

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Grado en Biología

Efecto de la temperatura y la ración de alimento sobre el metabolismo de la carpa dorada (*Carassius auratus*)

Egilea/Autor:
Naiara López Rojo
Zuzendaria/Director:
Juan Ignacio Pérez Iglesias

© 2015, Naiara López

Leioa, Junio de 2015

ÍNDICE

Resumen	2
Introducción	3
Materiales y métodos	
Procedimiento	6
Tratamiento de los datos	7
Resultados	10
Discusión	15
Conclusiones	19
Agradecimientos	20
Bibliografía	20

RESUMEN

Three experiments are carried out to study the effect of three factors in goldfish metabolism: exposure temperature (two conditions: 14 ± 1 ° C and 21 ± 0.5 ° C), daily food ration (fasting, commercial pelleted food corresponding to 2% of dry weight and corresponding to 6%) and time elapsed after exposure to the new conditions (exposure day, two days elapsed, 5 days elapsed). Each experiment takes place in a separate week after acclimate the animals at 18°C and ration of 4% of their dry weight. To determine the metabolism, the oxygen consumption of the specimens is measured in closed respirometers using an oximeter. After the processing of data and subsequent statistical analysis, a large temperature effect is observed, it is greater the smaller the amount of food. Under fasting conditions, it is attenuated as the days pass; ie the factor acclimatization is significant. Under the conditions of food ration of 2%, oxygen consumption is less altered by temperature and no acclimatization phenomena are observed. In the condition of greater availability of food, none of the factors, or temperature or acclimatization, has a significant effect on metabolism of goldfish.

Se llevan a cabo tres experimentos para estudiar el efecto de tres factores el metabolismo de *Carassius auratus*: temperatura de exposición (dos condiciones: 14 ± 1 °C y 21 ± 0.5 °C), ración de alimento diario (ayuno, alimento granulado comercial correspondiente al 2% del peso seco y correspondiente al 6%) y tiempo transcurrido tras la exposición a las nuevas condiciones (día de exposición, transcurridos dos días, transcurridos 5 días). Cada experimento se desarrolla en una semana independiente, tras aclimatarse los animales a 18°C y ración de alimento del 4% de su peso seco. Para determinar el metabolismo se mide el consumo de oxígeno de los ejemplares en respirómetros cerrados mediante el uso de un oxímetro. Tras el tratamiento de los datos y su posterior análisis estadístico, se observa un gran efecto de la temperatura, mayor cuanto menor es la cantidad de alimento. En condiciones de ayuno, éste se atenúa conforme pasan los días; es decir, el factor aclimatación resulta significativo. En las condiciones de ración de alimento del 2%, el consumo de oxígeno se ve menos alterado por la temperatura y no se observan fenómenos de aclimatación. En la condición de mayor disponibilidad de alimento, ninguno de los factores, ni temperatura ni aclimatación, tiene un efecto significativo sobre el metabolismo de *Carassius auratus*.

INTRODUCCIÓN

La carpa dorada, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) es un ciprínido perteneciente a la clase Actinopterygii (peces con aletas radiadas), orden Cypriniformes (carpas), familia Cyprinidae, género *Carassius*. Crece normalmente unos 120-220 mm de longitud, con un máximo de 410 mm (Lee, 1980, Page & Burr, 1991). El tamaño de la cabeza es relativamente grande comparado con el del cuerpo. Su boca es pequeña y terminal, de tipo protráctil y no presenta barbillas sensoriales. Presenta una aleta dorsal alargada y suavemente cóncava o recta, provista de tres radios espinosos, el tercero ligeramente dentado. Posee entre 26 y 33 escamas en la línea lateral, entre 38-52 branquiaspinas y usualmente la aleta anal presenta entre 5-6 radios ramificados (Kottelat & Freyhof, 2007). Presenta 4 dientes faríngeos en cada arco faríngeo: 0,4-4,0 (Robison & Buchanan, 1988; Page & Burr, 1991). Su longevidad es de 6-7 años, con un máximo registrado de 30 años (Robison & Buchanan, 1988).

