

Palaemon serratus eta *Carcinus maenas* krustazeoen osmoerregulazioa

Animalien Sistemen Fisiologia

2019/20 ikasturtea

Asier Urruzola Ugalde
Leire Mendiola Zabaleta
Mikel Bilbao Burgaña
Paula Ibabe Azkarateazkazua

Palaemon serratus eta Carcinus maenas-en osmoerregulazioa

Laburpena

Ikerketa-kasu honen helburu nagusia *Palaemon serratus* eta *Carcinus maenas* krustazeo espezieek gazitasun ezberdineko inguruneetan aurkezten dituzten erantzunen azterketa da, horretarako parametro fisiologiko ezberdinei erreparatu eta hauekin osaturiko grafiko zein kalkuluak erabili ditugularik.

Palaemon serratus izkiraren kasuan, portaera eraentzailea aurkezten du, inguruneke baldintzak aldatu ahala honek bere barne medioa konstante mantentzen baitu. Kontzentrazio ezberdinetan eraenketa mota ezberdinak erabili ditu, beraz, erabilitako mekanismoak ere ezberdinak izango dira. 10-300 mOsm/l-ko kontzentrazio tartean, eraenketa hiperosmotikoa burutu du. Tarte honetan arazorik larrienak ur sarrera eta gatz galera dira, honi aurre egiteko azal iragazkaitza, ur-birxurgapenaren murrizketa, gatz-birxurgapena eta iragazte-tasaren emendioa burutzen dute, azken finean, gernu bolumen handi eta diluituak kanporatzeko asmoz. 300-1100 mOsm/l-ko tartean, aldiz, eraenketa hiposmotikoa burutu du. Ur galera eta gatzen sarrera ekiditeko asmoz, azal iragazkaitza, ur-birxurgapenaren emendioa, gatz-birxurgapena eta iragazte-tasaren murrizketa burutu du, gernu bolumen txiki eta kontzentratuak lortuz.

Carcinus maenas karramarro berdearen kasuan, komuztagarri partziala da, 10-500 mOsm/l-ko tartean portaera eraentzailea aurkezten baitu. Eraenketa hori hiperosmotikoa da, *P. serratus*-en kasuan aipaturiko mekanismo berdina erabiliko dituelarik. 500 mOsm/l-tik aurrera, komuztagarria izango da, hots, lerro isosmotikoa jarraituko du, barne eta kanpo medioa neurri berean aldatuko direlarik. Kasu honetan, komuztadura konpentsazioduna izan da, barne medioa kanpo medioarekiko isosmotiko mantentzeko NPS konposatuen erabilera burutu duelarik.

Sarrera

Ur eta elektrolitoen ekonomiaren oinarriak

Animaliaren ur edukinak, zelularen egitura orokorra eta proteinen aktibitatea zehazten du. Honenbestez, organismoan ur eta elektrolitoen balantze egoki bat mantentzea nahita nahiezkoa da.

Oro har, kanpo medioarekiko, animalia hiru egoera osmotikotan aurki daiteke. Ingurunearekiko orekan (egoera isosmotikoa), kanpo medioa baino barne medio kontzentratuago batekin (egoera hiperosmotikoa) edo barne medio diluituago batekin (egoera hiposmotikoa).

Halaber, inguruneko faktoreek etengabe aldatzen dituzte kanpo medioko baldintzak. Eboluzioan zehar izandako moldapenen arabera, faktore baten, inguruneko gatz kontzentrazioa kasu, aldaketa tarte zabala jasaten duten animaliak (eurihalinoak) edo tarte estuan bizi daitezkeen animaliak (estenohalinoak) bereiz ditzakegu.

Animaliak aldaketen aurrean erantzuteko baliabideak garatu behar ditu, ugalkortasuna eta espeziaren arrakasta bermatu nahi baditu. Organismoak eman ditzakeen erantzunen artean daude sahiespena, komutzadura eta eraenketa. Lehenengo kasuan, animaliak aldaketen aurrean erantzuteko modurik ez duenez, ihes egiten du. Animalia komuztagarriek aldiz, barne medioa konstante mantentzeko mekanismorik ez dutenez, kanpo medioarekin batera aldatzen dute. Espezie komuztagarri askok, konpentsazio mekanismoak garatu dituzte barne kontzentrazioa aktiboki aldatuz, bolumen zelularraren erregulazioa burutzeko. Azkenik, animalia eraentzaileek, kanpo medioa aldatu arren barne medioa konstante mantentzeko gaitasuna erakusten dute.

Gazitasun aldaketen aurrean garaturiko mekanismoak krustazeoetan

Ikerketa ugari burutu dira, gazitasun aldaketen aurrean animaliek garatu dituzten mekanismoak deskribatzeko. Bi mekanismo fisiologiko nagusi deskribatu dira (1) bolumen zelularraren eraenketa isosmotikoa eta (2) ingurune extrazelularraren eraenketa anisosmotikoa.

Krustazeoei dagokienez, krustazeo eurihalino gehienak erregulatzailerik hiperosmotikoak dira. Gehienek, kanpo medioa diluitu ahala jartzen dituzte martxan euren eraenketa mekanismoak. Animaliak aurre egin beharreko arazo nagusiak ur sarrera eta gatzaren galera izango dira. Adaptazio estrategia gisa (1) azal iragazgaitzaren garapena (2), gradiente osmotikoaren jetsiera (3), gerneru bolumenaren emendioa eta (4) gatzaren xurgapen aktiboa burutzen dute (Henry et al, 2012).

Lehenengo bi mekanismoek ur eta elektrolitoen garraio pasiboa murrizten dute, gerora, erregulazio aktiboan animaliak horrenbeste energia gastatu ez dezan. Azken biak aldiz, mekanismo aktiboak dira, pasiboki galdutako gatzak eta irabazitako ura konpentsatzen dituztenak.

Palaemonidae familiako izkiretan ordea, osmoerregulazio hipo/hiperosmotikorako mekanismoak deskribatu dira. Inguruneke gatz kontzentrazio altuetan, eraenketa hiposmotikorako mekanismoak jartzen dituzte martxan. (1) azal iragazgaitzaren garapena eta (2) gradiente osmotikoaren jetsieraz gain, (3) gernu bolumen murriztu eta kontzentratua eta (4) gatzen eskrezio aktiboa burutzen dute (Freire *et al*, 2003).

