

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado

Biologian Gradua / Grado en Biología

# **Dependencia Térmica del Disponible Metabólico para la Actividad en Bivalvos Aclimatados a Distintas Temperaturas**

Egilea/Autor:

**Jon Aguirre Martinez**

Zuzendaria/Director/a:

**Enrique Navarro**

## Índice

Resumen.....	3
Abstract.....	4
Introducción.....	5
Objetivos.....	7
Material y métodos.....	8
<b>1.1.</b> Recogida y mantenimiento de los animales.....	8
<b>1.2.</b> Determinaciones respirométricas.....	9
<b>1.2.1.</b> Procedimiento para obtener la temperatura de los baños.....	10
<b>1.2.2.</b> Tiempo de acomodación antes de proceder a las medidas.....	10
<b>1.2.3.</b> Descripción básica de los procedimientos respirométricos.....	10
<b>1.2.4.</b> Cálculo de la tasa metabólica y normalización a un peso común.....	11
<b>1.3.</b> Procedimientos estadísticos.....	11
Resultados.....	12
Discusión.....	17
Referencias.....	21

## Resumen

Para la realización del presente estudio, se utilizaron 50 ejemplares de *Ruditapes Decussatus* o almeja fina y otros 50 de *Ruditapes Philippinarum* o almeja japonesa, recogidas y seleccionadas por mariscadores profesionales de la Bahía de Santoña (Cantabria).

La temperatura influye en las tasas fisiológicas, llegando a generar finalmente alteraciones en el metabolismo del organismo. Por ello, una variable de interés para el estudio se trata de la tasa metabólica, la cual puede ser estimada a través de la medición de la tasa de consumo de oxígeno ( $VO_2$ ).

El objetivo final de este estudio es, por tanto, observar el efecto cinético de la temperatura y la aclimatación sobre el metabolismo de ambas especies de almejas, distribuidas en cuatro grupos de estudio (almeja fina y japonesa aclimatadas a 12°C y 22°C), midiendo la  $VO_2$  a diferentes temperaturas de exposición (7°C, 12°C, 17°C, 22°C y 27°C). Utilizando el la respirometría como medio para calcular la  $VO_2$  y el cálculo de la  $Q_{10}$  para determinar las tasas metabólicas.

Los resultados ponen de manifiesto que en tres de los cuatro casos no se observaron diferencias significativas entre el metabolismo rutina y el metabolismo estándar. También se comprobó positivamente el efecto cinético de la temperatura sobre la  $VO_2$ ; así como la presencia de un intervalo de temperaturas, en las que se realiza compensación, más amplio para almeja japonesa que para almeja fina.

### Abstract

To carry out the present study, 50 specimens of *Ruditapes Decussatus* or grooved carpet shell and other 50 of *Ruditapes Philippinarum* or Japanese carpet shell were picked up and selected by professional gatherers from Santoña Bay (Cantabria).

The temperature influences in the physiological rates including, ultimately, producing alterations in the organism metabolism. For this reason, an interesting variable for the study is the metabolic rate, which can be estimated through the measuring of oxygen consumption ( $VO_2$ ) rate.

The ultimate objective of this study is to observe the kinetic effect of the temperature and the acclimatization on both clam species, which were distributed in four study samples (grooved carpet shell and Japanese acclimated to 12°C and 22°C) measuring  $VO_2$  at different exposed temperatures (7°C, 12°C, 17°C, 22°C y 27°C). Using respirometry as a way to measure  $VO_2$  parameter, and the calculation of  $Q_{10}$  parameter in order to determine metabolic rates.

The results of the presents study brought to light that in 3 out 4 cases significant differences were not observed between the routine and standard metabolism samples. It was also evidenced the kinetic effect of temperature in the  $VO_2$  parameter, as well as the presence of a temperature range, in which compensation joined in, it was wider for Japanese carpet shell than grooved carpet shell.

## **Dependencia Térmica del Disponible Metabólico para la Actividad en Bivalvos Aclimatados a Distintas Temperaturas**

El medio natural de los organismos se encuentra expuesto a continuas fluctuaciones de las condiciones ambientales. Entre ellas, las temperaturas son una de las variables que varía con mayor frecuencia, ya que ocurren a lo largo del día, de las estaciones e interanuales (Nieves et al., 2009). Las consecuencias de las oscilaciones térmicas incluyen cambios en los tiempos de reproducción, así como cambios en el éxito reproductivo, reclutamiento, rendimiento del crecimiento, mortalidad de las especies y finalmente, cambios en la distribución geográfica (Pörtner, 2002). Según Maeda-Martínez (2002) la temperatura óptima para un organismo consiste en aquella en la que se obtiene mayor energía para movimiento, crecimiento, etc.

Estas variaciones de temperatura influyen en el metabolismo de los organismos. Tamayo et al. (2013) afirman que el aumento de temperatura del medio en el que se encuentra un organismo, tiende a aumentar la velocidad de todos los procesos metabólicos del mismo. Dicho aumento de temperatura, a su vez incrementa exponencialmente las tasas metabólicas para los requerimientos basales, siendo los responsables de la mayor parte del consumo de oxígeno, de tal manera que el oxígeno destinado a la realización de otras actividades (como el crecimiento) se ve considerablemente disminuido. Por el contrario, y siguiendo a estos mismos autores, con las bajas temperaturas el descenso de la actividad enzimática y de los procesos relacionados con la captación de oxígeno, reducirían de forma crítica la actividad metabólica.

Por lo tanto, la tasa metabólica depende tanto de factores endógenos (tamaño y ciclo reproductivo de los individuos), como exógenos (temperatura y características del seston disponible). Por ello, se considera termodependiente dada la condición de ectotermos de los moluscos bivalvos, incrementando con la temperatura hasta un punto en el cual se produce un rápido descenso (Filgueira, 2007).