El color varía en las formas salvajes entre un tono castaño-verdoso y dorado, existiendo formas de colores y aspectos llamativos empleadas como ornamentales. Las características externas son muy similares a las de *Carassius carassius*, especie que no está presente en nuestras aguas (Doadrio & Elvira, 1986) y de la que se diferencia por el número de branquiaspinas (38-52 en *C. auratus* y 22-33 en *C. carassius*). Debido a su valor ornamental en acuarios y estanques se han producido muchísimas variedades de peces dorados, a través de la pesca selectiva, para ampliar su variedad de colores y formas. Estos peces suelen volver a la coloración silvestre normal en formas libres (McDowall, 2000).

Respecto a su hábitat se trata de una especie que prefiere aguas poco profundas de lagunas y ríos de corriente lenta, con abundante vegetación y fondos blandos, encontrándose generalmente en las orillas (FishBase, 2004). Es capaz de resistir una exposición prolongada a salinidades por encima de 15 ppm (FishBase, 2004) y puede tolerar bajos niveles de oxígeno disuelto (McDowall, 2000). Se trata de un pez resistente que puede subsistir en condiciones muy desfavorables como contaminación de aguas, falta de oxígeno y fríos invernales, que no pueden soportar otras especies (Lachner, 1970; Lee, 1980; Page & Burr, 1991). Durante el invierno, permanecen casi completamente enterrados en el barro, limitando mucho su actividad hasta que llega la primavera. La freza se produce en aguas con densa vegetación sumergida en mayo-junio (Lozano-Rey, 1935). Su alimentación es diversa, incluyendo desde algas a invertebrados bentónicos.

En cuanto a su fecundidad y reproducción, se conoce que los machos son más finos y las hembras pueden presentar manchas en la cabeza y los flancos durante el período de freza (Baensch & Riehl, 1991). Presenta puesta múltiple, con una media de 268.000 huevos. La freza se produce en aguas con densa vegetación sumergida entre los meses de mayo y junio, dependiendo de las condiciones de temperatura del agua, que debe estar por encima de aproximadamente 15,5 ° C (Robison & Buchanan, 1988). Varios miles de huevos se adhieren a la vegetación sumergida, raíces, u otros objetos fijos (Lee et al., 1980; Robison y Buchanan, 1988). A veces se reproduce por gimnogénesis, en la que se puede dar la división del óvulo sin fecundar al entrar en contacto con espermatozoides de otra especie de ciprínido. Los individuos que nacen de esta condición son clones de la madre (Doadrio, 2001). El desove se da en cinco o seis días (Baensch & Riehl, 1991). Su crecimiento por lo general es rápido, aunque viene determinado por la cantidad de alimento que pueda extraer de su hábitat. En condiciones normales donde su alimento sea abundante, puede desarrollarse completamente en tres años (Robison & Buchanan, 1988). Los jóvenes principalmente se alimentan de zooplancton y larvas de insectos (Lee, 1980)

Originario del este de Asia, de Amur a Xi Jiang, en cuencas que drenan Rusia, China, Corea y Japón, fue domesticada en China e introducida en Japón en el siglo XVI desde donde fue importada a Europa en 1611 (Portugal), 1691 (Inglaterra) y 1975 (Francia) (Kottelat & Freyhof,



Figura 1: mapa de puntos ilustrando la distribución de *C. auratus* en la península Ibérica

2007). Actualmente se trata de una especie bastante cosmopolita, presente en unos treinta países de todos los continentes. A menudo son introducidos en estanques al aire libre como peces ornamentales. Las poblaciones silvestres se han establecido a partir de animales domésticos que son puestos en libertad. Además, su expansión esta favorecida por el uso que se hace de ese pez como cebo vivo.

En Europa parece estar en expansión, pero conocer su distribución esta dificultado por el hecho de que es fácilmente confundible con *C. gibelio* (Kottelat & Freyhof, 2007). En España (figura 1) se distribuye por las cuencas de los ríos Besaya, Ebro, Duero, Tajo, Júcar, Segura y Guadalquivir, además de la Albufera de Valencia y el lago de Bañolas (Doadrio y Elvira, 1986).