Mekanismo hauek eta beste batzuk, krustazeoak gazitasun aldakorreko inguruneetara moldatu dituzte. Estuarioetan bizi diren espezieek adibidez, ibaieko zein itsasoko ur-korronteen eragina jasotzen dute eta gazitasun tarte zabal batera egokitu behar dira. Espezie bakoitzak jasan dezakeen gradiente osmotikoa ez da berdina izango eta jasankortasun honek espezieak ingurunera moldatzeko duen gaitasuna determinatuko du (Harris eta Aladin, 1997).

Hortaz, mekanismo osmoerregulatzaileen efizientzia neurtzeko helburuarekin, estuarioetan bizi diren bi espezie aztertu dira, *Palaemon serratus* izkira eta *Carcinus maenas* karramarro berdea.

P.serratus Mediterraneo eta Europa mendebaldeko kostaldean bizi den izkira eurihalinoa da. Itsasbazterreko uretan bizi da, begetaziotik gertu. Ikusi da, itsasoko ohiko gatz kontzentrazioetan osmoeraenketa hiposmotikoa burutzen duela. Ur diluituagoetan aldiz, eraenketa hiperosmotiko partziala burutu dezake (Spaargaren, 1972).

C.maenas Ipar Europako itsasbazterreko karramarroa da, eurihalinoa, gazitasun aldakorreko gunetan bizi dena. Ohiko espeziea da estuarioetan, non marearen arabera gazitasun aldaketak egoten diren. Inguruneke gazitasun maila altuetan espezie isosmotikoa da. Itsasbazterreko ur gazikaretan aldiz osmoeraenketa hiperosmotikoa burutzen du (Winkler *et al* 1988).

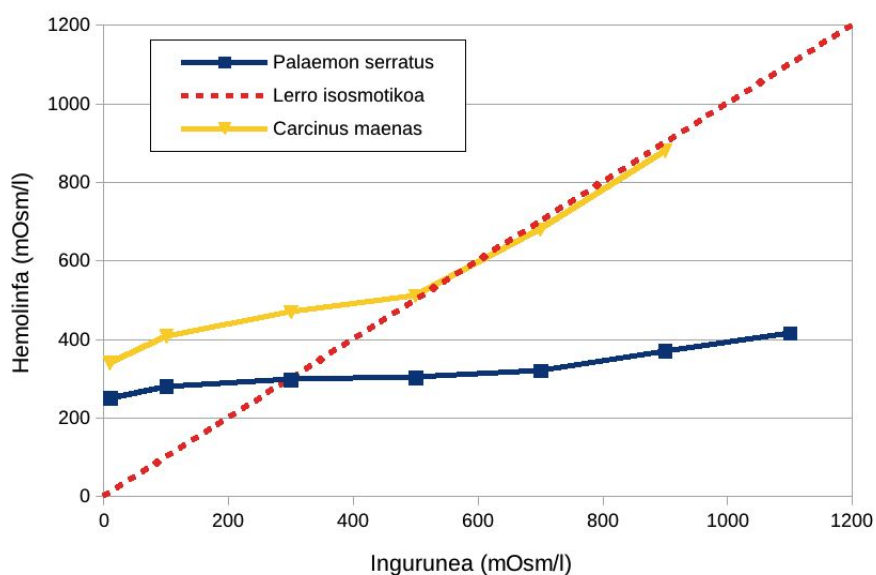
Espezie biak, 10-1100 mOsm/l bitarteko gazitasun tartean ezarri dira eta hurrengo parametro fisiologikoak neurtu zaizkie: hemolinfaren kontzentrazio osmotikoa (mOsm/l), gernuaren kontzentrazio osmotikoa (mOsm/l), hemolinfako eta gernuko Na⁺ kontzentrazioa (mEq/l), iragazketa-tasa (ml/egun), inulinaren gernu odol indizea (g/o)_i , brankietako aktibitate ATPasikoa eta ehunen hidratazio ehunekoa.

Emaizak

Bi espezieen hemolinfaren kontzentrazio osmotikoaren aldaketak alderatzean, ikus daiteke biek jokabide ezberdina jarraitzen dutela inguruneke kontzentrazio osmotikoa aldatzen den heinean.

C.maenas-ek kanpo inguruneke kontzentrazioa 900 mOsm/l-etan hasi eta 500 mOsm/l-etan amaitzen den tartean, hemolinfaren kontzentrazioa aldatu egiten du ia-ia kanpo inguruneke kontzentrazioarekin batera (880mOsm/l → 510 mOsm/l), lerro isosmotikoa jarraituz . Kanpo inguruneke kontzentrazioa 500 mOsm/l-etan hasi eta 10 mOsm/l-etan amaitzen den tartean berriz, ikusten dugu animalia hemolinfaren kontzentrazioa konstante mantentzen saiatzen dela eta ez dela kanpo medioarekin batera aldatzen (hemolinf: 510 mOsm/l → 340 mOsm/l) (3. *Taula*). Kanpo medioaren diluzio faktorea 50 izan da, barne medioarena aldiz, 1,5.

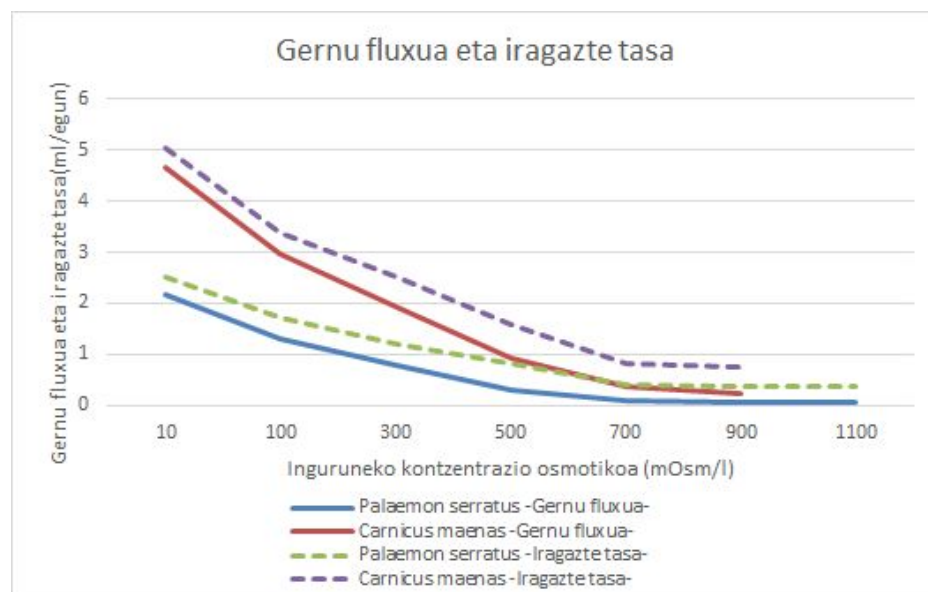
P.serratus espezieari dagokionez, kanpo inguruneke kontzentrazio tarte guztian zehar (1100 mOsm/l → 10 mOsm/l) hemolinfaren kontzentrazioa nahiko konstante mantentzen saiatzen da (hemolinf: 415 mOsm/l → 250 mOsm/l). Kanpo medioaren diluzio faktorea 110 izan da, barne medioarena aldiz, 1,66. Aldaketa nabariena 100 mOsm/l - 10 mOsm/l (hemolinf: 280 mOsm/l → 250 mOsm/l) eta 700 mOsm/l - 1100 mOsm/l (hemolinf: 415 mOsm/l → 320 mOsm/l) tarteetan jasaten ditu (1. *Taula*).