La velocidad de las reacciones químicas, especialmente las enzimáticas, es muy dependiente de la temperatura (Raldall et al., 2002). Dicha relación puede realizarse mediante el estudio del parámetro  $Q_{10}$ . Este parámetro nos indica que, en ausencia de compensación térmica, un aumento de  $10^{\circ}\text{C}$  determina que la tasa metabólica se duplique. Los animales capaces de compensar la variación de la temperatura tendrían la misma tasa metabólica a las diferentes temperaturas. Por lo que una  $Q_{10} = 1$  nos indica que el organismo es capaz de compensar la variación de la temperatura.

Es por ello que la supervivencia de un individuo depende del mantenimiento del medio interno a temperaturas compatibles con las reacciones metabólicas facilitadas por enzimas. Cuando se considera el efecto de la temperatura en la velocidad de una reacción, es útil obtener un cociente térmico comparando la velocidad a dos temperaturas diferentes. El cálculo de la  $Q_{10}$  puede aplicarse tanto a procesos simples (por ejemplo, una reacción enzimática) como a procesos complejos (como la carrera o el crecimiento) (Randall et al., 2002).

Así, la tasa metabólica comprende el total de las reacciones energéticas que se llevan a cabo en el organismo y se utiliza como indicador interno del organismo (González, 2003). Existen dos tipos de metabolismo. En primer lugar, encontramos el metabolismo estándar, encargado del nivel de actividad mínima responsable del mantenimiento vital (González, 2003) en reposo y ayuno (Randall et al., 2002); y en segundo lugar, el metabolismo rutina, es el responsable de la vida activa del organismo, que según Parry (1983), resulta de la suma de los costes de mantenimiento y los correspondientes al crecimiento.

Por otro lado, el alcance metabólico aeróbico (*Aerobic Scope for Activity*) (ASA), se trata del rango de tasas metabólicas del que es capaz un animal, y se define como la relación entre la máxima tasa metabólica sostenible y la tasa metabólica estándar (en condiciones de reposo) (Randall et al., 2002).

Los organismos poseen la capacidad de adaptarse a las variaciones térmicas que mencionábamos anteriormente, con el objetivo de asegurar su supervivencia. A esta capacidad se la denomina aclimatación térmica del organismo, definida como un ajuste metabólico, no genético, que se da como respuesta a un cambio de la temperatura ambiental, y que ejerciendo influencia en las algunas tasas fisiológicas, las cuales a su vez influyen en el metabolismo del organismo (Maeda-Martínez, 2002; Nieves et al., 2009). Esta aclimatación térmica permite al organismo conservar los niveles del ASA en el contexto de una variación térmica del medio.

El rango de tolerancia térmica es amplio en las especies tropicales y de clima templado; especialmente en el hemisferio norte, las especies poseen la habilidad de aclimatarse a los cambios estacionales de temperatura (Pörtner, 2002).

En el presente estudio se trata de observar el efecto de la temperatura en el metabolismo de bivalvos (Pelecípodos o Lamelibranquios) (UPV, s.f.). Estos animales, al ser ectotermos, son especies que no regulan su temperatura interna y su mantenimiento depende de la temperatura del medio en el que se encuentran (Pörtner, 2002).

Concretamente, se trabajó con las especies *Ruditapes Decussatus* (almeja fina) y *Ruditapes Philippinarum* (almeja japonesa). En el primero de los casos, la almeja fina, se cría principalmente en la cuenca del Mediterráneo y en la costa Atlántica de Francia, España y Portugal. Concretamente, en España se cría en Galicia, Asturias, Cantabria, Cataluña y Andalucía (Ministerio del Medio Ambiente y el Medio Rural Marino, s. f.; FAO, 2015).

En cuanto a la almeja japonesa, se trata de una especie de subtropical a boreal, de latitudes bajas del Pacífico occidental y se distribuye en zonas templadas de Europa (pero gracias a su rápido crecimiento, la cría de esta almeja se ha extendido a Gran Bretaña, Francia, España e Italia). Sin embargo, las poblaciones silvestres se encuentran en Filipinas, Mares del Sur y del Este de China, Mar Amarillo, Mar de Japón, Mar de Okhotsk e Islas del Sur de Kuril (Ministerio del Medio Ambiente y el Medio Rural Marino, s. f.; FAO, 2015).

Ambas especies, aun siendo muy similares, se pueden diferenciar por sus sifones. La almeja fina presenta sifones largos, separados en toda su longitud; mientras que la almeja japonesa presenta sifones unidos hasta más de la mitad de su longitud (Ministerio del Medio Ambiente y el Medio Rural Marino, s. f.).

Por lo tanto, para estimar el metabolismo de cada una de las almejas, se llevó a cabo una medición de la tasa de consumo de oxígeno ( $VO_2$ ). Este método de medida es utilizado de forma común por gran cantidad de investigadores. Así Tomalá et al. (2014) enumeran y afirman que numerosos estudios han sido realizados para calcular la tasa de consumo de oxígeno, utilizando para ello respirómetros.

### **Objetivos**

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es el estudio del efecto cinético de la temperatura y la aclimatación sobre el metabolismo de dos especies de almejas, midiendo las  $VO_2$  a diferentes temperaturas de exposición.

## Material y métodos

### 1.1. Recogida y mantenimiento de los animales.

Para la realización del trabajo experimental se utilizaron 50 ejemplares de cada una de las dos especies de almeja: almeja fina (autóctona del mar cantábrico) y almeja japonesa (originaria de un clima más cálido). Los ejemplares, de unos 30 mm de longitud de la concha, fueron proporcionados por mariscadores profesionales de la Bahía de Santoña (Cantabria).

