

NIVELES DE Na^+ , K^+ Y Ca^{+2} EN HEMOLINFA DE *EMERITA PORTORICENSIS* (CRUSTACEA: DECAPODA) DURANTE SU CICLO DE MUDA EN CONDICIONES DE LABORATORIO

YANET ANTÓN¹, MAIRIN LEMUS^{2,4}, & KYUNG S. CHUNG³

¹Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

²Departamento de Biología, Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

³Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

⁴Centro de Investigaciones Ecológicas de Guayacán. Universidad de Oriente, Guayacán, Venezuela.

mlemus@sucre.udo.edu.ve

RESUMEN: En el presente trabajo se determinó la concentración de los iones Na^+ , K^+ y Ca^{+2} en hembras adultas de *Emerita portoricensis* durante el ciclo de muda en condiciones de laboratorio. Las etapas analizadas fueron: intermuda, premuda, y postmuda, esta última fue evaluada a 12, 24, 48 y 72 horas. A cada organismo se le extrajo la hemolinfa para realizar las determinaciones iónicas. El Na^+ y K^+ se analizaron por fotometría de llama y el Ca^{+2} por colorimetría. Se observaron diferencias significativas para los electrolitos evaluados: Na^+ , Fs = 37,360, $p < 0,001$; Ca^{+2} , Fs = 51,452, $p < 0,001$ y K^+ , Fs = 3,923; $p < 0,05$. El Na^+ y K^+ , aumentaron durante la etapa de premuda y luego cayeron a las 12 horas de postmuda, a las 24 horas de este período, el Na^+ aumentó nuevamente, mientras que el K^+ , aumentó a las 48 horas. El Ca^{+2} alcanzó su valor más alto en la etapa de premuda y luego cayó drásticamente en la postmuda. Estas variaciones electrolíticas, evidencian que en el organismo estudiado existen mecanismos de regulación iónica relacionados con el ciclo de muda, caracterizado por un aumento marcado en los niveles de los tres iones durante la premuda.

Palabras claves: regulación iónica, ciclo de muda, *Emerita*

ABSTRACT: The present study determined the concentration of the ions Na^+ , K^+ and Ca^{+2} in adult females of *Emerita portoricensis* during the molting cycle in conditions of laboratory. The analyzed stages were: intermolt, premolt, and postmolt; this last stage was evaluated at 12, 24, 48 and 72 hours. To each organism hemolymph was extracted to make the ionic determinations. The Na^+ and K^+ was analyzed by flame photometry and Ca^{+2} by colorimetry. For electrolytes evaluated were observed significant differences: Na^+ Fs = 37.360, $p < 0,001$; Ca^{+2} Fs = 51.452, $p < 0,001$ and K^+ Fs = 3,923; $p < 0,05$. The Na^+ and K^+ increased during the stage of premolt and soon they fell to the 12 hours of postmolt, Na^+ increased again to the 24 hours of this period, whereas the K^+ increased a to the 48 hours. The Ca^{+2} reached its higher value in the stage of premolt and soon it fell drastically in the postmolt period. These electrolytic variations evidence that in the organism studied existed mechanisms of ionic regulation related to the cycle of molt, characterized by an increase marked in the levels of three ions during the premolt stage.

Key words: ionic regulation, molting cycle, *Emerita*

INTRODUCCION

Uno de los aspectos de la fisiología de los crustáceos es el ciclo de muda, este proceso determina la vida de los crustáceos. Su metabolismo, comportamiento y reproducción son afectados directa o indirectamente por un periódico reemplazo del integumento y acumulación de metabolitos. Este reemplazo periódico del exoesqueleto va acompañado de cambios internos que ocurren a nivel de la cutícula, hepatopáncreas, orina y hemolinfa (PASSANO, 1960; GUDERLEY 1977; Chang, 1995; PRATOOMCHAT *et al.* 2002). Así, la fisiología del crustáceo está íntima y continuamente relacionada con las sucesivas etapas del ciclo de muda, siendo, la hibernación, la maduración de

ovarios y el transporte de los huevos, en las hembras, las únicas interrupciones en esta serie de eventos de recurrencia periódica (PASSANO, 1960).

Gracias a una serie de estudios realizados en una gran variedad de crustáceos, se ha demostrado la interrelación que tiene el ciclo de muda con los diferentes procesos metabólicos que suceden a lo largo de la vida de estos organismos, como por ejemplo, la regulación iónica y osmótica (HENRY & KORMANIK, 1985; PÉQUEUX, 1995; WANG *et al.*, 2003), la formación de músculos y la regulación del metabolismo de metales (ENGEL, 1987; ENGEL *et al.*, 2001) y de los aminoácidos libres (WHEATLY & AYERS, 1995; DOOLEY *et al.* 2002), así como también con la actividad

biológica de diferentes enzimas como son la anhidrasa carbónica (HENRY & KORMANIK, 1985), las hormonas hiperglicémicas, y la hormona inhibitoria de la muda (CHUNG & WEBSTER, 2003) que son, solo algunos de los factores que experimentan cambios durante el proceso de muda de un crustáceo.