1.Irudia: *P. serratus* eta *C. maenas* krustazeoen hemolinfaren kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) aldaketak inguruneke kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) arabera.

Iragazte-tasaren kasuan, bi espezieen balioak desberdintasun esanguratsuak dituzten arren, biek joera berdina dute, hau da, kanpo ingurunea diluitu ahala iragazte-tasa emendatzen da (2. Irudia). Kontrara, kanpo inguruneko kontzentrazioa handitzen doan heinean iragazte-tasa gutxitu egiten da. Bi kasuetan kanpo ingurune kontzentratuenetik diluituenera iragazte-tasa 6,5 aldiz emendatu da (*C.maenas*: 0,77 ml/egun → 5,03 ml/egun *P.serratus*: 0,38 ml/egun → 2,5 ml/egun) (1. Taula) (3. Taula).

Bestalde, iragazte tasarekin erlazionaturik, gernu fluxuari dagokionez ere, bi espezieek balio ezberdinak dituzten arren joera berdina jarraitzen dute (2. Irudia). Kanpo medioa diluitu ahala gernu fluxuaren emendio bat ematen da. Hala ere, gernu fluxuaren kasuan, 10 mOsm/l-tik 1100 mOsm/l tarteko aldaketa handiagoa da *P.serratus*-en, 27 aldiz emendatu dena (0,08 ml/egun → 2,16 ml/egun) (2. Taula), *C.carcinus*-en baino; 19 aldiz emendatu da (0,24 ml/egun → 4,66 ml/egun) (4. Taula).

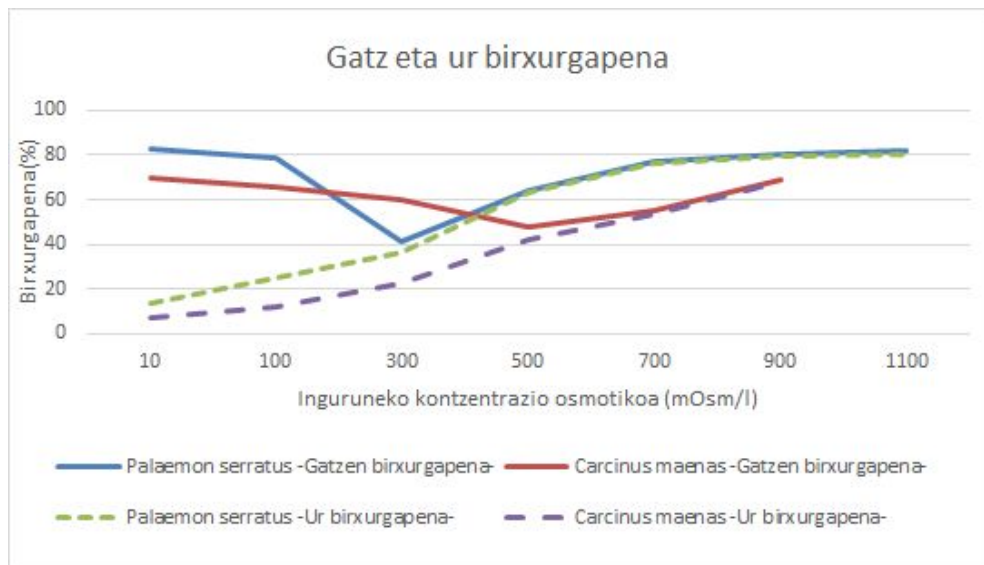


2.Irudia: *P. serratus* eta *C. maenas* krustazeeoen gernu fluxu (ml/egun) eta iragazte tasaren (ml/egun) aldaketak inguruneko kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) arabera.

Ur birxurgapenari dagokionez, bi espezieek birxurgatutako uraren ehunekoa handitzen dute kanpo inguruneko kontzentrazioa igo ahala. Aipatzekoa da *P. serratus*-en ur birxurgapen ehunekoa balio apaldu egiten dela 1100 mOsm/l - 700 mOsm/l tartean, non balio soilik %3,52 igotzen den (%76,64 → %80,16). 700 mOsm/l - 300 mOsm/l tartean aldiz, ur-birxurgapena %45,33 igotzen da (%36,34 → %80,16) (2. Taula). *C.carcinus*-en ur-birxurgapenaren igoera nahiko konstantea da tarte osoan zehar (%7,41→% 68,45) (4. Taula).

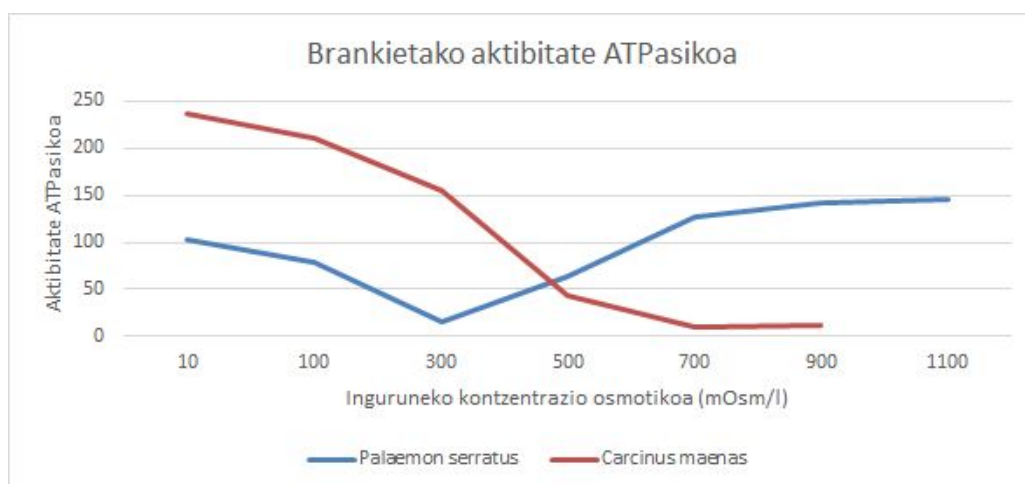
Gatzen birxurgapenaren kasuan, balio minimoak puntu isosmotikoan eskuratu dira, *P.serratus*-ek %41,02 300 mOsm/l-tan eta *C.maenas*-ek %48,16 500 mOsm/l-tan. Puntu hau jatorritzat harturik, kanpo inguruneko kontzentrazioa handitzearekin edo txikitzearekin batera gatzen birxurgapena handitu egiten da, bi kasuetan muturretako balioak oso antzekoak

