



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS
INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO
ASOCIADA A LA MIGRACIÓN VERTICAL DE
LOS EUFÁUSIDOS SUBTROPICALES
DEL GOLFO DE CALIFORNIA**

TESIS

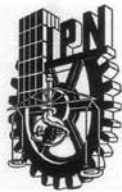
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS

CON ESPECIALIDAD EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

NELLY TREMBLAY

LA PAZ, B.C.S., MAYO DEL 2008



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 14 del mes de Mayo del 2008 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis de grado titulada:

"VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADA A LA MIGRACIÓN VERTICAL DE LOS EUFÁUSIDOS SUBTROPICALES DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

Presentada por el alumno:

<u>TREMBLAY</u> Apellido paterno	<u>DOYLE</u> materno	<u>NELLY</u> nombre(s)				
Con registro:						
<u>B</u>	<u>0</u>	<u>6</u>	<u>1</u>	<u>1</u>	<u>4</u>	<u>1</u>

Aspirante al grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director de tesis
PRIMER VOCAL

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

PRESIDENTE

DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

SECRETARIO

MC. JOSÉ RICARDO PALOMARES GARCÍA

SEGUNDO VOCAL

DRA. TANIA ZENTENO SAVÍN
2°. Director de Tesis

TERCER VOCAL

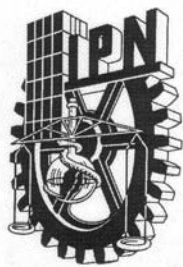
MC. RICARDO JAVIER SALDIERNA MARTÍNEZ

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE



IPN
CICIMAR
DIRECCION



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 14 del mes Mayo del año 2008, el (la) que suscribe NELLY TREMBLAY DOYLE alumno(a) del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS con número de registro B061141 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ y DRA. TANIA ZENTENO SAVÍN y cede los derechos del trabajo titulado: "VARIACIÓN ESTACIONAL DE LOS INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO ASOCIADA A LA MIGRACIÓN VERTICAL DE LOS EUFÁUSIDOS SUBTROPICALES DEL GOLFO DE CALIFORNIA" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: nellytremblay@hotmail.com jagomezg@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


NELLY TREMBLAY DOYLE
nombre y firma

Agradecimientos

Esta tesis fue parcialmente financiada por el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional con los proyectos de investigación institucional: SIP20040013, SIP20050082, SIP20060856, SIP20070279, el proyecto SEMARNAT-CONACyT “Monitoreo de la producción secundaria, dinámica poblacional y parasitismo de especies claves del zooplancton mediante incubaciones *in situ* y métodos hidroacústicos en el Golfo de California” (SEMARNAT-2004-C01-01-144), el proyecto SAGARPA-CONACyT “Ecología de crustáceos galatheidos (fase pelágica) e ictioplancton con énfasis en especies béntico-demersales en el Golfo de California” (SAGARPA S007-2005-1-11717), por el Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste, S.C (CIBNOR) con el proyecto de investigación “Estrés oxidativo en organismos marinos” (PC2.5) y la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con los proyectos de investigación “Dinámica del ecosistema pelágico de Bahía Magdalena” (DEPBAMA) y “Cardúmenes de peces pelágicos menores en el Golfo de California” (CAPEGOLCA) (PAPIIT IN219502 y IN210622).

Agradezco a mi director de tesis, el Dr. Jaime Gómez Gutiérrez, por darme la oportunidad de realizar esta investigación, por su apoyo y observaciones sobre mi trabajo de tesis y sobre todo por su amistad.

De igual forma agradezco a mi co-directora, la Dra. Tania Zenteno Savín, por sus correcciones y consejos que fueron esenciales al desarrollo de la tesis y por el tiempo que constantemente dedica al bienestar de cada uno de sus alumnos.

Al comité revisor de la tesis por sus valiosos comentarios: M.C. Ricardo Palomares García, M.C. Ricardo Saldierna Martínez, Dra. Christine Band Schmidt y Dra. Diane Gendron Laniel.

A la beca de la Secretaría de Relaciones Exteriores otorgada por el Gobierno de México y al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) del Instituto Politécnico Nacional por el apoyo económico otorgado durante mi estancia en México.

Al Dr. Carlos Robinson (ICMyL-UNAM) por el procesamiento de las variables ambientales recolectadas continuamente a lo largo de la ruta del B/O El Puma durante los cruceros oceanográficos a bordo del B/O El Puma y de las variables de que provienen de información satelital (Colorado Center for Astrodynamics Research y la National Atmospheric Space Administration (NASA) SeaWIFS <http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cgi/climatologies.pl>).

A la Lic. Norma Olimpia Olgún Monroy para haberme mostrado las técnicas de laboratorio de estrés oxidativo con mímicas y con mucha paciencia.

Al Dr. Alfonso Maeda Martínez y Dr. Omar Calvario M. por su entusiasta ayuda y su disponibilidad para proveernos equipo y enseñarme los métodos de estimación de la tasa de respiración en los eufáusidos.

A la Dra. Laura Sánchez Velasco y Dr. Miguel Lavín Peregrina por darme la oportunidad de muestrear eufáusidos en Octubre del 2007 a bordo de B/O Francisco de Ulloa y por proveerme los datos ambientales y volúmenes filtrados de este mismo crucero.

Al Biol. Mar. Samuel Martínez Gómez por proveerme los datos de distribución y abundancia de juveniles y adultos de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados con la red tipo Bongo presentadas en esta tesis y su valioso apoyo en la separación y congelamiento de eufáusidos en el crucero CAPEGOLCA III.

Al M.C. Guillermo Martínez Flores por su valiosa ayuda en escribir un programa de Matlab para el análisis de los datos de CTD, al Dr. Oleg Zaitsev por su valiosa asesoría para analizar los datos hidrográficos mediante análisis de diagrama TS e Ing. Horalia Arce Osuna por realizar las mediciones de concentración de oxígeno disuelto con el método de Winkler en el crucero de Julio del 2007 (CAPEGOLCA III).

A la tripulación del B/O El Puma, estudiantes y científicos del Laboratorio de Ecología de Pesquerías del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM (ICMyL-UNAM) y CICIMAR por su cooperación en la recolección de registros y análisis de datos oceanográficos y acústicos amablemente proveídos por el Dr. Carlos Robinson

Mendoza, Dr. Gerardo Aceves-Medina, M.C. Ricardo Palomares-García y Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez durante los cruceros DEPBAMA y CAPEGOLCA, particularmente en cruceros CAPEGOLCA II y III realizados en enero y julio del 2007 donde se realizó la mayor parte de esta investigación.

Al M.C. Orso Angulo Campillo, M.C. José Raúl Morales Ávila y Biol. Homero Urias Leyva por su invaluable ayuda técnica en la separación de numerosos eufúsidos de las muestras madre de las redes estratificadas de los cruceros CAPEGOLCA II y III.

Al M.C. Francisco Hernández-Sandoval para la estimación de la concentración de pigmentos fotosintéticos mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) de los cruceros CAPEGOLCA.

Al grupo de laboratorio de Estrés Oxidativo (La Secta): Tania, Norma, Orlando, Jose Pablo, Marina, Nadiezhda, Carlos, Orlando, Roberto, Paola, Patty y Melania, por los buenos momentos de risas en el laboratorio, por sus consejos y por sus observaciones realizadas en mi trabajo de tesis.

A mis amigos de La Paz, especialmente Iván, Laura, Oso y Myrna para haber tenido la paciencia y amabilidad de enseñarme a hablar bien español (como un verdadero mexicano), por sus observaciones relacionadas con la tesis y de su presencia siempre cuando más lo necesitaba.

Finalement, à ma famille qui m'a toujours supportée à travers tous mes projets.

Índice General

Lista de Tablas	i
Lista de Figuras	ii
Lista de Anexos	vii
Lista de Abreviaturas	ix
Glosario	xi
Resumen	xiii
Abstract	xiv
1. Introducción	1
1.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)	1
1.2 Enzimas antioxidantes	2
1.3 Daños oxidativos	5
1.4 Eufáusidos del estudio.....	6
2. Antecedentes.....	8
3. Justificación	12
4. Planteamiento del problema	13
5. Hipótesis.....	13
6. Objetivos.....	15
6.1 Objetivo general.....	15
6.2 Objetivos específicos.....	15
7. Área de estudio	16
8. Materiales y Métodos	18
8.1.1 Recolección de los organismos	18
8.1.2 Separación e identificación de las muestras estratificadas.....	21
8.1.3 Registro de datos ambientales	21
8.1.4 Análisis bioquímicos de los indicadores de estrés oxidativo.....	23
8.1.5 Análisis estadístico de los datos de los indicadores de estrés oxidativo.....	27
8.2.1 Experimentos de tasa de respiración.....	29
8.2.2 Análisis estadístico de los datos de tasa de respiración.....	32
9. Resultados.....	32
9.1 Condiciones ambientales.....	33
9.2 Distribución y abundancia horizontal de los eufáusidos	41
9.3 Distribución y abundancia vertical de los eufáusidos.....	44
9.4 Indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos.....	48

9.4.1 Variación intraespecífica en función de cambios estacionales, ontogénicos y de distribución vertical	48
9.4.1.1 <i>Nyctiphanes simplex</i>	48
9.4.1.2 <i>Nematoscelis difficilis</i>	55
9.4.1.3 <i>Euphausia eximia</i>	63
9.4.2 Variación interespecífica por temporada	67
9.5 Indicadores de estrés oxidativo vs. condiciones ambientales.....	70
9.6 Tasa de respiración	75
10. Discusión	76
10.1 Distribución y abundancia horizontal de los eufáusidos	77
10.2 Distribución y abundancia vertical de los eufáusidos.....	81
10.3 Variación de los indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos	84
10.3.1 Ontogénica	84
10.3.2 Estacional	85
10.3.3 Espacial	87
10.3.4 Vertical.....	87
10.3.5 Interespecífica	91
10.4 Procesos zoogeográficos	93
11. Conclusiones	98
12. Recomendaciones.....	100
13. Literatura citada.....	102

Lista de Tablas

- Tabla 1.** Resultados del análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS) de los indicadores de estrés oxidativo demostrando el coeficiente de determinación (r^2) de correlación de cada eje entre paréntesis y la correlación de Pearson y Kendall (r) para las asociaciones entre las distancias ordenadas y las distancias originales del espacio n-dimensional.71
- Tabla 2.** Resultados del análisis de procedimiento permutacional de multi-respuesta (MRPP) de la comparación de los indicadores de estrés oxidativo en las tres especies de eufáusidos con las condiciones ambientales del73
- Tabla 3.** Resultados del análisis indicador de especies (ISA) efectuado para comparar la actividad de los indicadores de estrés oxidativo de las tres especies sobre cada comparación significativamente distinta detectada mediante el análisis de procedimiento permutacional de multi-respuesta (MRPP). Sólo se muestran las comparaciones que tuvieron diferencias significativas74
- Tabla 4.** Regresión lineal simple de la tasa de respiración de *N. simplex* y *N. difficilis* en función de la concentración de oxígeno disuelto realizados bajo condiciones de laboratorio a bordo del B/O El Puma con sus intervalos de confianza al 95% (IC) y coeficiente de correlación (r^2)75

Lista de Figuras

- Figura 1.** Las defensas enzimáticas antioxidantes funcionan en un continuo sistema de retroalimentación para proteger las células contra elevadas concentraciones de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Las principales enzimas conocidas en organismos aerobios son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y glutatión s-transferasa (GST).....4
- Figura 2.** Área de estudio en el Golfo de California. (A) Isla Angel de la Guardia, (B) Isla Tiburón, (C) Isla del Carmen, (D) Isla San José, (E) Isla del Espíritu Santo, (F) Bahía Los Ángeles, (G) Bahía San Francisquito, (H) Bahía Kino, (I) Bahía Concepción, (J) Bahía de La Paz, y (K) cuenca de Guaymas..... 17
- Figura 3.** Estaciones de muestreo de zooplancton de los cruceros oceanográficos de (A) enero, (B) julio y (C) octubre 2007 en el Golfo de California..... 19
- Figura 4.** (A) Sistema de incubación utilizado para estimar la tasa de respiración de los eufáusidos mediante un sensor Microx TX de alta sensibilidad continuo y (B) ejemplo de lecturas efectuadas por el sensor en función de tiempo controlando el flujo de cada cámara (incluida la cámara de control)31
- Figura 5.** Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), clorofila *a* (mg m^{-3}) y oxígeno disuelto (mg L^{-1}) a 4 m de profundidad del Golfo de la California durante los cruceros oceanográficos de enero (izquierda) y julio (derecha) del 2007. Todas las variables fueron registradas continuamente (cada 5 segundos) a lo largo del derrotero del B/O El Puma excepto la concentración de oxígeno disuelto de Julio, cuyos datos provienen del CTD.34
- Figura 6.** Imágenes de satélite (Colorado Center for Astrodynamics Research y National Atmospheric Space Administration (NASA) SeaWIFS) de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y concentración de clorofila *a* (mg m^{-3}) del Golfo de California al momento que se hicieron los cruceros oceanográficos de enero y de julio del 2007.....35
- Figura 7.** Diagrama de temperatura y salinidad (TS) para definir las masas de agua a partir de lances de CTD (hasta 200 m) en el Golfo de California por mes de muestreo: enero, julio y de las estaciones donde se obtuvieron muestras bioquímicas en octubre del 200737

Figura 8. Porcentaje de saturación de oxígeno (%O ₂) en el Golfo de California registrado con un sensor YSI en botellas Niskin estratificadas durante la temporada fría (enero) y con un oxímetro Seabird fijado en el CTD durante la temporada cálida (julio y octubre) del 2007	39
Figura 9. Profundidad (m) de la capa mínima de oxígeno (CMO) que corresponde a una concentración ≤1.5 mg O ₂ L ⁻¹ en el Golfo de California durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) del 2007	40
Figura 10. Profundidad (m) de la capa de mezcla (grosor del estrato por encima de la termoclina) en el Golfo de California durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) del 2007	40
Figura 11. Distribución y abundancia de juveniles y adultos de <i>N. Simplex</i> , <i>N. difficilis</i> y <i>E. eximia</i> recolectados con la red bongo en enero del 2007	42
Figura 12. Distribución y abundancia de juveniles y adultos de <i>N. Simplex</i> , <i>N. difficilis</i> y <i>E. eximia</i> recolectados con la red bongo en julio del 2007	43
Figura 13. Distribución y abundancia vertical de juveniles y adultos de <i>N. Simplex</i> , <i>N. difficilis</i> y <i>E. eximia</i> recolectados con redes estratificadas en enero del 2007 según la hora del muestreo	46
Figura 14. Distribución y abundancia vertical de juveniles y adultos de <i>N. Simplex</i> , <i>N. difficilis</i> y <i>E. eximia</i> recolectados con lredes estratificadas en julio del 2007 según la hora del muestreo	47
Figura 15. <i>N. simplex</i> . Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína ⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína ⁻¹) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio) del 2007. Promedio±error estandar	50
Figura 16. <i>N. simplex</i> . Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O ₂ ⁻ min ⁻¹ mg proteína ⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína ⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, y GR y (F) GST (U de actividad mg proteína ⁻¹) en función de los estadios de desarrollo reproducción y sexo durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar	51

Figura 17. *N. simplex*. Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de los estadios de desarrollo reproducción y sexo durante la temporada cálida (julio 2007 del 2007). Promedio±error estandar...52

Figura 18. *N. simplex*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂⁻ min⁻¹mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m y 100-150 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar53

Figura 19. *N. simplex*. Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (50-100 m y 100-150 m) durante la temporada cálida (julio 2007 del 2007). Promedio±error estandar.....54

Figura 20. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂⁻ min⁻¹mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) del 2007. Promedio±error estandar56

Figura 21. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂⁻ min⁻¹mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, y GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de los estadios de desarrollo-reproducción y sexo durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar57

Figura 22. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂⁻ min⁻¹mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m, 100-150 m y 150-200 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar.....58

Figura 23. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ $min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m, 100-150 m y 150-200 m) durante la temporada cálida (julio y octubre del 2007). Promedio±error estandar.....59

Figura 24. Ubicación geográfica de las estaciones donde se realizó la comparación espacial de los indicadores de estrés oxidativo de *N. difficilis* en enero 200760

Figura 25. Perfiles verticales de (A) temperatura ($^{\circ}C$), (B) oxígeno (% de saturación), (C) pH y (D) clorofila *a* (mg L $^{-1}$) según la profundidad (m) en las estaciones oceanográficas: E68, E103 y E11461

Figura 26. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ $min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de hembras ovígeras en tres estaciones de muestreo (E68, E103 y E114) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar62

Figura 27. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ $min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (octubre) del 2007. Promedio±error estandar.....64

Figura 28. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ $min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m y 100-200 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar65

Figura 29. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ $min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m y 100-200 m) durante la temporada cálida (octubre del 2007). Promedio±error estandar ..66

Figura 30. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades enzimáticas de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio \pm error estándar68

Figura 31. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades enzimáticas de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada cálida (julio y octubre del 2007). Promedio \pm error estándar69

Figura 32. Ordenación multidimensional del análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS) mostrando las estaciones oceanográficas por profundidad respectiva en el espacio de los indicadores de estrés oxidativo para las especies de eufáusidos *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia eximia*. Las posiciones de los indicadores de estrés oxidativo son calculadas como promedios ponderados (weighted averages) de su actividad o concentración en el espacio de ordenación. Estaciones oceanográficas realizadas en enero, julio y octubre del 2007. La dirección de los vectores indica la dirección y magnitud relativa de la correlación de los indicadores de estrés oxidativo de cada especie con las estaciones72

Figura 33. Tasas de respiración (10^{-3} mg de O_2 g $^{-1} \text{h}^{-1}$) de *N. simplex* y *N. difficilis* estimada a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto (mg L $^{-1}$)76

Figura 34. Modelo conceptual vertical de la distribución y de los indicadores de estrés oxidativo de eufáusidos con migración vertical diaria (MVD) corta (*N. simplex*), moderada (*N. difficilis*) y larga (*E. eximia*) según las temporadas fría (enero) y cálida (julio y octubre) del Golfo de California en 200796

Figura 35. Distribución zoogeográfica de los eufáusidos: (A) *Nyctiphanes simplex* en la Corriente de California, Golfo de California y Corriente de Humboldt, (B) *Euphausia eximia* en el Pacífico Oriental Tropical con mayores densidades en los bordes fríos de esta zona y (C) *Nematoscelis difficilis* a lo largo de la zona de transición del Pacífico Norte (mapas modificados de Brinton, 1962, 1979, Brinton *et al.*, 2000)97

Lista de Anexos

Anexo 1. Número de individuos recolectados en las muestras y número de muestras, considerando que era necesario en ocasiones más de un individuo para obtener 100 mg de tejido, para determinar los indicadores de estrés oxidativo, de las tres especies de eufáusidos estudiadas durante el año del 2007 117

Anexo 2. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los eufáusidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del estrés oxidativo de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados en enero del 2007 118

Anexo 3. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los eufáusidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del de estrés oxidativo de *N. simplex* y *N. difficilis* recolectados en julio del 2007 119

Anexo 4. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los eufáusidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del de estrés oxidativo de *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados en octubre del 2007 120

Anexo 5. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ proteína $^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades enzimáticas de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada fría (enero) y cálida (julio y octubre) del 2007..... 121

Anexo 6. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ proteína $^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades enzimáticas de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex* y *N. difficilis* en función de los estadios de desarrollo-reproducción y sexo durante la temporada fría (enero) y cálida (julio y octubre) del 2007..... 122

Anexo 7. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ proteína $^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* en función de la profundidad de muestreo durante la temporada fría (enero) y cálida (julio) del 2007123-124

Anexo 8. *N. difficilis*. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg}$ prot. $^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de las hembras ovígeras en tres estaciones de muestreo (E68, E103 y E114) durante la temporada fría (enero del 2007) 125

Lista de Abreviaturas

AGC: Agua del Golfo de California

ACC: Agua de la corriente de California

ADN: Ácido desoxirribonucléico

AIP: Agua intermedia del Pacífico

ANOVA: Análisis de variancia

APP: Agua profunda del Pacífico.

ASB: Albúmina sérica bovina

ASE: Agua superficial ecuatorial

AsSsT: Agua subsuperficial subtropical

CAT: Catalasa

Chl-a: Clorofila *a*

CMO: Capa mínima de oxígeno

CDNB: 1-cloro 2,4-dinitrobenceno

CS: Citrato sintetasa

CTD: Sensor de conductividad, temperatura y profundidad

Cu, Zn-SOD: Superóxido dismutasa dependiente de cobre y zinc

EDTA: Ácido tetra acético de etilendiamina

ENSO: Oscilación meridional de El Niño (por sus siglas en inglés)

ERO: Especies reactivas de oxígeno

F: Flujo del agua

Fe: Hierro

GC: Golfo de California

GPx: Glutación peroxidasa

GR: Glutación reductasa

GSH: Glutación reducido

GSSG: Glutación disulfuro o glutación oxidado

GST: Glutación S-transferasa

G6PDH: Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

HCl: Ácido clorhídrico

H₂O: Agua

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución (por sus siglas en inglés)
ISA: Análisis de especies indicadores (por sus siglas en inglés)
KS: Prueba de Kolmogorov-Smirnov
KW: Prueba de Kruskal-Wallis
LDH: Lactato deshidrogenasa
M: Molar
mM: Milimolar
MDA: Malondialdehído
Mn-SOD: Superóxido dismutasa dependiente de Manganeseo
MRPP: Procedimiento permutacional de multi-respuesta (por sus siglas en inglés)
MVD: Migración vertical diaria
MW: Prueba de Mann-Whitney
NADPH: Dinucleótido de nicotinamina y adenina fosforilado reducido
NADP⁺: Dinucleótido de nicotinamina y adenina fosfatado
NBT: Nitroazul de tetrazolio
nM: Nanomolar
NMDS: Escalamiento no-métrico multidimensional (por sus siglas en inglés)
O₂: Oxígeno
O₂^{•-}: Radical superóxido
OH: Radical hidroxilo
PDO: Oscilación decadal del Pacífico (por sus siglas en inglés)
PGI: Fosfato-glucosa isomerasa
PK: Piruvato kinasa
PMSF: Fenil-metil-sulfonil fluoruro
POT: Pacífico Oriental Tropical
PS: Peso seco
SOD: Superóxido dismutasa
TBA: Ácido tiobarbitúrico
TBARS: Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
TCA: Ácido tricloroacético
TEP: 1, 1, 3, 3-tetraetoxipropano
TR: Tasa de respiración
U: Unidad de actividad de enzima
UV: Luz ultra-violeta

Glosario

Actividad enzimática: Velocidad de reacción enzimática medida con base a la transformación de una cantidad conocida de sustrato por unidad de tiempo.

Antioxidantes: Cualquier sustancia presente en baja concentración en comparación de un sustrato oxidable que retrasa o previene significativamente la oxidación del sustrato (Halliwell y Gutteridge, 2002).

Capa mínima de oxígeno: Capa de agua subsuperficial donde la concentración de oxígeno disuelto es $< 1.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ o donde el porcentaje de saturación de oxígeno es $< 20\%$.

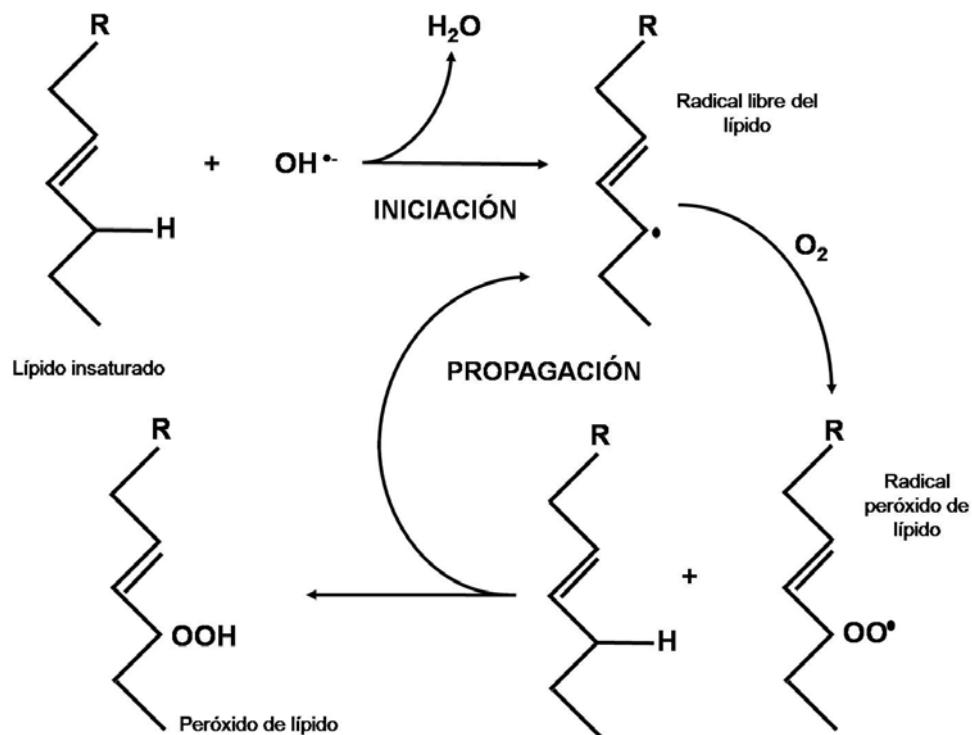
Especies reactivas de oxígeno (ERO): Término usado para designar los radicales libres del oxígeno ($\text{O}_2^{\cdot-}$ y OH^{\cdot}), así como otros derivados no-radicales, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Halliwell y Gutteridge, 2002).

Estrés oxidativo: Situación de pronunciado desequilibrio entre la producción de ERO y las defensas antioxidantes que provoca daños oxidativos (Halliwell y Gutteridge, 2002).

Hipoxia: Reducción significativa de la concentración de oxígeno disuelto en el agua. La hipoxia puede ocurrir a diferentes concentraciones de oxígeno dependiendo de la tolerancia de las especies (Stramma *et al.*, 2008).

Migración vertical diaria: Movimiento vertical de especies de zooplancton dulceacuicola y marinos realizada a escala circadiana a lo largo de la columna de agua en respuesta a la intensidad luminosa. En el patrón clásico de migración vertical diaria, el zooplancton se distribuye en estratos profundos durante el día. A partir del atardecer, el zooplancton sube a las aguas superficiales donde se alimentan de fitoplancton durante la noche. Al alba, los organismos bajan de nuevo en profundidad.

Peroxidación de los lípidos: Incorporación de oxígeno a los lípidos insaturados que resulta en la degradación de éstos. La peroxidación de los lípidos empieza cuando una ERO tiene suficiente reactividad para atraer un átomo de hidrógeno de un grupo metileno (-CH₂-). De hecho, un doble enlace adyacente al grupo metileno debilita la energía del enlace del hidrogeno alelico. Esta reacción deja un electrón desapareado sobre el carbono (-ĊH-). Bajo condiciones aérobicas, este radical se combinara con O₂ para formar el radical peróxido del lípido. El radical peróxido del lípido es, a su vez, capaz de atraer un ion H que pertenece a otra molécula de lípidos. Así ocurre la propagación de la peroxidación. El producto final de la reacción se llama peróxido de lípido (Halliwell y Gutteridge, 2002).



Radical libre: Cualquier molécula que puede tener una existencia independiente y que tiene uno o más electrones no apareados. (Halliwell y Gutteridge, 2002)

Reoxigenación: Regreso a las condiciones normales de concentración y/o porcentaje de saturación de oxígeno después de la exposición a condiciones de hipoxia.

Resumen

La migración vertical diaria del zooplancton (MVD) es la transferencia de biomasa de mayor magnitud en los ecosistemas marinos y dulceacuícolas del mundo. Se han propuesto varias hipótesis para explicar este ubicuo comportamiento, pero las diferencias intraespecíficas e interespecíficas de la MVD de especies que se distribuyen en la misma región y el efecto causal desde una perspectiva ecológica y evolutiva son aún pobremente comprendidos. Este trabajo propone que la producción de radicales libres, la actividad de enzimas antioxidantes y las tasas de respiración interespecíficas contribuyen a explicar el comportamiento interespecífico de MVD de tres especies subtropicales de eufáusidos en el Golfo de California (GC), donde la capa mínima del oxígeno (CMO, $<1.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) puede ser tan somera como 80 m en verano y 100 en invierno. El objetivo de este estudio fue estimar los indicadores de estrés oxidativo interespecíficos y intraespecíficos *in situ* asociados las tasas de respiración de tres especies de eufáusidos (*Nyctiphanes simplex*: MVD corta; *Nematoscelis difficilis*: MVD moderada; *Euphausia eximia*: MVD larga) durante el proceso de MVD en la temporada fría (Ene 2007) e inicio y final de la temporada cálida (Jul y Oct 2007). Los indicadores de estrés oxidativo fueron analizados a partir de eufáusidos vivos colectados en profundidades discretas con redes de apertura y cierre manual. Las tasas de respiración fueron estimadas en *N. simplex* y *N. difficilis* a bordo del B/O El Puma a distintas concentraciones de oxígeno disuelto en enero. En julio, cuando la termoclina y la CMO son más someras, la actividad enzimática de *N. simplex* fue 30 veces más elevada que en enero, siendo insuficiente para impedir el daño oxidativo a lípidos, cuya magnitud fue 100 veces mayor en la temporada cálida que en la temporada fría. Los experimentos de tasa de respiración sugieren que concentraciones de oxígeno disuelto $<3.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ durante >15 minutos son letales para *N. simplex* y que *N. difficilis* tiene significativamente tasas de respiración que *N. simplex* más altas explicando parcialmente como esta especie puede exponerse diariamente a condiciones hipóxicas. No se observaron diferencias estacionales importantes en la actividad enzimática de *N. difficilis* y *E. eximia*. Verticalmente, se observó mayor actividad antioxidante en los organismos *N. simplex* y *N. difficilis* colectados en las capas más profundas durante la temporada fría. Es posible que esto se deba a los cambios en la concentración de oxígeno que experimentan cuando migran de condiciones hipóxicas y profundas durante el día hasta la superficie para alimentarse durante la noche. *E. eximia* no tiene ningún cambio en las capas profundas, por ello parece tolerar la hipoxia. Sin embargo, la actividad de las enzimas antioxidantes y el daño oxidativo a lípidos incrementan en superficie. Análisis multivariados confirmaron diferencias interespecíficas en los indicadores de estrés oxidativo entre las temporadas y las profundidades de muestreo. Las condiciones de hipoxia y anoxia son aparentemente condiciones relevantes que influyen de manera distinta la fisiología de las especies de zooplancton que aparentemente han evolucionado con capacidades distintas que les permiten o no introducirse en la CMO en el GC. Estas respuestas fisiológicas de cada especie están estrechamente asociadas con su MVD, abundancia, distribución y potencialmente sus patrones zoogeográficos.

Abstract

Daily vertical migration (DVM) of zooplankton is the largest biomass migration of the marine and fresh water ecosystems in the world. Several hypotheses have been proposed to explain this ubiquitous behavior, but the intraspecific and interspecific differences of the DVM of species that distribute at the same region and the causal effect from an ecological and evolutionary perspective are still poorly understood. This study proposes that the production of free radicals, the antioxidant enzyme activity and the respiration rates explain the behavior of DVM of three subtropical euphausiids (krill) species of the Gulf of California (GC), where the minimum layer of oxygen (CMO, $<1.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$), can be relatively shallow (80 m) in summer and deeper 100 m in winter. The goal of this study was to estimate the interspecific and intraspecific antioxidant defenses *in situ* associated with the respiration rates of three krill species (*Nyctiphanes simplex*: short DVM; *Nematoscelis difficilis*: moderate DVM; *Euphausia eximia*: long DVM) during the DVM in cold season (Ene 2007) and early and onset of the warm season (Jul and Oct 2007). Life krill were collected at specific depths with manual operated opening-closing nets. Respiration rates were estimated for *N. simplex* and *N. difficilis* on board of the R/V El Puma at different oxygen dissolved concentrations (January). Enzymatic activity of *N. simplex* increased up to 30 times from the cold to the warm season. This activity seems to be stressful to its homeostasis because the lipids peroxidation was estimated about 100 times greater during the warm season. The respiration rate experiments suggest that dissolved oxygen concentrations $<3.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ during >15 minutes are lethal for *N. simplex* and that *N. difficilis* had significantly higher respiration rates than *N. simplex* partially explaining why this specie can be exposed every day to hypoxic conditions. No important seasonal differences were observed in the enzymatic activity of *N. difficilis* and *E. eximia*. Vertically, a greater antioxidant activity was observed in *N. simplex* and *N. difficilis* organisms collected in deeper layers as a response to the oxygen gradient concentration that experiment when they migrate from deeper hypoxic conditions during daytime toward the surface to feed during the night. Multivaried analysis confirmed interspecific differences of the oxidative stress indicators among the three euphausiid species between seasons and the sampling depths. The hypoxic and anoxic conditions seems to be relevant environmental features that influence in distinct way the physiology of species from zooplankton, that apparently have been evolved with distinct capacities and that allow to be able to enter or not into the minimum oxygen layer (MOL) in the GC. These physiological responses of each euphausiid species were strongly associated with their DVM, abundance, distribution and potentially their zoogeographic distribution patterns.

1. Introducción

Los eufáusidos (Euphausiacea) son crustáceos marinos aerobios, holoplanctónicos o micronectónicos que habitan en todos los mares del mundo. La mayoría de las 86 especies conocidas realizan extensas migraciones verticales diarias (MVD) que oscilan entre 100 y 600 m (Brinton *et al.* 2000). Sin embargo, existen algunas especies y ciertos estadios de vida (larvas y juveniles) que tienen MVD comparativamente reducidas y que se mantienen en un estrato determinado durante todo el ciclo circadiano (Brinton 1962, 1967, 1979; De Robertis, 2002). Durante el día, los eufáusidos están usualmente en aguas profundas, reduciendo la mortalidad ocasionada por depredadores visuales que habitan aguas superficiales (Zaret y Sufferen, 1976), evitando los rayos ultra-violeta (UV) del sol (Hunstman, 1924; Williamson *et al.*, 1996) y posiblemente como una adaptación para reducir la tasa metabólica neta por el efecto de las temperaturas más bajas (McLaren, 1974; Enright, 1977). En la noche, los eufáusidos migran hacia las capas superficiales más productivas para alimentarse de fitoplancton y zooplancton (Brinton, 1979; Spicer *et al.*, 1999). Así, diariamente migran a través de pronunciados gradientes verticales de concentración de oxígeno (O_2) disuelto, temperatura y otras variables ambientales, lo que sugiere que los eufáusidos experimenten respuestas fisiológicas rápidas y dinámicas a lo largo de su MVD (Mauchline y Fisher, 1969; Simmard *et al.*, 1986; Onsrud y Kaardvedt, 1998; Spicer *et al.*, 1999). Este estudio pretende contribuir en la comprensión de las capacidades de MVD de los eufáusidos con mediciones de producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), de su eliminación y/o de los daños causados por éstos.

1.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

Las ERO se forman principalmente dentro de las mitocondrias durante la reducción del O_2 como parte de la cadena de transporte de electrones (Acworth y Bailey, 1995; Halliwell y Gutteridge, 2002). En todas las células de un organismo aeróbico, aproximadamente del 1 al 5% del O_2 consumido puede generar ERO (Boveris y Cadenas, 1982). Las ERO son moléculas que derivan del O_2 , como los radicales

libres superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e hidroxilo (OH^{\cdot}) y otros derivados como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Halliwell y Gutteridge, 2002). En la superficie del mar (primeros metros de profundidad), existe una producción fotoquímica de las ERO por la materia orgánica disuelta (principalmente $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2) debido a la absorción de los rayos UV (Van Baalen y Marler, 1966; Zika *et al.*, 1985; Petasne y Zika, 1987; Mopper y Kieber, 2000). Los radicales libres son altamente reactivos debido al electrón desapareado ubicado en el último orbital que puede afectar a las macromoléculas de las células con función fisiológica y/o estructural (Acworth y Bailey, 1995; Halliwell y Gutteridge, 2002). En comparación con los radicales $O_2^{\cdot-}$ y OH^{\cdot} , el H_2O_2 tiene un tiempo de vida más largo en el agua de mar y puede pasar rápidamente a través de las membranas biológicas de los organismos (Asada y Takahashi, 1987; Cadenas, 1989; Fridovich, 1998; Halliwell y Gutteridge, 2002).

La producción de ERO está balanceada dinámicamente por un sistema de defensa antioxidante. Los organismos marinos que emiten luz (bioluminiscencia) pueden, además de comunicar, eliminar ERO por esta vía (Rees *et al.*, 1998). Un substrato, la luciferina o un complejo formado por la luciferina y sus cofactores, es oxidado por el O_2 o uno de sus derivados (H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$) (Rees *et al.*, 1998). La reacción, catalizada o no por la luciferasa, produce un intermedio excitado que emite luz (Rees *et al.*, 1998). El sistema de defensa antioxidante incluye igualmente diferentes compuestos como el glutatión, vitaminas (C y E), proteínas que protegen las biomoléculas (i.e. proteínas de choque térmico), proteínas que minimizan la presencia de pro-oxidantes (transferrinas, haptoglobinas) y enzimas que metabolizan las ERO (Halliwell y Gutteridge, 2002). La figura 1 presenta las principales enzimas antioxidantes conocidas que componen el sistema de defensa antioxidante.

1.2 Enzimas antioxidantes

La enzima superóxido dismutasa (SOD) (EC 1.15.1.1) es un catalizador eficiente para cambiar el $O_2^{\cdot-}$, altamente reactivo con macrobiomoléculas, a H_2O_2 que es comparativamente menos reactivo (Fig. 1) (Asada y Takahashi, 1987; Halliwell y Gutteridge, 2002). La SOD tiene varias isozimas dependiendo del metal presente en su sitio activo. La Cu, Zn-SOD se encuentra principalmente en el citosol de las

células eucariotas, pero puede también detectarse en los peroxisomas y en el exterior de la célula (Halliwell y Gutteridge, 2002). La Mn-SOD se encuentra normalmente en las mitocondrias (Asada y Takahashi, 1987; Halliwell y Gutteridge, 2002).

La enzima catalasa (CAT) (EC 1.11.1.6) se encarga principalmente de neutralizar el H_2O_2 en H_2O y O_2 (Fig. 1). Esta enzima tiene una afinidad muy elevada con su sustrato debido a que el valor de la constante de Michaelis es muy alta, de 0.4 M a 1.1 M con alta $[\text{H}_2\text{O}_2]$ y de 10 a 25 mM con $[\text{H}_2\text{O}_2] < 0.05$ M que representa condiciones fisiológicas comunes en organismos aerobios (Ogura, 1955; Asada y Takahashi, 1987; Nicholls *et al.*, 2001; Halliwell y Gutteridge, 2002). Sin embargo, la CAT es notablemente sensible a la luz y a cambios osmótico y térmico, lo que puede reducir considerablemente su actividad antioxidante (Asada y Takahashi, 1987; Hertwig *et al.*, 1992; Halliwell y Gutteridge, 2002).

La enzima glutatión peroxidasa (GPx) (EC 1.11.1.9), está asociada con la CAT y al igual que ésta, cataliza la reducción del H_2O_2 en H_2O , pero con una fuente externa de electrón: dos moléculas de glutatión (GSH) (Fig. 1) (Halliwell y Gutteridge, 2002). Hasta la fecha se han identificado dos isozimas de GPx en los tejidos animales, una reduce el H_2O_2 y los hidroperóxidos orgánicos (GPx que depende del selenio o Se-dependiente), mientras que la otra reduce solamente los hidroperóxidos orgánicos (GPx Se-independiente) (Halliwell y Gutteridge, 2002).

La enzima glutatión reductasa (GR) (EC 1.8.1.7) provee el GSH a la GPx por medio de la oxidación de una molécula de nicotinamida adenina dinucleótido fosfatado (NADPH) (Fig. 1) (Halliwell y Gutteridge, 2002). La actividad de la GR también depende de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) (EC 1.1.1.49), que tiene la función de reciclar el NADPH (Fig. 1) (Halliwell y Gutteridge, 2002). La enzima glutatión s-transferasa (GST) (EC 2.5.1.18) utiliza el GSH para eliminar los productos tóxicos secundarios del proceso de oxidación, por lo que es reconocida como una enzima detoxificadora (Fig. 1) (Halliwell y Gutteridge, 2002).

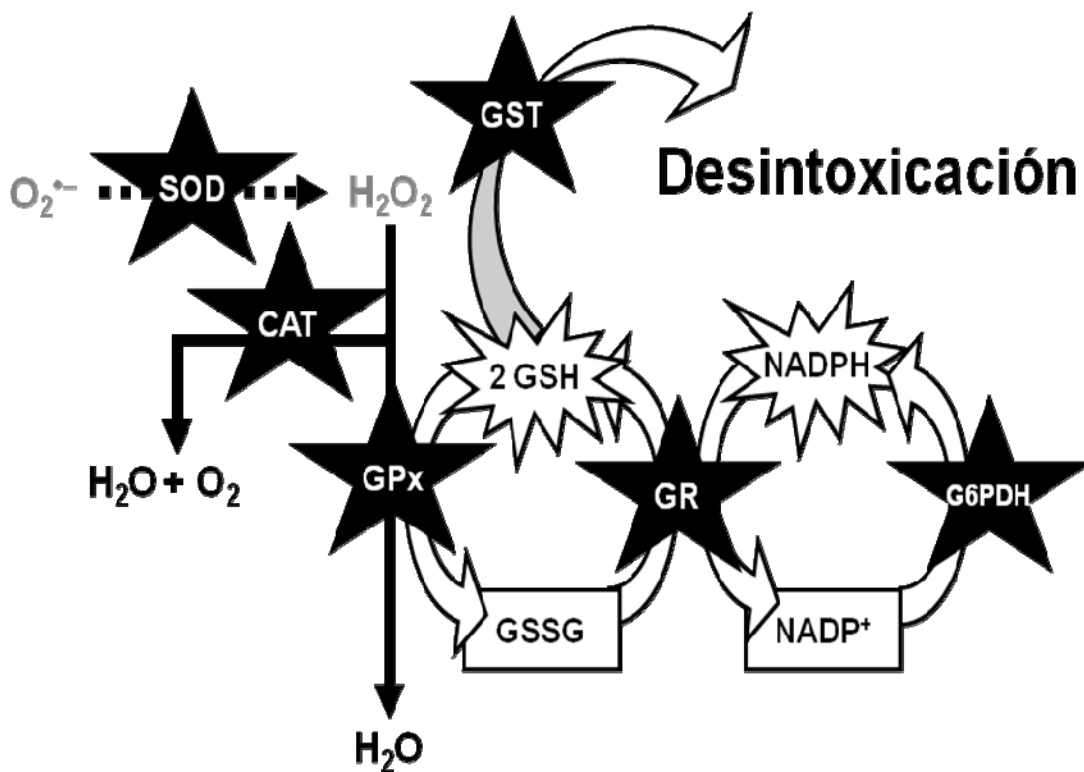


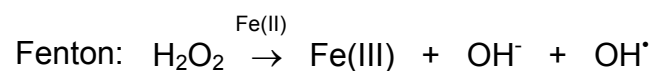
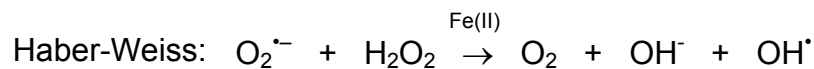
Figura 1. Las defensas enzimáticas antioxidantes funcionan en un continuo sistema de retroalimentación para proteger las células contra elevadas concentraciones de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Las principales enzimas conocidas en organismos aerobios son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y glutatión s-transferasa (GST). $O_2^{\bullet -}$ = radical superóxido, H_2O_2 = peróxido de hidrógeno, H_2O = agua, O_2 = oxígeno, GSH = glutatión reducido, GSSG = glutatión oxidado, NADPH = nicotinamida adenina dinucleótido fosfatado reducido, $NADP^+$ = nicotinamida adenina dinucleótido fosfatado oxidado. Figura modificada de Hermes-Lima (2004).

Todas estas enzimas trabajan de manera dinámica interactuando en reacciones de retroalimentación para controlar y/o eliminar las ERO. El grado de actividad de cada enzima depende de cual ERO es producida, su concentración, cómo y dónde se genera, así como cual es el grado de daño celular (Halliwell y Gutteridge, 2002). Las condiciones ambientales pueden incrementar la producción de las ERO a niveles inusuales que reducen la eficiencia del sistema de defensa antioxidante (Halliwell y Gutteridge, 2002). El estrés oxidativo ocurre cuando existe un desequilibrio entre la producción de las ERO y las defensas antioxidantes, provocando daño oxidativo a moléculas y células (Halliwell y Gutteridge, 2002). En

este caso, se puede decir que el organismo no está en homeostasis debido al estado redox (contrapartes oxidadas vs. contrapartes reducidas) desequilibrado de sus células (Ríos de Molina, 2003).

1.3 Daños oxidativos

Sin intervenciones de compuestos antioxidantes, el radical $O_2^{\cdot-}$ y el H_2O_2 , por las reacciones de Haber-Weiss y de Fenton, se pueden conjugar con un metal para formar el radical OH^{\cdot} que representa la ERO más reactiva y que conduce a daños oxidativos a los lípidos, las proteínas y el ADN (Halliwell y Gutteridge, 2002; Hermes-Lima, 2004):



Donde $O_2^{\cdot-}$ = radical superóxido, H_2O_2 = peróxido de hidrógeno, Fe = hierro, O_2 = oxígeno, OH^- = ion hidróxido y OH^{\cdot} = radical hidroxilo. La reacción de las ERO, particularmente el radical OH^{\cdot} con los lípidos (peroxidación de los lípidos) es el mecanismo más importante que ocasiona daño celular. La magnitud de la peroxidación de los lípidos depende de la fluidez de la membrana celular; es decir, del grado de saturación de la doble capa lipídica (Halliwell y Gutteridge, 2002). Los ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) son los principales blancos de este proceso (Halliwell y Gutteridge, 2002).