La influencia que tiene el ciclo de muda sobre la concentración de los electrolitos en la hemolinfa de los crustáceos, ha demostrado una elevación general en la presión osmótica en los fluidos corporales durante la premuda, así como también en la concentración de las proteínas y de muchos de los constituyentes iónicos de la hemolinfa (ROBERTSON, 1960; DUARTE & ROMERO, 1982; WANG *et al.* 2003), siendo el sistema nervioso central, el encargado de regular este proceso a través de hormonas neurosecretoras especializadas (PASSANO, 1960; CHUNG & WEBSTER, 2003). La actividad neurosecretora causa cambios en el integumento, hemolinfa y hepatopancreas; una de las alteraciones que ocurre en la hemolinfa es un aumento en la concentración de Na^+ y Ca^{+2} , los cuales se han demostrado estar sujetos de forma directa, en el caso del Na^+ o de forma indirecta, en el caso del Ca^{+2} , a este control hormonal (DJANGMAN, 1970; HEIT & FINGERMAN, 1975).

Debido a esa interrelación que tiene el ciclo de muda con los procesos metabólicos anteriormente nombrados, éste tiene influencia sobre enzimas claves del metabolismo que dependen de la concentración de los diferentes iones; dos ejemplos de estas enzimas son la fosfoglicerato quinasa y la piruvato quinasa, ambas enzimas son claves, tanto para la glicólisis como para la gluconeogénesis, rutas metabólicas que para los crustáceos juegan un rol vital en la síntesis de quitina, así, los cambios en los niveles iónicos pueden afectar estas y otras enzimas regulatorias, en *Cancer magister*, se ha señalado que el K^+ es un potente activador de ambas enzimas, mientras que el Ca^{+2} es un fuerte inhibidor de ambas (GUDERLEY, 1977), mientras que, en langostas, otra enzima, la fosfofructoquinasa, es activada por la disminución de la concentración del K^+ (SUGDEM & NEWSHOLME, 1975).

Aunque se ha estudiado la regulación iónica del fluido extracelular en relación con el ciclo de muda en algunos crustáceos (BURSEY & LANE, 1971; GUDERLEY, 1977; TOWLE & MANGUN, 1985; WHEATLY, 1985; WHEATLY & AYERS, 1995) hasta ahora no se han realizado trabajos sobre la concentración de iones Ca^{+2} , Na^+ y K^+ durante el ciclo de muda de *Emerita portoricensis*.

E. portoricensis es un crustáceo perteneciente a la familia Hippidae que habita comúnmente en playas y sublitorales arenosos, siendo muy común en Venezuela (SASTRE, 1990). Las especies del género *Emerita* son crustáceos decápodos que viven enterrados en la arena formando agregaciones (EFFORD, 1965, 1976). En la región cefálica presentan apéndices sensitivos que le sirven para la filtración de fitoplancton y zooplancton, además de alimentarse de detritus orgánicos de origen vegetal (OSORIO *et al.*, 1967; Díaz, 1980).

Debido a que no se han estudiado los aspectos iónicos del ciclo de muda de los miembros de esta especie, se analizaron las concentraciones de Na^+ , Ca^{+2} y K^+ en la hemolinfa de *E. portoricensis* durante las etapas de intermuda, premuda y postmuda (12, 24, 48 y 72 horas posteriores a la muda).

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura de los ejemplares y zona de muestreo

Se capturaron ejemplares hembras adultas de *E. portoricensis* con tallas promedio de $3,80 \pm 0,77$ cm, en la zona intermareal en el sector El Guapo, Estado Sucre, a $64^{\circ} 10'$ Long. W y $10^{\circ} 28'$ Lat. N. El Golfo de Cariaco es una depresión tectónica al norte de la falla de El Pilar, las regiones circunvecinas son áridas y las fuentes sedimentarias son una combinación de fuentes eólicas, biogénicas y terrígenas con abundante materia orgánica (MORELOCK, 1982). El muestreo fue realizado durante los meses de julio y agosto del año 2002, lapso de tiempo durante el cual la temperatura del agua osciló entre 24 y 27 °C, y la salinidad se situó entre 36,6 y 37,6 ‰.