direlarik (*P.serratus* %82,76 (10 mOsm/l) eta % 82,31 (1100 mOsm/L) (2. *Taula*); *C.carcinus* %70,04 (10 mOsm/l) eta % 68,81 (1100 mOsm/L) (4. *Taula*) .



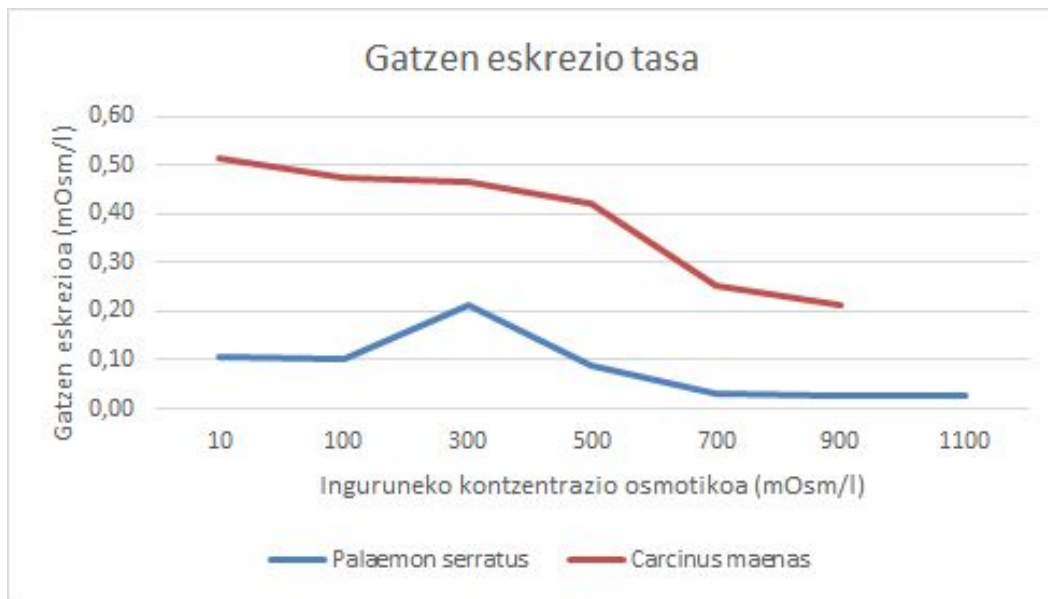
3. Irudia: *P. serratus* eta *C. maenas* krustazoen gatz eta ur birxurgapenaren aldaketak (%) ingurune ko kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) arabera.

Brankietako aktibitate ATPasikoari dagokionez, espezie bakoitzak jokabide ezberdina du (4. *Irudia*). *P.serratus*-en kasuan brankietako aktibitate ATPasikoaren balio txikienak puntu isosmotikoarekin bat egiten du eta kontzentrazioa handitu edo txikitzen den heinean aktibitatea handitu egiten da, balio handienak kanpo ingurune ko kontzentrazioa 1100 mOsm/l-ko denean eskuratzen direlarik (146,3) (1. *Taula*). *C.maenas*-ek berriz 10 mOsm/l-ko kontzentrazioan du aktibitate handiena eta 10mOsm/l - 700 mOsm/l-ko tartean 24 aldiz gutxitzen da aktibitatea 9,8-ko balioa eskuratu arte. Nahiz eta, 900 mOsm/l-ko kontzentrazioan balioa apur bat handitzen den, minimoaren inguruan mantentzen da (3. *Taula*).



4.Irudia: *P. serratus* eta *C. maenas* krustazeeoen brankietako aktibitate ATPasikoaren aldaketak inguruneko kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) arabera.

Gatzen eskrezioan eskuratutako datuek ere espezieen arteko ezberdintasunak erakusten dituzte (5. Irudia). *P.serratus*-ek balio balio maximoa 300 mOsm/l-tan, hots, puntu isosmotikoan du. Hala ere, 10 mOsm/l-100 mOsm/l-ko tartean gatzen eskrezio tasa konstante mantentzen den arren, ingurune kontzentratuetan eskrezio tasa txikitu egiten da (2. Taula). *C.maenas*-en kasuan berriz, 10-500 mOsm/l-ko tartean balioak nahiko konstante mantentzen dira eta 500-900 mOsm/l-ko tartean gatzen eskrezio tasa erdira murrizten da (4. Taula).



5.Irudia: *P. serratus* eta *C. maenas* krustazeeoen gatzen eskrezio tasaren (mOsm/l) aldaketak inguruneko kontzentrazio osmotikoaren (mOsm/l) arabera.

Eztabaida

Palaemon serratus-en hemolinfaren aldaketei begiratzuz (1.irudia) ikusi dezakegu kanpo kontzentrazioa aldatzen doan heinean barne medioko kontzentrazioa gutxi gorabehera konstante mantentzen duela. Hau da, osmoerantzailea da. Mekanismo eraentzaileak, animalien gainontzeko mekanismoak bezala, tarte jakin batean dira eraginkorrak. Kontzentrazio tarte horretatik kanpora eraginkortasuna galduko dute eta barne medioan aldaketa bortitzagoak emango dira. Erantzaile perfektua edo partziala den erabakitzeko, barne medioaren aldaketak gertuagotik aztertu behar dira.

Maldari errepatuz 3 tarte nagusi bereizi daitezke: 10-100 mOsm/l, 100-700 mOsm/l, 700-1100 mOsm/l. Erdiko tartean barne media konstante mantentzen da, baina muturrekoetan eraenketa huts egiten hasten da. Hortaz esan genezake 100-700 mOsm/l tartean eraentzaile perfektua dela eta 10-100 mOsm/l eta 700-1100 mOsm/l tartean eraentzaile partziala dela.

