

Tiempo en que muere el camarón (*Penaeus vannamei*) fuera del agua y concentración de hemocianina, posterior a la exposición a concentraciones subletales de plaguicidas.

Time in which the shrimp (*Penaeus vannamei*) dies out of the water and concentration of hemocyanin, after exposure to sublethal concentrations of pesticides.

Bautista-Covarrubias, Juan Carlos¹, Frías-Espericueta, Martín Gabriel², Romero Arzate, Yadir³, Aguilar-Juárez, Marisela², Arreola-Hernández, Jonathan Omar².

¹Laboratorio de Indicadores Biológicos de Estrés Ambiental. Unidad Académica Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit

²Laboratorio de Estudios Ambientales, Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa.

³Instituto Tecnológico de Toluca.

Recibido: 04 de mayo de 2020

Aceptado: 25 de junio de 2020

RESUMEN

Los plaguicidas son sustancias químicas utilizadas para proteger los cultivos agrícolas de las plagas, pero también son tóxicas y letales para organismos sensibles como los crustáceos. En el presente trabajo se evaluó el tiempo (minutos) que demora un camarón *Penaeus vannamei* en morir fuera del agua y la concentración de hemocianina presente en la hemolinfa. Se utilizaron tres concentraciones subletales (1%, 10% y 50%) de la CL₅₀₋₉₆ horas de malatión y endosulfán, después de 48 horas, en cada camarón fueron analizadas las variables. El menor tiempo promedio de muerte (21.11±2.68 minutos) fue para los camarones expuestos a endosulfán (1%, 10% y 50%) y significativamente diferente ($p < 0.05$) al tiempo promedio de los camarones del grupo control (33.79±4.06 minutos). La concentración de hemocianina (HC) fue mayor en los camarones expuestos a endosulfán (tratamiento 50%) con diferencias significativas al comparar con los promedios

de hemocianina de camarones expuestos a malatión (tratamientos 10% y 50%). El plaguicida endosulfán es más tóxico que el malatión, quizás afectó en mayor medida la cámara branquial de *P. vannamei*, por eso fue menor el tiempo en morir fuera del agua, el incremento de la HC por ser una proteína respiratoria se presentó lo que podría ser una inducción de la actividad proteolítica (biosíntesis) como respuesta al estrés ocasionado por la presencia del plaguicida endosulfán.

Palabras clave: Tiempo de muerte, hemocianina, camarón y plaguicidas.

ABSTRACT

Pesticides are chemicals used to protect crops from pests, but they are also toxic and lethal to sensitive organisms such as crustaceans. In the present work, the time (minutes) that a shrimp *Penaeus vannamei* takes to die out of the water and the concentration of hemocyanin present in the hemolymph were evaluated. Three sublethal concentrations (1%, 10%, and 50%) of the LC₅₀₋₉₆ hours of malathion and endosulfan were used, after 48 hours in each shrimp the variables were analyzed. The shortest average time of death for the shrimp (21.11 ± 2.68 minutes) was for those exposed to endosulfan (1%, 10%, and 50%) and significantly different ($p < 0.05$) from the average time for the shrimp in the control group (33.79 ± 4.06 minutes). Hemocyanin (HC) concentration was higher in shrimp exposed to endosulfan (50% treatment) with significant differences when compared with the hemocyanin averages of shrimp exposed to malathion (10% and 50% treatments). The pesticide endosulfan is more toxic than malathion, perhaps it affected the branchial chamber of *P. vannamei* to a greater extent, that is why the time in dying out of the water was shorter, the increase of the HC for being a respiratory protein appeared what could be an induction of proteolytic activity (biosynthesis) as a response to stress caused by the presence of the pesticide endosulfan.

Key words: Time of death, hemocyanin, shrimp and pesticides.

INTRODUCCIÓN

De los artrópodos; los crustáceos son considerados los más numerosos, representan al Filo (Phylum) de los artrópodos y consta de más de 38,000 especies distintas (Ruppert y Barnes, 1996), dentro de este Filo también se encuentran los arácnidos; como las arañas, los escorpiones y ácaros, además de insectos y miriápodos. El camarón *Penaeus vannamei* es un crustáceo decápodo que pertenece a la familia Penaeidae y a diferencia de otros artrópodos, la cabeza se encuentra fusionada con el tórax para formar lo que se llama cefalotórax.

A parte del cefalotórax, los camarones decápodos (diez patas), presentan dos regiones más; el abdomen y el telson, estas tres partes conforman su morfología externa. Las anténulas y antenas son apéndices situados en el cefalotórax y cumplen una función sensorial, las mandíbulas, maxilas y maxilípedos son apéndices con fines de alimentación y los cinco pares de pereiópodos (patas) llevan a cabo la locomoción en la parte funcional del cefalotórax. En el abdomen está presente otros cinco pares de patas llamados pleópodos y finalmente en el telson se encuentran los urópodos, ambos apéndices cumplen la función natatoria (Dall *et al.*, 1990).

Por otro lado, la respiración es conocida como el intercambio gaseoso necesario para adquirir oxí-

geno y que las células obtengan energía. En organismos acuáticos el oxígeno lo toman del agua donde se encuentra disuelto en menor proporción que en el aire. Con el intercambio gaseoso todo animal acuático y terrestre, incorpora oxígeno y expulsa dióxido de carbono (CO₂). Se ha observado en el crustáceo *Euphausia pacifica* que el consumo de oxígeno aumenta cuando ha mudado el exoesqueleto, además el consumo de oxígeno fue directamente proporcional al peso del cuerpo del organismo (Paranjape, 1967).