Aclimatación de los ejemplares

Una vez trasladados al laboratorio, fueron colocados, en 4 acuarios que estaban previamente preparados, 20 ejemplares por cada acuario, los acuarios tenían 10 L de capacidad y contenían sedimento esterilizado. Las condiciones que se establecieron para el estudio fueron: temperatura: 25 ± 2 °C; salinidad 36 ‰; fotoperíodo: 12/12; concentración de iones en el agua de mar de los acuarios: Na^+ 460; K^+ 10; Ca^{+2} 18,9 (mEq. l⁻¹). Los organismos permanecieron por un período de aclimatación de 15 días, al concluir este período de tiempo se comenzaron a evaluar las diferentes etapas de muda del organismo; los ejemplares, durante el transcurso tanto

del período de aclimatación como del bioensayo, fueron alimentados *ab libitum* con nauplios de *Artemia* sp con una densidad de 2 nauplios/ml de agua. (GARCÍA *et al.* 2000).

Caracterización de las etapas de muda

Las etapas de muda fueron determinadas por medio de tres técnicas, basadas en la observación de cambios morfológicos. Dos métodos utilizan el criterio macroscópico: dureza y color del caparazón (MORIYASU & MALLETT, 1986) y región interna del telson; el tercer método está basado en la observación del primer pereópodo (pata nadadora) bajo el microscopio (SAMPEDRO *et al.*, 2003); con este último método es posible observar los cambios morfológicos internos en el tegumento.

Luego de transcurridos los 15 días correspondientes al período de aclimatación, se empezaron a monitorear los animales diariamente para determinar las etapas de muda. Los animales en etapa de ecdisis fueron colocados en acuarios individuales para evaluar el período de postmuda a 12, 24, 48 y 72 horas. Tanto para la etapa de intermuda como para la premuda se observó bajo la lupa el 1^{er} segmento del 1^{er} par de patas nadadoras (pereópodos) (PASSANO, 1960; MANGUM, 1985; VIGH & FINGERMAN, 1985, SAMPEDRO *et al.* 2003).. Todos los cambios ocurridos en el exoesqueleto fueron observados bajo una lupa WarszawaPZO.

Extracción de la muestra de hemolinfa

Los ejemplares en las diferentes etapas de muda fueron removidos de los acuarios, lavados rápidamente con agua destilada y secados con papel absorbente. Se tomaron muestras de hemolinfa (aproximadamente 0,3 – 0,4 ml) por punción de la membrana artrodial en la base del primer par de pereópodos con una jeringa hipodérmica. Las muestras fueron colocadas en viales y se dejaron coagular, se centrifugaron a 15.000 rpm x 15 minutos para separar el suero del grupo de células, el suero se colocó en viales y se congeló a –15 °C hasta el momento de hacer las determinaciones de los iones Na⁺, K⁺ y Ca²⁺. Se analizaron un total de 63 muestras y los grupos presentaron de 9 a 11 organismos por etapa de muda.

Antes de determinar las concentraciones de Na⁺ y K⁺, se diluyeron las muestras con agua desionizada (1:400). Se usaron los siguientes patrones: Na⁺ 140 mEq. l⁻¹; K⁺ 5 mEq. l⁻¹ y Ca²⁺ 14 mEq. l⁻¹. Las determinaciones de Na⁺ y K⁺

se realizaron en un fotómetro de llama Ciba-Corning 22 y expresadas en mEq. l⁻¹. Las de Ca²⁺ fueron realizadas por métodos colorimétricos (CHIRON/ Diagnostics Corporation, East Walpole, Massachusetts, U.S.A.), leídas en un espectrofotómetro ASTRA – 570 a 550 nm y expresadas en mEq. l⁻¹.

Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza sencillo para establecer si existían diferencias significativas entre la concentración de los iones en las etapas de muda y se aplicó una prueba *a posteriori* de Duncan para la comparación múltiple de las medias de los electrolitos.

RESULTADOS

Determinación de la concentración de los iones

El análisis de los valores promedios del contenido de Na⁺, Ca²⁺ y K⁺ en la hemolinfa de *E. portoricensis* en diferentes estadios de muda arrojó resultados estadísticamente diferentes. El Na⁺ presentó un valor de Fs = 37,360; p < 0.001 (Tabla 1) y el K⁺ con un Fs = 3,92; p < 0,05 (Tabla 2) y el Ca²⁺ de Fs = 51,45; p < 0,001 (Tabla 1).