Gainera, *P.serratus* eraentzaile hiperosmotikoa edo hiposmotikoa izan daiteke, ingurune kontzentrazio osmotikoaren arabera (Spaargaren, 1972). Hortaz, lerro isosmotikoaren ezkerretara dagoela (300 mOsm/l-10 mOsm/l) hiperosmotikoa izango da (kanpo medioa baino kontzentratuago baitago), eta honen eskuinaldean (300 mOsm/l-1100 mOsm/l) hiposmotikoa (kanpo medioa baino diluituago egongo delako). Espezie honek beraz, egoera isosmotikoa 300 mOsm/l-tan izango du. Hiperosmotikoa edo hiposmotikoa izateak eraenketarako erabiliko dituen mekanismoetan izango du eragina, egoera kontrajarriak baitira.

C.maenas-i dagokiola, bi joera ikus ditzakegu. 10-500 mOsm/l tartean eraentzaile hiperosmotiko partziala da, baina puntu isosmotikotik aurrera (500-900 mOsm/l tratean) komunztagarri konpentsatzailea da. Ingurune gazitasuna igo ahala emten den trantsizio hau bat dator aurrez espezie honekin eginiko ikerketekin (Winkler *et al* 1988). Hau mekanismo eraentzaile hiposmotikorik ez duelako izan liteke eta ondorioz kanpo medioaren kontzentrazioa berdintzea besterik ez du.

1100 mOsm/l-ko kontzentrazioan daturik ez daukagu. Hau komunztaduraren ondorioa izan daiteke, barne medioaren kontzentrazioa hainbeste igotzean, animalia bizi-funtzioak oztopatuko lituzke. Azkenean organismoaren heriotza eraginez (hiltze-muga).

Eraenketa hiperosmotikorako mekanismoak

Aurretik aipatu bezala, *Palaemon serratus* izkirak eraenketa mota ezberdinak burutzen ditu ingurune kontzentrazioaren arabera, bi kasuetan barne medioa konstante mantentzeko mekanismo ezberdinak erabiliko dituelarik. 10-300 mOsm/l-ko tartean, izkira eraentzaile hiperosmotikoa izango da. *Carcinus maenas* karramarro berdeak 10-500 mOsm/l-ko tartean mekanismo berak erabiliko ditu, hots, eraenketa hiperosmotikoa burutuko du.

Eraenketa hiperosmotikoan, animalia barne medioa ingurunea baino kontzentratuagoa izango da. Ondorioz, animalia arazorik larrienak ur sarrera eta gatz galera izango dira.

Ur sarrerari aurre egiteko azal iragazgaitza garatuko dute. Hala ere, mekanismo hau ez da nahikoa izango sarrera guztia oztopatzeko, beraz, animaliak giltzurrunei esker bolumen handiko gernua kanporatuko du, beti ere diluitua, gatz galera ekiditeko asmoz (Harris eta Aladin, 1997).

Ikusi dugun moduan (2. irudia), ingurune diluituetan gernu fluxua handia izango da, gradiente handiaren ondorioz gertatzen den ur sarrera ekiditeko. Parametro honen balioak handituz joango dira puntu isosmotikotik urruntzen garen heinean. *P. serratus*-en kasuan, gernu fluxua 2,76 bider emendatzen da eta *C. maenas*-en kasuan, aldiz, 5 bider. Gernu fluxuaren emendioaz gain, animalia hauek uraren birxurgapen txikia burutzen dute kanporatutako gernua ahalik eta diluituena izateko (3. irudia). *P. serratus*-en kasuan, muturreko egoeran, hau da, 10 mOsm/l-ko kontzentraziodun uretan, uraren birxurgapen tasa egoera isosmotikoan baino %37,97 txikiagoa da eta *C. maenas*-en kasuan, aldiz, %17,42 txikiagoa.

Ur birxurgapena hormona antidiuretikoaren eraginpean dagoen parametro bat da. Hormona honek, giltzurruneko hodi kolektorea urarekiko iragazkor bihurtzen du. Hormona solugarri honek, erreazio segida batzuen bitartez akuaporina deituriko garraio proteinak askatzeko prozesua martxan jartzen du, honek ur mugimendua eta ondorioz, ur birxurgapena emendatuko duelarik.

Ur sarrerari aurre egiteko, krustazeo hauek iragazpen tasaren emendioaz (2. irudia) baliatuko dira. Parametro honen emendioaren ondorioz, ekoitziko den gernu primario kantitatea handitu egingo da, era horretan animaliak kanporatuko duen ur kantitatea handiago izango delarik. Muturreko egoeran, hots, 10 mOsm/l-ko kontzentraziodun ingurunean *P. serratus*-en iragazte tasa egoera isosmotikoan izango duen balioaren bikoitza izango da eta *C. maenas*-en kasuan, aldiz, hirukoitza. Iragazte tasa renina-angiotentsina hormonak erregulatuta egongo da, odol hodien basokonstrikzioa burutuz kapilareetan presio emendio bat ematen da iragazte tasa aldatu egiten delarik.

Ornogabe itsastarrak, krustazeoak barne, hemolinfaren nolabaiteko diluzioa jasaten dute gazitasun txikiko inguruetan topatzen direnean. Baina, gazitasun falta hori kritikoa denean, osmoregultzaileek mekanismo zelular eta molekularrak martxan jartzen dituzte barne medioa kontante mantetzeko beharrezko molekulen xurgapena burutzeko.

Animalia estres egoerara gerturatzen doan heinean, hots, ingurune diluituagoetan barneratzean, jasango duen gatz galera handiagoa izango da. Kontraesan bat dirudien arren, 5. irudian ikus daitekeen bezala, *P. serratus*-en kasuan, 10 mOsm/l-tan eskrezio tasa egoera isosmotikoan baino %52,38 txikiagoa da. Honen azalpena zera da, gradiente handiaren ondorioz sartutako gatz eskrezio bidez kanporatu beharrean, uraren birxurgapen tasa (3. irudia) emendatuko da barne medioa diluitu eta gatz kontzentrazioa txikituz. *C. maenas*-en kasuan, aldiz, gatz eskrezio tasa %21,43 handiagoa izango da ingurune diluituetan, egoera osmotikora (500 mOsm/l) hurbiltzen den heinean balioak txikituz joango direlarik.

Aurretik aipaturiko gatz galerei aurre egiteko, animaliak gatz birxurgapena (3. irudia) burutuko du. Birxurgapen hau bi mekanismoren bitartez emango da: lehenik eta behin gernu primariotik gatzak birxurgatuko ditu horretarako giltzurruneko hodi kolektoreaz baliatzen delarik. Hodi hau urarekiko iragazkaitza izatean, gatz xurgatu daiteke baina ura hodian bertan mantentzen da.