Este tipo de hábitats (ríos y lagos someros de zonas mediterráneo-templadas) experimenta oscilaciones estacionales significativas en la temperatura de las aguas que conllevan intrínsecamente la adecuación de los ciclos biológicos de los organismos a las épocas más favorables (primavera-verano); lo cual implica variaciones en la cantidad de alimento disponible para *C. auratus*.

Los animales sujetos a cambios en el ambiente externo exhiben respuestas crónicas y agudas a ese cambio. Las respuestas agudas se muestran en los primeros minutos u horas luego de un cambio ambiental. Las respuestas crónicas se expresan después de la exposición prolongada a las nuevas condiciones ambientales. En este contexto se define aclimatación como la respuesta crónica de los individuos a un nuevo ambiente natural diferente en varios factores del anterior; por ejemplo, verano e invierno (Hill, 2006).

Casi todas las especies de peces mantienen la misma temperatura que el agua en la que se encuentran, los animales de esta clase se denominan ectotermos porque las condiciones de temperatura del exterior determinan la temperatura de sus tejidos. También se denominan poiquilotermos puesto que su temperatura corporal está sujeta a variaciones. Esto obliga a dichos organismos a poseer ciertos mecanismos de compensación térmica, respuestas fisiológicas que permitan mantener las funciones vitales en su óptimo o cerca de él para afrontar los cambios ambientales. Las temperaturas elevadas provocan una aceleración en el metabolismo mientras que las bajas lo ralentizan. Los mecanismos para compensar estas alteraciones residen, principalmente, en la modificación de la velocidad de las reacciones a través de las características de sus enzimas.

Analizar estos fenómenos resulta de gran interés ya que la tasa de crecimiento en los peces está fuertemente influenciada por las condiciones medioambientales. Los factores que poseen un efecto directo e importante son la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento. Se ha comprobado que condiciones de temperatura subóptimas, alimento insuficiente y niveles bajos de proteína en la dieta provocan la inhibición del crecimiento (Hertz, 1992). Puede, sin embargo, ser difícil atribuir los cambios en el metabolismo a cualquier factor ambiental específico; por ejemplo, la comida o la temperatura debido a su variación en paralelo.

Muchos estudios de laboratorio han demostrado una correlación positiva entre tasa metabólica (determinada a través del consumo de oxígeno) y la temperatura. Gran parte de la variación estacional de la actividad biológica tradicionalmente se ha relacionado con elevada

temperatura ambiental; sin embargo, experimentos más sofisticados (Parry, 1978 y 1983) sugieren que el alimento puede ser importante.

Dadas las condiciones ambientales cambiantes del hábitat natural de esta especie, el objetivo de este experimento es analizar la respuesta en el metabolismo de la carpa dorada (*Carassius auratus*) a cambios de temperatura en diferentes condiciones de disponibilidad de alimento y observar si se produce algún fenómeno de aclimatación a corto plazo.

Se define tasa metabólica como la medida de la energía total metabolizada por un animal por unidad de tiempo (Willmer, 2000). Este valor puede determinarse de diferentes maneras: valor energético de la diferencia entre la comida ingerida y excretada, cantidad de calor producido, cantidad de agua metabólica producida o cantidad de oxígeno consumido (método empleado en este caso).

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimiento:

Se parte de un conjunto de 24 ejemplares de *Carassius aurata* de entre 4,1 y 7,5 g de peso, mantenidos en el laboratorio a temperatura ambiente ($18\pm 1,5^{\circ}\text{C}$) en un tanque de unos 80l que dispone de sistema de filtrado y aireación continua del agua. Los ejemplares fueron cedidos para esta causa por el laboratorio de fisiología animal de la facultad. Se suministra diariamente de manera conjunta a todos los ejemplares una ración de comida en formato de granulado (marca comercial *Sera*, granulado para goldfish) correspondiente al 4% del peso seco total de los ejemplares (Chapman, 2000), asumiendo un porcentaje de hidratación del 80%. El alimento se suministra a primera hora de la mañana. Se les mantiene en estas condiciones durante 7 días antes de comenzar los 3 experimentos que se llevan a cabo las tres siguientes semanas.

Se dispone de otros dos tanques, de 40l cada uno, con aireación continua del agua. Cada uno de ellos se encuentra dentro de un recipiente de mayor tamaño donde se coloca una fuente externa de calor o de frío. De esta manera una de ellos se mantiene a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$, unos 5°C por debajo de la temperatura de aclimatación; y el otro a $21,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, por encima de la temperatura de aclimatación.