En el laboratorio, 25 ejemplares de cada especie se disponían en sendos tanques de agua de mar regulados a las temperaturas de 12°C y 22°C, donde se aclimataban durante un periodo de 45 días. Cada tanque se dividía en dos mitades mediante una separación vertical de malla de plástico para la separación de los individuos de ambas especies.

Las temperaturas de aclimatación en los tanques de agua se lograron instalando un sistema tipo baño maría, en los que los dos tanques de agua de mar con los organismos para realizar la aclimatación se introducían en sendos depósitos de agua dulce termostatizados a las correspondientes temperaturas de aclimatación. Para la temperatura de 12°C, se utilizó un enfriador de agua (dedo frío) con un termostato que controlaba la temperatura y una bomba que recirculaba el agua. Para la temperatura de 22°C, se utilizó un calentador de inmersión con termostato integrado y una bomba que recirculaba el agua.

Al inicio, tanto el enfriador de agua como el calentador de inmersión, fueron calibrados a la temperatura media del laboratorio (20°C), y después se ajustó la temperatura de cada tanque 1°C por día hasta alcanzar la temperatura de aclimatación deseada en el experimento (12°C y 22°C respectivamente). La temperatura de los tanques se verificaba diariamente mediante un termómetro y se ajustaba diariamente.

Durante todo el proceso de aclimatación, las almejas fueron mantenidas con una ración de alimento consistente en un concentrado de fitoplancton comercial (*ShellfishDiet 1800<sup>TM</sup> de Reed Mariculture*) que incorpora una mezcla de microalgas concentradas (géneros *Isochrysis*, *Pavlova*, *Thalassiosira*, *Tetraselmis*). Se utilizó una ración cuatro veces superior a la de mantenimiento. Ésta se ha estimado en 1,528J/h para una almeja de 2 g que se corresponde con una dieta diaria de 0,08 mg de materia orgánica por gramo de peso vivo (Delgado, Péres y Albentosa, 2002), por lo que suministramos a una ración de 0,3 mg de materia orgánica por gramo de peso vivo de almeja y día. De acuerdo con este cálculo y el contenido orgánico del preparado comercial, la dieta diaria de cada tanque (150 mg orgánicos) consistía en 4 ml de

*ShellfishDiet*, que se diluían en 5 L de agua de mar para constituir un stock que dosificaba en continuo a los tanques mediante una bomba peristáltica multicanal.

Durante todo el proceso de aclimatación, los tanques de agua de mar, se limpiaron cada dos días para evitar la contaminación del agua con heces (evitando así que afecte tanto a la supervivencia de los individuos como a su estado fisiológico a la hora de realizar el experimento). Además, se renovaba el agua completamente cambiándola por agua limpia.

A lo largo del experimento, la tasa de supervivencia fue del 100% en el caso de la almeja fina y del 92 % en el caso de la japonesa. Tras detectar la muerte de algún individuo, se llevó a cabo un vaciado del agua de los tanques de aclimatación y un proceso de limpieza para evitar así una posible intoxicación de otros individuos dentro de los tanques. Renovando completamente el agua tras el proceso de limpieza de los tanques.

## **1.2. Determinaciones respirométricas.**

El objetivo de este trabajo consiste en determinar el efecto de la temperatura de aclimatación sobre la respuesta metabólica al cambio agudo de temperatura (temperatura de exposición), considerando dos niveles de actividad metabólica: metabolismo de rutina y metabolismo estándar.

Medimos la concentración de oxígeno de los tarros de una muestra al azar de ambas especies de almejas de los dos tanques de aclimatación (12°C y 22°C) a las diferentes temperaturas de exposición (7°C, 12°C, 17°C, 22°C y 27°C). Estas primeras mediciones son las derivadas del metabolismo de rutina de los organismos.

Tras finalizar las mediciones de los organismos en su estado metabólico de rutina, procedimos a realizar el ayuno de los organismos en cada uno de los tanques de aclimatación. En estas condiciones de ayuno, procedimos a realizar las segundas mediciones, las cuales son las derivadas del metabolismo estándar de los organismos.

Ambos tipos de metabolismo se medirán tanto para almeja fina como japonesa a las dos temperaturas de aclimatación a las diferentes temperaturas de exposición (7°C, 12°C, 17°C, 22°C y 27°C).

### **1.2.1. Procedimiento para obtener la temperatura de los baños.**

Para estimar la tasa metabólica a las diferentes temperaturas de exposición, primero preparamos un tanque con agua dulce en el que utilizamos el mismo sistema que en los tanques de aclimatación para alcanzar la temperatura deseada.

Para las temperaturas de 7°C, 12°C y 17°C se utilizó un enfriador de agua (dedo frío) con un termostato que controlaba la temperatura y una bomba que recirculaba el agua. En el caso de las temperaturas de 22°C y 27°C se utilizó un calentador de inmersión con termostato integrado y una bomba que recirculaba el agua.

### **1.2.2. Tiempo de acomodación antes de proceder a las medidas.**

Una vez alcanzada la temperatura deseada en el tanque de exposición, y para evitar un posible efecto de choque térmico sobre los organismos sometidos a las diferentes temperaturas de exposición (evitando realizar las mediciones mientras los organismos están cerrados y no respiran), los animales se introducían en recipientes de vidrio (respirómetros) con agua de mar (preparada previamente a la temperatura de exposición que se desea medir) durante una hora. Pasado este tiempo de acomodación, se renovó el agua de los respirómetros y se procedió a la determinación de la tasa de consumo de oxígeno.