Gernu primarioan ematen den gatz birxurgapena emendatuz joango da ingurune diluituagoetara heltzen garen heinean (3. irudia). Gatz birxurgapen totalari dagokionez, *P. serratus*-en kasuan, 300 mOsm/l-tik 10 mOsm/l-ra pasatzean balioak bikoiztu egiten dira eta *C. maenas*-en kasuan, aldiz, 500-10 mOsm/l-ko tartean balioak 1,45 bider handitzen dira. Gatz birxurgapen honetan angiotensina, renina eta aldosterona hormonek eragina izaten dute. Sodio kantitatea gutxitzean reninaren presioak ere behera egiten du eta sodio birxurgapena emendatuko da aldosteronari esker.

Ondoren, brankien bidez ere gatzen birxurgapena emango da, lehenengo mekanismoa ez baita nahikoa izango. Birxurgapen hau garraio aktibo bat izango da, ATP beharra izango duena. Garraio hau brankietan kokaturiko zelula berezi batzuetan ematen da; eraenketa hiposmotikoan kloruro zelula izena hartzen dute baina hiperosmotikoan ez dute izen berezirik hartzen. Mekanismo hau energiaren menpekoea denez, gatzen birxurgapena animaliaaren brankietan gertatzen den aktibitate ATPasikoarekin kuantifikatu daiteke (4. irudia). *P. serratus*-en kasuan, brankietako aktibitate ATPasikoa 7 bider handitzen da, 300-10 mOsm/l-ko tartean eta *C. maenas*-en kasuan, aldiz, 5,5 bider handitzen da 500-10 mOsm/l-ko tartean. Azken espezie hau, kontzentrazio osmotikoa kanpo ingurunea baino 250 mOsm/l kontzentratuago mantentzeko gai da gatz kontzentrazio baxuko inguruneetan. Eraitza honen arrazoi nagusia, brankietako Na eta Cl-aren garraio tasa da, animaliak gazitasun oreka positiboa mantzen duelarik inguruneko gazitasun maila txikiarekiko. Garraio tasa altu hauek brankietan topatzen diren Na eta K-ATPasen aktibitate maila altua behar dute.

Eraenketa hiposmotikorako mekanismoak

300 mOsm/l - 1100 mOsm/l tartean *P. serratus*-ek eraenketa hiposmotikorako mekanismoak erabiltzen ditu (1. irudia). Tarte honetan, animaliaaren arazo nagusiak ur galera eta gatz sarrera dira. Lehendabizi, azal iragazgaitzak, difusio pasibo hau mugatuko du. Dena den, ez da nahikoa izango eta animaliak konpentsazio mekanismo aktiboak erabili beharko ditu barne medioa kanpo medioarekin batera aldatu ez dadin. Horretarako, gernu bolumen murriztua (2. irudia) eta oso kontzentratua ekoitziko du (Freire *et al*, 2003). Hain zuzen, puntu isosmotikotik abiatuta (300 mOsm/l) kanpo medioa kontzentratu ahala gernu fuxuaren balioak oso baxuak dira, 700 mOsm/l-1100 mOsm/l tartean fluxu minimora iritsiz (0,1-0,08 ml/egun).

Gernu kontzentratu hau lortzeko ur-birxurgapenaren emendio bat ematen da (3. irudia) krustazeoaren hodi kolektorean. Ur-birxurgapena nabarmen igo da egoera isosmotikotik (300 mOsm/l) egoera hiposmotikora pasatzean. Dena den, 300 mOsm/l-700 mOsm/l tartean eman da emendiorik handiera, 700 mOsm/l -1100 mOsm/l tartean igoera apaldu egiten da, animaliak birxurgapenerako efizientzia galtzen du (Freire *et al*, 2003).

Hodi kolektorea urarekiko iragazkorra da, baina uraren birxurgapena emateko gatz birxurgapen aktiboa eman behar da lehenik; izan ere ura gatzekin batera mugituko da, pasiboki. Biak aldi berean xurgatuta gernu bolumen oso txikia lortzen da eta kontzentratua, barne medioarekiko isosmotikoa dena. Hortaz, gatz birxurgapen aktiboak ur birxurgapenaren joera berdina jarraitzen du 300 mOsm/l - 1100 mOsm/l tartean (3. irudia) (Spaargaren, 1972).

Aipatu bezala, hodi kolektorearen iragazkortasuna hormona antidiuretikoaren (ADH) erregulaziopean dago. Medioa kontzentratu eta animaliak ura galdu ahala, presio hidrostatikoa murriztuko da. Señale honek hipotalamo-hipofisi ardatzaren bidez ADH hormonaren askapena emendatuko du, iragazkortasuna handituz.

Halaber, gernu bolumen murriztua lortzeko glomeruluetako iragazte-tasa gutxitzen da (2. *irudia*) bi parametroek joera berdina jarraitzen dutelarik. Esan bezala, iragazte-tasa renina-angiotentsina hormonak eraenduko du.

Ondoren, eskuraturiko gatzen kanporaketa burutzen da. Neurri txikian giltzurrun eta gorotzen bidez burutuko da, baina gatzen kanporaketa gehiena estrarenala izango da, brankietako kloruro zelulen bidez. Ikusi da *Palaemonidae* familiako espezetan Na^+/K^+ ATP-asa gainadierazten dela (Dissanayake *et al.* 2010). Antzima hau aktiboki Na^+ eta K^+ kanporatzen dituen proteina garraiatzailea da, honenbestez gatzen kanporanzko garraioa ATP-asa aktibitatea neurtuz jakin daiteke. Hain zuzen, 300 mOsm - 700 mOsm/l tartean *P.serratus*-en aktibitate ATP-asikoaren emendio garbia ikusten da (4. *irudia*). 700 mOsm/l-eko kontzentrazioetik gora, aktibitate ATP-asikoa ez da horrenbeste igotzen, gazitasun-maila altuetan animaliak, partzialki eraenketarako gaitasuna galtzen duelako.