Los niveles de Na⁺ presentaron sus menores concentraciones durante la intermuda (431 mEq.l⁻¹) y se incrementaron en la premuda (449 mEq.l⁻¹), posteriormente comenzaron a descender hasta las 24 horas de postmuda (434 mEq.l⁻¹) y ya a las 72 horas alcanzaron su máximo valor (451 mEq.l⁻¹). El K⁺ presentó los niveles más bajos durante el periodo de intermuda (8,91 mEq.l⁻¹) y a medida que el organismo comenzó a entrar en la fase de premuda los niveles se incrementaron (9,31 mEq.l⁻¹), inclusive permanecieron altos durante las primeras doce horas de la postmuda (9,37 mEq.l⁻¹), para posteriormente bajar a las 24, 48 y 72 horas (9,21; 9,04; 9,24 mEq.l⁻¹ respectivamente), observándose que los niveles de Na⁺, y K⁺ hasta las 72 horas de postmuda no lograron alcanzar valores similares a los hallados en la intermuda (Fig. 1 y 2).

Las concentraciones de Ca²⁺ alcanzaron su máximo valor durante la fase de premuda (18,30 mEq.l⁻¹), después de la ecdisis estos valores comienzan a descender desde las 12 horas: 17,27 mEq.l⁻¹; 24 horas: 14,64 mEq.l⁻¹; 48 horas: 13,79 mEq.l⁻¹; hasta las 72 horas: 13,28 mEq.l⁻¹, para posteriormente subir hasta 14, 07 mEq.l⁻¹ durante la intermuda (Fig. 3).

Tabla 1. Resumen estadístico de electrolitos en hemolinfa de *Emerita portoricensis* durante su ciclo de muda. Los valores en paréntesis representan el rango de los datos y N tamaño de la muestra

Estado de muda	N	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺²
Intermuda	9	(429 - 434)	(8, 7 - 9, 1)	(13, 4 - 14, 8)
Premuda	11	(442 - 458)	(8, 9 - 9, 6)	(16, 5 - 19, 6)
Postmuda 12 horas	11	(435 - 446)	(9, 2 - 9, 5)	(16, 0 - 18, 4)
Postmuda 24 horas	11	430 - 438	(8, 8 - 9, 8)	(13, 1 - 16, 3)
Postmuda 48 horas	10	(439 - 451)	(8, 7 - 9, 5)	(12, 8 - 14, 9)
Postmuda 72 horas	11	(448 - 460)	(9, 0 - 9, 8)	(12, 6 - 14, 0)
Fs		37,36***	3,92 **	51,45 ***

** p>0.01

***p>0.001

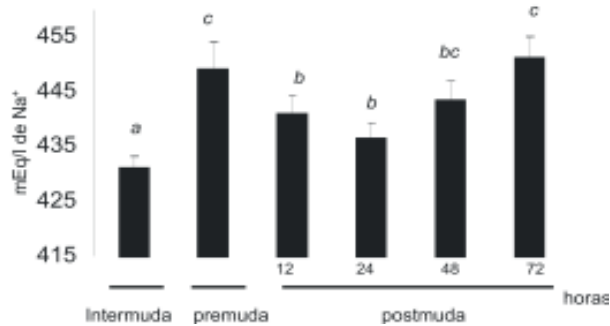


Fig.1. Variación de Na⁺ (mEq/l) en hemolinfa de *Emerita portoricensis* durante el ciclo de muda. Las barras representan los valores promedios con su desviación estándar. Las letras itálicas representan la formación de grupos de acuerdo a Duncan (p>0.05). Intermuda; Premuda; Postmuda evaluada a 12, 24 48 y 72 horas.

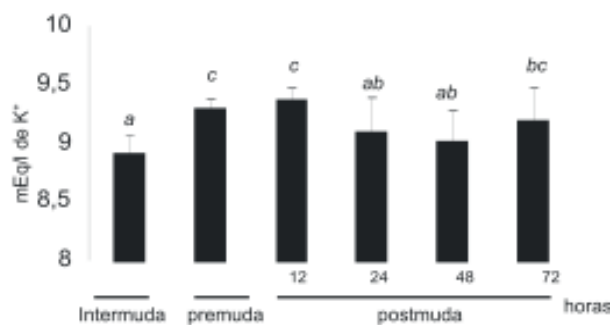


Fig.2. Variación de K⁺ (mEq/l) en hemolinfa de *Emerita portoricensis* durante el ciclo de muda. Las barras representan los valores promedios con su desviación estándar. Las letras itálicas representan la formación de grupos de acuerdo a Duncan (p>0.05). Intermuda; Premuda; Postmuda evaluada a 12, 24 48 y 72 horas.

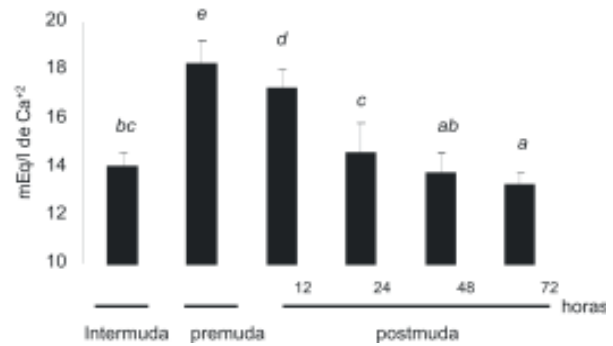


Fig.3.- Variación de Ca⁺² (mEq/l) en hemolinfa de *Emerita portoricensis* durante el ciclo de muda. Las barras representan los valores promedios con su desviación estándar. Las letras itálicas representan la formación de grupos de acuerdo a Duncan (p>0.05). Intermuda; Premuda; Postmuda evaluada a 12, 24 48 y 72 horas.