Los crustáceos son en mayoría acuáticos y un rango distintivo es la presencia de un exoesqueleto que funciona como una vestimenta (Bautista y Frías, 2013), además de branquias colocadas en ambos lados del cuerpo. Las branquias son los órganos que llevan a cabo la respiración mediante intercambio gaseoso y éstas se asocian a los apéndices situados dentro de la cámara branquial, el escafognatito genera movimiento en el agua para introducir agua y generar oxígeno, posteriormente pasa a la hemolinfa. Los pleópodos son considerados apéndices que también cumplen una función importante en la respiración del camarón *Callinassa californiensis*, que los utiliza para incorporar agua hacia el sistema branquial en ambientes acuáticos anóxicos (Torres *et al.*, 1977). En los crustáceos la sangre es nombrada hemolinfa y el escafognatito es un apéndice de forma laminar y oval, que sobresale de la segunda maxila.

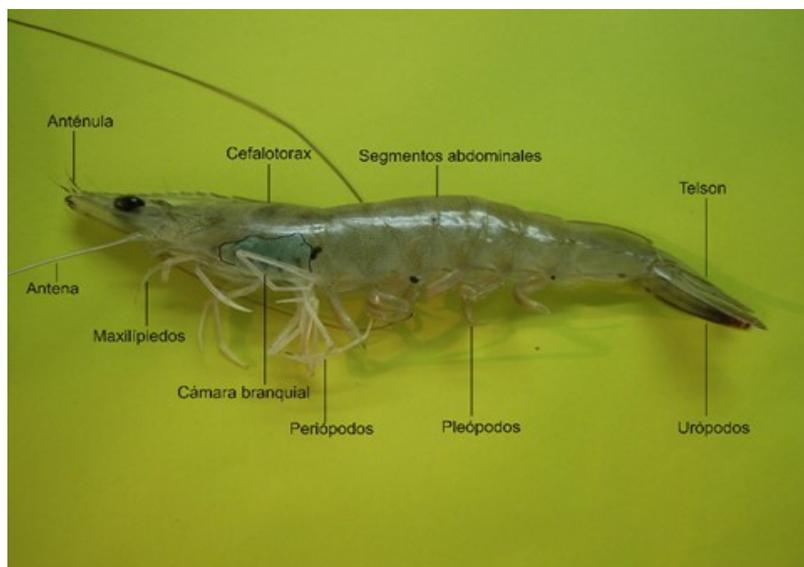


Figura 1. Morfología externa del camarón y sistema branquial tratado con cobre para ubicar la cámara branquial. Foto: Bautista-Covarrubias, J.C.

La branquia está compuesta de un eje central con ramificaciones laterales, como si fuera un peine presente a cada lado. Por el eje de cada branquia existe un canal branquial que lleva la hemolinfa a cada filamento o lamela de la branquia, posteriormente por otro canal regresa la sangre al sistema circulatorio del camarón.

La hemocianina tiene una masa molecular de 400 kDa, está compuesta por dos polipéptidos glicosilados de 75 kDa y 82 kDa, los cuales fueron aislados del plasma de *Litopenaeus vannamei* (Figueroa-Soto *et al.*, 1997). Es una proteína plasmática que se encuentra disuelta en el plasma de la hemolinfa y es la encargada de distribuir y transportar 90 % del oxígeno a todos los tejidos, además actúa como barrera de defensa, por lo cual, cumple un papel importante en la resistencia a infecciones por virus, bacterias y hongos (Kaiyu *et al.*, 2008). La hemocianina es el principal componente de la hemolinfa, seguido de la proteína de la coagulación (Bachère *et al.*, 2004). La hemocianina como pigmento respiratorio representa 64% a 84% de la proteína total presente en la hemolinfa y su incremento está en función del tamaño del organismo (Cheng *et al.*, 2002). Algunas de las funciones de este pigmento extracelular aparte de transportar oxígeno a los tejidos, son el almacenar proteína, desempeñar función osmorregulatoria y la de transportador de metales y aminoácidos (Figueroa-Soto *et al.*, 1997; Decker y Jaenicke, 2004; Coates y Nairn, 2014), además, juega un papel importante en la defensa antiviral del síndrome de la mancha blanca (WSSV siglas en inglés), virus del síndrome del taura (TSV), bactericida y fungicida (Zhang *et al.*, 2004; Kaiyu *et al.*, 2008). Su concentración puede verse influenciada por condiciones de tipo infeccioso, ambiental o fisiológico, una disminución y la pérdida del color azul de la hemolinfa permite estimar las condiciones fisiológicas del organismo y en parte su capacidad de respuesta inmune ante la presencia de virus WSSV y TSV (Song *et al.*, 2003).

La concentración de hemocianina puede disminuir por efecto de plaguicidas y por metales pesados, de igual manera por tipo infeccioso o fisiológico. Al disminuir la concentración de esta protei-

na, el oxígeno necesario para función celular es menor y puede afectar el sistema metabólico, fisiológico y el sistema inmune del camarón. Al disminuir el sistema inmunológico, la susceptibilidad del camarón a virus, bacterias y hongos es mayor (Kaiyu *et al.*, 2008).

