	
4.2 Excreción de orina	
4.3 Sangre	
4.4 Porcentaje de humedad (Experimento 1)	
4.5 Fluidos internos	
4.6 Contenido de humedad del músculo en el tiempo (Experimento 2)	
5.- DISCUSIONES	46
5.1 Costo energético de la osmoregulación	
5.2 Regulación iónica y osmótica	
5.3 Implicaciones y aplicaciones de la osmoregulación	
6.- CONCLUSIONES	59
7.- LITERATURA CITADA	60
Anexo I	67

RESUMEN

La Totoaba (*Totoaba macdonaldi*), es un pez endémico del Golfo de California, México. En la actualidad se encuentra en la lista de especies amenazadas con extinción (CITES), debido principalmente a dos factores: La sobrepesca a la que fue sujeta durante los años 30's a 60's, durante su migración de reproducción al delta del río Colorado; y la modificación de este ambiente, de estuarino a estuarino negativo, debido a la construcción de las presas Hoover y Glen Canyon en E.U. (en 1930 y 1950 respectivamente). Por tal motivo en el presente trabajo se evaluó la respuesta de los juveniles de *T. macdonaldi* ante cambios de salinidad, a corto y largo plazo, con miras a su cultivo para el repoblamiento. Para esto se utilizó la respuesta metabólica y de osmoregulación. Se encontró que los juveniles de *T. macdonaldi* son capaces de aclimatarse a distintas salinidades y soportar un amplio rango de cambios inmediatos de salinidad, mostrando un sistema de regulación homeostático eficiente, capaz de regular su concentración osmótica e iónica en un amplio rango de salinidades (11 a 40 ‰). Así mismo, se determinó que energéticamente la mejor salinidad para los juveniles de *T. macdonaldi* de un año de edad fue la salinidad de 20 ‰. Por lo tanto, la Totoaba es una especie eurihalina, que soporta la liberación en el medio natural en un amplio rango de salinidades.

DEDICATORIA

A mi padre Rubén Estéban Ortiz Cabrera, porque en tí siempre he tenido un amigo y un ejemplo de trabajo, y porque fuiste tú quien me ayudo a encontrar la luz en los momentos difíciles de este trabajo.

A mi madre Socorro Viveros de Ortiz, gracias por tu sacrificio de toda la vida y por ser el mejor ejemplo de amor y entrega.

Gracias, los quiere su hijo.

A mis hermanos y amigos Arturo y Gaby, porque siempre han estado conmigo a pesar de estar lejos y porque siempre me han entregado amor y amistad.

A tí Gissel, porque a tú lado caminé este camino y porque siempre me diste una palabra de animo cuando más la necesitaba, te quiero.

A mis amigos hermanos, Cuauhtémoc Turrent Thompson, Diego Edgar García Gómez, y J. Jesús Morales de los Santos. Porque a pesar de estar lejos nuestra amistad siempre será un pilar donde apoyarme.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de tesis se realizó gracias al apoyo de la Universidad Autónoma de Baja California a través de la Facultad de Ciencias Marinas, y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca No. 110236, y de su apoyo al proyecto “Fisiología y Nutrición en la Ontogenia de *Totoaba macdonaldi*” Especie en Vías de Extinción” No. 431100-5-1990PN.

Así mismo quisiera dar un agradecimiento especial a “Estudios de la Playa, S.A. de C.V.” y en especial a M.Sc. Charlie Arneson, por la beca que me brindaron. Que sirvió para la culminación de este trabajo.

Un agradecimiento especial al M. en C. Conal David True, por dejarme participar en el proyecto de la Totoaba y por apoyarme en la realización de este trabajo, que significó la culminación de una meta, así como por haberme enseñado tantas cosas dentro del proyecto de la Totoaba.

Al M. en C. Antonio Silva Loera, un agradecimiento sincero, por su paciencia y apoyo en la revisión de este trabajo y porque sus enseñanzas, consejos y amistad siempre estarán conmigo.

Al M. Sc. Mark Andrew Drawbridge, por su tiempo e interés para el buen desarrollo de este trabajo.

Al Cand. a Doctor. Zaúl García Ezquivel, por haberme obsequiado su tiempo y consejos; y por haberme prestado parte de su equipo de laboratorio para la realización de este trabajo.

A la M. en C. Graciela Guerra Rivas, por aclararme siempre esos pequeños detalles y por prestarme su equipo de laboratorio.

Al Dr. Carlos Rosas Vazquez, porque siempre has estado ahí para brindarme tu apoyo y consejo, y por ser un ejemplo que me ayuda a seguir adelante.

Quiero hacer un agradecimiento muy especial a todos los compañeros que me ayudaron en la realización de este trabajo, ya que gracias a sus desvelos y tiempo este trabajo se pudo realizar. Cuauhtémoc Turrent Thompson, Gerardo Sandoval Garibaldí, Eduardo Talamás Rohana, Denhi Salinas, Norberto Castro “Quinini”, Alejandro Rodríguez Pruneda, Gaby, Ruth Cerezo Mota y Gabriela Athie de Velasco.

A los “Estudiantes por Chiapas” por todo lo que hicimos juntos y por ayudar a la gente más necesitada, nuestros hermanos Indígenas.

Y finalmente más no al último a la gente de Ensenada, que durante casi 8 años siempre tuvo para mí una sonrisa y una mano amiga. En especial a la Familia Avila Soltero por su apoyo durante tanto tiempo, siempre los llevaré en mis recuerdos.

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

	PÁGINA
Tabla I. Conteo de glóbulos rojos (eritrocitos) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , aclimatados a diferentes salinidades (11, 20, 34 y 40 ‰).	31
Figura 1. Diseño de los experimentos para determinar el efecto de los cambios de salinidad sobre los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> .	7
Figura 2. Diseño de los cambios inmediatos de salinidad para los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> aclimatados a diferentes salinidades (* salinidades para determinar el efecto de la aclimatación).	8
Figura 3. Cámaras respirométricas empleadas para determinar el consumo de oxígeno de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Cámara respirométrica (a), electrodo polarográfico de oxígeno (b), y sistema para el cambio inmediato de salinidad (c).	11
Figura 4. Fijación de la cánula para determinar la excreción de orina en los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Cámara urinaria (a), bomba de agua (b), pared de separación con malla en los extremos (c), ictiómetro de fijación con la <i>Totoaba</i> (d), pegado de la cánula (e), y tubo Ependorff para coleccionar la orina excretada (f).	14
Figura 5. Toma de muestras de sangre de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Lugar de muestreo para extraer la sangre de la arteria caudal inferior (a) y colocación de la sangre en los capilares con heparina (b).	16
Figura 6. Toma de muestras del tejido muscular blanco (a) y del riñón (b) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad.	18
Figura 7. Toma de muestras de los líquidos internos de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Estómago (a), intestino anterior (b), intestino medio (c), intestino posterior (d), y "vejiga urinaria" (e).	19
Figura 8. Tasa metabólica promedio ($QO_2 = \text{mgO}_2/\text{kg/h}$) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	23

Figura 9.	Trabajo total (arriba) y trabajo osmótico (modelo de Potts, 1954) (abajo) (Calorias/kg/h) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad.	24
Figura 10.	Razón de excreción de orina (ml/kg/h) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad.	27
Figura 11.	Osmoconcentración (mOsm/kg) de la orina excretada por los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad.	28
Figura 12.	Componentes de la concentración osmótica de la orina excretada por los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad.	29
Figura 13.	Osmoconcentración promedio (mOsm/kg) de la sangre de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	32
Figura 14.	Componentes de la concentración osmótica de la sangre en los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	33
Figura 15.	Valor promedio del hematocrito (Hcto) (en porcentaje) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	34
Figura 16.	Porcentaje de humedad promedio en el músculo (arriba) y riñón (abajo) de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	36
Figura 17.	Osmoconcentración promedio (mOsm/kg) del medio externo "Agua" y de los líquidos internos de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	39
Figura 18.	Concentración promedio de sodio (Na^+) (mmol/l) del medio externo "Agua" y los líquidos internos de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	40
Figura 19.	Concentración promedio de cloro (Cl^-) (mmol/l) del medio externo "Agua" y los líquidos internos de los juveniles de <i>Totoaba macdonaldi</i> , aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).	41

- Figura 20. Concentración promedio de potasio (K^+_i) (mmol/l) del medio externo “Agua” y los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar). 42
- Figura 21. Concentración promedio de los componentes osmóticos restantes (OTROS_i) (mmol/l) del medio externo “Agua” y los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar). 43
- Figura 22. Variación en el tiempo del porcentaje de humedad promedio del músculo, en los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a 34 ppm y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar). 45

1. INTRODUCCIÓN

La Totoaba (*Totoaba macdonaldi*) es el miembro más grande de la familia Scianidae, llega a medir 2 metros y pesar más de 100 kg. (Flanagan y Hendrickson, 1976), es un pez endémico del Golfo de California, México. Habita desde la desembocadura del río Colorado hasta Mulegé, B.C.S en la costa occidental del golfo; y hasta la desembocadura del río Fuerte, Sinaloa en la costa oriental del golfo (Ruíz-Durá, 1980). En la actualidad se encuentra en la lista de especies amenazadas con extinción (Apendice I de la CITES "Convention on International Trade in Endangered Species"), y desde 1975 el Gobierno Mexicano prohibió su pesca indefinidamente. Se considera que las causas de esta condición pueden ser: la sobrepesca a la que fue sujeta durante las décadas 30's, 40's, y 60's, reportando capturas máximas de más de 2000 toneladas por año; y/o a la alteración de las características hidrográficas del delta del río Colorado, medio ambiente al que migra durante la primavera para desovar en verano (Barrera-Guevara, 1990). Se cree que la Totoaba migra al Norte, a un medio ambiente estuarino en la boca del río Colorado, por ser una especie anádroma (True, *et al.*, 1996); Sin embargo no existen trabajos que hayan evaluado esta condición estuarinoindependiente en la *T. macdonaldi*.

El Alto Golfo de California ha sufrido una modificación significativa en sus condiciones hidrográficas durante el presente siglo, debido principalmente a la disminución del aporte de agua dulce proveniente del río Colorado. Entre 1910-1920 la descarga media del río Colorado era del orden de 21.4×10^9 m³/año. Después de 1952, el flujo de agua dulce hacia el Golfo de California disminuyó a 0.8×10^9 m³/año debido a la construcción de las presas Hoover en 1934 y Glen Canyon en 1952. Este flujo representa sólo el 4 % de la descarga media entre 1910-1920 (Carbajal, *et al.*, 1997). La disminución en el aporte de agua dulce ocasionado una modificación radical en la hidrografía del delta del río Colorado, cambiando de un sistema estuarino con salinidades de 0 ‰ en la cabeza a 20 ‰ en el delta (Carbajal, *et al.*, 1997) a uno estuarino negativo, formador de agua salada, con salinidades que se incrementan en general de la boca hacia el interior (Barrera-Guevara, 1990; Carbajal, *et al.*, 1997; Hernández-Ayón, *et al.*, 1993). Las salinidades en la región del delta ya no son afectadas por ningún flujo significativo de agua dulce del río Colorado, ahora el rango de salinidad se encuentra por arriba de 35 - 37 ‰, debido a la alta evaporación producto del clima seco de la región (Reynolds y Thomson, 1974; Carbajal *et*

al., 1997). Presentándose condiciones estuarinas únicamente en años con gran precipitación pluvial.

Se cree que los juveniles emigran al sur, hacia zonas más profundas con aguas más claras después de permanecer alrededor de 2 años en el Alto Golfo de California (Nakashima, 1916), zona que se considera como de maternidad (Flanagan y Hendrickson, 1976; Barrera-Guevara, 1990).

Dadas las condiciones ambientales de la zona de crianza, su carácter de especie amenazada con extinción y la importancia económica que una vez tuvo y puede volver a tener, la *Totoaba macdonaldi* es una especie idónea para la investigación con miras a lograr su cultivo y repoblamiento. Por tal motivo el presente trabajo pretende evaluar la respuesta inmediata y la aclimatación de los juveniles ante cambios de salinidad, para así determinar la salinidad óptima de cultivo y su resistencia a los cambios de salinidad con miras al repoblamiento.

1.1 ANTECEDENTES

La salinidad es *per se* un factor importante de la distribución, sobrevivencia y metabolismo de muchos organismos acuáticos (Holliday, 1969) así como durante su periodo de incubación (Hart *et al.*, 1996). Hay peces que no soportan variaciones de salinidad ambiental (estenohalinos); y peces que se adaptan y toleran amplias variaciones (eurihalinos). Wu y Woo (1983) encontraron que la tolerancia a la salinidad parece estar relacionada con el hábitat natural de la especie, siendo más eurihalinas las especies que viven cerca de la costa, en aguas someras; que las especies de aguas profundas, lejanas a la costa.

La capacidad para soportar los cambios en la salinidad puede ser a corto y a largo plazo; es decir, hay peces que soportan cambios diurnos de salinidad, que pueden estar provocados por las mareas en zonas estuarinas o litorales; y peces que soportan cambios a largo plazo, lo que involucra migraciones entre el agua "dulce" y el agua de mar o viceversa, durante su ciclo de vida. Estos peces se denominan diádromos, y se dividen en anádromos y catádromos respectivamente (Safford, 1957). Los peces diádromos no son necesariamente eurihalinos, pero son capaces de migrar entre estas aguas debido a cambios en su actividad hormonal, lo que provoca cambios fisiológicos necesarios para su sobrevivencia (Safford, 1957). Se puede decir que los peces anádromos son capaces de

pasar de relativamente estenohalinos de agua dulce, intolerantes al agua de mar; a ser peces marinos capaces de sobrevivir y crecer bajo condiciones de agua marina (un ejemplo de este tipo de pez son las especies de salmónidos) (Jobling, 1995).

Las especies verdaderamente eurihalinas son solo una pequeña fracción de los peces teleósteos. Incluso son raros los teleósteos que se pueden reproducir exitosamente bajo condiciones que no sean dentro de un rango estrecho de salinidad (Nordlie, *et al.*, 1992). Algunas de las especies eurihalinas realizan cortas migraciones de desove, usualmente hacia agua dulce o salobre (Safford, 1957).

La forma en que los peces afrontan, se adaptan y sobreviven a cambios de salinidad es relativamente común entre todos ellos, claro que la capacidad de soportar los cambios varía entre las especies. El mecanismo de regulación osmótico y iónico ante estos cambios de salinidad se encuentra a nivel extracelular e intracelular, y se puede resumir en la absorción y excreción de agua y iones necesarios para mantener el sistema bioquímico funcionando, lo que soporta la vida del organismo. Smith en 1930 mencionó que “los teleosteos marinos toman agua de mar, para absorber los iones monovalentes y la mayoría del agua en el tracto digestivo, lo que les sirve para balancear la pérdida de agua vía urinaria y osmótica”, lo anterior es correcto. Sin embargo, ahora se sabe que los iones divalentes también se absorben aunque en menor cantidad y son eliminados en la orina. Los iones que no son absorbidos se eliminan en los fluidos rectales (Hickman, 1968; Shehadeh y Gordon, 1969). También se sabe que la excreción de los iones monovalentes absorbidos en el tracto digestivo se realiza principalmente en las branquias (Fletcher, 1978a), donde intervienen células especializadas llamadas células del cloro o células ricas en mitocondrias (Salman y Eddy, 1987).

Todo esto involucra directamente a la sangre como medio de transporte para los iones y el agua, lo que se traduce en un aumento o disminución de los iones y agua en la sangre. La osmoregulación implica por lo tanto un gasto de energía. Que se corrobora con el epitelio especializado de las branquias rico en mitocondrias, en donde se excretan los iones contra un gradiente de concentración por las llamadas “células del cloro” que presentan un gran número de mitocondrias (Salman y Eddy, 1987). Por lo tanto se puede ahorrar energía reduciendo el gasto en la osmoregulación en salinidades más isotónicas. Es decir, donde la salinidad del medio externo es similar a la salinidad interna del organismo, lo que en algunos casos se puede traducir en un crecimiento neto mayor (Nordlie y Leffler, 1975; Tandler *et al.*, 1995). El gasto energético total se puede estimar indirectamente con la

tasa metabólica representada por el consumo de oxígeno (Job, 1959; Farmer y Beamish, 1969; Rao 1971; Nordlie, 1978). Sin embargo, para determinar el gasto energético de la osmoregulación se han planteado distintos modelos, pero el propuesto por Potts (1954) es el que más se acerca al gasto real, ya que considera el gasto energético de mover los iones a través de las membranas.

Los huevos de algunos peces teleósteos son liberados a menudo cerca de la costa, próximos a grandes estuarios donde ocurren fluctuaciones de salinidad (Holliday, 1969). Esto ha ocasionado mucha investigación alrededor de los efectos de la salinidad sobre los huevos y larvas de peces teleósteos (ver las revisiones de Krogh, 1965; Holliday, 1969; Alderdice, 1988). Con respecto a la tolerancia a la salinidad y su relación con el crecimiento de los peces, Conte y Wagner (1965) citados por Nordlie, *et al.*, (1982), estudiaron la tolerancia a la salinidad con relación a la edad y tamaño de los peces. Al realizar comparaciones entre grupos de idéntico tamaño, que podían diferir en cuanto a la edad cronológica, encontraron que la tolerancia a la salinidad es la misma para individuos dentro de un mismo tamaño. Por lo tanto concluyeron que la edad cronológica de los peces no aumenta el mecanismo adaptativo, a menos que halla una alteración en el crecimiento. Esto soporta el concepto, de que los factores que regulan el crecimiento deben controlar la maduración del sistema de regulación hipoosmótico (Conte, 1969). Sin embargo, en algunos casos esto se cumple únicamente durante una etapa de la vida del pez, como en el caso de dos poblaciones de *Salvelinus alpinus* del Ártico, una anádroma y otra aislada en tierra, en ellas se encontró que los peces pequeños muestran la menor tolerancia al agua salada, pero que la hipoosmoregulación es independiente del tamaño para los peces más grandes de 60 g (Staurnes, *et al.*, 1992). En otros casos esta relación se conserva durante etapas bien definidas del desarrollo del organismo como en el Red drum *Sciaenops ocellatus* L. en él aumenta su tolerancia a la salinidad conforme pasan de larva a juvenil (Holt y Arnold, 1981; Crocker *et al.*, 1981 citados por Crocker *et al.*, 1983). Este comportamiento tiene una estrecha relación con su ciclo de vida, que comienza en la boca de los estuarios donde desovan los adultos, para seguir con su desarrollo dentro de ellos y posteriormente salir a mar abierto a crecer y madurar, para después regresar a la zona de desove (Gunter, 1961; Crocker *et al.*, 1983). Algo similar se podría esperar en la Totoaba, de acuerdo con su ciclo de vida y las condiciones estuarinas que prevalecían en el Alto Golfo de California antes de la construcción de las presas en el río Colorado.

En algunas especies ocurre lo contrario, como en el Pejerrey del Golfo de California (*Leuresthes sardina*) en él la tolerancia a la salinidad decrece con la edad, presentando un rango de tolerancia de 4 a 67.5 ‰ al momento de la eclosión, para después disminuir de 5 a 57.5 ‰ a los 30 días de la eclosión. Lo que también se relaciona con su ciclo de vida, ya que los huevos son colocados en la playa, donde están sujetos a las variaciones de salinidad debidas a las lluvias y la evaporación, mientras que una vez eclosionados los organismos se alejan de esta zona de gran variación (Reynolds y Thomson, 1974).

Esto nos ayuda a entender que la capacidad de soportar los cambios de salinidad no solo se relaciona con las etapas de vida de un organismo sino también con su crecimiento y el medio ambiente donde se desarrolla, por lo tanto en el caso de la Totoaba que presenta una migración durante su periodo reproductivo hacia la zona del delta del río Colorado, donde las condiciones ambientales varían a lo largo del año, se puede esperar que presente capacidad para soportar los cambios de salinidad.

2. OBJETIVOS

- General:

Evaluar los cambios inmediatos y la aclimatación de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* a diferentes salinidades, a partir del metabolismo y la osmoregulación.

- Particulares:

1. Determinar el efecto de un cambio inmediato de salinidad en la osmoregulación y metabolismo de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*.
2. Evaluar la capacidad de aclimatación de juveniles de *Totoaba macdonaldi* a diferentes salinidades, en base al metabolismo y la osmoregulación.

3. METODOLOGÍA

3.1 OBTENCIÓN DE LOS ORGANISMOS.

Los juveniles de la *Totoaba macdonaldi* se obtuvieron de un desove inducido de una población de Totoabas adultas, que se mantienen en la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California. Las Totoabas fueron alimentadas con calamar fresco y maduradas con fotoperiodo e inducidas al desove con hormonas. Los peces empleados en los experimentos nacieron el 1^{er}o de mayo de 1997 y se utilizaron al alcanzar el año de edad, midiendo entre 25 y 35 cm de longitud total.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.

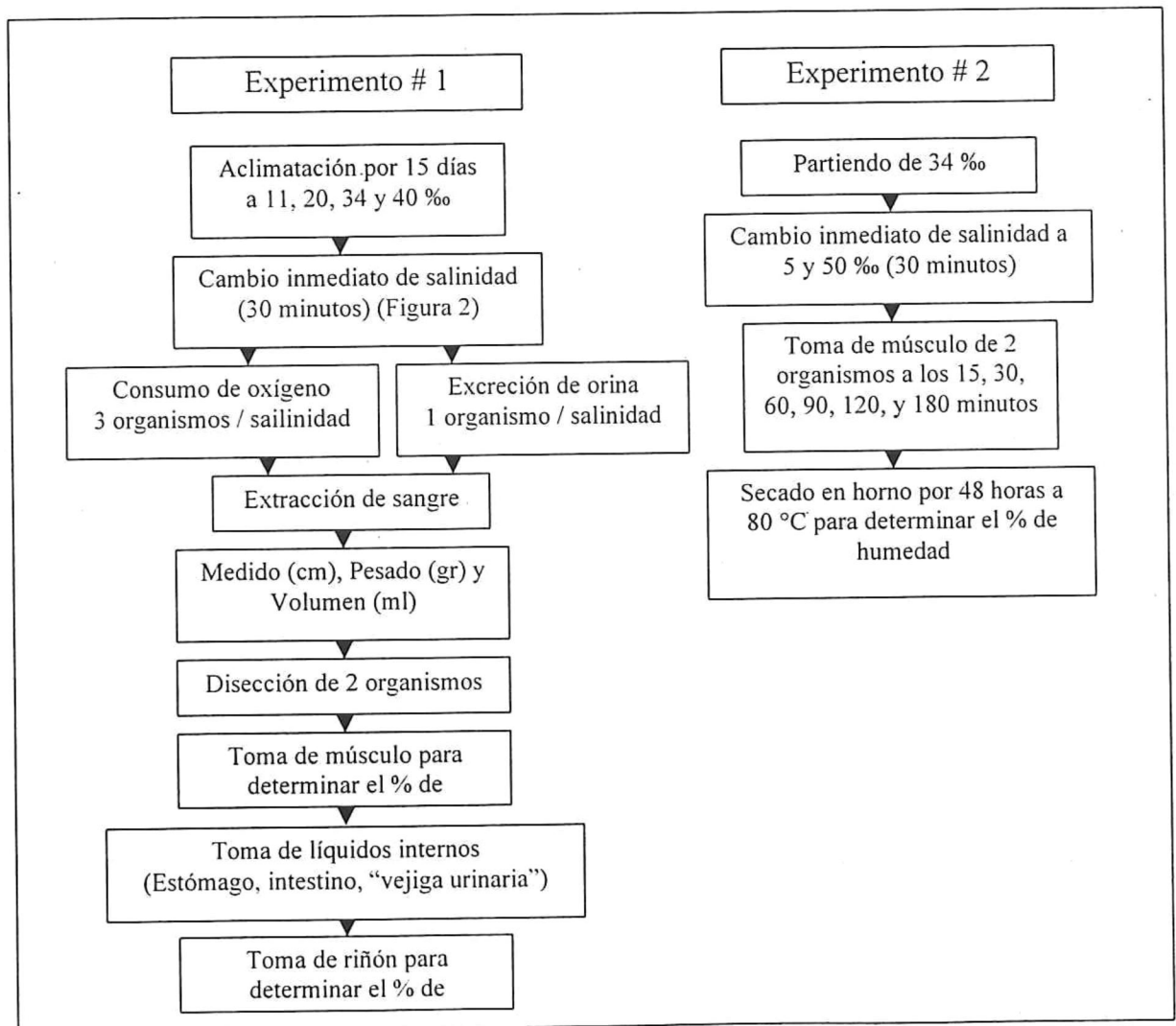


Figura 1.- Diseño de los experimentos para determinar el efecto de la salinidad sobre los juveniles de *Totoaba macdonaldi*.