En lo que se refiere a las proteínas, las ERO modifican el sitio específico de los amino ácidos, fragmentan la cadena peptídica, alteran la carga eléctrica e incrementan la sensibilidad a la degradación (Halliwell y Gutteridge, 2002). Por último, la generación de las ERO puede inducir lesiones en el ADN que causan deleciones, mutaciones y otros procesos genéticos letales (Halliwell y Gutteridge, 2002).

1.4 Eufáusidos del estudio

Este estudio se enfocó sobre las tres especies de eufáusidos que dominan, en términos de biomasa y abundancia, la estructura de la comunidad en el Golfo de California (GC) donde se realizó el estudio: *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia eximia* (Brinton y Townsend, 1980; Brinton *et al.*, 1986). *Nyctiphanes simplex* es el eufáusido numéricamente dominante a lo largo de la costa oeste de Baja California y del GC donde usualmente aporta >90% de la biomasa y la abundancia de los eufáusidos en el ambiente nerítico durante todas las estaciones del año (Brinton y Townsend, 1980; Gómez-Gutiérrez, 1995). Se considera que *N. simplex* es un eufáusido con MVD relativamente pequeña (superficie a 150-200 m) (Brinton, 1962, 1967, 1979; Lavaniegos, 1996). Sin embargo, recientemente se ha reconocido que *N. simplex* tiene un amplio espectro de variación en su MVD que varía geográfica y temporalmente, presentando con frecuencia agregaciones superficiales diurnas (Brinton y Townsend, 1980; Gendron, 1990, 1992; Lavaniegos, 1996). *N. simplex* tiende a habitar un ambiente demersal durante el día (Elorduy-Garay y Caraveo-Patiño, 1994; Robinson y Gómez-Gutiérrez, 1998) o no migra verticalmente, particularmente en ambientes someros como la boca de Bahía Magdalena donde la profundidad varía de 15 a 40 m (Gómez-Gutiérrez y Robinson, 2006).

Nematoscelis difficilis es una especie de afinidad zoogeográfica templada-tropical cuya distribución se extiende a lo largo de la zona de transición del Pacífico Norte (Brinton, 1962; Brinton *et al.* 2000; Bucklin *et al.*, 2002), aunque en el GC ésta tiene características zoogeográficas relativamente subtropicales (Brinton y Townsend, 1980; Gómez-Gutiérrez, 2003). *N. difficilis* tiene una MVD relativamente extensa que puede variar desde la superficie hasta 400 m con máxima densidad entre 100 y 200 m de profundidad, aunque en ocasiones ha sido observada hasta 700 m (Brinton, 1962, 1967, 1979; Bucklin *et al.*, 2002). Sin embargo, su MVD puede ser relativamente más superficial en regiones donde la termoclina es somera y tiene mayores amplitudes de MVD en regiones relativamente más profundas donde la temperatura superficial es <15°C (Lavaniegos, 1996; Bucklin *et al.*, 2002). Se ha reportado que otras especies del género *Nematoscelis* tienden a distribuirse entre

100 y 400 m (Andersen y Sardou, 1992). *N. difficilis* tiene una MVD más amplia que *N. simplex*, pero sus distribuciones verticales posiblemente se traslapan en el GC (Brinton, 1962, 1967; 1979; Brinton y Townsend, 1980).

Euphausia eximia es una especie restringida al océano Pacífico oriental donde prolifera en las porciones cálidas más sureñas de los sistemas de las corriente de California y de Perú, incluyendo el GC y extendiendo su distribución al oeste a lo largo de la divergencia ecuatorial; esta especie tiene una amplias MVD que se extienden desde las capas superficiales a más de 400 m de profundidad, aunque al igual que *N. difficilis*, se han colectado individuos hasta los 700 m (Brinton, 1962, 1967, 1979; Lavaniegos, 1996; Brinton *et al.*, 2000). De acuerdo con Antezana (2002), *E. eximia* es una de las especie del género *Euphausia* con una mayor proporción de superficie branquial con respecto a la superficie de su cefalotórax. Esta particularidad morfológica posiblemente sea una adaptación a la exposición frecuente a condiciones donde la capa mínima de oxígeno (CMO, $<1.5 \text{ ml O}_2 \text{ L}^{-1}$) la cual es típicamente somera (de 40 a 60 m) en la parte sur del GC y a lo largo del POT.

En este estudio, se analizó la actividad de las principales enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPX, GR y GST), la producción del $\text{O}_2^{\cdot-}$ y el daño oxidativo (evaluado en base a la peroxidación de lípidos) como aproximaciones potenciales para entender las respuestas fisiológicas y de homeostasis de los eufáusidos cuando migran a través de la columna de agua durante su MVD. Para complementar y profundizar la interpretación de los análisis, también se realizaron experimentos de tasa de respiración en *N. simplex* y *N. difficilis* para determinar el consumo en O_2 de éstas a diferentes concentraciones de oxígeno. Posiblemente, *N. simplex* tiene una distribución vertical limitada debido a que no puede responder a exposiciones prolongadas o cambios abruptos en la concentración de O_2 como *N. difficilis* y *E. eximia* que usualmente realizan extensas MVD a estratos profundos, lo que permite asumir que estas especies han evolucionado con una adaptación para exposiciones más frecuentes a la hipoxia.

2. Antecedentes

En general, los artrópodos marinos tienen defensas antioxidantes que dependen de su capacidad aeróbica, de su adaptación a condiciones cambiantes del ambiente y de su exposición a rayos UV (Maciel *et al.*, 2004; Camus y Gulliksen, 2005; Gouveia *et al.*, 2005). Se conocen dos tipos de respuesta metabólica generalizadas para los organismos aerobios, que teóricamente podrían presentarse en los eufáusidos durante su MVD al exponerse a la CMO durante el descenso y a una posterior reoxigenación durante el ascenso: (1) La generación de ERO podría aumentar justo antes de la exposición a condiciones hipóxicas, posiblemente como señal para activar factores implicados en la biogénesis de mitocondrias (Schrek y Baeuerle, 1991; Hochachka y Lutz, 2001; Martindale y Holbrook, 2002; Bickler y Buck, 2007). (2) Algunos organismos pueden generar defensas antioxidantes cuando son expuestos a condiciones hipóxicas para prepararse al estrés oxidativo posterior que sobreviene durante la reoxigenación (Hermes-Lima *et al.*, 1998; Hermes-Lima y Zenteno-Savín, 2002; Lushchak *et al.*, 2005; Bickler y Buck, 2007).

El ambiente hipóxico puede causar una reducción significativa de la afluencia del O_2 a los tejidos de organismos aeróbicos afectando así el proceso respiratorio que propicia la producción de radicales libres. De acuerdo con Kamykowski y Zentara (1990), las concentraciones típicas en la mayoría de las áreas hipóxicas de los océanos del mundo son $<1.5 \text{ mL } O_2 \text{ L}^{-1}$, equivalente a $\sim <20\%$ de saturación en oxígeno. Para el POT los niveles de hipoxia son típicamente de $<0.5 \text{ mL } O_2 \text{ L}^{-1}$ o $<7.5 \%$ de saturación en O_2 (Brinton, 1979; Fernández-Álamo y Färber-Lorda, 2006). Con series de datos de O_2 de los 50 últimos años y algunas observaciones recientes de valores de concentración de O_2 del Pacífico y Atlántico tropicales, Stramma *et al.* (2008) llegaron a la conclusión que las zonas de mínimo O_2 se extendieron verticalmente en las últimas décadas. En la boca del GC se han registrado concentraciones de $1 \text{ mL } O_2 \text{ L}^{-1}$ a $\sim 60 \text{ m}$ de profundidad (Fiedler y Talley, 2006). En el GC las capas de agua más profundas, entre 200 y 300 m, son usualmente hipóxicas ($<1.4 \text{ mL } O_2 \text{ L}^{-1}$) e inclusive completamente anóxicas ($<0.5 \text{ mL } O_2 \text{ L}^{-1}$), particularmente en áreas específicas como la cuenca de Guaymas (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Shushkina y Vinogradov, 1992). Sameoto *et al.* (1987)

encontraron que la distribución vertical de los eufáusidos en el POT era influenciada por la profundidad de la CMO debido a que solamente algunas especies fueron encontradas debajo de la CMO (*E. eximia*, *Euphausia diomedae*, *Euphausia distinguenda*, *Euphausia lamelligera*, *Nematoscelis gracilis* y *Nematobranchion flexipes*) y dos especies (*N. gracilis* y *Stylocheiron* spp.) se encontraron donde la concentración de O₂ era cercana a condiciones anóxicas <0.1 mL O₂ L⁻¹.

La tasa de respiración de los eufáusidos está directamente vinculada a la concentración y porcentaje de saturación del O₂, a la temperatura, a la salinidad y a la presión parcial ambiental. La tasa de respiración y la estrategia de respiración a condiciones cambiantes en la concentración de O₂ (conformadores vs. reguladores) varían a lo largo del ciclo de vida de estos organismos. Durante la fase embrionaria hasta justo antes de la eclosión de los huevecillos, los eufáusidos respiran principalmente por difusión molecular siendo conformadores relativamente eficientes, a pesar de su forma esférica que, según la teoría de flujo, es la forma simétrica con la menor proporción área/volumen posible (Quetin y Ross, 1989). Durante el proceso de la eclosión, los embriones reducen significativamente su capacidad a respirar por difusión. Desde la fase juvenil a adulto tienden a comportarse como reguladores (Quetin y Ross, 1989). En estadios postlarvales los eufáusidos poseen branquias externas como una adaptación para aumentar la proporción área/volumen e incrementar la absorción de O₂, con ayuda de movimientos natatorios rápidos y continuos (Brinton *et al.*, 2000; Antezana, 2002).

Es posible que la tasa de respiración también esté relacionada con la producción de ERO en respuesta a la MVD. Debido a la producción de las ERO en las mitocondrias durante la respiración aeróbica, al incrementar su respiración, los eufáusidos pueden también incrementar su producción endógena de ERO. La tasa de respiración de los eufáusidos ha sido estimada principalmente en especies de regiones templadas y polares, particularmente en *Euphausia pacifica* y *Euphausia superba* (Small y Hebard, 1967; Teal y Carey, 1967; Childress, 1975, 1977; Iguchi e Ikeda, 1995). En general, los eufáusidos de estas regiones reducen su tasa de respiración con la profundidad en razón de la menor temperatura que provoca una disminución del metabolismo (Saborowski *et al.*, 2002). Sin embargo, *Euphausia mucronata*, que se presenta gran parte del tiempo en aguas hipóxicas y que tiene, al

igual que *E. eximia*, una elevada proporción de superficie branquial en relación al tamaño del cefalotórax, no cambia significativamente su tasa de respiración cuando se ubica arriba o debajo de la CMO (Antezana, 2002). Las tasas de respiración de *N. simplex* y *N. difficilis* aún no han sido estimadas. Aunque medir la tasa de respiración es una técnica experimental relevante para entender la respuesta de los eufáusidos a condiciones ambientales específicas, cuantificar o evaluar la respuesta a nivel enzimático bajo condiciones naturales es un proceso sustancialmente menos explorado y un gran reto de investigación para ecólogos y fisiólogos del zooplancton.

Se han estudiado los cambios en la concentración de lactato, producto del metabolismo anaerobio, con la concentración de O₂ en condiciones naturales (fiordo de Gullmars) y de laboratorio en la hemolinfa del eufáusido *Meganyctiphanes norvegica* (Spicer *et al.*, 1999). Esta especie incrementó la concentración de lactato en condiciones de hipoxia y anoxia (pasando de 4.76 a 0.59 mL de O₂ L⁻¹ entre 40 y 90 m); en los experimentos, la mayoría de los eufáusidos incubados por periodos mayores de 12 h a <1.5 mL O₂ L⁻¹ no sobrevivieron (70% de mortalidad). Spicer y Strömberg (2002) estudiaron a la misma especie, en el fiordo de Gullmars, y determinaron que la concentración de hemocianina disminuye significativamente con la profundidad de muestreo, lo cual se atribuyó a que cuando los eufáusidos están bajo condiciones de inanición, se utiliza la hemocianina como fuente de energía.

Bucklin *et al.* (2002) estimaron la concentración de cuatro enzimas metabólicas (citrate sintetasa = CS, hexokinasa, lactato deshidrogenasa = LDH y fosfato-glucosa isomerasa = PGI) como índices de la condición fisiológica y del crecimiento en *N. difficilis* comparando tres zonas: nerítica, intermedia y oceánica (Octubre 1996). Los autores encontraron concentraciones significativamente mayores de las cuatro enzimas en la región nerítica en comparación a la región oceánica, atribuyéndola a una respuesta fisiológica a las condiciones ambientales puesto que se encontraron pocas variaciones en los genes que codifican para LDH y PGI. Bucklin *et al.* (2002) compararon el ADN mitocondrial encontrando también diferencias notables entre las zonas con gradiente costa-océano. Aunque estas muestras se obtuvieron con red estratificada (MOCNESS) separando y congelando individuos de estratos de profundidades particulares, los autores enfocaron su análisis a comprender los cambios en la actividad enzimática en gradientes costa-

océano más que en el gradiente vertical asociado con diferencias regionales en su MVD. Los mismos autores encontraron que en la región de California (EUA), *N. difficilis* exhibe MVD relativamente corta.

González y Quiñones (2002) compararon la actividad de la LDH como un indicador del metabolismo anaerobio del eufáusido *E. mucronata* que usualmente migra a través de la CMO y del copépodo *Calanus chilensis* que se distribuye en estratos bien oxigenados por encima de la CMO. Con organismos proviniendo de dos lugares en la corriente de Humboldt, donde existe una CMO sub-superficial permanente, estos autores encontraron que la actividad de la LDH es significativamente mayor en *E. mucronata* que en *C. chilensis*, corroborando su capacidad fisiológica de atravesar diariamente la CMO. También observaron diferencias significativas en la actividad de la LDH entre localidades de muestreo para *E. mucronata*, siendo más alta en la región central-sur, donde la CMO era comparativamente más somera, y una actividad enzimática que varía con el desarrollo ontogenético (mayor en adultos). Sin embargo, en este estudio se obtuvieron organismos de muestreos integrados a través de la columna de agua (redes Bongo) por lo que no pudieron asignar actividad enzimática de animales recolectados en estratos de profundidad específicos.

Camus y Gulliksen (2005) estudiaron la actividad enzimática de tres especies de anfípodos de la región ártica: una especie superficial (*Gammarus wilkitzkii*), una sublitoral (*Anonyx nugax*) y una béntica (*Eurythenes gryllus*). Los autores encontraron que la capacidad de neutralizar las ERO fue comparativamente más baja en el anfípodo béntico, posiblemente debido a que su tasa de respiración fue aproximadamente 7.6 veces más baja que en la especie superficial (Weslawski y Opalinski, 1997; Takeuchi y Watanabe, 1998). Camus y Gulliksen (2005) sugieren que las defensas antioxidantes de *G. wilkitzkii* le permiten permanecer en aguas superficiales altamente pro-oxidantes típicas del océano Ártico.

Correia *et al.* (2003) realizaron un estudio con *Gammarus locusta* y encontraron cambios ontogenéticos en la actividad de las enzimas SOD y GPx; la actividad de ambas enzimas disminuyó durante el desarrollo de la fase juvenil a adulto. Barata *et al.* (2005) realizaron un estudio semejante en el cladóceros *Daphnia*

magna reportando que las mayores tasas de mortalidad estaban directamente relacionadas con la disminución de la actividad de SOD, CAT y GPx y el daño oxidativo (incremento en la peroxidación de los lípidos) con la edad.

Zenteno-Savín *et al.* (2006) y Parrilla-Taylor (2007) observaron que en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, la reoxigenación abrupta después una exposición a condiciones hipóxicas tiene como consecuencia un incremento significativo en la concentración de lactato y en la producción de ERO junto con una disminución de la actividad enzimática antioxidante en el músculo y el hepatopáncreas.

A la fecha no existen estudios que cuantifiquen la actividad de las enzimas antioxidantes en los eufáusidos, pero éstas se han estudiado en otros crustáceos (anfípodos, cladóceros y decápodos). A diferencia de la mayoría de los organismos metazoarios que tienen Cu, Zn-SOD en el citosol y Mn-SOD en las mitocondrias, y que usan hemoglobina en el transporte de O₂, los organismos de la clase Malacostrácea, aunque tienen Mn-SOD en las mitocondrias, no tienen la isozima Cu, Zn-SOD en el citosol (Brouwer *et al.*, 1997; 2003), sino que también presentan Mn-SOD en el citosol y utilizan la hemocianina Cu-dependiente para el transporte del O₂ (Brouwer *et al.*, 2003). Este fenómeno fue corroborado por el mismo grupo de investigadores en el eufáusido *Euphausia pacifica* (Brouwer *et al.*, 2003).

3. Justificación

Debido a la función trófica relevante que tienen los eufáusidos en los ecosistemas marinos, es relevante conocer si su capacidad antioxidante es un factor que limita la profundidad máxima de su MVD dentro del contexto de los cambios climáticos y oceanográficos, diarios y estacionales o si tiene alguna asociación con sus patrones zoogeográficos. Estudios fisiológicos previos se enfocaron en la tolerancia de los eufáusidos a hipoxia o anoxia y consideraron principalmente aspectos del metabolismo anaerobio mientras que en este trabajo, se evaluó la respuesta a exposición a hipoxia con base en los indicadores de estrés oxidativo.

4. Planteamiento del problema

En ambientes tropicales o subtropicales, particularmente en el POT y el GC donde la CMO es somera (60-150 m de profundidad), los eufáusidos tienen posiblemente respuestas interespecíficas e intraespecíficas para compensar y balancear su homeostasis durante la MVD. En este estudio, se pretende comprender cómo ocurren estos ajustes metabólicos analizando la actividad de algunas de las principales enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPX, GR y GST), la producción del $O_2^{\cdot-}$ y el potencial daño oxidativo (indicado la peroxidación de lípidos) de las tres especies dominantes del GC: una especie subtropical (*Nyctiphanes simplex*), una especie transicional templado-tropical (*Nematoscelis difficilis*) y una especie de afinidad tropical con mayor densidad poblacional a lo largo de los márgenes fríos del POT (*Euphausia eximia*). Los parámetros fueron evaluados en función de la variabilidad de las condiciones ambientales en la escala de tiempo estacional durante la temporada fría (enero 2007) y la temporada cálida (Julio y Octubre 2007).

5. Hipótesis

Debido a que los juveniles tienen un comportamiento y amplitud de MVD distintos de los adultos, es de esperarse que presentan diferencias en los indicadores de estrés oxidativo acorde con los estratos donde pasan la mayor parte del tiempo. De esta forma se plantea la hipótesis que los juveniles por presentar una MVD comparativamente más reducida (más frecuentemente expuestos a condiciones oxidantes) deberían por lo tanto producir más ERO que los adultos. Sin embargo, debido a la capacidad antioxidante que se reduce con la edad en la mayor parte de los organismos aeróbicos, es de esperarse que los juveniles exhiban menor daño oxidativo que los adultos.

Por otro lado, se espera encontrar diferencias entre estaciones y profundidades de muestreo en los indicadores de estrés oxidativo debido a que las condiciones ambientales son altamente variables espacio-temporalmente en el GC. Se plantea la hipótesis que los cambios estacionales pronunciados en la

temperatura, profundidad de la termoclina, oxiclina y CMO modifican considerablemente los patrones interespecíficos y posiblemente intraespecíficos de MVD de los eufáusidos. Se espera encontrar niveles más elevados de los indicadores de estrés oxidativo en la temporada cálida (Julio y Octubre) cuando la temperatura se incrementa significativamente, reduciendo la concentración disuelta y la saturación del O₂, posiblemente causado por una CMO más somera en comparación con la temporada fría (Enero). A través la columna de agua, durante la MVD, deberíamos observar también cambios en los indicadores de estrés oxidativo de la superficie a los estratos más profundos, en relación con el perfil vertical de las variables ambientales.

Por último, se espera encontrar diferencias interespecíficas en los indicadores de estrés oxidativo que nos permitirá proponer algunas hipótesis en cuanto a la zoogeografía de las tres especies del estudio. Debido a que los juveniles y adultos de *N. simplex* realizan MVD de menor magnitud (hasta ~280 m, aunque usualmente <100 m) y que *N. difficilis* y *E. eximia* realizan MVD comparativamente más profundas (hasta 700 m, pero usualmente <300 m), se plantea la hipótesis que la actividad de las principales enzimas antioxidantes de *N. simplex* es comparativamente menos variable y/o más sensible frente a la hipoxia que las otras dos especies que usualmente entran en la CMO. De acuerdo con lo que actualmente se conoce sobre el sistema de defensa antioxidante en anfípodos, cladóceros y decápodos, es de esperarse que *N. simplex* tenga una producción de ERO más elevada debido a que se ubica la mayor parte de su tiempo durante la MVD en aguas relativamente bien oxigenadas y está más frecuentemente expuesto a los rayos UV del sol, en particular durante la formación de enjambres superficiales diurnos previamente observados en comparación con *N. difficilis* y *E. eximia*.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Evaluar las variaciones en los indicadores de estrés oxidativo *in situ* y las tasas de respiración interespecíficas de los eufáusidos subtropicales numéricamente dominantes (*Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia eximia*) en el Golfo de California, en función de sus capacidades para realizar la migración vertical diaria (MVD) durante las temporadas fría (enero) y cálida (julio y octubre) del 2007.

6.2 Objetivos específicos

- Establecer los patrones de distribución vertical intraespecífico e interespecífico de tres especies de eufáusidos en función de diferencias por profundidad, temporada del año (fría y cálida) y del estadio de desarrollo (juveniles y adultos).
- Determinar el patrón de variabilidad intraespecífico e interespecífico de los diferentes indicadores de estrés oxidativo (actividad enzimática, producción de ERO y daño oxidativo) de tres especies de eufáusidos.
- Estimar y comparar la tasa de respiración de los eufáusidos en diferentes concentraciones de O₂ disuelto a temperatura constante bajo condiciones de laboratorio con la finalidad de caracterizar las respuestas fisiológicas en condiciones oxidantes y condiciones relativamente hipóxicas simuladas durante su MVD.

7. Área de estudio

El GC (23-32°N y 107-117°O) (Fig. 2) es un cuerpo de agua con variación estacional importante a lo largo de su amplitud en razón de diferentes procesos de mesoescala: corrientes de marea, vientos, surgencias y radiación solar. En la figura 2, se observa la localización de las islas y bahías más importante del GC. También, el mapa sitúa la cuenca de Guaymas, una de las series de cuencas que atraviesan longitudinalmente el GC y que varían de >3 000 m (en la boca del GC) a 200 m (en el norte del GC).

En el GC, los eventos de surgencia inducidos por forzamiento por vientos ocurren a lo largo de la Costa Este cuando los vientos soplan del noroeste (condiciones frías típicas de diciembre a mayo) y a lo largo de la Costa Peninsular asociándose a los vientos del sureste (condiciones cálidas de julio a octubre), donde junio y noviembre tienen condiciones de transición frío-cálida y cálida-fría, respectivamente (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991).

En invierno, la surgencia es más fuerte y tiene un efecto importante sobre el fitoplancton y con ayuda de giros, incrementa la biomasa fitoplanctónica en todo el GC (Santamaría-Del Angel *et al.*, 1994; Lluch-Cota, 2000). En verano, debido a la estratificación importante de la columna de agua, que es causada por la invasión de agua superficial ecuatorial, la surgencia tiene un efecto débil sobre la biomasa fitoplanctónica (Santamaría-Del Angel *et al.*, 1999). La producción primaria nueva integrada verticalmente por año está dividida en dos periodos: temporada fría (dic-may) con valores que fluctúan entre 1.16–1.91 g C m⁻² d⁻¹ y la temporada cálida (jul-oct) con valores entre 0.39–0.49 g C m⁻² d⁻¹, lo cual representa valores cerca de cuatro veces menores que en la temporada fría (Hidalgo-González y Álvarez-Borrego, 2004).

En primavera, las mareas del norte del GC tienen un rango de >7 m y en la región de las grandes islas (Islas Tiburón y Angel de la Guardia) de >4 m (Fig. 2). Las temperaturas superficiales mínimas del GC se encuentran en estas regiones (Soto-Mardones *et al.*, 1999). La mezcla de agua provocada por la corriente de

marea en la región de las grandes islas causa un aporte de agua fría y rica en nutrientes a la superficie durante todo el año (Álvarez-Borrego, 2002). La topografía de las islas del GC favorece la presencia de surgencias persistentes por que presentan una línea de costa siempre paralela a la dirección de los vientos. A la entrada del GC, el agua proviene en su mayoría del POT, pero la CMO somera que acompaña esta agua se diluye (Roden y Groves, 1959; Alvarez-Borrego, 1983, Castro et al., 2000).

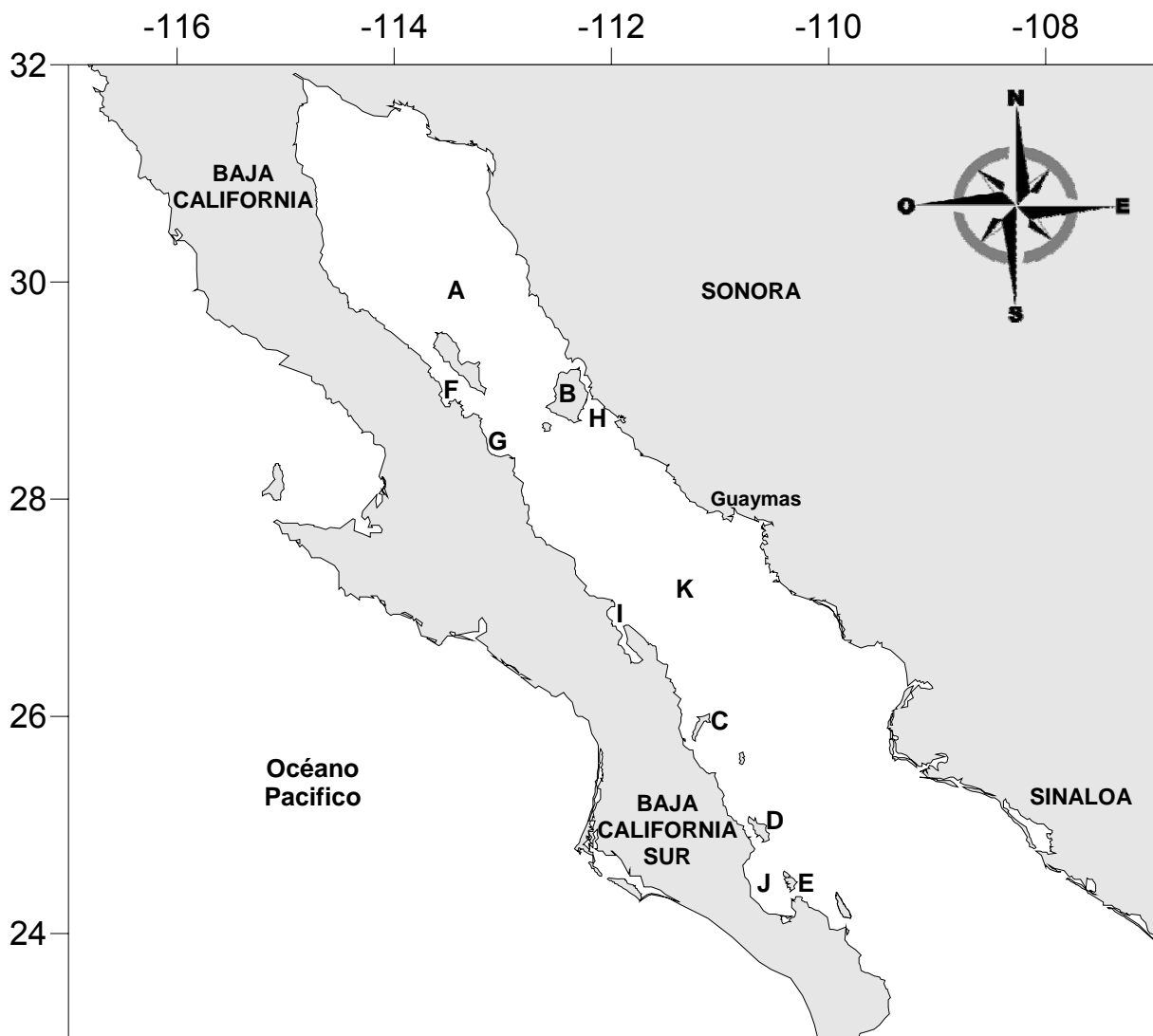


Figura 2. Área de estudio en el Golfo de California. (A) Isla Angel de la Guardia, (B) Isla Tiburón, (C) Isla del Carmen, (D) Isla San José, (E) Isla del Espíritu Santo, (F) Bahía Los Ángeles, (G) Bahía San Francisquito, (H) Bahía Kino, (I) Bahía Concepción, (J) Bahía de La Paz, y (K) cuenca de Guaymas.

8. Materiales y Métodos

8.1.1 Recolección de los organismos

Los eufáusidos se recolectaron durante tres cruceros oceanográficos (en 2007) realizados en la parte central del GC y Alto Golfo a bordo de B/O El Puma en enero (CAPEGOLCA II) y julio (CAPEGOLCA III) y el tercer crucero en octubre con un plan de muestreo transversal al GC frente a la Bahía de la Paz a bordo de B/O Francisco de Ulloa (GOLCA0710) (Fig. 3). Las muestras de zooplancton utilizadas para definir los patrones diurnos de la distribución vertical y actividad enzimática que provienen principalmente de dos tipos de redes y métodos de muestreos:

- Muestras superficiales (Neuston): Se efectuaron arrastres horizontales superficiales durante 10 minutos con dos redes cónicas de 0.6 m de diámetro con distinto luz de mallas, 300 y 500 μm , equipadas con un flujómetro digital.
- Muestras por estratos (Columna de agua): Se recolectó zooplancton en cuatro estratos específicos de la columna de agua con redes de 0.6 m diámetro de boca y luz de mallas de 300 μm , cada una equipada con flujómetro digital y mecanismos de apertura-cierre activados por mensajeros metálicos.

Las redes estratificadas fueron utilizadas en 21 estaciones oceanográficas en enero, 20 en julio y 48 en octubre del 2007. La profundidad de cada uno de los estratos dependía de la profundidad del fondo marino de cada estación oceanográfica pero usualmente eran muestreados algunos de los siguientes niveles intentando muestrear arriba de la capa de dispersión del sonido (si existía) y debajo de ésta detectada con una ecosonda científica (SIMRAD EY-500 de haz dividido; 120 kHz de frecuencia): 25, 50, 75, 115, 150 o 200 m. El método de arrastre consistió en bajar las redes, con el barco a la deriva, a una profundidad teórica mayor a la profundidad deseada (con un ángulo de 45°) enviando un primer mensajero para abrir las redes.

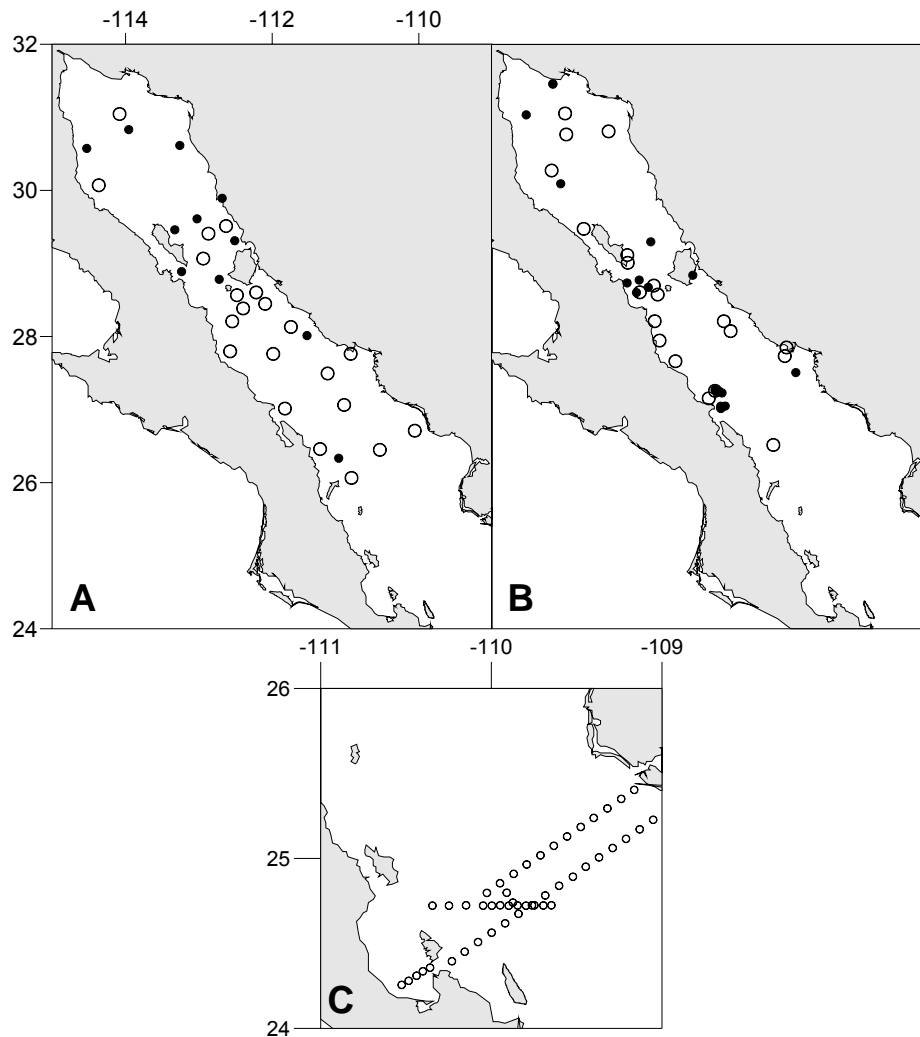


Figura 3. Estaciones de muestreo de zooplancton de los cruceros oceanográficos de (A) enero, (B) julio y (C) octubre 2007 en el Golfo de California. Círculos abiertos: estaciones donde se hicieron arrastres estratificados. Círculos cerrados: estaciones donde se realizaron muestreos con red Bongo y CTD.

El arrastre se realizó de manera horizontal abriendo las redes y arrastrándolas a una velocidad $<5.5 \text{ km h}^{-1}$ (<3 nudos) del buque durante 5 minutos. Terminado este tiempo, el barco se detenía a la deriva, se colocaba el cable a 90° y se enviaba el segundo mensajero para cerrar las redes, evitando así muestrear durante el ascenso de las redes. Con este método se obtuvieron muestras en un estrato vertical discreto. En octubre del 2007 se realizó un muestreo con las mismas redes pero con una técnica de muestreo distinta en la cual se abren los mecanismos para arrastrar oblicuamente las redes de la parte más profunda a la parte más somera de cada estrato obteniendo muestras integradas de un estrato específico (dos redes a

la vez), usualmente de 200 a 150 m, 150 a 100 m, 100 a 50 m y de 50 m hasta la superficie.

En cada estación oceanográfica, también se realizó el arrastre de zooplancton con la red de tipo Bongo (diámetro 0.60 m, 500 μm luz de malla) a una velocidad aproximada de 2.8 km h^{-1} (3 nudos) y a una profundidad máxima de 230 m de acuerdo a la metodología propuesta por Smith y Richardson (1979). No se analizaron bioquímicamente organismos de esta red porque estas muestras representan una integración de la columna de agua, pero se contabilizaron los eufáusidos por especie, estadio (juvenil y adulto) y se estandarizaron a número de individuos por 1000 m^3 para describir la variación estacional de la distribución y abundancia de las tres especies del estudio (Martínez-Gómez, *com. pers.*).

En los tres cruceros oceanográficos, inmediatamente después de recolectar las muestras estratificadas y de los arrastres horizontales, los eufáusidos fueron identificados y separados vivos utilizando un estereoscopio Carl Zeiss SV11 a 0.6 a 6.6 \times de aumento por especie, sexo, estadio ontogenético (juvenil o adultos) y fase de madurez reproductiva (macho inmaduro, macho con espermatóforo, hembra inmadura, madura, y en el caso de *N. simplex* y *N. difficilis* hembras con saco ovígero) (Brinton *et al.*, 2000). La longitud total de cada eufáusido fue medida con un micrómetro calibrado (de la parte posterior del ojo a la punta del telson). Posteriormente, cada eufáusido fue lavado con agua destilada (para eliminar la sal del agua de mar) y congelado separadamente en un criovial de tapa de rosca introduciéndolos lo más rápidamente posible en un contenedor con nitrógeno líquido (usualmente <30 minutos después del arrastre). Se hizo la anotación si el organismo era congelado aún vivo (transparente y movimientos vigorosos), si éste estaba físicamente dañado (no transparente con zonas blancuzcas y movimientos débiles) ó cerca de la muerte (inmóvil pero con débiles movimientos del corazón, y movimientos peristálticos del intestino). Esto es relevante ya que se decidió únicamente analizar la actividad enzimática de animales completamente transparentes y congelados aún vivos garantizando así el menor sesgo relativo del efecto por recolección y manipulación de los eufáusidos. Posterior a cada crucero, las muestras fueron transferidas a un congelador a -80°C hasta su análisis en laboratorio (usualmente no más de dos meses después del crucero).

Los eufáusidos excedentes de cada muestra obtenida en el campo, en mal estado físico ó muertos fueron fijados en formaldehído (4%) neutralizado con borato de sodio saturado con el resto del zooplancton del arrastre para la posterior cuantificación de la abundancia por estratos en la columna de agua.

8.1.2 Separación e identificación de las muestras estratificadas

Los eufáusidos congelados en el buque oceanográfico y fijados en formaldehído (4%) fueron contabilizados, para determinar el patrón diario de distribución vertical, normalizando la abundancia al volúmen filtrado estimado de acuerdo a la metodología estándar descrita por Smith y Richardson (1979).

8.1.3 Registro de datos ambientales

En los cruceros de enero y julio 2007 se realizaron registros contínuos de la temperatura y salinidad con un sensor Seabird microcat ubicado en el laboratorio seco del B/O El Puma con agua bombeada de la toma de agua marina limpia ubicada en la proa del buque a 4 m de profundidad. De este mismo flujo de agua bombeada se midió la fluorescencia (V) cada 5 segundos como un proxy de la concentración de clorofila-a (chl-a) con un fluorómetro (Turner Designs modelo 10-AU-005-CE). Adicionalmente, se realizaron mediciones cada 5 segundos a lo largo del derrotero del buque oceanográfico de la concentración de O₂ disuelto (para estimar el porcentaje de saturación) y turbidez con un sensor (Winsitu 9000) instalado a 4 m de profundidad en el pozo de instrumentos del B/O El Puma. Todas estas variables fueron localizadas mediante dos sistemas de geo-posicionamiento satelital (GPS Trimble AG130) con resolución de ± 5 m. Mediante una rutina escrita por Carlos Robinson (ICMyL-UNAM) y con el programa de Minitab, se parearon todas las variables ambientales en función del tiempo en minutos y segundos y con las latitudes y longitudes asociadas. Los valores de concentración de O₂ disuelto registrados en enero 2007 con el sensor Winsitu 9000 (O₂ *winsitu*) se calibraron con las concentraciones registradas del sensor YSI 1556 (O₂ YSI 1556) ($r^2 = 0.3551$, $p <$

0.05), calibrado previamente en seco según el manual del fabricante, mediante la siguiente ecuación:

$$O_2 \text{ YSI 1556} = (0.4647 \times O_2 \text{ winsitu}) + 0.9477$$

La fluorescencia (F) continua expresada en voltaje registrada durante la campaña oceanográfica fue transformada a valores de concentración de chl-a (mg chl-a L^{-1}). Esta calibración se hizo utilizando un modelo de regresión lineal simple con mediciones de chl-a estimadas con la técnica de HPLC a 5 m de profundidad y fluorescencia a 4 m de profundidad medidas a la misma hora durante el lance de CTD. Los valores de chl-a se estimaron con las siguientes ecuaciones:

Enero: $\text{mg chl-a L}^{-1} = 0.01919 \times F + 0.1132$ (n=27; $r^2=0.218$; $p<0.014$)

Julio: $\text{mg chl-a L}^{-1} = 0.171 \times F + 0.099$ (n=22; $r^2=0.445$; $p=0.001$)

Se realizaron perfiles verticales de temperatura, densidad, salinidad y O_2 disuelto (en los tres cruceros) y fluorescencia (únicamente en julio y octubre 2007) a través de la columna de agua (<200 m dependiendo de la profundidad de la estación) con el CTD de cada uno de los buques oceanográficos en las estaciones de la red de muestreo. Los registros fueron promediados por metro de profundidad utilizando el programa Matlab. Con esto, se realizaron los perfiles verticales y se definió las masas de agua mediante el diagrama de temperatura-salinidad (TS) de acuerdo a los criterios de Torres-Orozco (1993). En los cruceros oceanográficos de enero y julio 2007 se obtuvieron muestras de agua con botellas Niskin de 15 L de capacidad (superficie, 5, 10, 25, 50, 75, 100 y 300 m de profundidad) en cada lance de CTD para medir temperatura, concentración de O_2 (mg L^{-1}), porcentaje de saturación (%) y pH usando un sensor de multi-parámetros (YSI modelo 1556), así como muestras de agua (de 1 a 3 L) para filtrar, usando una torre de filtración estándar con filtros GF/F de 0.7 μm de poro (2.5 cm diámetro), para estimar la concentración de pigmentos fotosintéticos mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC por sus siglas en inglés) siguiendo la técnica de Vidussi *et al.* (1996) (HPLC, modelo 1100, Agilent Technology, Santa Clara, CA).

El porcentaje de saturación de O₂ disuelto (%O₂) se calculó a partir de la ecuación de solubilidad del oxígeno mediante mediciones *in situ* de la temperatura, salinidad y de la concentración de O₂ disuelto, utilizando la ecuación polinomial reportada para el sensor CTD SeaBird 43 (Sea-Bird Electronic http://www.seabird.com/application_notes/AN64.htm):

$$\text{Oxsat}(T,S) = \exp \{A (T_a) + S \times B (T_a)\} = \exp \{[A1 + A2 \times (100/T_a) + A3 \times \ln (T_a/100) + A4 \times (T_a/100)] + S \times [B1 + B2 \times (T_a/100) + B3 \times (T_a/100)^2]\}$$

Donde Oxsat(T,S) = valor de saturación de oxígeno definido como el volúmen de oxígeno gaseoso en condiciones de temperatura y presión estándar (STP) absorbido del aire saturado de vapor de agua a una presión total de una atmósfera, por unidad de volúmen de un líquido a la temperatura medida *in situ* (ml L⁻¹). S = salinidad, T = temperatura del agua (T°C), T_a = temperatura absoluta (T°C + 273.15), A1 = -173.4292, A2 = 249.6339, A3 = 143.3483, A4 = -21.8492, B1 = -0.033096, B2 = 0.014259, B3 = -0.00170. Esta misma conversión fue utilizada para los perfiles verticales de la concentración de O₂ disuelto en julio y octubre 2007. En julio, la concentración de O₂ disuelto del CTD fue calibrada con la regresión de la concentración estimada con el método de Winkler a 5, 10, 30, 50, 75, 100, 200 y 300 m en una estación de muestreo. Los valores se estimaron con la siguiente ecuación con intercepto en cero:

$$[\text{O}_2\text{d}] = 0.756 \times [\text{O}_2 \text{ CTD}] (r^2=0.484, p=0.03)$$

8.1.4 Análisis bioquímicos de los indicadores de estrés oxidativo

Los análisis bioquímicos se efectuaron para cada una de las especies de eufáusidos estudiadas diferenciando por sexo y cuatro grupos ontogenéticos: juveniles, machos, hembras no-ovígeras y hembras ovígeras. Los análisis de los indicadores de estrés oxidativo requieren una solución homogénea de al menos 100 mg de tejido de los eufáusidos (peso húmedo). Utilizando las ecuaciones de peso-longitud expresadas en peso húmedo para cada una de las especies estudiadas (Gómez-Gutiérrez y Robinson, 1997), se estimó el número de animales de cada

especie necesarios para integrar una biomasa >100 mg de peso seco por estación y por profundidad. Se determinó que se requirieron al menos cinco individuos adultos de *N. simplex* para obtener 100 mg de tejido, mientras que para *N. difficilis* y *E. eximia* fue necesario entre uno y dos animales, dependiendo de su tamaño.

Cada 100 mg de muestra se homogenizó en una solución amortiguadora de fosfatos (50 mM: pH 7.5; EDTA (50 mM) y PMSF (1 mM). Los homogenizados se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos a 4°C. Se desechó el precipitado y se utilizó el sobrenadante inmediatamente para los análisis. Se analizó la producción del $O_2^{\cdot-}$, la peroxidación de los lípidos (TBARS), la actividad de cinco enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx, GR y GST) y la concentración de proteínas para estandarizar los datos. Esta parte de la investigación fue realizada en el Laboratorio de Ecología Química y Toxicológica de CIBNOR.

Producción del radical superóxido (Markert *et al.*, 1984; Drossos *et al.*, 1995)

La producción endógena del $O_2^{\cdot-}$ se determinó siguiendo la reducción de ferricitocromo c por el $O_2^{\cdot-}$ durante un intervalo fijo de tiempo. Cada muestra se analizó por triplicado. Se agregó a cada muestra una solución de citocromo c (tipo VI de corazón de caballo, 15 μ M) y se incubó por 15 minutos en un baño de agua a 37°C. Al finalizar la incubación, se agregó una solución de N-etilmaleimida (3 mM) para detener la reducción. Posteriormente se centrifugaron las muestras y se determinó la absorbancia a 550 nm (Jenway 6505 uv/vis, Jenway Ltd., Londres, R. U.; Beckman-Coulter Du 800 UV/Visible Spectrophotometer, Fullerton, CA). Una mezcla conteniendo los mismos reactivos, excepto el citocromo c que se agregó al final, se utilizó como blanco para la misma muestra. La cantidad de $O_2^{\cdot-}$ producido fue calculado con el coeficiente de extinción $E_{550}=21 \text{ nM L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, y los resultados fueron expresados en nM de $O_2^{\cdot-}$ por minuto por mg de proteína ($\text{nM } O_2^{\cdot-} \text{ min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$).