DISCUSION

Hasta la fecha, en *E. portoricensis* no existen estudios sobre las alteraciones electrolíticas que tienen lugar durante el proceso de muda, por lo que se presenta una evaluación de los niveles de Na⁺, Ca⁺² y K⁺ en la hemolinfa durante la intermuda, premuda y postmuda (12, 24, 48 y 72 horas posteriores a la muda).

Los niveles de Na⁺, K⁺ y Ca⁺² en hemolinfa de *E. portoricensis* experimentaron variaciones relacionadas con los estadios de muda, observándose un aumento de los electrolitos durante la premuda. Al igual que en este estudio, Robertson (1960) reportó pequeños pero significativos aumentos en las concentraciones de Na⁺ y K⁺ en el cangrejo *C. maenas* durante la premuda. Según TOWLE & MANGUM (1985) en *Callinectes sapidus* y LOCKWOOD & ANDREWS (1969) en *Gammarus duebeni*, existe una captación activa de agua durante la premuda avanzada y postmuda temprana, la cual pudiera explicar el aumento del nivel del Na⁺ y K⁺ en la hemolinfa. Otros autores como DANDRIFROSSE (1966) y CHUNG *et al* (1999) afirman que la captación de agua se inicia durante la ecdisis la cual está asociada con el flujo de sales hacia el interior de las células a través de las branquias. KULKARNI (1984), trabajando con *Emerita holtuisi* determinó los valores de Na⁺ y K⁺ durante el ciclo de muda, y reportó valores bastante similares a los hallados en esta investigación, donde el Na⁺ evidenció una caída de sus valores luego de la muda, mientras el K⁺ arrojó los mismos valores en la intermuda.

Se ha demostrado que durante el período de premuda, previo al período de la ecdisis ocurre la ruptura de muchos tejidos a través de procesos oxidativos que conllevan a la acumulación de productos nitrogenados y una disminución del pH (SMITH & DALL, 1982; WHEATLY, 1985; DEVESCONI & LUCU, 2003), que inducen intercambios iónicos a través de las células branquiales para mantener la presión osmótica (BELMAR *et al.*, 1997). Estos intercambios iónicos se deben en parte a un aumento de la actividad de Na⁺K⁺ATPasa de la membrana de las células ionocíticas en las branquias de los crustáceos decápodos para de esta forma mantener una concentración intracelular de Na⁺ baja permitiendo al mismo, entrar apicalmente vía canales de Na⁺ (RAINBOW, 1997; RAINBOW & BLACK, 2002). Por otro lado, las células respiratorias están involucradas en la regulación ácido-básica mediante procesos de intercambio de iones NH₄⁺ o H⁺ por iones Na⁺ hacia los espacios extracelulares (CAMERON & RANDALL, 1972; CAMERON & HEISSLER, 1983).

Posiblemente, en *E. portoricensis*, estos mecanismos de intercambio iónico que realizan las células branquiales sirven para: a) mantener el equilibrio ácido-básico del medio extracelular mediante la excreción de iones NH₄⁺, H⁺, CO₃H⁻, productos del catabolismo de proteínas y compuestos nitrogenados, y b) resguardo de la osmolaridad extracelular mediante la resorción de iones Na⁺ y Cl⁻ desde el ambiente externo, y con ello, la regulación osmótica de los fluidos biológicos de los crustáceos (CAMERON, 1979; RANDALL *et al.*, 1982; BELMAR *et al.*, 1997).

Con respecto al aumento del Ca²⁺ durante la premuda, TOWLE & MANGUM (1985) y WHEATHLY (1996,1997) postularon que el aumento del mismo podría ser debido al efecto de dos mecanismos: i) un mecanismo de antiporte Na⁺/Ca²⁺ originado por un gradiente transcelular de Na⁺, por intercambio de este catión por otro, dando como resultado un aumento en la concentración de Na⁺ en los espacios intercelulares los cuales tienen acceso a la hemolinfa, y esto es debido a un aumento en la actividad de la Na⁺K⁺ATPasa (WANG *et al.*, 2003); de esta forma se cree que esta enzima está íntimamente involucrada no solo en el transporte de Na⁺ y K⁺ sino también en el transporte de Ca²⁺ a través de la epidermis, al parecer, por generación de concentraciones intracelulares bajas de Na⁺, permitiendo el intercambio secundario de Na⁺ y Ca²⁺ a través de la membrana apical de las células epidérmicas transportadoras de iones así como el posterior movimiento