3.3 EXPERIMENTO 1.

En este experimento (Figura 1) se midió la respuesta de los juveniles de la *T. macdonaldi* ante un cambio inmediato de salinidad teniendo como punto de partida agua de mar natural (34 ‰) y distintas salinidades de aclimatación, así mismo se determinó el efecto que la aclimatación a distintas salinidades ocasionó en el metabolismo y la osmoregulación.

Para realizar esto se sometió a los juveniles a cambios inmediatos de salinidad (en ~30 minutos) teniendo como punto de partida la salinidad de aclimatación, que fue agua de mar natural (34 ‰) y agua con salinidades de 11, 20 y 40 ‰. La aclimatación a las salinidades diferentes al agua de mar natural duró 15 días (Kilambi y Zdinak, 1980; Stuenkel y Hillyard, 1981; Martin, 1990) y se realizó en estanques de 2000 litros de capacidad, con aireación constante y cambios de agua del 100 % diario. Para llegar a la salinidad de aclimatación de cada caso se realizaron cambios graduales de salinidad (5 ‰ por día) (Ahokas y Duerr, 1975a, b; Nordlie y Walsh, 1989; Nordlie, *et al.*, 1992). Una vez aclimatados se sometieron grupos de 4 organismos a los cambios inmediatos de salinidad (Figura 2). Como puede observarse en el diseño experimental todas las salinidades de aclimatación presentaron un cambio inmediato de salinidad a una salinidad igual a la de aclimatación, esto se realizó para determinar el efecto de la aclimatación sobre el metabolismo y la osmoregulación.

Salinidad de Aclimatación (‰)	Cambio inmediato de salinidad (‰)					
	5	11	20	34	40	50
11	X	X*	X	X		
20	X	X	X*	X		
34	X	X	X	X*	X	X
40			X	X	X*	X

Figura 2.- Diseño del cambio inmediato de salinidad para los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, partiendo de diferentes salinidades de aclimatación (* salinidades para determinar el efecto de la aclimatación).

Toda el agua empleada para los cambios inmediatos de salinidad y para la aclimatación a 11, 20 y 40 ‰, se preparó con sal sintética ("FRITZ Super Salts" de la compañía Fritz Chemical Company). Únicamente el agua para la aclimatación de 34 ‰ se realizó con agua de mar natural. Para determinar si existía algún efecto provocado por la sal sintética, se realizó una prueba control para comparar la respuesta metabólica y de la osmoconcentración de la sangre en los organismos sometidos ante agua de mar natural (34 ‰) y agua a 34 ‰ realizada con sal sintética. Sin embargo, no se encontró ningún efecto debido al origen de las sales.

Los organismos empleados en los experimentos se dejaron de alimentar 4 días antes de ser utilizados, para garantizar que el intestino estuviera libre de restos de alimento y para evitar la acción dinámica específica (Prosser, 1973; Jobling y Davies, 1980). La temperatura del agua permaneció constante durante todo el periodo experimental a 20 °C (± 1 °C).

De los 4 organismos empleados para cada cambio inmediato de salinidad, 3 se utilizaron para determinar el metabolismo en base al consumo de oxígeno y 1 para registrar la razón de excreción de orina. Una vez realizadas estas mediciones se procedió a extraer sangre de los organismos para después pesarlos, medirlos y determinar el volumen de agua desplazado por los organismos; posteriormente se disectaron 2 organismos para extraerles muestras de tejido muscular, de riñón, y del agua contenida en el estómago, intestino y "vejiga urinaria" (Figura 1).

3.3.1 OBTENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

3.3.1a METABOLISMO.

Los organismos provenientes del tanque de aclimatación se colocaron en las cámaras respirométricas 5 horas antes de realizar el cambio de salinidad y registrar el consumo de oxígeno. Este fue el tiempo necesario para que el metabolismo de los organismos se estabilizara (determinado experimentalmente), Mann (1965) también registró altos consumos de oxígeno durante las primeras 5-9 horas posteriores a la introducción de los organismos a las cámaras respiratorias. Las cámaras respirométricas empleadas se construyeron con recipientes de plástico herméticos, con capacidad de 5.470 y 11.695 litros, la diferencia en la capacidad se debió a la diferencia de tamaño de los organismos empleados, que fue de 25 a 35 cm de longitud total. Una vez dentro de las

cámaras, éstas se sellaban y se abría el flujo de agua, empleando agua con la misma salinidad a la de aclimatación, así se dejaban hasta el momento del cambio inmediato de salinidad, en todos los casos el cambio no tardó más de 30 minutos. Una vez realizado el cambio de salinidad se introducía el electrodo polarográfico de oxígeno (ORION modelo EA-940), se cerraba el flujo de agua, y se procedía a medir el oxígeno disuelto dentro de la cámara (Figura 3). Estas mediciones se realizaron durante 2 horas con intervalos de medición cada 10 minutos, nunca se dejó que el oxígeno disuelto bajara a menos del 70% del valor de saturación para cada salinidad, lo que sirvió para evitar un posible estrés respiratorio (Winberg, 1956). Con los valores de oxígeno disuelto y los tiempos de medición se calculó la tasa de consumo para cada organismo y con éstas se determinó el consumo de oxígeno ($QO_2 = \text{mg } O_2/\text{kg/h}$) (Kita, *et al.*, 1996) mediante la siguiente ecuación:

$$QO_2 = (M * 60 * V) / P$$

Donde: M = Pendiente del consumo de oxígeno por tiempo (mg/l/min).

60 = min/h.

V = Volumen de la cámara menos el volumen del organismo (litros).

P = Peso del organismo (kilogramos).

Con los valores de metabolismo (QO_2) se calculó el trabajo total ($W = \text{calorias/kg/h}$) realizado por los juveniles de *T. macdonaldi* en base a los valores de conversión propuestos por Gnaiger (1983), donde:

$$1 \text{ mg } O_2/\text{h} = 14.06 \text{ J/h, y}$$

$$1 \text{ cal/h} = 4.1868 \text{ J/h.}$$

Para determinar el trabajo ($W = \text{calorias/kg/h}$) realizado por los juveniles de *T. macdonaldi* para la osmoregulación, se utilizó el modelo propuesto por Potts (1954), que se basa en el trabajo empleado para mover un mol de iones de sal a través de las membranas de un organismo, para ello propuso la siguiente ecuación:

$$W = RTV \left[U \ln \frac{U}{M} + B - U \right]$$

Donde: R = Constante universal de los gases, 1.986 cal/mol/°K.

T = Temperatura absoluta (°K).

V = Volumen de orina producida (litros/kg/h).

U = Concentración de la orina producida (mol/litro).

M = Concentración del medio externo (mol/litro).

B = Concentración de la sangre (mol/litro).

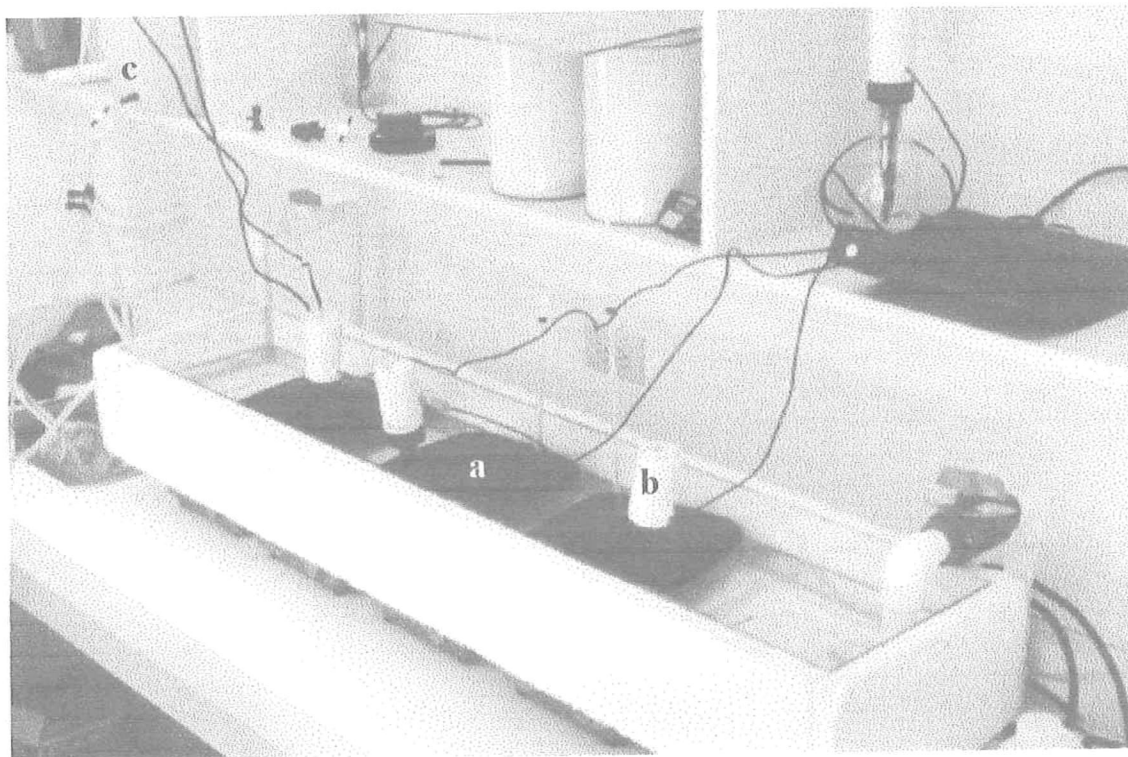


Figura 3.- Cámaras respirométricas empleadas para determinar el consumo de oxígeno de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Cámara respirométrica (a), electrodo polarográfico de oxígeno (b), y sistema para el cambio inmediato de salinidad (c).

3.3.1b RAZÓN DE EXCRECIÓN DE ORINA.

En el 4^{to} organismo de prueba (Figura 1) de cada salinidad se determinó el volumen, la osmoconcentración total (OT_o) y la concentración de los iones sodio, cloro y potasio (Na^+_o , Cl^-_o y K^+_o) en la orina excretada (caracterizadas por el subíndice o). Esto se realizó introduciendo una cánula de polietileno de 0.61 mm de diámetro externo y 0.28 mm de diámetro interno (marca INTRAMEDIC, Clay Adams. De BECTON DICKINSON) en el ducto urogenital de los juveniles (Eddy y Talbot, 1985), para ello no se utilizó anestesia (Fletcher, 1978a). Con la cánula se drenó la orina producida por el organismo en un tiempo de 30-60 minutos, después de ser sometidos al cambio inmediato de salinidad. Por el estrés que provocó la inserción de la cánula y la manipulación a que fueron sometidos los organismos, se permitió que se relajaran por un periodo no menor a 5 horas (Tiempo determinado experimentalmente) antes de someterlos al cambio de salinidad y comenzar las mediciones del volumen de orina excretado, esto también se realizó para asegurar que el flujo de orina fuera representativo de la condición experimental, ya que por la manipulación durante la colocación de la cánula los organismos se estresaron y liberaron la orina contenida en la "vejiga urinaria" (diuresis por manejo) (Eddy y Talbot, 1985; Wood y Patrick, 1994), lo que hizo variar el volumen de orina durante las primeras horas. Una vez transcurrido éste tiempo se iniciaba el cambio de salinidad, que al igual que en el metabolismo nunca excedió de 30 minutos. Posteriormente se esperaba alrededor de una hora para asegurar que la orina producida en la salinidad anterior fuera liberada, esto se comprobó con los valores de osmoconcentración, ya que después de una hora los valores se estabilizaban. La punta de la cánula antes de ser insertada en el organismo se redondeaba con calor, se marcaba a una distancia de 7 mm y se llenaba con agua a una osmoconcentración similar a la del organismo (~ 340 mosm/kg) (Wood y Patrick, 1994). Lo anterior se realizó para evitar dañar internamente al organismo con la punta de la cánula, para saber cuanto debía entrar la cánula y asegurar su posición dentro de la "vejiga urinaria" (determinado experimentalmente), y el líquido isoosmótico se utilizó para eliminar las burbujas de aire que podrían obstruir el flujo de la orina. Una vez dentro del organismo, la cánula se fijó con pegamento instantáneo para piel (comercialmente conocido como Kola Loka), lo que a su vez sirvió para sellar cualquier fuga que pudiera haber entre el tejido de la papila urinaria y la cánula. La longitud de la cánula fue de 40 cm en todos los casos, longitud necesaria para sacarla de la cámara donde se encontraba el pez

y colocarla entre 2 y 8 cm abajo del nivel de la papila urinaria del pez, para evitar que la succión colapzará la “vejiga urinaria”, y para contrarrestar la fricción dentro de la cánula (Eddy y Talbot, 1985) (Figura 4).

La cámara urinaria donde se colocó a los organismos se fabricó con vidrio y contaba con dos secciones de 11 cm de ancho por 40 cm de largo, separadas por una pared de vidrio con malla en los extremos para permitir el flujo de agua, este flujo se generó con una bomba de agua sumergible con capacidad de 500 GPH, lo que permitió mantener al pez nadando siempre en una dirección, y evitó que se volteara y se zafara la cánula (Figura 4). Las muestras de orina se colectaron en tubos Ependorff de 1.7 ml y se guardaron en frío (4 °C) para su posterior análisis. Se tomaron entre 3 y 5 muestras por pez, lo que dependía del volumen colectado y del tiempo de colecta, que por lo general fue de 30 a 60 minutos por muestra.

La razón de excreción de orina (EO=ml/kg/h) se calculó mediante la ecuación:

$$EO = \left(\frac{V}{T} * 60 \right) P$$

Donde: V = Volumen de orina colectado (ml).

T = Tiempo para colectar el volumen (min).

60 = min/h.

P = Peso del organismo (kg).

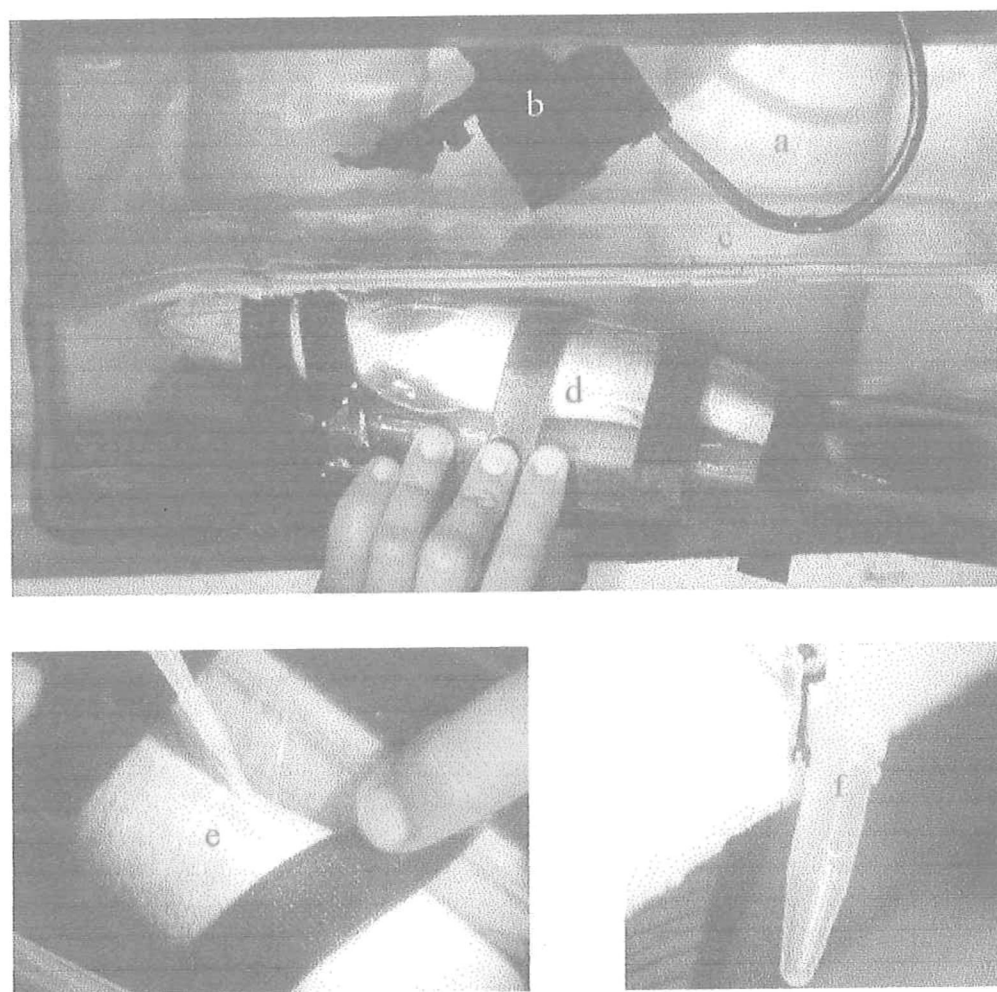


Figura 4.- Fijación de la cánula para determinar la excreción de orina en los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Cámara urinaria (a), bomba de agua (b), pared de separación con malla en los extremos (c), ictiómetro de fijación con la Totoaba (d), pegado de la cánula (e), y tubo Ependorff para coleccionar la orina excretada (f).

3.3.1c MUESTRAS DE SANGRE.

La sangre de los organismos (caracterizada por el subíndice s) se extrajo de la arteria caudal inferior con una jeringa hipodérmica de 1 ml (Figura 5), sin el uso de anestesia, ya que se pueden ocasionar sobreestimaciones (Houston, *et al.*, 1971 a, b). Después de extraerla se colocó en capilares recubiertos con eparina de amonio para evitar su coagulación. De cada organismo se tomó sangre suficiente para llenar 7 capilares (~0.7 ml), de éstos 1 se utilizó para contar los glóbulos rojos y 6 para determinar el hematocrito (Hct), la concentración de glucosa (Cg), la osmoconcentración total (OT_s) y la concentración de los iones sodio, cloro y potasio (Na⁺_s, Cl⁻_s y K⁺_s). Para determinar el Hct, la Cg, la OT_s y la concentración de Na⁺_s, Cl⁻_s y K⁺_s, se centrifugaron los capilares a 10,000 rpm durante 10 minutos (Nordlie, *et al.*, 1982), una vez centrifugados se procedió a medir las proporciones de suero y precipitado celular, para determinar el hematocrito, que es una razón entre el precipitado celular y el precipitado celular más el suero, expresado en porcentaje (Houston, 1990), posteriormente se colectó el suero y se desechó el precipitado celular; del suero se tomó una muestra que se congeló en nitrógeno líquido para determinar posteriormente la Cg mediante el método de hexoquinasa (SIGMA Kit 16-1000); y otra muestra se empleó para determinar la OT_s y las concentraciones de Na⁺_s, Cl⁻_s y K⁺_s. El Hct sirve para determinar si un organismo está ganando o perdiendo agua, pues las proporciones de suero y precipitado celular así lo indican; la Cg se midió para determinar su función ya sea como componente osmótico o como respuesta al estrés (Woo y Wu, 1982), la OT_s y la concentración del Na⁺_s, Cl⁻_s y K⁺_s, sirven para determinar el flujo de agua y sales hacia o desde la sangre.

El conteo de glóbulos rojos se realizó diluyendo la sangre 1:200 en una pipeta de Thoma, con un líquido de dilución (líquido de Dacie) preparado con formaldehído al 40 % y citrato trisódico al 3 % p/v. Una vez diluida la sangre, se cargó una cámara de Neubauer modificada, y se dejó reposar por al menos 3 minutos para permitir que las células se sedimentaran; el conteo se realizó en el microscopio compuesto (Houston, 1990). Esto se realizó para determinar si la aclimatación a diferentes salinidades influyo sobre el número de eritrocitos de la sangre, esto basado en el principio de que a mayor salinidad menor cantidad de gases disueltos en el agua.