Peroxidación de lípidos (Persky *et al.*, 2000)

Los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos, que son producto de la peroxidación de lípidos, reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar malondialdehído

(MDA) que, por su coloración rosa cristalino, se detecta espectrofotométricamente a 532-535 nm. La cantidad de peroxidación de lípidos se determinó como el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Buege y Aust, 1978). La concentración de TBARS presente en la muestra fue estimada con base en una curva estándar preparada con una solución de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP, 10 $\mu\text{moles mL}^{-1}$). La muestra y los estándares fueron incubados (por triplicado) durante 15 minutos a 37°C antes de agregar ácido tricloroacético 15% (TCA), ácido tiobarbitúrico 0.375% (TBA) y ácido hidrociorhídrico 0.25N (HCl). Posteriormente, la muestra y los estándares se calentaron por 10 minutos en un baño de agua a 90°C. Se enfriaron gradualmente a temperatura ambiente y el precipitado se removió por centrifugación. La absorbancia del sobrenadante fue medida a 535 nm. La concentración de TBARS de las muestras se calculó usando la regresión lineal de la curva estándar (absorbancia vs. concentración). Los resultados se expresaron en nM de TBARS por mg de proteína ($\text{nM de TBARS mg proteína}^{-1}$).

Superóxido dismutasa (Suzuki, 2000)

El sistema xantina/xantina oxidasa es utilizado como fuente constante del $\text{O}_2^{\cdot-}$ que, en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT), lo reduce y forma un producto que se llama formazán, que se detecta con un espectrofotómetro a 560 nm. La SOD inhibe la reducción del NBT. Los ensayos (por triplicado) se realizaron en muestras sin cianuro para medir la actividad de la SOD total y con preincubación con cianuro de sodio (0.25 M) por 10 minutos a 25°C para medir la actividad de la Mn-SOD. La actividad de la Cu, Zn-SOD se obtuvo de la diferencia entre estos dos valores estimados. Una unidad de actividad (U) de SOD es la cantidad de enzima necesaria para inhibir el 50% de la reacción del $\text{O}_2^{\cdot-}$ con el NBT. Los resultados son expresados en U mg proteína^{-1} .

Catalasa (Aebi, 1984)

La actividad de la enzima CAT en las muestras se cuantificó (por triplicado) cada segundo durante tres minutos por el consumo de H_2O_2 (10 mM) a 240 nm en fosfato de potasio (50 mM) y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (0.5 mM, pH 7.0) (Hermes-Lima y Storey, 1993a). Una unidad de actividad de CAT se definió

como la cantidad de enzima que cataliza la descomposición de 1 μM de H_2O_2 por minuto. Los resultados son expresados en $\text{U mg proteína}^{-1}$.

Glutación peroxidasa (Ahmad y Pardini, 1988)

La actividad de la enzima GPX se midió cada segundo durante 40 segundos, usando el H_2O_2 como sustrato (lo cual estima la actividad de la GPX Se-dependiente), mediante un ensayo acoplado con la oxidación de NADPH catalizada por la GR a 340 nm (Hermes-Lima y Storey, 1993b). El consumo basal de NADPH (0.25 mM) se determinó en un búfer de fosfatos (50 mM) que contuvo azida de sodio (2 mM), glutación (5 mM), GR (1.5 U mL^{-1}) y la muestra. Una unidad de actividad de GPX se definió como la cantidad de enzima que oxida 1 μM NADPH por minuto. Los resultados son expresados en $\text{U mg proteína}^{-1}$.

Glutación reductasa (Goldberg y Spooner, 1987)

La actividad de la GR se midió siguiendo el decremento en la absorbancia, a 340 nm, durante la oxidación del NADPH. El consumo basal de NADPH (0.2 μM) fue medido en el búfer de fosfatos (50 μM) que contenía la muestra y el glutación reducido (GSSG) (1 μM) durante 40 segundos. Una unidad de actividad de GR se definió como la cantidad de enzima que oxida 1 μM de NADPH por minuto. Los resultados son expresados en $\text{U mg proteína}^{-1}$.

Glutación s-transferasa (Habig y Jakoby, 1981)

La GST cataliza la reacción de enlace del glutación reducido (GSH) con xenobióticos. Para determinar la actividad, se midió la aparición del complejo tioéter glutación dinitrobencono, cuando se conjugan el GSH y 1-cloro-2,4-dinitrobencono (CDNB). La conjugación de CDBN (0.2 μM) se determinó en una solución de trabajo (solución amortiguadora de fosfatos de 0.1 M a pH 7; solución de GSH de 10 mM; EDTA de 60 mM) que contuvo la muestra con el cambio en la absorbancia a 340 nm durante seis minutos. Una unidad de actividad de GST se definió como la cantidad de enzima que cataliza 1 μmol de CNDB por minuto a 25°C . Resultados son expresados en $\text{U mg proteína}^{-1}$.

Proteínas (Bradford, 1976)

La concentración de proteínas solubles en los sobrenadantes de las muestras de los eufáusidos se determinó mediante el uso del método de Bradford (1976) con el paquete comercial Bio Rad. La concentración presente en la muestra se estimó en comparación con un estándar de albúmina sérica bovina (ASB, 2 mg mL⁻¹). Este método, adaptado para trabajar con microplacas, se basa en la unión del colorante azul de Coomassie® con los residuos de amino ácidos básicos presente en la muestra (principalmente la arginina). Cada estándar y la muestra (dilución 1:100 del homogenizado) fueron analizados por triplicado. Posteriormente a una agitación por 30 segundos a 900 rpm y a una incubación de 15 minutos, se hizo la lectura de la absorbancia a 620 nm en un lector de microplaca (Multiskan MS 352, Labsystems, Helsinki, Finlandia). Los resultados se expresan en mg de proteína.

8.1.5 Análisis estadístico de los datos de los indicadores de estrés oxidativo

Los resultados de los análisis de actividad enzimática por especie, por estación y por estrato de profundidad se hicieron con los paquetes Systat 11 y Pcord 4.41. Con el programa Systat 11, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar la normalidad de los datos de los distintos indicadores de estrés oxidativo, y la prueba de Levene para ver si las variancias eran homogéneas. Se realizaron distintas transformaciones de datos [Log(x+C), Log(C-x), x⁻¹, x², arcsin(x), arccos(x)] para intentar cumplir los requisitos de normalidad y la homogeneidad de las variancias de los datos sin éxito. Por esta razón, se realizaron pruebas no-paramétricas de Kruskal-Wallis (KW) (p≤0.05), de Mann-Whitney (MW) (p≤0.05) y pruebas *post-hoc* de Dunn (p≤0.05) para encontrar diferencias significativas: (1) interespecíficas, (2) entre estaciones del año, (3) intraespecíficas (estadio de vida, sexo y fase de madurez sexual) y (4) entre profundidades de muestreo.

El programa Pcord se usó siguiendo los criterios de análisis exploratorio y multivariado de McCune *et al.* (2002). Para identificar agrupaciones de los indicadores de estrés oxidativo en función de las condiciones ambientales del GC,

se realizó un análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS, por sus siglas en inglés). Esta ordenación no-paramétrica, útil cuando los datos no son normales o continuas ya que se basa sobre distancia de los rangos, explora las relaciones lineales entre la distancia ambiental y la distancia en este caso de la magnitud de la actividad enzimática. El análisis fue realizado usando la distancia Bray-Curtis (Sørensen) con una configuración en tres ejes, 500 iteraciones, 100 corridas con los datos reales, 50 corridas aleatorias y un criterio de estabilidad de 0.000001. Las gráficas y las tablas de inestabilidad fueron examinadas para determinar el número de ejes que explican la mayor parte de la variación ayudado por el criterio de una reducción insignificante del estrés entre ejes sucesivos. La variancia explicada de cada eje está representada por el coeficiente de determinación (r^2) entre la distancia de ordenación y la distancia del espacio original. Usualmente, los dos primeros ejes explican la mayor parte de la variancia y son los que en este estudio se reportan. La orientación de los ejes de la NMDS es arbitraria entonces, la gráfica presentada fue rotada para que el primer eje se maximice con una de las variables ambientales con mayor coeficiente de correlación de Pearson y Kendall (r), que explica la mayor variancia de alguno de los ejes.

Una vez que fueron identificadas las principales variables ambientales que tienen mayor influencia sobre la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo, se realizaron algunas pruebas de hipótesis nula (H_0) usando la técnica de procedimiento permutacional de multi-respuesta (MRPP, por sus siglas en inglés) (McCune *et al.*, 2002). Por ejemplo, se probaron estadísticamente las hipótesis nulas de que no existen diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo entre las tres especies de eufáusidos y/o entre los tres cruceros oceanográficos, representativos de la temporada fría y cálida. Se realizó el análisis MRPP utilizando la distancia Bray-Curtis (Sørensen), la opción ponderadora (weighting option) $[n/\text{sum}(n)]$ y con una transformación de rango de las distancias de la matriz de variables ambientales. Al igual que la técnica multivariada de NMDS, el MRPP es no paramétrico por lo que tiene la ventaja de no requerir que los datos cumplan con los supuestos de normalidad multivariada y homogeneidad de las variancias. El MRPP proporciona el estadístico A, que es un descriptor de la homogeneidad de un grupo comparado a lo esperado con una muestra aleatoria (método de Monte Carlo). Entonces, el valor de $A=1$ (el valor más alto posible) indicaría que todos los

indicadores de estrés oxidativo son iguales dentro de los grupos de estaciones y/o profundidades predefinidos por un gradiente de una variable ambiental. Con $A=0$, la heterogeneidad de los indicadores de estrés oxidativo dentro de los grupos es igual a lo esperado por procesos aleatorios y si A tiene un valor negativo ($A<0$), eso indica que existe más heterogeneidad dentro de los grupos predefinidos que lo esperado por procesos aleatorios.

Para identificar cuales indicadores de estrés oxidativo tuvieron mayor influencia en un grupo de estaciones/profundidad en particular, en las comparaciones en donde se aceptaron las hipótesis alternativas (H_a) en el análisis MRPP (diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo entre grupos) se utilizó el análisis indicador de especie (ISA por sus siglas en inglés) (McCune *et al.*, 2002). Este método se basa en la fidelidad de expresión de un indicador de estrés oxidativo en un grupo particular de estación definido por una hipótesis nula. Este análisis provee valores indicadores para cada indicador de estrés oxidativo en cada grupo de estación/profundidad ambiental. El valor del indicador más alto para cada indicador de estrés oxidativo está sometido a una prueba de significancia mediante la técnica de Monte Carlo (con 100 corridas) (Dufrene y Legendre, 1997; McCune *et al.*, 2002). El valor del indicador varía de cero (donde existe ninguna indicación) a 100 (donde existe una indicación perfecta); en este caso, la indicación perfecta significa que un indicador de estrés oxidativo esta asociado a un grupo de estación ambiental sin error.

8.2.1 Experimentos de tasa de respiración

Los experimentos de estimación de las tasas de respiración de eufáusidos se realizaron en un cuarto frío a bordo del B/O El Puma únicamente durante el crucero de enero 2007. El sistema consistió en cuatro cámaras herméticas de aproximadamente 1 L de capacidad (incluyendo una cámara control en donde no se introdujeron organismos durante la incubación) contenidas en una caja de plástico llena de agua de mar filtrada (Fig. 4A). Este sistema fue instalado en el cuarto frío del buque a una temperatura constante de $16^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

El agua fue bombeada del fondo de la caja de plástico fluyendo primero hacia un sistema de válvulas que controlaba la entrada o salida de agua de cada cámara para medir los cambios en la concentración de O₂ disuelto en relación a la cámara de control usando un oxímetro de fibra óptica (MICROX TX, PreSens GmbH, Regensburg, Alemania) (Fig. 4A). El micro-electrodo del O₂ tenía una interfase con el programa de adquisición de datos instalado en una computadora portátil (Fig. 4A). Al inicio de cada experimento, los eufáusidos fueron aclimatados por lo menos 30 minutos hasta que su tasa de consumo de O₂ era relativamente constante. Después del periodo de aclimatación se inició el registro de las concentraciones oxígeno disuelto (descripciones siguientes) de cámaras de incubación sucesivas regulando el flujo mediante las válvulas de control. Al inicio y al final de cada experimento, se estimó el flujo de agua que salía de cada cámara de respiración con una probeta de 25 mL durante un periodo de 30 segundos. Los experimentos fueron realizados con *N. simplex* y *N. difficilis* a tres concentraciones de oxígeno disuelto. La concentración de oxígeno fue reducida artificialmente para simular condiciones hipóxicas mediante la inyección de nitrógeno gaseoso.

Las concentraciones de oxígeno disuelto analizadas en este experimento fluctuaron entre 5.5 a 6.5 mg O₂ L⁻¹, entre 4.5 a 5 mg O₂ L⁻¹ y entre 3 a 3.5 mg O₂ L⁻¹. En general, fue difícil mantener a bordo del buque una concentración de O₂ disuelto menor de 3 mg O₂ L⁻¹ debido al intercambio gaseoso que ocurre en la interfase agua-atmósfera. La concentración de O₂ disuelto del agua de la salida fue medida al menos en tres ocasiones por experimento para cada una de las cámaras (experimentales y control) (Fig. 4B). Al finalizar, los eufáusidos fueron lavados con agua destilada, congelados por grupos de cámara de incubación en un contenedor de nitrógeno líquido y posteriormente transferidos a un congelador a -80 ° C hasta su análisis en laboratorio.

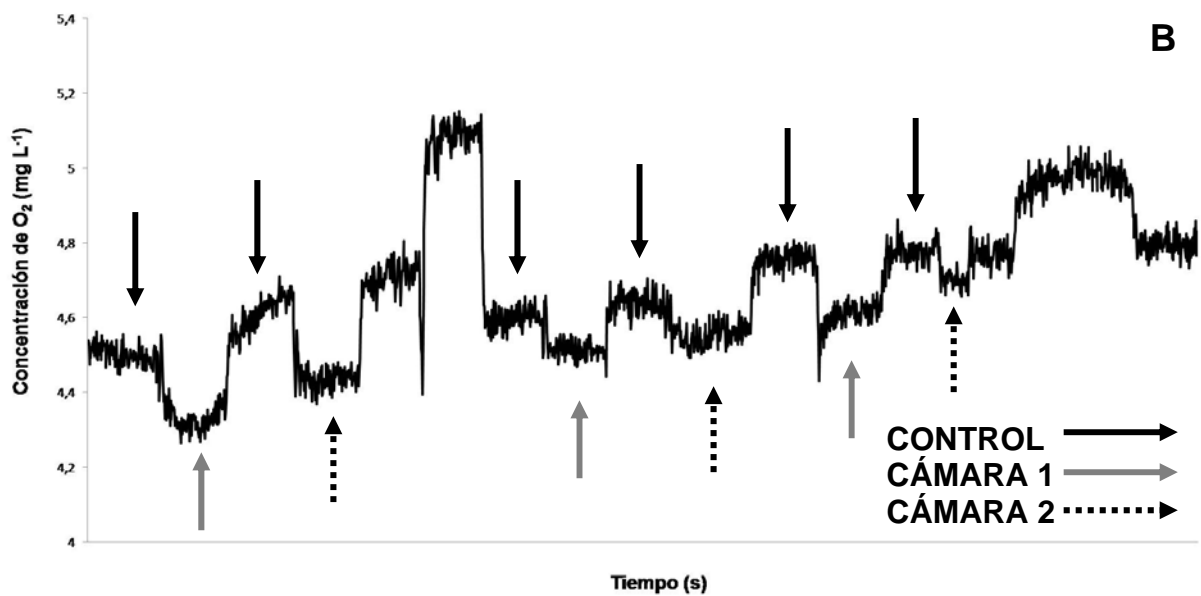
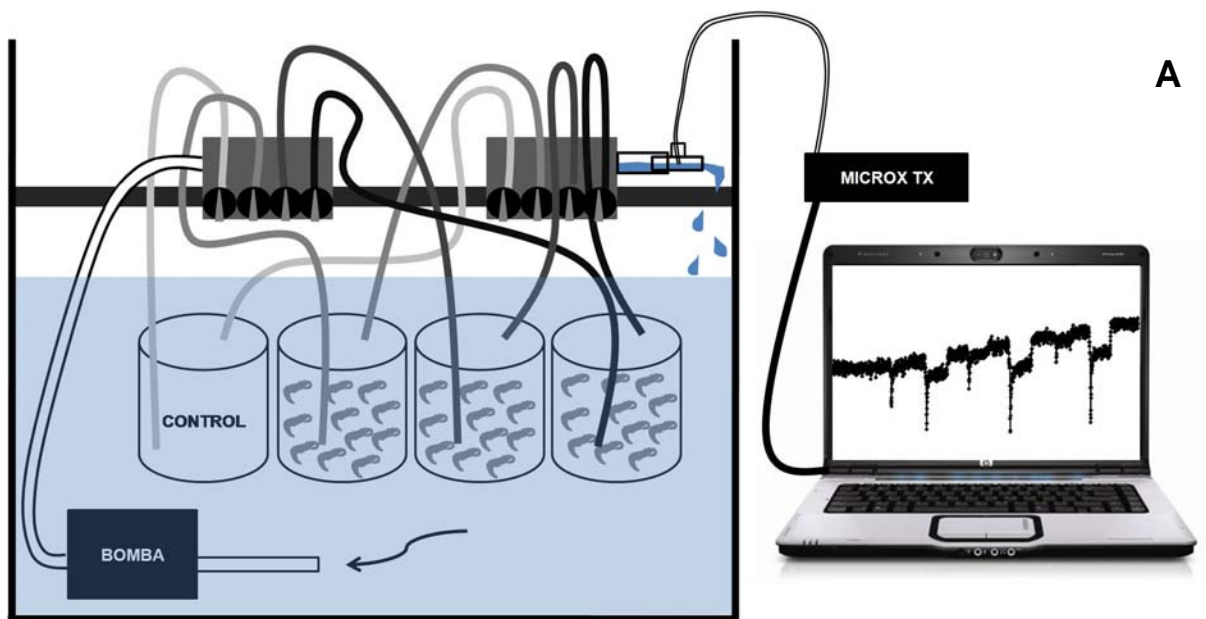


Figura 4. (A) Sistema de incubación utilizado para estimar la tasa de respiración de los eufáusidos mediante un sensor Microx TX de alta sensibilidad continuo y (B) ejemplo de lecturas efectuadas por el sensor en función de tiempo controlando el flujo de cada cámara (incluida la cámara de control).

Al finalizar el crucero de enero 2007, se estimó el peso seco de los eufáusidos de cada cámara de incubación restando el peso inicial del platillo de aluminio vacío del peso de los eufáusidos secados en una mufla a 50°C durante 48 h utilizando el mismo platillo. La tasa de respiración de los eufáusidos de cada cámara fue calculada de la siguiente forma:

$$TR = \frac{O_2 \text{ consumido} \times F}{PS}$$

Donde TR = tasa de respiración de los eufáusidos expresado en mg O₂ g⁻¹h⁻¹, O₂ consumido = volumen de oxígeno consumido estimado como la diferencia de la concentración promedio de oxígeno de las cámaras con eufáusidos y la cámara de control expresado en mg O₂ L⁻¹, F = flujo del agua (L h⁻¹) y PS = Peso seco de los eufáusidos de cada cámara de incubación expresado en gramos.

8.2.2 Análisis estadístico de los datos de tasa de respiración

Se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov (KS) para verificar la normalidad de los datos de la tasa de respiración de cada especie y la prueba de Levene para ver si las variancias eran homogéneas. Al cumplir con estas dos condiciones (*N. simplex*: p=0.462 para KS y p=0.027 para Levene; *N. difficilis*: p=0.663 para KS y p=0.033 para Levene), se realizó una regresión lineal para cada especie para definir la tasa de respiración en función de la concentración de O₂ disuelto. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para probar si existían diferencias significativas entre las tasas de respiración de *N. simplex* y de *N. difficilis*.

9. Resultados

Las variables ambientales y los indicadores de estrés oxidativo de los tres cruceros fueron divididos en dos temporadas: fría (enero 2007) y cálida (julio y octubre 2007), de acuerdo con la literatura del GC que caracteriza condiciones frías

de diciembre a mayo y condiciones cálidas de julio a octubre (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Hidalgo-González y Alvarez-Borrego, 2000, 2004).

9.1 Condiciones ambientales

Las condiciones oceanográficas superficiales (temperatura, oxígeno disuelto, y chl-a) del GC de enero y julio 2007 son presentadas en las figuras 5 y 6. De la comparación de ambas figuras, se observa que la temperatura superficial fue considerablemente más elevada en julio (~24 a 30°C) con pronunciado gradiente longitudinal a lo largo de la costa peninsular que en enero (~14 a 18°C) cuando el área de estudio tuvo una distribución de la temperatura más homogénea. En las dos temporadas, la región más fría fue alrededor y al sur de las grandes islas (Figs. 5-6).

La concentración de O₂ disuelto subsuperficial (Fig. 5) fue más baja en Julio (3.5-5.5 mg O₂ L⁻¹) que en Enero (4.5-7 mg O₂ L⁻¹) 2007, particularmente al norte del GC. En general, las regiones donde se registraron las menores concentraciones de O₂ disuelto coinciden con las regiones con concentraciones más altas de chl-a (alrededor de la isla Angel de la Guardia y frente a Bahía Concepción) (Fig. 5) posiblemente asociadas con eventos de surgencia. La concentración de chl-a fue más baja en julio (0.1-0.2 mg chl-a m⁻³) que en enero (0.1-0.4 mg chl-a m⁻³) (Figs. 5-6). En enero también se encontraron altas concentraciones de chl-a en el centro del GC (Fig. 5). En general, la temperatura y el O₂ disuelto fue más homogéneo superficialmente en enero que en julio (Figs. 5-6). En las imágenes de satélite de julio (Fig. 6) se pueden observar procesos de mesoescala intensos caracterizados por giros en el Alto Golfo y frente a la isla del Carmen.

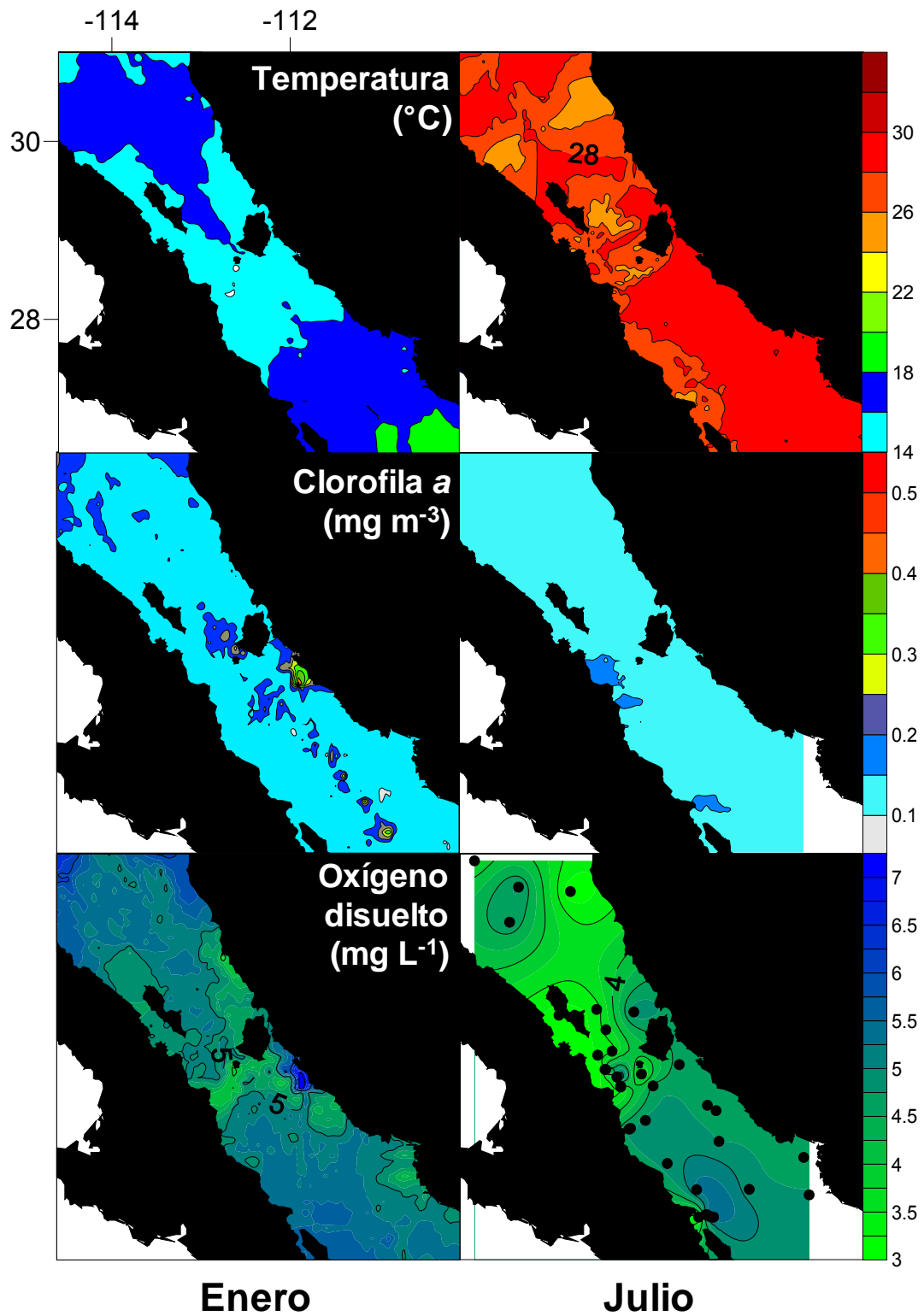


Figura 5. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), clorofila a (mg m^{-3}) y oxígeno disuelto (mg L^{-1}) a 4 m de profundidad del Golfo de la California durante los cruces oceanográficos de enero (izquierda) y julio (derecha) del 2007. Todas las variables fueron registradas continuamente (cada 5 segundos) a lo largo del derrotero del B/O El Puma excepto la concentración de oxígeno disuelto de Julio, cuyos datos provienen del CTD.

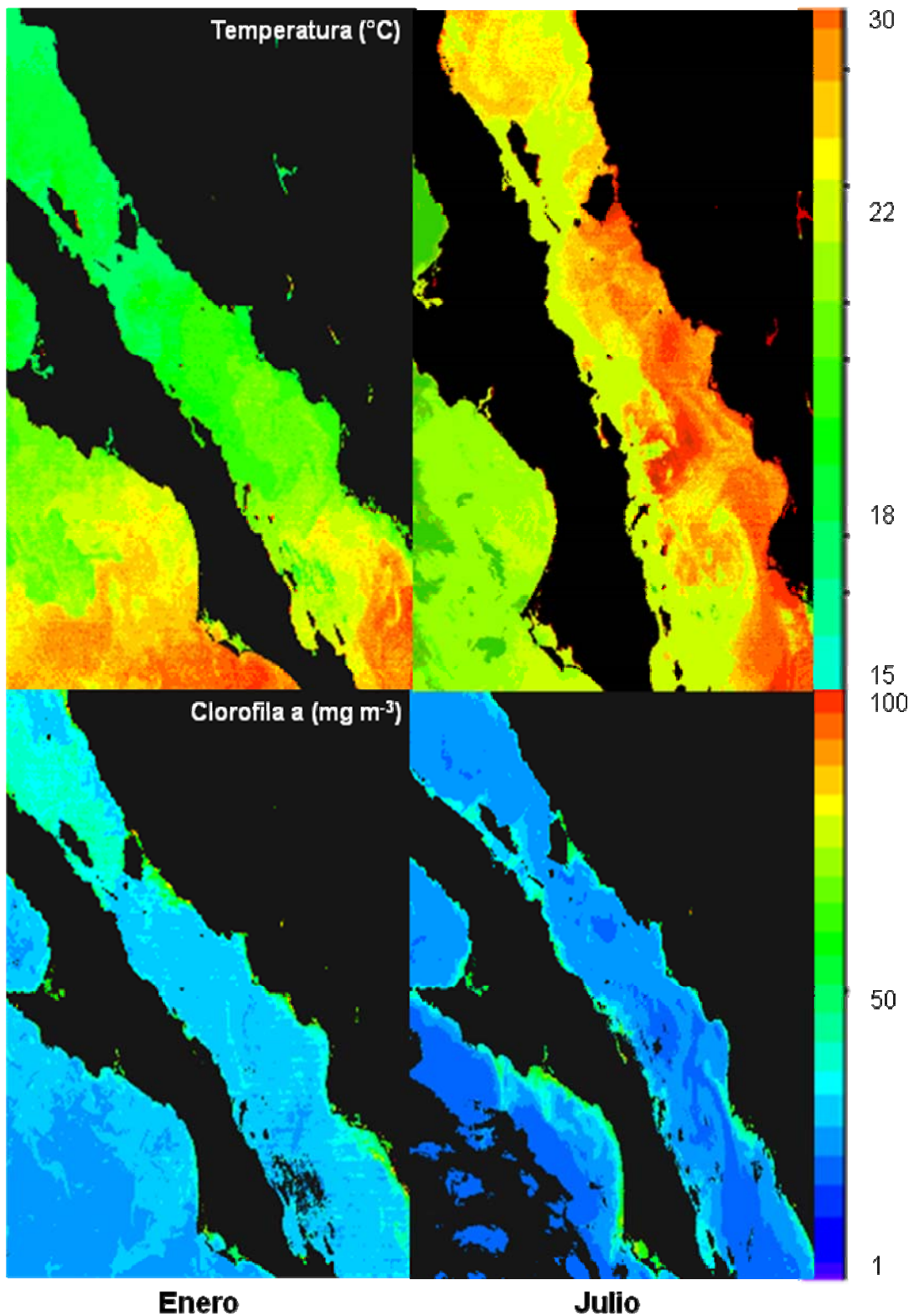


Figura 6. Imágenes de satélite (Colorado Center for Astrodynamics Research y National Atmospheric Space Administration (NASA) SeaWiFS) de temperatura (°C) y concentración de clorofila a (mg m⁻³) del Golfo de California al momento que se hicieron los cruceros oceanográficos de enero (izquierda) y de julio (derecha) del 2007.

El diagrama temperatura-salinidad (TS) de la figura 7 provee una perspectiva general de los cambios temporales de masas de agua que ocurrieron a lo largo de la columna de agua durante los tres cruceros en 2007. En enero, en los primeros ~120 m predominaron masas de agua del GC (AGC); en estratos más profundos se registró la masa de agua subsuperficial ecuatorial (AsSsT) posiblemente característica de la zona hipoxica, y en estratos cercanos a los 200 m se detectó la masa de agua intermedia del Pacífico (AIP), considerada como una masa de agua con condiciones completamente hipóxicas (Fig. 7).

En julio, se observaron en los primeros 150 m aguas más cálidos y menos salinos que en enero (predominantemente características del AGC) y por debajo de este estrato con menor proporción AsSsT, en julio virtualmente no se detectó la masa de AIP (Fig. 7). En las estaciones que bordean la costa sureste del GC se encontró agua superficial ecuatorial (ASE), una señal que la temporada cálida comenzó en julio del 2007.

En octubre, se encontró predominantemente ASE en los primeros 100 m caracterizada por ser cálida y poco salina (Fig. 7), en concordancia con la ubicación de las estaciones oceanográficas en la porción sur del GC y al final de la temporada cálida (Fig. 3). En este mes, también se detectó AsSsT aunque relativamente menos salada que en enero (Fig. 7). En ningún crucero se observó agua de la corriente de California (ACC) ni agua profunda del Pacífico (APP) (Fig. 7).

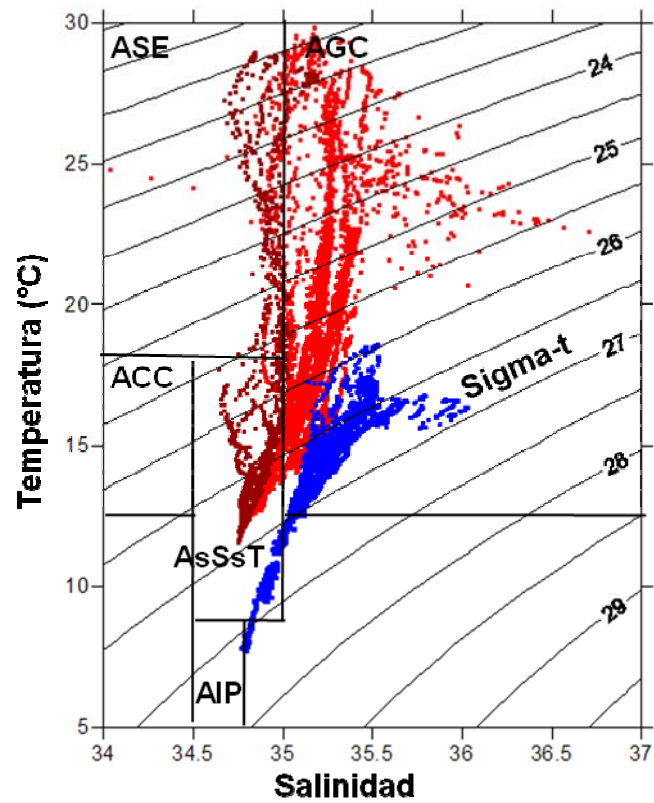


Figura 7. Diagrama de temperatura y salinidad (TS) para definir las masas de agua a partir de lances de CTD (hasta 200 m) en el Golfo de California por mes de muestreo: enero (azul), julio (rojo claro) y de las estaciones donde se obtuvieron muestras bioquímicas en octubre (rojo oscuro) del 2007. ASE = Agua superficial ecuatorial, AGC = Agua del Golfo de California, ACC = Agua de la corriente de California, AsSsT = Agua subsuperficial subtropical, AIP = Agua intermedia del Pacífico, APP = Agua profunda del Pacífico. Clasificación de masas de agua definidas según criterio de Torres-Orozco (1993).

Las figuras 8 a 10 presentan la estructura y las características ambientales a través de la columna de agua útiles para la interpretación de los resultados de los indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos. Las figuras muestran para las dos temporadas (fría y cálida) el porcentaje de saturación de O₂ a 50, 100 y 200 m de profundidad (Fig. 8), la profundidad de CMO definida por concentraciones >1.5 mg O₂ L⁻¹ (Fig. 9), y grosor de la capa de mezcla definida como el estrato ubicado por encima de la termoclina (profundidad de máximo gradiente por metro) (Fig. 10).

En enero, se observó un porcentaje de saturación en oxígeno (%O₂) de ~55 a 75% a 50 m de profundidad en casi todo el GC (Fig. 8). Los %O₂ más bajos a esta profundidad se encontraron alrededor de las grandes islas (Fig. 8). En julio, en el mismo estrato se detectaron %O₂ comparativamente bajos en casi todo el GC (~30 a 40%) siendo las regiones con temperaturas más bajas alrededor de las grandes islas, lo que confirma que en esta zona ocurrió surgencia (Fig. 8). A 100 m, todavía se detectaron %O₂ elevados a lo largo de la costa peninsular en enero, donde la CMO y la capa de mezcla fueron relativamente más profundas (~ 250 y 150 m respectivamente) (Figs. 9 y 10). Se observaron también condiciones limitantes de hipoxia en la región de la cuenca de Guaymas (Fig. 8) que coinciden con una CMO y capa de mezcla más someras (Figs. 9 y 10).

En julio, las condiciones de %O₂ son similares a las que se encontraron a 50 m, excepto que se detecta también una zona sumamente hipóxica a lo largo de la costa continental sur (Fig. 8). Las profundidades de la CMO y de la capa de mezcla en julio fueron significativamente más someras que en enero (MW, p=0.006) (Figs. 9 y 10).

En ambas temporadas, la zona de hipoxia se extiende hasta la mitad del GC en el estrato de 200 m de profundidad, particularmente cerca de la costa continental en enero y en ambos lados del GC en julio (Fig. 8). Esta extensión de la cobertura de la zona hipoxica dió lugar a una zona con condiciones anóxicas que se ubica en el centro en enero y a lo largo de la costa de Sonora en julio (Fig. 8). En ambas temporadas se registraron condiciones hipóxicas a 100 m y condiciones anóxicas a 200 m que varían espacio-temporalmente.

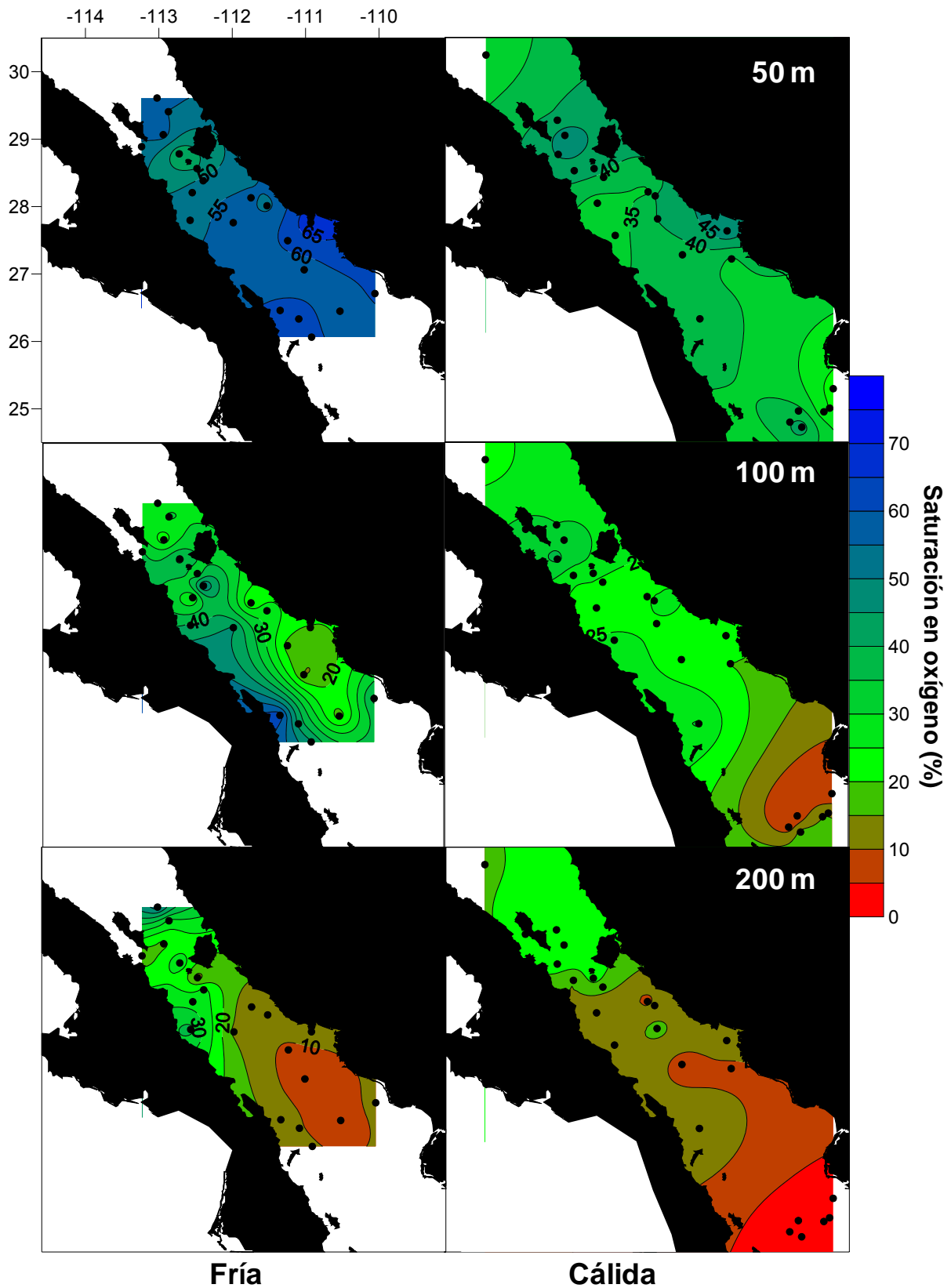


Figura 8. Porcentaje de saturación de oxígeno (%O₂) en el Golfo de California registrado con un sensor YSI en botellas Niskin estratificadas durante la temporada fría (izquierda) (enero) y con un oxímetro Seabird fijado en el CTD durante la temporada cálida (derecha) (julio y octubre) del 2007.

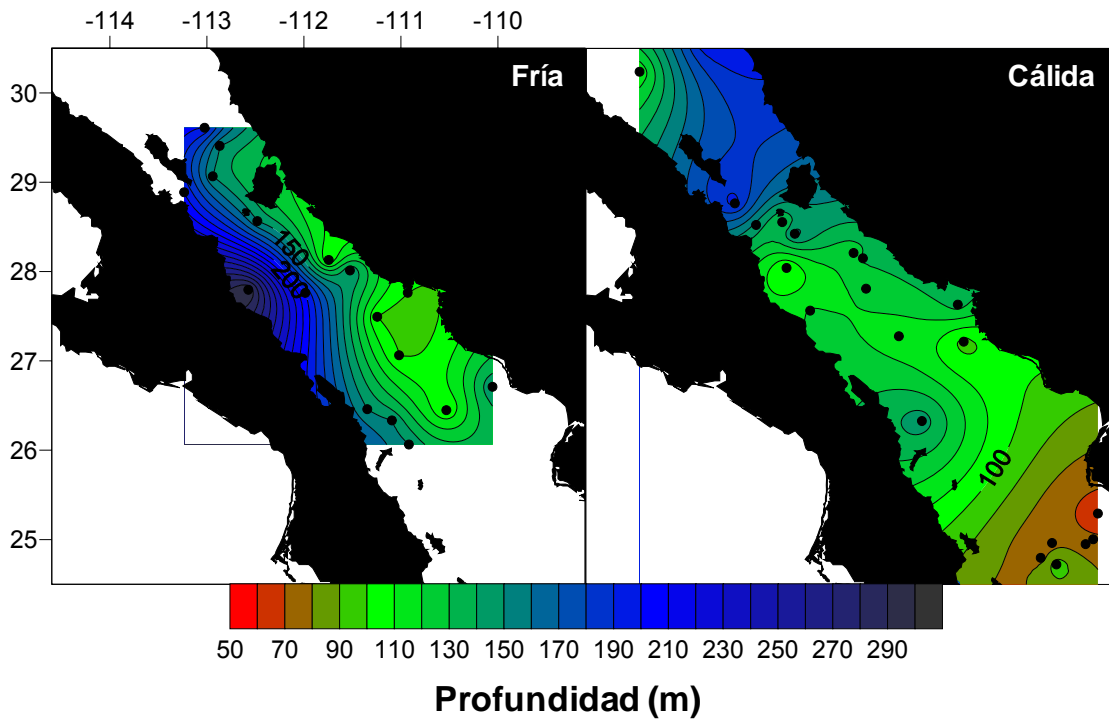


Figura 9. Profundidad (m) de la capa mínima de oxígeno (CMO) que corresponde a una concentración $\leq 1.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ en el Golfo de California durante la temporada fría (izquierda) (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) (derecha) del 2007.

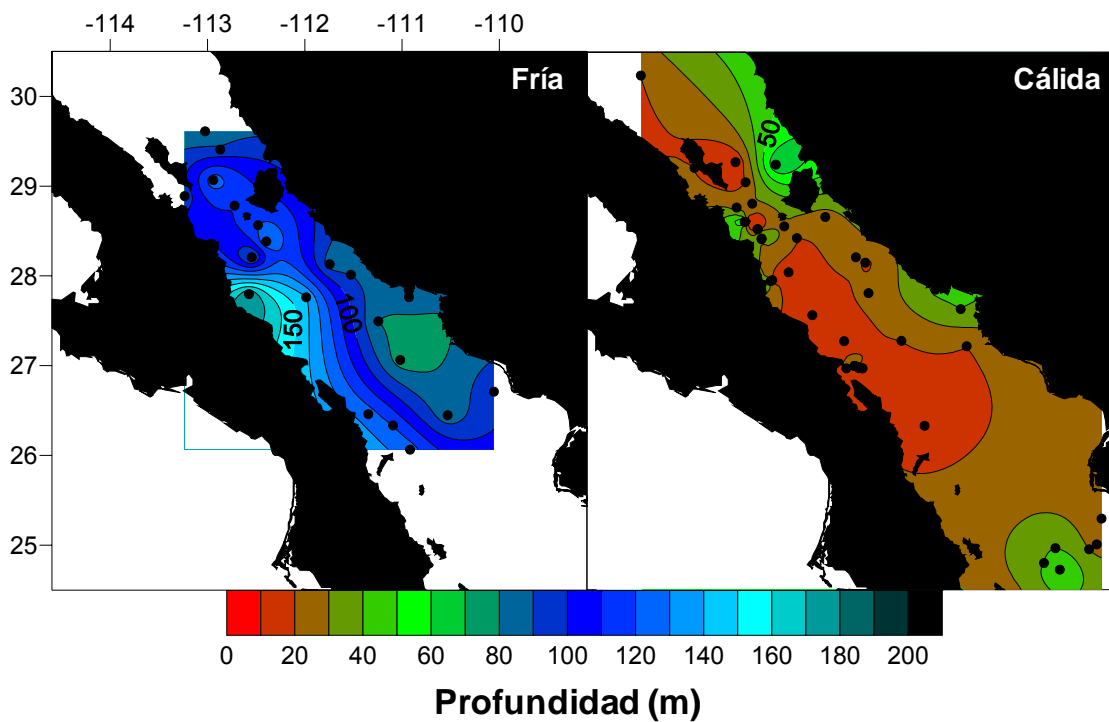


Figura 10. Profundidad (m) de la capa de mezcla (grosor del estrato por encima de la termocline) en el Golfo de California durante la temporada fría (izquierda) (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) (derecha) del 2007.