### **1.2.3. Descripción básica de los procedimientos respirométricos: volumen de las cámaras y tiempos de registro del descenso en la concentración de oxígeno.**

El metabolismo se determinó indirectamente a través de la tasa respiratoria. Ésta fue estimada midiendo el consumo de oxígeno de los organismos por medio de un oxímetro (Medidor HQ40d multi-electrodo de oxígeno STD HACH LANGE).

Al inicio de la respirometría el sistema se sella, para evitar el contacto del agua con la atmósfera, con un tapón perforado, a través del cual se inserta una sonda (LDO de HACH LANGE) conectada a un oxímetro, procediéndose a continuación a tomar mediciones de la concentración de oxígeno. Se realizaron medidas con la sonda a intervalos regulares cada diez minutos, durante un periodo de unas dos horas (tres horas en el caso de las temperaturas más bajas). Un respirómetro vacío provisto de sonda se utilizaba como control.

Una vez realizadas las respirometrías y anotados los datos en una tabla, procedimos a medir con una probeta el volumen de agua de los respirómetros y el peso individual de los animales en balanza.

#### **1.2.4. Cálculo de la tasa metabólica y normalización a un peso común.**

Una vez terminadas las mediciones de concentración de oxígeno, volumen de los tarros de respirometría y peso de cada individuo utilizado para las mediciones, procedimos a realizar las tablas de datos en el programa estadístico Excel (con el cual realizamos el tratamiento de los datos).

Es necesario destacar que: 1) los datos de concentración registrados se representaban frente al tiempo en minutos y los puntos se ajustaban a una recta (de pendiente negativa) por mínimos cuadrados. 2) sólo se utilizaron aquellas respirometrías donde la significación estadística de las ecuaciones de regresión era  $p < 0.01$ . 3) para el cálculo de la tasa de consumo de oxígeno se utilizaban los valores absolutos de la pendiente de las rectas ( $b$ ), corregidas con la pendiente del control ( $b'$ ), siempre que el coeficiente de regresión  $b'$  fuese significativo ( $p < 0.05$ ). En caso contrario  $b'$  se consideraba igual a 0

La expresión general para el cálculo de  $VO_2$  se determinó con la siguiente fórmula:

$$VO_{2i} \text{ (mlO}_2 \text{ /h)} = (b - b') \times \text{volumen respirómetro (ml)} \times 0,7 \times (60/1000)$$

Se normalizó la  $VO_2$  a un peso común de 8 g. (el peso medio de los ejemplares) para corregir el efecto de las diferencias interindividuales de tamaño, mediante la siguiente fórmula alométrica:

$$VO_2 \text{ estándar (ml/h)} = VO_{2i} \times (8/\text{Peso vivo en g})^{0,707} \text{ en el caso de la almeja fina.}$$

$$VO_2 \text{ estándar (ml/h)} = VO_{2i} \times (8/\text{Peso vivo en g})^{0,662} \text{ en el caso de la almeja japonesa.}$$

Siendo en ambos casos el exponente de la fórmula, el factor de corrección para cada especie.

### **1.3. Procedimientos estadísticos**

Los grupos de tasas metabólicas correspondientes a cada combinación de especie y temperatura de aclimatación (4 grupos) se sometieron a un análisis de varianza factorial

(ANOVA) para comprobar la significación estadística del nivel metabólico (estándar vs rutina) y las temperaturas de exposición (7°C, 12°C, 17°C, 22°C y 27°C), en las diferentes especies de almeja (fina y japonesa). Comprobada la significación de los efectos de la temperatura de exposición, se procedió al agrupamiento de medias mediante un test post-hoc de Tukey. Todos estos procedimientos se desarrollaron mediante el programa SPSS 17.0

La dependencia térmica de las tasas metabólicas se cuantificó en términos de la  $Q_{10}$ , cuyo valor se calcula de acuerdo a la ecuación de Van't Hoff (Randall et al., 2002):

$$Q_{10} = (Y_2/Y_1)^{(10/T_2-T_1)}$$

Donde  $Y_1$  y  $Y_2$  son la  $VO_2$  estándar a las temperaturas  $T_1$  y  $T_2$  respectivamente.

## Resultados

Según los resultados presentados en la Tabla 1, las diferencias entre el metabolismo rutina y metabolismo estándar no resultaron significativas para los grupos Fina12 ( $p=0,129$ ), Fina22 ( $p=0,103$ ) y Japonesa22 ( $p=0,546$ ), ( $p > 0,05$ ). En el caso del grupo Japonesa12, por el contrario, las diferencias si resultaron significativas ( $p=0,030$ ).

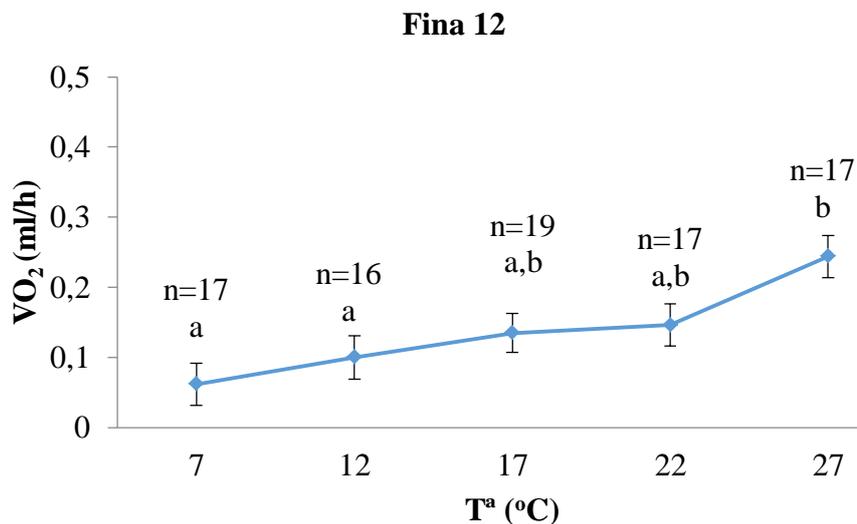
**Tabla 1.** Resultados ANOVA. Diferencias entre el metabolismo de rutina y el metabolismo estándar de los cuatro grupos de almejas.