Los plaguicidas son sustancias que se utilizan para combatir plagas que afectan los cultivos agrícolas; el malatión ($C_{10}H_{19}O_6PS_2$) y el endosulfán ($C_9H_6Cl_6O_3S$) son plaguicidas con diferente estructura química. El primero se deriva del ácido fosfórico y presenta átomos de fósforo y azufre (EPA, 2006), el principal efecto es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, lo cual, al no llevar a cabo la hidrólisis del neurotransmisor (acetilcolina), se acumula en las membranas post sinápticas y afecta el sistema nervioso (García-de la Parra, *et al.*, 2006). El segundo presenta en su mayoría átomos de cloro en su estructura química (EPA, 2002) y entre algunos de los efectos, bloquea la recepción del neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico (GABA) y es más tóxico que otro tipo de sustancias químicas (Gant *et al.*, 1987). La exposición de *Metapenaeus monoceros* por 23 días a endosulfán, fue observado un decremento de la proteína total, carbohidratos y lípidos (Suryavanshi *et al.*, 2009). Ambos plaguicidas son tóxicos y afectan el sistema respiratorio, como resultado de efecto generalizado sobre el sistema nervioso, si la estimulación continúa por la exposición a los plaguicidas, puede ocasionar la muerte del organismo.

Una manera de evaluar el efecto de sustancias tóxicas sobre organismos no blanco (organismos a los que no se destina la sustancia tóxica), es mediante la realización de bioensayos de toxicidad. Para esto, se utilizan concentraciones de manera creciente y se exponen organismos sensibles (como los crustáceos) a un tiempo de exposición que por lo regular es a 96 horas. Posteriormente se registra la mortalidad, y mediante un modelo probabilístico (Probit), se determina la concentración letal media (CL_{50-96} horas), que en otras palabras es la concentración que ejerce mortalidad en el 50% de los organismos expuestos a la sustancia ensayada (Finney, 1971).

El objetivo del presente trabajo fue contabilizar el tiempo (minutos) que el camarón demora en morir fuera del agua, posterior a la exposición individual a concentraciones subletales de malatión y endosulfán, además por la importancia de la hemocianina (proteína) en el transporte de oxígeno, fue cuantificada la concentración en la hemolinfa de cada camarón posterior al tiempo de 48 horas de la exposición a cada plaguicida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos experimentos fueron realizados con referencia al trabajo realizado por Bautista, (1996) en el que determinó la CL₅₀₋₉₆ horas de 78 microgramos por litro ($\mu\text{g L}^{-1}$) de malatión para el camarón blanco (peso y longitud promedio de 2.9 g y 7.7 cm. respectivamente). Los efectos observados por el autor fueron hiperactividad, nado errático y coloración blanquecina de los segmentos abdominales. Respecto a endosulfán, al trabajo de referencia fue el realizado por Suryavanshi *et al.* (2009) la CL₅₀₋₉₆ horas determinada fue $0.1993 \mu\text{g L}^{-1}$ para juveniles de *Metapenaeus monaceros* (1.8 g y longitud 6.2 cm). A partir de las CL₅₀₋₉₆ horas, se calculó 1%, 10% y 50% de cada plaguicida para cada uno de los experimentos realizados.

Para conocer el tiempo que un camarón muere fuera del agua, se realizaron los experimentos en el Instituto de Ciencias de Mar y Limnología-UNAM, Unidad Académica Mazatlán, Sinaloa. Por cada plaguicida fueron utilizados cuatro acuarios de cristal con 40 litros de agua de mar filtrada y pasada por lámpara ultravioleta (UV), posteriormente fueron colocados ocho camarones por cada acuario y se mantuvieron por tres días en aclimatación. Las condiciones para el experimento definitivo fueron; temperatura ambiente ($30\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), temperatura en del agua en los acuarios ($28\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), oxígeno de ($4.4\pm 1 \text{ mg L}^{-1}$), 35 unidades prácticas de sal (ups) y 7.4 de valor pH.

Se aplicaron tres concentraciones de cada plaguicida; de malatión (0.78, 7.80 y 39.0 $\mu\text{g L}^{-1}$), el promedio de peso y talla fueron de 9.58 ± 0.23 gramos y 11.86 ± 0.23 centímetros. Para endosulfán (0.001993, 0.01993 y 0.09965 $\mu\text{g L}^{-1}$), el promedio fue 10.13 ± 0.43 gramos y 11.36 ± 0.58 centímetros,

las concentraciones subletales de cada plaguicida fueron las correspondientes al 1%, 10% y 50% de la CL₅₀₋₉₆ horas, descritas anteriormente.

Los experimentos fueron estáticos sin recambio de agua, al final del tiempo de 48 horas, los camarones fueron extraídos de cada acuario uno a uno, el tiempo individual fue contabilizado con un cronómetro estándar (modelo H5670). El tiempo inicial fue el momento de ser capturado con la ayuda de un cucharín y extraído rápidamente del agua, el tiempo final fue cuando los pereiópodos dejaron de tener movimiento y la cámara branquial dejó de contraerse, finalmente el tiempo (minutos) fue registrado.