9.2 Distribución y abundancia horizontal de los eufáusidos

Las figuras 11 y 12 presentan los patrones de distribución y abundancia estandarizados de juveniles y adultos de las tres especies recolectadas con la red Bongo en enero y julio del 2007. Durante las dos temporadas, *N. simplex* fue la especie numéricamente más abundante y de distribución más amplia (Figs. 11 y 12). En enero, *N. simplex* se distribuyó en gran abundancia al norte del GC, al sur de las grandes islas y alrededor de las islas pequeñas entre la isla del Carmen y la isla San José (Fig. 11). En la cuenca de Guaymas, donde la CMO estaba más somera, no se observó ningún adulto de *N. simplex*, pero si fueron encontrados juveniles en abundancia relativamente conspicua (Fig. 11). En julio, la distribución de *N. simplex* se concentró principalmente en la zona más profunda del norte del GC y al sur de las grandes islas (Fig. 12). Al sur de las grandes islas, juveniles y adultos se concentraron a lo largo de la costa peninsular hasta Bahía Concepción (Fig. 12). Se encontraron igualmente juveniles al sur de la isla Tiburón, en la Bahía Kino.

Los juveniles y adultos de *N. difficilis* fueron abundantes en enero en la región de las grandes islas y a lo largo de la costa de Sonora (Fig. 11). Se recolectaron adultos y juveniles alrededor de la cuenca de Guaymas en densidades mayores que *N. simplex*. Las concentraciones mayores de *N. difficilis* se encontraron alrededor de las islas pequeñas entre la isla del Carmen y la isla San José, en el mismo lugar que *N. simplex* (Fig. 11). En enero, a diferencia de *N. simplex*, se recolectaron muchos adultos de *N. difficilis* frente a Bahía Concepción (Fig. 11). En julio, *N. difficilis* tenía una abundancia comparativamente menor que en enero, particularmente al sur de las grandes islas (Fig. 12). A lo largo del canal de ballenas hasta el sur de Bahía los Ángeles *N. difficilis* fue más abundante, pero en menor densidad que *N. simplex* durante la misma temporada (Fig. 12). Por último, *E. eximia* fue la especie comparativamente menos abundante y dispersa en los cruceros de enero y julio 2007 (Figs. 11 y 12). Sin embargo, se encontró una mayor abundancia de ésta especie en el crucero de octubre, donde dominaron las especies tropicales. Los eufáusidos de las muestras de este crucero no fueron todavía separados e identificados y entonces no son presentados en este estudio.

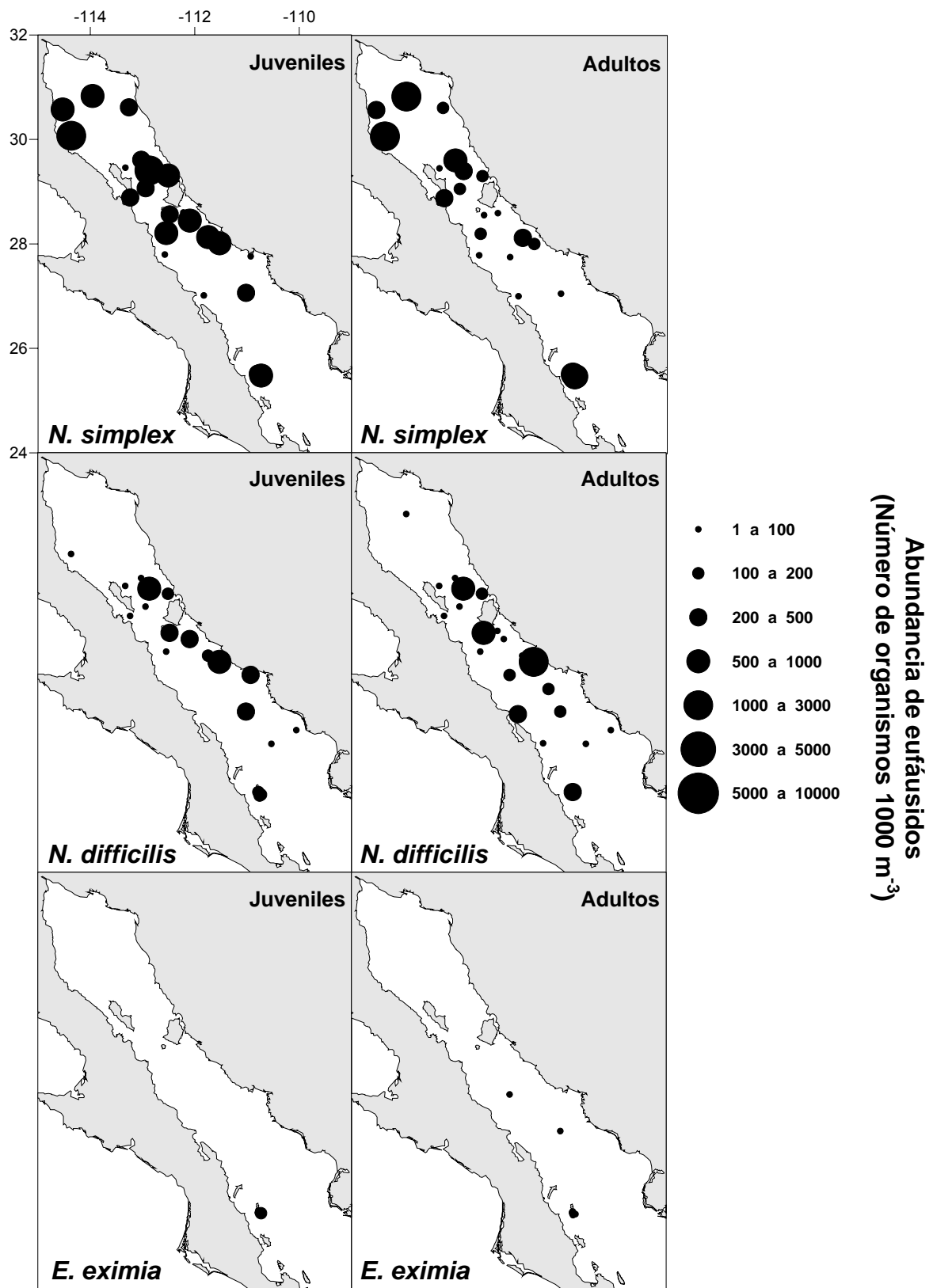


Figura 11. Distribución y abundancia de juveniles y adultos de *N. Simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados con la red bongo en enero del 2007.

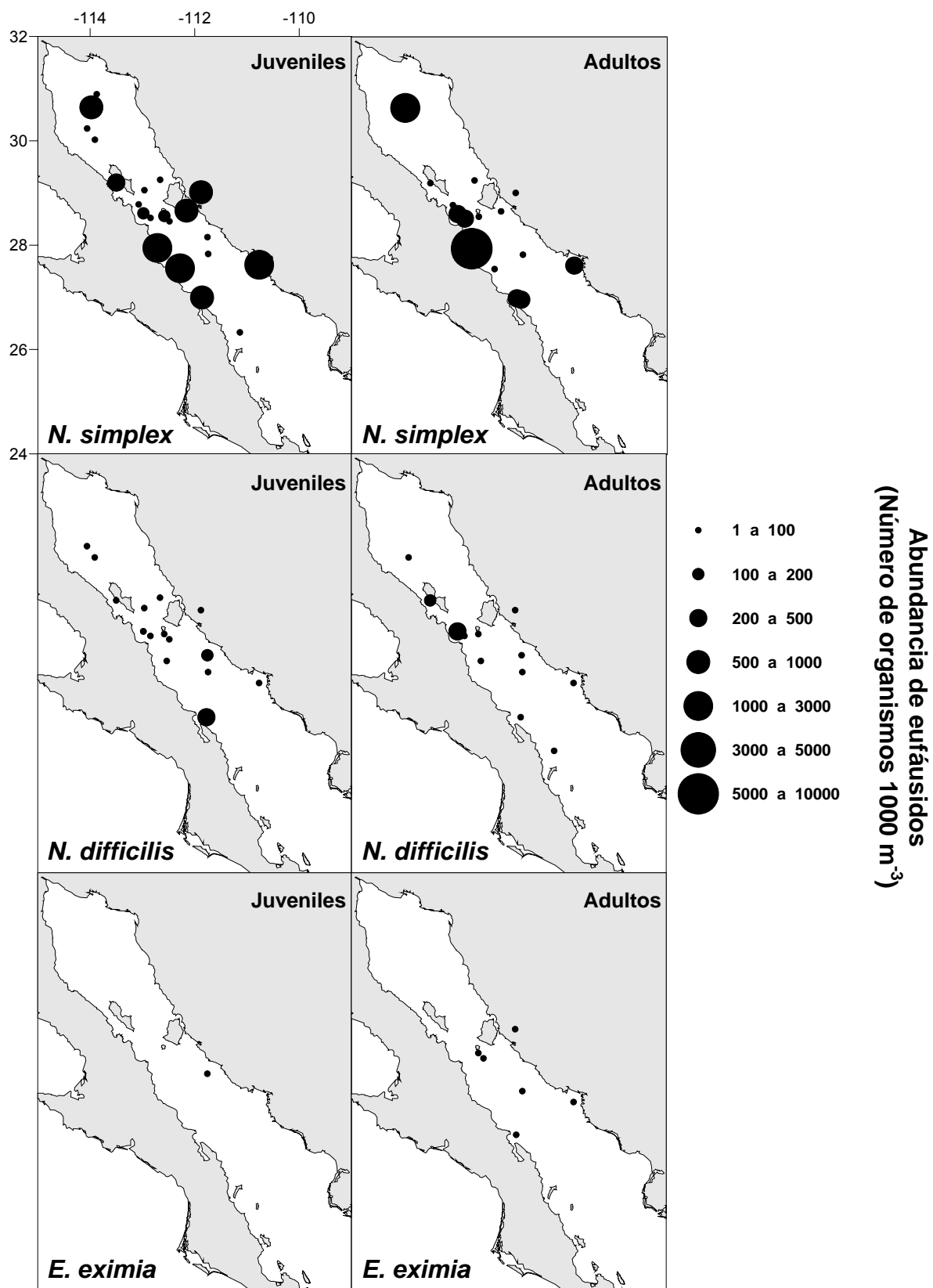


Figura 12. Distribución y abundancia de juveniles y adultos de *N. Simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados con la red bongo en julio del 2007.

9.3 Distribución y abundancia vertical de los eufáusidos

Las figuras 13 y 14 presentan la distribución y abundancia vertical (organismos 1000 m^{-3}) en enero y julio del 2007 de los eufáusidos (juveniles y adultos) en función de la hora del muestreo. En enero, *N. simplex* se encontró en densidades considerables (de 100 a 250 org. 1000 m^{-3} para los adultos) principalmente cerca de la superficie, tanto de día como de noche (Fig. 13). Los juveniles de esta especie se concentraron superficialmente al amanecer para bajar hasta 25 m entre las 10 y 11 horas (Fig. 13). No se encontró gran abundancia de juveniles en los arrastres que se realizaron entre las 16 y 4 horas (Fig. 13). Los adultos de *N. simplex* demostraron un patrón típico de migración vertical nocturna, siendo más abundantes en la superficie durante todo el periodo obscuro (Fig. 13). Sin embargo, se puede observar una densa agregación de organismos en la superficie entre las 12 y 16 horas que se caracteriza como un enjambre diurno, un comportamiento comúnmente observado en esta especie (Gendron, 1990, 1992) (Fig. 13). Se puede notar, también, una concentración importante de adultos entre 100 y 175 m que no parece estar asociado al proceso de MVD (Fig. 13). Esta concentración estuvo compuesta en proporción similar de machos y hembras no-ovígeras (datos no mostrados). En julio del 2007, se observaron densidades poblacionales de *N. simplex* de casi el doble de las observadas en enero del 2007 y una distribución vertical relativamente menos amplia que la observada en enero (Fig. 14). Los juveniles y adultos se encontraron en abundancia homogéneas (<2000 org. 1000 m^{-3}) excepto a 50 m de profundidad por debajo de la termoclina, entre las 16 y 0 horas, donde se observaron densas agregaciones (Fig. 14).

En enero, se detectaron densidades elevadas de juveniles de *N. difficilis* a 25 m de profundidad durante las horas diurnas (Fig.13). Se recolectaron juveniles a gran profundidad a partir del atardecer (Fig. 13). En esta especie, el patrón de MVD no se observa claramente porque se recolectaron adultos en gran profundidad (entre 100 y 150 m) durante la noche sugiriendo una exposición a condiciones hipóxicas tanto de día como de noche (Fig. 13). En julio, la abundancia de esta especie decreció aproximadamente a la mitad, los juveniles y adultos se concentraron en estratos más profundos (100 a 150 m) (Fig. 14).

Por último, en enero del 2007, para *E. eximia*, aunque mucho menos abundante que las otras dos especies, se pudo detectar el patrón de migración a estratos cercanos a la superficie durante la noche y estuvo casi ausente en los 200 primeros metros de profundidad en el día, sugiriendo una profundidad de MVD relativamente mayor que *N. simplex* y *N. difficilis* (Fig. 13). En julio, a pesar que existieron condiciones ambientales relativamente tropicales, *E. eximia* fue aún menos abundante que en enero; por lo tanto fue imposible detectar un patrón de distribución vertical día-noche de ésta especie (Fig. 14). Sin embargo, los adultos fueron encontrados en mayores densidades (de 16 a 20 org. 1000 m⁻³) a 150 m entre las 4 y 8h (Fig. 14).

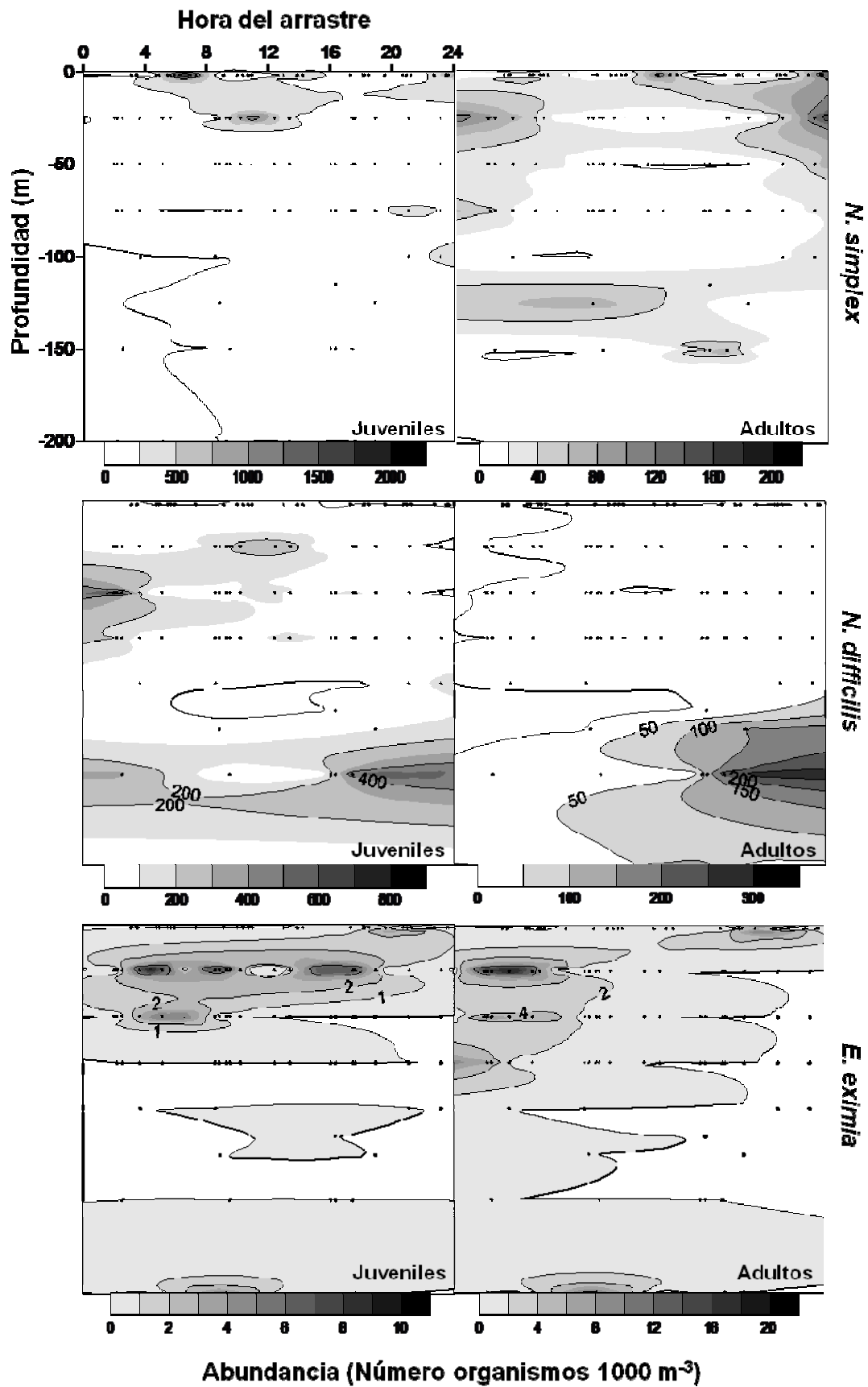


Figura 13. Distribución y abundancia vertical de juveniles y adultos de *N. Simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados con redes estratificadas en enero del 2007 según la hora del muestreo.

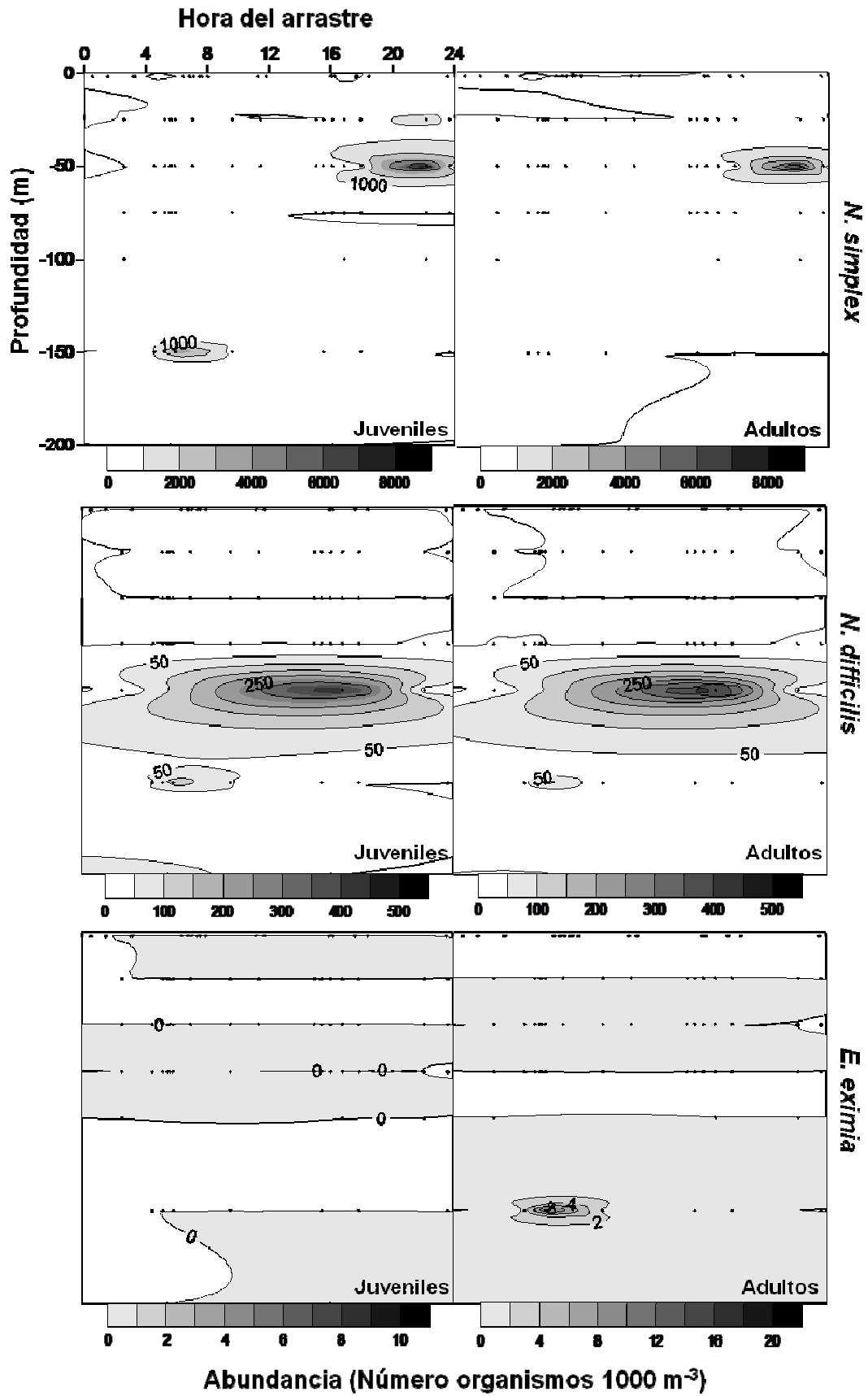


Figura 14. Distribución y abundancia vertical de juveniles y adultos de *N. Simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* recolectados con Iredes estratificadas en julio del 2007 según la hora del muestreo.

9.4 Indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos

Se presentan únicamente los resultados de la actividad de la SOD total por que no se detectó claramente la presencia de la isoenzima Cu, Zn-SOD en la mayoría de las muestras. Además, la Mn-SOD mostró la misma tendencia que la SOD total, por lo que no fue necesario de graficar y comparar separadamente la actividad de las isoenzimas de la SOD.

Todas las figuras son valores promedios con su error estándar, aunque la comparación estadística se realizó en función de la mediana con la técnica no paramétrica Mann-Whitney (MW) cuando la comparación fue entre dos grupos, y Kruskal-Wallis (KW) cuando la comparación fue entre más de dos grupos. Los anexos (5 a 8) presentan los valores de las figuras de la sección 9.4.

9.4.1 Variación intraespecífica en función de cambios estacionales, ontogénicos y de distribución vertical

9.4.1.1 *Nyctiphanes simplex*

En las figuras 15 a 19 se presentan los resultados de los indicadores de estrés oxidativo de *N. simplex* comparando por temporada (fría vs. cálida), estadios de desarrollo y profundidades de muestreo. En la temporada cálida, *N. simplex* presentó un incremento significativo en la peroxidación de lípidos (MW, $p=0.000$) (Fig. 15-A), así como en la actividad de las enzimas antioxidantes estudiadas (MW, $p=0.000$ para las cinco enzimas) (Fig. 15) en comparación con las observadas en la temporada fría. No se encontraron diferencias significativas entre el sexo y/o estadio de desarrollo reproductivo de *N. simplex* en ninguna de las dos temporadas contrastadas (Figs. 16 y 17).

En la temporada fría, las muestras de *N. simplex* se dividieron en dos estratos de profundidad: de 0 a 50 m y de 100 a 150 m. *N. simplex* tuvo cambios no

significativos en la producción del $O_2^{\cdot-}$ con un incremento relativo de la superficie (0-50 m) a la capa más profunda (100-150 m) (MW, $p=0.057$) (Fig. 18-A). Este proceso está asociado positivamente con el incremento de la actividad de la SOD total, no significativo con la profundidad (MW, $p=0.059$) (Fig. 18-C). Los niveles de TBARS en *N. simplex* no cambiaron con la profundidad del muestreo y las otras enzimas parecen no estar influenciadas por el cambio de profundidad (Fig. 18-BDEF) en esta temporada.

Para la temporada cálida, no obtuvimos muestras para la determinación de los indicadores de estrés oxidativo de la capa superficial (0-50 m) debido a que la población pareció encontrarse usualmente en estratos más profundos y por problemas técnicos no se pudo estimar la producción del radical $O_2^{\cdot-}$ en las muestras (Fig. 19). En la temporada cálida, los estratos fueron: de 50 a 100 m y de 100 a 150 m. No se encontraron diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo entre las dos capas de profundidad (Fig. 19).

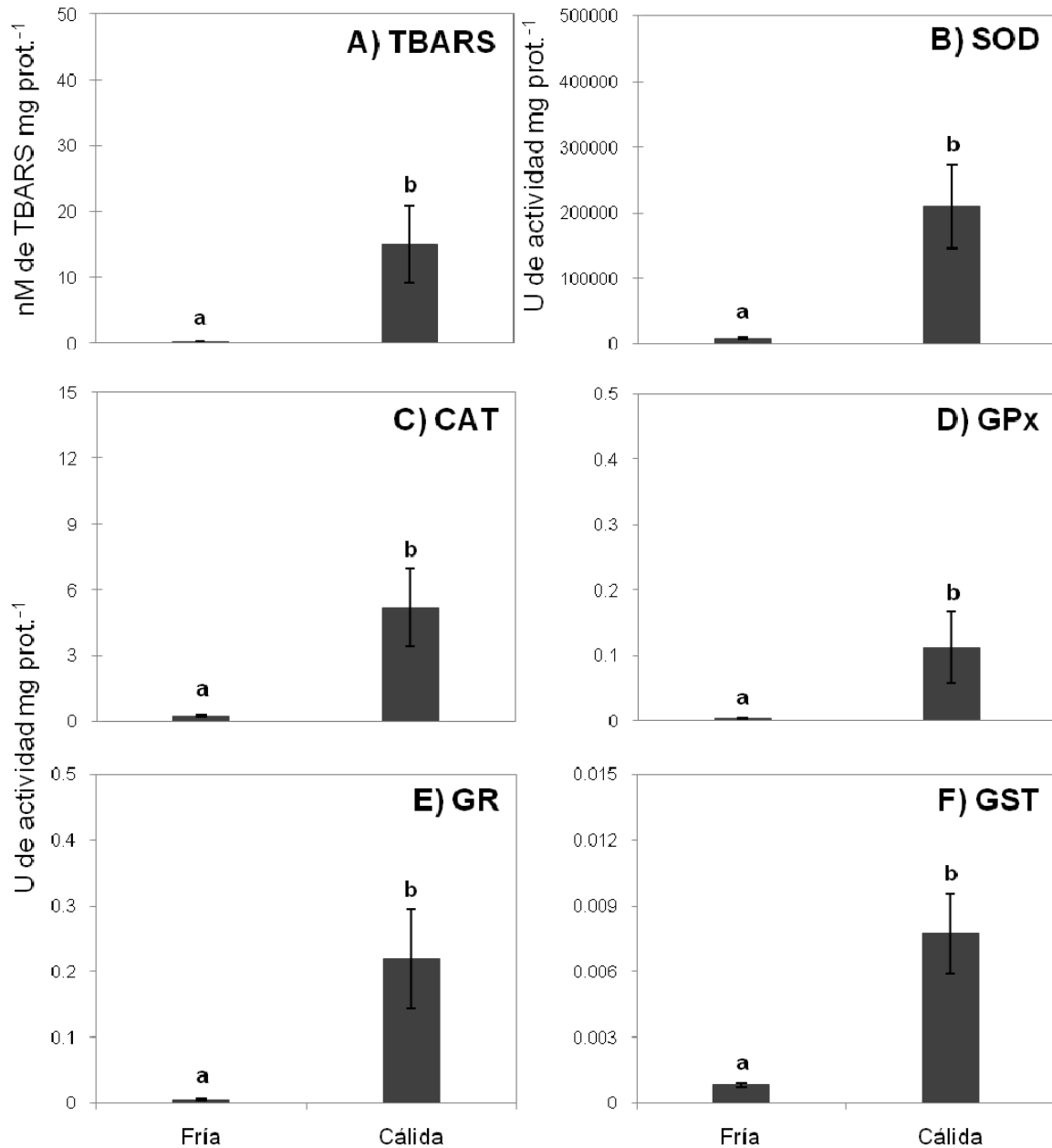


Figura 15. *N. simplex*. Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio) del 2007. Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

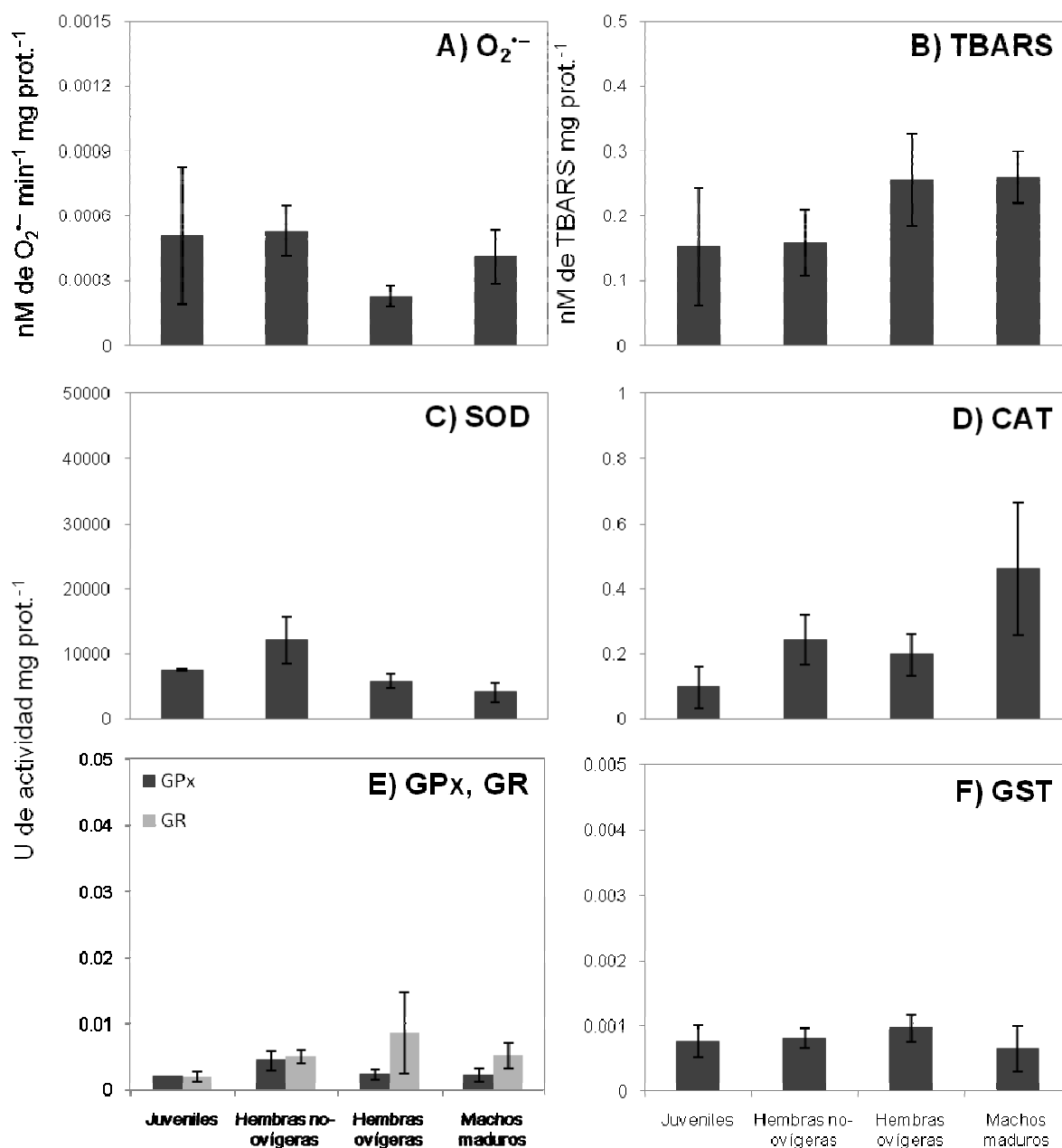


Figura 16. *N. simplex*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂^{•-}min⁻¹mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, y GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de los estadios de desarrollo reproducción y sexo durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio±error estandar.

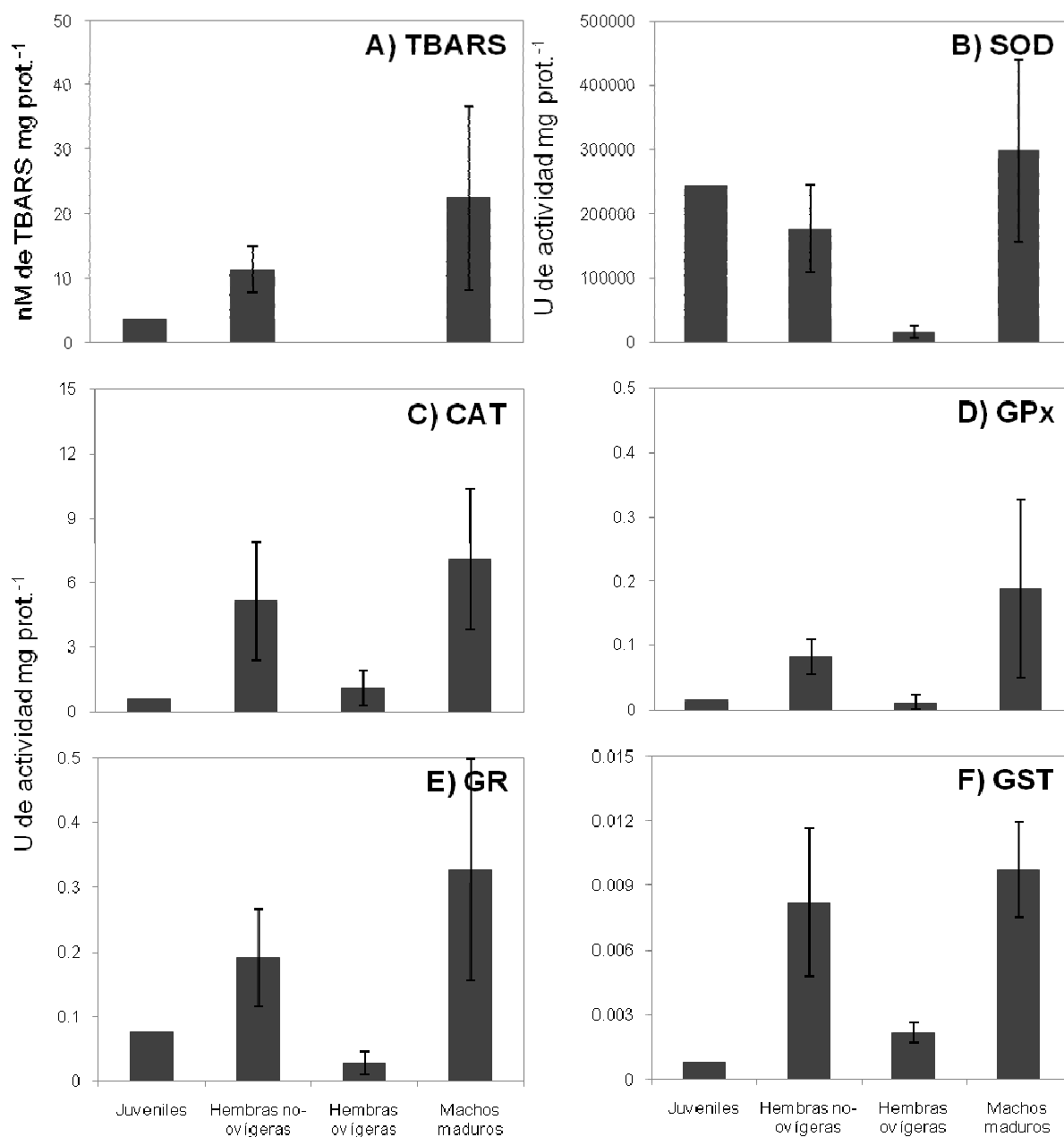


Figura 17. *N. simplex*. Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de los estadios de desarrollo reproducción y sexo durante la temporada cálida (julio 2007 del 2007). Promedio ± error estándar.

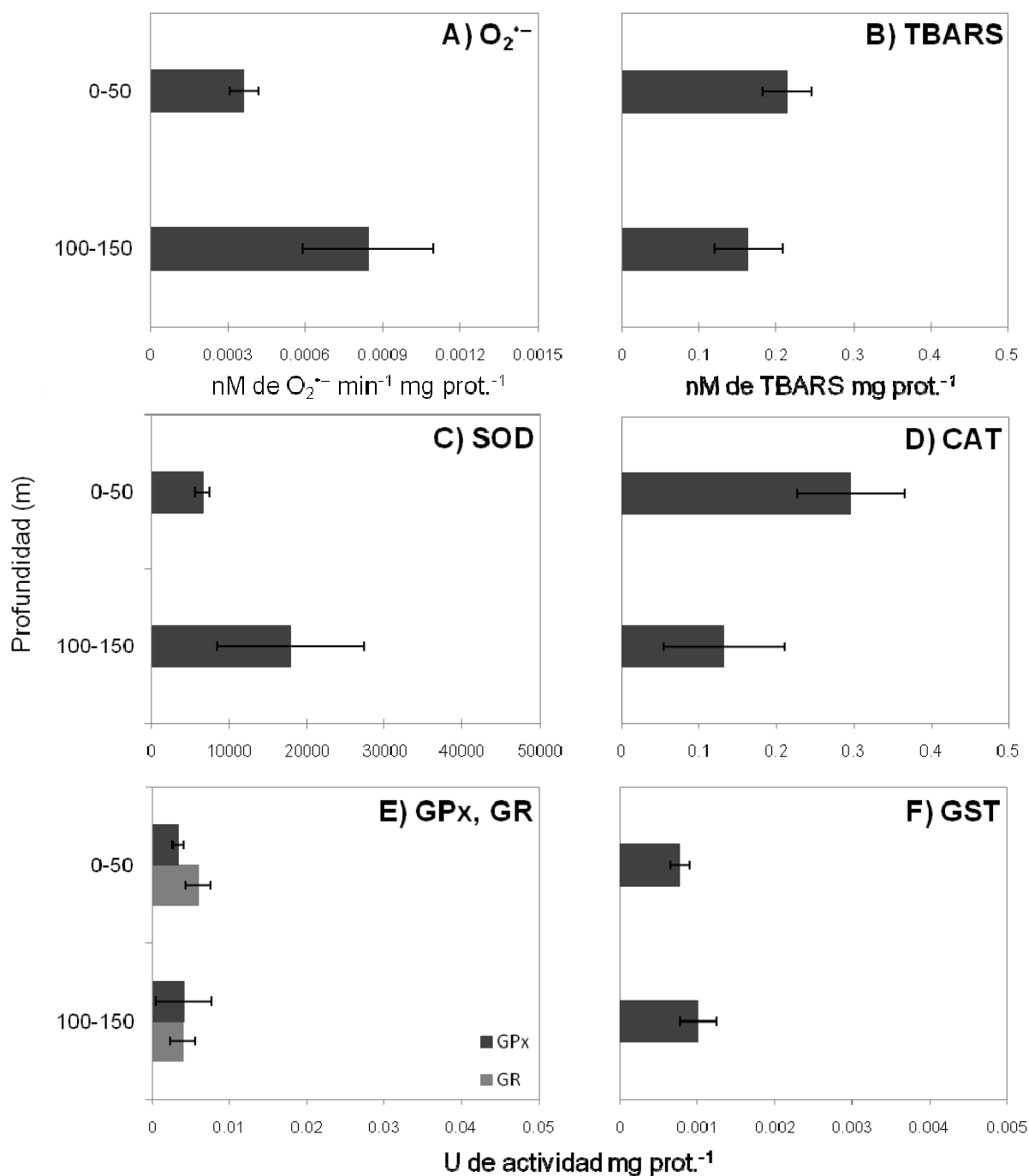


Figura 18. *N. simplex*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\bullet-}$ min^{-1} mg proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m y 100-150 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio \pm error estándar.

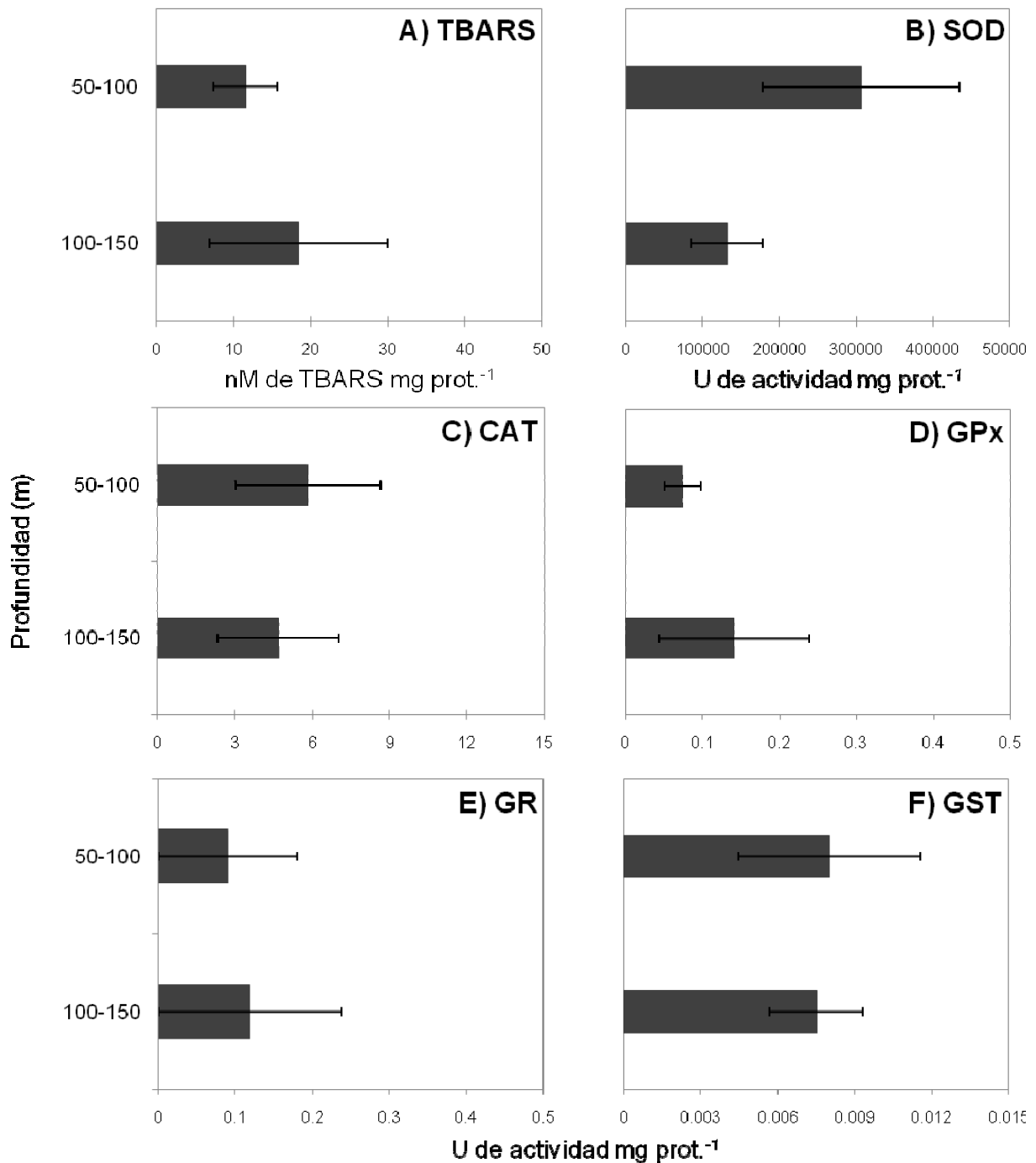


Figura 19. *N. simplex*. Valores de (A) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (B) SOD total, (C) CAT, (D) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (50-100 m y 100-150 m) durante la temporada cálida (julio 2007 del 2007). Promedio±error estandar.

9.4.1.2 *Nematoscelis difficilis*

En las figuras 20 a 23 se presentan los resultados de los indicadores de estrés oxidativo de *N. difficilis* comparando por temporada (fría vs. cálida), estadios de desarrollo por temporada y profundidades de muestreo por temporada.

La producción del $O_2^{\cdot-}$ en *N. difficilis* fue significativamente más alta durante la temporada cálida que durante la temporada fría (MW, $p=0.000$) (Fig. 20-A). Sin embargo, los niveles de TBARS fueron significativamente más elevados en temporada fría que en la temporada cálida (KW, $p=0.000$) (Fig. 20-B). La actividad de las enzimas CAT (KW, $p=0.004$) y GST (KW, $p=0.027$) fue significativamente mayor en verano que en invierno (Fig. 20-DF). La SOD-total, la GPx y la GR en *N. difficilis* no parecen tener variaciones estacionales significativas (Fig. 20-CE).

La comparación entre el sexo y/o estadio de desarrollo ontogenético ó de reproducción de *N. difficilis* se efectuó únicamente en la temporada fría debido a que durante la temporada cálida, se obtuvieron casi exclusivamente hembras no-ovígeras. No se observaron diferencias significativas en los niveles de TBARS entre adultos-juveniles y hembras no-ovígeras (Fig. 21-B). La actividad enzimática de CAT fue significativamente más alta en los machos en comparación a los juveniles (KW, $p=0.050$) (Fig. 21-D). Los machos no tuvieron una actividad significativamente más elevada de la SOD-total, GPx y GST en comparación de las hembras ó los juveniles, pero se observó una tendencia más elevada (Fig. 21-CEF).

La distribución vertical de los indicadores de estrés oxidativo en *N. difficilis* se realizó solamente con los adultos para evitar sesgos por estadio de desarrollo. Se realizaron las pruebas estadísticas comparando cuatro estratos de profundidad: 0-50, 50-100, 100-150 y 150-200 m. Durante la temporada fría, la producción del $O_2^{\cdot-}$ de *N. difficilis* fue significativamente mayor en el estrato más profundo que en el estrato de 50 a 100 m (KW, $p=0.005$) (Fig. 22-A). La actividad de las enzimas SOD-total (KW, $p=0.008$) (Fig. 21-C) y GR (KW, $p=0.031$) (Fig. 22-E) fue significativamente mayor en la capa de 100 a 150 m que en el estrato de 50 a 100 m. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de TBARS en función

de la distribución vertical de *N. difficilis* en la temporada fría. En la temporada cálida, no se encontraron diferencias significativas de ninguno de los indicadores de estrés oxidativo entre los cuatro estratos de profundidad comparados (Fig. 23).