Origen	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	p.
Fina12	0,035	1	0,035	2,353	0,129
Fina22	0,049	1	0,049	2,716	0,103
Japonesa12	0,041	1	0,041	4,866	0,030
Japonesa22	0,003	1	0,003	0,369	0,546

En aquellos grupos que no presentaban diferencias significativas entre los dos niveles de metabolismo, se tomó la decisión de agrupar los datos de ambos niveles metabólicos en una media única para cada temperatura de exposición. En el grupo Japonesa12, por el contrario, se consideró la existencia de niveles metabólicos diferenciados.

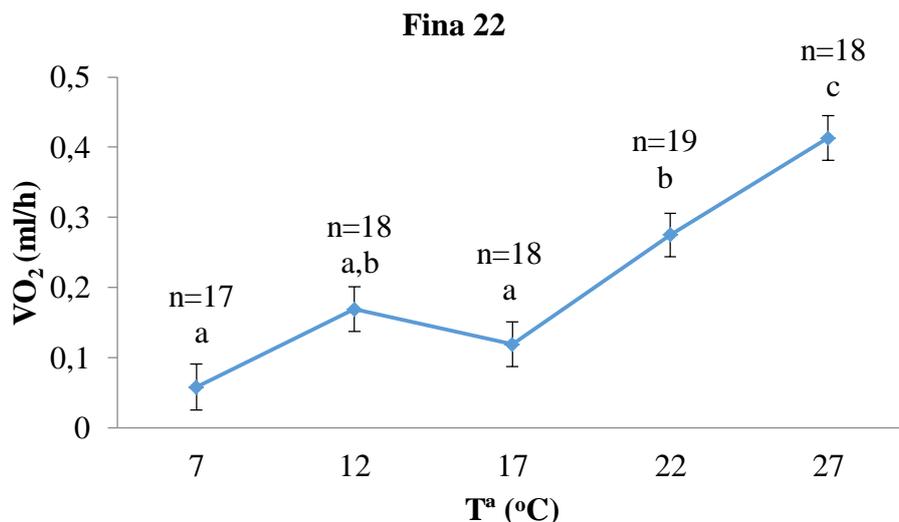
Las Figuras 1 a 4 muestran la evolución de la tasa metabólica ( $VO_2$ : ml  $O_2$  /h) con la temperatura de exposición, así como los agrupamientos de medias en función de los

resultados del test de Tukey. La Fig. 1 nos muestra el agrupamiento de medias para las tasas metabólicas de almeja fina aclimatada a 12°C en dos subconjuntos constituidos por las temperaturas de 7, 12, 17 y 22°C, por un lado y 17, 22 y 27°C, por otro. Por consiguiente, sólo las tasas medias registradas a 7 y 12°C y la registrada a 27°C difieren significativamente en este caso.



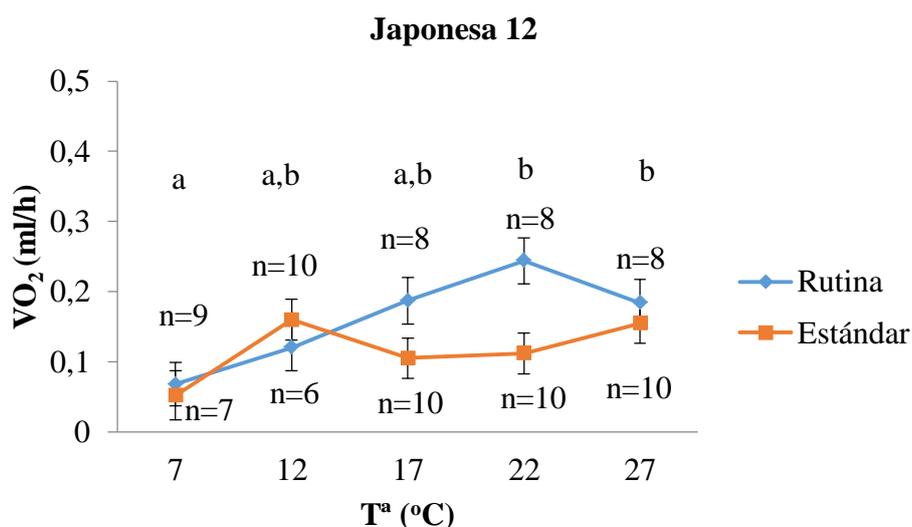
**Fig. 1** VO<sub>2</sub> de almeja fina aclimatada a 12°C medida a diferentes temperaturas de exposición. Los resultados se expresan como media ± error típico (n = número de individuos de la muestra). Las etiquetas del gráfico (a, ab y b) se corresponden con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para definir las diferencias entre las temperaturas de exposición para Fina12.

La Figura 2 muestra la evolución de la tasa metabólica (VO<sub>2</sub>: ml O<sub>2</sub> /h) con la temperatura de exposición, así como los agrupamientos de medias en función de los resultados del test de Tukey. Nos muestra el agrupamiento de medias para las tasas metabólicas de almeja fina aclimatada a 22°C en tres subconjuntos constituidos por las temperaturas de 7, 12 y 17°C; 17 y 22°C; y 27°C. Por consiguiente, sólo las tasas medias registradas a 7 y 17°C y las registradas a 22 y 27°C difieren significativamente en este caso.