de Ca²⁺ hacia la cutícula, siendo la estequiometría: 3 átomos de Na⁺ que entran, por 1 átomo de Ca²⁺ que sale, y ii) un mecanismo de captación activa de Ca²⁺ en la membrana basolateral producto de la actividad de la Ca²⁺ATPasa. Cambios parecidos a estos han sido reportados para *H. americanus* (DONAHUE, 1993), así como en *Penaeus duorarum* (BURSEY & LANE, 1971) y *C. magister* (GUDERLEY, 1977). Este aumento de Ca²⁺ en la hemolinfa durante la premuda resulta en un aumento en el almacenamiento en el hepatopáncreas (PASSANO, 1960) posteriormente los niveles del Ca²⁺ caen inmediatamente luego de la muda, cuando una gran cantidad de Ca²⁺ es requerida para la mineralización del nuevo exoesqueleto el cual es tomado directamente de la hemolinfa. Las concentraciones de la hemolinfa son restablecidas por movilización del Ca²⁺ almacenado en el hepatopáncreas disminuyendo la excreción y aumentando la captación. El origen del Ca²⁺ usado en la calcificación, durante la premuda, al parecer, proviene de las mitocondrias de las células del hepatopáncreas las cuales pueden acumular Ca²⁺ (CHEN *et al.*, 1974), que luego liberan hacia la hemolinfa como producto de la calcificación del exoesqueleto durante la postmuda, sin embargo mucho del Ca²⁺ parece ser absorbido del medio, por las branquias; este aumento también indica que el crustáceo está pasando por un proceso de descalcificación del exoesqueleto, por lo tanto, al haber la liberación del calcio, éste pasa a la hemolinfa aumentando su concentración.

La declinación en las concentraciones de Ca²⁺ de la hemolinfa durante la postmuda se correlaciona con observaciones previas realizadas en *C. maenas* (ROBERTSON, 1960) y *Cancer magister* (GUDERLEY, 1977) estos resultados sugieren que la calcificación de la cutícula en el crustáceo ocurre más rápidamente que: a) la liberación del Ca²⁺ almacenado, y/o b) que la captación del Ca²⁺ a través del medio. La reducción significativa del Ca²⁺ durante la postmuda se debe al proceso de mineralización de la cutícula, la cual es ayudada con la entrada, de forma pasiva del Ca²⁺, al interior del citosol a través de canales de Ca²⁺ localizados en la membrana apical, para así, de esta forma, complementar la captación activa (PÈQUEUX, 1995). En *Callinectes sapidus* se han reportado niveles significativos de deposición durante la postmuda, y que ocurre entre las 10 y 24 horas (VIGH & DENDINGER, 1982) tiempo durante el cual, en *E. portoricensis*, el Ca²⁺ permanece bajo, aún hasta las 72 hora, lo cual indica que la deposición de Ca²⁺ permanece activa por varios días, quizás hasta el inicio de la intermuda. TRAVIS (1955),

demostró en *Panulirus argus*, que la glándula antenal ayuda en la calcificación por disminución de la secreción urinaria de Ca^{+2} y Mg^{+2} , sales de carbonato y fosfato; esta glándula es el órgano principalmente responsable de la regulación de los iones divalentes en los crustáceos decápodos (WHEATLY, 1985, 1997).

CONCLUSIONES

Los resultados evidencian un estrés osmótico causado por el aumento de los niveles de sodio durante la etapa de premuda, acompañada de un aumento de K^+ y Ca^+ . Estas alteraciones ayudan al mantenimiento del balance iónico, osmótico y acidobásico durante esta etapa.

La disminución de los valores del Ca^{+2} en *E. portoricensis* hasta las 72 horas posteriores a la muda, indica que tanto el proceso de remineralización del exoesqueleto como el de movilización del Ca^{+2} permanecen activos hasta ese momento.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por el financiamiento de esta investigación y al técnico ÁNGEL ANTÓN por su colaboración en el trabajo de campo.