La concentración hemocianina fue determinada de acuerdo a Pascual *et al.* (2006). La hemolinfa fue extraída individualmente de la base del primer segmento abdominal con jeringa para insulina (1 mL), solo 10 μL por duplicado de cada organismo fueron utilizados para el análisis. Cada muestra fue colocada en un espectrofotómetro y la lectura de absorbancia fue realizada a una longitud de onda de 335 nanómetros, las unidades de hemocianina son expresadas en mMol L^{-1} .

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante prueba de normalidad y homocedasticidad, si los valores cumplieron con ambos supuestos se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Cuando se detectaron diferencias significativas se aplicarán pruebas de comparación de promedios Holm-Sidak a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

RESULTADOS

El análisis estadístico demostró, que los camarones cuando son expuestos a los plaguicidas, el tiempo promedio en que mueren fuera del agua es significativamente diferente ($p<0.05$). El efecto del endosulfán provocó que los organismos expuestos a los tres porcentajes (1%, 10% y 50%) murieran en menor tiempo que los organismos del control (Figura 2). El registro del tiempo promedio con su respectivo intervalo de confianza (95%) que demora un camarón (control) en morir fuera del agua fue de 33.79 ± 3.56 minutos, bajo condiciones de laboratorio, lo cual

puede llegar a variar el tiempo cuando se contabilice el tiempo en campo bajo otras condiciones diferentes a las aquí señaladas. Para los organismos expuestos a malatión el tiempo promedio fue 29.30 ± 3.47 minutos, mientras que para organismos expuestos a endosulfán fue igual a 21.11 ± 1.30 minutos. Es evidente que la variabilidad biológica de organismo a organismo existe, sin embargo, las desviaciones estándar no representan un valor alto, lo que demuestra que es evidente el efecto ocasionado por cada plaguicida en el tiempo que el camarón demora en morir posterior a la exposición.

Respecto a la concentración de hemocianina presente en hemolinfa, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los promedios de hemocianina de organismos al tiempo de 48 horas entre la concentración de endosulfán (50%) con respecto a los promedios de hemocianina de organismos expuestos al malatión (10% y 50%), lo que indica que la concentración de hemocianina disminuye en medida que la concentración se acerca al 50% de la CL_{50-96} horas de malatión, y la hemocianina incrementa como se acerca al 50% de la CL_{50-96} horas de endosulfán (Figura 3).

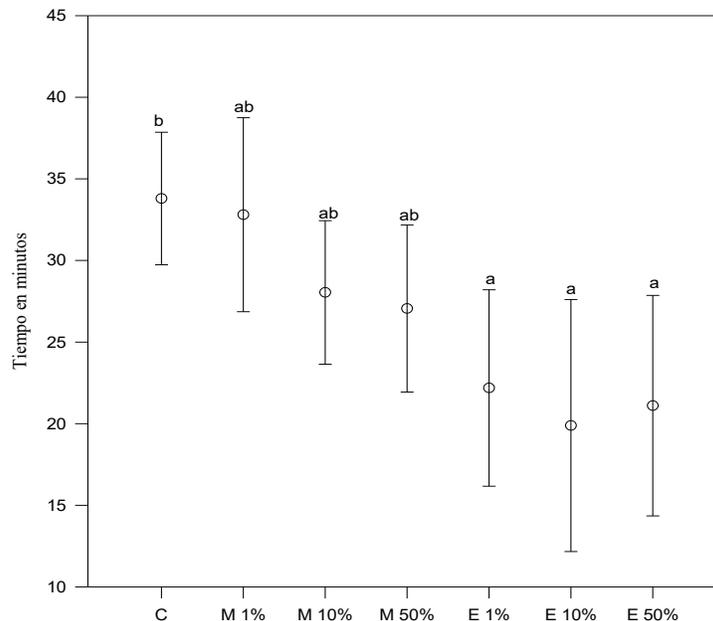


Figura 2 Tiempo que tarda el camarón en morir fuera del agua, posterior a 48 horas de exposición a tres concentraciones distintas de dos plaguicidas. Control, mal (malatión), endo (endosulfán). Letra diferente representa diferencia estadística, comparación de promedios Holm-Sidak ($P < 0.05$).

Es interesante resaltar que con el endosulfán el tiempo del camarón en morir fue menor, mientras que con las concentraciones subletales de malatión, la concentración de hemocianina fue menor que la concentración de hemocianina en organismos expuestos a endosulfán. El registro promedio de hemocianina con su respectivo intervalo de confianza (95%) para organismos (control) fue de 0.733 ± 0.209 mMol L⁻¹. La concentración promedio de hemocianina de organismos en el tratamiento malatión fue de 0.680 ± 0.032 mMol L⁻¹, mientras

que organismos expuestos a endosulfán la concentración promedio de hemocianina fue igual a 0.846 ± 0.052 mMol L⁻¹.

Por otro lado, el peso de los organismos expuestos a endosulfán presentaron en el peso promedio 0.6 más gramos, que los organismos expuestos al malatión, debido quizás a la diferencia, los camarones expuestos a endosulfán murieron en menor tiempo, por la diferencia en el peso en gramos

o por la diferente estructura molecular del plaguicida, lo cual puede también mencionarse es que los camarones de mayor tamaño requieren nadar

aún más para captar oxígeno, y por lo tanto, tuvieron un mayor contacto con el plaguicida.