**Fig. 2** VO<sub>2</sub> de almeja fina aclimatada a 22°C medida a diferentes temperaturas de exposición. Los resultados se expresan como media ± error típico (n = número de individuos de la muestra). Las etiquetas del gráfico (a, ab, b y c) se corresponden con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para definir las diferencias entre las temperaturas de exposición para Fina22.

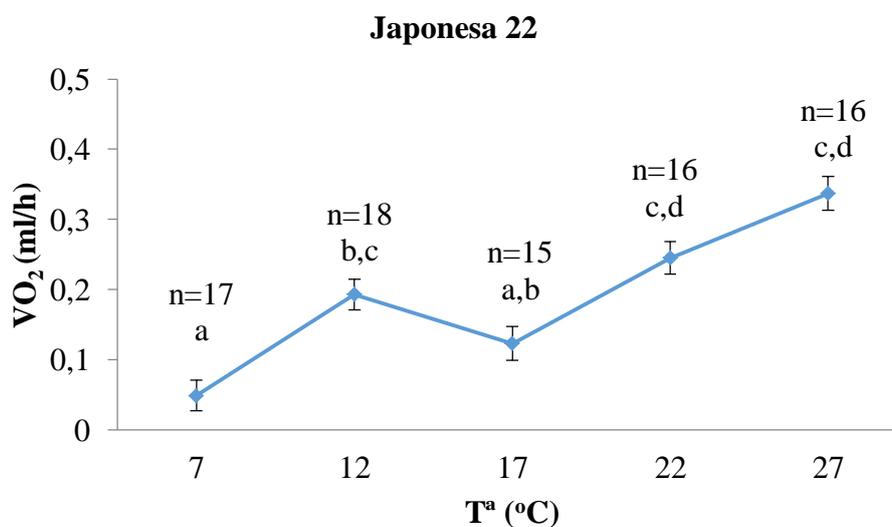
La Figura 3 muestra la evolución de la tasa metabólica (VO<sub>2</sub>: ml O<sub>2</sub> /h) con la temperatura de exposición, así como los agrupamientos de medias del metabolismo rutina y estándar en función de los resultados del test de Tukey. Nos muestra el agrupamiento de medias para las tasas metabólicas de almeja japonesa aclimatada a 12°C en dos subconjuntos constituidos por las temperaturas de 7°C, por un lado y, 22 y 27°C, por otro. Por consiguiente, sólo las tasas medias registradas a 7°C y las registradas a 22 y 27°C difieren significativamente en este caso.



**Fig. 3** VO<sub>2</sub> de almeja japonesa aclimatada a 12°C medida a diferentes temperaturas de exposición. Los resultados se expresan como media ± error típico (n = número de individuos de la muestra). Las etiquetas del

gráfico (a, ab y b) se corresponden con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para definir las diferencias entre las temperaturas de exposición para Japonesa12.

La Figura 4 muestra la evolución de la tasa metabólica ( $VO_2$ : ml  $O_2$  /h) con la temperatura de exposición, así como los agrupamientos de medias en función de los resultados del test de Tukey. Nos muestra el agrupamiento de medias para las tasas metabólicas de almeja japonesa aclimatada a  $22^\circ C$  en cuatro subconjuntos constituidos por las temperaturas de (7 y  $17^\circ C$ ; 12 y  $17^\circ C$ ; 12, 22 y  $27^\circ C$ ; 22 y  $27^\circ C$ ). Por consiguiente, sólo la tasa media registrada a  $7^\circ C$  difiere significativamente en este caso.



**Fig. 4**  $VO_2$  de almeja japonesa aclimatada a  $22^\circ C$  medida a diferentes temperaturas de exposición. Los resultados se expresan como media  $\pm$  error típico (n = número de individuos de la muestra). Las etiquetas del gráfico (a, bc, ab y cd) se corresponden con la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para definir las diferencias entre las temperaturas de exposición para Japonesa22.

En último lugar, los resultados obtenidos a partir de cálculo de  $Q_{10}$ , a diferentes temperaturas de exposición, para los cuatro grupos de almejas aparecen reflejados en la Tabla 2, en la que aparece el agrupamiento de intervalos de temperatura que define las diferencias entre las temperaturas de exposición, derivadas de la prueba de comparaciones múltiples Tukey.

Atendiendo a los resultados de la Tabla 2, para el grupo Fina12, podemos observar como la tasa metabólica se duplica en los intervalos  $7-17^\circ C$  y  $22-27^\circ C$ . Muestra también un incremento de la tasa metabólica en el que casi duplica en el intervalo  $12-22^\circ C$ .

**Tabla 2.** Resultados  $Q_{10}$ . Relaciona la  $Q_{10}$  de los diferentes grupos de almejas con el agrupamiento de intervalos de temperatura que define las diferencias entre las temperaturas de exposición, derivadas de la prueba de comparaciones múltiples Tukey.

	Rango T <sup>a</sup> (°C)	$Q_{10}$
Fina 12	7-17	2,177
	17-22	1,170
	22-27	2,793
Fina 22	7-17	2,052
	12-22	1,627
	22-27	2,255
Japonesa 12 (r)	7-17	2,750
	12-17	2,428
	12-27	1,330
Japonesa 12 (s)	7-17	2,019
	12-17	0,430
	12-27	0,979
Japonesa 22	7-17	2,510
	12-17	0,406
	12-22	1,269
	22-27	1,892

En cuanto al grupo Japonesa12 de rutina (r) podemos observar como la tasa metabólica se duplica, e incluso triplica, en todos los intervalos de temperatura, exceptuando el intervalo 12-27°C en el que la tasa metabólica permanece constante; y en el grupo Japonesa12 estándar (s) se observa como la tasa metabólica se duplica en el intervalo de temperatura 7-17°C, una reducción a la mitad de la tasa metabólica en el intervalo 12-17°C; y finalmente, en el intervalo 12-27°C permanece constante.