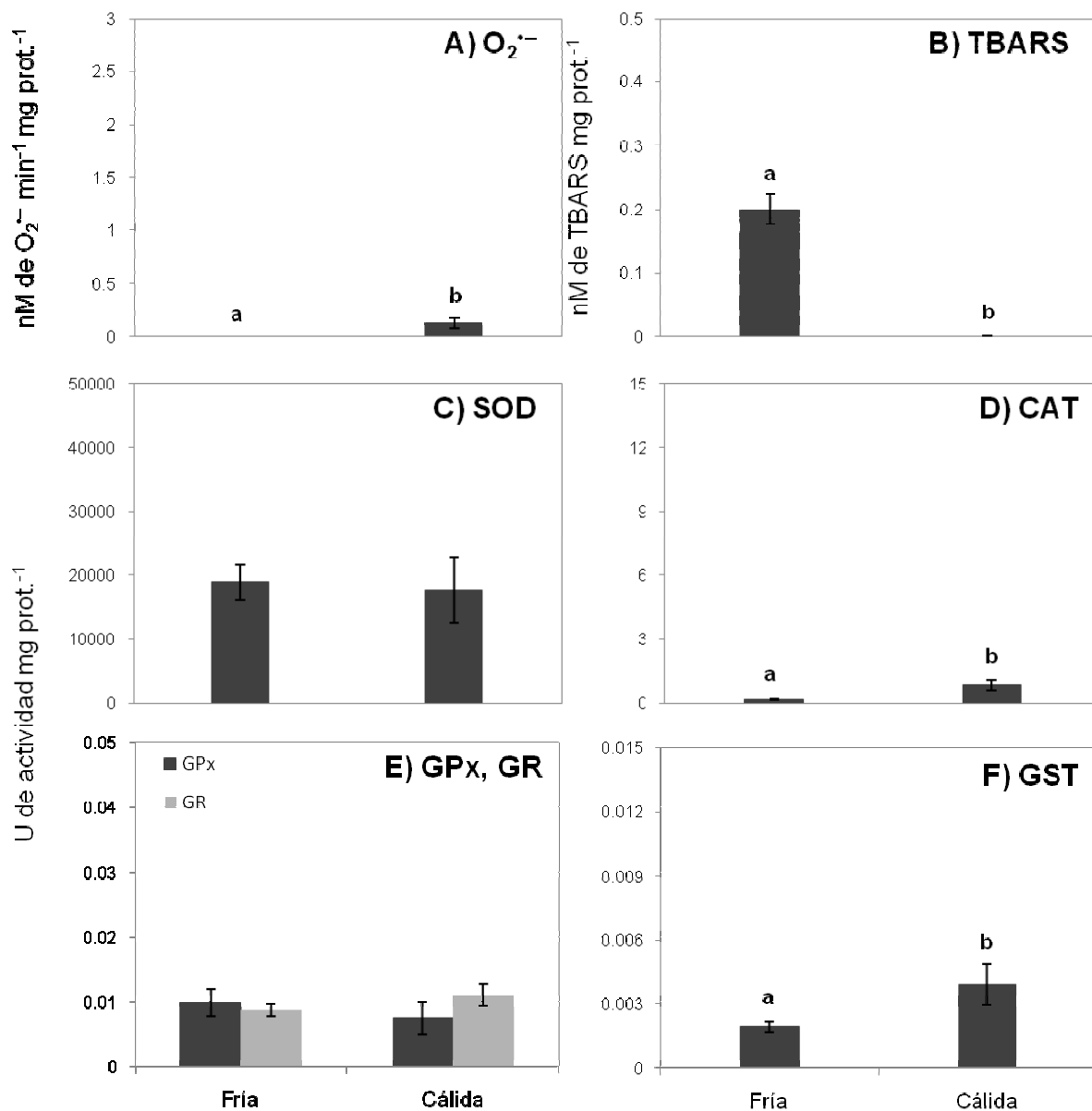


Figura 20. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min $^{-1}$ mg proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (julio y octubre) del 2007. Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

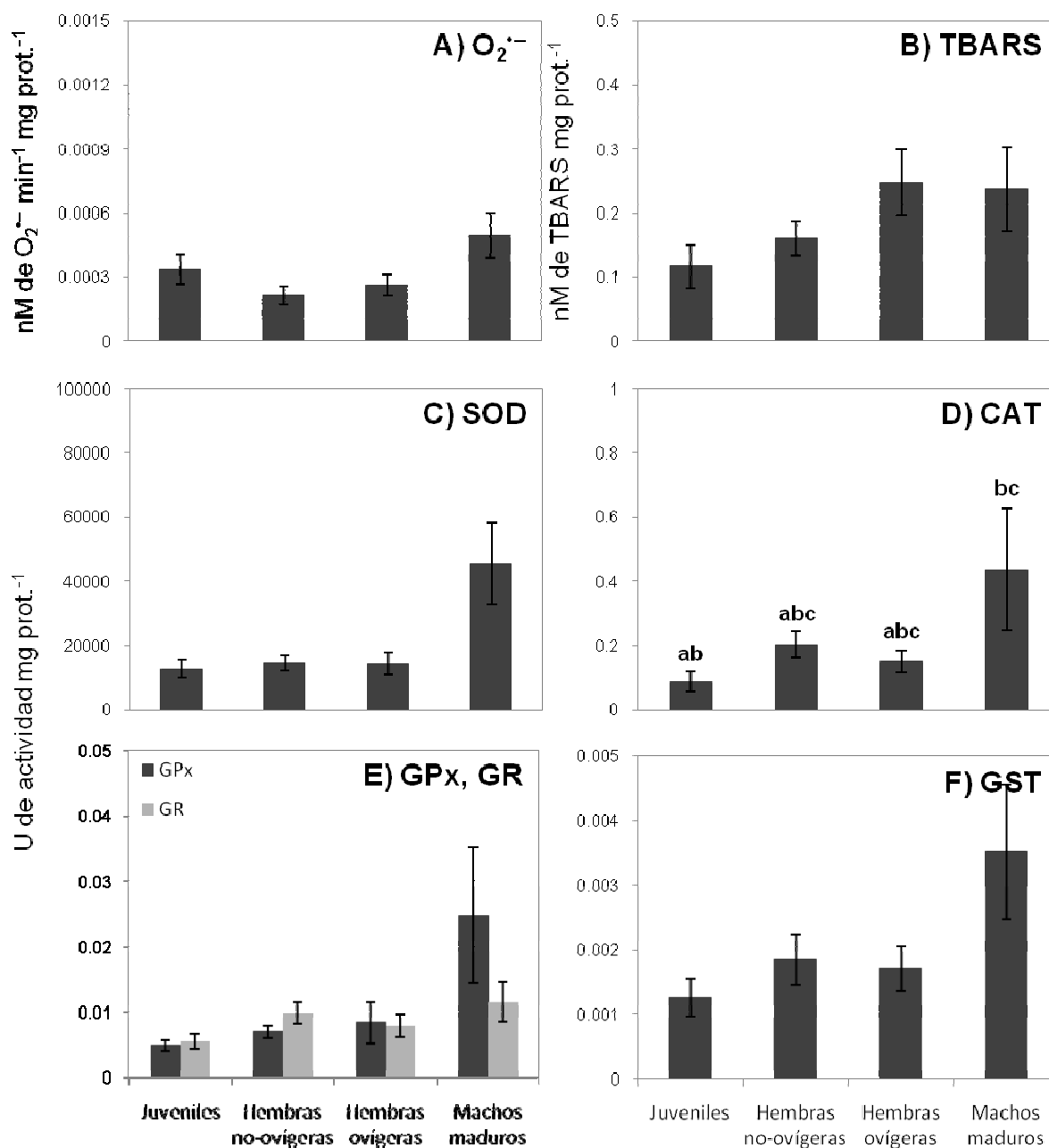


Figura 21. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, y GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de los estadios de desarrollo-reproducción y sexo durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

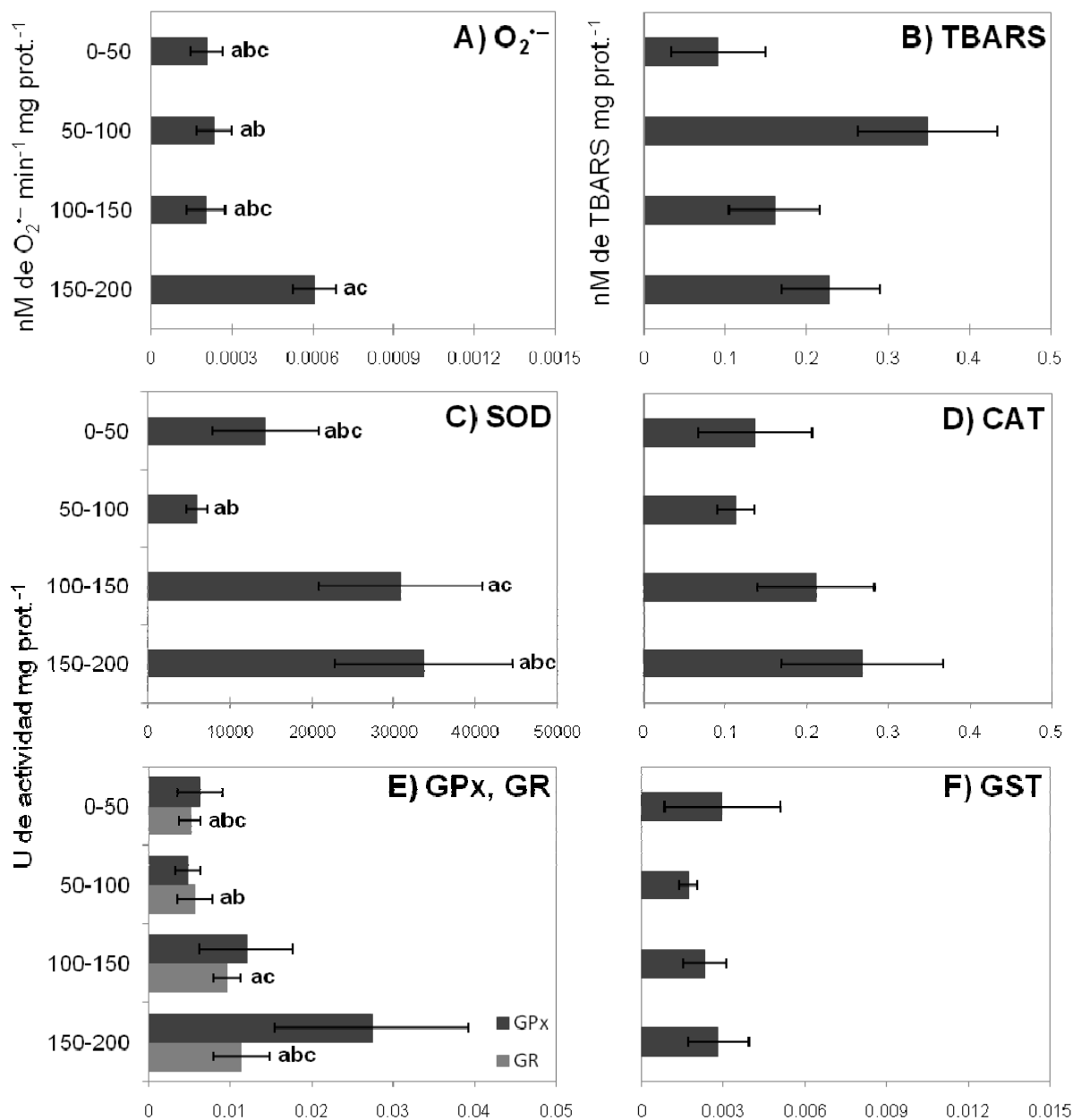


Figura 22. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m, 100-150 m y 150-200 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

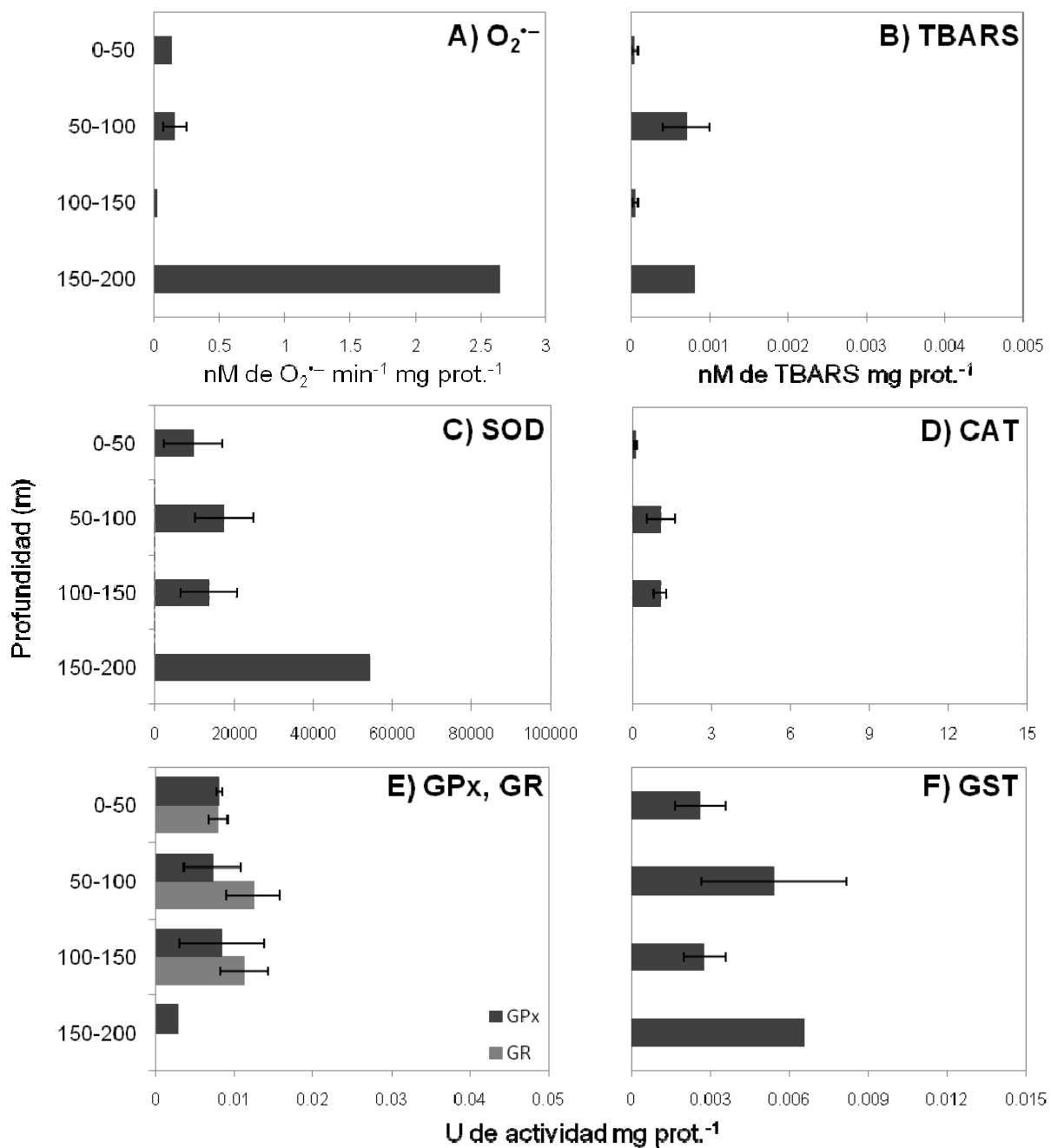


Figura 23. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\bullet-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m, 100-150 m y 150-200 m) durante la temporada cálida (julio y octubre del 2007). Promedio ± error estándar.

En enero 2007, se obtuvo un número suficiente de muestras de *N. difficilis* para hacer la comparación espacial de los indicadores de estrés oxidativo entre tres estaciones. En la figura 24, se presenta la ubicación geográfica de dichas estaciones (E103, E114 y E68).

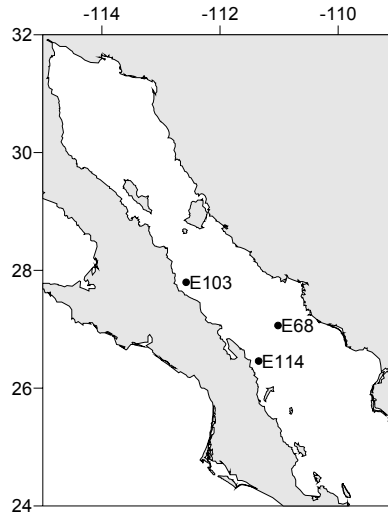


Figura 24. Ubicación geográfica de las estaciones donde se realizó la comparación espacial de los indicadores de estrés oxidativo de *N. difficilis* en enero 2007.

En la figura 25, se presentan los perfiles verticales de las variables ambientales obtenidas en las estaciones oceanográficas E103, E114 y E68: temperatura, porcentaje de saturación de oxígeno disuelto y concentración de chl-a. La temperatura de la estación E103 fue más fría (Fig. 25-A) en la superficie en comparación a lo registrado en las dos otras estaciones debido a su ubicación más norteña (Fig. 25). La termoclina de la estación E68 estuvo bien marcada ubicada a ~75 m mientras que la de la estación E114 fue menos pronunciada pero más profunda (a ~90 m) (Fig. 25-A).

En la estación E68 tuvo un decremento considerable del %O₂ pasando de 56.7 a 14.8% de saturación en 50 m (de 50 a 100 m) (Fig. 25-B). La estación E114 presentó un decremento similar en O₂, pero a mayor profundidad (~100 m) (Fig. 25-B). La concentración de chl-a, siguió el mismo patrón que el O₂ en la estación E68, mientras que en las dos otras estaciones alcanzó dos máximos: entre 5-10 m y entre 30-50 m (Fig. 25-C).

Se utilizaron solamente los datos de las hembras ovígeras de *N. difficilis* (para evitar sesgos por sexo y/o estadio de desarrollo) para comparar geográficamente los datos verticales de los indicadores de estrés oxidativo (Fig. 26). La producción del radical superóxido fue marginalmente significativamente más elevada en la estación E68 que en la estación E114 (KW, $p=0.054$) (Fig. 265-A). La actividad de la SOD total fue significativamente mayor en la estación E68 que en la estación E103 (KW, $p=0.011$) (Fig. 26-C). La actividad de la GPx fue mayor en la estación E114 en comparación con la estación E103 (KW, $p=0.017$) (Fig. 26-E). No se encontraron diferencias significativas en la actividad de las otras tres enzimas ni tampoco en los niveles de TBARS (Fig. 26-BDEF).

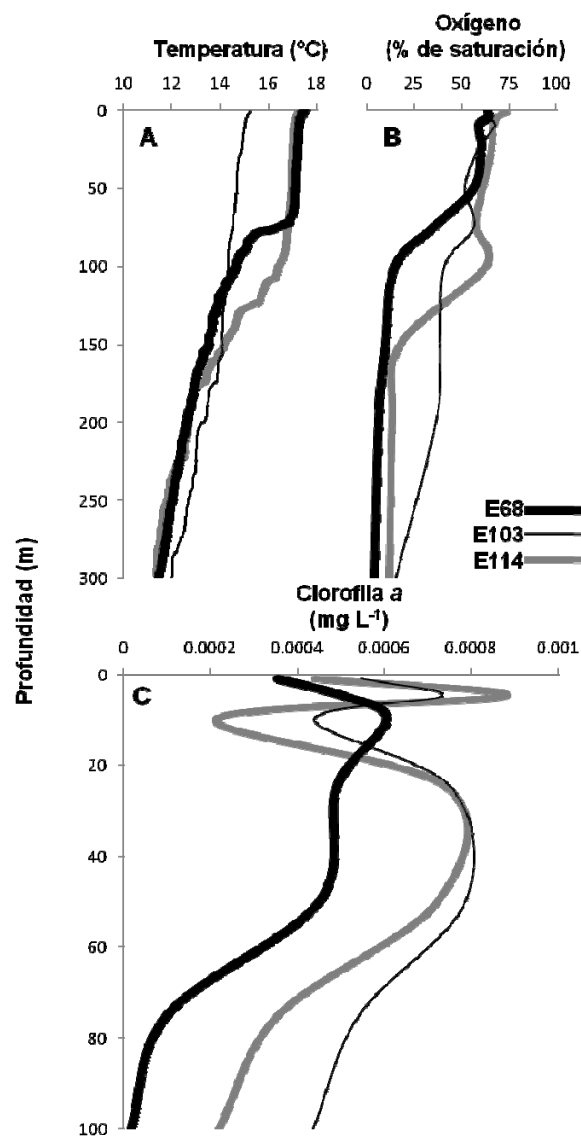


Figura 25. Perfiles verticales de (A) temperatura (°C), (B) oxígeno (% de saturación) y (C) clorofila a (mg L^{-1}) según la profundidad (m) en las estaciones oceanográficas: E68 (gruesa negra), E103 (fina negra) y E114 (gris).

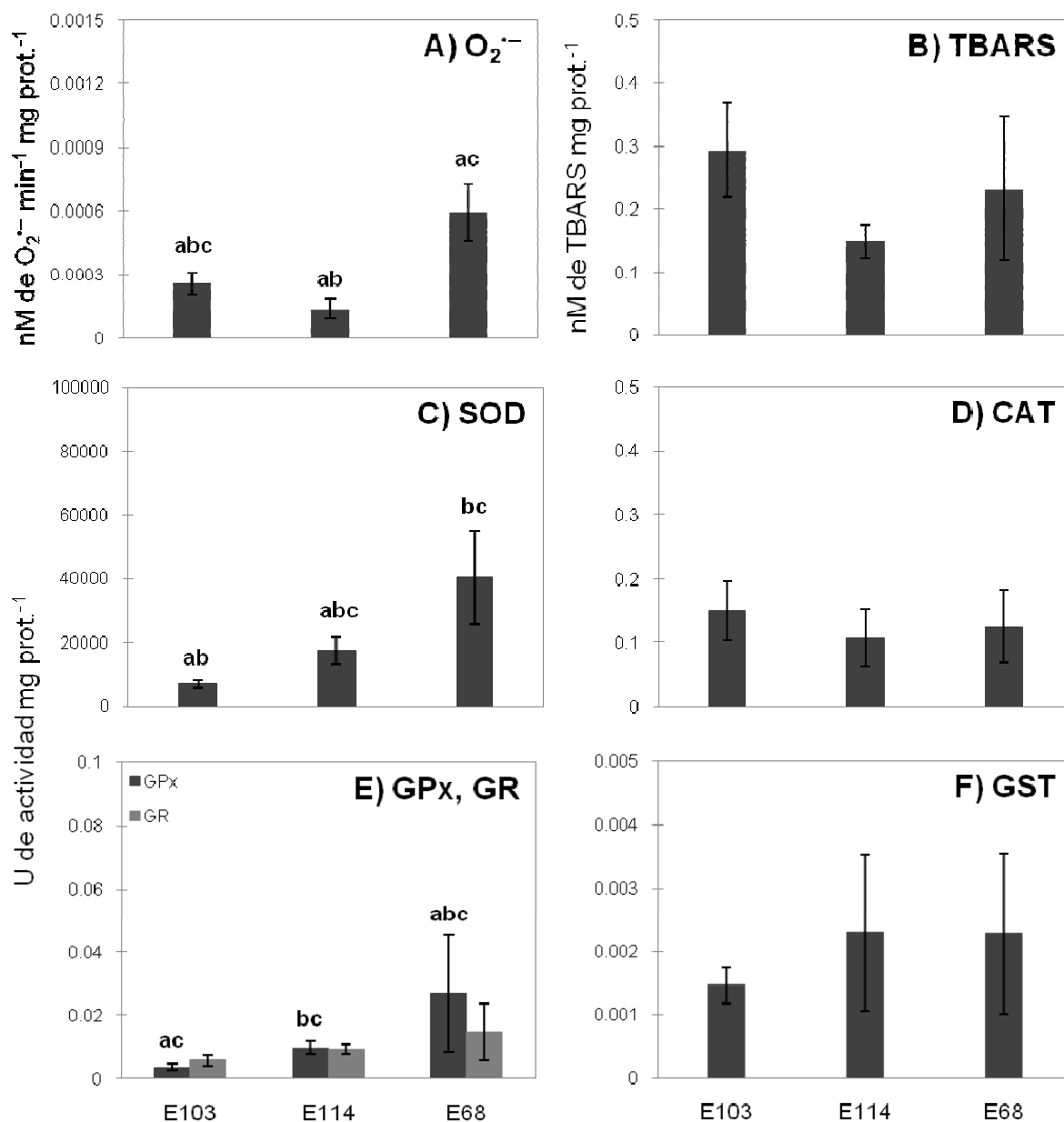


Figura 26. *N. difficilis*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de O₂⁻ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de hembras ovígeras en tres estaciones de muestreo (E68, E103 y E114) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

9.4.1.3 *Euphausia eximia*

En las figuras 27 a 29 se presentan resultados de los indicadores de estrés oxidativo de *E. eximia* comparando por temporada (fría vs. cálida) y profundidades de muestreo por temporada.

En la temporada cálida, *E. eximia* tuvo un incremento significativo en la producción del $O_2^{\cdot-}$ (MW, $p=0.000$) (Fig. 27-A) y un decremento significativo en los niveles de TBARS (MW, $p=0.000$) (Fig. 27-B). Todas las enzimas antioxidantes presentaron un incremento de su actividad durante la temporada cálida (Fig. 27-CDEF), pero solamente el aumento de la actividad de la GPx fue estadísticamente significativo (MW, $p=0.020$) (Fig. 27-E). No fue posible realizar una comparación ontogénica para esta especie debido al reducido número de muestras en la temporada fría y a la incapacidad de muestrear al menos tres individuos por categoría durante la temporada cálida (Anexo 1).

En las dos temporadas, las muestras de *E. eximia* se compararon verticalmente en tres estratos de profundidad: 0-50, 50-100 y 100-200 m. Aunque durante la temporada fría se pudo observar la tendencia de incremento de la actividad de todos los indicadores de estrés oxidativo del estrato de 50-100 m a la superficie, sin registrar diferencias significativas entre estos estratos (Fig. 28).

Durante la temporada cálida, *E. eximia* no parece tener variación en la producción del $O_2^{\cdot-}$ en función de la profundidad de muestreo (Fig. 29-A). Solamente la actividad de la SOD total se incrementó de manera significativa en el estrato superficial en comparación con el estrato de 100-200 m (KW, $p=0.018$) (Fig. 29-C). Sin embargo, las otras cuatro enzimas antioxidantes siguieron una tendencia similar sin diferencias estadísticamente significativas (Fig. 29-DEF). La peroxidación de lípidos pareció ser más elevada en la superficie pero no fue estadísticamente significativa (Fig. 29-B).

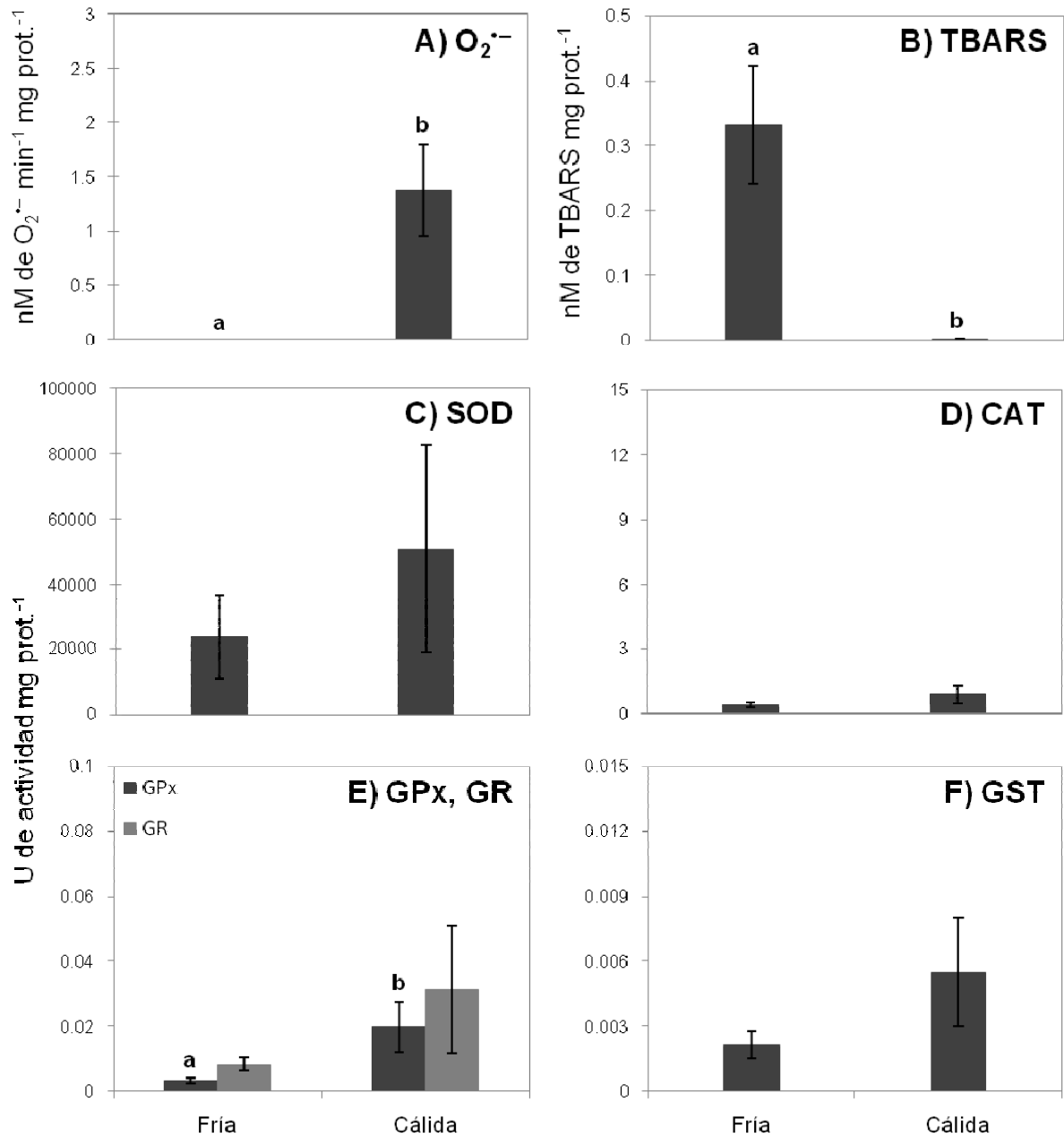


Figura 27. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) durante la temporada fría (enero) y la temporada cálida (octubre) del 2007. Promedio \pm error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

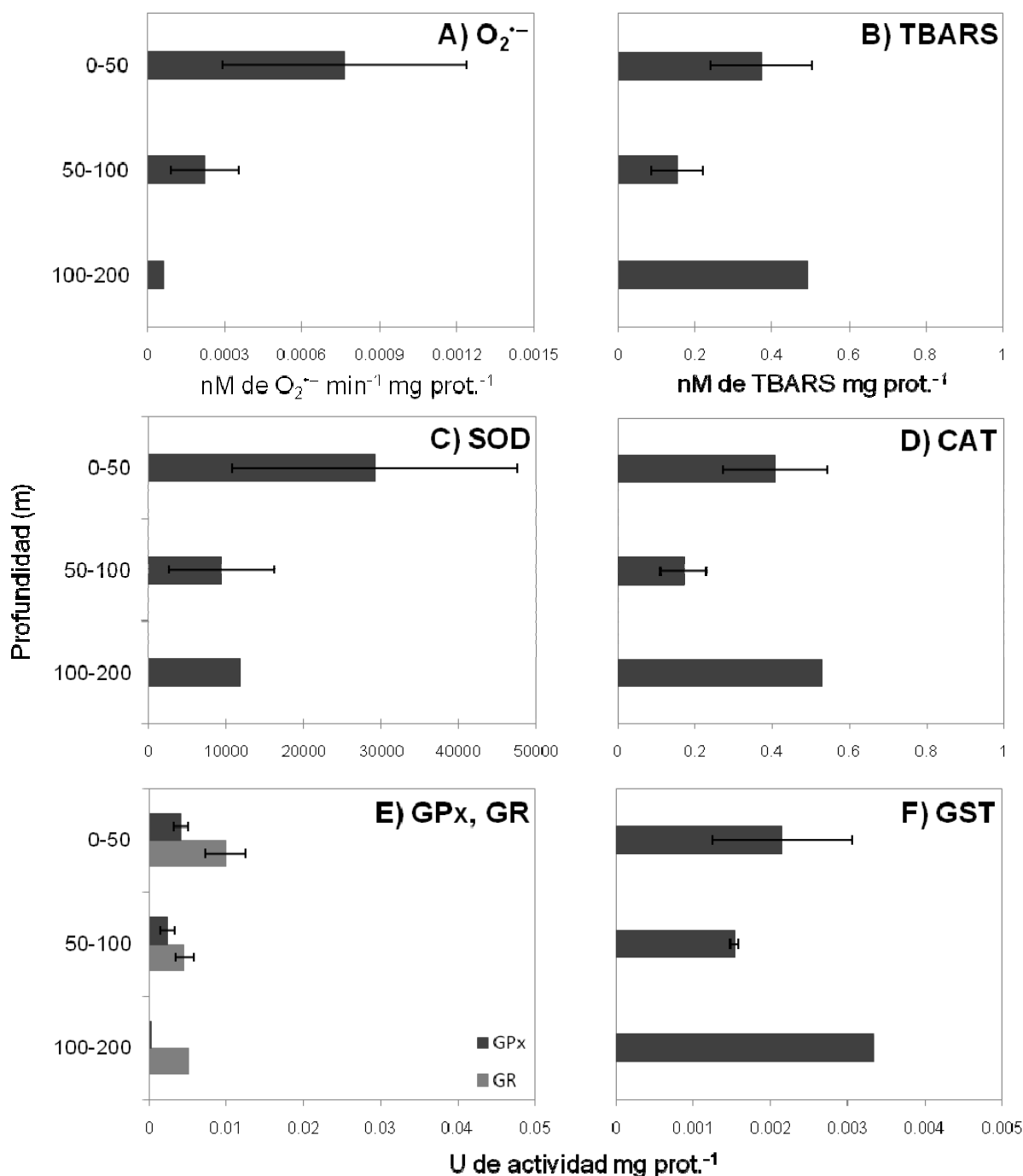


Figura 28. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m y 100-200 m) durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio ± error estándar.

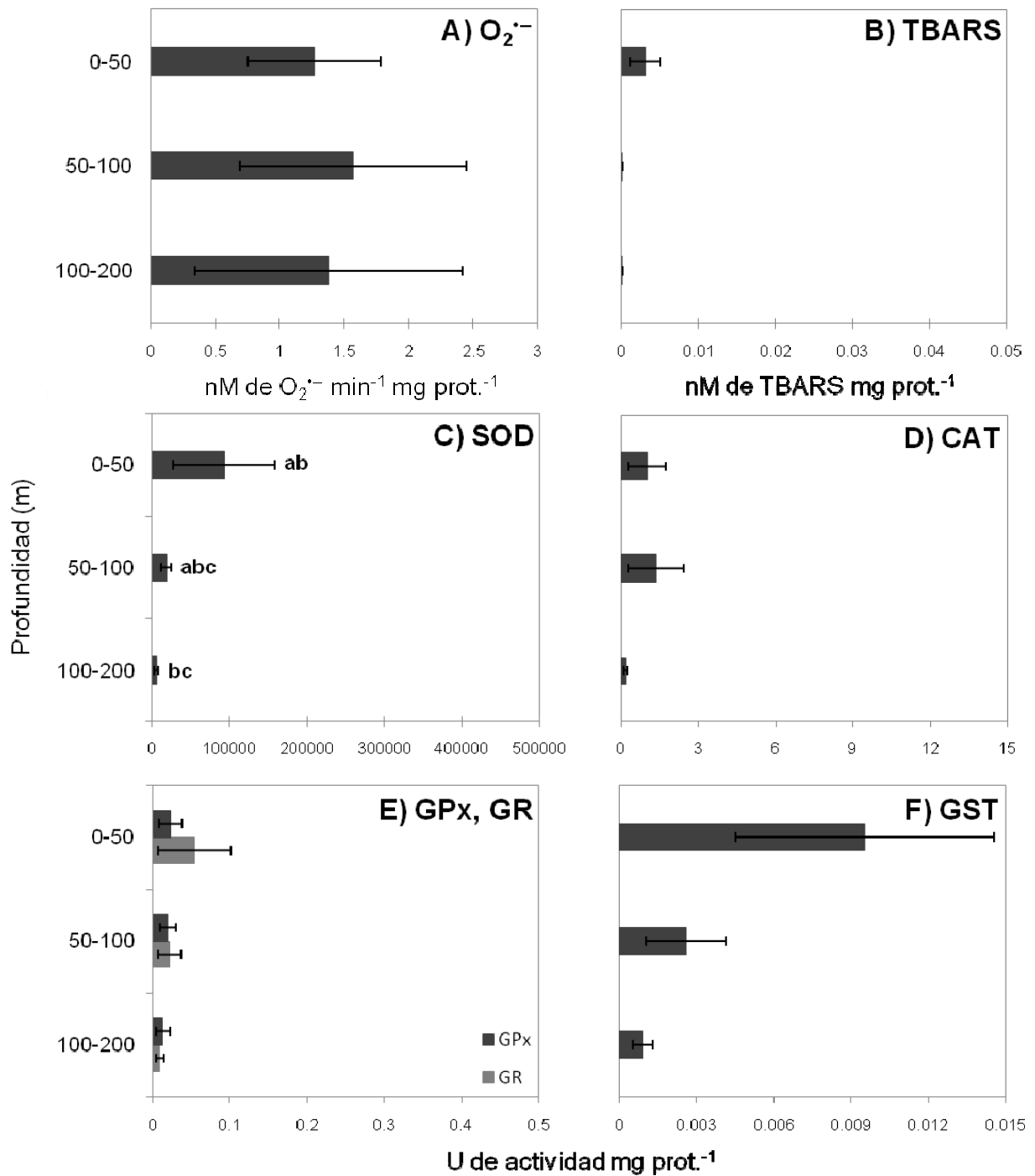


Figura 29. *E. eximia*. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) en función de la profundidad de muestreo (0-50 m, 50-100 m y 100-200 m) durante la temporada cálida (octubre del 2007). Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas (p < 0.05).

9.4.2 Variación interespecífica por temporada

En las figuras 30 y 31 se presentan los resultados de la producción del $O_2^{\cdot-}$, peroxidación de lípidos (TBARS) y actividad enzimática de la SOD total, CAT, GPx, GR y GST de las tres especies de eufáusidos por temporada (fría y cálida).

Durante la temporada fría (Fig. 30), *E. eximia* mostró una actividad de la CAT significativamente mayor que *N. difficilis* (KW, $p=0.024$) (Fig. 30-D), mientras que *N. difficilis* tuvo una actividad de la GPx (KW, $p=0.011$) y de la GST significativamente más elevada que *N. simplex* (KW, $p=0.018$) (Fig. 30-EF). Se realizó también la comparación entre *N. simplex* y *N. difficilis*, debido a que existieron pocas muestras de *E. eximia* ($n=10$). *N. simplex* tuvo una producción de $O_2^{\cdot-}$ significativamente más alta que *N. difficilis* (MW, $p=0.047$) (Fig. 30-A). Así mismo, *N. simplex* tuvo una actividad significativamente menor de SOD total (MW, $p=0.035$) (Fig. 30-C), GPx (MW, $p=0.007$) (Fig. 30-E), GR (MW, $p=0.033$) (Fig. 30-E) y GST (MW, $p=0.010$) (Fig. 30-F) que *N. difficilis*. Sin embargo, el daño oxidativo a lípidos (TBARS) no fue significativamente diferente entre las tres especies (Fig. 30-B).

Para la temporada cálida, la producción del $O_2^{\cdot-}$ no pudo ser evaluada en *N. simplex*. Durante esta temporada, se observó mayor actividad enzimática en *N. simplex* que en las otras dos especies para la SOD total (KW, $p=0.000$) (Fig. 31-C), GPx (KW, $p=0.001$) (Fig. 31-E), GR (KW, $p=0.000$) (Fig. 31-E) y GST (KW, $p=0.008$) (Fig. 31-F), y una actividad significativamente mayor de la CAT en comparación con *E. eximia* (KW, $p=0.000$) (Fig. 31-D). *N. simplex* presentó mayores niveles de TBARS que *N. difficilis* y *E. eximia* (KW, $p=0.000$) (Fig. 31-B).

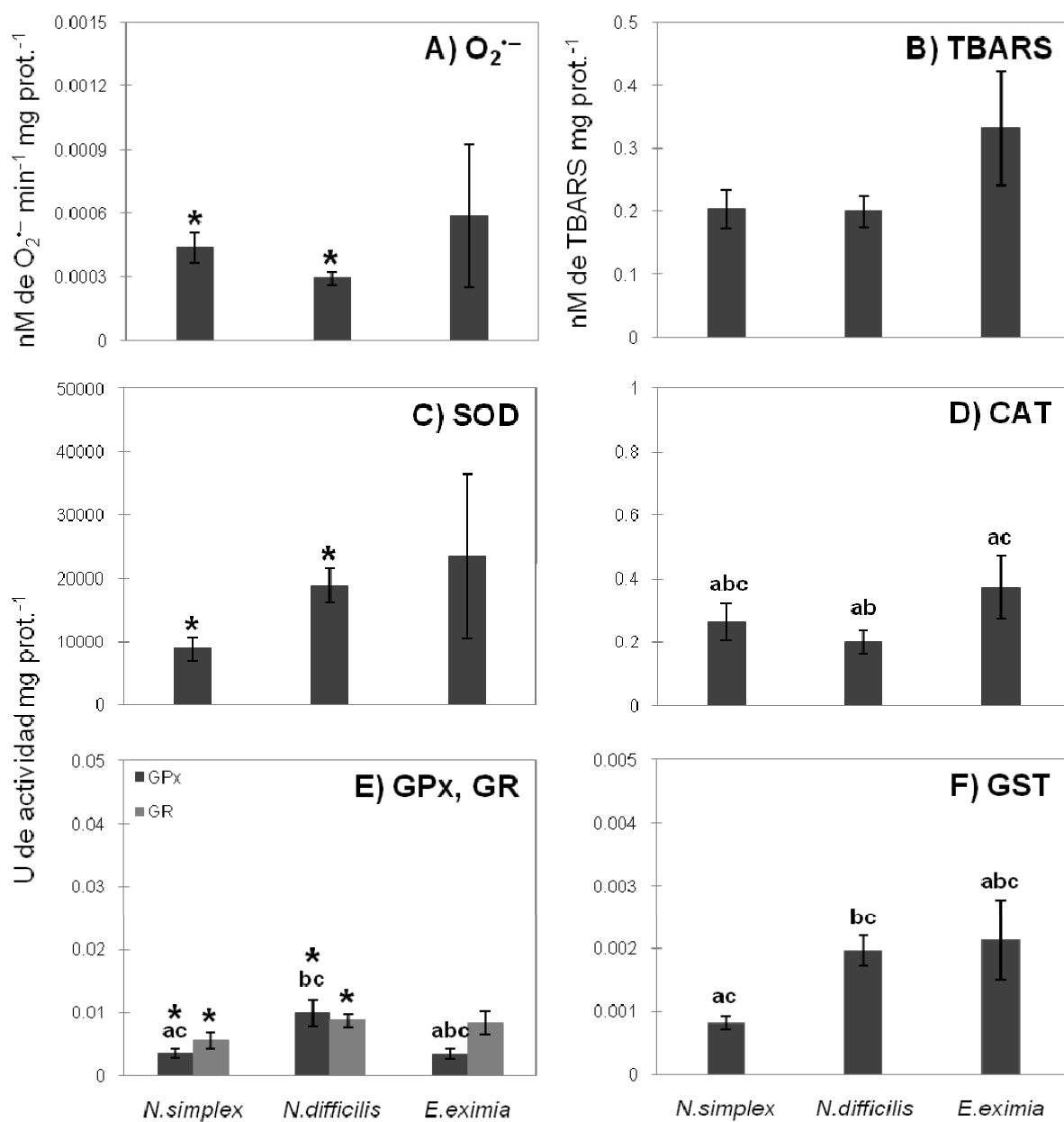


Figura 30. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\cdot-}min^{-1}mg$ proteína $^{-1}$), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína $^{-1}$) y actividades enzimáticas de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína $^{-1}$) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada fría (enero del 2007). Promedio \pm error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas para la comparación entre las 3 especies y los asteriscos para la comparación entre *N. simplex* y *N. difficilis* ($p < 0.05$).