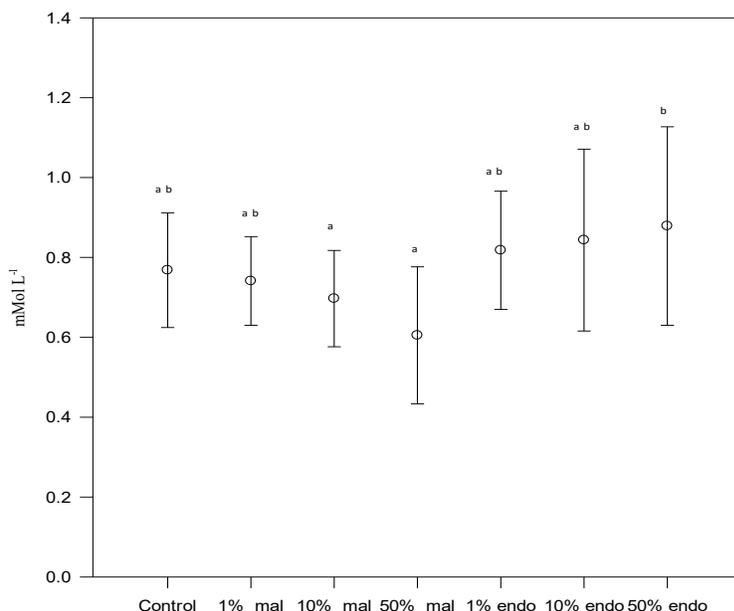


Figura 3 Concentración promedio de hemocianina (\pm DE) en hemolinfa de camarones expuestos 48 horas a dos plaguicidas. Control, mal (malatión), endo (endosulfán). Letra diferente representa diferencia estadística, comparación de promedios Holm-Sidak ($P < 0.05$).

DISCUSIÓN

La concentración de oxígeno representa uno de los factores ambientales más importantes para organismos acuáticos y la hipoxia puede llegar a ocasionar en *Litopenaeus vannamei* un menor crecimiento y lograr afectar la supervivencia (Li *et al.*, 2016). La inhibición de las funciones cardíacas puede interferir con la absorción de O₂ y la liberación de CO₂ por las branquias, lo que puede provocar hipoxia tisular (Hughes, 1976). El sistema branquial se encarga de la respiración del camarón, así como también participa en la excreción de amonio, osmorregulación y entrada de minerales. Con la exposición a plaguicidas, se ha observado en *Peneus monodon* expuesto a tres concentraciones de plaguicida sevin, que el consumo de oxígeno disminuyó en 24 horas de exposición 56.74% y el porcentaje mayor 82.95% de reducción de oxí-

geno sucedió en la concentración subletal 0.0001 mg L⁻¹, posterior a 96 horas de exposición (Chandrasekharan y Natarajan, 1894). En el cangrejo *Paratelsonia Jacquemontii* después de 28 días de exposición a la mayor concentración 0.0374 mg L⁻¹ de la combinación de clorpirifos y cipermetrina fue observado levantamiento epitelial, además de necrosis, se observó fusión de laminillas secundarias adyacentes y hemorragia en las laminillas primarias en las branquias (Maharajan *et al.*, 2015). Frías-Espéricueta *et al.* (2008) experimentaron concentraciones subletales de cobre (3.512, 1.756 y 0.878 mg L⁻¹) presente en agua donde quedaron expuestos juveniles de *L. vannamei* y al final del experimento observaron necrosis, infiltración hemocítica y pérdida de la arquitectura normal de las lamelas secundarias de las branquias, así como estructura tubular irregular, atrofia y necrosis del hepatopáncreas

Por otro lado, en peces (*Lepomis macrochirus*) también se ha observado degeneración masiva de los filamentos branquiales, cuando fueron expuestos 24 horas a 0.05 mg L⁻¹ de malatión (Richmonds y Dutta, 1989). En la carpa común expuesta a malatión (1.5 y 3.0 µg L⁻¹) durante 192 horas, los autores observaron varios cambios morfológicos, como telangiectasia, congestión lamelar, hipertrofia de los filamentos, fusión lamelar severa de los peces expuestos al malatión (Sharmin *et al.*, 2016). También con *Carassius auratus* en 72 horas de exposición a malatión fue observado roturas epiteliales, fusión de lamelas secundarias, hiperplasia del epitelio branquial y congestión vascular (Staicu *et al.*, 2008). Es evidente el daño ocasionado por los plaguicidas y metales sobre la cámara branquial, debido a que es la primería vía de contacto, ocasionando daño severo necrosis y ruptura lo que por consecuencia produce insuficiencia respiratoria. Por otro lado, el endosulfán a concentraciones subletales de 0.04 y 0.06 µg L⁻¹, afectó el nivel de proteína total en músculo de *Metapenaeus monoceros* (Suryavanshi *et al.*, 2009). Para camarones *Litopenaeus vannamei* expuestos al endosulfán, se demostró que en postmuda, fue la etapa más susceptible a la toxicidad aguda del endosulfán (Tumburu *et al.*, 2012). En cangrejos *Zilchiopsis collastinensis* expuestos a 192 and 360 µg L⁻¹ de endosulfán, presentaron lamelas afectadas a las dos horas de exposición, y a las 8 horas de exposición con 94 y 360 µg L⁻¹ de endosulfán el efecto sobre las lamelas fue mayor, además que presentaron túbulos necróticos (Negro, 2015). En *Macrobrachium rosenbergii* con longitud (7±0.06 cm) la CL₅₀-48 horas de endosulfán fue 0.079 mg L⁻¹ con intervalo de confianza de (0.054-0.115), ocasionó un significativa inhibición en el nivel de actividad de la enzima Na⁺/K⁺-ATPasa y también sobre la inhibición sobre la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en hepatopáncreas de *M. rosenbergii* (Dai *et al.*, 2014). Es importante mencionar que la bomba sodio-potasio participa en el desplazamiento de iones de sodio y potasio a través de la membrana celular, lo que la hidrólisis de ATP proporcionar la energía necesaria. Mientras que la AChE participa en la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina en colina y ácido acético, si se inhibe la enzima puede ocasionar neurotoxicidad en el organismo expuesto. La ex-