REFERENCIAS

- BURSEY, C. & A. LANE. 1971. Ionic and protein concentration changes during molting cycle of *Penaeus duorarum*.- *Comp. Biochem. and Physiol.* 40: 155-162.
- BELMAR, M., J. ARMAS, D. BELMAR, W. RIVEROS, S. YEGRES & G. CARRILLO. 1997. Mecanismos de regulación acidobásica en algunos vertebrados e invertebrados del Oriente de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente.* 36: 37- 43.
- CAMERON, J. 1979. Excretion of CO_2 in water-breathing animals. A short review. *Mar. Biol. Letters* 1: 3- 13.
- _____, & D. RANDALL. 1972. The effect of increased ambient CO_2 on arterial CO_2 tension, CO_2 content and pH in rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 57: 673- 680.
- _____, & N. HEISSLER. 1983. Studies of ammonia in the rainbow trout: physico-chemical parameters, acid-base behaviour and respiratory clearance. *J. Exp. Biol.* 105: 107-125.
- CHANG, E.S. 1995. Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapod crustaceans: an overview. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 193: 1-14.
- CHEN, C., J. GRENWALT & A. LEHNINGER. 1974. Biochemical and ultrastructural aspects of Ca^{+2} transport by mitochondria of the hepatopancreas of the blue crabs *Callinectes sapidus*. *J. Cell. Biol.* 61: 301 – 305.
- CHUNG, J., H. DIRCKSEN & S. WEBSTER. 1999. A remarkable precisely timed release of hyperglycemic hormone from endocrine cells in the gut is associated with ecdysis in the crab *Carcinus maenas*. *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* 96: 13103-13107.
- _____. & S. WEBSTER. 2003. Moulting cycle-related changes in biological activity of moulting-inhibiting hormone (MIH) and crustacean hyperglycaemic hormone (CHH) in the crab *Carcinus maenas*. *Eur. J. Biochem.* 270: 3280-3295.
- DANDRIFOSSE, G. 1996. Adsorption d'eau au moment de la mue chez un crustacé décapode, *Maia squinado*. *Arch. Int. Physiol. Bioch.* 74: 329-331.
- DEVESCOVI, M. & C. LUCU. 2003. Growth of tissues related to haemolymph copper throughout the moulting cycle of the lobster *Homarus gammarus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 247: 165-172.
- DÍAZ, H. 1980. The mole crab *Emerita talpoida* (Say). A case of changing life history pattern. *Ecol. Monogr.* 50: 437 – 456.
- DJANGMAH, J. 1970. The effects of feeding and starvation on copper in the blood and hepatopancreas and blood proteins of *Crangon vulgaris* (Fabricius).- *Comp. Biochem. Physiol.* 32: 709- 731.
- DONAHUE, J. 1993. Studies on ecdysis in the American lobster (*Homarus americanus*). II. Serum calcium levels under various normal conditions. *Sh. Fish. Res. Bull.* 13: 3- 11.

- DOOLEY, P., P. CROUCH & J. WEST. 2002. Free amino acids in claw muscle and haemolymph from Australian freshwater crayfish at different stages of the moult cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 131: 625-637.
- DUARTE, C. & C. ROMERO. 1982. Regulación iónica y osmótica en juveniles de camarón *Penaeus brasiliensis*. Latreille. (Crustacea: Decápoda: Penacidae). *Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente.* 24: 3-10.
- EFFORD, I. 1965. Aggregation in the sand crab *Emerita análoga* (Stimpson). *J. An. Ecol.* 34: 63 – 75.
- _____. 1976. Distribution of the sand crabs of the genus *Emerita* (Decapoda, Hippidae). *Crustaceana.* 30: 169 – 183.
- ENGEL, D. 1987. Metal regulation and molting in the blue crab *Callinectes sapidus*: copper, zinc and metallothionein. *Biol. Bull.* 172: 69-82.
- _____, M. BROUWER & R. MESCALDO-ALLEN. 2001. Effects of molting and environmental factors on trace metal body-burdens and hemocyanin concentrations in the American lobster, *Homarus americanus*. *Mar. Environ. Res.* 52: 257-269.
- GARCÍA, R., M. LEMUS & K. S. CHUNG. 2000. Cinética de incorporación del mercurio en *Emerita portoricensis* (Crustacea: Decapoda). *Rev. Biol. Trop.* 1: 215-223.
- GUDERLEY, H. 1977. Muscle and hypodermal ion concentrations in *Cancer magister*. Changes with the molt cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 56: 155-159.
- HEIT, M. & M. FINGERMAN. 1975. The rol an eyestalk hormone in the regulation of sodium concentration of the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Comp. Biochem. Physiol.* 50: 277- 280.
- HENRY, R. & G. KORMANIK. 1985. Carbonic anhydrase activity and calcium deposition during the molt cycle of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *J. Crust. Biol.* 5: 234-241.
- KULKARNI, K. 1984. Osmotic and ionic regulation during the moulting cycle of the sand crab, *Emerita holthuisi*. *Comp. Biochem. Physiol.* 9: 340- 342.
- LOCKWOOD, A. & W. ANDREWS. 1969. Active transport and sodium fluxes at moult in the amphipod, *Gammarus duebeni*. *J. Exp. Biol.* 51: 591- 605.
- MANGUM, C. 1985. Molting in blue crab *Callinectes sapidus*: a colaboration and cardiovascular function, and ion transport. Preface. *J. Crustac. Biol.* 5: 185- 187.
- MORELOCK, J. 1982. Marine geology of the Gulf of Cariaco. *Act. Cient. Venezolana* 33: 226 – 234.
- MORIYASU, M. Y. & P. MALLET. 1986. Molt stage of the snow crab *Chionoecetes opilio* by observation of morphogenesis of setae on the maxila. *J. Crustac. Biol.* 6: 709-718.
- OSORIO, C., N. BAHAMONDE. & M. LÓPEZ. 1967. El limanche *Emerita analoga* (Stimpson) en Chile. *Bol. Mus. Nac. Hist. Nat.* 29: 60 – 110.
- PASSANO, L. 1960. Molting and its control. Ed. T. Waterman, In: *The Physiology of Crustacea.* 1: 472- 536.
- PÉQUEUX, A. 1995. Osmotic regulation in crustaceans. *J. Crustac. Biol.* 15:1-60.
- PRATOOMCHAT, B., P. SAWANGWONG, P. PAKKONG. & J. MACHADO. 2002. Organic an inorganic compound variation in hemolymph, epidermal tissue and cuticle over molt cycle in *Scylla serrata* (Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 131: 243-255.
- RANDALL, D., S. PERRY & T. HEMING. 1982. Gas transfer and acid-base regulation in salmonids. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B(1): 93- 103.
- RAINBOW, P. 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 44: 169- 175.
- . & W. BLACK. 2002. Effects of changes in salinity and osmolality on the rate of uptake of zinc by three crabs of different ecologies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 244: 205-217.
- ROBERTSON, J. 1960. Ionic regulation in the crab *Carcinus maenas* (L.) in relation to the moulting cycle. *Comp.*