Para cada experimento se colocan en cada tanque 6 ejemplares del recipiente de aclimatación, previamente pesados para administrar la ración con mayor exactitud y no participantes en el

experimento de la semana anterior (a fin de mantener constantes las condiciones de partida cada una de las 3 semanas). Durante el primer experimento no se suministra alimento alguno. La segunda de las semanas la ración empleada es del 2% del peso seco de los individuos de cada recipiente experimento. La tercera de las semanas, del 6%. Las condiciones de cada una de las semanas se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: resumen de las condiciones de cada experimento

SEMANA	TRATAMIENTO
0	Aclimatación a $18\pm 1,5^{\circ}\text{C}$ y ración del 4%
1	Exposición a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $21,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y ayuno
2	Exposición a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $21,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y ración del 2%
3	Exposición a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ y $21,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y ración del 6%

Para la estimación del metabolismo se toman medidas del consumo de oxígeno de igual manera cada una de las semanas: el primer día (aclimatación 0), tercer día (aclimatación 1) y quinto día de exposición (aclimatación 2) a las nuevas temperaturas. Para ello se introduce a cada individuo en un respirómetro de 300ml colocado en el baño en el que se encontraban los peces; es decir, a la misma temperatura de exposición. Se coloca también un recipiente control en el que no se introduce pez alguno para cuantificar las posibles variaciones en la concentración de oxígeno no atribuibles al parámetro de interés (consumo del pez). La concentración de oxígeno del mismo se determina empleando un oxímetro (marca HACH, modelo HQ40d multi) de dos sondas. Una de ellas se instala en el recipiente control y con la otra se toman las medidas del resto de respirómetros cada 10 minutos, 7 veces consecutivas. Todas las medidas se toman aproximadamente a la misma hora del día, entre las 4 y las 7 de la tarde.

Tratamiento de los datos:

Tras las 3 semanas se tienen datos de concentración de oxígeno en función del tiempo para cada individuo, es decir, se tienen datos de cada individuo (correspondiente a la temperatura elevada o a la baja) en 3 situaciones: aclimatación 0 (exposición a la nueva temperatura), aclimatación 1 (transcurridos dos días) y aclimatación 3 (transcurridos 5 días).

Se introducen en Excel todos los datos de concentración de oxígeno a cada tiempo, para cada individuo (cuyo peso concreto se conoce). Se representa la concentración frente al tiempo en el respirómetro para cada pez. En muchos de los casos (concretamente los correspondientes a

los individuos más grandes, expuestos a la temperatura elevada) no se observa un descenso lineal de la concentración (como ocurre en otros casos, ilustrados en la figura 2 como ejemplo), cuando los valores de oxígeno corresponden a la mitad del valor inicial aproximadamente, descende la pendiente de la curva tal como se aprecia en la figura 3. No obstante, se realiza el mismo cálculo en todos los casos: un ajuste polinómico (formato $y = Ax^2 + Bx + C$), donde el valor correspondiente al término “x” de la ecuación representa la tasa de descenso de la concentración, en el caso hipotético de no existir limitación de oxígeno alguna, y el término cuadrático representa la tasa de cambio de la incurvación de la línea; es decir, el efecto de la decreciente concentración.