posición a concentraciones subletales de ambos plaguicidas puede ocasionar estrés fisiológico, cambio de comportamiento y cambios morfológicos (letargo, natación errática, convulsiones y disminuye la velocidad de escape) lo que representa un efecto a nivel ecológico por efecto de sustancias químicas (Rao *et al.*, 2007; Brunelli *et al.*, 2009; Dai *et al.*, 2014; Francois *et al.*, 2016). En granjas camaroneras, mediante cromatografía de gases se ha detectado residuos de malatión 0.09931 µg g⁻¹ de peso seco en sedimento y para endosulfán de 0.00803 µg g⁻¹ (González, 2008). En el presente trabajo las concentraciones subletales de malatión representaron 8, 78 y 392 veces mayores a lo reportado en sedimento, mientras que las de endosulfán corresponden 0.2, 2 y 12 veces más a lo reportado en sedimentos de granjas camaroneras, comparando con lo aquí reportado puede ser posible que se presenten efectos sobre el proceso respiratorio como lo aquí descrito. La información consultada no demostró estudios similares a lo aquí realizado, por lo que se muestra que el camarón *P. vannamei* demora 30-40 minutos en morir cuando se extrae del agua, mientras que posterior a la exposición a malatión, el tiempo en morir fueron menores, no representaron diferencias significativas. Sin embargo, al tiempo en morir fue menor en organismos expuestos a concentraciones de endosulfán, lo que su efecto es mayor sobre el sistema branquial, y de manera general es un efecto sobre el comportamiento biológico de los organismos (receptores GABA, AChE, Na⁺/K⁺-ATPasa, entre otras enzimas).

Respecto a la hemocianina (HC), es considerada una proteína respiratoria multifuncional y esencial en el mecanismo de defensa de artrópodos y moluscos (Erg y Pirow, 1997). Se ha reportado cambios en la concentración de hemocianina que han sido relacionados con el efecto de factores estresantes (Mercier *et al.*, 2009). En el presente trabajo se determinó que en organismos expuestos a endosulfán, la concentración de hemocianina fue mayor y significativamente diferente a camarones expuestos a dos concentraciones ensayadas de malatión. Sin embargo, Bautista-Covarrubias *et al.* (2020) han reportado en *Litopenaeus vannamei* expuestos al 50% de la CL₅₀-96horas de malatión, el promedio de hemocianina fue mayor en el tiempo de 5 horas y fue significativamente diferente

a la concentración de hemocianina presente en los organismos del grupo control. La respuesta en ambos experimentos de exposición a malatión pudo ser debido a diferencias en variables biológicas como la edad, el sexo, el estado de salud y nutricional, variables ambientales como salinidad, temperatura, pH y contenido de oxígeno disuelto en el agua. Por otro lado, la exposición a la mezcla de malatión y endosulfán provocó una disminución de la concentración de hemocianina en los organismos de los mismos tratamientos 50% (Bautista-Covarrubias *et al.*, 2020). Lo cual también coincide con *Penaeus monodon* expuestos a 1, 5, 10, 20 mg L⁻¹ amonio en agua con 10 ups, que se observó que la concentración de hemocianina disminuyó significativamente respecto al grupo de organismos control (Chen *et al.*, 1994). El incremento en la concentración de hemocianina se ha observado en el cangrejo *Carcinus maenas* cuando estuvo en condiciones de estrés hipo-osmótico (Boone y Schoffeniels, 1979). De igual manera se ha reportado que no solo se ve afectada la hemocianina en la hemolinfa, sino también la concentración de proteína total en branquias y músculo de *Macrobrachium malcolmsonii*, la cual disminuyó su concentración en presencia de endosulfán (0.01, 0.016 y 0.032 µg L⁻¹) respecto a la cuantificada de los organismos del grupo control (Bhavan y Geraldine, 1997). Finalmente, es posible que en el presente trabajo la hemocianina en hemolinfa fuera mayor en los organismo expuestos a endosulfán, posiblemente debido a la inducción de la actividad proteolítica (biosíntesis) en *P. vannamei*, por el estrés ocasionado por la presencia del plaguicida endosulfán.

CONCLUSIÓN

El malatión y el endosulfán son plaguicidas de gran uso y de amplio espectro en el combate de plagas que afectan los cultivos agrícolas, debido a la cercanía de las tierras de cultivo con los cuerpos de agua, es posible que los residuos lleguen a los sistemas de producción de camarón y que la presencia sea en mayor medida en unos sistemas que en otros. Los plaguicidas en los sistemas de producción de camarón, puede provocar en los organismos un efecto sobre el sistema branquial y se tengan deficiencias para captar oxígeno, por consecuencia los procesos fisiológicos, inmunológicos

y metabólicos pueden ser afectados. Como sucedió en el presente trabajo en el que ambos plaguicidas influyeron en el tiempo de muerte del camarón fuera del agua y en la concentración de hemocianina de los organismos en 48 horas de exposición y es de esperarse que influyan principalmente en el mecanismo de defensa.