Por último, en el grupo Japonesa22 se observa una duplicación de la tasa metabólica en los intervalos de temperatura 7-17°C y 22-27°C, exceptuando el intervalo 12-17°C en el que la tasa metabólica se reduce a la mitad y el intervalo 12-22°C en el que permanece constante.

## Discusión

En el presente trabajo se estudió el efecto del cambio agudo de la temperatura (temperatura de exposición) sobre la tasa metabólica en dos especies de almejas (fina y japonesa) aclimatadas previamente las temperaturas medias en invierno (12°C) y verano (22°C) en nuestra costa.

Según Tomalá et al. (2014), la actividad del organismo aumenta la respiración, mientras que durante el ayuno el consumo de oxígeno disminuye. Sin embargo, estudiando el metabolismo de rutina y estándar de los cuatro grupos de almejas hemos observado que no había diferencias significativas entre ambos metabolismos en el caso de almeja fina aclimatada a 12°C, almeja fina aclimatada a 22°C y almeja japonesa aclimatada a 22°C (Tabla 1), por lo que se decidió considerar un único nivel metabólico en estos casos, representado por el valor medio de los obtenidos en condiciones rutina y estándar. Estas tasas metabólicas obtenidas a cada temperatura de exposición servían para estudiar el efecto cinético de la temperatura sobre el metabolismo.

Tomalá et al. (2014), afirman que el aumento de la temperatura acelera la velocidad de las reacciones químicas, aumentando con ello el consumo de oxígeno de los seres vivos.

En general, al aumento de temperatura incrementa la tasa metabólica (Figs. 1 a 4), aunque observamos algunos intervalos en que se produce una alteración de este comportamiento, como por ejemplo, en el rango de 12 a 17°C en los casos de almeja fina aclimatada a 22°C (Fig. 2) y almeja japonesa aclimatada a 22°C (Fig. 4). Las según el agrupamiento de medias 12 y 17°C generalmente se sitúan en el mismo grupo (o dentro de un grupo de temperaturas agrupadas más amplio), con lo que ese descenso anómalo de la temperatura no pasa de ser un fenómeno estadísticamente irrelevante.

Una posible explicación para este descenso de la  $VO_2$  puede ser un problema con el tiempo de acomodación y posteriores medidas de la concentración de oxígeno se produjese un cierre valvar, lo cual produciría un descenso de la tasa respiratoria (Jorgensen et al., 1988). Para poder comprobar esta posible explicación, sería necesario repetir esta parte del experimento aumentando el tiempo de acomodación a las nuevas temperaturas.

Según Jorgensen et al. (1988), al contrario de lo que ha resultado en el presente estudio, tras el ayuno de los organismos se produce una disminución de la respiración debido a la reducción del transporte de agua a través de las branquias y de la cavidad paleal. La razón

principal para la disminución de la respiración estriba en la reducción de los costes de biosíntesis debida a la supresión del crecimiento (Bayne et al, 1989).

Tomalá et al. (2014), mantiene que todos los organismos tienen un rango óptimo de tolerancia a la temperatura en el cual desarrollan sus funciones de forma óptima; pero a medida que nos alejamos de este rango, las funciones se ven afectadas hasta el punto que dejan de realizarse a temperaturas extremas. El rango óptimo de tolerancia se mide en términos del ASA, que se define como la relación entre la máxima tasa metabólica sostenible (rutina) y la tasa metabólica estándar (en condiciones de reposo) (Randall et al., 2002).

En el caso del grupo de estudio almeja japonesa aclimatada a 12°C, hemos observado diferencias significativas entre el metabolismo de rutina y el metabolismo estándar (Tabla 1), por lo que decidimos trabajar con los datos de los dos tipos de metabolismo por separado (Fig. 3). Estudiando el metabolismo de rutina comprobamos cómo la  $VO_2$  aumenta con la temperatura, hasta un punto en el que comienza a descender rápidamente, de acuerdo con lo expuesto por Filgueira (2007). Atendiendo al metabolismo estándar observamos un rápido aumento de la  $VO_2$  de 7 a 12°C y un descenso de 12 a 17°C, recuperando la tendencia ascendente de la  $VO_2$  con el aumento de la temperatura.

Teniendo en cuenta el efecto cinético de la temperatura y atendiendo al parámetro  $Q_{10}$ , podemos deducir en que rangos de temperatura se ha producido compensación térmica ( $Q_{10}=1$ ).

De acuerdo a lo observado en la Tabla 2. Almeja fina aclimatada a 12°C realiza compensación térmica en el intervalo de temperaturas 17-22°C ( $Q_{10}=1,170$ ); japonesa aclimatada a 12°C (tanto rutina como estándar) en el intervalo 12-27°C ( $Q_{10}=1,330$ ,  $Q_{10}=0,979$  respectivamente) y japonesa aclimatada a 22°C en el intervalo 12-22°C ( $Q_{10}=1,269$ ). Estos intervalos de menor dependencia térmica implican una mayor zona de compensación en almeja japonesa que en almeja fina, presentando un intervalo de temperaturas en las que se realiza compensación más amplio. La almeja fina aclimatada a 22°C podría llegar a realizar compensación en el intervalo 12-22°C, ya que aunque la amplitud del intervalo es de 10°C, la  $Q_{10}$  no llega a duplicarse.

Observando el efecto de la aclimatación, no se observan diferencias entre las  $VO_2$  de los diferentes grupos de almejas a la temperatura de exposición de 12°C.