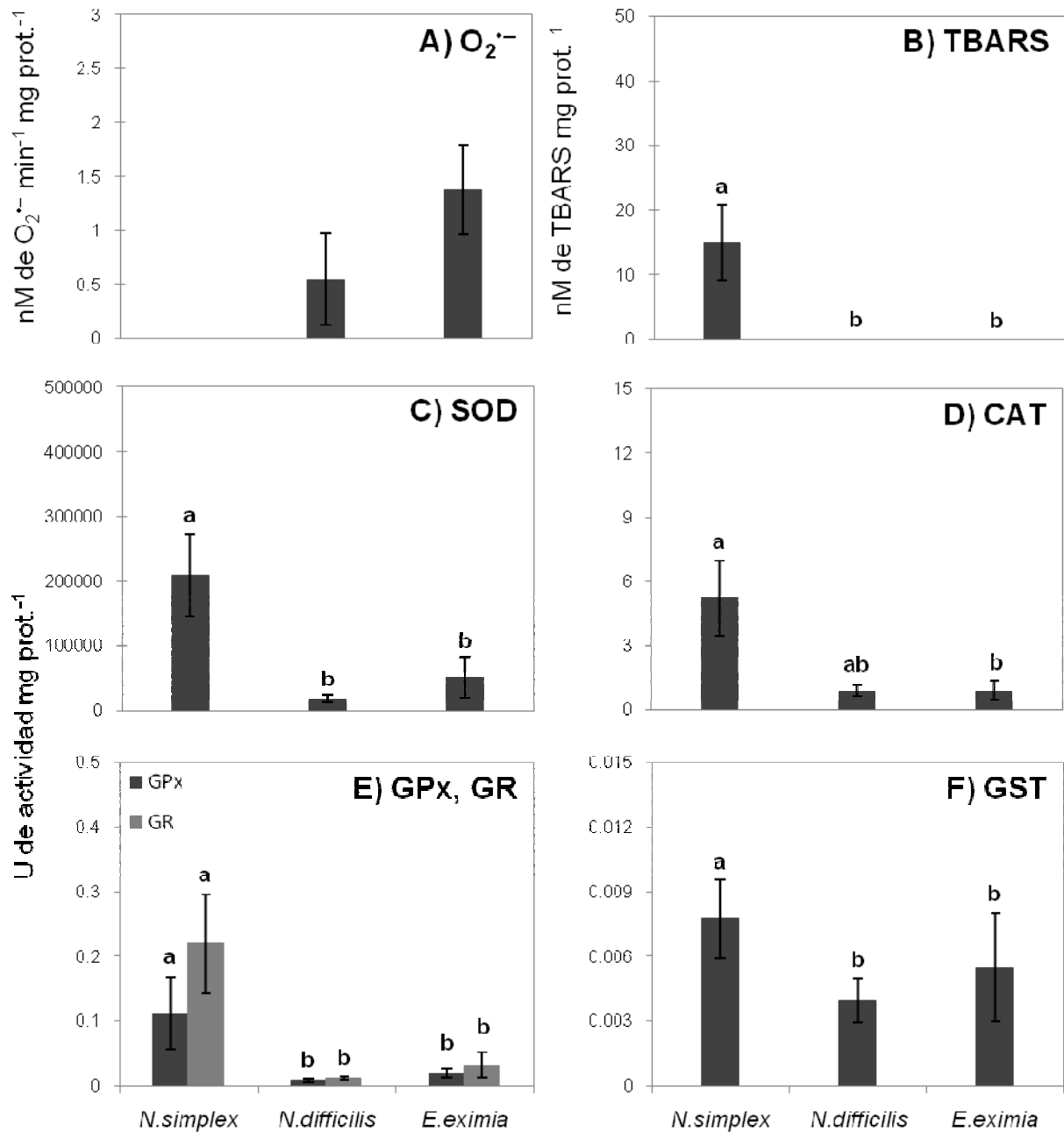


Figura 31. Valores de (A) producción del radical superóxido (nM de $O_2^{\bullet-}$ min⁻¹ mg proteína⁻¹), (B) peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades enzimáticas de (C) SOD total, (D) CAT, (E) GPx, (E) GR y (F) GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada cálida (julio y octubre del 2007). Promedio ± error estándar. Las diferentes letras indican las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

9.5 Indicadores de estrés oxidativo vs. condiciones ambientales

El análisis de ordenación NMDS indicó que las tres especies y los tres cruceros oceanográficos ocuparon posiciones multidimensionales distintas en la ordenación del espacio de los indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos por estación y profundidad. Los valores de los indicadores de estrés oxidativo de las tres especies del primer eje están directamente correlacionados con la profundidad de la termoclina y de la CMO, de una manera negativa, lo que indica una ordenación directamente asociada con la profundidad en este eje (Fig. 32; Tabla 1). Las estaciones del crucero de enero (círculos negros) fueron localizadas principalmente a la derecha del eje 1 mientras que las estaciones de los cruceros de julio y octubre fueron ubicados a la izquierda (Fig. 32). Los valores del segundo eje fueron positivamente correlacionados con la profundidad de la termoclina y la salinidad y en menor grado con la temperatura (negativamente) y la saturación de O₂ y débilmente asociada con la profundidad de la CMO (Fig. 32; Tabla 1). El segundo eje se asocia más a las condiciones cambiantes de la columna de agua o de las masas de agua presentes durante el muestreo. Las estaciones en las cuales se determinaron los indicadores de estrés oxidativo de *E. eximia* fueron localizadas principalmente abajo del eje 2 mientras que las estaciones de los indicadores de estrés oxidativo de *N. simplex* y de *N. difficilis* fueron ubicadas en la parte superior (Fig. 32). Para evaluar si el NMDS no ordenó los ejes de manera aleatoria, la prueba de Monte Carlo indicó diferencias significativas en la ordenación obtenida (en su tres ejes) con una ordenación aleatoria ($p=0.0196$, estrés final 10.639). El coeficiente de determinación de la correlación entre las distancias ordenadas y las distancias originales del espacio n -dimensional fue de 0.262 para el primer eje, 0.357 para el segundo eje, explicando alrededor de 61.9% de la variancia total. *N. difficilis* y *N. simplex* tuvieron una ordenación multidimensional relativamente semejante de la producción de O₂^{•-} en comparación con ordenación multidimensional de *E. eximia*, típica de aguas más cálidas (Fig. 32). La peroxidación de lípidos cuantificada como TBARS fue notablemente distinta en las tres especies asociada a la afinidad zoogeográfica presentando mayor daño en temporadas y condiciones cálidas para cada especie (*N. difficilis* en julio y octubre, *N. simplex* en julio y *E. eximia* en enero del 2007) (Fig. 32).

Se realizaron comparaciones, mediante la técnica MRPP, para aprobar o rechazar distintas hipótesis nulas entre los grupos predefinidos con el análisis de ordenación multidimensional NMDS. El análisis MRPP mostró diferencias significativas de los indicadores de estrés oxidativo entre las tres especies ($p=0.00000$) (Tabla 2). De igual forma, la MRPP encontró diferencias en los indicadores de estrés oxidativo entre los tres cruceros oceanográficos ($p=0.00000$), las profundidades de muestreo ($p=0.2061$), las estaciones encima/debajo de la CMO ($p=0.00629$) y encima/debajo de la termoclina ($p=0.00463$). Se hizo igualmente esta prueba entre adultos y juveniles para cada especie, pero no se detectó ninguna diferencia significativa.

Tabla 1. Resultados del análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS) de los indicadores de estrés oxidativo demostrando el coeficiente de determinación (r^2) de correlación de cada eje entre paréntesis y la correlación de Pearson y Kendall (r) para las asociaciones entre las distancias ordenadas y las distancias originales del espacio n-dimensional.

	Eje 1	Eje 2
Coeficiente de determinación por eje	($r^2=0.262$)	($r^2=0.357$)
Temperatura	-0.157	-0.297
Salinidad	0.112	0.445
Saturación en O ₂	0.076	0.204
Profundidad de la CMO	-0.434	0.198
Profundidad de la termoclina	0.475	0.462

Por último, con el ISA, fue posible conocer cuales indicadores de estrés oxidativo tuvieron mayor influencia en cada una de las agrupaciones comparadas. Para las diferencias interespecíficas, el ISA indicó que todos los indicadores de estrés oxidativo de cada especie fueron indicadores significativos (resultados no mostrados). La producción del O₂⁻ de *N. simplex* fue un indicador significativo en enero y todos los otros indicadores de estrés oxidativo de ésta especie fueron indicadores significativos en julio (Tabla 3).

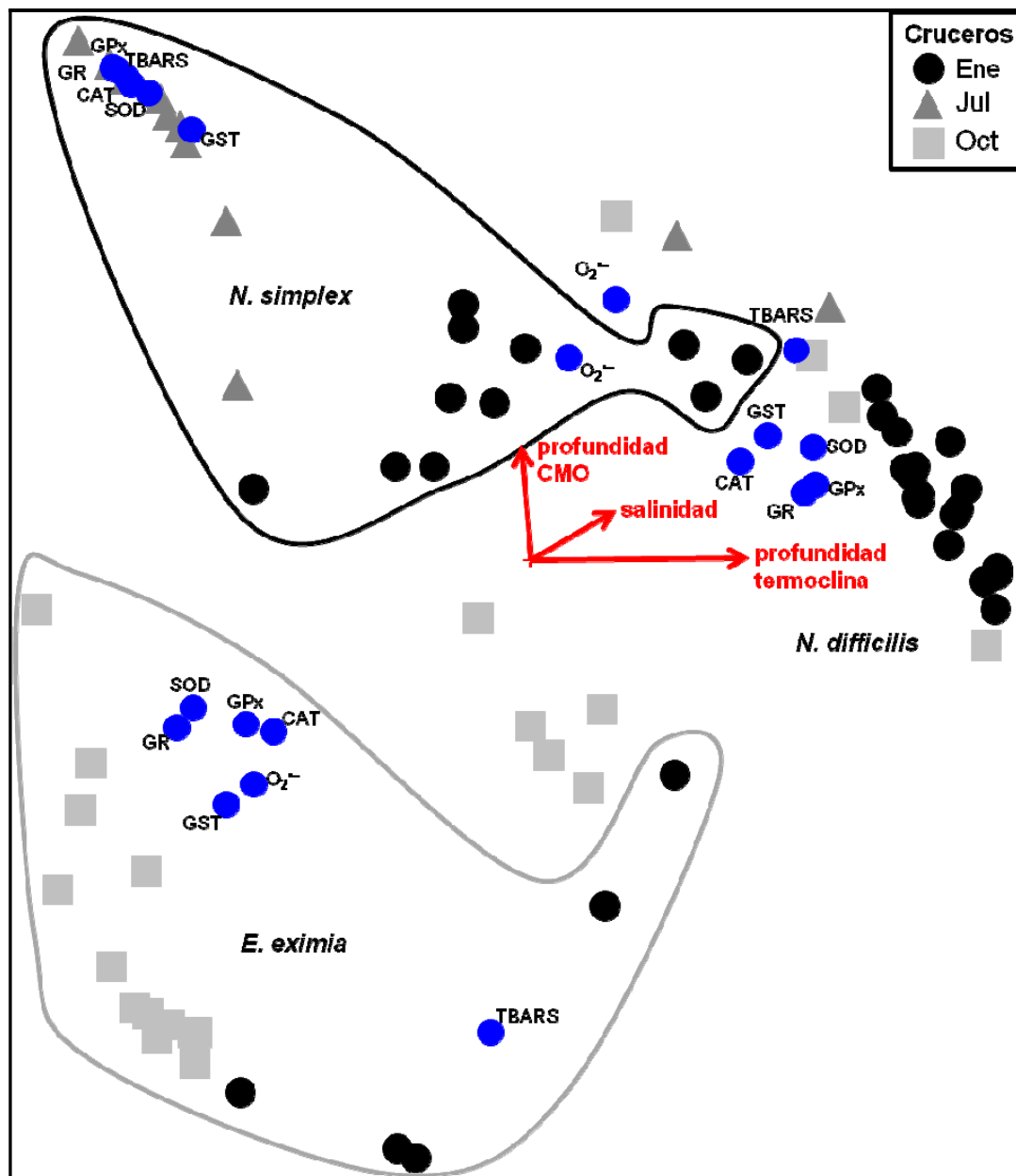


Figura 32. Ordenación multidimensional del análisis de escalamiento no-métrico multidimensional (NMDS) mostrando las estaciones oceanográficas por profundidad respectiva en el espacio de los indicadores de estrés oxidativo para las especies de eufáusidos *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia eximia*. Las posiciones de los indicadores de estrés oxidativo (círculos azules) son calculadas como promedios ponderados (weighted averages) de su actividad o concentración en el espacio de ordenación. Estaciones oceanográficas realizadas en enero (círculos negros), julio (triángulos gris oscuros) y octubre (cuadros gris claros) del 2007. La dirección de los vectores indica la dirección y magnitud relativa de la correlación de los indicadores de estrés oxidativo de cada especie con las estaciones. Actividad (U de actividad mg proteína^{-1}) de: SOD = superóxido dismutasa total; CAT = catalasa; GPx = glutatión peroxidasa; GR = glutatión reductasa; GST = glutatión s-transferasa. $\text{O}_2^{\bullet-}$ = producción del radical superóxido ($\text{nM de O}_2^{\bullet-}\text{min}^{-1}\text{mg proteína}^{-1}$); TBARS = peroxidación de lípidos ($\text{nM de TBARS mg proteína}^{-1}$).

En octubre del 2007, la producción del $O_2^{\cdot-}$ y la actividad de las cinco enzimas antioxidantes de *E. eximia* fueron los indicadores con los valores significativamente más altos (Tabla 3). *Nematoscelis difficilis* no mostró un indicador de estrés oxidativo particularmente alto en función de la temporada. Entre profundidades, solamente la producción del $O_2^{\cdot-}$ de *N. simplex* fue significativamente un buen indicador para el estrato superficial indicando el daño oxidativo potencial asociado a las agregaciones superficiales diurnas comunes que realiza ésta especie (Tabla 3). Todos los indicadores de estrés oxidativo de *N. simplex* fueron buenos indicadores de condiciones ambientales encontradas por arriba de la CMO y la termoclina, mientras que la producción del $O_2^{\cdot-}$ y la actividad de la GPx de *E. eximia* fueron buenos indicadores del ambiente por debajo de la CMO y la termoclina (Tabla 3).

Tabla 2. Resultados del análisis de procedimiento permutacional de multi-respuesta (MRPP) de la comparación de los indicadores de estrés oxidativo en las tres especies de eufáusidos con las condiciones ambientales del Golfo de California.

Grupos de estaciones probadas para las hipótesis nulas siguientes (H_0):	Tamaño matriz	t	A	p
Especie				
<i>N. simplex</i> (n=17) vs. <i>N. difficilis</i> (n=23) vs. <i>E. eximia</i> (n=16)	56x21	-37.27	0.631	0.00000
<i>N. simplex</i> (n=17) vs. <i>N. difficilis</i> (n=23)	40x14	-25.77	0.457	0.00000
<i>N. difficilis</i> (n=23) vs. <i>E. eximia</i> (n=16)	39x14	-25.16	0.449	0.00000
<i>N. simplex</i> (n=17) vs. <i>E. eximia</i> (n=16)	33x14	-20.93	0.486	0.00000
Crucero				
Enero (n=34) vs. Julio (n=11) vs. Octubre (n=22)	67x21	-18.18	0.261	0.00000
Enero (n=34) vs. Julio (n=11)	45x21	-9.66	0.149	0.00003
Enero (n=34) vs. Octubre (n=22)	56x21	-13.67	0.162	0.00000
Julio (n=11) vs. Octubre (n=22)	33x21	-15.22	0.320	0.00000
Profundidad (m)				
2 (n=4) vs. 25 (n=9) vs. 50 (n=14) vs. 75 (n=7) vs. 100 (n=10) vs. 125 (n=2) vs. 150 (n=12) vs. 200 (n=9)	67x21	-2.30	0.067	0.02061
CMO				
encima (n=43) vs. debajo (n=24)	67x21	-3.90	0.039	0.00629
Termoclina				
encima (n=23) vs. debajo (n=44)	67x21	-4.18	0.042	0.00463

Tabla 3. Resultados del análisis indicador de especies (ISA) efectuado para comparar la actividad de los indicadores de estrés oxidativo de las tres especies sobre cada comparación significativamente distinta detectada mediante el análisis de procedimiento permutacional de multi-respuesta (MRPP). Sólo se muestran las comparaciones que tuvieron diferencias significativas.

Grupos	Especies	IEO	VI	p de Monte Carlo
Crucero				
Enero	<i>N. simplex</i>	O ₂ ^{•-}	29.4	0.0081
Julio	<i>N. simplex</i>	TBARS	63.4	0.0001
		SOD	89.5	0.0000
		CAT	89.6	0.0000
		GPx	90.1	0.0000
		GR	90.3	0.0000
		GST	87.3	0.0000
Octubre	<i>E. eximia</i>	O ₂ ^{•-}	63.6	0.0001
		SOD	75	0.0000
		CAT	70.5	0.0000
		GPx	74.5	0.0000
		GR	68.5	0.0001
		GST	79.9	0.0000
Profundidad				
2 m	<i>N. simplex</i>	O ₂ ^{•-}	37.1	0.0234
CMO				
Encima	<i>N. simplex</i>	O ₂ ^{•-}	23.3	0.0209
		TBARS	30.3	0.0430
		SOD	40.2	0.0119
		CAT	40.2	0.0142
		GPx	36.8	0.0390
		GR	39.5	0.0175
Debajo	<i>E. eximia</i>	O ₂ ^{•-}	34.3	0.0289
		GPx	38.3	0.0324
Termoclina				
Encima	<i>N. simplex</i>	O ₂ ^{•-}	25.9	0.0071
Debajo	<i>E. eximia</i>	O ₂ ^{•-}	34.1	0.0292
		GPx	40.4	0.0180

IEO: Indicadores de estrés oxidativo; VI: Valor indicador.

9.6 Tasa de respiración

La figura 33 presenta la tasa de respiración de *N. simplex* y de *N. difficilis* en función de la concentración de O₂ disuelto en las cámaras de incubación. Las variabilidades de las tasas de respiración (TR) de las dos especies se pueden explicar con un modelo de regresión lineal, mostrada para cada especie en la tabla 4, que presenta sus intervalos de confianza (IC), coeficiente de correlación (r²) y probabilidad.

Tabla 4. Regresión lineal simple de la tasa de respiración de *N. simplex* y *N. difficilis* en función de la concentración de oxígeno disuelto realizados bajo condiciones de laboratorio a bordo del B/O El Puma con sus intervalos de confianza al 95% (IC) y coeficiente de correlación (r²).

Especie	Función lineal	IC	r ²	F	p
<i>N. simplex</i>	TR=-0.70[O ₂ ambiental]+5.53	-0.934<a<-0.466 4.462<b<6.594	0.548	26.67	0.000
<i>N. difficilis</i>	TR =-1.28[O ₂ ambiental]+14.37	-1.599<a<-0.955 12.574<b<16.158	0.737	47.70	0.000

Existe una diferencia interespecifica significativa distinta entre las tasas de respiración estandarizadas por peso seco de *N. simplex* y *N. difficilis* (F=474.13, p=0.000), siendo entre dos a tres veces mayor la tasa de respiración de *N. difficilis*. Todos los eufáusidos de *N. simplex* incubados a concentraciones de oxígeno disuelto <3.5 mg O₂ L⁻¹ (expuestos <15 minutos) murieron, indicando relativamente poca tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno.

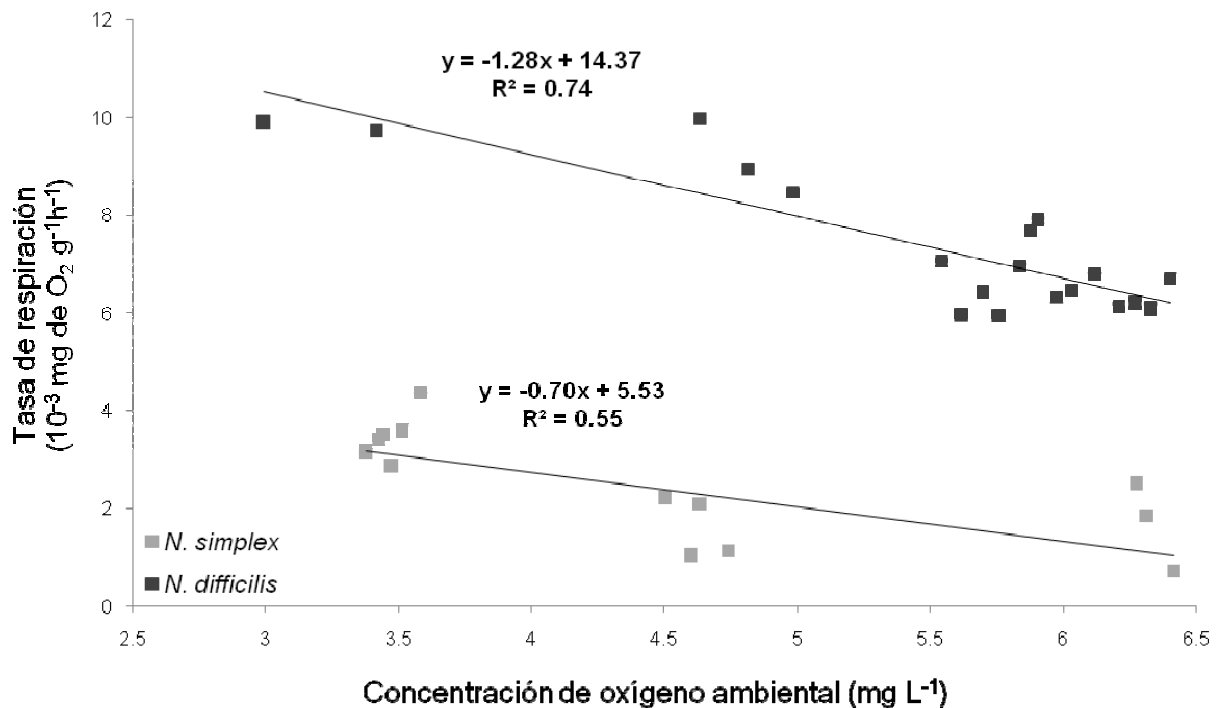


Figura 33. Tasas de respiración (10^{-3} mg de O_2 $g^{-1}h^{-1}$) de *N. simplex* y *N. difficilis* estimada a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto ($mg L^{-1}$).

10. Discusión

Aunque la migración vertical diaria de los eufáusidos y del zooplancton en general se ha estudiado desde finales de siglo XIX (Brinton, 1967; Youngbluth, 1975, 1976; Vernon, 1978; Williams y Lindley, 1982; Samaoto *et al.*, 1987; Gibbons *et al.*, 1991; Greene *et al.*, 1992; Lavaniegos, 1996; Robinson y Gómez Gutiérrez, 1998; Gómez Gutiérrez *et al.*, 1999; Suzuki *et al.*, 2003; Swadling, 2006; Tarling y Jonhson, 2006), las causas ecológicas y evolutivas de este comportamiento siguen siendo un aspecto elusivo. Se han propuesto varias hipótesis para explicar este fenómeno destacando las siguientes: (1) reducción de las tasas metabólicas cuando los organismos se encuentran en los estratos más profundos y fríos (McLaren, 1963, 1974; Enright, 1977); (2) modificación del patrón de MVD en función de la presencia/ausencia o densidad poblacional de depredadores potenciales (Zaret y Suffern, 1976; Ohman 1984, Hays, 1995; Kremer y Kremer, 1988; Bollens y Frost, 1989; Frost y Bollens, 1992, De Robertis, 2002); (3) búsqueda de alimento en los estratos superficiales motivada por la sensación de hambre (Yayanos *et al.*, 1978;

Tarling y Jonhson, 2006); (4) diferenciación del patrón de MVD relacionada a la capacidad de natación individual (ontogénica, intraespecífica o interespecífica) (De Robertis *et al.*, 2003); (5) como una estrategia para evadir la radiación ultra-violeta (UV) (Hunstman, 1924; Williamson *et al.*, 1996), y más recientemente (6) se ha propuesto que la variabilidad de la MVD depende de la capacidad de los organismos de ajustar su metabolismo anaeróbico (Spicer *et al.*, 1999; Antezana, 2002; González y Quiñones, 2002; Spicer y Strömberg, 2002).

Para explicar el comportamiento interespecífico e intraespecífico de la MVD y de los patrones de distribución zoogeográfica conocidos para las tres especies de eufáusidos en el GC, se propone que la producción del O_2^- , la actividad de las enzimas antioxidantes y las tasas de respiración se asocian al hábitat interespecífico a largo plazo, delimitado en parte en sentido vertical y horizontal (3D), por la profundidad de la CMO y la termoclina. Esta tesis es el primer estudio que aborda el impacto de varios indicadores de estrés oxidativo de eufáusidos asociados a condiciones ambientales. La discusión abarcará primero los aspectos propios de la distribución geográfica de tres especies de eufáusidos en función de los gradientes ambientales horizontales y verticales (10.1 y 10.2). Posteriormente, se abordará la variación de los indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos intraespecíficamente e interespecíficamente en respuesta a los gradientes y las condiciones ambientales, finalizando con el análisis de las abundancias y distribuciones de los eufáusidos (10.3). Por último, se propone la hipótesis sobre la asociación entre los indicadores de estrés oxidativo y la distribución biogeográfica de los eufáusidos en distintas masas de agua, producto de un proceso evolutivo que define sus actuales afinidades zoogeográficas (10.4).

10.1 Distribución y abundancia horizontal de los eufáusidos

La distribución horizontal de los eufáusidos en el GC ha sido ampliamente estudiada (Brinton y Townsend, 1980; Brinton *et al.*, 1986; Sánchez-Osuna y Hendrickx, 1984; Lavaniegos, 1987, 1988; Lavaniegos *et al.*, 1989; Gendron, 1990, 1992; Gómez-Gutiérrez y Hernández-Trujillo, 1994; Chávez-Andrade, 2006; Sampson-Tenorio, 2007) en comparación a su distribución vertical (Brinton 1979;

Lavaniegos 1996). El trabajo de Brinton y Townsend (1980) es posiblemente el principal marco de referencia para definir los patrones de variación estacional de la distribución y abundancia de los eufáusidos en el GC debido al esfuerzo de muestreo y análisis que realizaron a lo largo de un ciclo anual. Estudios posteriores también mostraron los patrones de distribución horizontal estacional (Gendron, 1990) o interanual con énfasis en el efecto de condiciones climáticas-oceanográficas de El Niño en la composición específica y distribución horizontal de los eufáusidos (Lavaniegos, 1987, 1988, Lavaniegos *et al.*, 1989).

Al igual que Brinton y Townsend (1980), en el presente trabajo se encontró que *N. simplex* fue la especie numéricamente más abundante del GC durante todo el año, concentrándose principalmente cerca de la costa a lo largo de la plataforma continental. *N. simplex* tuvo densidades significativas al sur de la isla Tiburón en enero del 2007 (Fig. 11) y al sur de la isla Angel de la Guardia en julio del 2007 (Fig. 12), donde las surgencias inducidas por el viento (Figs. 5 y 6) usualmente prevalecen a lo largo de la costa occidental en invierno y a lo largo de la costa oriental en verano (Badan-Dangon *et al.*, 1985; Jiménez *et al.*, 2005). Lo anterior también fue observado por Brinton y Townsend (1980) inclusive en el mes de agosto y proponen que la reducción en la distribución y abundancia de *N. simplex* en verano se atribuye al incremento en la temperatura superficial del GC (28 a 31°C), excepto en la región alrededor de las grandes islas donde tiene elevadas densidades a lo largo de todo el año. Esta área es la región más fría del GC durante todo el año (Figs. 5 y 6), causado en parte por la afluencia de agua profunda a lo largo de las cuencas en ambos lados del canal de Ballenas e intensas corrientes de marea (Marinone, 2007), y posiblemente por efecto de isla causado por Isla Angel de La Guardia e Isla Tiburón. De hecho, se observaron las mayores concentraciones de *chl-a* en estas regiones, detectadas mediante datos ambientales continuos del fluorómetro del buque e imágenes satelitales para las dos temporadas, lo que apoya la idea de la presencia de surgencia en esta región (Figs. 5 y 6). Sánchez-Osuna y Hendrickx (1984), Gómez-Gutiérrez y Hernández-Trujillo (1994) y Chávez-Andrade (2006) reportaron abundancias reducidas de *N. simplex* en la zona de Mazatlán durante la temporada fría y parte sur del GC (entre Cabo San Lucas y Cabo Corrientes). Se conoce que existe una notable disminución de la densidad poblacional de esta especie hasta latitudes de aproximadamente 20°N, estando

ausente en el POT (Brinton, 1979), como ha sido confirmado por la ausencia de esta especie en el Golfo de Tehuantepec (López-Cortés, 1990; Färber-Lorda *et al.*, 1994; Fernández-Álamo y Färber-Lorda, 2006).

En las regiones del GC donde ocurrieron los eventos de surgencia costera, se presentaron condiciones de concentración de O₂ proporcionalmente reducidas (3.5 a 4 mg O₂ L⁻¹). *N. simplex* puede tolerar condiciones de O₂ reducidas; sin embargo, los experimentos de tasa de respiración en condiciones de laboratorio sugieren un efecto letal cuando esta especie se expone a concentraciones de O₂ disuelto <3.5 mg O₂ L⁻¹ durante 15-30 minutos. La concentración de O₂ puede cambiar dependiendo de la temperatura y de la salinidad del agua (que definen el porcentaje de saturación de oxígeno *in situ*), por lo que este límite no es necesariamente similar a las condiciones naturales sin confinamiento.

Para enero del 2007, los juveniles y adultos de *N. difficilis* se distribuyeron en las regiones de surgencias de la costa este (Fig. 11). En el trabajo de Brinton y Townsend (1980), *N. difficilis* se ubicó en gran abundancia a lo largo de la costa oeste entre Loreto y Bahía de La Paz, prolongado su distribución hasta el extremo sur de la península de Baja California, donde de acuerdo a su interpretación ocurren posibles intercambios con la corriente de California. En nuestro caso, el diagrama TS de enero 2007 no mostró agua con características de la corriente de California en el área de estudio ubicada al norte de Isla Catarina; por lo que no se puede inferir que hubo intercambio de organismos con el grupo poblacional de la corriente de California sino que es una población residente del Golfo (Fig. 7), aunque se ha registrado *N. difficilis* y *N. simplex* en el área de Cabo San Lucas, lo que sugiere posible conexión entre grupos poblacionales (Brinton, 1979; Gómez-Gutiérrez y Hernández-Trujillo, 1994). Esta región oriental del GC, donde solamente se recolectaron adultos en enero del 2007 (Fig. 11), se caracteriza por una CMO y termoclina relativamente profundas (Figs. 9 y 10). En julio del 2007, la población de *N. difficilis* se redujo en abundancia concentrándose del lado oeste del GC (Fig. 12), que en esta época tiene condiciones de surgencia inducidas por el viento y agua relativamente más fría que en el lado este, similar a lo observado por Brinton y Townsend (1980). *E. eximia* se encontró esporádicamente al sur del GC en enero y en julio del 2007 distribuida principalmente en la parte central (Figs. 11 y 12).

La distribución geográfica de las tres especies de eufáusidos de este estudio es, en términos generales, similar a lo previamente informado con algunas diferencias que pueden ser debido a los métodos de muestreo y/o evasión de la red (Brinton, 1967), así como al distinto derrotero de los cruceros. Es interesante resaltar que se registraron abundancias mayores de *N. simplex* y *N. difficilis* en los cruceros CalCOFI de febrero y junio 1957 (Brinton y Townsend, 1980) que en el presente estudio, pero el área de distribución y las magnitudes de abundancia de *E. eximia* son similares a lo encontrado en ambos periodos. La abundancia actual de *N. simplex* y *N. difficilis* es similar en magnitud a lo informado por Gendron (1990) y Lavaniegos (1987, 1988, 1989) quienes habían detectado un decremento relativo del número de estaciones con abundancia estandarizada de *N. simplex* ≥ 50 000 organismos 1000 m^{-3} . En el presente estudio se registraron aproximadamente cinco veces menos organismos en las estaciones con abundancias más elevadas que en los estudios previos colectadas con red Bongo (Brinton y Townsend, 1980; Gendron, 1990; Lavaniegos, 1987, 1988, 1989). En 2007 no se detectaron condiciones oceanográficas visiblemente distintas a las prevalecientes en 1957 (rangos de temperatura, profundidad de la CMO y termoclina estacional). Brinton y Townsend (2003) correlacionaron la abundancia y distribución de *N. simplex* y *E. eximia* de la costa occidental de Baja California con los índices de Oscilación Decadal del Pacífico (PDO, por sus siglas en inglés) y de Oscilación Meridional de El Niño (ENSO, por sus siglas en inglés) a partir de los muestreos de invierno de la serie CalCOFI encontrando que estas covariaban en su ámbitos de distribución y abundancia. Lluch *et al.* (2001) demostraron también que ambas oscilaciones interactúan en la variabilidad de la temperatura superficial del mar de la costa occidental de Baja California espacio-temporalmente. Lluch *et al.* (2003) no detectaron una influencia evidente de la señal climática de PDO en la entrada del GC. Aún falta comprender los efectos de la variabilidad del clima a largo plazo y de los cambios climáticos globales en el GC (Lluch-Cota *et al.*, 2007). Actualmente ningún trabajo ha demostrado un efecto evidente del ENSO en el GC debido a que no existen series de tiempo suficientemente largas para asociar variables biológicas críticas, como la concentración de fitoplancton (o concentración de chl-a) o de zooplancton. Sin embargo, Aceves-Medina *et al.* (2003) sugieren diferencias significativas en la composición específica y abundancia del ictioplancton entre los

años 1956-1957 (régimen frío) y 1984-1987 (régimen cálido). Entonces, la disminución de la abundancia de las dos especies podría estar relacionada con cambios en las condiciones climáticas oceanográficas de más largo plazo.

10.2 Distribución y abundancia vertical de los eufáusidos

En este estudio las tres especies mostraron patrones de MVD interespecíficamente distintos, similar a lo previamente registrado por Brinton (1979) y Lavaniegos (1996). Sin embargo, los estudios anteriores fueron realizados en la boca del GC en la región comprendida entre Cabo San Lucas a Cabo Corriente en Mayo-Junio 1974 (Brinton, 1979) y en tres estaciones oceanográficas localizadas en la costa oeste de la parte Central del Golfo de California entre Canal Salsipuedes y Bahía Concepción en Mayo 1965 (Lavaniegos, 1996). Ambos estudios fueron realizados durante la temporada fría (primavera). Por lo tanto, estos estudios proporcionan una visión parcial sobre las respuestas interespecíficas e intraespecíficas en los patrones de MVD a escala estacional y regional de los eufáusidos numéricamente abundantes en el GC.

En el presente estudio se realizó el muestreo geográficamente más amplio y con una cobertura temporal estacional (21 estaciones oceanográficas en enero y 20 en julio del 2007) dentro del GC enfocada a estudiar la distribución de eufáusidos, pero con una única (pero relevante) limitante de muestreo: las muestras verticales no pudieron ser obtenidas a profundidades mayores de 200 m. Aún con esta restricción metodológica de muestreo, se detectaron patrones de distribución vertical más robustos (en término de número de muestreos) para las tres especies en relación con los estudios previos. En enero del 2007, con muestreos horizontales cerca de la superficie (muestreos neustónicos), se detectaron densos enjambres superficiales diurnos de *N. simplex*, que de acuerdo con Gendron (1990, 1992), se relacionan con eventos de reproducción (Fig. 13) aunque se han observado densas agregaciones de larvas calyptopis de esta especie (Gómez-Gutiérrez, *com. pers.*). Este comportamiento se observó únicamente durante la temporada fría del GC (Gendron, 1992), por lo que el presente estudio confirma que *N. simplex* se distribuyó cerca de la superficie en enero del 2007, cuando la capa de mezcla fue

más profunda y fría. Los juveniles se encontraron principalmente en los primeros 25 m, entre 4 y 16 h, quedándose también en la superficie durante el día (Fig. 13). En cuanto a los adultos, al igual que en la Corriente de California (Brinton, 1967), una pequeña parte de la población no se encontró cerca de la superficie durante la noche, pero la mayoría de los organismos presentaron un patrón de MVD que varió entre 150 m de profundidad durante el día y en los primeros 50 m durante la noche (Fig. 13).

En julio del 2007, los juveniles y adultos de *N. simplex* se distribuyeron por debajo de la termoclina evitando el estrato de aguas cálidas ($>24^{\circ}\text{C}$) de los primeros 50 m de profundidad (Fig. 14). Esto corrobora las observaciones de Lavaniegos (1996), quien propuso que la termoclina estacional actúa de barrera a la MVD de ciertas especies de eufáusidos como *N. simplex* en la zona oeste del GC, pero consideró que esto no ocurría para todos los estadios de desarrollo, como las larvas (que no fueron analizadas en el presente estudio). Además se ha observado que temperaturas $>25^{\circ}\text{C}$ no son propicias para el desarrollo ontogenético (embrionario y larvario) (Gómez-Gutiérrez, 1995, 1996; Gómez-Gutiérrez y Robinson, 2005) y crecimiento somático de *N. simplex* (Lavaniegos, 1995; Gómez-Gutiérrez *et. al.*, 1996).

De acuerdo con las conclusiones de Brinton (1979) que asocia la MVD de los eufáusidos a la isoclina de $1 \text{ ml O}_2 \text{ L}^{-1}$, en el contexto más general, la corta MVD de *N. simplex* en el GC puede explicarse por la presencia de condiciones hipóxicas debajo de los 150 m. Los datos ambientales de los dos cruceros de 2007 indicaron condiciones hipóxicas a partir de 100 m en una gran extensión del GC siendo significativamente más someras en julio que en enero del 2007 (Figs. 8 y 9). Además, los experimentos de tasa de respiración demostraron que *N. simplex* tiene poca tolerancia a ambientes con concentraciones de O_2 inferiores a $3.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Con ayuda de prospecciones hidroacústicas (con ecosondas) y filmaciones en la columna de agua, se ha documentado comportamientos de MVD de *N. simplex* a lo largo de la costa oeste de la península de Baja California (Robinson y Gómez-Gutiérrez, 1998; Gómez-Gutiérrez y Robinson, 2006). Estos investigadores observaron que *N. simplex* se concentra en densos enjambres cerca del fondo durante el día en la costa noroeste de Baja California y en enjambres epibénticos

marinos (con fondo marino <40 m) tanto de día como de noche estrechamente asociados con los patrones e intensidad de las corrientes de marea, en la boca de Bahía Magdalena. Previamente a estas observaciones, se consideraba que *N. simplex* tendía a estar en profundidades >50 m cuando en realidad *N. simplex* tiene una amplia versatilidad en el comportamiento para habitar zonas inusuales o inhóspitas para otras especies de eufáusidos, como *N. difficilis* y *E. eximia* que son de ambiente predominantemente oceánicos (Brinton, 1962; Gómez-Gutiérrez, 1995).

En enero del 2007 los juveniles de *N. difficilis* fueron abundantes en dos estratos (de 25 a 75 m y de 150 a 200 m) y con distribución más superficial durante el día (Fig. 13), lo que no se encontró en el estudio de Lavaniegos (1996). Los adultos de *N. difficilis* fueron abundantes de 100 a 200 m, pero solamente de 16 h a 0 h (Fig. 13). Fuera de este periodo, es posible que *N. difficilis* migre a profundidades de hasta 400 m, como ha sido observado en estudios previos (Brinton, 1962, 1967, 1979; Lavaniegos, 1996). Sin embargo, la profundidad de muestreo del presente estudio limitó considerablemente la interpretación de este escenario en la parte central del GC donde existe una cuenca con profundidades >500 m. Una interpretación alterna es que 200 m es aproximadamente el límite más profundo de la MVD de *N. difficilis* en el GC en razón de la presencia de condiciones hipóxicas (<1.0 ml O₂ L⁻¹), como fue el caso en la boca del GC, frente a Cabo San Lucas 22° 27' N (Brinton, 1979). En California, esta especie usualmente migra hasta 300-400 m (Brinton, 1967). Además, esta especie nunca ha sido reportada en el POT donde *N. gracilis* es la única especie del género *Nematoscelis* de afinidad tropical adaptada a condiciones hipóxicas (Gopalakrishnan, 1974; Brinton *et al.*, 2000). La menor abundancia de *N. difficilis* en el GC en julio del 2007 fue esperada y notoria, ya que en los muestreos estratificados se registró alrededor de los 100 m de profundidad (Fig. 14), tanto de día como de noche, demostrando una limitación a mayores profundidad, cuando la profundidad de la CMO es comparativamente mas somera que en enero 2007.

En enero se presentó la mayor abundancia de juveniles y adultos de *E. eximia* en los primeros 25 m, principalmente en las horas de la madrugada y superficialmente alrededor de las 20 h (Fig. 13), lo que coincide con lo encontrado en Brinton (1967, 1979), Lavaniegos (1996) y Gómez-Gutiérrez *et al.* (1999). Los

juveniles se distribuyeron un poco más superficialmente que en los estudios previos. Durante el día, no se detectaron grandes abundancias, relativo a la magnitud de abundancia de ésta especie (Brinton, 1967; Sameoto, 1987), en los 200 m de profundidad (Fig. 13). Esto sugiere que ésta especie migra a mayores profundidades que el límite de muestreo de este estudio (200 m), como ha sido previamente documentada (Brinton, 1962, 1967, 1979; Sameoto, 1987). *E. eximia* tiene una adaptación morfológica (amplia superficie branquial con respecto de otras especies de eufáusidos, inclusive dentro del género *Euphausia*) que le permite migrar a estratos con condiciones hipóxicas (Antezana, 2002) lo que explica en parte su distribución a lo largo del POT. Brinton (1979) noto que aunque esta especie existe a lo largo del POT, tiene reducidas densidades ($<4 \text{ ind m}^{-2}$) entre 11 y 20° N, donde existe las temperaturas más elevadas (26°C) y concentraciones de O₂ más bajas a media agua ($<0.05 \text{ ml O}_2 \text{ L}^{-1}$) y a 6°N, donde el agua que proviene del oeste entra con la Contracorriente Ecuatorial. En julio del 2007, esta especie no fue suficientemente abundante y frecuente para concluir contundentemente sobre un patrón de MVD en particular (Fig. 14). Eso puede deberse al muestreo que no se extendió hasta la parte sur del GC donde se sabe que esa especie tiene una abundancia relativamente mayor (Brinton, 1979; Sánchez-Osuna y Hendrickx, 1984; Gómez-Gutiérrez y Hernández-Trujillo, 1984).

10.3 Variación de los indicadores de estrés oxidativo de los eufáusidos

10.3.1 Ontogénica

En este estudio, no se encontraron diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo entre los juveniles y adultos en ninguna de las tres especies de eufáusidos . Los juveniles tienen una MVD comparativamente más reducida que los adultos (como se pudo observar en enero 2007), quedándose en condiciones de concentración de O₂ $>40\%$ de saturación en enero y $>30\%$ de saturación en julio del 2007. Por lo tanto, en teoría los juveniles deberían producir relativamente más ERO y tener mayor actividad enzimática que los adultos por que están expuestos por mayor tiempo a condiciones oxidantes y a los rayos UV que

promueven la producción de radicales libres (Camus y Gulliksen, 2005). Además, se supone que la capacidad antioxidante de los crustáceos disminuye con la edad, como ha sido previamente encontrado en anfípodos y cladóceros (Correia *et al.*, 2003; Barata *et al.*, 2005). Sin embargo, es posible que los juveniles eufáusidos de las especies de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* tienen un metabolismo proporcionalmente más reducido que los adultos. Esta suposición se basa en los resultados de Ishii *et al.* (1987) quienes establecieron que la tasa de respiración de *E. superba* en función del peso seco de juveniles y adultos tenía una regresión lineal positiva. Por lo tanto, no necesariamente se puede esperar una producción más elevada de ERO de los juveniles debido a una posible tasa de respiración menor que la de los adultos. También, es posible que no se hayan encontrado diferencias debido al tamaño reducido de muestra de los juveniles (8% para *N. simplex*, 13% para *N. difficilis* y 3% para *E. eximia*).

Se encontraron diferencias por sexo solamente en *N. difficilis* durante la temporada fría, cuando los machos tenían una actividad enzimática de la CAT significativamente más alta que las hembras y los juveniles. Aunque la misma tendencia también se notó en las otras enzimas, éstas diferencias no fueron significativas (Fig. 21). Correia *et al.* (2003) encontraron mayor actividad de la GPx en los machos de *Gammarus locusta* sin dar una explicación convincente de esta tendencia. En este estudio, es posible que esta diferencia se atribuya a un sesgo asociado con el hecho que los machos de *N. difficilis* fueron recolectados mayoritariamente entre 150 y 200 m de profundidad, mientras que los juveniles y las hembras se distribuyeron entre 25 y 200 m. Es posible que estas diferencias se deban a otras influencias, que se explican más ampliamente en la sección 10.3.3. Por eso, en esta tesis podemos concluir que las tres especies no demostraron diferencias intraespecíficas en los indicadores de estrés oxidativo entre sexos.

10.3.2 Estacional

Los cambios en las condiciones ambientales en una escala estacional influenciaron los indicadores de estrés oxidativo de las tres especies de eufáusidos a

diferentes niveles. En julio, *N. simplex* tuvo un incremento en el daño oxidativo a lípidos (TBARS 100 veces más alto que en enero) indicando estrés oxidativo (Fig. 15). Este estrés es coherente con el incremento en la temperatura y la reducción en abundancia de *N. simplex* en comparación con las condiciones frías (enero) (Figs. 11 a 14) que concuerda con los patrones de variación estacional registrada en investigaciones previas (Brinton y Townsend, 1980; Gendron, 1990, De Silva-Dávila y Palomares-García, 1998, 2002). La actividad de las enzimas antioxidantes también se incrementó hasta 30 veces más en julio que en enero (Fig. 15), sin aparentemente ser suficiente para equilibrar la producción de ERO.

En la temporada cálida, *N. difficilis* y *E. eximia* tuvieron un incremento en la producción del $O_2^{\cdot-}$ (Figs. 20 y 27). En el caso de *N. difficilis*, aparentemente este incremento fue neutralizado principalmente por la actividad de la CAT (Fig. 20) y en el caso de *E. eximia*, las cinco enzimas analizadas tuvieron una tendencia a incrementarse durante la temporada cálida, especialmente la GPx (Fig. 27). Esta respuesta enzimática antioxidante favorece que el daño oxidativo a lípidos en las dos especies se reduzca considerablemente en relación a lo registrado durante la temporada fría (Figs. 20 y 27). Otra interpretación de lo que se encontró en estas dos especies en relación a *N. simplex*, es que durante la temporada cálida, gran parte de los eufáusidos se quedan en estratos por debajo de los muestreos verticales (200 m) evitando el posible efecto de la temperatura superficial elevada.