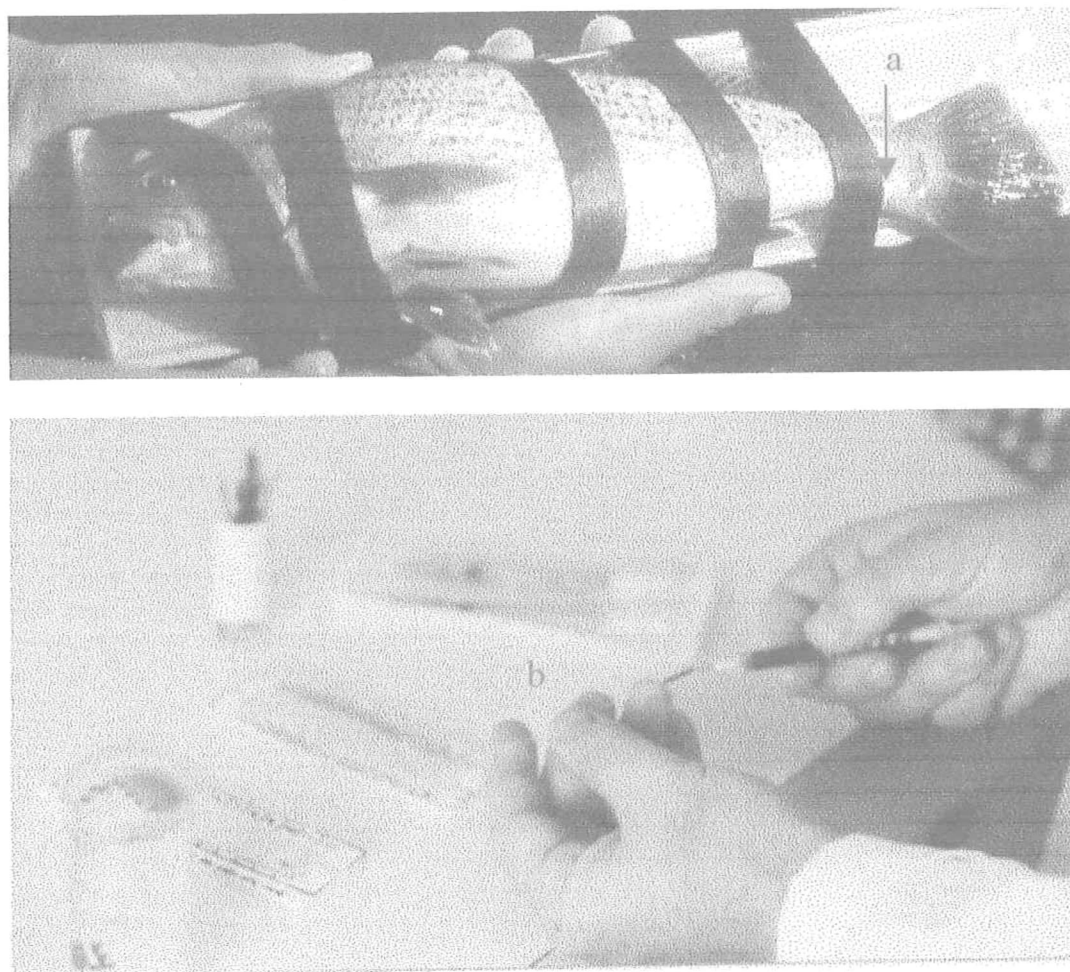


Figura 5.- Toma de muestras de sangre de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Lugar de muestreo para extraer la sangre de la arteria caudal inferior (a) y colocación de la sangre en los capilares con heparina (b).

3.3.1d MUESTRAS DE TEJIDO.

Los dos organismos seleccionados para la disección en cada salinidad de cambio inmediato (Figura 1), se sacrificaron mediante un corte en la espina dorsal en la sección posterior de la cabeza, después se levantó la piel de la parte abdominal para tomar las muestras del tejido muscular. La cavidad visceral también se disectó para tomar las muestras del riñón (Figura 6). El músculo blanco se utilizó ya que es por mucho el tejido más grande del organismo, y parece ser la mayor fuente de transferencia de agua hacia la sangre, sirviendo como reserva de agua para proteger a los órganos vitales de un estrés osmótico (Talbot, *et al.*, 1992). También se tomaron muestras del riñón ya que es el órgano junto con las branquias encargado de extraer sales y agua de la sangre, por lo tanto puede estar sujeto a variaciones osmóticas producidas por la sangre, lo que podría ocasionar variaciones en su contenido de agua. La cantidad de agua en ambos tejidos se determinó colocando las muestras de tejido (~2 g) en un horno a 80 °C durante 48 horas.

3.3.1e DISECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS DE AGUA Y ORINA DE LA "VEJIGA URINARIA".

En los organismos disectados se tomaron muestras del agua contenida en el estómago y en el intestino, dividiendo éste último en 3 secciones (anterior, medio y posterior), así como de la orina contenida en la "vejiga urinaria" (denominadas con el subíndice i). En todas estas muestras se determinó la OT_i y la concentración del Na^+ , Cl^-_i y K^+ . Las muestras se tomaron con jeringas hipodérmicas de 1 ml. Primero se tomaron las muestras de la orina contenida en la "vejiga urinaria", después se extrajo el líquido contenido en el estómago y posteriormente se dividía y ligaba el intestino en 3 secciones (anterior, medio y posterior), ligando también en donde el intestino se une con el estómago y con el ano (Figura 7), para después extraer el líquido intestinal correspondiente a cada sección. Todas las muestras se colocaron por separado en tubos Ependorff de 1.7 ml y se conservaron en frío (4 °C) para su posterior análisis.

Estas muestras junto con las de la orina excretada, se diluyeron 1:10 con diluyente especial para orina, para poder ser analizadas en el analizador de iones (CIBA-CORNING 644 $Na^+/K^+/Cl^-$ Analyzer).

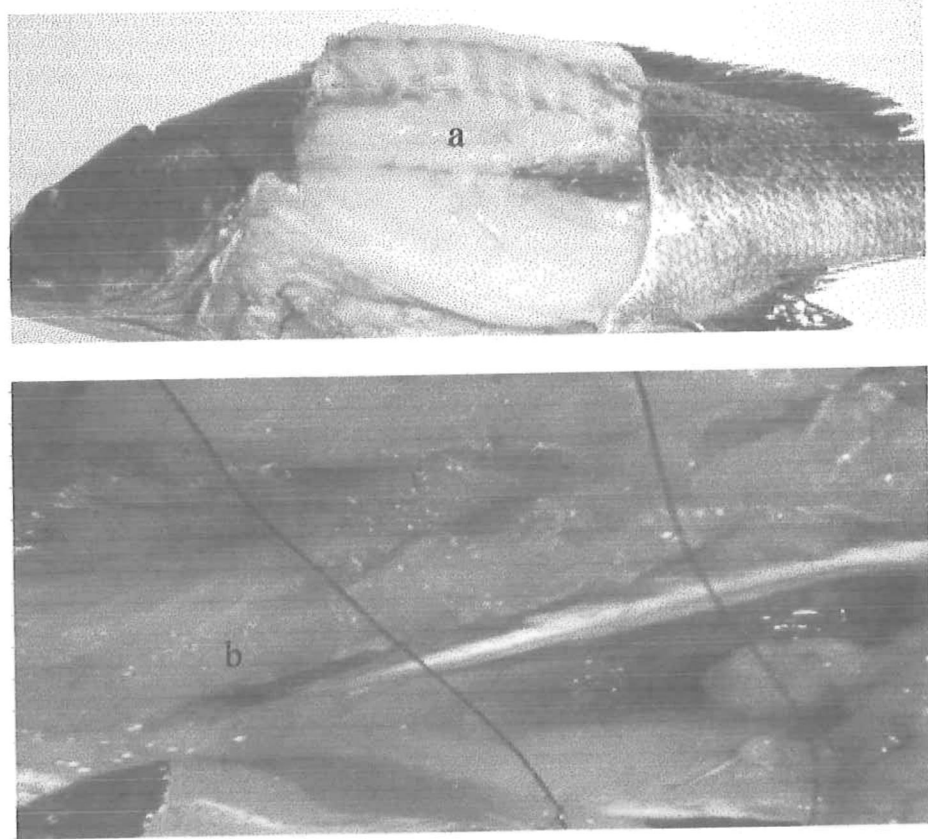


Figura 6.- Toma de muestras del tejido muscular blanco (a) y del riñón (b) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad.

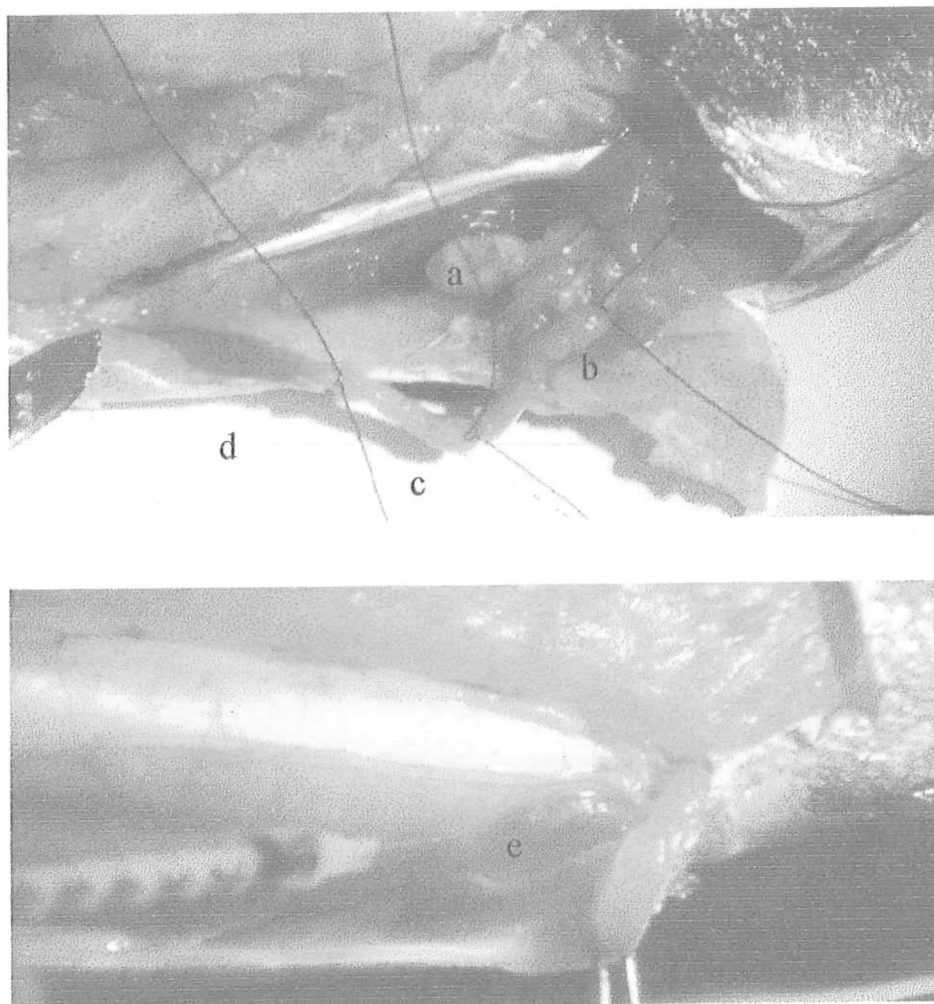


Figura 7.- Toma de muestras de los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad. Estómago (a), intestino anterior (b), intestino medio (c), intestino posterior (d), y “vejiga urinaria” (e).

3.3.1f ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO.

Todas las muestras de líquido (agua, sangre, líquidos internos y orina excretada) se analizaron con un microosmómetro (Precision Systems 5004 μ osmete) y un analizador de iones (CIBA-CORNING 644 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ Analyzer) para determinar la osmoconcentración total (OT) y la concentración de los iones Na^+ , Cl^- y K^+ respectivamente.

En todos los casos también se restó la suma de las concentraciones del Na^+ , Cl^- y K^+ a la OT, para determinar la cantidad con que otras sustancias contribuyeron a la presión osmótica y estos valores se denominaron OTROS.

$$OTROS = OT - (\text{Na}^+ + \text{Cl}^- + \text{K}^+)$$

3.4 EXPERIMENTO 2.

3.4.1 PORCENTAJE DE HUMEDAD EN EL TIEMPO.

En este experimento se determinó el cambio del contenido de agua muscular, en el corto plazo (3 horas), para esto se midió el contenido de humedad en el músculo a intervalos de tiempo de 15, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos, después de cambiar a los organismos a las salinidades de prueba (5 y 50 ‰). Estos organismos se aclimataron a una salinidad de 34 ‰ (agua de mar natural) salinidad a la que también se tomaron muestras (tiempo 0) de tejido muscular para comparar las variaciones del contenido de agua.

Para este experimento se sometieron grupos de 2 organismos a cada tiempo de medición, y se realizó introduciendo a los organismos en recipientes de 20 litros de capacidad con la salinidad de prueba (5 y 50 ‰) y aireación constante, una vez transcurrido el tiempo de cada medición (Figura 1) se sacó a los organismos y se tomaron las muestras de tejido muscular de acuerdo a lo descrito en la sección 3.3.1d.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para verificar la normalidad de todas las series de datos se aplicó la prueba estadística "Kolmogorov-Smirnov". Para los datos donde se realizó análisis de varianza de una vía (ANDeVA) se verificó la homogeneidad de varianzas de "Barlett", y en los casos donde se encontraron diferencias significativas en el ANDeVA ($P < 0.05$) se procedió a un análisis a posteriori mediante la prueba de "Honestidad de Tukey" con la que se

encontraron las diferencias específicas (Steel y Torrie, 1989). Las pruebas estadísticas se realizaron comparando primero los valores de las salinidades de cambio inmediato para cada salinidad de aclimatación, y después los valores de las distintas salinidades de aclimatación a una sola salinidad de cambio inmediato.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron en computadora con el programa STATISTICA 4.5 (STAT Soft).

4. RESULTADOS

4.1. METABOLISMO

El consumo de oxígeno de los organismos, expresado como la tasa metabólica QO_2 ($mg\ O_2/kg/h$) se muestra en la Figura 8, en ella se puede observar como varió la QO_2 con la salinidad, aumentando en todas las salinidades de aclimatación al llegar a la salinidad de cambio inmediato de 11 y 5 ‰. Es importante resaltar que únicamente en estas salinidades de cambio inmediato se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a las demás salinidades de cambio inmediato. También se encontró que en las salinidades de cambio inmediato de 20 a 50 ‰ no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) ni en las diferentes salinidades de aclimatación, ni entre las diferentes salinidades de aclimatación.

Al calcular el trabajo total ($W = \text{calorias}/kg/h$) que las Totoabas realizaron durante los cambios de salinidad inmediatos (Figura 9), se observó que se presentó el mismo comportamiento que describió la QO_2 , lo que correspondió con lo esperado, debido a que únicamente se realizaron transformaciones de unidades. Sin embargo, al calcular el trabajo osmótico ($W = \text{calorias}/kg,h$) en base al modelo propuesto por Potts (1954) (Figura 9), se encontró que el trabajo osmótico se incrementó linealmente conforme aumentó la salinidad de cambio inmediato, llegando a sus valores máximos en 50 ‰, mismo que representó el mayor porcentaje de energía ($>3\%$) que las Totoabas destinaron para la osmoregulación. Es importante resaltar que los valores de trabajo osmótico no variaron entre las diferentes salinidades de aclimatación. También se observó que en las salinidades de cambio inmediato de 11 y 5 ‰ donde el trabajo total aumentó, el trabajo osmótico presentó sus valores más bajos, representando estos menos del 1 % del trabajo total.

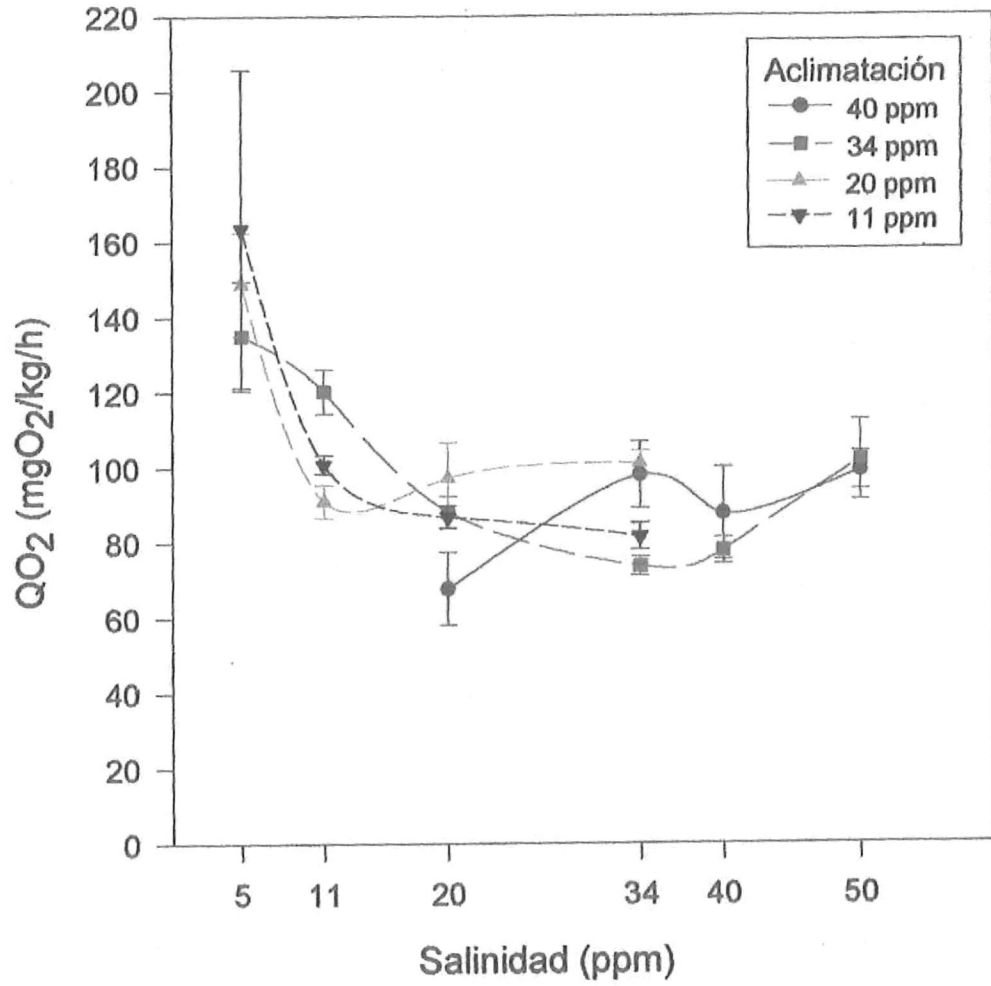


Figura 8.- Tasa metabólica promedio ($QO_2 = \text{mgO}_2/\text{kg/h}$) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

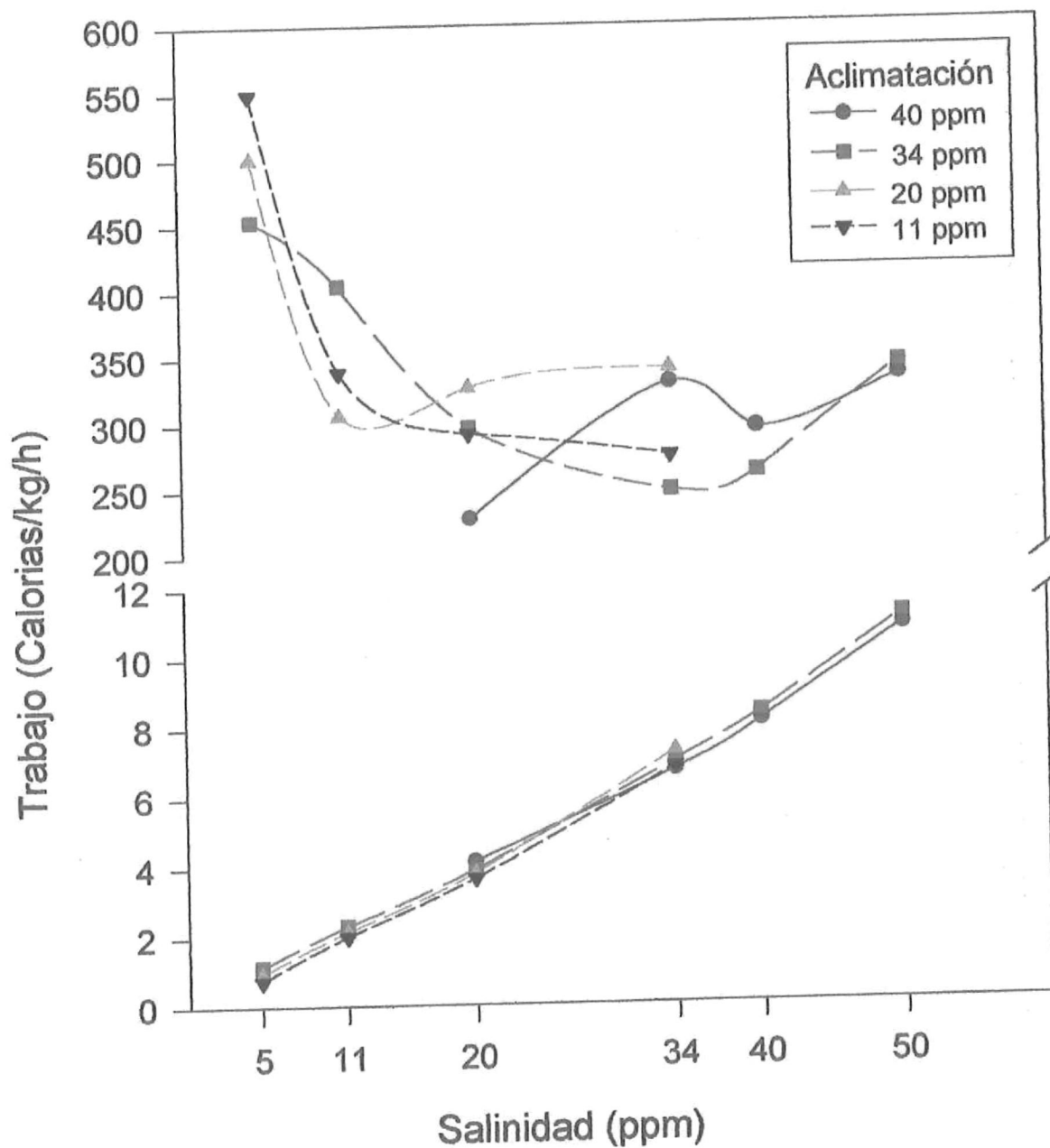


Figura 9.- Trabajo total (arriba) y trabajo osmótico (modelo de Potts, 1954) (abajo) (Calorias/kg/h) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad.

4.2. EXCRECIÓN DE ORINA

El comportamiento de la excreción de orina (EO) de *T. macdonaldi* se muestra en la Figura 10, en ella sólo se pueden describir las tendencias, debido a que únicamente se contó con un organismo para cada condición experimental. Se observa en la figura que la excreción de orina presentó en todas las salinidades de aclimatación sus valores más bajos en la salinidad de cambio inmediato de 11 ‰ (isoosmótica). Menos en la curva que representa los organismos aclimatados a 40 ‰, ya que en esta salinidad de aclimatación no se realizó cambio inmediato a 11 ‰. Sin embargo, la tendencia de la curva indica una disminución en sus valores conforme se aproximó a valores de salinidad isoosmótica. También se observó que se presentaron aumentos de la EO a partir de la salinidad de cambio inmediato de 11 ‰, aumentando hacia ambos extremos de la salinidad de cambio inmediato: salinidades hipoosmóticas (5 ‰) y salinidades hiperosmóticas (20, 34, 40 y 50 ‰). Otro factor importante que se observó en la Figura 10 es que la EO disminuyó conforme la salinidad de aclimatación fue mayor, presentando los valores más altos en las salinidades de aclimatación de 11 y 20 ‰ y los menores en las de 34 y 40 ‰.

La osmoconcentración total de la orina excretada (OT_o) se muestra en la Figura 11, en ella se puede observar que el comportamiento mostró la misma tendencia que la EO (Figura 10), es decir, presentó los valores mínimos en cada salinidad de aclimatación entre las salinidades de cambio inmediato de 11 y 20 ‰, aumentando también hacia ambos lados de las salinidades de cambio inmediato (hipoosmótico e hiperosmótico). La diferencia principal de la OT_o con los valores de la EO es que la OT_o presentó sus valores mayores en las salinidades de aclimatación de 34 y 40 ‰, y los menores en las salinidades de aclimatación de 11 y 20 ‰, al inverso de lo ocurrido en la EO.