Gatzen eskrezio-tasa aztertuz, egoera hiposmotikoan animalari ahalik eta gatz gehien kanporatzea komeni zaion arren, eskrezio-tasa gutxituz doa. Izan ere, animaliak gernu gero eta kontzentratuagoa ekoizten duen arren, proportzioan gernu-fluxuaren bolumena gehiago jeisten da (5. *irudia*). Tarte hiposmotiko guztia aintzat hartuz gero, 300 mOsm/l-1100 mOsm/l tartean gernuko kontzentrazio osmotikoa 1,35 bider igo da, gernu fluxua aldiz 9,62 bider gutxitu da. Guztira, gatzen eskrezio-tasa murriztu egiten da, honenbestez, animaliak estrarenalki, kloruro zelulen bidez burutzen duen kanporaketa funtsezkoa da. Mekanismo hau gabe animaliak ez luke barne-medioa egoera hiposmotikoan mantentzeko gaitasunik izango (Dissanayake *et al.* 2010). Aipatzekoa da, 700 mOsm/l-1100 mOsm/l tartean eskrezio-tasa nahiko konstante mantentzen dela, izan ere, gernuaren kontzentrazio osmotikoaren igoera eta gernu-fluxuaren jetsiera orekatzen doaz.

Guzti honek, zuzenean eragiten du hemolinfaren kontzentrazio osmotikoan (1. *irudia*). 300 mOsm/l - 700 mOsm/l tartean animalia barne-medioa ez da ia aldatzen, eraenketa perfektua da. 700 mOsm/l-1100 mOsm/l tartean aldiz aktibitate ATP-asikoa eta ur birxurgapenaren efizientzia gutxituz doaz. Animaliak eraenketa partziala burutzen du eta estres egoeran sartzen da. Hidratazio portzentaiari erreparatuz, %4,3-ko jetsiera jasaten du (2. *Taula*), eta kanpo medioa kontzentratzen jarraituko bagenu balio hau txikitzen joango litzateke; animalia guztiz deshidratatu arte, hau da, hiltze mugara iritsi arte.

Komuztadura partzialeko konpentsazio mekanismoak

500 mOsm/l-900 mOsm/l tartean *C.maenas* komuztagarria da (1. *Irudia*). Nahiz eta, kanpo ingurune kontzentrazio baxuagoa denean barne medioa nahiko konstante mantentzeko mekanismoak erregulatzeko gai den, hauek ez dira erabilgarriak aipatutako tartean, eta espezieak lerro isosmotikoa jarraituz aldatzen du barne kontzentrazioa.

Hala ere, konpentsazio mekanismoak kontuan hartuta, animalia komuztagarria den tartea bitan bana daiteke. 500-700 mOsm/l tartean *C.maenas*-en diluzio faktorea 1,33 da eta pisu lehorren ehunekoaren diluzio faktorea 1,05. Tarte honetan aipatutako bi diluzio faktoreen diferentzia esanguratsuak, animalia bolumena konstante mantendu dela adierazte du. Horretarako, NPS (aminoazidoak eta pisu molekular baxuko molekulak) bidezko

konpentsazioa burutu da. Proteinen hidrolisiz, hemolinfako NPS kontzentrazioak gora egiten du kanpo medioa kontzentratu ahala. 700-900 mOsm/l tartean berriz, diluzio faktorea 1,29 da eta pisu lehorraren ehunekoaren diluzio faktorea 1,23. Tarte honetako diluzio faktoreen diferentzia txikiak, animalia-aren konpentsazio falta, eta horrenbestez, animalia-aren bolumen aldaketa adierazten du. Hain zuzen ere, azken tarte honetan animalia-aren hidratazio portzentaia %5 jaisten da (4. Taula). Aurretiko, ikerketetan ere antzeko emaitzak deskribatu dira, kanpo ingurunearen kontzentrazioaren emendioarekin NPS-ak ez dira behar beste kontzentratu (Siebers, 1972).

Brankietako aktibitate ATPasikoa, *C.maenas* komuztagarria den tartean, esanguratsuki gutxitzen da (4. Irudia). Kasu hau animaliak bere barne kontzentrazioa mantentzeko gaitasun faltaren beste adibide bat da. Gazitasun altuetan *C.maenas* komuztagarri ioniko eta osmotikoa denez, hemolinfako ioen kontzentrazioa kanpo ingurunearekiko pasiboki mantentzen du (Henry et al, 2003).

Ondorioak

Bi espeziek gazitasun aldakorreko inguruneetara moldatzeko mekanismoak garatu dituzte. Honenbestez, espezie eurihalinoak dira biak baina portaera ezberdinak erakusten dituzte.

C.carcinus-en kasuan, eraenketa hiperosmotikorako mekanismoak garatu ditu medio diluituan, medio kontzentratuan aldiz konpentsazio bidezko komuztadura burutzen du. Espeziearen tarte optimoa 100-700 mOsm/l izango litzateke. Eraenketa hiperosmotikorako mekanismo efizienteak ditu 500-100 mOsm/l ingurune-ko kontzentrazio osmotikoetan. 500 mOsm/l-ko gazitasunetik gora aldiz, konpentsazio mekanismo eraginkorrak abiatzen ditu 700 mOsm/l-ko gazitasunera iritsi arte. 700-900 mOsm/l tartean eraginkortasun hori jaisten da eta 900 mOsm/l baino gazitasun altuagoko inguruneetan espeziea hil egiten da.

P.serratus-ek medio kontzentratuan eraenketa hiposmotikorako mekanismo efizienteak ditu. Ingurune diluituagoetan, eraenketa hiperosmotikoa burutzen du baina ez horren modu eraginkorrean. *C.carcinus*-en tarte optimo bera du, 100-700 mOsm/l eta tarte horretan eraenketa hiposmotikorako mekanismoek hartzen dute garrantzia gehien. Eraenketa hiposmotiko honek, gazitasun altuetan *C.carcinus*-ek baino gehiago bizirautea ahalbidetzen dio. Espeziearen puntu optimoa, 300 mOsm/l, puntu isosmotikoa izango litzateke, gazitasun horretan aktibitate ATP-asikoa minimoa da eta beraz, animaliak energia gastu gutxiago izango du osmoeraenketan.

Gazitasun baxu eta aldakorretara moldatzeak estuarioetan bizirauteko espezie egokiak bilakatu ditu biak. Estuarioa estres handiko ingurunea da, espezie gutxi erantzun diezaiekete estres horiei eta honenbestez espezie arteko lehia murrizta da. Gainera, nutrienteetan oso aberatsak diren inguruneak dira. Baldintza hauek dakartzaten onura ekologiko eta ebolutiboak izan dira osmoerregulazio mekanismoen garapenerako arrazoi nagusiak (Henry et al, 2012).

Eboluzioan zehar mekanismo horiek inguruneko baldintzen aldaketara moldatu behar izan dira, eta moldaketa honek azaltzen ditu bi espezien artean aurkitzen ditugun ezberdintasunak.