El incremento de la producción del $O_2^{\cdot-}$ en *N. difficilis* y *E. eximia*, así como el aumento en la peroxidación de lípidos en *N. simplex*, puede ser el resultado de un conjunto de factores que ocurren en la temporada cálida: (1) las temperaturas elevadas en julio y octubre en el GC modifican claramente los comportamientos y patrones específicos e intraespecíficos de MVD de las tres especies; (2) el incremento del fotoperiodo (~10h45 en enero a ~15h en Julio; datos del observatorio de la NAVY, http://aa.usno.navy.mil/data/docs/RS_OneDay.php) puede incrementar la producción exógena del $O_2^{\cdot-}$ y del H_2O_2 en los estratos superficiales del agua (capa fótica); (3) y la presencia de aguas hipóxicas (<20% saturación, <1.5 ml O_2 L⁻¹) a partir de 100 m especialmente en las zonas costeras inducidas por eventos de surgencia (Fig. 8). En otros invertebrados marinos (poliquetos y cangrejos) se han detectado efectos estacionales similares en cuanto a varios indicadores de estrés

oxidativo y han sido asociados principalmente a cambios de temperatura, fotoperiodo y salinidad (Buchner *et al.*, 1996; Kong *et al.*, 2008). De acuerdo con Buchner *et al.* (1996), la actividad de la SOD y CAT de *Arenicola marina*, aumentó significativamente en respuesta a las temperaturas más elevadas del verano y a la concentración más alta de H₂O₂ en los sedimentos. La actividad de la SOD, CAT y GPx, así como el daño oxidativo a lípidos (medido como TBARS) se incrementaron significativamente en verano en *Scylla serrata* y al igual que para *N. simplex*, la actividad enzimática no fue suficiente para evitar un estrés oxidativo (Kong *et al.*, 2008).

10.3.3 Espacial

En el GC (enero 2007), *N. difficilis* mostró diferentes respuestas en función de las condiciones oceanográficas en distintas localidades geográficas. Esta especie mostró un incremento significativo de la actividad de la SOD-total en la cuenca de Guaymas, donde la CMO era relativamente somera ~70 m, en comparación con regiones costeras donde la CMO se ubicaba entre 150 y 300 m (Figs. 25 y 26). Este incremento en la actividad enzimática se debió probablemente al aumento de la producción del O₂^{•-} en estos organismos (la SOD tiene la función precisamente de neutralizar estas ERO), que ocurrió en respuesta a la hipoxia en una CMO somera (Figs. 25 y 26). Es factible que la producción del O₂^{•-} tiene la función de ser una señal que active factores implicados en la biogénesis de mitocondrias (Schrek y Baeuerle, 1991; Hochachka y Lutz, 2001; Martindale y Holbrook, 2002; Bickler y Buck, 2007). Debido a la reducida abundancia y menor frecuencia de aparición de *N. simplex* y *E. eximia* alrededor de la cuenca de Guaymas, no fue posible hacer una comparación geográfica similar a la realizada con *N. difficilis*.

10.3.4 Vertical

Recientemente, se han utilizado varios análisis y aproximaciones bioquímicas para comprender las adaptaciones de los eufáusidos asociadas al proceso de MVD

y/o a los cambios de las condiciones oceanográficas de cada región (Spicer *et al.*, 1999; Buchholz y Sabarowsky, 2000; Salomon *et al.*, 2000; Bucklin *et al.* 2002; González y Quiñones, 2002; Sabarowsky y Buchholz, 2002; Spicer y Strömberg, 2002). La mayoría de estos autores no compararon explícitamente ni cuantitativamente las variables ambientales medidas a lo largo de la distribución vertical de los eufáusidos (Buchholz y Sabarowsky, 2000; Bucklin *et al.*, 2002; Sabarowsky y Buchholz, 2002) o fue imposible por que muestrearon con redes Bongo (integración de toda la columna de agua) (González y Quiñones, 2002).

En este estudio se presentaron dos escenarios distintos de los indicadores de estrés oxidativo en las tres especies de eufáusidos en función de sus patrones específicos de MVD. En la temporada fría, los organismos de *N. difficilis* que se encontraron en los estratos más profundos (150 a 200 m) tenían una producción del $O_2^{\cdot-}$ más elevada que los encontradas entre 50 y 100 m (Fig. 22). La elevada actividad de las enzimas SOD-total y GR entre 100 y 150 m puede ser interpretada como un proceso para contrarrestar este aumento de producción del $O_2^{\cdot-}$ debido a que de acuerdo con los resultados de peroxidación de lípidos, ninguna de las especies estudiadas experimentaron estrés oxidativo durante la temporada fría (Fig. 30). Otra posibilidad en cuanto a la actividad elevada de las enzimas SOD-total y GR en estratos profundos podría ser un proceso de acondicionamiento para prepararse a una posterior reoxigenación (por ejemplo cuando los eufáusidos suben a la superficie después de haber sido expuestos a condiciones hipóxicas en aguas profundas), como ha sido observado en invertebrados, anfibios, reptiles y peces (Hermes-Lima *et al.*, 1998; Hermes-Lima y Zenteno-Savín, 2002; Lushchak *et al.*, 2005; Bickler y Buck, 2007). En *N. simplex* se observó algo similar cuando la producción del $O_2^{\cdot-}$ incrementó (3 veces) con la profundidad acompañada con una mayor actividad de la SOD-total durante la temporada fría (Fig. 18). Sin embargo, las diferencias en la actividad enzimática entre las capas someras y profundas fueron marginalmente significativas. En este trabajo se evidenció que *N. simplex* y *N. difficilis* incrementan su tasa de respiración en relación inversa con la concentración de O_2 y que la tasa de respiración estandarizada a peso del organismos es significativamente mayor para *N. difficilis* que para *N. simplex* (Fig. 33). Este incremento de la tasa de respiración puede explicar el incremento de la producción del $O_2^{\cdot-}$ en función de la profundidad, como fue observado en el anfípodo béntico

Eurythenes gryllus, que mostró una asociación directa entre la tasa de respiración y la concentración de las ERO (Camus y Gulliksen, 2005). No es posible realizar la comparación de los indicadores de estrés oxidativo durante la temporada cálida debido a la disminución en abundancia y frecuencia de aparición de *N. difficilis* en los muestreos estratificados (Fig. 12) y a que durante esta época del año *N. simplex* no migra hasta los primeros estratos de la columna de agua (Fig. 14). Los resultados indican que durante la temporada fría, *N. simplex* y *N. difficilis* pueden neutralizar los efectos de la exposición a condiciones hipóxicas en aguas profundas. Sin embargo, ello no implica que estas especies tienen la capacidad de penetrar y habitar de manera permanente en aguas hipóxicas, como las que ocurren en estratos relativamente someros en el POT (Fig. 35) (Brinton, 1962, 1979; Brinton *et al.* 2000; Bucklin *et al.*, 2002). Este efecto posiblemente se deba al porcentaje reducido de saturación de O₂ típico de zonas cálidas (Fernández-Álamo y Färber-Lorda, 2006; Fiedler y Talley, 2006).

La respuesta fisiológica y adaptativa de *E. eximia* a la hipoxia es diferente a la observada en *N. difficilis* y *N. simplex*. Eso se puede explicar porque *E. eximia* tiene mayor proporción de la superficie branquias/cefalotórax, como una adaptación a la exposición frecuente a condiciones donde la CMO es típicamente somera (Antezana, 2002). En concordancia con esta adaptación morfológica, en esta tesis se evidenció que *E. eximia* no tiene elevada actividad enzimática antioxidante en profundidad (entre 100 y 200 m), durante ninguna de las dos temporadas (Figs. 28 y 29). Esto demuestra que las condiciones hipóxicas no tiene un efecto detectable en la producción de ERO, como fue el caso de *N. difficilis* y *N. simplex*. Debido al reducido número de muestras, baja abundancia y frecuencia de aparición, no se encontraron diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo en *E. eximia* en función de la profundidad en enero del 2007 (temporada fría) (Fig. 11). Sin embargo, los datos indican que *E. eximia* experimentó un estrés oxidativo considerable cuando los individuos se encontraron cerca de la superficie durante la noche, siendo en este estrato donde se detectó el más elevado daño oxidativo a lípidos (Fig. 29). En asociación con este daño oxidativo, se observó una elevada actividad de la enzima SOD-total y la tendencia al incremento de la actividad de las otras enzimas de 50-100 m hasta la superficie (Fig. 29). Es interesante notar que esta especie experimentó cierto estrés oxidativo en concentraciones de O₂ más

elevadas. No se han reportado agregaciones superficiales diurnas de *E. eximia* como frecuentemente se observan para *N. simplex* y, ocasionalmente y de menor densidad, para *N. difficilis* con fines reproductivos (Gendron 1990, *com. pers.*), aunque es común registrarla en los primeros 50 m de día y de noche en su centro de distribución (Brinton 1979). Estas observaciones sugieren que *E. eximia* migra hasta la superficie esencialmente para alimentarse; ahí el daño oxidativo es de menor magnitud de el que experimenta *N. simplex* durante la temporada cálida. Por lo tanto, el aumento de la superficie branquial relativa al cefalotórax le permite a esta especie migrar más profundamente alcanzando estratos con condiciones hipóxicas. Esta adaptación morfológica hace posible que las condiciones hipóxicas, usualmente desfavorables o limitantes para otras especies de eufáusidos, no lo son para *E. eximia*; lo anterior es apoyado por la ausencia de cambio de los indicadores de estrés oxidativo con la profundidad.

Hasta ahora no se han estudiado los indicadores de estrés oxidativo en ninguna especie de eufáusidos ni en condiciones de campo, ni en condiciones de laboratorio. Sin embargo, Spicer *et al.* (1999) y Spicer y Strömberg (2002) observaron que *Meganyctiphanes norvegica*, una especie que no se distribuye normalmente en regiones con hipoxia, tenía una reducida tolerancia a condiciones hipóxicas evidenciadas por un incremento relativo en la concentración de lactato, en ocasiones en concentraciones letales, y una marcada disminución de hemocianina en asociación directa con la profundidad. González y Quiñones (2002) estudiaron las respuestas de la LDH comparando las respuestas de una especie de eufáusido endémica de la Corriente de Humboldt (con zonas hipóxicas someras), *Euphausia mucronata*, y una especie de copépodo endémico *Calanus chilensis* de la misma zona que no penetra a estratos por debajo de la CMO. Ellos encontraron que la actividad de la LDH es significativamente mayor en *E. mucronata* que en *C. chilensis*. Sin embargo, debido a que las muestras fueron obtenidas con una red Bongo (integrando la captura de zooplancton a lo largo de la columna de agua), en ese estudio no fue posible asociar directamente la respuesta de esta enzima con condiciones ambientales discretas en cada capa de la columna de agua. Independientemente de esta limitación metodológica, sus resultados implican que dos especies endémicas de una misma región no necesariamente tienen una respuesta metabólica similar a concentraciones de O₂ características de la CMO. Es

necesario precisar que los eufáusidos y los copépodos son dos grupos taxonómicos con diferencias marcadas en capacidades de natación, comportamiento de alimentación, MVD, tasas metabólicas, longevidad, tamaño y diferencias anatómicas (por ejemplo, los copépodos no tienen branquias externas) que pueden influenciar en las diferencias en LDH observadas. Estas divergencias complican la interpretación de las diferencias encontradas en este estudio.

En el presente estudio se compararon tres especies de eufáusidos que cohabitan en el GC, pero que tienen afinidades zoogeográficas con centros de distribución distintos: *N. difficilis*, especie endémica transicional (templado subártica) del Pacífico Norte, Corriente de California y GC; *N. simplex*, especie del sistema de bordes orientales de las corrientes de California y de Humboldt, pero ausente en el POT (7-20°N); *E. eximia*, especie endémica del POT con centros de distribución ubicados a lo largo de los bordes fríos de esta zona (Brinton, 1962, 1975, 1979; Brinton *et al.*, 2000). Dadas las diferencias zoogeográficas distintas como resultado de un proceso evolutivo (Brinton, 1962), se espera encontrar distintas adaptaciones interespecíficas reflejadas en respuestas fisiológicas y estrategias de MVD acordes con las condiciones ambientales típicas de las masas de agua en las cuales las especies han evolucionado (Brinton, 1962; Johnson y Brinton, 1963).

10.3.5 Interespecífica

Las diferencias interespecíficas en los indicadores de estrés oxidativo posiblemente tienen potencialmente una estrecha asociación con el ámbito de distribución zoogeográfica de los eufáusidos. Durante la temporada fría, *N. simplex* tuvo una producción del radical $O_2^{\cdot-}$ significativamente superior a *N. difficilis* y una actividad enzimática menor en todas las enzimas, excepto la CAT (Fig. 30). La mayor actividad enzimática en *N. difficilis* y *E. eximia* (Fig. 30) puede explicarse por su capacidad de realizar MVD más extensas y profundas que *N. simplex* (Brinton, 1967, 1979; Youngbluth, 1975, 1976; Lavaniegos, 1996; Bucklin *et al.*, 2003; este estudio), por lo que se puede asumir que éstas especies están expuestas por más tiempo a condiciones hipóxicas. Sin embargo, aunque *N. difficilis* y *E. eximia* tienen

amplias MVD en el GC, *N. difficilis* (que tiene su centro de distribución en la zona transicional del Pacífico norte) no está usualmente distribuida en regiones con CMO someras como está *E. eximia* en el POT (Brinton 1979, Gopalakrishnan, 1974). En julio, *N. simplex* parece ser la especie que experimenta el mayor estrés oxidativo con un aumento significativo del daño a lípidos y una actividad enzimática significativamente más elevada que las otras dos especies (Fig. 31). Este mayor estrés puede ser debido a que *N. simplex* se distribuyó a menor profundidad (50-100 m) que las otras dos especies en julio del 2007 (Fig. 14) y está expuesta a temperaturas más cálidas ($>22^{\circ}\text{C}$), que al parecer son demasiado cálidas para *N. difficilis* pero dentro de un intervalo tolerable para *E. eximia*. Los juveniles de *N. difficilis* aparecieron entre 25 y 50 m de profundidad en enero y se recolectaron a 100 m de profundidad en julio (Figs. 13 y 14), lo que apoya la hipótesis de una intolerancia a temperaturas más cálidas. El análisis de ordenación NMDS (Fig. 32; Tabla 1) demostró que existen diferencias en las respuestas enzimáticas interespecíficas y estacionales en función de los gradientes ambientales (principalmente verticalmente) de la temporada fría, así como entre el inicio y el final de la temporada cálida. Estas diferencias son consistentes con la interpretación de que las diferencias a nivel de especie son el resultado de un proceso evolutivo de especiación. Las respuestas fisiológicas de los indicadores de estrés oxidativo de cada especie de eufáusidos son posiblemente influenciados por la adaptación a las características físico-químicas y biológicas que ocurren en las masas de agua donde habitan. Un argumento relevante sobre esta interpretación la provee el análisis MRPP que indicó diferencias significativas entre los indicadores de estrés oxidativo de los organismos capturados en el crucero de julio y los de octubre del 2007, aun cuando ambos cruceros fueron realizados durante la temporada cálida. En octubre, las muestras provinieron de la parte sur del GC con datos de TS mostrando el predominio de agua superficial ecuatorial (Fig. 7), lo que puede explicar las diferencias encontradas en los indicadores de estrés oxidativo. La diferencia principal entre la masa de agua del GC y la masa de agua superficial ecuatorial es la salinidad, que es menor en esta última. En diferentes estudios se ha observado que cambios en la salinidad y en la temperatura afectan varios indicadores de estrés oxidativo (Buchner *et al.*, 1996; Kong *et al.*, 2008), por ello se puede explicar la distancia encontrada en el análisis NMDS entre los indicadores de estrés oxidativo de *N. difficilis* del crucero de julio y los de octubre del 2007. Según el análisis de ISA,

únicamente los indicadores de estrés oxidativo de *E. eximia* fueron característicos de agua por debajo de la termoclina y de la CMO (Tabla 3). Esto se debe probablemente a que las muestras de *N. simplex* y *N. difficilis* no fueron encontradas en gran número por abajo de estas fronteras impuestas por gradientes pronunciados de concentración de O₂. Esto posiblemente ayude a comprender por qué *N. simplex* y *N. difficilis* actualmente están ausentes en el POT, pero en el caso de *N. simplex* presente en los sistemas de la Corrientes de California y de la Corriente de Humboldt (Brinton, 1979; Brinton *et al.*, 2000).

En la figura 34 se presenta un modelo conceptual que sintetiza la distribución vertical de los eufáusidos estudiados en el GC y de los indicadores de estrés oxidativo (Actividad de SOD y GPx, TBARS) de las tres especies de eufáusidos como una respuesta fisiológica a los cambios oceanográficos importantes durante las temporadas fría (enero) y cálida (julio y octubre). En esta figura se indican los cambios estacionales de la temperatura superficial (18°C en enero a 30°C en julio) en los primeros 50 m y de la CMO (>100 m en enero y >80 m en julio) que afectan fisiológicamente los patrones de MVD de las tres especies de eufáusidos. Es probable que esto ocurra en otras especies de eufáusidos de la región (*E. distinguenda*, *Euphausia tenera*, *N. gracilis*, *E. lamelligera*) o inclusive posiblemente en otros organismos zooplanctónicos de la región.

10.4 Procesos zoogeográficos

Los patrones de respuesta de los indicadores de estrés oxidativo en función de las variaciones espacio-temporales de las condiciones ambientales del GC en las que se encontraron las tres especies coinciden con una interpretación concebida a partir del ámbito de distribución geográfica para cada especie (Fig. 35). *N. simplex*, que desaparece gradualmente del POT y de la zona ecuatorial (Brinton, 1962, 1979; Brinton *et al.*, 2000) (Fig. 35), aparentemente no ha desarrollado una respuesta ecofisiológica adecuada para tolerar concentraciones de O₂ reducidas, típicamente someras en el POT (concentraciones <3.5 mg O₂ L⁻¹ durante 15-30 minutos fueron letales en los experimentos de tasa de respiración) y experimenta un estrés oxidativo considerable durante la temporada cálida (Fig. 15), concentrándose principalmente

en los márgenes neríticos y fríos del GC (Fig. 12). Estas respuestas metabólicas pueden explicar su afinidad por habitar en grandes densidades en zonas neríticas de surgencias costeras, típicas de los sistemas de la Corriente de California, GC y de la Corriente de Humboldt. Ésta especie está virtualmente ausente en el POT, formando dos grupos poblacionales uno para cada hemisferio (Fig. 35) (modificado de Brinton, 1962, 1979 y Brinton *et al.*, 2000). Aunque no existen estudios genéticos que ayuden a estimar el origen de la separación de estos dos grupos poblacionales, la morfología comparada de especímenes de ambos hemisferios sugiere que esta separación ha sido relativamente reciente (puesto que aún son reconocidas como *N. simplex*), en comparación a lo observado en *N. difficilis* y *Nematoscelis megalops* (especie hermana). Morfológicamente, ambas especies son extremadamente similares, pero *N. difficilis* se encuentra distribuida en la zona de transición templado-subártica en el hemisferio norte, Corriente de California y Golfo de California mientras que *N. megalops* ésta en la zona de transición subártica en el hemisferio sur. Se ha históricamente asumido que el proceso de especiación se ha completado entre las dos especies (Brinton, 1962; Brinton *et al.*, 1962). Sin embargo, aún existen dudas sobre la especiación de *N. difficilis* y *N. megalops* (Karedin, 1971; Gopalakrishnan, 1974, 1975). *E. eximia*, parece estar mejor adaptada a tolerar las condiciones de hipoxia y temperaturas elevadas del verano en el GC y de la región ecuatorial, lo cual se ve reflejado en su capacidad de habitar los márgenes fríos del POT mientras que tiene un menor éxito en la región 11-20°N (Brinton, 1979) (Fig. 35).

Brinton y Townsend (1980) consideraron que la CMO del GC no parecía ser suficientemente somera, drástica y extensa para actuar como una frontera vertical limitante en la distribución de los eufáusidos o que influyera sobre la presencia o ausencia de las especies de eufáusidos, como es el caso de la región del POT. Con los cambios estacionales que se observaron para las tres especies de eufáusidos en el GC, tanto ecológicos como fisiológicos, se puede sugerir que el conjunto de éstas condiciones (termoclina y CMO más someras, temperatura superficial más cálida) está determinando las regiones donde cada especie puede proliferar en conjunto con la tolerancia a penetrar o no a la CMO, modificando así a largo plazo los patrones zoogeográficos de los eufáusidos. Stramma *et al.* (2008) informaron que la concentración de O₂ ha decrecido en los últimos 50 años como un efecto del

calentamiento climático global en el Pacífico ecuatorial que pudiera tener consecuencias dramáticas para los ecosistemas y las economías costeras. Evidentemente, las consecuencias de estos cambios en los ecosistemas aún son pobremente entendidos a nivel mundial pero las respuestas fisiológicas interespecíficas pueden dar una idea de cómo cada especie puede responder en sus patrones de distribución y dinámica poblacional a estos cambios resultado de la reorganización espacio-temporal del POT y de la profundidad y extensión de la CMO.

En una perspectiva de cambios climáticos y oceanográficos, se demostró en este estudio que la profundidad e intensidad del gradiente de la termoclina, oxiclina y de la CMO cambia en el GC considerablemente de la temporada fría a la temporada cálida. Estos factores influyen en los patrones de distribución y posiblemente de abundancia de los eufáusidos del GC, sobre todo en *N. simplex*, que ha demostrado ser una especie clave de la trofodinámica de esta región. Esta especie constituye la presa principal de especies carismáticas como la ballena azul *Balaenoptera musculus*, la ballena de aleta *B. physalus* (Gendron 1990, 1992; Del-Angel Rodríguez, 1997), el tiburón ballena *Rhincodon typus* (Ketchum Mejía, 2003) y mantas *Mobula lucasana* (Gendron, 1992), *M. thurstoni* y *M. japonica* (Sampson, 2007). Si la expansión de la CMO e incremento del periodo de las condiciones cálidas son un escenario probable en el futuro, se podría suponer que la distribución y/o abundancia de *N. simplex* pudiera desplazarse hacia el norte modificando también los patrones de distribución y/o migración de sus depredadores, lo cual puede tener consecuencias ecológicas y económicas sin precedentes para la sociedad que vive alrededor del GC.

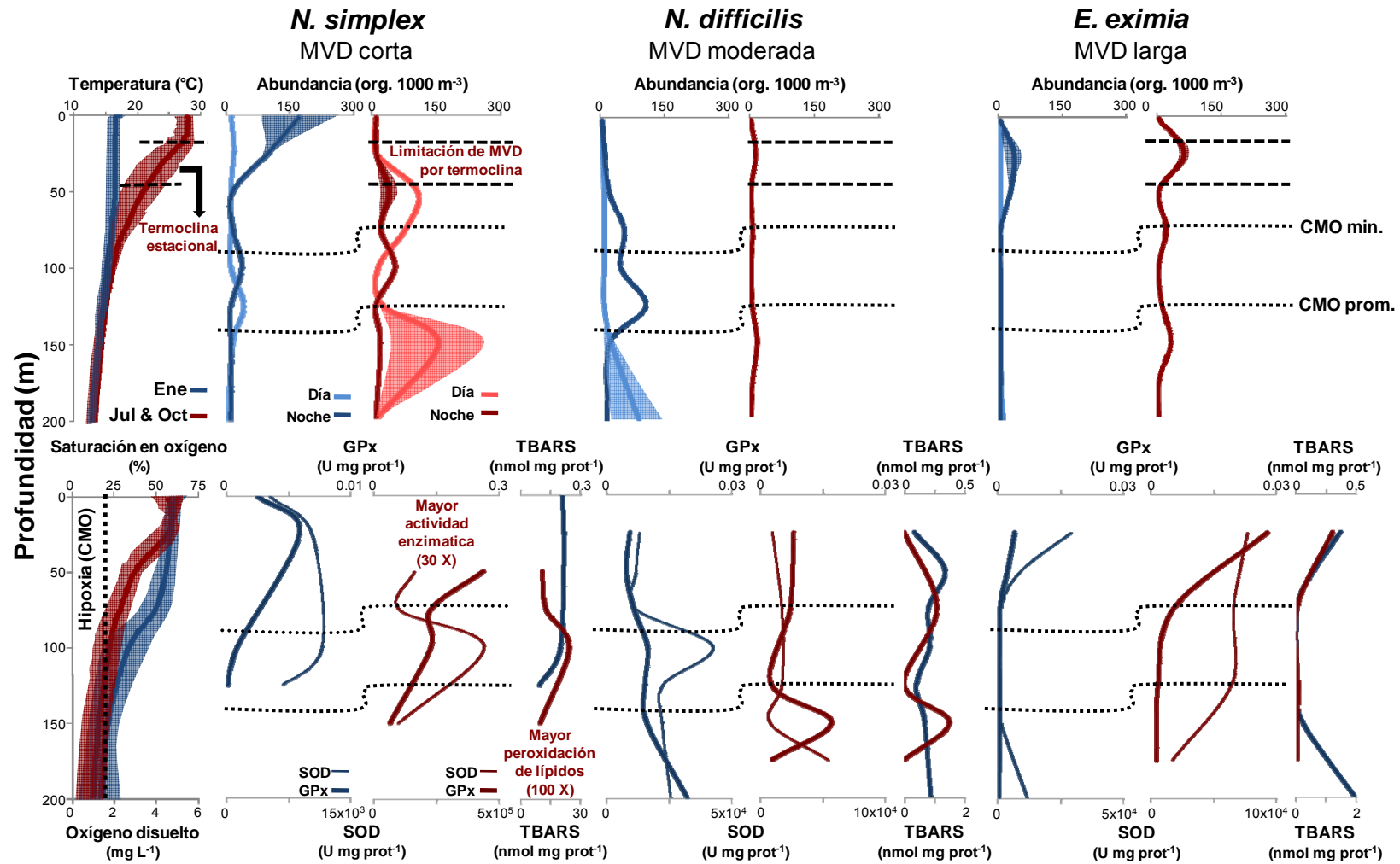


Figura 34. Modelo conceptual vertical de la distribución y de los indicadores de estrés oxidativo de euphausíidos con migración vertical diaria (MVD) corta (*N. simplex*), moderada (*N. difficilis*) y larga (*E. eximia*) según las temporadas fría (enero; azul) y cálida (julio y octubre; rojo) del Golfo de California en 2007. CMO = capa mínima de oxígeno; SOD = superóxido dismutasa; GPx = glutatión peroxidasa; TBARS = peroxidación de lípidos.

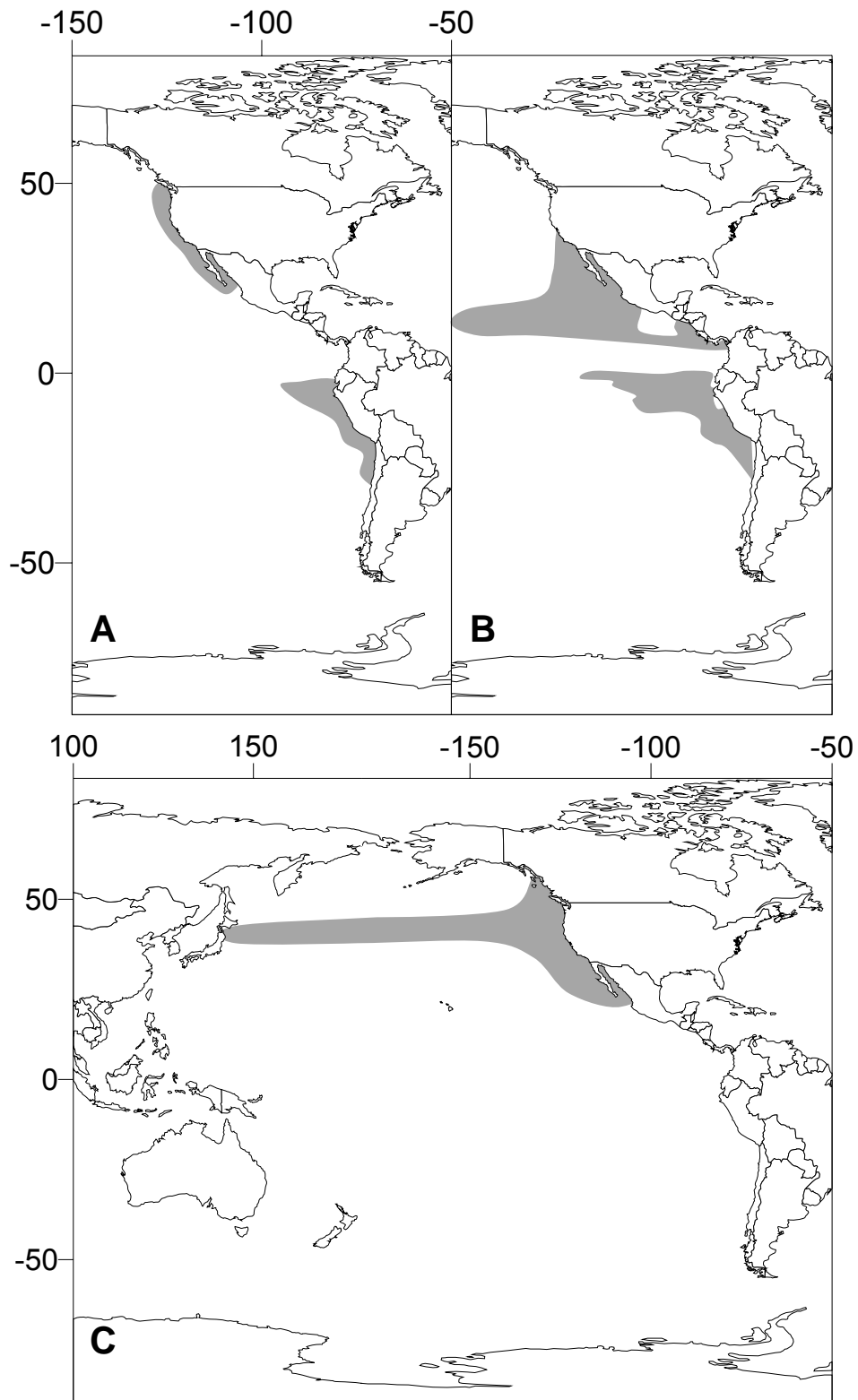


Figura 35. Distribución zoogeográfica de los eupáusidos: (A) *Nyctiphanes simplex* en la Corriente de California, Golfo de California y Corriente de Humboldt, (B) *Euphausia eximia* en el Pacífico Oriental Tropical con mayores densidades en los bordes fríos de esta zona y (C) *Nematoscelis difficilis* a lo largo de la zona de transición del Pacífico Norte (mapas modificados de Brinton, 1962, 1979, Brinton *et al.*, 2000).

11. Conclusiones

- La actividad de las enzimas antioxidantes de *N. simplex* en función de la profundidad es comparativamente más variable que en *N. difficilis* y *E. eximia*, principalmente durante la temporada cálida (Julio y Octubre) cuando experimenta un estrés oxidativo, indicado por los mayores niveles de TBARS. Durante la temporada cálida la actividad enzimática fue 30 veces más elevada que durante la temporada fría, siendo insuficiente para contrarrestar el daño oxidativo a lípidos, cuya magnitud fue 100 veces mayor en la temporada cálida que en la temporada fría.
- *N. difficilis* y *N. simplex* pueden mantener un balance bioquímico entre la producción y la eliminación del $O_2^{\cdot-}$ durante la temporada fría cuando están expuestos a condiciones hipóxicas en aguas profundas durante su MVD.
- *E. eximia* incrementa la actividad de la SOD principalmente durante el movimiento de las capas profundas a las capas superficiales, lo que representa una posible respuesta a la reoxigenación después de haber estado expuesta a condiciones hipóxicas en las capas profundas.
- En el Golfo de California, *N. simplex* tiene una distribución vertical principalmente limitada por la profundidad de la CMO causada por una insuficiente tolerancia a reducciones abruptas en la concentración de O_2 (condiciones experimentales $<3.5 \text{ mg } O_2 \text{ L}^{-1}$ por >15 minutos fueron letales).
- *N. difficilis* y *E. eximia* realizan migraciones verticales más extensas que *N. simplex*, lo que implica una mayor exposición a condiciones hipóxicas por periodos más prolongados durante su MVD.
- No se encontraron cambios ontogénicos (variaciones intraespecíficas), en los indicadores de estrés oxidativo, en ninguna de las tres especies de eufáusidos estudiadas. Aunque esto puede estar estadísticamente sesgado por el tamaño de muestra de los juveniles.

- Las tres especies no demostraron diferencias intraespecíficas en los indicadores de estrés oxidativo entre sexos.
- Considerando que la variabilidad interespecífica en los indicadores de estrés oxidativo fue significativamente mayor que la variabilidad intraespecífica y comparando los gradientes verticales de las masas de agua que se presentan en la corriente de California, GC y POT (en términos de temperatura, profundidad de la termoclina, oxiclina y CMO), la capacidad antioxidante de cada especie podría provocar en parte cambios paulatinos evolutivos (adaptativos), que podrían verse reflejados en la distribución vertical y espacio-temporal distintos de los eufáusidos y que explican sus actuales patrones zoogeográficos.

12. Recomendaciones

- Muestrear de día y de noche en la misma estación para observar los cambios en los indicadores de estrés oxidativo que pueden ocurrir a lo largo de un ciclo de migración vertical diaria con condiciones oceanográficas comparables, preferentemente con muestreos de redes tipo MOCNESS o BIONESS a profundidades mayores de 200 m.
- Para comprender si las variaciones interespecíficas son suficientemente distintas para sugerir una ecofisiología distintas para cada especie de eufáusido con distribución restringida (no para especies circumglobales o cosmopolitas), se podría realizar un estudio y muestreo similar con las mismas especies, pero recolectando individuos en sus respectivos centros de distribución zoogeográfica, particularmente en regiones donde existe relativamente poco traslape entre *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia*. Así, se podría observar si existen o no diferencias con los indicadores de estrés oxidativo medidos en el GC y concluir más robustamente sobre las zonas de distribución de cada especie.
- Estimar los indicadores de estrés oxidativo de otras especies de eufáusidos que experimentan de una manera más frecuente ambientes bajos en concentración de O₂: (1) de las especies endémicas del POT (*Euphausia distinguenda* y *Euphausia lamelligera*), (2) especies tropicales con distribución circumglobal (*Euphausia tenera* y *Nematoscelis gracilis*), y (3) evaluar la respuesta de tamaño de la especie (debido a que *E. distinguenda* y *E. tenera* son una de las especies más pequeñas del mundo) para cuantificar el efecto potencial de la talla de como una adaptación para habitar regiones con CMO somera.
- Realizar un diseño experimental para medir los indicadores de estrés oxidativo a diferentes saturaciones de O₂ y temperatura para comparar lo que ocurre en la naturaleza en cuanto a la tolerancia de la hipoxia bajo condiciones controladas.

- Evaluar el efecto de los rayos UV en los eufáusidos en cuanto a daños oxidativos al ADN y proteínas, el cual puede ser particularmente relevante en las agregaciones superficiales diurnas que realiza frecuentemente *N. simplex* y ocasionalmente *N. difficilis*. Complementar la interpretación de estos análisis con el contenido de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) de los eufáusidos. Así, se podría concluir si los daños oxidativos se concentran en las PUFAs cuando el organismo tiene más (adultos vs. juveniles), en lugar de dañar su ADN y proteínas.
- Debido a que los eufáusidos emiten luz vía bioluminiscencia, podría ser interesante estimar la cantidad de ERO eliminados por este proceso como ha sido informado en estudios previos para otros organismos (Rees *et al.*, 1998).

13. Literatura citada

- Aceves-Medina, G., S.P.A. Jiménez-Rosenberg, A. Hinojosa-Medina, R. Funes-Rodriguez, R.J. Saldierna, D. Lluch-Belda, P.E. Smith & W. Watson. 2003. Fish larvae from the Gulf of California, *Sci. Mar.*, 67: 1-11.
- Acworth, I.N. & B. Bailey. 1995. *The handbook of oxidative metabolism*. ESA Inc., 36 p.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. 121-125. *En: Packer, L. (Ed.) Methods in enzymology*, Vol. 105: Oxygen radicals in biological systems. Academic Press Inc., Orlando, FL.
- Ahmad, S. & R.S. Pardini. 1988. Evidence for the presence of glutathione peroxidase activity towards an organic hydroperoxide in larvae of the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. *Insect Biochem.* 18: 861-866.
- Álvarez-Borrego, S., 1983. Gulf of California. *En: Ketchum, B.H. (Ed.) Ecosystems of the World, Estuaries and Enclosed Seas.*, Elsevier Scientific Publishing House, pp. 427-449.
- Álvarez-Borrego, S. & J.R. Lara-Lara. 1991. The physical environment and productivity of the Gulf of California. *En: Dauphin, J.P., & B. Simoneit (Eds.) The Gulf and peninsular province of the Californias*. Am. Assoc. Pet. Geol. Mem. 47: 555-567.
- Andersen, V. & J. Sardou. 1992. The diel migrations and vertical distributions of zooplankton and micronekton in the Northwestern Mediterranean Sea. 1. Euphausiids, mysids, decapods and fishes. *J. Plankton Res.* 14: 1129-1154.
- Antezana, T. 2002. Adaptive behaviour of *Euphausia mucronata* in relation to the oxygen minimum layer of the Humbolt Current. *Oceanogr. Eastern Pacific II*, 29-40.
- Asada, K. & M. Takahashi. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. *En: Kyle, D.J., C.B. Osmond, C.J. Arntzen (eds) Photoinhibition*, Elsevier: Amsterdam, pp. 228-287.
- Badan-Dangon, A., C.J. Koblinsky & T. Baumgartner. 1985. Spring and summer in the Gulf of California: observations of surface thermal patterns, *Oceanol. Acta*, 8: 13-22.

- Barange, M. 1990. Vertical migration and habitat partitioning of six euphausiid species in the northern Benguela upwelling system, *J. Plank. Res.*, 12(6): 1223-1237.
- Barata, C., J.C. Navarro, I. Varo, M.C. Riva, S. Arun & C. Porte. 2005. Changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in *Daphnia magna* during the aging process. *Comp. Biochem. Phys. B*, 140: 81-90.
- Bickler, P.E. & L.T. Buck. 2007. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: Life with variable oxygen availability. *Annu. Rev. Physiol.*, 69: 145-70.
- Bollens, S.M. & B.W. Frost. 1989. Zooplanktivorous fish and variable diel vertical migration in the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnol. Oceanogr.* 34: 1072-1083.
- Boveris, A. & E. Cadenas. 1982. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. *En: Oberley, L.W. (ed) Superoxide Dismutase*, vol. 2, Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 15-30.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Brinton, E. 1967. Vertical migration and avoidance capability of euphausiids in the California. *Current. Limnol. Oceanogr.*, 12: 451-483.
- Brinton, E. 1962. The distribution of Pacific euphausiids. *Bull. Scripps Inst. Oceanogr.*, 8(2): 51-270.
- Brinton, E. 1975. Euphausiids of southeast Asian waters. The University of California Scripps Institution Oceanography. La Jolla California, *NAGA Rep. Scripps Inst. Oceanogr.* 4(5): 1-287 pp.
- Brinton, E. 1979. Parameters relating to the distribution of planktonic organisms, especially euphausiids in the Eastern Tropical Pacific. *Prog. Oceanogr.*, 8(3): 125-189.
- Brinton, E. & A.W. Townsend. 1980. Euphausiids in the Gulf of California – The 1957 cruises. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 21: 1-26.
- Brinton, E. & A.W. Townsend. 2003. Decadal variability in abundances of the dominant euphausiid species in southern sectors of the California Current. *Deep-Sea Res. II*, 50: 2449-2472.

- Brinton, E., A. Fleminger & D. Siegel-Caussey. 1986. The temperate and tropical planktonic biotas of the Gulf of California. Rep. Calif. coop. oceanic. Fish Invest. 27: 221-236.
- Brinton, E., M.D. Ohman, A.W. Townsend, M.D. Knight & A.L. Bridgeman. 2000. Euphausiids of the world ocean. Series: World Biodiversity Database CD-ROM, Series Window version 1.0., Expert Center for Taxonomic Identification, Amsterdam, Netherlands, Springer Verlag, New York.
- Brouwer, M., T.H. Brouwer, W. Grater, J.J. Enghild & I.B. Thogersen. 1997. The paradigm that all oxygen-respiring eukaryotes have cytosolic CuZn-superoxide dismutase and that Mn-superoxide dismutase is localized to mitochondria does not apply to a large group of marine arthropods. *Biochemistry*, 36: 13381-88.
- Brouwer, M., T.H. Brouwer, W. Grater & N. Brown-Peterson. 2003. Replacement of a cytosolic copper/zinc superoxide dismutase by a novel cytosolic manganese superoxide dismutase in crustaceans that use copper (haemocyanin) for oxygen transport. *Biochem. J.*, 374: 219-28.
- Buchholz, F. & R. Saborowski. 2000. Metabolic and enzymatic adaptations in northern krill, *Meganyctiphanes norvegica*, and Antarctic krill, *Euphausia superba*, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 57: 115-129.
- Buchner, T., D. Abele-Oeschger, & H. Theede. 1996. Aspects of antioxidant status in the polychaete *Arenicola marina*: tissue and subcellular distribution, and reaction to environmental hydrogen peroxide and elevated temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 143: 141-150.
- Buckling, A., P.H. Wiebe, S.B. Smolenack, N.J. Copley & M.E. Clarke. 2002. Integrated biochemical, molecular genetic, and bioacoustical analysis of mesoscale variability of the euphausiid *Nematoscelis difficilis* in the California Current. *Deep-Sea Res. I*, 49: 437-462.
- Buege, J.A. & S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation, 302-310. *En: Packer, L. (Ed.) Methods in enzymology*, Vol. 52: Biomembranes. Part C. Biological oxidation microsomal, cytochrome P-450, and other hemoprotein systems. Academic Press Inc., New York, NY.
- Cadenas, E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem.*, 58: 79-110.

- Camus, L. & B. Gulliksen. 2005. Antioxidant defense properties of Arctic amphipods: comparison between deep-, sublittoral and surface species. *Mar. Biol.*, 146: 355-62.
- Castro, R., A.S. Mascarenhas., R. Durazo & C. A. Collins. 2000. Variación estacional de la temperatura y salinidad en la entrada del Golfo de California, México. *Cienc. Mar.* 26(4): 561-583.
- Chávez-Andrade, A., 2006. *Caracterización de hábitat de los grandes cetáceos del Golfo de California durante el invierno*. Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 80 p.
- Childress, J.J. 1977. Effects of pressure, temperature and oxygen on the oxygen consumption rate of the midwater copepod *Gaussia princeps*. *Mar. Biol.*, 39: 19-24.
- Childress, J.J. 1975. The respiratory rates of midwater crustaceans as a function of depth occurrence and relation to the oxygen minimum layer off Southern California. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 50: 787-799.
- Correia, A.D., M.H. Costa, O.J. Luis & D.R. Livingstone. 2003. Age-related changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in whole body *Gammarus locusta* (Crustacea: Amphipoda). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, 289: 83-101.
- Croll, D.A., A. Acevedo-Gutiérrez, B.R. Tershy & J. Urbán-Ramírez. 2001. The diving behavior of blue and fin whales: is dive duration shorter than expected based on oxygen stores? *Comp. Biochem. Physiol. A*. 129: 797-809.
- De Silva-Dávila, R., Palomares-García, R. 1998 Unusual larval growth production of *Nyctiphanes simplex* in Bahía de La Paz, Baja California, México. *J. Crust. Biol.* 18: 490-498.
- De Silva-Dávila, R. Palomares-García, R. 2002. Distributional patterns of the euphausiid community structure in Bahía de La Paz, B.C.S., México. En: Hendrickx, M.E. (ed.), *Contributions to the Study of East Pacific Crustaceans*. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, pp. 109–125.
- De Robertis, A. 2002. Size-dependent visual predation risk and the timing of vertical migration: An optimization model. *Limnol. Oceanogr.*, 47(4): 925-933.
- De Robertis, A., C. Schell & S.J. Jaffe. 2003. Acoustic observations of the swimming behavior of the euphausiid *Euphausia pacifica* Hansen, *ICES J. Mar. Sci.*, 60: 885-898.