En la Figura 12 se muestran las concentraciones de los iones Na^+ , Cl^- , K^+ y de los demás componentes osmóticos $OTROS_o$ de la orina excretada. En el caso del Na^+ se observó que los valores menores en todas las salinidades de aclimatación correspondieron a las salinidades de cambio inmediato de 11 y 20 ‰. Así mismo se observó que las curvas de las salinidades de aclimatación de 11 y 20 ‰ presentaron los valores mayores, comportamiento similar al mostrado en la Figura 10 con la EO. En el caso del Cl^- se encontró una tendencia similar a la del Na^+ en todas las salinidades de aclimatación, en cuanto a la salinidad de cambio inmediato a la que se presentaron los valores mínimos (11 ‰). Sin embargo, no hubo una tendencia clara en las diferentes salinidades de

aclimatación. El K^+_o en la orina excretada aportó las concentraciones más bajas y no manifestó una tendencia clara en las salinidades de cambio inmediato, únicamente entre las salinidades de aclimatación se puede describir una tendencia, a presentar los valores más altos en las salinidades de aclimatación más bajas (11 y 20 ‰) y visceversa en las altas (34 y 40 ‰). En los componentes osmóticos restantes (OTROS_o) de la orina excretada, se encontró un comportamiento inverso al descrito en el Na^+_o y Cl^-_o . Es decir, los valores mayores en cada salinidad de aclimatación se presentaron en la salinidad de cambio inmediato de 11 ‰, disminuyendo hacia ambos lados de las salinidades de cambio inmediato (hipoosótico e hiperosmótico). También se observó que los valores se incrementaron en cada salinidad de cambio inmediato conforme aumentó la salinidad de aclimatación, como ocurrió con la OT_o (Figura 11).

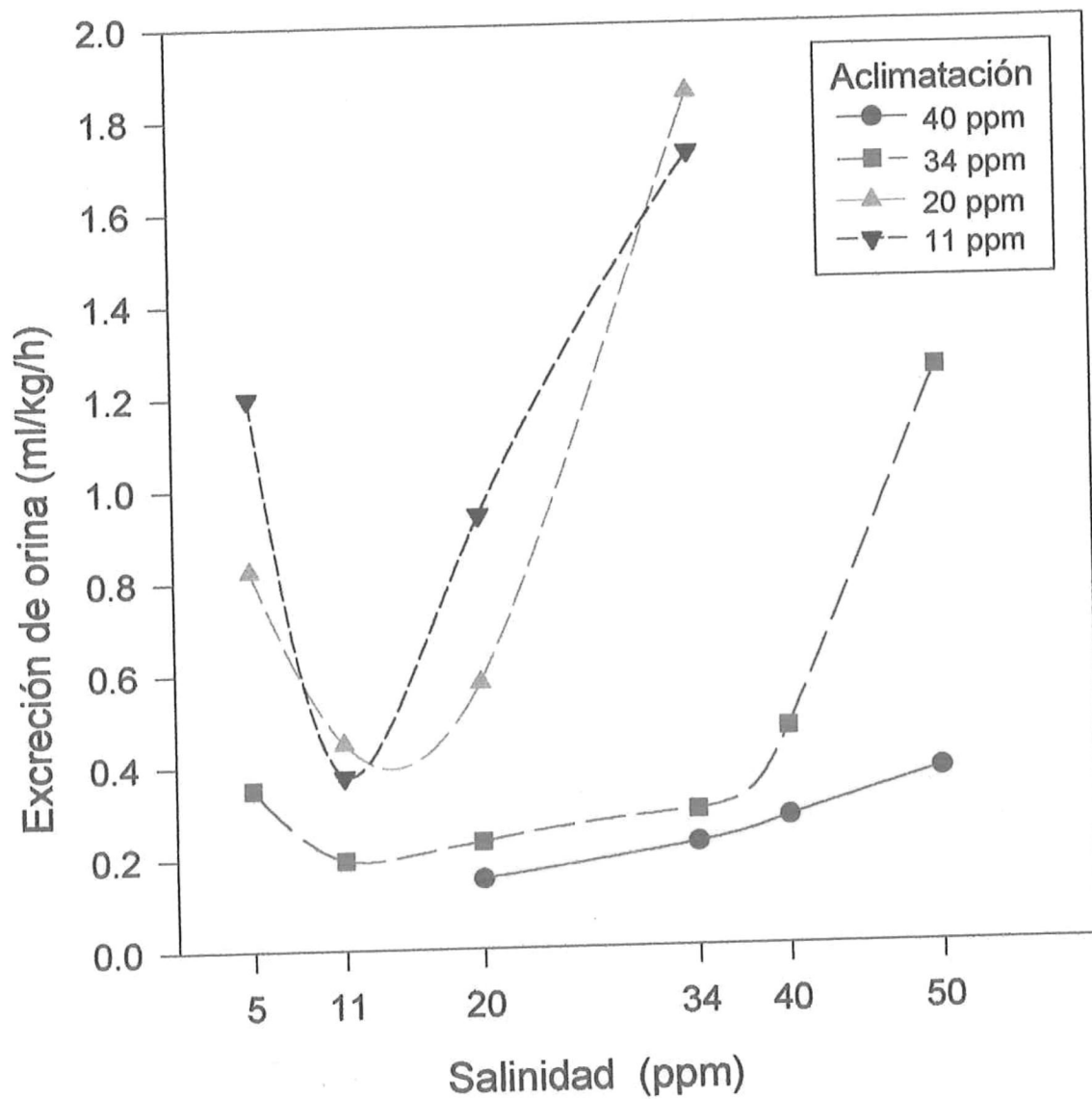


Figura 10.- Razón de excreción de orina (ml/kg/h) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad.

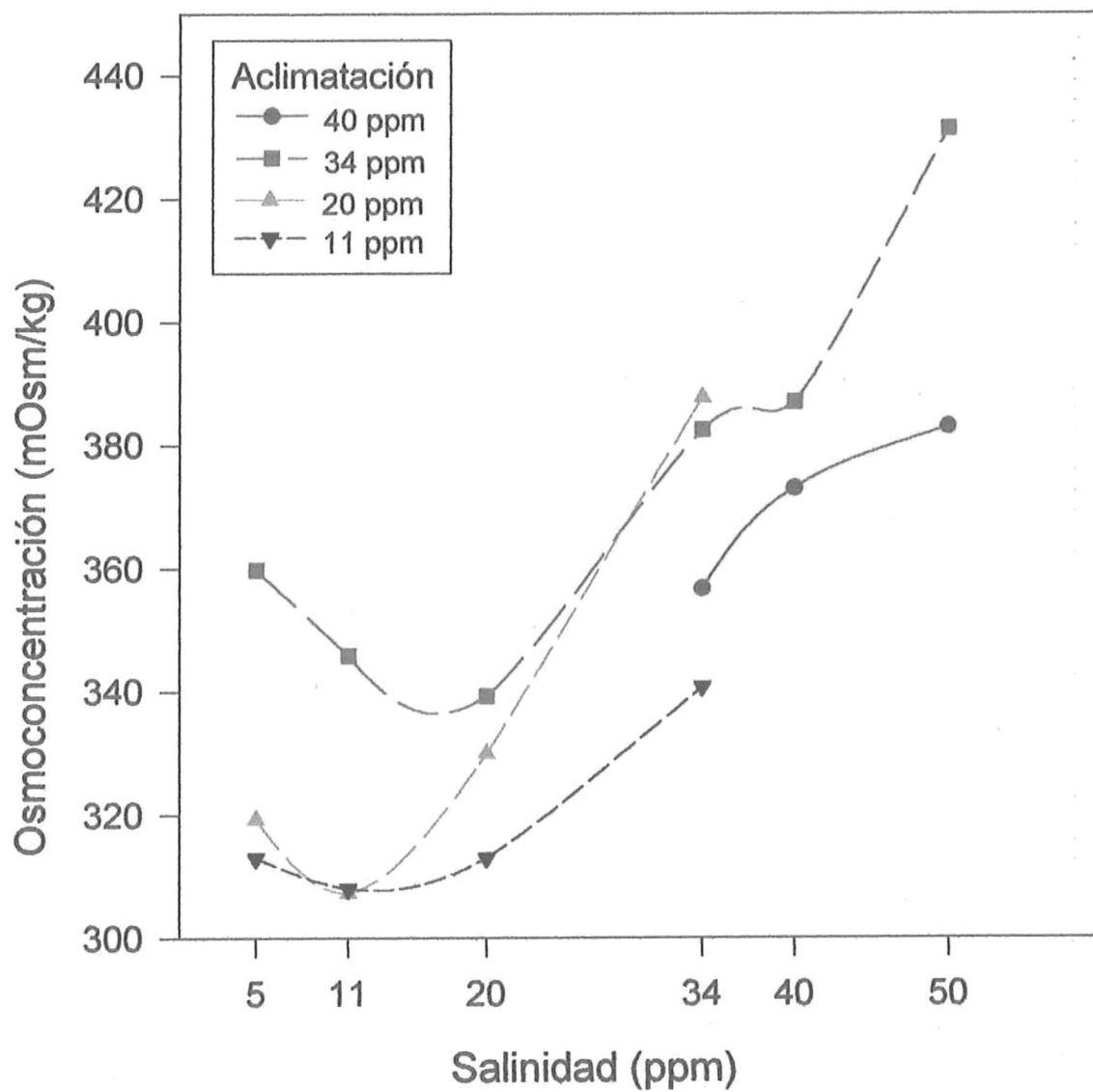


Figura 11.- Osmoconcentración (mOsm/kg) de la orina excretada por los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad.

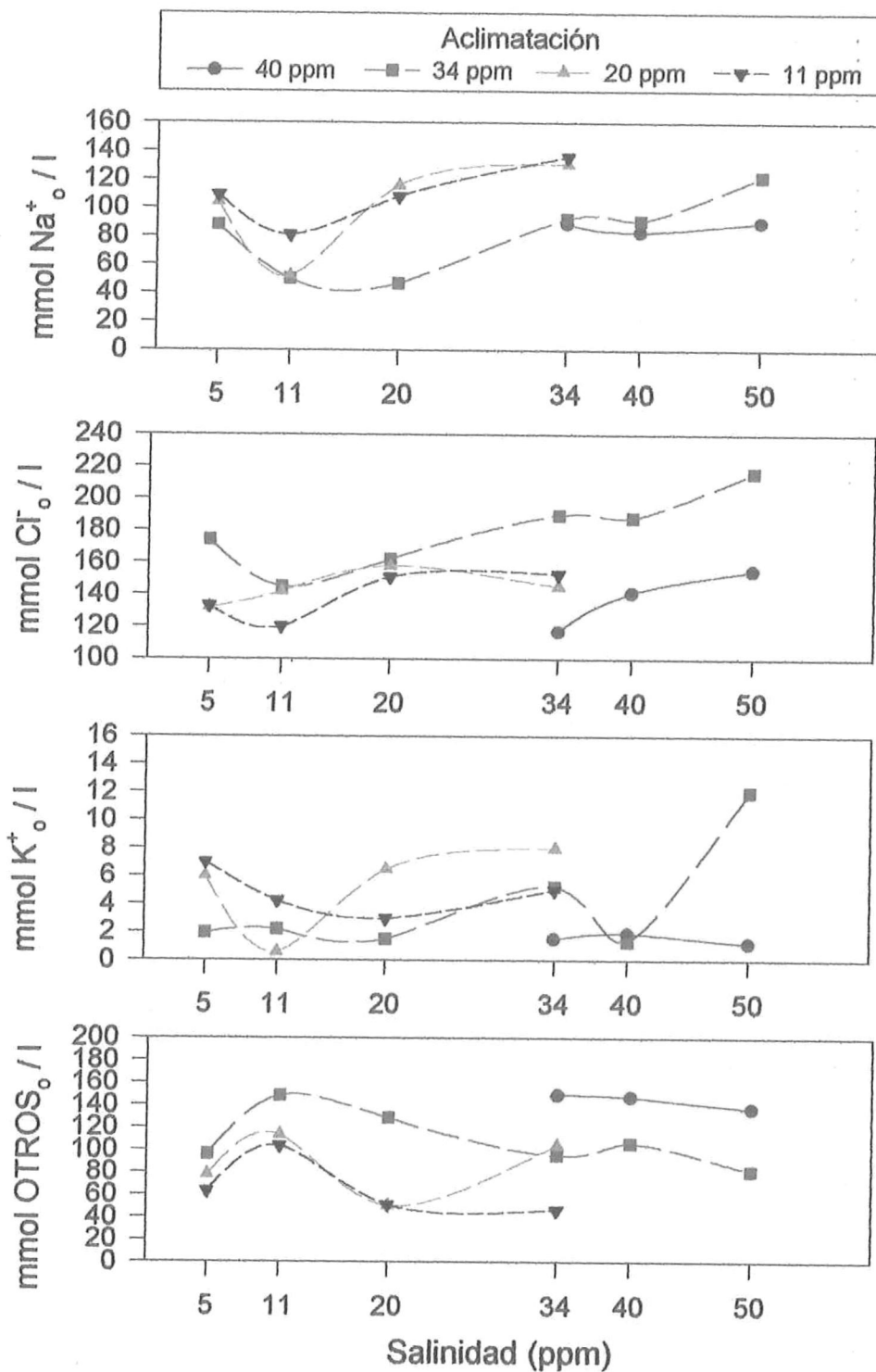


Figura 12.- Componentes de la concentración osmótica de la orina excretada por los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad.

4.3. SANGRE

La osmoconcentración total de la sangre (OT_s) se muestra en la Figura 13, en ella se observó una tendencia general a disminuir los valores conforme bajó la salinidad de cambio inmediato. Sin embargo, en las salinidades de cambio inmediato de 11 a 40 ‰ se presentó una disminución menor, con respecto a la que ocurrió en las salinidades de cambio inmediato de 5 y 50 ‰, donde los cambios en la osmoconcentración fueron máyores. Es importante resaltar que en todas las salinidades de aclimatación se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$). Sin embargo, las diferencias más importantes se presentaron en los extremos de las salinidades de cambio inmediato (5 y 50 ‰), donde la variación fue similar en valor a la que se presentó en el rango de las salinidades de cambio inmediato de 11 a 40 ‰.

En la Figura 14 se observan los componentes que constituyeron la OT_s , en ella se encontró que el Na^+_s y el Cl^-_s son los elementos que mayor aporte dan a la OT_s (más de 90 %), y son también los elementos que generaron su comportamiento general. Así mismo, presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en todas las salinidades de aclimatación; resaltando, al igual que en la OT_s , las diferencias presentes en las salinidades de cambio inmediato de 5 y 50 ‰. En el caso del K^+_s y de los OTROS_s no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) debidas a ningún factor de comparación, por lo tanto su aporte al comportamiento general de la OT_s se consideró poco significativo. Presentando un aporte a la osmoconcentración total mínimo ($< 10\%$), siendo el K^+_s el que menor aporte presentó.

En la glucosa de la sangre no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los diferentes tratamientos, por lo que la concentración promedio general fue de 1.857 mmol/l (± 0.632 mmol/l). Sin embargo, en todas las salinidades de cambio inmediato los valores mayores de glucosa se presentaron en los organismos que fueron sometidos a la excreción de orina (Anexo 1).

Los valores del hematocrito (Hcto), se muestran en la Figura 15. En ella se puede observar que en todas las salinidades de aclimatación los valores mayores de Hcto correspondieron a las salinidades de cambio inmediato iguales a la salinidad de aclimatación. Este mismo comportamiento se presentó al realizar el análisis estadístico, donde se encontró que en todas las salinidades de aclimatación la única diferencia significativa ($P < 0.05$) se presentó en la salinidad de cambio inmediato igual a la de aclimatación. Al comparar los valores de éstas salinidades entre las diferentes salinidades

de aclimatación, se encontró que la aclimatación a 34 ‰ presentó los mayores valores de Hcto, diferentes significativamente ($P < 0.05$) a los de las aclimatadas a 11 y 40 ‰.

En el conteo de eritrocitos (Tabla 1) se encontró que únicamente en la salinidad de aclimatación de 40 ‰ se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo el número de eritrocitos mayor a esta salinidad.

Tabla 1 .- Conteo de glóbulos rojos (eritrocitos) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades.

Conteo de eritrocitos	Salinidad de aclimatación (ppm)			
	11	20	34	40
Millones/mm ³	2.986±0.150	2.633±0.047	2.865±0.137	3.625±0.364 *

* = diferencia significativa ($P < 0.05$)

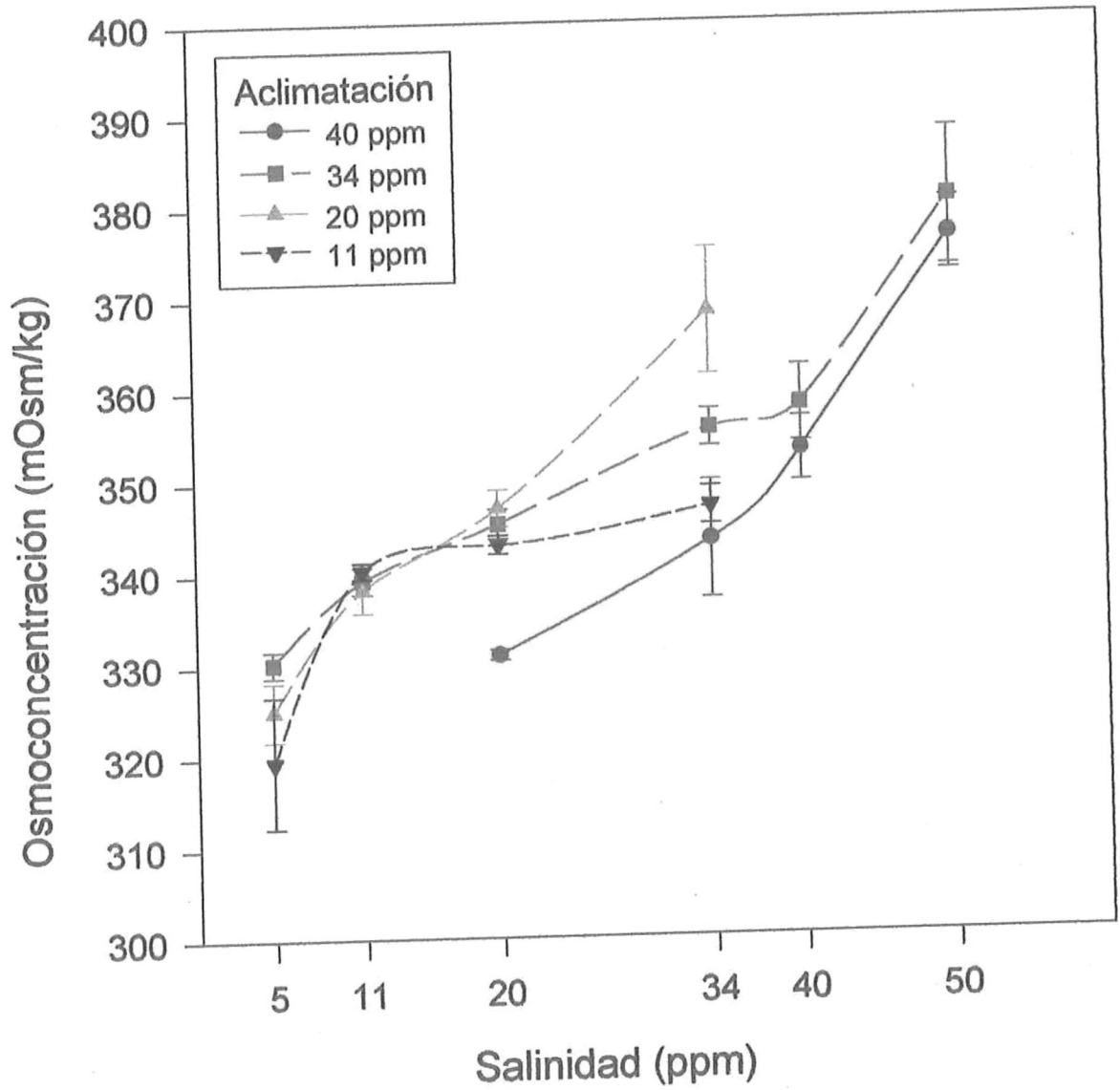


Figura 13.- Osmoconcentración promedio (mOsm/kg) de la sangre de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

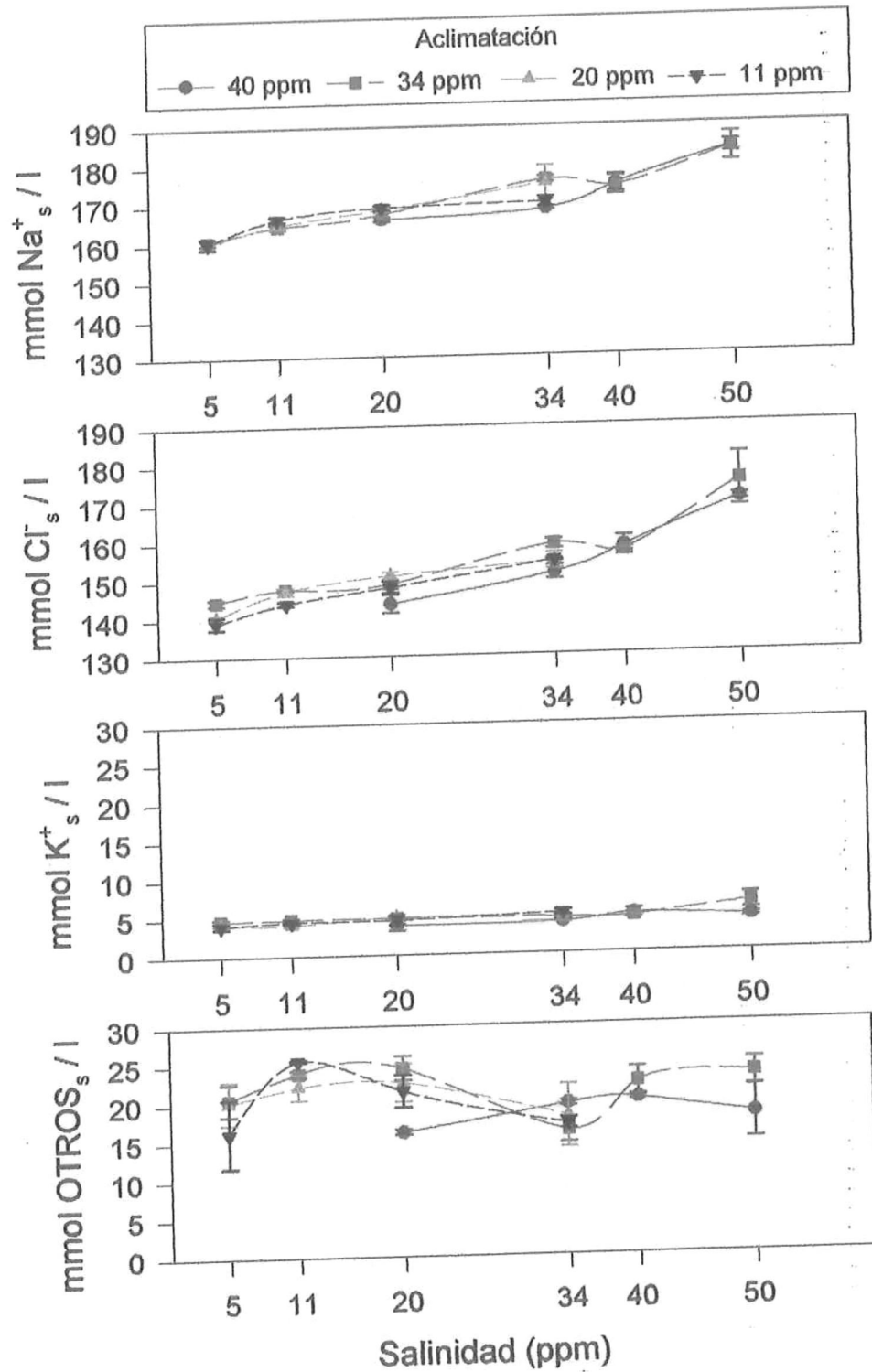


Figura 14.- Componentes de la concentración osmótica de la sangre en los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