Comparando la  $VO_2$  entre las dos temperaturas de aclimatación para almeja fina, podemos deducir que a bajas temperaturas de exposición no se observan diferencias. Por el contrario, a altas temperaturas de exposición (22 y 27°C) se observa un aumento de la  $VO_2$  de almeja fina aclimatada a 22°C con respecto a la aclimatada a 12°C, del doble aproximadamente. Este resultado nos muestra una compensación inversa a altas temperaturas (22 y 27°C) en la almeja fina aclimatada a 12°C, ya que la  $VO_2$  de la almeja aclimatada a 12°C debería presentar valores mayores que la aclimatada a 22°C. Un posible aumento en los valores de la  $VO_2$  en almeja fina aclimatada a 22°C, medida a altas temperaturas de exposición, puede haberse producido por una maduración gonadal, que hace que la respuesta a la temperatura se incremente debido a unos mayores requerimientos energéticos. Este hecho no se produce en almeja fina aclimatada a 12°C, ya que las bajas temperaturas de aclimatación impiden la maduración gonadal.

Comparando la  $VO_2$  entre las dos temperaturas de aclimatación para almeja japonesa, observamos el mismo proceso de aclimatación inversa, aunque en este caso únicamente a 27°C; ya que los valores de la  $VO_2$  para la almeja aclimatada a 12°C debería presentar valores mayores que la aclimatada a 22°C. Y de la misma manera que en el caso de la almeja fina, la maduración gonadal de la almeja japonesa aclimatada a 22°C puede ser la causa de unos mayores requerimientos energéticos y por lo tanto un aumento de la  $VO_2$ .

En conclusión y respondiendo a la hipótesis inicial, podemos afirmar que en ambas especies de almejas, la temperatura ejerce un efecto cinético sobre el metabolismo.

Atendiendo a los intervalos de menor dependencia térmica para ambas especies, podemos observar una mayor zona de compensación en almeja japonesa que en almeja fina, presentando un intervalo de temperaturas en las que se realiza compensación más amplio para almeja japonesa.

También, observamos una aclimatación inversa de las almejas aclimatadas a 12°C con respecto a las aclimatadas a 22°C, al someterlas a altas temperaturas de exposición. Siendo la causa más probable de una mayor  $VO_2$ , en las aclimatadas a 22°C, una maduración gonadal que hace que se incremente la respuesta a la temperatura debido a unos mayores requerimientos energéticos.

Por lo tanto, teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, sería necesario plantear un estudio de medición gonadal; con el cual, poder determinar si el aumento de la  $VO_2$  de las

almejas aclimatadas a 22°C (al exponerlas a altas temperaturas) se debe a ese desarrollo gonadal (en comparación con las aclimatadas a 12°C).

## Referencias

- Bayne, B.L., Hawkins, A. J. S., Navarro, E. e Iglesias, I. P. (1989). Effects of seston concentration of feeding, digestión and growth in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 55, 47-54.
- Delgado, M., Pérez, A. y Albantosa, M. (2002). Balance energético en la almeja *Ruditapes decussatus* (Lineaus, 1758). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 18(1-4), 301-106.
- Filgueira, R. (2003). *Comportamiento alimentario del mejillón Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) en las condiciones tróficas de las Rías Gallegas* (Tesis Doctoral). Centro de Investigación Biológica del Norte, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto de Investigación Mariñas, Universidad de Vigo.
- González, F. (2003). *Temperaturas letales y temperatura óptima para el crecimiento en una población de almejas mano de león (Nodipecten Subnodosus Soweberby, 1835)* (Tesis de posgrado). Centro de Investigación Biológica del Norte, La Paz, B. C. S.
- Jorgensen, C. B., Larsen, P. S, Mohlenberg, F. y Riisgard, H. U. (1988). The bivalve pump. *Marine Ecology Progress Series*, 34, 69-77.
- Maeda-Martínez, A. N. (2002). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: ciencia y acuicultura*. México: LIMUSA.
- Ministerio del Medio Ambiente y el Medio Rural Marino (s.f.). Almeja fina, babosa y japonesa. *Ruditapes decussatus*, *Venerupis pullastra*, *Ruditapes philippinarum*. Recuperado de <http://www.magrama.gob.es/app/jacumar/especies/Documentos/Almejas.pdf>
- Nieves, M., Reyes, J. C. R., Piña, P., Jasso, A. M., Leal, S., Baeza, A. M. y Muñoz, G. (2009). Balance energético de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) a diferentes temperaturas. *Revista de Investigación Marina*, 30(2), 135-144.
- Parry, G. D. (1983). The influence of the coast of growth on ectotherm metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, 101(3), 453-477.
- Pörtner, H. O. (2002). Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeographic: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 132, 739-761.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2015). *Programa de información de especies acuáticas Ruditapes philippinarum (Adams y Reeve, 1850)*. Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Ruditapes\\_philippinarum/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Ruditapes_philippinarum/es)
- Randall, D., Burggren, W. y French, K. (2002). *Eckert. Fisiología animal: Mecanismos y adaptaciones* (4ª ed.). Madrid: McGraw Hill/Interamericana.
- Tamayo, D., Ibarrola, I. y Navarro, E. (2013). Thermal dependence of clearance and metabolic rates in slow and fast-growing spat of manila clam *Ruditapes Philippinarum*. *Journal of Comparative Physiology B*, 183(7), 893-904.
- Tomalá, D., Chavarría, J. y Ángeles, B. (2014). Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y a la temperatura del agua. *Latin American of Aquatic Research*, 42(5), 971-979.
- Universidad Pública de Valencia (s. f.). *Paleontología general*. Recuperado de [http://www.upv.es/dit/Itinerarios/Paleontologia/Paleontologia\\_general.htm](http://www.upv.es/dit/Itinerarios/Paleontologia/Paleontologia_general.htm)