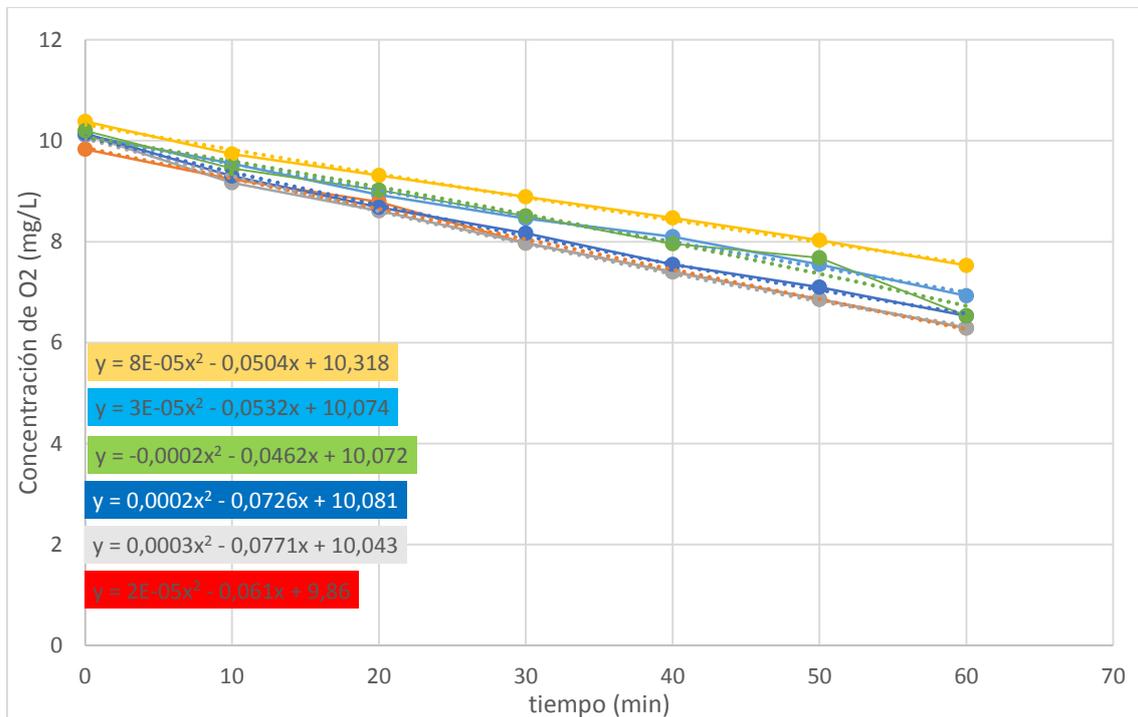


Figura 2: representación de la concentración de oxígeno frente al tiempo en el respirómetro de cada ejemplar de la temperatura baja, primer día de medición (0 de aclimatación), semana 1 de experimento (ayuno) con su correspondiente ajuste polinómico (línea punteada) y ecuación.

La tasa de consumo de oxígeno (VO_2) se calcula a partir del valor acompañante al término “x” empleando la siguiente ecuación:

$$VO_2 = [(B - B') * vol * 0,7 * 60] / 1000$$

La diferencia (B-B’) referencia las dos concentraciones de oxígeno medidas (la medida que se realiza y el control), es decir, la pendiente de la recta; vol corresponde al volumen del respirómetro; 0,7 es la relación volumen/masa, es decir, el volumen de oxígeno que hay en 1mg de masa cuando se dan condiciones estándar, o lo que es lo mismo, a una presión de

1atm y a una temperatura de 273K de tal forma que $22.4\text{ml}/32\text{g} = 0.7\text{ml}/\text{mg}$; por último, 60 es la conversión del factor tiempo de minutos a horas.