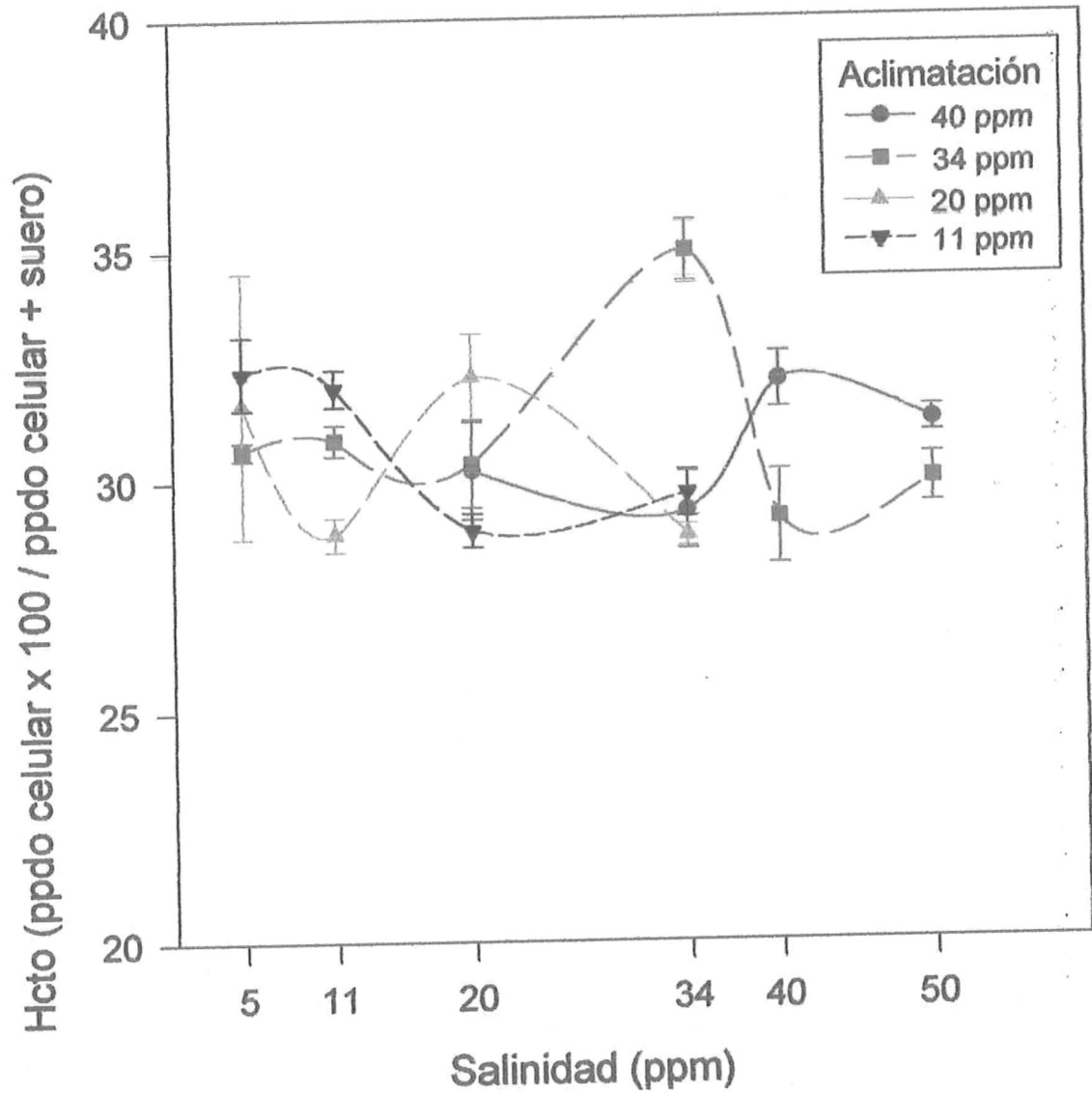


Figura 15.- Valor promedio del hematocrito (Hcto) (en porcentaje) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

4.4. PORCENTAJE DE HUMEDAD (Experimento 1).

En la Figura 16, se muestran los porcentajes de humedad en el músculo y en el riñón. En el músculo se observó una tendencia a disminuir el porcentaje de humedad conforme la salinidad de cambio inmediato se incrementó. Sin embargo, únicamente en la salinidad de aclimatación de 34 ‰ se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo éstas en las salinidades de cambio inmediato de 5 y 50 ‰. Al comparar las diferentes salinidades de aclimatación se encontró que no existió efecto significativo ($P > 0.05$) debido a la aclimatación.

En el caso del porcentaje de humedad en el riñón no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ningún punto de comparación, por lo que se consideró homogéneo el porcentaje de humedad a pesar de la gran variación que se presentó en comparación con las variaciones del músculo, que fueron de menos de 3 %.

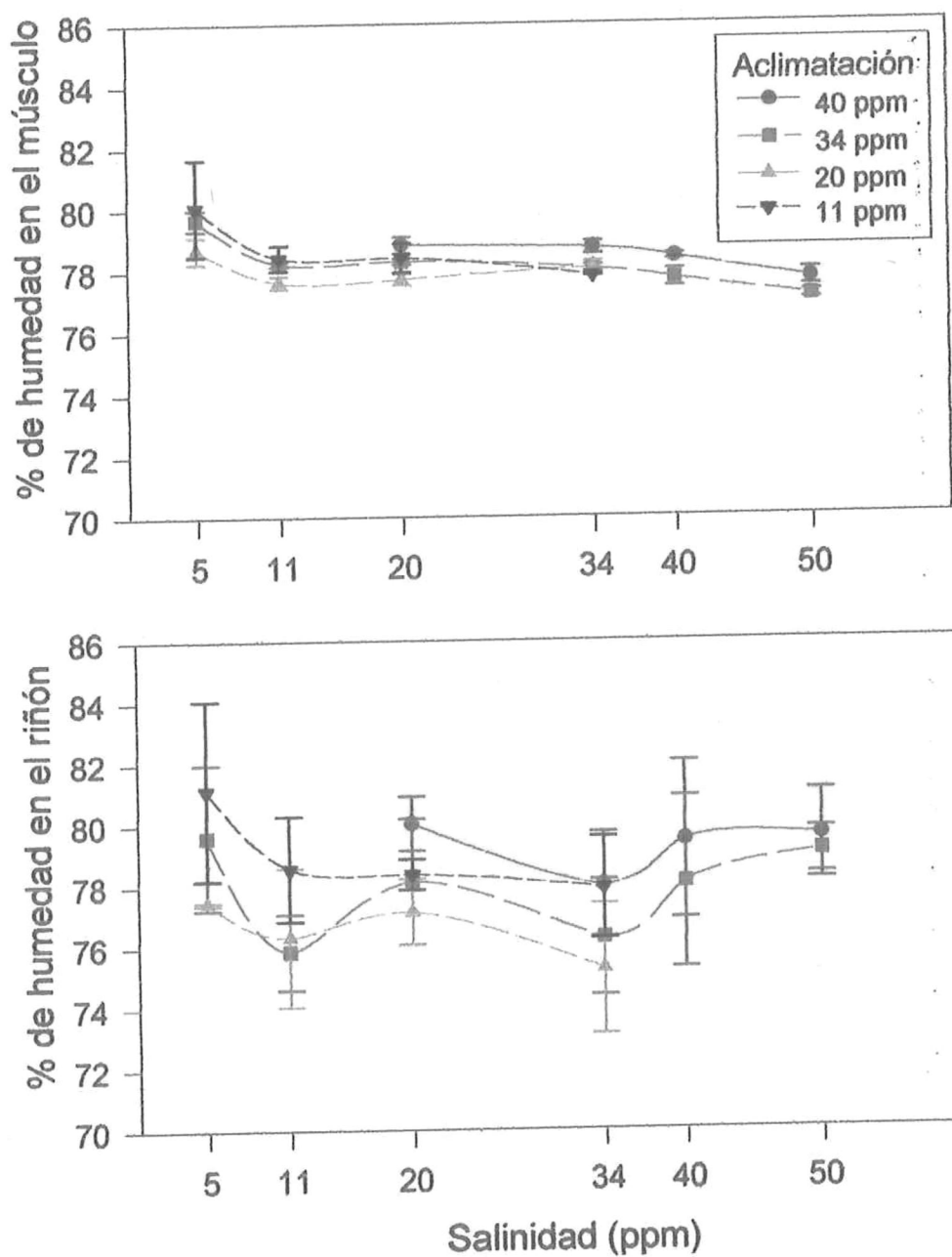


Figura 16.- Porcentaje de humedad promedio en el músculo (arriba) y riñón (abajo) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

4.5. FLUIDOS INTERNOS

El comportamiento de la osmoconcentración total (OT_i) en los líquidos internos muestreados se presenta en la Figura 17, en ella se observó que la OT del medio exterior (agua) en todas las salinidades de cambio inmediato presentó un comportamiento similar al llegar al estómago. Es decir, disminuyó a valores isotónicos ($\sim 11\%$) en las salinidades de cambio inmediato hiperosmóticas (20, 34, 40 y 50 ‰) y aumentó a valores isotónicos en las salinidades de cambio inmediato hipoosmóticas (5 y 11 ‰), y esto se presentó en todas las salinidades de aclimatación. Después de presentar esta variación inicial, los valores de la OT_i permanecieron constantes a lo largo del intestino y de la “vejiga urinaria”. Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) importantes, únicamente algunos puntos presentaron diferencias. Sin embargo, no representaron ninguna tendencia.

En los casos del Na^+_i y Cl^-_i Figuras 18 y 19 respectivamente, se presentó un comportamiento similar al descrito anteriormente, únicamente que en éstos casos los valores de concentración mínima se presentaron en el intestino anterior y no en el estómago como en el caso de la OT_i , y al igual que en la OT_i no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) al comparar las diferentes salinidades de cambio inmediato, ni al comparar las salinidades de aclimatación en un mismo punto de muestreo. Sin embargo, al comparar los valores entre los diferentes puntos de muestreo interno, se encontró que en ambos casos se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el estómago y las tres secciones del intestino, y entre la “vejiga urinaria” y las secciones del intestino. Es importante resaltar que la concentración de estos iones tendió a incrementarse en la orina contenida en la “vejiga urinaria”, llegando a valores similares a los del estómago, motivo por el cual no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ambos puntos de muestreo.

En la Figura 20 se muestran los valores del K^+_i , en ella se pudo observar una gran variación a lo largo de los diferentes puntos muestreados, por lo que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$). Sin embargo, se presentó una tendencia general que manifestó un comportamiento similar al de la OT_i en el caso del estómago. Es decir, los valores del K^+_i disminuyeron con respecto a la concentración presente en el medio externo “Agua” en los casos de las salinidades de cambio inmediato hiperosmóticos y aumentaron en los casos de las salinidades de cambio inmediato hipoosmóticos. Sin embargo, a partir

del estómago las concentraciones aumentaron su variación hasta llegar a la “vejiga urinaria”, lugar donde la variación disminuyó.

En el caso de los componentes osmóticos restantes (OTROS_i) de los líquidos internos muestreados (Figura 21) se observó un comportamiento inverso al descrito en los casos anteriores. En éste se presentaron incrementos en los valores a partir del estómago, llegando a sus valores máximos en el intestino anterior, para después disminuir en la “vejiga urinaria”, llegando a valores similares a los del estómago. En el análisis estadístico se encontró que en todas las salinidades de aclimatación se presentó el mismo comportamiento, tanto el estómago como la “vejiga urinaria” fueron diferentes significativamente ($P < 0.05$) a las tres secciones del intestino. Únicamente en el caso de la salinidad de aclimatación de 40 ‰ no se cumplió este comportamiento, en este caso la diferencia significativa ($P < 0.05$) fue únicamente con el intestino anterior, y eso en parte se pudo atribuir a lo incompleto de los datos en este caso.

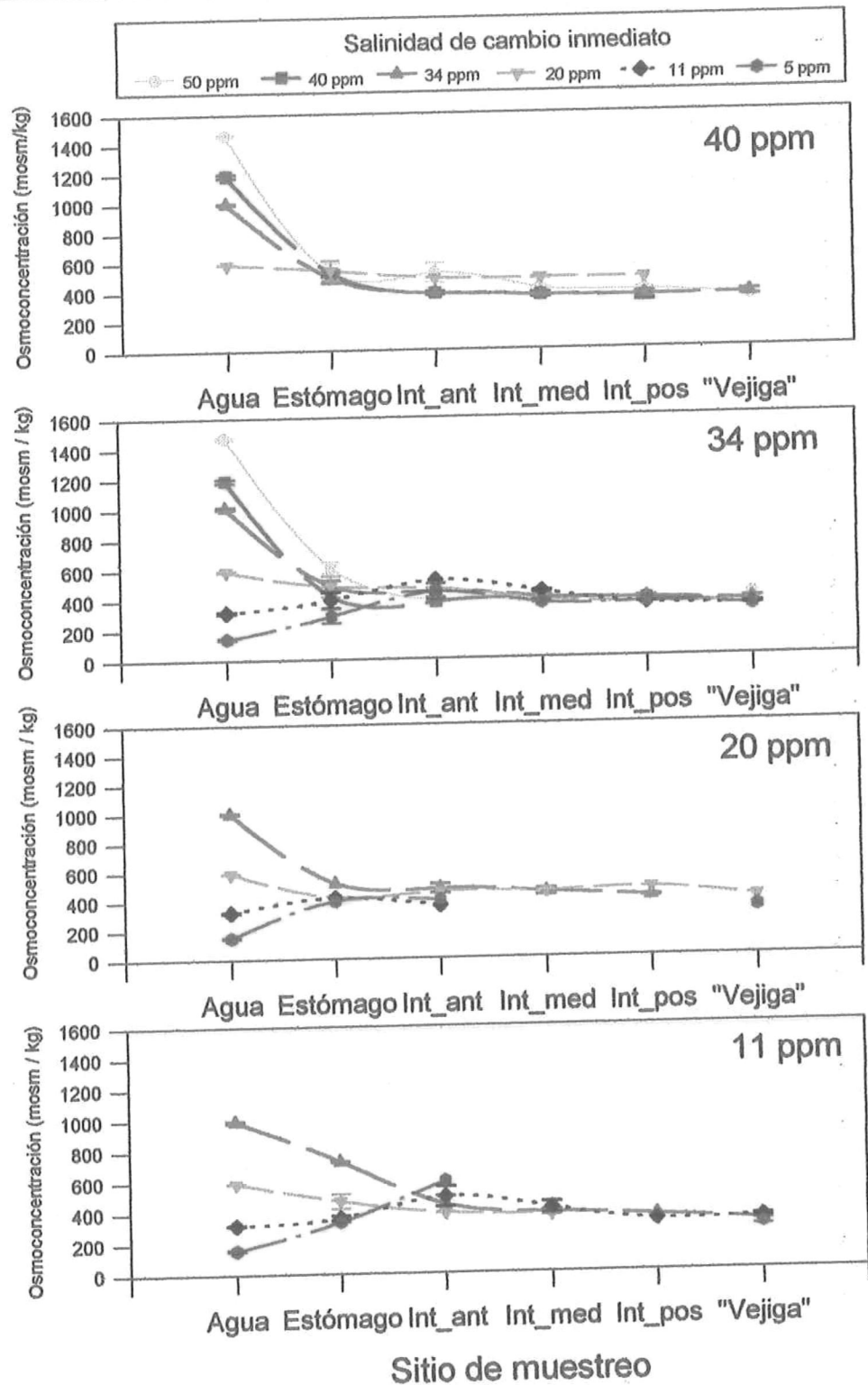


Figura 17.- Osmoconcentración promedio (mOsm/kg) del medio externo "Agua" y de los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

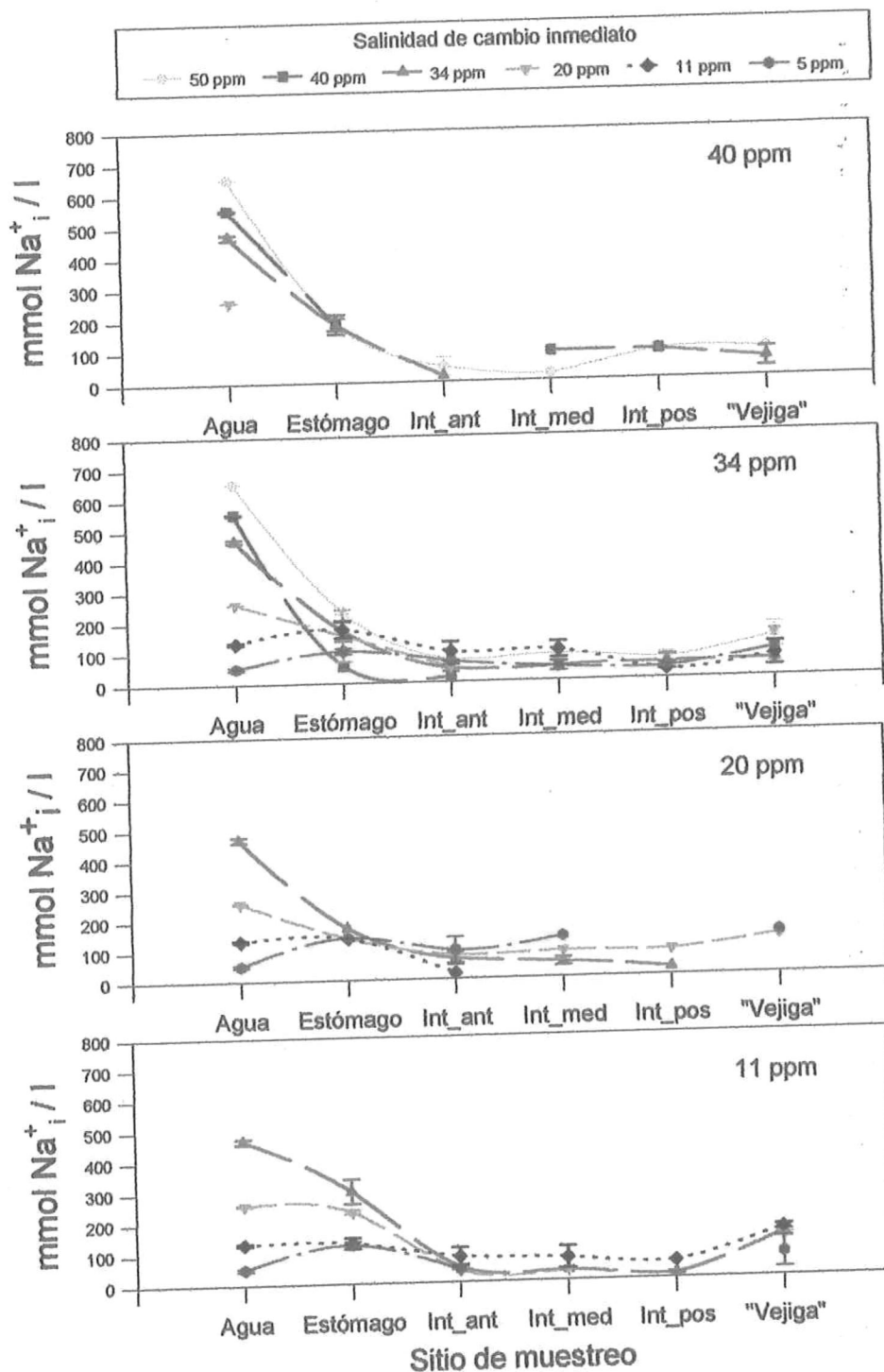


Figura 18.- Concentración promedio de sodio (Na⁺) (mmol/l) del medio externo "Agua" y de los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a diferentes salinidad (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

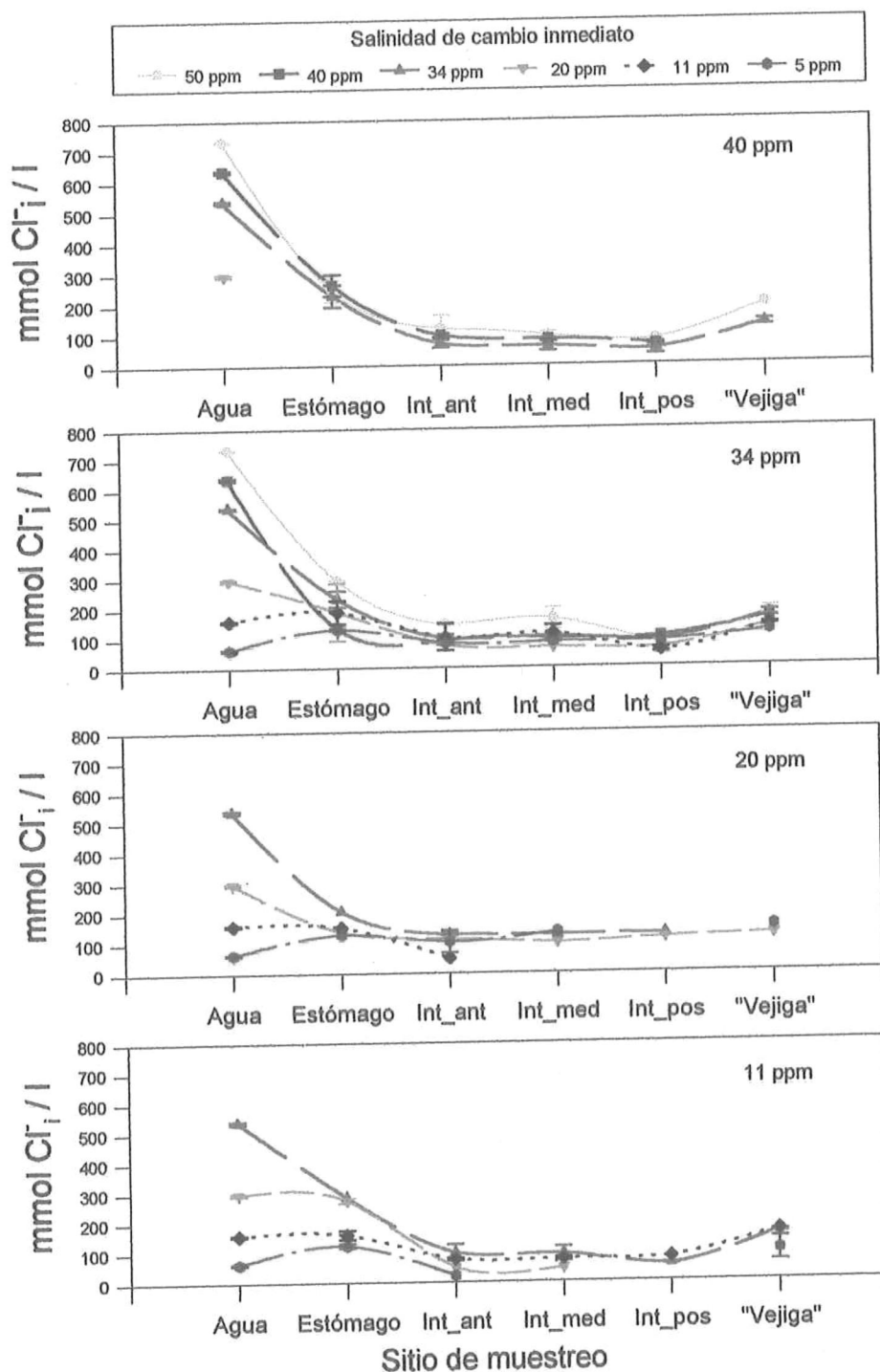


Figura 19.- Concentración promedio de cloro (Cl_i) (mmol/l) del medio externo "Agua" y de los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