- Del-Angel Rodríguez, J.A. 1997. *Hábitos alimentarios y distribución espacio-temporal de los rorcuales común (Balaenoptera physalus) y azul (Balaenoptera musculus) en la Bahía de La Paz, B.C.S., México*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 73 p.
- Drossos, G, A. Lazou, P. Panagopoulos & S. Westaby. 1995. Deferoxamine cardioplegia reduces superoxide radical production in human myocardium. *Ann. Thorac. Surg.*, 59: 169-172.
- Dufrene, M. & P. Legendre. 1997 Species assemblages and indicator species: the need for a flexible assymetrical approach, *Ecol. Monogr.* 67: 345-366.
- Elorduy-Garay, J.F. & J. Caraveo-Patiño. 1994. Hábitos alimenticios de la pierna *Caulolatilus princeps* Jenys 1842 (Pises: Branchiostegidae), en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Ciencias Marinas*, 20: 199-218.
- Enright, J.T. 1977. Diurnal vertical migration: adaptative significance and timing. Part 1. – Selective advantage: a metabolic model. *Limnol. Oceanogr.* 22: 856-872.
- Fernández-Álamo, M.A. & J. Färber-Lorda. 2006. Zooplankton and the oceanography of the Eastern Tropical Pacific: A review. *Progr. Oceanogr.*, 69: 318-359.
- Fiedler, P.C. & L.D. Talley. 2006. Hydrography of the Eastern Tropical Pacific: a review. *Progress in Oceanography* 69 (2–4) : 143-180.
- Fragopoulou, N. & J.J. Lykakis. 1990. Vertical distribution and nocturnal migration of zooplankton in relation of the development of seasonal thermocline in Patraikos Gulf. *Mar. Biol.*, 104: 381-387.
- Fridovich, I. 1998. Oxygen toxicity: a radical explanation. *J. Exp. Biol.*, 201: 1203-1209.
- Frost, B.W. & S.M. Bollens. 1992. Variability of diel vertical migration in the marine planktonic copepod *Pseudocalanus newmani* in relation to its predators. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49: 1137-1141.
- Gendron, D. 1990. *Relacion entre la abundancia de eufáusidos y de ballenas azules (Balaenoptera musculus) en el Golfo de California*, Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 85 p.
- Gendron, D. 1992. Population structure of daytime surface swarms of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea: Euphausiacea) in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 87: 1-6.
- Gendron, L.D. 2002. *Ecología poblacional de la ballena azul, Balaenoptera musculus, de la península de Baja California*. Tesis de Doctorado, Centro de

- Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Baja California, México, 112 pp.
- Gendron, D., S. Aguñiga & J.D. Carriquiry. 2001. $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in skin biopsy samples: a note on their applicability for examining the relative trophic level in three roccal species. *J. Cetacean. Res. Manage.* 3(1): 41-44.
- Gibbons, M.J., M. Barange & S.C. Pillar. 1991. Vertical migration and feeding of *Euphausia lucens* (Euphausiacea) in the Southern Benguela, *J. Plank. Res.*, 13(3): 473-486.
- Goldberg, D.M. & R.J. Spooner. 1987. Glutathione reductase, 258-265. *En: Bermeyer-Ulrich, H. (Ed.) Methods of enzymatic analysis*, Vol. III: Enzymes, I: Oxidoreductases transferases. VCH. Alemania.
- Gómez-Gutiérrez, J. 1995. Distribution patterns, abundance and population dynamics of the euphausiids *Nyctiphanes simplex* and *Euphausia eximia* in the west coast of Baja California, México. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 119: 63-76.
- Gómez-Gutiérrez, J. 1996. Ecology of early larval development of *Nyctiphanes simplex* Hansen (Euphausiacea) off the southwest coast of Baja California, México. *Bull. Mar. Sci.* 58(1): 131-146.
- Gómez-Gutiérrez, J. 2003. Hatching mechanism and accelerated hatching of the eggs of a sac-spawning euphausiid *Nematoscelis difficilis*. *J. Plankton Res.*, 25: 1397-1411.
- Gómez-Gutiérrez, J. & S. Hernández-Trujillo. 1994. Euphausiacea and Copepoda of the oceanic front off Cabo San Lucas B.C.S., México in August of 1988. *Rev. Biol. Trop.* 42(1/2): 155-164.
- Gómez-Gutiérrez, J. & C.J. Robinson. 1997. Circadian biomass and abundance changes of five euphausiid species along the west coast of Baja California Mexico, December 1993. *Sci. Mar*, 61: 27-35.
- Gómez-Gutiérrez, J. & C.J. Robinson. 2005. Embryonic, early larval development time, hatching mechanism and interbrood period of the sac-spawning euphausiid *Nyctiphanes simplex* Hansen, *J. Plank. Res.* 27: 279-295.
- Gómez-Gutiérrez, J. & C.J. Robinson. 2006. Tidal current transport of epibenthic swarms of the euphausiid *Nyctiphanes simplex* in a shallow subtropical bay in Baja California Sur, México. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 320: 215-231.
- Gómez-Gutiérrez, J., R. De Silva-Dávila, & E.B. Lavaniegos. 1996. Growth production of the euphausiid *Nyctiphanes simplex* at the coastal shelf off

- Magdalena Bay, Baja California Sur, México. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 138:309-314.
- Gómez-Gutiérrez, J, G. González-Chávez, C.J. Robinson & V. Arenas-Fuentes. 1999. Latitudinal changes of euphausiid assemblages related to the morphological variability of the sound scattering layer along Baja California, October 1994, *Sci. Mar.*, 63: 79-91.
- Gonzalez R.R. & R.A. Quiñones. 2002. Ldh activity in *Euphausia mucronata* and *Calanus chilensis*: implications for vertical migration behaviour. *J. Plankt. Res.*, 24(12): 1349-1356.
- Gopalakrishnan, K. 1974. Zoogeography of the genus *Nematoscelis* (Crustacea: Euphausiacea). *Fish. Bull.*, 72: 1039-1074.
- Gopalakrishnan, K. 1975. Biology and taxonomy of the genus *Nematoscelis* (Crustacea: Euphausiacea). *Fish. Bull.*, 73: 797-814.
- Gouveia, G.R., D.S. Marques, B.P. Cruz, L.A. Geracitano, L.E.M. Nery & G.S. Trindade. 2005. Antioxidant defenses and DNA damage induced by UV-A and UV-B radiation in the crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Photochem. Photobiol.*, 81: 398-403.
- Greene, C.H., E.A. Widder, A. Tamse & G.E. Johnson. 1992. The migration behavior, fine structure, and bioluminescent activity of krill sound-scattering layers, *Limnol. Oceanogr.*, 37:650-658.
- Habig, W.H. & H.B. Jakoby. 1981. Glutathione S-Transferases (Rat and Human), 218-235. *En: Jakoby, W.B. (Ed.) Methods in enzymology*, Vol. 77: Detoxication and drug metabolism: Conjugation and related systems, Academic Press Inc. New York, NY.
- Halliwell, B. & J.M.C. Gutteridge. 2002. *Free radicals in biology and medicine*, Tercera edición, Oxford University Inc., New York, 936 p.
- Hays, G.C. 1995. Ontogenetic and seasonal variation in the diel vertical migration of the copepods *Metridia lucens* and *Metridia longa*. *Limnol. Oceanogr.*, 40: 1461-1465.
- Hermes-Lima, M. 2004. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals, 319-368. *En: Storey, K.B. (Ed.) Functional metabolism: Regulation and Adaptation*, Wiley-Liss, Inc., Hoboken, New Jersey, 616 p.

- Hermes-Lima M. & K.B. Storey. 1993a. Antioxidant defenses in the tolerance of freezing and anoxia by garter snakes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 265: 646-652.
- Hermes-Lima M. & K.B. Storey. 1993b. In vitro oxidative inactivation of glutathione-S-transferase from a freeze tolerant reptile. *Mol. Cell. Biochem.*, 124: 149-158.
- Hermes-Lima, M. & T. Zenteno-Savín. 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 133: 537-556.
- Hermes-Lima, M., J.M. Storey & K.B. Storey. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 120: 437-448.
- Hertwig, B., P. Steb & J. Feierabend J. 1992. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiol.*, 100: 1547-53.
- Hidalgo-González, R. M. & Alvarez-Borrego, R. M. 2004. Total and new production in the Gulf of California estimated from ocean color data from the satellite sensor SeaWiFS. *Deep Sea Res, II*, 51: 739-752.
- Hidalgo-González, R. M. & Alvarez-Borrego, R. M. 2000. Chlorophyll profiles and the water column structure in the Gulf of California. *Oceanol. Acta*, 24: 19-28.
- Hochachka, P.W. & P.L. Lutz. 2001. Mechanism, origin, and evolution of anoxia tolerance in animals. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 130: 435-459.
- Huntsman, A.G. 1924. Limiting factors for marine animals. 1. – The lethal effect of sunlight. *Contrib. Can. Biol.*, 2: 83-87.
- Iguchi, N. & T. Ikeda. 1995. Growth, metabolism and growth efficiency of a euphausiid crustacean *Euphausia pacifica* in the southern Japan Sea, as influenced by temperature. *J. Plank. Res.*, 17(9): 1757-1769.
- Ishii, H., M. Omori, M. Maeda & Y. Watanabe. 1987. Metabolic Rates and Elemental Composition of the Antarctic Krill, *Euphausia superba* Dana. *Polar Biol.*, 7: 379-382.
- Jaume-Schinkel, M.S. 2004. *Hábitos alimentarios del rorcual común Balaenoptera physalus en el Golfo de California mediante el uso de isótopos estables de nitrógeno y carbono*. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional. La Paz, B.C.S. 64 p.

- Jiménez, A., S.G. Marinone & A. Parés-Sierra, 2005. Effect of the spatial and temporal variability of winds on the circulation in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 31: 357-368.
- Johnson, M. C. & Brinton, E. 1963. Biological species, water masses, and currents. En: *The Seas*, M. N. Hill (ed.) New York, John Wiley, Interscience. 2: 381-41.
- Kamykowski, D. & S.-J. Zentara. 1990. Hypoxia in the world ocean as recorded in the historical data set. *Deep-Sea Res. I*, 37: 1861-1874.
- Karedin, E.P. 1971. The similarity between *Nematoscelis megalops* G.O. Sars, 1885, and *N. difficilis* Hansen, 1911 (Euphausiacea, Crustacea) and validity of dividing *N. difficilis* Hansen into two species. *Izvestiya Tikhookeanskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Rybnogo Khozyaistva i Okeanografii*, 75: 121-129.
- Ketchum Mejía, J.T. 2003. *Distribución espacio-temporal y ecología alimentaria del tiburón ballena (Rhincodon typus) en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes en el suroeste del Golfo de California*, Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 130 p.
- Kong, X., G. Wang & S. Li. 2008. Seasonal variations of ATPase activity and antioxidant defenses in gills of the mud crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda). *Mar. Biol.*, 154: 269-276.
- Kremer, P. & J.N. Kremer. 1988. Energetic and behavior implications of pulsed food availability for zooplankton. *Bull. Mar. Sci.* 43: 797-809.
- Lavaniegos, B.E. 1987. *Efectos del evento de el Niño 1982-1983 sobre las poblaciones de eufaúsidos del Golfo de California*. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Científicas y de Educación Superior de Ensenada, México, 113 pp.
- Lavaniegos, B.E. 1988. *Biomasa y composición de los grupos principales del zooplancton del Golfo de California durante la fase de relajamiento del evento de "El Niño" en 1984*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 78 pp.
- Lavaniegos, E.B. 1995. Production of the euphausiid *Nyctiphanes simplex* in Bahía Vizcaíno western Baja California. *J. Crust. Biol.* 15: 444-453.
- Lavaniegos, B.E. 1996. Vertical distribution of euphausiid life stages in waters adjacent to Baja California. *Fish. Bull.*, 94: 300-312.

- Lavaniegos-Espejo, B.E., J.R. Lara-Lara & E. Brinton. 1989. Effects of the 1982-83 El Niño event on the euphausiid populations of the Gulf of California, *Rep. Calif. coop. oceanic. Fish Invest.* 30: 73-87.
- Lluch-Cota, D.B. 2002. Satellite measured interannual variability of coastal phytoplankton pigment in the tropical and subtropical eastern Pacific. *Cont. Shelf Res.*, 22: 803-820.
- Lluch-Cota, D.B., W.S. Wooster & S.R. Hare. 2001. Sea surface temperature variability in coastal areas of the Northeastern Pacific related to the El Niño-Southern Oscillation and the Pacific Decadal Oscillation. *Geophys. Res. Lett.*, 28: 2029-2032.
- Lluch-Cota, D.B., W.S. Wooster, S.R. Hare, D. Lluch-Belda & A. Parés-Sierra. 2003. Principal modes and related frequencies of sea surface temperature variability in the Pacific coast of North America. *J. Oceanogr.*, 59: 477-488.
- Lluch-Cota, S.E. 2000. Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. *Oceanol. Acta*, 23: 731-740.
- Lluch-Cota, S.E., E.A. Aragón-Noriega, F. Arreguín-Sánchez, D. Aurióles-Gamboa, J.J. Bautista-Romero, R.C. Brusca, R. Cervantes-Duarte, R. Cortés-Altamirano, P. Del-Monte-Luna, A. Esquivel-Herrera, G. Fernández, M.E. Hendrickx, S. Hernández-Vázquez, H. Herrera-Cervantes, M. Kahru, M. Lavín, D. Lluch-Belda, D.B. Lluch-Cota, J. López-Martínez, S.G. Marinone, M.O. Nevárez-Martínez, S. Ortega-García, E. Palacios-Castro, A. Parés-Sierra, G. Ponce-Díaz, M. Ramírez-Rodríguez, C.A. Salinas-Zavala, R.A. Schwartzlose, A.P. Sierra-Beltrán. 2007. The Gulf of California: Review of ecosystem status and sustainability challenges. *Progr. Oceanogr.*, 73: 1-26.
- López, M., J. Candela & M.L. Argote, 2006. Why does the Ballenas Channel have the coldest SST in the Gulf of California? *Geophysical Research Letters* 33, doi:10.1029/2006GL015908.
- López-Cortes, D., 1990. Distribución de la familia Euphausiidae (Euphausiacea: Crustacea) en el Golfo de Tehuantepec, México. *Rev. Biol. Trop.*, 38: 21-28.
- Lushchak, V.I., T.V. Bagnyukova, O.V. Lushchak, J. M. Storey & K.B. Storey. 2005. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int. J. Biochem. Cell. B.*, 37: 1319-1330.

- Maciel, F.E., C.E. Rosa, E.A. Santos, J.M. Monserrat & L.E.M. Nery. 2004. Daily variations in oxygen consumption, antioxidant defenses, and lipid peroxidation in the gills and hepatopancreas of an estuarine crab. *Can. J. Zool.*, 82: 1871-77.
- Marinone, S.G., 2007. Why does the Ballenas Channel have the coldest SST in the Gulf of California?. *Geophysical Research Letters* 34, doi:10.1029/2006GL0285589.
- Markert, M., P.C. Andrews & B.M. Babior. 1984. Measurement of O_2^- production by human neutrophils. The preparation and assay of NADPH oxidase-containing particles from human neutrophils, 358-365. *En: Packer, L. (Ed.) Methods in enzymology*, Vol. 105: Oxygen radicals in biological systems. Academic Press Inc., Orlando, FL.
- Martindale, J.L. & N.J. Holbrook. 2002. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J. Cell. Physiol.*, 192: 1-15.
- Mauchline, J. & L.R. Fisher. 1969. The biology of euphausiids. *En: Russel, F.S. & M. Yonge (Eds.) Advances in marine biology*, Academic Press, New York, 7: 1-454.
- McCune B., J. Grace & D. Urban. 2002. *Analysis of ecological communities*. MjM software designs, Gleneden Beach, OR, EUA. 300 p.
- McLaren, I.A. 1963. Effects of temperature on growth of zooplankton and the adaptive value of vertical migration. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 20: 685-727.
- McLaren, I.A. 1974. Demographic strategy of vertical migration by a marine copepod. *Am. Nat.*, 108: 91-102.
- Mopper, K. & D.J. Kieber. 2000. Marine photochemistry and its impact on carbon cycling. *En: De Mora S., S. Demers y M. Vernet (Eds.) The Effects of UV Radiation in the Marine Environment*, Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp.101–130.
- Nicholls, P., P. Loewen & I. Fita. 2001. Enzymology and structure of catalases. in Heme-Fe Proteins. Advances. *En: Sykes A.G. & G. Mauk (Eds.) Inorg. Chem.*, 51: 52-106.
- Ogura, Y. 1955. Catalase activity at high concentration of hydrogen peroxide. *Arch. Biochem. Biophys.*, 57(2): 288-300.
- Ohman, M.D. 1984. Omnivory by *Euphausia pacifica*: The role of copepod prey. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 19: 125-131.

- Onsrud M.S.R. & S. Kaartvedt. 1998. Diel vertical migration of the krill *Meganyctiphanes norvegica* in relation to physical environment, food and predators. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 171: 209-219.
- Parilla-Taylor, D.P. 2007. *Actividad enzimática antioxidante en camarón blanco (Litopenaeus vannamei) expuesto a hipoxia y reoxigenación*, Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur, 55 pp.
- Persky, A.M., P.S. Green, L. Stublely, C.O. Howell, L. Zaulyanov, G.A. Brazeau & J.W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, 223: 59-66.
- Petasne, R.G. & R.G. Zika. 1987. Hydrogen peroxide life times in seawater. *EOS*, 50: 1752-1753.
- Quetin, L.B. & R.M. Ross. 1989. Effects of oxygen, temperature and age on the metabolic rate of the embryos and early larval stage of the Antarctic krill *Euphausia superba*, Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 133: 103-127.
- Rees, J.F., B. De Wergifosse, O. Noiset, M. Dubuisson, B. Janssens & E.M. Thompson. 1998. The origin of marine bioluminescence: turning oxygen defense mechanisms into deep-sea communication tools. *J. Exp. Biol.*, 201: 1211-1221.
- Robinson, C.J. & J. Gómez-Gutiérrez. 1998. Daily vertical migration of dense scattering layers related to shelf-break area in the northwest coast of Baja California, México. *J. Plankton Res.*, 20(9): 1679-1697.
- Roden, G.I. & G.W. Groves. 1959. Recent oceanographic investigations in the Gulf of California, *J. Mar. Res.*, 18: 10-35.
- Saborowski, R., S. Bröhl, G.A. Tarling & F. Buchholz. 2002. Metabolic properties of Northern krill, *Meganyctiphanes norvegica*, from different climatic zones: respiration and excretion. *Mar. Biol.*, 140(3): 547-556.
- Salomon, M., P. Mayzaud & F. Buchholz. 2000. Studies on metabolic properties in the Northern Krill, *Meganyctiphanes norvegica* (Crustacea, Euphausiacea): influence of nutrition and season on pyruvate kinase. *Comp. Biochem. Physiol. A*. 127: 505-514.
- Sameoto, D., L. Guglielmo, & M.K. Lewis. 1987. Day/night vertical distribution of euphausiids in the eastern tropical Pacific. *Mar. Biol.* 96: 235-245.

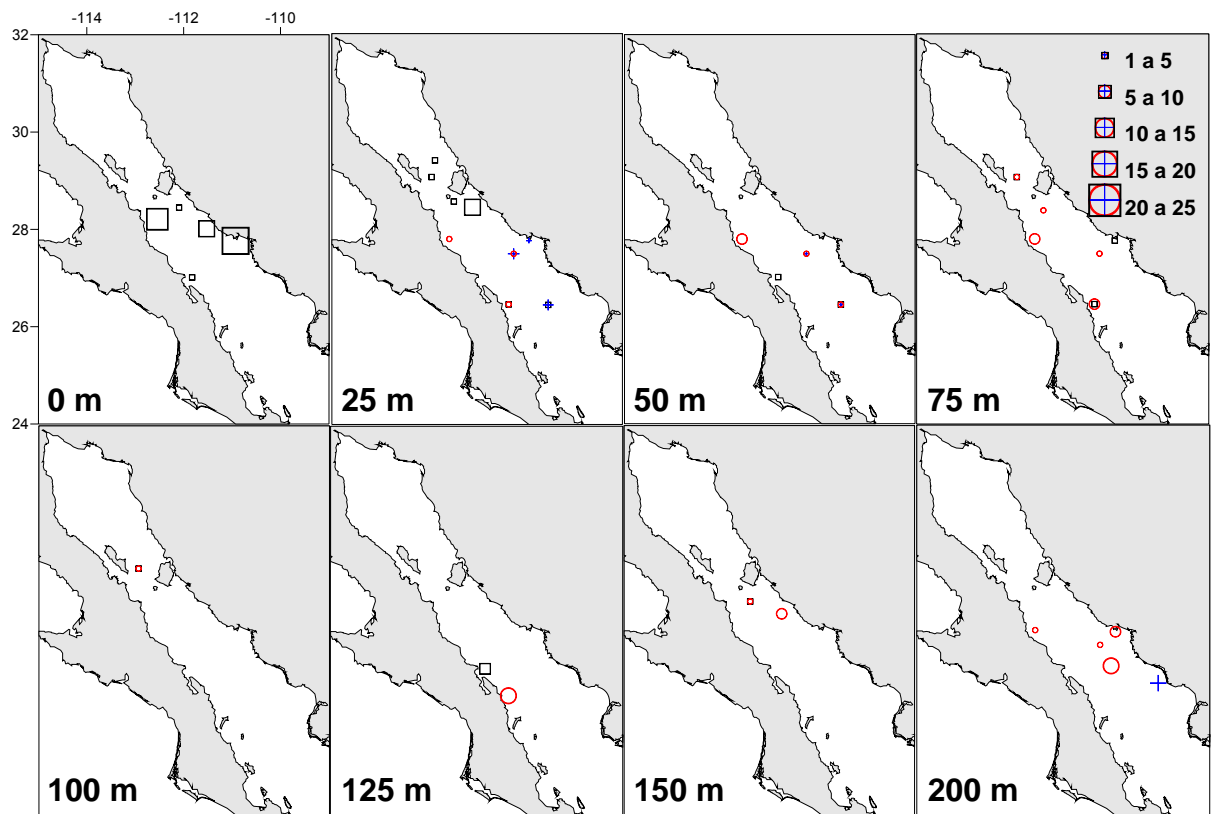
- Sampson Tenorio, L. 2007. *Dieta, posición trófica y variación en la señal isotópica de Mobula thurstoni y Mobula japonica en el suroeste del Golfo de California*, Tesis de maestría, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional, 78 p.
- Sánchez-Osuna, D., & M. Hendrickx, 1984. Resultados de las campañas SIPCO (Sur de Sinaloa, México) a bordo del B/O "El Puma". Abundancia y distribución de los Euphausiacea (Crustacea: Eucarida). *An. Inst. Cienc. Mar. y Limnol. UNAM*. 11(1): 99-106.
- Santamaría Del Angel, E., S. Álvarez-Borrego & F. E. Müller Karger, 1994. The 1982-1984 El Niño in the Gulf of California as seen in the coastal zone scanner imagery, *J. Geophys. Res.*, 99: 7423-7431.
- Santamaría Del Angel, E., S. Álvarez-Borrego, R. Millan-Nuñez & F. E. Müller Karger. 1999. Sobre el efecto de las surgencias de verano en la biomasa fitoplanctónica del Golfo de California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 49: 207-212.
- Schrek, R. & P.A. Baeuerle. 1991. A role for oxygen radicals as second messengers. *Trends Cell Biol.*, 1: 39-42.
- Shushkina, E.A. & ME. Vinogradov. 1992. Vertical distribution of zooplankton in the Guaymas Basin (Gulf of California). *Okeanologiya*, 32(5): 881-887.
- Simmard, Y., R. de Ladurantaye & J.C. Therriault. 1986. Aggregations of euphausiids along a coastal shelf in an upwelling environment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 32: 203-215.
- Small, L.F. & J.F. Hebard. 1967. Respiration of a vertically migrating marine crustacean *Euphausia pacifica* Hansen. *Limnol. Oceanogr.* 12(2): 272-280.
- Smith, P.E. & S. Richardson. 1979. Técnicas modelo para prospecciones de huevos y larvas de peces pelágicos. *F.A.O. Doc. Tec. de Pesca*, 175: 1-107.
- Soto-Mardones, L., S.G. Marinone & A. Parés-Sierra. 1999. Variabilidad espacio-temporal de la temperatura superficial del mar en el Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 25: 1-30.
- Spicer J.I. & J.-O. Strömberg. 2002. Diel vertical migration and the haemocyanin of krill *Meganyctiphanes norvegica*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 238:153–162.
- Spicer, J.I., M.A. Thomasson & J-O. Stromberg. 1999. Possessing a poor anaerobic capacity does not prevent the diel vertical migration of Nordic krill

- Meganyctiphanes norvegica* into hypoxic waters. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 185: 181-187.
- Stramma, L., G.C. Johnson, J. Sprintall & V. Mohrholz. 2008. Expanding Oxygen-Minimum Zones in the Tropical Oceans. *Science*, 320: 655-658.
- Suzuki, K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD, 91-95. *En: Taniguchi, N., & J. Gutteridge (Eds.) Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species.* Oxford University Press, R.U. 357 p.
- Suzuki, H., H. Sasaki & M. Fukuchi. 2003. Loss processes of sinking fecal pellets of zooplankton in the mesopelagic layers of the Antarctic marginal ice zone, *J. Oceanogr.*, 59: 809-818.
- Swadling, K.M. 2006. Krill migration : Up and down all night. *Curr. Biol.*, 16: 173-175.
- Takeuchi, I. & K. Watanabe. 1998. Respiration and swimming speed of the necrophageous amphipod *Eurythenes gryllus* from Antarctic deep waters, *Mar. Ecol Prog. Ser.*, 163: 285-288.
- Tarling, G.A., & M.L. Johnson. 2006. Satiation gives krill that sinking feeling, *Curr. Biol.*, 16: 83-84.
- Tershy, B. 1992. Body size, habitat use and social behavior of *Balaenoptera whales* in the Gulf of California. *J. Mammal.* 73(3): 477-486.
- Torres-Orozco, E. 1993. *Análisis Volumétrico de las masas de agua del Golfo de California.* CICESE, Ensenada, B.C. México, 80 p.
- Teal, J.M. & F.G. Carey. 1967. Respiration of a euphausiid from the oxygen minimum layer. *Limnol. Oceanogr.*, 12: 548-550.
- Van Baalen, C. & J.E. Marler. 1966. Occurrence of hydrogen peroxide in seawater. *Nature*, 211: 951.
- Vernon, J.H. 1978. Relationships between vertical migration and diet in four species of euphausiids, *Limnol. Oceanogr.*, 23(2): 296-306.
- Vidussi, F, H. Claustre, J.N. Bustillos-Guzman, C. Cailliau, & J.C. Marty. 1996. Rapid HPLC method for determination of phytoplankton chemotaxonomic pigments : separation of chlorophyll a from divinyl-chlorophyll a and zeaxanthin from lutein, *J. Plank. Res.*, 18, 2377-2382.
- Weslawski, J.M. & K.W. Opalinski. 1997. Winter and summer metabolic rates of Arctic amphipods. Preliminary results. *En: Glowacki, P. (Ed.) Polish polar studies: 24th polar symposium,* Institute of Geophysics of the Polish Academy of Sciences, Warszawa, pp. 307-317.

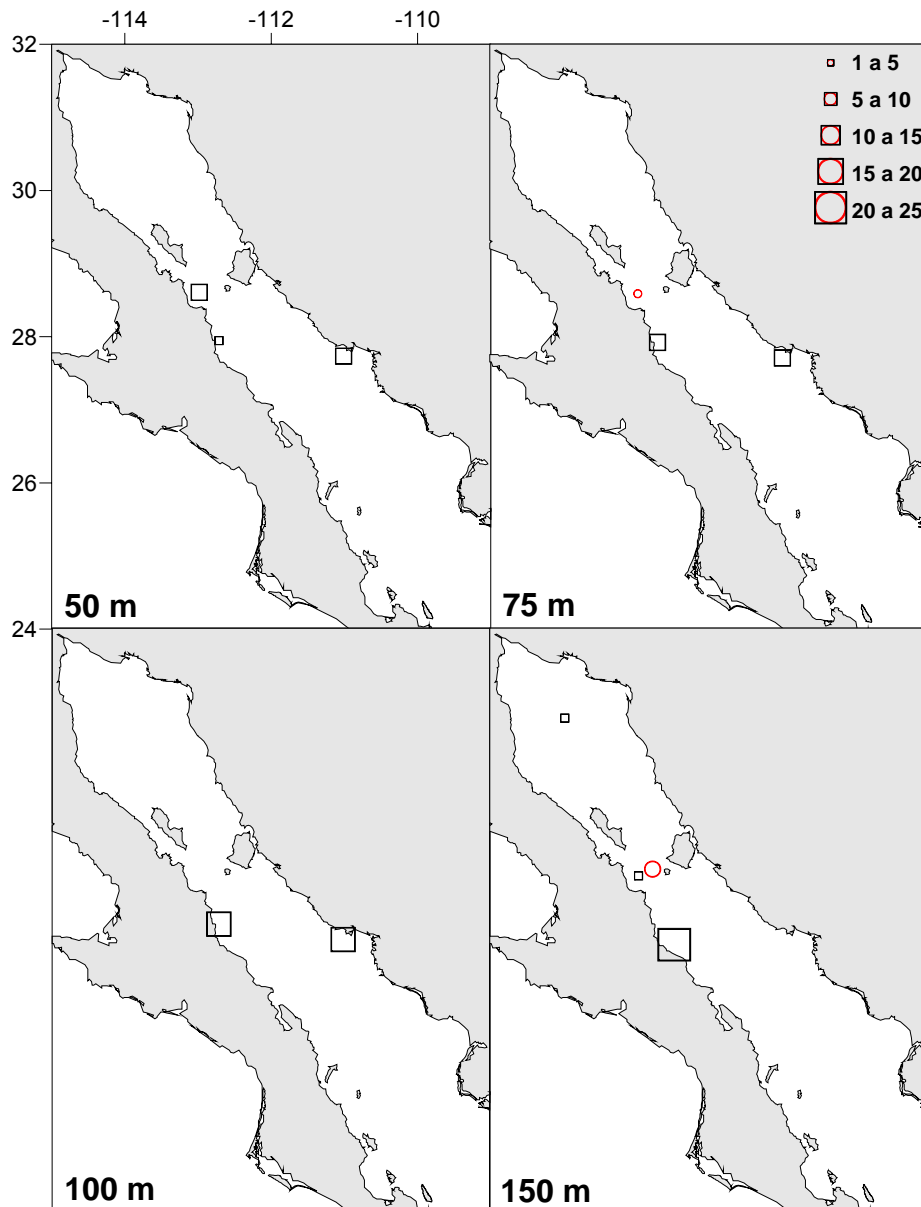
- Williams, R. & J.A. Lindley. 1982. Variability in Abundance, Vertical Distribution and Ontogenetic Migrations of *Thysanoessa longicaudata* (Crustacea: Euphausiacea) in the North-Eastern Atlantic Ocean, *Marine Biology*, 69: 321-330.
- Williamson, C.E., R.W. Sanders, R.E. Moeller & P.L. Stutzman. 1996. Utilization of subsurface resources for zooplankton reproduction: implications for diel vertical migration theory. *Limnol. Oceanogr.*, 41: 224-233.
- Yayanos, A.A., A.A. Benson & J.C. Nevenzel. 1978. The pressure-volume-temperature (PVT) properties of a lipid mixture from a marine copepod, *Calanus finmarchicus*, implications for bouyancy and sound-scattering. *Deep-Sea Res.*, 25: 257-268.
- Youngbluth, M.J. 1975. The vertical distribution and diel migration of euphausiids in the central waters of the eastern South Pacific, *Deep-Sea Res.* 22: 519-536.
- Youngbluth, M.J. 1976. Vertical distribution and diel migration of euphausiids in the central region on the California Current. *Fish. Bull. U.S.* 74(4): 925-936.
- Zaret, T.M. & J.S. Sufferen. 1976. Vertical migration in zooplankton as a predator avoidance mechanism. *Limnol. Oceanogr.*, 21: 804-813.
- Zenteno-Savín, T., R. Saldierna-Martínez & M. Ahuejote-Sandoval. 2006. Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 142: 301-308.
- Zika, R.G., J.W. Moffett, W.J. Cooper, R.G. Petasne & E.S. Saltzman. 1985. Hydrogen peroxide concentration and distribution in the Gulf of Mexico and West Florida shelf. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 49: 1173-1184.

Anexo 1. Número de individuos recolectados (No. ind.) en las muestras y número de muestras (No. muestras), considerando que era necesario en ocasiones más de un individuo para obtener 100 mg de tejido, para determinar los indicadores de estrés oxidativo, de las tres especies de eufáusidos estudiadas durante el año del 2007.

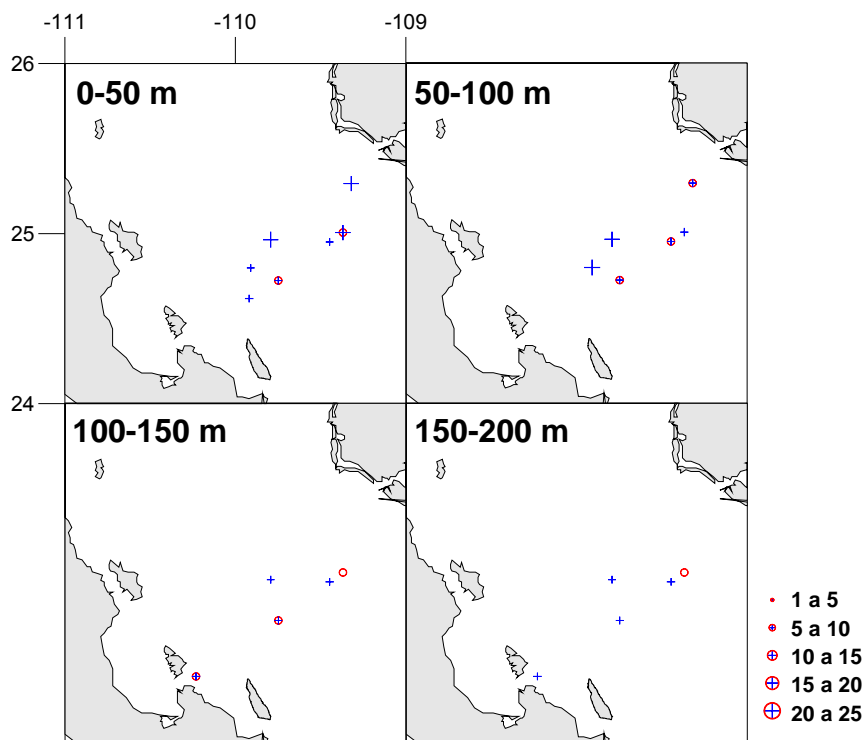
	<i>Nyctiphanes simplex</i>		<i>Nematoscelis difficilis</i>		<i>Euphausia eximia</i>	
	No.ind.	No.muestra	No.ind.	No.muestra	No.ind.	No.muestra
Enero 2007						
Juveniles	32	2	134	10	3	1
Hembras no-ovígeras	34	10	35	21	5	6
Hembras ovígeras	19	4	26	26	0	0
Machos maduros	15	4	21	10	2	3
Subtotal	100	20	216	67	10	10
Julio 2007						
Juveniles	9	1	0	0	0	0
Hembras no-ovígeras	36	8	10	3	0	0
Hembras ovígeras	6	2	0	0	0	0
Machos maduros	34	7	0	0	0	0
Subtotal	85	18	10	3	0	0
Octubre 2007						
Juveniles	0	0	0	0	0	0
Hembras no-ovígeras	0	0	10	8	27	10
Hembras ovígeras	0	0	0	0	0	0
Machos maduros	0	0	1	1	32	17
Subtotal	0	0	11	9	59	27
Total	185	38	237	79	69	37



Anexo 2. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los eufáusidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del estrés oxidativo de *N. simplex* (cuadro negro), *N. difficilis* (circulo rojo) y *E. eximia* (cruz azul) recolectados en enero del 2007.



Anexo 3. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los euphausiidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del de estrés oxidativo de *N. simplex* (cuadro negro) y *N. difficilis* (circulo rojo) recolectados en julio del 2007.



Anexo 4. Distribución y abundancia relativa (número de individuos) recolectados con las redes estratificadas por estrato de profundidad de los eufáusidos adultos utilizados para el análisis de los indicadores del de estrés oxidativo de *N. difficilis* (circulo rojo) y *E. eximia* (cruz azul) recolectados en octubre del 2007.

Anexo 5. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades enzimáticas de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* durante la temporada fría (enero) y cálida (julio y octubre) del 2007.

	$O_2^{\cdot-}$ (nM $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$)	Daños a los lípidos (nM TBARS mg prot. ⁻¹)	SOD-total (U mg prot. ⁻¹)	CAT (U mg prot. ⁻¹)	GPx (U mg prot. ⁻¹)	GR (U mg prot. ⁻¹)	GST (U mg prot. ⁻¹)
Fría							
<i>N. simplex</i>	0.00044±0.00007 (19)	0.20±0.03 (15)	8 846±1 926 (20)	0.26±0.06 (20)	0.0035±0.0007 (19)	0.006±0.001 (20)	0.0008±0.0001 (20)
<i>N. difficilis</i>	0.00029±0.00003 (63)	0.20±0.03 (63)	18 913±2 715 (67)	0.20±0.04(67)	0.0099±0.0021 (67)	0.009±0.001 (67)	0.0019±0.0002 (67)
<i>E. eximia</i>	0.00059±0.00033 (10)	0.33±0.09 (8)	23 504±12 975 (10)	0.37±0.10 (10)	0.0034±0.0008 (10)	0.008±0.002 (10)	0.0021±0.0006 (10)
Cálida							
<i>N. simplex</i>	n/d	15±6 (10)	209 128±63 980 (18)	5±2 (18)	0.112±0.055 (18)	0.22±0.08 (18)	0.008±0.002 (18)
<i>N. difficilis</i>	0.5±0.4 (6)	0.0003±0.0001 (8)	17 631±5 032 (12)	0.9±0.3 (10)	0.008±0.004 (12)	0.017±0.002 (11)	0.004±0.001 (12)
<i>E. eximia</i>	1.4±0.4 (16)	0.0015±0.0010 (23)	50 719±31 812 (27)	0.9±0.4 (25)	0.019±0.008 (26)	0.032±0.020 (22)	0.005±0.003 (27)

Promedio±error estandar. (n). n/d= no disponible.

Anexo 6. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades enzimáticas de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de *N. simplex* y *N. difficilis* en función de los estadios de desarrollo-reproducción y sexo durante la temporada fría (enero) y cálida (julio y octubre) del 2007.

	$O_2^{\cdot-}$ (nM $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$)	Daños a los lípidos (nM TBARS mg prot. ⁻¹)	SOD-total (U mg prot. ⁻¹)	CAT (U mg prot. ⁻¹)	GPx (U mg prot. ⁻¹)	GR (U mg prot. ⁻¹)	GST (U mg prot. ⁻¹)
<i>N. simplex</i>							
Fría							
JUV	0.0005±0.0003 (2)	0.15±0.09 (2)	7 612±229 (2)	0.10±0.06 (2)	0.0022 (1)	0.0021±0.0008 (2)	0.0008±0.0002 (2)
HNO	0.0005±0.0001 (9)	0.16±0.05 (6)	12 184±3 542 (10)	0.24±0.07 (10)	0.004±0.001 (10)	0.005±0.001 (10)	0.0008±0.0001 (10)
HO	0.00023±0.00004 (4)	0.25±0.07 (4)	5 840±1 102 (4)	0.20±0.07 (4)	0.0024±0.0008 (4)	0.009±0.006 (4)	0.0010±0.0002 (4)
MM	0.0004±0.0001 (4)	0.26±0.04 (3)	4 126±1 483 (4)	0.5±0.2 (4)	0.002±0.001 (4)	0.005±0.002 (4)	0.0007±0.0003 (4)
Cálida							
JUV	n/d	3.65 (1)	242 617 (1)	0.56 (1)	0.014 (1)	0.076 (1)	0.0008 (1)
HNO	n/d	11±4 (5)	176 010±68 119 (8)	5±3 (8)	0.08±0.03 (8)	0.19±0.08 (8)	0.085±0.003 (8)
HO	n/d	n/d	16 103±9 111 (2)	1.1±0.8 (2)	0.011±0.010 (2)	0.03±0.02 (2)	0.0022±0.0005 (2)
MM	n/d	22±14 (4)	297 343±142 571 (7)	7±3 (7)	0.19±0.14(7)	.33±0.17 (7)	0.010±0.002 (7)
<i>N. difficilis</i>							
Fría							
JUV	0.00034±0.00007 (10)	0.12±0.03 (9)	12 976±2 710 (10)	0.09±0.03 (10)	0.005±0.001 (10)	0.006±0.001 (10)	0.0012±0.0003 (10)
HNO	0.00022±0.00004 (21)	0.16±0.03 (20)	14 609±2 229 (21)	0.20±0.04 (21)	0.007±0.001 (21)	0.010±0.002 (21)	0.0019±0.0004 (21)
HO	0.00026±0.00005 (23)	0.25±0.05 (25)	14 401±3 274 (26)	0.15±0.03 (26)	0.008±0.003 (26)	0.008±0.002 (26)	0.0017±0.0003 (26)
MM	0.0005±0.0001 (9)	0.24±0.07 (9)	45 625±12 687 (10)	0.4±0.2 (10)	0.02±0.01 (10)	0.012±0.003 (10)	0.004±0.001 (10)

Promedio±error estandar. (n). n/d= no disponible

JUV: Juveniles; HNO: Hembras no-ovígeras; HO: Hembras ovígeras; MM: machos maduros.

Anexo 7. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. eximia* en función de la profundidad de muestreo durante la temporada fría (enero) y cálida (julio) del 2007.

	$O_2^{\cdot-}$ (nM $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$)	Daños a los lípidos (nM TBARS mg prot. ⁻¹)	SOD-total (U mg prot ⁻¹)	CAT (U mg prot ⁻¹)	GPx (U mg prot ⁻¹)	GR (U mg prot ⁻¹)	GST (U mg prot ⁻¹)
<i>N. simplex</i>							
Fría							
0-50 m	0.00036±0.00006 (16)	0.21±0.03(12)	6 568±888 (16)	0.30±0.07 (16)	0.0034±0.0007 (16)	0.006±0.002 (16)	0.0008±0.0001 (16)
100-150 m	0.0008±0.0003 (3)	0.16±0.04 (3)	17 959±9 460 (4)	0.14±0.08 (4)	0.0040±0.0036 (3)	0.004±0.002 (4)	0.0010±0.0002 (4)
Cálida							
50-100 m	n/d	12±4 (5)	306 492±128 255 (8)	6±3 (8)	0.07±0.02 (8)	0.24±0.09 (8)	0.008±0.004 (8)
100-150 m	n/d	18±12 (5)	131 237±46 541 (10)	5±2 (10)	0.14±0.10 (10)	0.2±0.1 (10)	0.007±0.001 (10)
<i>N. difficilis</i>							
Fría							
0-50 m	0.00021±0.00006 (3)	0.09±0.06 (3)	14 325±6 521 (3)	0.14±0.07 (3)	0.006±0.003 (3)	0.005±0.001 (3)	0.003±0.002 (3)
50-100 m	0.00023±0.00007 (11)	0.35±0.09 (13)	5 964±1 267 (13)	0.11±0.02 (13)	0.005±0.002 (13)	0.006±0.002 (13)	0.0017±0.0003 (13)
100-150 m	0.00020±0.00007 (7)	0.16±0.06 (7)	30 831±9 960 (7)	0.21±0.07 (7)	0.012±0.006 (7)	0.010±0.002 (7)	0.0023±0.0008 (7)
150-200 m	0.00060±0.00008 (8)	0.23±0.06(9)	33 641±10 849 (10)	0.27±0.10 (10)	0.03±0.01 (10)	0.011±0.003 (10)	0.003±0.001 (10)

Anexo 7. Parte II.

	$O_2^{\cdot-}$ (nM $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$)	Daños a los lípidos (nM TBARS mg prot. ⁻¹)	SOD-total (U mg prot ⁻¹)	CAT (U mg prot ⁻¹)	GPx (U mg prot ⁻¹)	GR (U mg prot ⁻¹)	GST (U mg prot ⁻¹)
Cálida							
0-50 m	0.13 (1)	0.00005±0.00004 (2)	9 630±7 370 (2)	0.09±0.04 (2)	0.0081±0.0004 (2)	0.008±0.001 (2)	0.003±0.001 (2)
50-100 m	0.15±0.09 (3)	0.0007±0.0003 (2)	17 461±7 419 (3)	1.0±0.5 (3)	0.007±0.003 (3)	0.012±0.003 (3)	0.005±0.003 (3)
100-150 m	0.03 (1)	0.00006±0.00004 (3)	13 638±7 151 (5)	1.0±0.2 (4)	0.008±0.005 (5)	0.011±0.003 (5)	0.003±0.001 (5)
150-200 m	2.65 (1)	0.0008 (1)	54 288 (1)	n/d	0.003 (1)	n/d	0.007 (1)
<i>E. eximia</i>							
Fría							
0-50 m	0.0008±0.0005 (7)	0.4±0.1(5)	29 214±18 449 (7)	0.4±0.1 (7)	0.004±0.001 (7)	0.010±0.003 (7)	0.0021±0.0009 (7)
50-100 m	0.0002±0.0001 (2)	0.15±0.07 (2)	9 390±6 796 (2)	0.17±0.06 (2)	0.0024±0.0009 (2)	0.005±0.001 (2)	0.00153±0.00005 (2)
100-200 m	0.00007 (1)	0.49 (1)	11 765 (1)	0.53 (1)	0.0003 (1)	0.005 (1)	0.003 (1)
Cálida							
0-50 m	1.3±005 (7)	0.003±0.002 (11)	92 772±65 210 (13)	1.0±0.7 (12)	0.02±0.01 (13)	0.054±0.047 (9)	0.010±0.005 (13)
50-100 m	1.6±0.9 (4)	0.00010±0.00003 (6)	18 039±6 844 (7)	1.4±1.0 (6)	0.02±0.01 (7)	0.022±0.015 (6)	0.003±0.002 (6)
100-200 m	1.3±1.0 (5)	0.00011±0.00009 (6)	5 302±2 166 (7)	0.17±0.05 (7)	0.013±0.009 (7)	0.010±0.006 (7)	0.0009±0.0004 (7)

Promedio±error estandar. (n). n/d= no disponible.

Anexo 8. *N. difficilis*. Valores de producción del radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (nM de $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$), peroxidación de lípidos (nM de TBARS mg proteína⁻¹) y actividades de SOD-total, CAT, GPx, GR y GST (U de actividad mg proteína⁻¹) de las hembras ovígeras en tres estaciones de muestreo (E68, E103 y E114) durante la temporada fría (enero del 2007).

	Radical $O_2^{\cdot-}$ (nM $O_2^{\cdot-} \text{min}^{-1} \text{mg prot.}^{-1}$)	Daños a los lípidos (nM TBARS mg prot. ⁻¹)	SOD-total (U mg prot. ⁻¹)	CAT (U mg prot. ⁻¹)	GPx (U mg prot. ⁻¹)	GR (U mg prot. ⁻¹)	GST (U mg prot. ⁻¹)
E68	0.0006±0.0001 (3)	0.2±0.1 (3)	40 474±14 682 (4)	0.12±0.06 (4)	0.03±0.02 (4)	0.015±0.009 (4)	0.002±0.001 (4)
E103	0.0003±0.0001 (14)	0.29±0.08 (16)	6 886±1 225 (16)	0.15±0.05 (16)	0.004±0.001 (16)	0.006±0.002 (16)	0.0015±0.0003 (16)
E114	0.00014±0.00005 (5)	0.15±0.03 (5)	17 299±4 204 (5)	0.11±0.04 (5)	0.010±0.002 (5)	0.009±0.002 (5)	0.002±0.001 (5)

Promedio±error estandar. (n). n/d= no disponible.