BIBLIOGRAFÍA

- Bautista, J.C. (1996). Estudio preliminar de la toxicidad aguda del malatión sobre camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de licenciatura. Escuela Superior de Ingeniería Pesquera. Universidad Autónoma de Nayarit, México. 51p.
- Bautista-Covarrubias, J.C., Aguilar-Juárez, M., Voltolina, D., Navarro-Nava, R.G., Aranda-Morales, S.A., Arreola-Hernández, J.O., Soto-Jiménez, M.F. y Frías-Espericueta, M.G. (2020). Immunological response of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to sublethal concentrations of malathion and endosulfan, and their mixture. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 188: 109893.
- Bautista-Covarrubias, J.C. y Frías-Espericueta, M. G. (2013). La vestimenta del camarón. *Ciencia y Desarrollo. CONACYT*. 39 (263): 27-29
- Bachère E, Gueguen Y, Gonzalez M, De Lorgeril J, Garnier J y Romestand B. (2004). Insights into the anti-microbial defense of marine invertebrates: the penaeid shrimps and the oyster *Crassostrea gigas*. *Immunological Reviews*. 198: 149-168.
- Boone, W.R. y Schoffeniels, E. (1979) Hemocyanin synthesis during hypoosmotic stress in the shore crab *Carcinus maenas* (L). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 63 (2): 207-214.
- Bhavan, P.S y Geraldine, P. (1997). Alterations in concentrations of protein, carbohydrate, glycogen, free sugar, and lipid in the Prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to sublethal concentrations of endosulfan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 58: 89-101.
- Brunelli, E., Bernab, C.N.I., Berg, C., Lundstedt-Enkel, K., Bonacci, A. y Tripepi, S. (2009). Environmentally relevant concentrations of endosulfan impair development, metamorphosis and behavior in *Bufo bufo* tadpoles. *Aquatic Toxicology*. 91 (2): 135-142

- Coates, C.J. y Nairn, J. (2014). Diverse immune functions of hemocyanins. *Developmental and Comparative Immunology*. 45: 43-55.
- Chandrasekharan, V.S. y Natarajan, R. (1894). Acute toxicity of pesticide sevin (carbamate) and its effects on the oxygen consumption of juveniles of the tiger prawn *Penaeus monodon* Fabricius. *Proc Symp Phy Resp Anim, Pollutants*. 48-52.
- Chen, J.C., Chen, C.T. y Cheng, S.Y. (1994). Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. *Marine Ecology Progress Series*. 110: 85-94.
- Cheng, W., Liu, C.H., Yan, D.F. y Chen, J.C. (2002). Hemolymph oxyhemocyanin, protein, osmolality and electrolyte levels of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* in relation to size and molt stage. *Aquaculture*. 211: 325-339.
- Dai, X., Xiong, Z., Xie, J. y Ding, F. (2014). Acute toxicity of organochlorine insecticide endosulfan to the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 32 (1): 111-119. <http://dx.doi.org/10.1007/s00343-014-3081-y>.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C. y Sharples, D.J. (1990). *The Biology of the Penaeidae*. London; San Diego: Academic Press, 489p.
- Decker H y Jaenicke E. (2004). Recent findings on phenoloxidase activity and antibacterial activity of hemocyanins. *Developmental and Comparative Immunology*. 28: 673-687.
- EPA (2002). United States Environmental Protection Agency. R.E.D. FACTS. Endosulfan. Prevention, Pesticides And Toxic Substances (7508C). EPA-738-F-02-012. 250p.
- EPA (2006). United States Environmental Protection Agency. R.E.D. FACTS. Endosulfan. Prevention, Pesticides And Toxic Substances (7508P). EPA 738-R-06-030. 196p.
- Erg, P.R.J. y Pirow, R. (1997). The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates. *Zoology*. 100 (4): 298-306.
- Figuroa-Soto, C.G., de la Barca, A.M.C., Vazquez-Moreno, L., Higuera-Ciapara, I. y Yepiz-Plascencia, G. (1997). Purification of hemocyanin from white shrimp (*Penaeus vannamei* Boone) by immobilized metal affinity chromatography. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 117B: 203-208.
- Finney, D.J. (1971). *Probit analysis*. 3rd ed, Cambridge Univ. Press, New York, 668p.
- Francois, H.J., Beltran, G.K.E., Garzón G.A.J., González, S.L., Rivera, H.M.L† y Torres, C.F.A. †. (2016). Toxicidad aguda de una formulación comercial de glifosato sobre *Poecilla reticulata* (pisces: poecilidae) en condiciones de laboratorio. *Revista Elementos*. 6: 91-98.
- Frías-Espericueta, M. G., R. Castro-Longoria, G. J. Barrón-Gallardo, S. Abad-Rosales, F. Páez-Osuna & D. Voltolina. (2008). Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. *Aquaculture*. 278 (1-4): 97-100.
- Gant, D.B., Eldefrawi, A.M. y Eldefraw. A.T. (1987). Cyclodiene insecticides inhibit GABA_A receptor-regulated chloride transport. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 88 (3): 313-321.
- García-de la Parra, L.M., Bautista-Covarrubias, J.C., Rivera-de la Rosa, N., Betancourt-Lozano, M. y Guilhermino, L. (2006). Effects of metamidophos on acetylcholinesterase activity, behavior, and feeding rate of the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ecotox. Environ. Safe*. 65, 372-380. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2005.09.001
- González, V.C. (2008). Niveles de plaguicidas en sedimentos de granjas camaronícolas en enseñanza de Pabellón, Sinaloa, México. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Tepic Nayarit, México.
- Hughes, G.M. (1976). Polluted fish respiratory physiology. In: Lock-wood, A.P.M. (Ed.), *Effects of Pollutants on Aquatic Organisms*. Cambridge University Press, London. 121-146 pp.
- Kaiyu, L., Fang, L., Mingchang, Z., Haijie, Y., Tian, L., Xun, X. (2008). Difference between hemocyanin subunits from shrimp *Penaeus japonicus* in anti-WSSV defense. *Developmental and Comparative Immunology*. 32: 808-813
- Li, Y., Wei, L., Cao, J., Qiu, L., Jiang, X., Li, P., Song, Q., Zhou, H., Han, Q. y Diao, X. (2016). Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme activities in the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) when exposed to hypoxia and reoxygenation. *Chemosphere*. 144: 234-240.