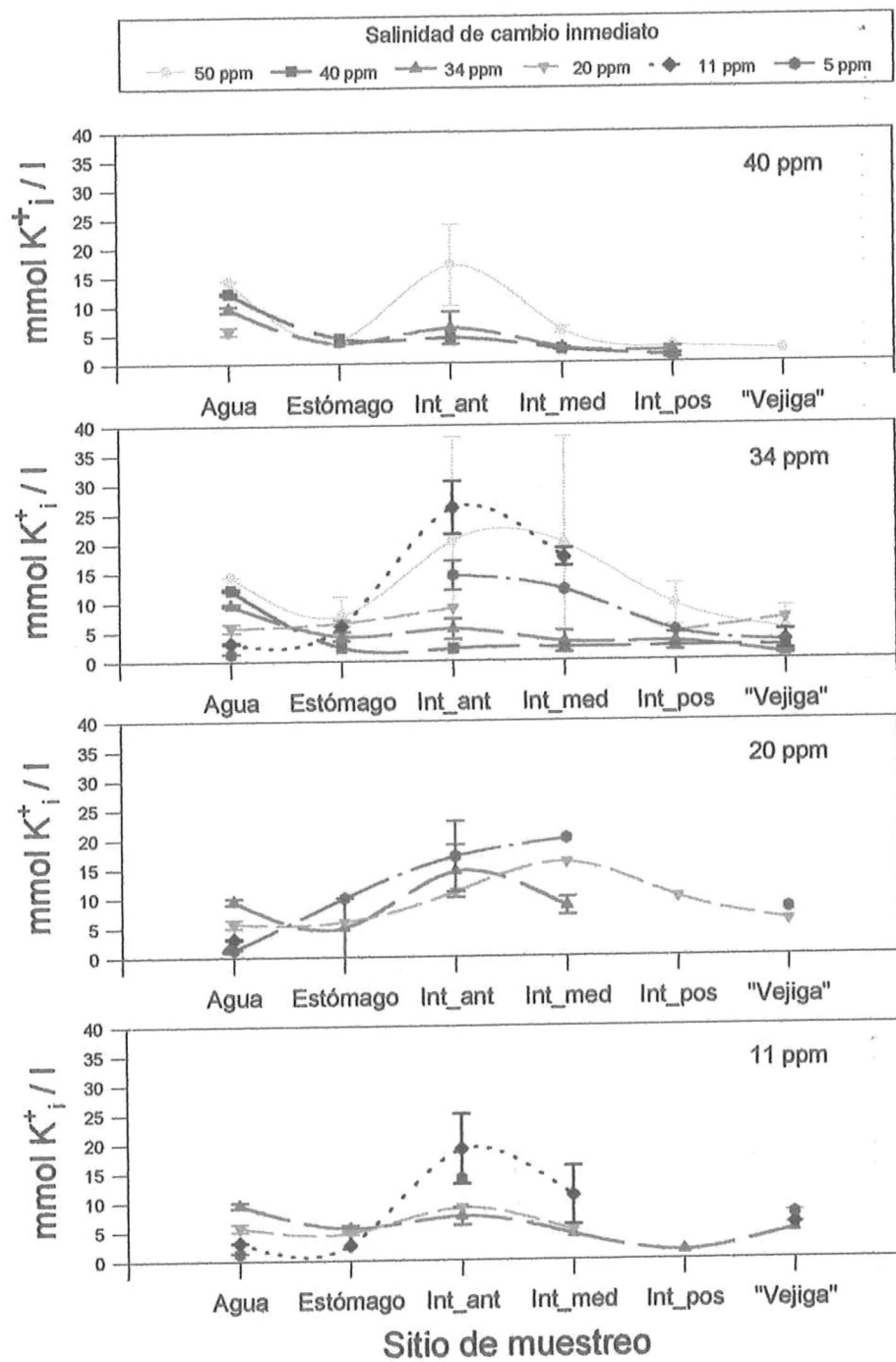


Figura 20.- Concentración promedio de potasio (K^+) (mmol/l) del medio externo "Agua" y de los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

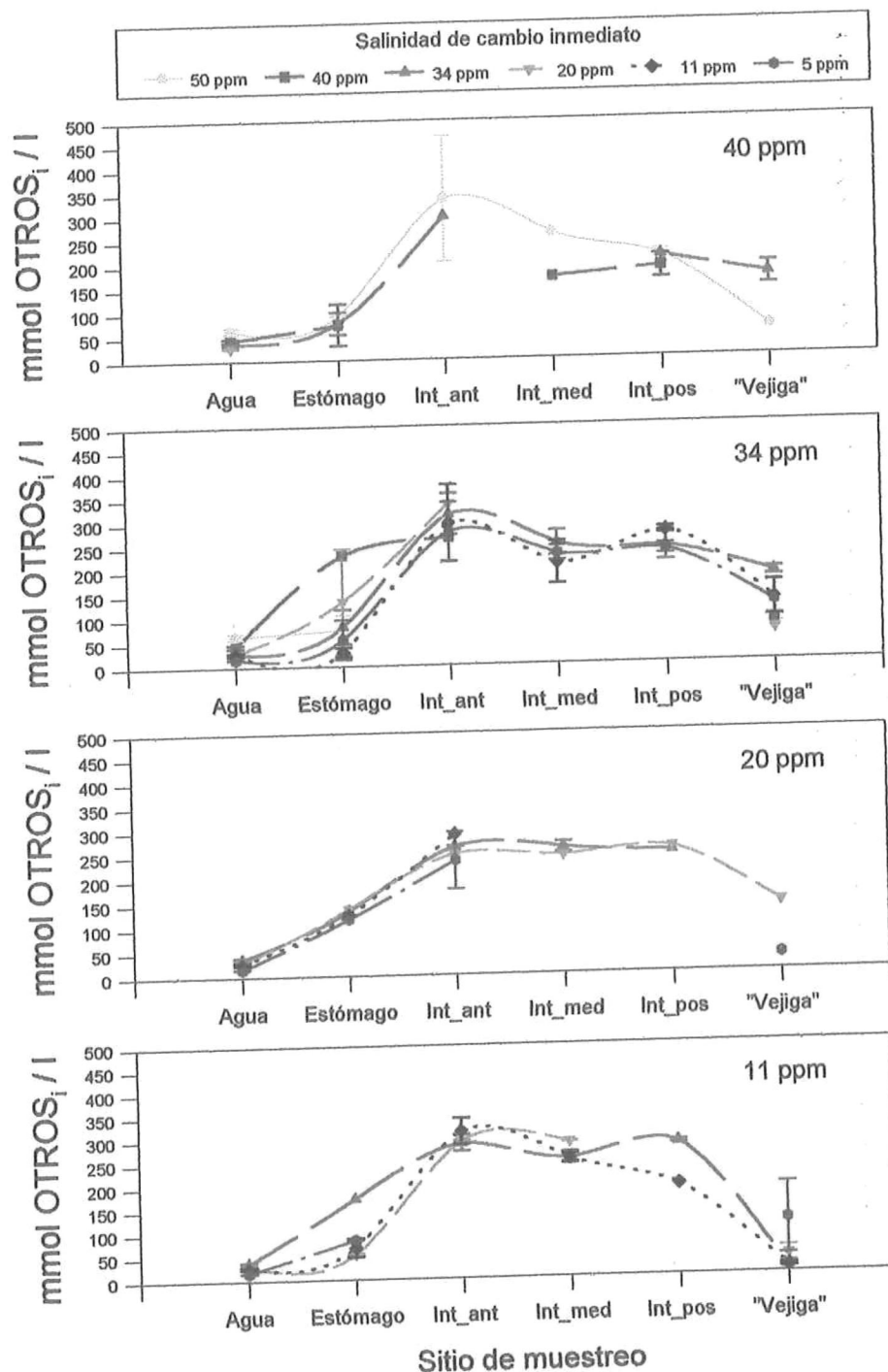


Figura 21.- Concentración promedio de los componentes osmóticos restantes (OTROS_i) (mmol/l) del medio externo "Agua" y los líquidos internos de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades (40, 34, 20 y 11 ppm) y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

4.6. CONTENIDO DE HUMEDAD DEL MÚSCULO EN EL TIEMPO (EXPERIMENTO 2).

El cambio en el porcentaje de humedad en el músculo a lo largo del tiempo después del cambio inmediato de salinidad se muestra en la Figura 22. En ella se observó que en ambas salinidades (5 y 50 ‰) se presentó una variación significativa ($P < 0.05$) en el porcentaje de humedad a partir de los 90 minutos posteriores al cambio de salinidad. Ocasionando un aumento de humedad en la salinidad de 5 ‰ y una disminución en la salinidad de 50 ‰. Sin embargo, antes de este tiempo se registró una pérdida de humedad significativa ($P < 0.05$) en la salinidad de 5 ‰, a los 30 minutos de permanecer en esta salinidad.

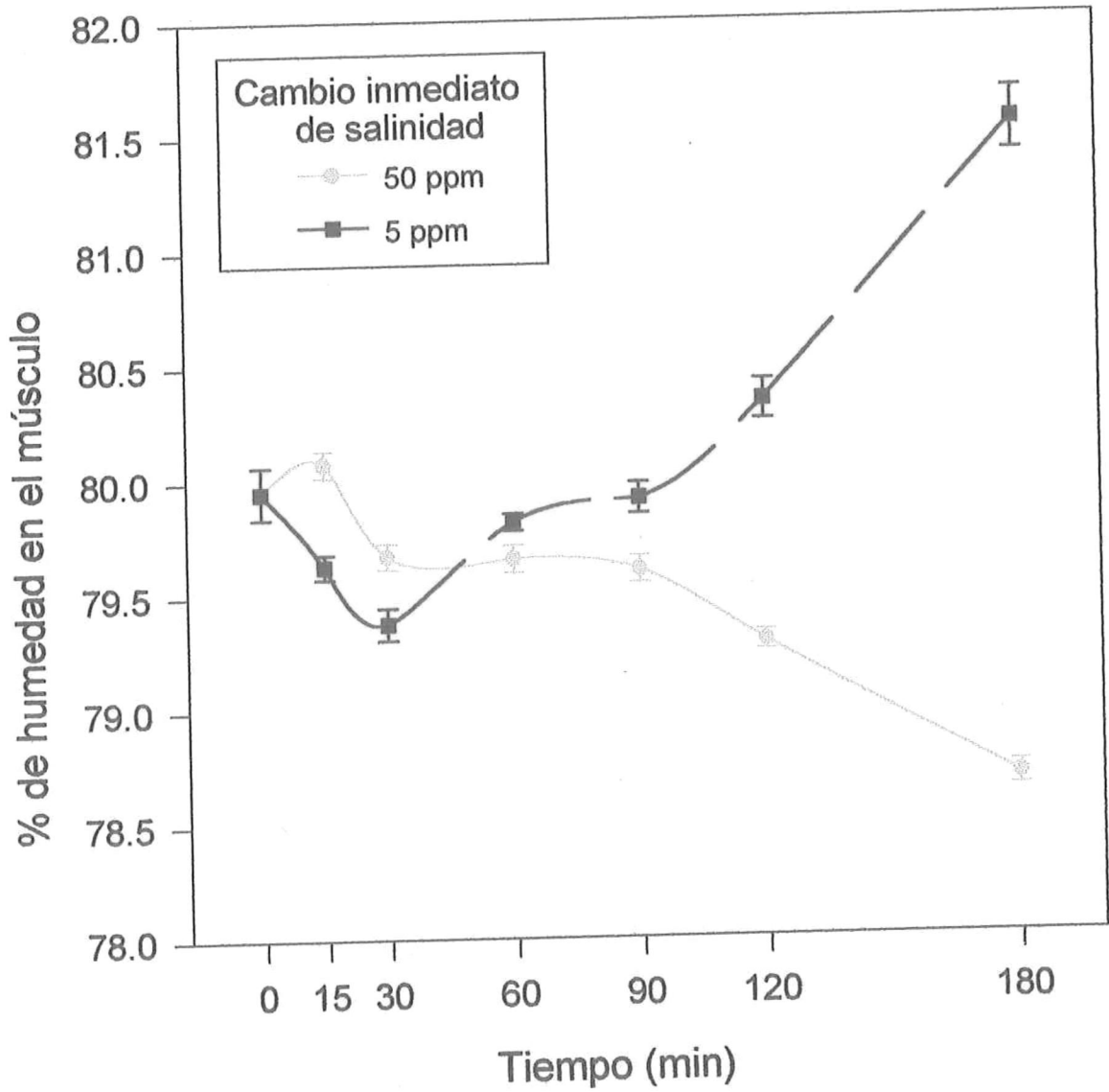


Figura 22.- Variación en el tiempo del porcentaje de humedad promedio del músculo, en los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a 34 ppm y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (I error estándar).

5. DISCUSIONES

5.1 COSTO ENERGÉTICO DE LA OSMOREGULACIÓN

La tasa metabólica QO_2 , representada por el consumo de oxígeno es una valoración conveniente del estado metabólico general de un organismo (Fry, 1957). El gasto metabólico incluye la energía disipada en: locomoción, regulación osmótica, alimentación, y la energía destinada a otras actividades necesarias para el buen desempeño del animal (Farmer y Beamish, 1969). Sin embargo, al analizar la tasa metabólica de diferentes especies sometidas a variaciones de salinidad se presentan grandes diferencias en el comportamiento; por lo que no se puede generalizar la respuesta metabólica entre las diferentes especies de peces. Por ejemplo, en algunas especies se presentan consumos de oxígeno mínimos en salinidades isoosmóticas, como en la *Tilapia nilotica* (Farmer y Beamish, 1969), en *Salmo gairdneri* (Rao, 1971), y en *Ctenopharyngodon idella* (Maceina, et al. 1980), lo que se puede atribuir a un requerimiento energético menor en salinidades isoosmóticas; mismo que podría beneficiar al organismo al utilizar esa energía ahorrada para destinarla a otras funciones, como el crecimiento o la maduración. En otras especies se presenta lo contrario, los mayores valores de consumo de oxígeno se presentan en salinidades isoosmóticas, como en *Plotossus anguilaris* (Job, 1959), *Tilapia mossambica* (Job, 1969) y *Ophiocephalus maculatus* (Woo y Tong, 1982) en donde se podría esperar lo inverso a lo descrito anteriormente. Finalmente, también se han reportado otras especies en donde no se encontró ningún efecto en el metabolismo debido a la salinidad, como en *Kuhlia sandvicensis* (Muir y Niimi, 1972) y *Chrysophrys major* (Woo y Fung, 1981). En el caso de los juveniles de *Totoaba macdonaldi* (Figura 8) se presentó un comportamiento general entre las diferentes salinidades de aclimatación, siendo igual estadísticamente la tasa metabólica en las salinidades de cambio inmediato (hiperosmóticas) de 20, 34, 40 y 50 ‰. Presentando aumentos significativos ($P < 0.05$) únicamente en las salinidades de cambio inmediato de 11 y 5 ‰ (isoosmótica e hipoosmótica respectivamente). Esto manifestó una capacidad eurihalina de los juveniles de *T. macdonaldi*, ya que fueron capaces de soportar de igual manera los cambios inmediatos de salinidad a pesar de provenir de diferentes salinidades de aclimatación, lo que indicó una rápida adaptación a los cambios de salinidad. Esto se podría relacionar con el medio ambiente donde vive la *T. macdonaldi* durante su etapa juvenil, ya que en esta zona (Alto Golfo de California) se presentan

importantes variaciones de salinidad a lo largo del año (Carbajal, *et al.*, 1997). Algo similar encontró Hettler (1976), en *Brevoortia tyrannus*, él reportó valores similares de consumo de oxígeno entre los organismos cambiados inmediatamente de salinidad y los organismos aclimatados por varias semanas, lo que también atribuyó a una rápida adaptación a los cambios de salinidad. Al respecto, Wu y Woo (1983) mencionaron que las especies que viven cerca de la costa presentan una mayor capacidad para resistir los cambios de salinidad que las especies que viven alejadas de la zona costera (mar abierto).

El incremento metabólico de *T. macdonaldi* en las salinidades iso e hipoosmóticas se pudo deber a que en estas salinidades los organismos no pudieron controlar tan eficazmente la ganancia de agua como lo hicieron con la pérdida de agua en las salinidades hiperosmóticas, por lo tanto gastaron más energía para mantener su homeostasis. Al respecto Hettler (1976), reportó que el aumento en el costo metabólico en las salinidades bajas y altas en *Brevoortia tyrannus* se pudo deber al mantenimiento de agua y al intercambio iónico. Lo mismo que podría estar sucediendo con la Totoaba en las salinidades iso e hipoosmóticas. Por su parte Farmer y Beamish (1969) y Nordlie y Leffler (1975) mencionaron que cualquiera que sea la situación el organismo debe gastar energía para mantener su homeostasis (regulación osmótica). En los juveniles de *T. macdonaldi* este aumento en el gasto de energía se manifestó tanto en el trabajo total como en el consumo de oxígeno. Esta energía se utiliza en los peces expuestos al agua dulce en la regulación iónica y osmótica, que consisten de dos mecanismos activos: 1) la excreción del exceso de agua en forma de orina hipoosmótica y 2) la toma de iones, especialmente Na^+ y Cl^- en las branquias (Virtanen *et al.*, 1988).

En el trabajo osmótico realizado por los juveniles de *T. macdonaldi* (Figura 9) se observó que el menor trabajo se presentó en las salinidades iso e hipoosmóticas (11 y 5 ‰ respectivamente), aunque en estas mismas salinidades se presentó el mayor trabajo total (Figura 9). Al respecto Prosser (1973) y Wu y Woo (1983), reportaron que generalmente hablando, el metabolismo se incrementa a salinidades reducidas en las especies eurihalinas. Por lo tanto esta contradicción entre el trabajo total y el trabajo osmótico se puede deber a que el modelo propuesto por Potts (1954) únicamente considera el trabajo involucrado en el transporte de iones; pero no considera el trabajo que involucra la eliminación del agua a través del riñón. Y como esta agua aumenta en los organismos expuestos a salinidades iso e hipoosmóticas (Virtanen, *et al.*, 1988), como se estableció anteriormente, se podría esperar que en el caso de la Totoaba el aumento de trabajo total se deba en parte a la eliminación

de esta agua. Por lo tanto, se puede considerar que la mejor salinidad para los juveniles de 1 año de edad de *T. macdonaldi* es la salinidad de 20 ‰, ya que presenta el menor trabajo osmótico en relación al trabajo total. Esto se basa en lo establecido por Paloheimo y Dickie (1966), ellos mencionaron que el incremento en la tasa metabólica se presenta para mantener el equilibrio osmótico, lo que toma lugar posiblemente a expensas de la energía para crecimiento. Así mismo Kinne (1960) encontró una reducción en el crecimiento y en la eficiencia de conversión de alimento en salinidades hipotónicas en el pez eurihalino *Cyprinodonte* sp. El gasto energético de los juveniles de *T. macdonaldi* para la regulación osmótica fue en el mayor de los casos cercano a 3 % del gasto energético total, este valor es cercano a lo reportado por otros autores para la regulación osmótica. Por ejemplo Jobling (1994), reportó para peces, valores de trabajo osmótico equivalentes a 1-2% del metabolismo total.

5.2 REGULACIÓN IÓNICA Y OSMÓTICA

A pesar de que en las muestras de orina excretada no se pudo contar con replicas debido al número reducido de juveniles de *T. macdonaldi* disponibles para los experimentos, las tendencias entre las diferentes salinidades de aclimatación permiten hacer una descripción del proceso. La excreción de orina (EO) (Figura 10) presentó los valores mínimos en la salinidad de cambio inmediato isoosmótica (11 ‰) y aumentó en las salinidades hipoosmótica (5 ‰) e hiperosmóticas (20, 34, 40 y 50 ‰). La disminución de la EO en la salinidad isoosmótica concuerda con lo establecido por Conte (1969), él mencionó que la igualdad osmótica entre el organismo y el medio ambiente reduce los flujos de agua en ambos sentidos, lo que ocasiona una disminución de la excreción de orina. Así mismo, el aumento en la EO en salinidades hipoosmóticas también se ha presentado en otras especies. Lo que se puede deber a la tendencia del agua dulce a entrar al organismo por difusión pasiva (osmosis) a través de las membranas permeables de la boca, branquias e intestino, lo que ocasiona una producción copiosa de orina hipotónica (Lagler, *et al.*, 1962; Oikari y Virtanen, 1984). En las salinidades de cambio inmediato hiperosmótico también aumentó la EO de los juveniles de *T. macdonaldi*. Lo que se pudo deber, a que los organismos deben tragar más agua para recuperar el agua perdida por osmosis (Jobling, 1995). Para lograr esto, deben absorber en el intestino los iones del agua ingerida, para que ésta entre al organismo por osmosis (Krogh, 1965). Por lo tanto

aumentan los iones que el organismo debe eliminar, lo que los obliga a producir más orina, hipotónica con respecto al medio exterior (Smith, 1930; Conte, 1969). Así mismo la EO de *T. macdonaldi* disminuyó conforme aumentó la salinidad de aclimatación. Lo que se pudo deber a que en las salinidades mayores el organismo procuró perder la menor cantidad de agua a través de la orina (Lagler, *et al.*, 1962). Para lograr esto, aumentaron la osmoconcentración de la orina (OT_o) (Figura 11), lo que ocasionó que el organismo produjera menos orina pero más concentrada conforme aumentó la salinidad de aclimatación, lo cual representó una menor pérdida de agua. En las salinidades hipoosmóticas ocurrió lo contrario, se excretó la mayor cantidad de agua posible con la menor carga de iones posible, lo que ayudó a disminuir la pérdida de iones. Este proceso también se ha reportado por otros autores (Lagler, *et al.*, 1962; Conte, 1969).