Bibliografia

Dissanayake, Awantha & Clough, Robert & Spicer, John & M.B.Jones,. (2010). Effects of hypercapnia exposure on acid-base balance and osmo-/iono- regulation in the prawns *Palaemon elegans* (Rathke) and *P. serratus* (Pennant) (Decapoda: Palaemonidae).. *Aquatic Biology*. 11. 27-36. 10.3354/ab00285

Dobkin, S., & Manning, R. B. (1964). Osmoregulation in two species of *Palaemonetes* (Crustacea: Decapoda) from Florida. *Bulletin of Marine Science*, 14(1), 149-157.

Freire CA, Cavassin F, Rodrigues EN, Torres AH, McNamara JC. Adaptive patterns of osmotic and ionic regulation, and the invasion of fresh water by the palaemonid shrimps. *Comparative Biochemistry and physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*. 2003 Nov;136(3):771-778. DOI: 10.1016/j.cbpb.2003.08.007.

Harris R.R., Aladin N.V. (1997) The Ecophysiology of Osmoregulation in Crustacea. In: Hazon N., Eddy F.B., Flik G. (eds) *Ionic Regulation in Animals: A Tribute to Professor W.T.W.Potts*. Springer, Berlin, Heidelberg

Henry, R.P., S. Gehnrich, D. Weihrauch and D.W. Towle. 2003. Salinity-mediated carbonic anhydrase induction in the gills of the euryhaline green crab, *Carcinus maenas*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 136: 243-258.

Henry RP, Lucu C, Onken H and Weihrauch D (2012) Multiple functions of the crustacean gill: osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals. *Front. Physiol.* 3:431. doi: 10.3389/fphys.2012.00431

Spaargaren, D.H., (1971). Osmoregulation in the prawns *Palaemon Serratus* and *Lysmata seticaudata* from the Bay of Naples. *Neth. J. Sea Res.* 5:416-436.

Siebers, D., Lucu, C., Sperling, K.R. and Eberlein, K. (1972). Kinetics of osmoregulation in the crab *Carcinus maenas*. *Mar.Biol. (Berlin)* 17, 291-303.

Winkler, A., Siebers, D. & Becker, W. Osmotic and ionic regulation in shore crabs *Carcinus maenas* inhabiting a tidal estuary. *Helgolander Meeresunters* 42, 99–111 (1988).

Eranskina

1.Taula: *Palaemon serratus*-en hemolinfa eta gernuaren kontzentrazio osmotikoak, iragazte-tasa, inulinaren gernu-odol indizea eta brankietako aktibitate ATPasikoa inguruneke kontzentrazio ezberdinetan.

| Kontzentrazio osmotikoa (mOsm/l) | | | | | |
|----------------------------------|-----------|--------|-------------------------|---------------|----------------------------------|
| Ingurunea | Hemolinfa | Gernua | Iragazte-tasa (ml/egun) | (G/O) Inulina | Brankietako aktibitate ATPasikoa |
| 10 | 340 | 110 | 5,03 | 1,08 | 237 |
| 100 | 408 | 160 | 3,39 | 1,14 | 211,4 |
| 300 | 470 | 240 | 2,51 | 1,29 | 154,3 |
| 500 | 510 | 460 | 1,6 | 1,74 | 43,1 |
| 700 | 680 | 650 | 0,83 | 2,15 | 9,8 |
| 900 | 880 | 870 | 0,77 | 3,17 | 12,2 |
| 1100 | - | - | - | - | - |

2.Taula: *Palaemon serratus*-en hidratazio ehunekoa, gernu fluxua, ur eta gatzen birxurgapen ehunekoa eta gatzen eskrezio tasa inguruneke kontzentrazio ezberdinetan.

| Ingurunea (mOsm/l) | Hidratazio % | Gernu fluxua (ml/egun) | Ur birxurgapena (%) | Gatz birxurgapen totala (%) | Gatzen eskrezio tasa (mOsm/egun) |
|--------------------|--------------|------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 10 | 82 | 2,16 | 13,79 | 82,76 | 0,11 |
| 100 | 80 | 1,29 | 24,81 | 78,52 | 0,10 |
| 300 | 80 | 0,78 | 36,31 | 41,02 | 0,21 |
| 500 | 80 | 0,29 | 63,64 | 63,88 | 0,09 |
| 700 | 79,3 | 0,10 | 76,64 | 77,37 | 0,03 |
| 900 | 77 | 0,08 | 79,67 | 80,77 | 0,03 |
| 1100 | 75 | 0,08 | 80,16 | 82,31 | 0,03 |

3.Taula: *Carcinus maenas*-en hemolinfa eta gernuaren kontzentrazio osmotikoak, iragazte-tasa, inulinaren gernu-odol indizea eta brankietako aktibitate ATPasikoa inguruneke kontzentrazio ezberdinetan.

| Kontzentrazio osmotikoa (mOsm/l) | | | | | |
|----------------------------------|-----------|--------|-------------------------|---------------|----------------------------------|
| Ingurunea | Hemolinfa | Gernua | Iragazte-tasa (ml/egun) | (G/O) Inulina | Brankietako aktibitate ATPasikoa |
| 10 | 250 | 50 | 2,5 | 1,16 | 102,9 |
| 100 | 280 | 80 | 1,72 | 1,33 | 78,2 |
| 300 | 297 | 275 | 1,22 | 1,57 | 14,7 |
| 500 | 302 | 300 | 0,81 | 2,75 | 63,1 |
| 700 | 320 | 310 | 0,42 | 4,28 | 126,5 |
| 900 | 370 | 350 | 0,39 | 4,92 | 141,5 |
| 1100 | 415 | 370 | 0,38 | 5,04 | 146,3 |

4.Taula: *Carcinus maenas*-en hidratazio ehunekoa, gernu fluxua, ur eta gatzen birxurgapen ehunekoa eta gatzen eskrezio tasa inguruneko kontzentrazio ezberdinetan.

| Ingurunea (mOsm/l) | Hidratazio % | Gernu fluxua (ml/egun) | Ur birxurgapena (%) | Gatz birxurgapena | Gatzen eskrezio-tasa (mOsm/egun) |
|-----------------------|--------------|---------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------------------|
| 10 | 81 | 4,66 | 7,41 | 70,04 | 0,51 |
| 100 | 80 | 2,97 | 12,28 | 65,60 | 0,48 |
| 300 | 79 | 1,95 | 22,48 | 60,42 | 0,47 |
| 500 | 79 | 0,92 | 42,53 | 48,16 | 0,42 |
| 700 | 78 | 0,39 | 53,49 | 55,54 | 0,25 |
| 900 | 73 | 0,24 | 68,45 | 68,81 | 0,21 |
| 1100 | | | | | |