- Maharajan, A., Narayanasamy, Y., Ganapiriya, V. y Shanmugavel, K. (2015). Histological alterations of a combination of Chlorpyrifos and Cypermethrin (Nurocombi) insecticide in the fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* (Rathbun). *The Journal of Basic & Applied Zoology*. 72:104-112.
- Mercier, L., Racotta, I.S., Yepiz-Plascencia, G., Muhlia-Almazán, A., Civera, R., Quiñones-Arreola, M.F., Wille, M., Sorgeloos, P. y Palacios, E. (2009). Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. *Aquaculture Research*. 40: 1849-1863.
- Negro, C.L. (2015). Histopathological effects of endosulfan to hepatopancreas, gills and ovary of the freshwater crab *Zilchiopsis collastinensis* (Decapoda: Trichodactylidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 113: 87-94.
- Paranjape, M.A. (1967). Molting and respiration of Euphausiids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 24(6): 1229-1240.
- Pascual, C., Sánchez, A., Zenteno, E., Cuzon, G., Gaxiola, G., Brito, R., Gelabert, R., Hidalgo, E. y Rosas, C. (2006). Biochemical, physiological, and immunological changes during starvation in juveniles of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 251: 416-429.
- Rao, J.V., Kavitha, P., Jakka, N.M., Sridhar, V. y Usman, P.K. (2007). Toxicity of organophosphates on morphology and locomotor behavior in brine shrimp, *Artemia salina*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 53: 227-232.
DOI: 10.1007/s00244-006-0226-9.
- Richmonds, C. y Dutta, H.M. (1989). Histopathological changes induced by malathion in the gills of bluegill *Lepomis macrochirus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 43:123-130. Web. doi:10.1007/BF01702248.
- Ruppert, E.E. y Barnes, R.D. (1996). *Zoología de los invertebrados*. McGraw-Hill. Interamericana Editores, S.A. de C.V. 1114 p.
- Ruppert, E.E. y Barnes, R.D. (1996). *Zoología de los invertebrados*. McGraw-Hill. Interamericana Editores, S.A. de C.V. 1114 p.
- Suryavanshi, U., Sreepada, R.A., Ansari, Z.A., Subhanchi, N. y Shahin, B. (2009). A study on biochemical changes in the Penaeid shrimp *Metapenaeus monoceros* (Fabricus) following exposure to sublethal doses of organochlorine pesticides (endosulfan). *Chemosphere*. 77: 1540-1550.
- Song, Y.L., Yu, C.I., Lien, T.W., Huang, C.C. y Lin, M.N. (2003). Haemolymph parameters of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected with taura syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology*. 14: 317-331.
- Sharmin, S., Salam, A.M.D., Haque, F., Islam, S.M.D. y Shahjahan, M.D. (2016). Changes in hematological parameters and gill morphology in common carp exposed to sub-lethal concentrations of Malathion. *Asian Journal of Medical and Biological Research*. 2(3): 370-378. doi: 10.3329/ajmbr.v2i3.30106.
- Staicu, A.C., Munteanu, M.C. y Dinischiotu, A. (2008). Malathion induced histological modifications in gills and kidney of *carassius auratus* gibelio. *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnoologii*. 41(1): 448-453.
- Torres, J.J., Gluck, D.L. y Childress, J.J. (1977). Activity and physiological Significance of the pleopods in the respiration of *Callinassa californiensis* (Dana) (Crustacea: Thalassinidea). *The Biological Bulletin*. 152: 134-146.
- Tumburu, L., Shepard, F.E., Strand, A.E. y Browdy, C.L. (2012). Effects of endosulfan exposure and Taura Syndrome Virus infection on the survival and molting of the marine penaeid shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere*. 86: 912-918.
- Zhang, X., Huang, C. y Quin, Q. (2004). Anti-viral properties of hemocyanin isolated from shrimp *Penaeus monodon*. *Antiviral Research*. 61: 93-99.