En los componentes osmóticos de la orina excretada. (Figura 12) se observó que los iones Na^+ y Cl^- fueron quienes conformaron en su mayoría el comportamiento de la osmoconcentración total (Figura 11). Al respecto, Fletcher (1978a) reportó en *Gadus callarias* pérdidas de Na^+ y Cl^- por vía urinaria y rectal de tan solo 3.2 % y 7.7 % respectivamente, del total de iones ingerido con el agua, por lo que atribuyó su excreción a otro sitio, presumiblemente las branquias. Esto nos puede indicar que los valores encontrados en la orina excretada de la Totoaba no representaron el 100 % de la cantidad de estos iones ingeridos con el agua. El K^+ no presentó una tendencia clara y su aporte a la OT_o fue insignificante. En el caso de los OTROS_o se pudo observar que su magnitud fue comparable a la del Cl^- , aunque su comportamiento fue inverso, es decir, los valores máximos se presentaron en la salinidad de cambio inmediato isoosmótica (11 ‰). Esta fracción de acuerdo con algunos autores se encuentra conformada por compuestos tales como fosfato, bicarbonatos, desechos nitrogenados (Potts, 1954; Fletcher, 1978a), creatina, creatinina y óxido de trimetilamida (Lagler, *et al.*, 1962), aunque también hay un aporte significativo de Mg^{2+} y SO_4^{2-} absorbidos en el tracto digestivo, que posteriormente son excretados en la orina (Fletcher, 1978a; Virtanen, *et al.*, 1988).

En la osmoconcentración total (Figura 13) de la sangre (OT_s) se observó que existe un mayor control osmótico en las salinidades de cambio inmediato de 11 a 40 ‰, lo que concuerda con el comportamiento metabólico (Figura 8) a estas salinidades. Sin embargo en los extremos (5 y 50 ‰) la OT_s presentó una mayor variación, lo que manifestó un descontrol osmótico. Al respecto Nordlie, *et al.*, (1992), mencionaron que en *Poecilia latipinna* la osmoconcentración del plasma aumentó más rápidamente cuando se aproximó

al límite superior de tolerancia salina. Lo que talvez puede indicar que para los juveniles de *T. macdonaldi* el límite de tolerancia salino puede estar cercano a las 50 ‰. El comportamiento general de la OT_s indicó una rápida adaptación de la Totoaba a los cambios de salinidad, ya que al modificar su OT_s ocasionó una disminución en el gradiente osmótico entre el organismo y el medio ambiente. Lo que pudo representar una ventaja energética, debido a que disminuyó el trabajo osmótico (Potts, 1954). Esto también se ha reportado como una característica de especies eurihalinas, como *Ambasssis spp* (Martin, 1990) y *Mugil cephalus* (Nordlie, et al., 1982). Por lo tanto se podría esperar que en el medio natural la Totoaba utilice esta energía ahorrada para otras actividades, tales como crecer, alimentarse o huir de los depredadores. Esta misma ventaja se ha descrito en *Ambasssis spp*. (Martin, 1990), y en *Adinia xenica* lo que Nordlie (1987), atribuyó a las variaciones de salinidad de la zona donde habita esta especie. Así mismo, el cambio en los valores de la OT_s de *T. macdonaldi* en el rango de salinidades probadas fue similar a los valores reportados por otros autores. Lo que Crocker, et al., (1983), establecieron como una adaptación a los cambios de salinidad para *Sciaenops ocellatus* (Tambor rojo), especie que vive en zonas estuarinas. Lo cual confirma lo mencionado anteriormente para la Totoaba.

Los componentes osmóticos de la sangre (Figura 14) se pueden dividir en dos grupos: 1) los que representaron el mayor aporte a la osmoconcentración total (Na⁺_s y Cl⁻_s) con más del 90 ‰, como también se presentó en *Eugerres plumieri* (Plaza-Yglesias, et al., 1988); y 2) los que aportaron la menor cantidad (K⁺_s y OTROS_s) con menos del 10 ‰. Es importante mencionar que a diferencia de la orina, la concentración de los OTROS_s en la sangre está dada principalmente por iones divalentes como el Ca²⁺ y el Mg²⁺ (Woo y Tong, 1982), y por aminoácidos, que pueden aportar entre 68 y 71 mmol/l en la sangre del salmón *Salmo salar* (Cowey, et al., 1962). El Na⁺_s y el Cl⁻_s en la sangre de la Totoaba son los que rigen el comportamiento general de la OT_s, mientras que el K⁺_s y los OTROS_s permanecen sin cambio. Lo mismo se presentó en *Mugil cephalus* (Nordlie y Leffler, 1975), *Cyprinodon salinus* (Stuenkel y Hillyard 1981), *Ophiocephalus maculatus* (Woo y Tong, 1982), y *Eugerres plumieri* (Plaza-Yglesias, et al., 1988). El aumento en las concentraciones de Na⁺_s y Cl⁻_s (Figura 14) conforme se incrementó la salinidad de cambio inmediato, se pudo deber a la absorción de iones monovalentes en el tracto digestivo (Figuras 18 y 19), como se mencionó anteriormente. Sin embargo, éstos iones no sólo provienen de esta vía, también se ha encontrado que se presenta un influjo a través de las branquias (Fletcher, 1978b). La disminución en los valores del Na⁺_s y Cl⁻_s (Figura 14) en las salinidades de

cambio inmediato isoosmótico (11 ‰) e hipoosmótico (5 ‰) se puede atribuir a una regulación iónica insuficiente. Lo que también se reportó en *Myoxocephalus scorpius* y *M. quadricornis* (dos especies de teleosteos del Mar Báltico) al exponerlos al agua dulce (Oikari, 1978). Como se observó en la Figura 14 el comportamiento de los iones Na^+ y Cl^- es similar, aunque sus concentraciones no lo son, lo cual confirma el hecho de que su regulación es independiente y que más que una regulación ion a ion, se da una regulación por fracciones equivalentes (Lutz, 1972; Nordlie y Leffler, 1975).

El K^+ y los OTROS_s permanecieron constantes en todas las salinidades de cambio inmediato (Figura 14), comportamiento similar al reportado por Woo y Wu (1982), para *Mylio macrocephalus*. La concentración de los OTROS_s no varió, debido tal vez a que parte de sus componentes (iones divalentes) no se absorben en el tracto digestivo (Shehadeh y Gordon, 1969; Kirsch y Meister, 1982).

La disminución en la OT_s (Figura 13) y la disminución de los iones Na^+ y Cl^- (Figura 14) al disminuir la salinidad de cambio inmediato (Figura 13) se debió a que en las salinidades hipoosmóticas el flujo pasivo de iones hacia el exterior se facilita por el gradiente de concentraciones. Por lo tanto, se necesita un mecanismo de reabsorción de iones efectivo para mantener el balance iónico dentro del organismo (Virtanen, *et al.*, 1988).

La glucosa es un compuesto vital para el organismo, ya que se utiliza como fuente de energía (Woo y Wu, 1982), por lo tanto se han realizado varios estudios para determinar su función como componente osmótico o como factor de respuesta al estrés (Woo y Tong, 1982; Woo y Wu, 1982). En el caso de los juveniles de *T. macdonaldi* no se encontraron diferencias en las concentraciones de glucosa sanguínea, lo que indicó que no tiene función como componente osmótico en ésta especie. Sin embargo, los mayores valores de glucosa sanguínea se presentaron en los organismos sometidos a la excreción de orina (Anexo I), lo que pudo indicar que su función es más como fuente de energía ante situaciones de estrés que como componente osmótico (Ahokas y Duerr, 1975b; Woo y Tong, 1982; Woo y Wu, 1982; Sharpe, *et al.*, 1998).

Los valores del hematocrito (Figura 15) se pueden utilizar para determinar si el organismo se encuentra ganando o perdiendo agua, lo que ayuda a realizar el balance de agua de un organismo (Fletcher, 1978a). En el caso de los juveniles de *T. macdonaldi* se encontró que la menor cantidad de agua se presentó en las salinidades de cambio inmediato iguales a las de aclimatación, esto pudo indicar que durante la aclimatación los

organismos alcanzaron un equilibrio osmótico. Pero al someterlos a un cambio inmediato de salinidad, ya sea hacia una salinidad mayor o hacia una salinidad menor a la de aclimatación, sufrieron un desequilibrio osmótico que ocasionó un aumento en el contenido de agua de la sangre. El aumento de agua en la sangre de *T. macdonaldi* en los casos donde se presentó un cambio de salinidad inmediato hacia salinidades menores a la de aclimatación, se pudo deber a una deficiente regulación hiperosmótica. Como también reportaron Woo y Fung, (1981) para *Chrysophrys major*. Esta deficiencia facilitó la entrada de agua al organismo, como también se manifestó en el porcentaje de humedad en el músculo (Figura 16) en la salinidad de cambio inmediato de 5 ‰. El aumento de agua en la sangre de *T. macdonaldi* en los cambios de salinidad inmediatos hacia salinidades mayores a la de aclimatación, se pudo deber a que ésta provino del músculo; lo que se confirmó con la pérdida en el porcentaje de humedad del músculo (Figura 16), en la salinidad de cambio inmediato de 50 ‰. Al respecto Houston (1959) y Leray, *et al.*, (1981) encontraron un incremento en el agua de la sangre de la Trucha arcoiris (*Salmo gairdneri*) al exponerla al agua de mar, y lo atribuyeron al aporte de agua por parte del tejido muscular.

Al realizar el conteo de glóbulos rojos (eritrocitos) no se observó la presencia de glóbulos rotos o lisados, por lo cual se consideró que las variaciones en el conteo fueron producto de los procesos internos del organismo (Martin, 1990). El aumento de glóbulos rojos en la salinidad de aclimatación de 40 ‰ (Tabla 1), se pudo deber a que en esta salinidad la cantidad de oxígeno disuelto fue menor al de las demás salinidades de aclimatación. Lo que obligó a los organismos a producir un mayor número de eritrocitos capaces de transportar el oxígeno necesario para el buen funcionamiento del organismo. En *Crysophrys major* también se presentó un aumento en el número de eritrocitos y del contenido de hemoglobina en la sangre, lo que se atribuyó a una compensación de la baja capacidad de transporte de oxígeno por parte de la molécula de hemoglobina (Woo y Fung, 1981). La capacidad de transporte de oxígeno de los eritrocitos no solo se afecta por la disponibilidad de éste en el medio natural, sino también por la composición iónica del plasma. Guernsey y Poluhowich (1975), y Oikari (1978), postularon que la composición iónica del plasma parece alterar el tamaño de los eritrocitos, lo que a su vez afecta sus propiedades de transporte de oxígeno, así como los valores del hematocrito, por su modificación de volumen. En *Salmo gairdneri* (Zeitoun, *et al.*, 1974) también se encontró un aumento en el porcentaje de precipitado celular del hematocrito en peces aclimatados a 20 ‰ sobre los aclimatados a 10 ‰, lo que se pudo deber a un intento para incrementar la

capacidad de transporte de oxígeno de la sangre para soportar las demandas metabólicas asociadas a los ambientes hipertónicos. El incremento de glóbulos rojos en las salinidades hipertónicas no solo se da por la disminución de oxígeno en el medio ambiente. Algunos autores también sugieren que la hipoxia es causada por la pérdida osmótica de agua y por la contracción del epitelio branquial. Lo que ocasiona un decremento en la eficiencia de transferencia de oxígeno a través de la superficie branquial y un incremento de la distancia de difusión de oxígeno (Bath y Eddy, 1979; Stagg, *et al.*, 1989).

Con el número de eritrocitos encontrado en los juveniles de *T. macdonaldi* (Tabla I), se pudo colocar a la Totoaba dentro de los organismos pelágicos, esto de acuerdo al criterio de clasificación establecido por Tochilina (1992), en el que establece que el número de eritrocitos es función del requerimiento energético del organismo, lo que a su vez depende del medio ambiente donde se desarrolla. Esto nos ayuda a entender la posición de los juveniles de *T. macdonaldi* en el medio ambiente y su relación con éste.

En el porcentaje de humedad del músculo y riñón de los juveniles de *T. macdonaldi* (Figura 16) sometidos a cambios de salinidad inmediatos, se encontró que el músculo fue el único que presentó variaciones significativas. Pero estas fueron únicamente en los extremos del cambio inmediato de salinidad (5 y 50 ‰) de la salinidad de aclimatación de 34 ‰, lo que se pudo deber a que sólo en esta salinidad se abarcó todo el rango de salinidades de cambio inmediato. Por lo tanto fueron estas las salinidades que se utilizaron para determinar el cambio en el porcentaje de humedad a lo largo del tiempo (Figura 22). El no haber encontrado más diferencias significativas en el porcentaje de humedad en las diferentes salinidades de aclimatación y de cambio inmediato, nos indicó también que los juveniles de *T. macdonaldi* cuentan con un sistema de regulación osmótico eficiente, que de acuerdo con Woo y Wu (1982), les permitió resistir los cambios de salinidad externa sin sufrir alteraciones significativas en su contenido de humedad. Lo que manifestó también la capacidad eurihalina de la Totoaba. Sin embargo, las diferencias significativas ($P < 0.05$), encontradas indicaron que en estas salinidades no se pudo eliminar ni recuperar el agua ganada o perdida por osmosis (Love, 1970). Lo que manifestó una deficiencia osmótica a estas salinidades. En el cambio inmediato a 5 ‰ se pudo comprobar esta deficiencia en la hiperosmoregulación, con la tasa metabólica (Figura 8), el trabajo energético total (Figura 9), y la OT_s (Figura 13). Ya que en éstas se presentaron las diferencias significativas más importantes en la salinidad de cambio inmediato de 5 ‰. La ganancia de humedad en el músculo en salinidades hiposmóticas también se ha presentado en otras especies, como en

Crhysophrys major, lo que resultó en la muerte de los organismos, e indicó una baja hiperosmoregulación de la especie (Woo y Fung, 1981). En el cambio inmediato de salinidad a 50 ‰, el aumento en el porcentaje de humedad del músculo se pudo relacionar con el aumento en la OT_s (Figura 13). Que en este caso también presentó aumentos significativos ($P < 0.05$) importantes. Lo que manifestó una pérdida de agua en el organismo. Así mismo, esta pérdida de agua muscular se puede relacionar con el hematocrito (Figura 15), ya que sus valores no variaron con respecto a las salinidades menores, lo que se pudo deber a que el agua de la sangre provino del músculo, como se mencionó anteriormente (Houston, 1959; Leray, *et al.*, 1981).

El porcentaje de humedad en el riñón de los juveniles de *T. macdonaldi* no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) en las diferentes salinidades de cambio inmediato, esto se pudo deber a dos factores. El primero es que el organismo mantuvo el porcentaje de humedad constante en sus órganos vitales para asegurar su buen funcionamiento, para lo cual utilizó el agua contenida en el músculo (Talbot, *et al.*, 1992); y el segundo se pudo deber a la gran variación de los datos, lo que pudo originarse por variaciones en la cantidad de sangre que perdió el riñón al momento de la disección.

La pérdida de agua por las paredes corporales del organismo en medios ambientes hiperosmóticos se debe recuperar por algún mecanismo que permita mantener la homeostasis interna del organismo. Al respecto Virtanen, *et al.*, (1988) mencionaron que en agua de mar se requiere del siguiente mecanismo para balancear la pérdida pasiva de agua (osmosis) y el influjo de iones: 1) beber agua de mar, 2) excretar el exceso de Na^+ y Cl^- por las branquias, y 3) excretar el exceso de Mg^{2+} y SO_4^{2-} por la orina. Es decir, la recuperación de agua en los teleosteos marinos se lleva a cabo en el tracto digestivo, y se genera absorbiendo los iones monovalentes del agua ingerida (Nordlie y Leffler, 1975; Talbot, *et al.*, 1992) hasta bajar su osmoconcentración a niveles isoosmóticos, para entonces poder absorber el agua por difusión pasiva (osmosis) (Kirsch, *et al.*, 1985; Jobling, 1995). En la Figura 17 se observó este proceso de absorción de agua y iones en el tracto digestivo de los juveniles de *T. macdonaldi*. En ella se pudo observar como la osmoconcentración del agua ingerida del medio exterior bajó su osmoconcentración en el estómago de los organismos cambiados a salinidades hiperosmóticas, lo que se debió al proceso descrito anteriormente. Y aumentó su osmoconcentración en los cambiados a salinidades iso e hipoosmóticas, lo que se debió a que el agua ingerida se absorbió en el tracto digestivo por osmosis, ocasionando la concentración de los iones que la componían. Después de esta absorción de

agua y iones en la primer parte del tracto digestivo (esófago-estómago), la osmoconcentración no varió significativamente ($P>0.05$) a lo largo del intestino. Lo que se pudo deber a que el esófago-estómago cumplen con la función de desalar el agua ingerida, al mismo tiempo de ser permeables al agua como se manifestó en las salinidades iso e hipoosmóticas. Similar a lo reportado para el salmón *Salmo salar* (Talbot, *et al.*, 1992), y la Tilapia *Sarotherodon mossambicus* (Mainoya, 1982). En la "vejiga urinaria" los valores de OT_i disminuyeron significativamente ($P<0.05$) con respecto a los valores del estómago en las salinidades de aclimatación de 34 y 40 ‰. Lo que se pudo deber a que la orina tendió a presentar valores similares de osmoconcentración a los de la sangre (Smith, 1930). Como se mencionó anteriormente esta absorción de iones en el tracto digestivo (Figura 17), que sirvió para recuperar el agua perdida en salinidades hiperosmóticas, aumentó la carga de iones que debió ser eliminada, ya sea por medio de la orina o por las branquias (Krogh, 1965; Nordlie y Leffler, 1975; Jobling, 1995), por lo tanto el trabajo osmótico se incrementó, como se observó en la Figura 9, llegando a su máximo valor en la salinidad de cambio inmediato de 50 ‰.

Los comportamientos del Na^+_i y Cl^-_i (Figuras 18 y 19) muestran en el estómago el mismo comportamiento descrito anteriormente, en ellas se observó que la concentración de estos iones en el medio externo disminuyó en las salinidades de cambio inmediato hiperosmóticas, y aumentó en las salinidades de cambio iso e hipoosmóticas, al llegar al estómago, lo cual manifestó la absorción de iones y agua respectivamente. Sin embargo, los valores disminuyeron significativamente en todos los casos al llegar al intestino anterior, a partir del cual permanecieron sin cambios. Igual a lo reportado para *Salmo salar*, en él, los valores del Na^+ y Cl^- disminuyeron en el estómago a 86 % y 83 % y en el intestino a 22 % y 18 % respectivamente de los valores presentes en el medio externo. Lo que indicó una toma activa de iones en el tracto digestivo (Talbot, *et al.*, 1992). En la "vejiga urinaria" las concentraciones se incrementaron significativamente ($P<0.05$), lo que indicó que estos iones también se excretaron a través de la orina y no solo por las branquias como mencionaron Lagler, *et al.*, (1962) y Conte (1969). Los valores de la "vejiga urinaria" en la Totoaba fueron similares a los encontrados en la sangre, por lo que su excreción vía urinaria se atribuyó a un proceso de intercambio por difusión (Fletcher, 1978b).

En el caso del K^+_i (Figura 20) no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$). Sin embargo, la tendencia general manifestó la absorción de este ion en la primer parte del

tracto digestivo (esófago-estómago) en las salinidades hiperosmóticas y la absorción de agua en las salinidades iso e hipoosmóticas, como sucedió en los casos anteriores. Sin embargo, en el intestino la tendencia se perdió, debido a la gran variación de los datos, misma que disminuyó en la “vejiga urinaria”, lo que manifestó un posible control interno de este ion.

Los componentes osmóticos restantes (OTROS_i) (Figura 21) presentaron un comportamiento inverso al descrito por los demás componentes osmóticos (Na⁺, Cl⁻ y K⁺). Es decir, sus concentraciones se incrementaron en el estómago en todos los casos, llegando a sus valores máximos en el intestino anterior, permaneciendo sin cambio a lo largo del intestino. Esto indicó una absorción de agua en el esófago-estómago y en el intestino anterior. Al respecto Masaaki (1980), encontró que el transporte de agua en el intestino de la anguila (*Anguilla japonica*) está ligado al transporte acoplado de Na⁺ y Cl⁻. En los juveniles de *T. macdonaldi* se presentó este proceso en las Figuras 18, 19 y 21. En ellas se pudo observar que la disminución de las concentraciones del Na⁺_i y Cl⁻_i en el estómago e intestino anterior correspondió con la toma de agua manifestada por los OTROS_i. La absorción de agua que manifestó el comportamiento de los OTROS_i comprueba lo mencionado por otros autores para algunos componentes osmóticos. Lagler, *et al.*, (1962), Shehadeh y Gordon (1969); Fletcher, (1978a); y Kirsch y Meister (1982), mencionaron que componentes osmóticos como los iones divalentes (Ca²⁺, Mg²⁺, SO₄²⁻ y HPO₄²⁻) se concentran en el tracto digestivo para ser expulsados en los fluidos rectales. Sin embargo, no en todos los organismos se presenta lo mismo con estos componentes osmóticos, Virtanen, *et al.*, (1988), mencionaron que el alto contenido de Mg²⁺ en el músculo del Salmón (*Salmo salar*) se pudo deber a su absorción en el tracto digestivo. En la “vejiga urinaria” de los juveniles de *T. macdonaldi* la presencia de los OTROS_i se pudo deber en parte a la presencia de iones orgánicos (Potts, 1954) y en parte a iones divalentes que son absorbidos en el tracto digestivo, como el Mg²⁺ y SO₄²⁻ (Jobling, 1995). Al respecto Jobling (1995), mencionó que aproximadamente el 80 % de los iones divalentes ingeridos con el agua se expulsan en las heces y que sólo un 20 % se absorbe en el tracto digestivo y se transportan por la sangre para ser excretados por la orina.

El porcentaje de humedad en el músculo a lo largo del tiempo se muestra en la Figura 22, en ella se observó que en ambas salinidades de cambio inmediato (5 y 50 ‰) el porcentaje de humedad en el músculo presentó variaciones significativas (P<0.05) a partir de los 90 minutos. Esto nos indicó que el organismo fue capaz de soportar el cambio

inmediato de salinidad sin presentar variaciones en su porcentaje de humedad durante los primeros 90 minutos. Sin embargo, a partir de este tiempo (90 minutos) el organismo fue incapaz de mantener una humedad interna constante, lo que representó una pérdida del control osmótico (Woo y Fung, 1981). Lo cual indicó que los juveniles de *T. macdonaldi* pueden soportar breves incursiones a estas salinidades en el medio natural. El descontrol osmótico en la salinidad de cambio inmediato de 5 ‰ se manifestó como una ganancia de agua proveniente del medio externo. Y en la salinidad de cambio inmediato de 50 ‰ el descontrol se manifestó con el decremento en el porcentaje de humedad. Lo que se atribuyó a un aporte de agua hacia la sangre por parte del músculo (Houston, 1959; Leray, *et al.*, 1981). En los organismos sometidos al cambio inmediato de 5 ‰ se presentó una pérdida de humedad significativa ($P < 0.05$) en los primeros 30 minutos de permanencia en esta salinidad. Lo que se pudo deber a que el mecanismo de regulación osmótica eliminó más agua de la requerida, ocasionando que el músculo cediera agua para compensar esta pérdida.