- Biochem. Physiol.* 1: 183- 212.
- SAMPEDRO, M., E. GONZÁLEZ-GURRIARÁN & J. FREIRE. 2003. Molt cycle and growth of *Maja squinado* (Decapoda: Majidae) in coastal habitats of Galicia, north-west Spain. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 83: 995-1005.
- SASTRE, M. 1990. Relationships between life history stages and population fluctuations in *Emerita portoricensis*. *Bull. Mar. Sci.* 47: 526 – 535.
- SMITH, D. & W. DALL. 1982. Blood protein, blood volume and extracellular space relationships in two *Penaeus* spp. (Decapoda:Crustacea). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 3:1-15.
- SUGDEM, P. & E. NEWSHOLME. 1975. The effects of ammonium, inorganic phosphate and potassium ions on the activity of phosphofructokinases from muscle and nervous tissues of vertebrates and invertebrates. *Biochem. J.* 150: 112- 113.
- TOWLE, D. & C. MANGUM. 1985. Ionic regulation and transport ATPase activitie during the molt cycle in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Crustac. Biol.* 5: 216-222.
- TRAVIS, D. 1955. The molting cycle of spiny lobster *Panulirus argus*. III. Physiological changes which occur in the blood and urine during the normal molting cycle. *Biol. Bull.* 109: 484- 503.
- VIGH, D. & J. DENDINGER. 1982. Temporal relationships of postmolt deposition of calcium, magnesium, chitin and protein in the cuticle of the Atlantic blue crab *Callinectes sapidus*, Rathbun. *Comp. Biochem. Physiol.* 72: 365- 369.
- _____. & M. FINGERMAN. 1985. Molt staging in the fiddler crab *Uca pugilator*. *J. Crustac. Biol.* 5: 386-396.
- WANG, W., A. WANG, D. WANG, L. WANG, Y. LIU & R. SUN. 2003. Calcium, phosphorus and adenylate levels and Na⁺-K⁺-ATPase activities of prawn, *Macrobrachium nipponense* during the molt cycle. *Comp. Biochem. Physiol.* 134: 297-305.
- WHEATLY, M. 1985. Free amino acid and inorganic ion regulation in the whole muscle and hemolymph of the blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun) in relation to the molting cycle. *J. Crustac. Biol.* 5: 223-233.
- _____. 1996. An overview of calcium balance in crustaceans.- *Physiol. Zool.* 69: 351- 382.
- _____. 1997. Crustacean models for studying calcium transport. The journey from whole organisms to molecular mechanisms.- *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 77: 107-125.
- _____, & J., AYERS. 1995. Scaling of calcium, inorganic contents, and organic contents to body mass during the molting cycle of the fresh-water crayfish *Procambarus clarkii* (Girard). *J. Crustac. Biol.* 15: 409 – 417.

RECIBIDO: febrero 2005

ACEPTADO: junio 2005