5.3 IMPLICACIONES Y APLICACIONES DE LA OSMOREGULACIÓN

El hecho de no haber encontrado diferencias significativas ($P > 0.05$) en la tasa metabólica (Figura 8), y en el porcentaje de humedad del músculo (Figura 16), en un amplio rango de salinidades de cambio inmediato y de aclimatación; y el haber encontrado muy pocas diferencias en la osmoconcentración de la sangre (Figura 13) y del hematocrito (Figura 15) entre las diferentes salinidades de aclimatación, nos pudo indicar que los juveniles de *T. macdonaldi* lograron aclimatarse a las diferentes salinidades en el tiempo considerado para este experimento (15 días), y que los cambios inmediatos de salinidad no ocasionaron un efecto adverso en la osmoregulación y metabolismo en la mayoría de los casos, así como también manifestó el grado de desarrollo del mecanismo homeostático y por lo tanto de euryhalinidad de la especie (Woo y Wu, 1982).

El hecho de que la Totoaba se haya reproducido en cautiverio en 34 ‰ y presentara una respuesta adversa ante salinidades iso e hipoosmóticas, elimina la posibilidad de ser una especie anádroma y por lo tanto que la salinidad sea el factor responsable directo de su condición de especie amenazada con extinción. Es posible sin embargo, que el efecto del cambio de las condiciones ambientales de la zona de maternidad (Alto Golfo de California) (Carbajal, *et al.*, 1997) haya tenido un efecto indirecto sobre la Totoaba. Es decir, es

probable que la Totoaba se haya visto afectada por la disminución o extinción de su fuente de alimento durante sus primeras etapas de desarrollo. Al respecto Hart, *et al.*, (1991), demostraron que los invertebrados que forman la dieta de especies como *Ptychocheilus lucius*, un pez del río Colorado, son generalmente más sensitivos a los cambios de salinidad que los vertebrados, a lo que Nelson y Flickinger (1992) mencionaron, que para predecir el efecto real en *Ptychocheilus lucius* del incremento de salinidad en las aguas del río Colorado se deben estudiar también los niveles tróficos inferiores. Por lo tanto se puede decir que se necesitan realizar estudios sobre los niveles tróficos inferiores a la *Totoaba macdonaldi*, así como estudios sobre sus hábitos alimenticios durante su etapa larvaria y juvenil para poder ayudar a determinar la verdadera causa de la disminución en la población.

Así mismo se necesitan hacer más estudios sobre el efecto de la salinidad en las etapas de desarrollo temprano (larval y juvenil), para poder determinar las salinidades más adecuadas para cada etapa de desarrollo, ya sea para su cultivo o repoblamiento. Así como realizar estudios de crecimiento en las diferentes salinidades empleadas en este experimento, para poder comprobar lo planteado en este trabajo.

6. CONCLUSIONES

- Se determinó que los juveniles de *Totoaba macdonaldi* son capaces de aclimatarse adecuadamente a 11, 20, 34 y 40 ‰ en un periodo de 15 días. Sin embargo se considera que la salinidad de 20 ‰ es la más adecuada para ésta edad (1 año) ya que representa el menor gasto energético para la osmoregulación.
- Al someter a los juveniles de *T. macdonaldi* a cambios inmediatos de salinidad, se encontró que en todas las salinidades probadas (5, 11, 20, 34, 40 y 50 ‰) los organismos fueron capaces de sobrevivir en el corto plazo. Sin embargo, se considera que las salinidades de cambio inmediato de 5 y 50 ‰ son las que presentan un mayor estrés osmótico para el organismo, por lo que no se recomienda su liberación en estas condiciones de salinidad.
- Los juveniles de *T. macdonaldi* mostraron capacidad eurihalina, ya que soportaron los cambios de salinidad inmediatos y la aclimatación, sin presentar diferencias significativas importantes en un amplio rango de salinidades; en indicadores fisiológicos como el metabolismo, la osmoconcentración de la sangre, y el porcentaje de humedad en el músculo.
- *T. macdonaldi* no es una especie anádroma, más bien es una especie eurihalina que se desempeña mejor fisiológicamente en las salinidades superiores a la isoosmótica al año de edad.

7. LITERATURA CITADA

- Ahokas R.A. y F.G. Duerr., 1975a. Tissue water and intracellular osmoregulation in two species of euryhaline teleosts, *Culea inconstas* and *Fundulus diaphanus.*, Comp. Biochem. Physiol. 52A:449-454.
- Ahokas R.A. y F.G. Duerr., 1975b. Salinity tolerance and extracellular osmoregulation in two species of euryhaline teleosts, *Culea inconstas* and *Fundulus diaphanus.*, Comp. Biochem. Physiol. 52A:445-448.
- Alderdice D.F., 1988. Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. Fish Physiology., XIA:163-251.
- Barrera-Guevara J. C., 1990. The conservation of *Totoaba macdonaldi* (Gilbert) (Pisces *Scianidae*), in the Gulf of California, México. Journal of Fish Biology. 37(suppl. A):201-202.
- Bath R.N. y F.B. Eddy., 1979. Ionic and respiratory regulation in Rainbow trout during rapid transfer to seawater. J. Comp. Physiol. 134:351-357.
- Carbajal N., Souza A. y R. Durazo., 1997. A Numerical Study of the Ex-ROFI of the Colorado River. Journal of Marine Systems., 12:17-33.
- Conte F.P., 1969. Salt Secretion. En: Fish Physiology, Vol. I. (eds) Hoar, W.S. y D.J. Randall., Academic Press. New York.
- Conte F.P. y H. Wagner., 1965. Development of osmotic and ionic regulation in juvenile steelhead trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol. 14:603-620.
- Cowey C.B., Daisley K.W. y G. Parry., 1962. Study of amino acids, free or as components of protein, and of some B vitamins in the tissues of the Atlantic Salmon *Salmo salar*, during spawning migration. Comp. Biochem. Physiol. 7:29-38.
- Crocker P.A., Arnold C.R., DeBoer J.A. y J.G. Holt., 1981. Preliminary evaluation of survival and growth of juvenile red drum (*Sciaenops ocellata*) in fresh and salt water. J. World Maricult. Soc. 12(1):122-134.
- Crocker P.A., Arnold C.R., DeBoer J.A. y J.G. Holt., 1983. Blood osmolality shift in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus* L. exposed to fresh water. J. Fish Biol. 23:315-319.
- Eddy F.B. y C. Talbot., 1985., Urine production in smolting Atlantic Salmon *Salmo salar* L., Aquaculture 45:67-72.
- Farmer G.J. y F.W.H. Beamish., 1969. Oxygen consumption of *Tilapia nilotica* in relation to swimming speed and salinity. J. Fish. Res. Bd Can. 26:2807-2821.

- Flanagan C.A. y J.R. Hendrickson., 1976. Observations on the comercial fishery and reproductive biology of the totoaba, *Cynoscion macdonaldi*, in the northern Gulf of California. Fishery Bulletin. 74:531-544.
- Fletcher C.R., 1978a. Osmotic and ionic regulation in the cod (*Gadus caliaris* L.). I Water balance. J. Comp. Physiol. 124:149-155.
- Fletcher C.R., 1978b. Osmotic and ionic regulation in the cod (*Gadus caliaris* L.). II Salt Balance. J. Comp. Physiol. 124:157-168.
- Fry F.E.J., 1957. The aquatic respiration of fish. En: The Physiology of Fishes, Vol I. Ed. M.E. Brown., Academic Press, New York. Pp. 1-64.
- Gnaiger E., 1983. Polarographic Oxygen Sensor. Springer-Verlag. Berlin. Pp. 337-345.
- Guernsey D.L. y J.J. Poluhowich., 1975. Blood oxygen capacities of eels acclimated to Fresh- Brackish- and Salt-water environments. Comp. Biochem. Physiol. 52(A):313-316.
- Gunter G., 1961. Some relations of estuarine organisms to salinity. Limnol Oceanogr. 6(2):182-190.
- Hart b.T., Bailey P., Edwards R., Hortle K., James K., McMahon A., Meredith C. y K. Swadling., 1991. A review of the salt sensitivity of the Australian freshwater biota. En, Salt lakes and Salinity Special Double Issue of Hydrobiologia. (eds) Williams W.D. 210:105-144.
- Hart R.P., Hutchinson G.W. y J.G. Purser., 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). Aquaculture. 144:303-311.
- Hernández-Ayón J.M., Galindo-Bect S.M., Flores-Báez P.B. y S. Alvarez-Borrego., 1993. Nutrient concentration are high in the turbid waters of the Colorado River Delta. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 37:593-602.
- Hettler W.F., 1976. Influence of temperature and salinity on routine metabolic rate and growth of young Atlantic menhaden. J. Fish Biol. 8:55-65.
- Hickman C.P. Jr., 1968. Ingestion, intestinal absorption, and elimination of seawater and salts in the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. Canad. J. Zool., 46:457-466.
- Holliday F.G.T., 1969. The Effects of Salinity on the Eggs and Larvae of Teleosts., En: Fish Physiology. Ed. Hoar W.S. y Randall D.J., Vol. I., Academic Press. New York.
- Holt J.G. y C.R. Arnold., 1981. Effects of temperature and salinity on egg hatching and larval survival of red drum, *Sciaenops ocellata*. Fish. Bull. 79(3):569-573.

- Houston A.H., 1959. Osmoregulatory adaptation of Steelhead trout to sea water. *Can. J. Zool.* 33:729-748.
- Houston A.H., Madden J.A., Woods R.J. y H.M. Miles., 1971a. Some physiological effects of handling and tricaine methanesulphonate anesthetiation upon the brook trout *Salvelinus fontinalis*., *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28(5):625-633.
- Houston A.H., Madden J.A., Woods R.J. y H.M. Miles., 1971b. Variations in the blood and tissue chemistry of brook trout, *Salvelinus fontinalis*, subsequent to handling, anesthesia and surgery., *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28(5):635-642.
- Houston A.H., 1990. Blood and Circulation. En, *Methods for Fish Biology*. (Eds) Schreck C.B. y P.B. Moyle. American Fisheries Society, Bethesda Maryland. Pp. 684.
- Job S.V., 1959. The metabolism of *Plotosus anquillaris* (Bloch) in various concentrations of salt and oxygen medium. *Proc. Indian. Acad. Sci. (B)*. 50:121-126.
- Job S.V., 1969. The respiratory metabolism of *Tilapia mossambica* (Teleostei). I: The effect of size, temperature and salinity. *Mar. Biol.* 2:121-126.
- Jobling M., (1994). *Fish Bioenergetics*. Chapman y Hall. Great Britain. Pp. 309.
- Jobling M., (1995). *Environmental Biology of Fishes*. Chapman and Hall. Great Britain. Pp. 455.
- Jobling M. y P.S. Davies., 1980. Effects of feeding on metabolic rate, and the Specific Dynamic Action in Plaice, *Pleuroncodes platessa* L. *J. Fish Biol.* 16:629-638.
- Kilambi R.V. y A. Zdinak., 1980. The effects of acclimation on the salinity tolerance of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Cuv. and Val.). *J. Fish Biol.* 16:171-175.
- Kinne O., 1960. Growth, food intake and food conversion in a euryplastic fish exposed to different temperatures and salinities. *Physiol. Zool.* 3:288-317.
- Kirsch R. y M.F. Meiser. 1982. Progressive processing of ingested water in the gut of sea water teleost. *J. Exp. Biol.* 98:67-81.
- Kirsch R., Humbert W. y V. Simoneaux., 1985. The gut as an osmoregulatory organ: Comparative aspects and special references to fishes. En: *Transport Processes, Iono- and osmoregulation*. (eds) Gilles R. y M. Gilles Baillien. Springer, Berlin Heidelberg New York. Pp. 265-277.
- Kita J., Tsuchida S. y T. Setoguma., 1996. Temperature preference and tolerance, and oxygen consumption of the marbled rockfish, *Sebastes marmoratus*. *Marine Biology* 125:467-471.
- Krogh A., 1965. *Osmotic Regulation in Aquatic Animals*. Dover Publications Inc. New York.

- Lagler F.K., Bardach E.J., y R.R. Miller., 1962. Ichthyology. John Wiley and Sons Inc.
- Leray C., Colin D.A., y A. Florentz., 1981. Time-course of osmotic adaptation and gill energetics of Rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) following abrupt changes in external salinity. J. Comp. Physiol. 144:175-181.
- Love R.M., 1970. Chemical Biology of Fishes. Academic Press. New York. Pp. 547.
- Lutz P.L., 1972. Ionic patterns in the teleost. Comp. Biochem. Physiol. 42:719-733.
- Maceina M.J., Nordlie F.G. y J.V. Shireman., 1980. The influence of salinity on oxygen consumption and plasma electrolytes in grass carp *Ctenopharyngodon idella* Val. J. Fish Biol. 16:613-619.
- Mainoya J.R., 1982. Water and NaCl absorption by the intestine of the Tilapia *Sarotherodon mossambicus* adapted to fresh water or seawater and the possible role of prolactin and cortisol. J. Comp. Physiol. 146:1-7.
- Mann K.H., 1965. Energy transformations by population of fish in the River Thames. J. Anim. Ecol. 34:253-275.
- Martin T.J., 1990. Osmoregulation in three species of Ambassidae (Osteichthyes: Perciformes) from estuaries in Natal. S. Afr. J. Zool. 25(4):229-234
- Masaaki A., 1980. Chloride-dependent sodium and water transport in the seawater Eel intestine. J. Comp. Physiol. 138:87-91.
- Muir B.S. y A.J. Niimi., 1972. Oxygen consumption of the euryhaline fish aholehole (*Kuhlia sandvicensis*) with reference to salinity, swimming and food consumption. J. Fish. Res. Bd Can. 29:67-77.
- Nelson S.M. y S.A. Flickinger. 1992. Salinity tolerance of Colorado Squawfish, *Ptychocheilus lucius* (Pisces: Cyprinidae). Hydrobiologia. 246:165-168.
- Nakashima E., 1916. *Cynoscion macdonaldi* (Gilbert, 1881). COPEIA. 37:85-86.
- Nordlie F.G., 1978. The influence of environmental salinity on respiratory oxygen demands in the euryhaline teleost, *Ambassis interrupta*, Bleeker. Comp. Biochem. Physiol. 59(A):271-274.
- Nordlie F.G., 1987. Salinity tolerance and osmotic regulation in the diamond killifish *Adinia xenica*. Environmental Biology of Fishes 20(3):229-232.
- Nordlie F.G. y W.C. Leffler., 1975. Ionic regulation and the energetics of osmoregulation in *Mugil cephalus* Lin. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 51A:125-131.
- Nordlie F.G. y J.S. Walsh., 1989. Adaptive radiation in osmotic regulatory patterns among three species of cyprinodontids (Teleostei: Atherinomorpha), Physiol. Zool. 62:1203-1218.

- Nordlie F.G., Szelistowski W.A. y W.C. Nordlie., 1982. Ontogenesis of osmotic regulation in the striped mullet, *Mugil cephalus* L. J. Fish Biol. 20:79-86.
- Nordlie G.F., Haney C.D. y J.S. Walsh., 1992. Comparisons of salinity tolerances and osmotic regulatory capabilities in populations of Sailfin Molly (*Poecilia latipinna*) from brackish and fresh waters. COPEIA. 3:741-746.
- Oikari A., 1978. Aspects of osmotic and ionic regulation in two Baltic teleosts: Effects of salinity on blood and urine composition. Marine Biology. 44:345-355.
- Oikari A. y E. Virtanen., 1984. Influence of temperature acclimation on renal hydromineral metabolism in smolts of *Salmo salar* L. J. Therm. Biol. 9:215-220.
- Paloheimo J.E. y L.M. Dickie., 1966. Food and growth of fishes. III Relation among food, body size, and growth efficiency. J. Fis. Res. Bd Can. 23:1209-1248.
- Plaza-Yglesias M., Laufer M. y F.C. Herrera., 1988. Ionic and osmotic regulation in blood aqueous humor, gill and retina in the euryhaline fish, *Eugerres plumeri*. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 89A. 3:377-382.
- Potts W.T.W., 1954. The energetics of osmotic regulation in brackish- and fresh-water animals. J. Exp. Biol. 31:618-630.
- Prosser C.L., 1973. Comparative Animal Physiology. W.B. Saunders, London. Pp 966.
- Rao G.M.M., 1971. Influence of activity and salinity on the Weight-dependence oxygen consumption of the rainbow trout *Salmo gairdneri*. Mar. Biol. 8:205-212.
- Reynolds W.W. y A.D. Thomson., 1974. Temperature and salinity tolerances of young Gulf of California Grunion, *Leuresthes sardina* (Atheriniformes: Atherinidae). Journal of Marine Research. 32(1):37-45.
- Ruíz-Durá M.F., 1980. Recursos Pesqueros de las Costas de México. Editorial LIMUSA. 201-205.
- Safford B.V., 1957. Excretion and osmoregulation. Chapter IV. Vol. I; en The Physiology of Fishes. Ed. Brown E. Margaret. Academic Press Inc. New York. 447 pp.
- Salman N.A. y F.B. Eddy., 1987. Response of chloride cell numbers and Gill Na⁺/K⁺ ATPase activity of freshwater Rainbow trout (*Salmo Gairdneri* Richardson) to salt feeding. Aquaculture. 61:41-48.
- Sharpe C.S., Thompson D.A., Blankenship H.L. y C.B. Schreck., 1998. Effects of routine handling and tagging procedures on physiological stress responses in juvenile Chinook salmon. The Progressive Fish-culturist. 60(2):81-87.
- Shehadeh Z.H. y M.S. Gordon., 1969. The role of the intestine in salinity adaptation of the Rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol. 30(A):397-418.

- Smith W. Homer., (1930). The absorption and excretion of water and salts by marine Teleosts. The American Journal of Physiology. Vol 93(2):480-505.
- Stagg R.M., Talbot C., Eddy F.B. y E.M. Williams., 1989. Seasonal variation in osmoregulatory and cardio-respiratory responses to seawater exposure in smolthing Atlantic Salmon. Aquaculture. 82:219-228.
- Staurnes M., Sigholt T., Lysfjord G. y A.O. Gulseth., 1992. Difference in the seawater tolerance of Anadromous and landlocked populations of Arctic Char (*Salvenius alpinus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49:443-447.
- Steel D.G.R. y H.J. Torrie., 1989. Bioestadística: Principios y Procedimientos. McGraw Hill, 2da edición. México D.F. Pp. 622.
- Stuenkel E.L. y D.S. Hillyard., 1981. The effects of temperature and salinity acclimatation on metabolic rate and osmoregulation in the Pupfish *Cyprinodon salinus*. COPEIA. 2:411-417.
- Talbot C., Stagg R.M. y F.B. Eddy., 1992. Renal, respiratory and ioni regulation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Kelts following transfer from fresh water to seawater. J. Comp. Physiol. B. 162:358-364.
- Tandler A., Anav A.F. y I. Choshniak., 1995. The effect of salinity on growth rate, survival and swimbladder inflation in gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. Aquaculture. 135:343-353.
- Tochilina L.V., 1992. Summer hematological characteristics of marine fishes. J. Hydrobiol. 28:40-44.
- True C.D., Silva-Loera A. y N. Castro-Castro., 1996. Is aquaculture the answer for the endangered totoaba?. World Aquaculture, December:38-43.
- Virtanen E., Salama A. y B-E Lönn., 1988. Adaptations in the capacity of ionic and osmotic regulation in young salmon (*Salmo salar* L.) in brackish water. Comp. Biochem. Physiol. Vol 91(A) N° 1:79-86.
- Winberg G.G., 1956. Rate of metabolism and food requirements of fishes. Nauch. Trudy Belorussk. Gos. Univ. V.I. Lenina (Minsk), 1-253 pp (Transl. Fish. Res. Bd Can. No 194).
- Woo N.Y.S. y A.C.Y. Fung., 1981. Studies on the biology of the red sea bream, *Chrysophrys major*. II. Salinity adaptation. Comp. Biochem. Physiol. 69(A):237-242.
- Woo N.Y.S y W.C.M. Tong., 1982. Salinity adaptation in the snakehead, *Ophiocephalus maculatus* Lacépède: changes in oxygen consumption, branchial $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ and body composition. J. Fish Biol. 20(1):11-19.

- Woo N.Y.S. y R.S.S. Wu., 1982. Metabolic and osmoregulatory changes in response to reduced salinities in the Red Grouper *Epinephelus akaara* (Temminck y Schlegel) and the Black Sea Bream *Mylio macrocephalus* (Basilewsky). Mar. Biol. Ecol. 65:139-161.
- Wood M. Ch. y M.L. Patrick., 1994. Methods for assessing kidney and urinary bladder function in fish. En, Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. (eds) Hochachka y Mommsen. Vol. 3. Pp. 127-143.
- Wu R.S.S. y N.Y.S. Woo., 1983. Tolerance of hypo-osmotic salinities in thirteen species of adult marine fish: Implications for estuarine fish culture. Aquaculture. 32:175-181.
- Zeitoun I.H., Ullrey D.E. y P.I. Tack., 1974. Effects of water salinity and dietary protein levels on total serum protein and hematocrit of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Fingerlings. J. Fish. Res. Bd Can. 31:1133-1134.

Anexo I

Concentración de glucosa en el plasma (mmol/l) de los juveniles de *Totoaba macdonaldi*, aclimatados a diferentes salinidades (11, 20, 34 y 40 ‰), y sometidos a cambios inmediatos de salinidad (5, 11, 20, 34, 40 y 50 ‰). Determinada mediante el método de hexoquinasa (SIGMA Kit 16-1000).

Salinidad de Aclimatación (ppm)	Salinidad de Cambio inmediato (ppm)	Organismos para consumo de oxígeno			Organismos para excreción de orina
		1	2	3	4
40	50	4.65	1.55	2.02	6.08
40	40	1.80	2.35	2.30	3.37
40	34	2.11	1.76	2.29	3.16
40	20	1.97	1.82	1.80	2.10
34	50	1.44	0.35		2.66
34	40	1.49	1.38		2.79
34	34	2.11	2.29	2.43	2.56
34	20	2.78	2.74		2.94
34	11	1.65	1.75		5.26
34	5	2.74	2.21		2.81
20	34	1.52	2.09	1.32	2.58
20	20	1.07			1.31
20	11	0.82	1.00		2.22
20	5	1.20	1.43	0.92	1.62
11	34	1.67	2.11	1.52	4.13
11	20	1.73	1.30		3.78
11	11	1.07	1.46		2.06
11	5	0.73	0.53	2.35	3.46