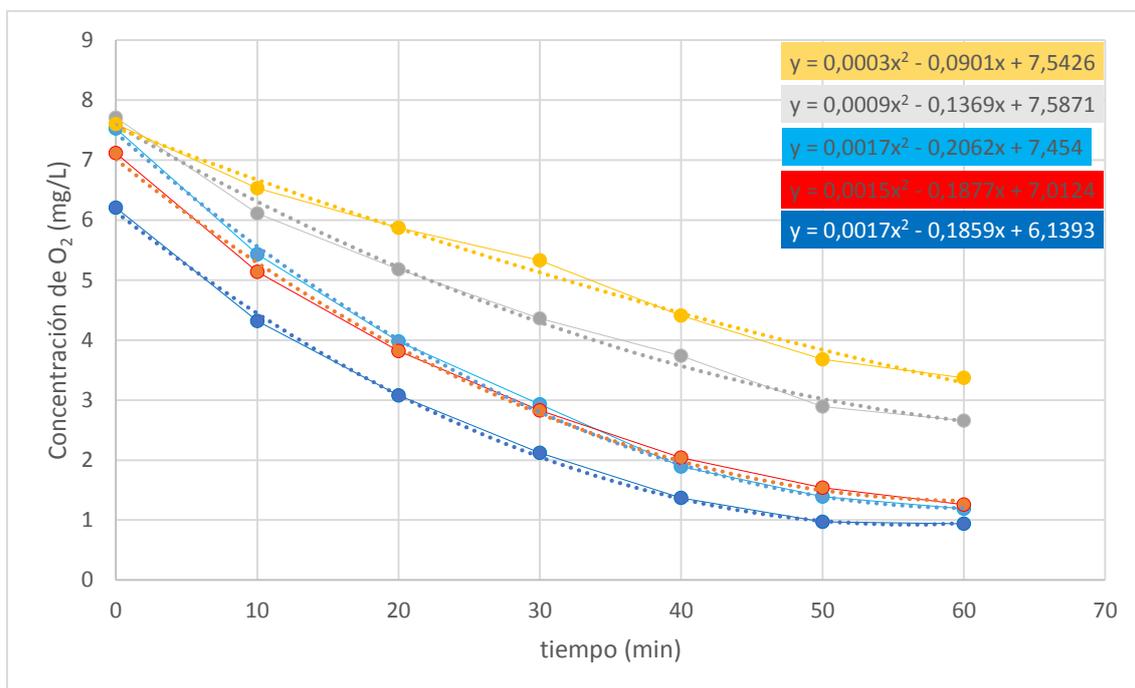


Figura 3: representación de la concentración de oxígeno frente al tiempo en el respirómetro de cada ejemplar de la temperatura elevada, tercer día de medición (5ª de aclimatación), semana 3 de experimento (ración de 6%) con su correspondiente ajuste polinómico (línea punteada) y ecuación.

Las tasas de consumo para todas las condiciones en $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{h}$ se estandarizan expresándolas en todos los casos en $\text{mg O}_2/\text{h}$ para peces de 5g teniendo en cuenta que la relación entre consumo y peso del organismo no se incrementa de manera lineal sino alométrica. Se emplea el valor 0.75 como exponente ya que es el valor de la pendiente de la recta que relaciona la masa corporal y el metabolismo basal en la mayoría de los grupos de especies (Willmer, 2000; Clarke & Johnston, 1999). Se realiza por tanto la siguiente conversión:

$$VO_2 \text{ en mg/h para peces de 5g} = [(5/\text{peso en gramos})^{0.75}] * \text{consumo en mg O}_2/\text{h}.$$

Se calcula el valor Q_{10} (grado de variación de la tasa metabólica con un aumento de 10 grados de temperatura) en cada una de las diferentes condiciones de disponibilidad de alimento y aclimatación mediante la siguiente ecuación:

$$Q_{10} = (VO_{21}/VO_{22})^{10/(T1-T2)}$$

Por último, se realizan análisis ANOVA empleando el software IBM SPSS Statdistics 19 para estudiar las relaciones entre el metabolismo y cada una de las demás variables y determinar si son o no significativas; es decir, comprobar cómo afecta al consumo de oxígeno (variable

dependiente) cada uno de los factores: temperatura de exposición, tiempo de aclimatación y ración de alimento suministrada. Se toma un valor de significación de 0.05 a la hora de interpretar los resultados.

RESULTADOS

A partir de los datos de consumo de oxígeno estandarizados, es decir, expresados en mlO_2/h para ejemplares de 5g de peso, se elaboran las figuras 4, 5 y 6. Cada una de ellas corresponde a las medidas de cada una de las semanas (la figura 4 a la semana de ayuno, la 5 a los peces alimentados con la ración del 2% y la figura 6 a la ración del 6%). Cada barra representa la media del consumo de oxígeno de los ejemplares sometidos a cada condición (cada una de las temperaturas de exposición en las 3 condiciones de tiempo tras la exposición a la nueva condición).

En los 3 experimentos se observa, a grandes rasgos, un consumo mayor en los ejemplares expuestos a $21\pm 0,5^\circ\text{C}$ respecto a los de $14\pm 1^\circ\text{C}$. También puede apreciarse, exceptuando en el caso de mayor suministro de alimento, un descenso paulatino del consumo en los ejemplares expuestos a la temperatura elevada conforme pasan los días desde la exposición.

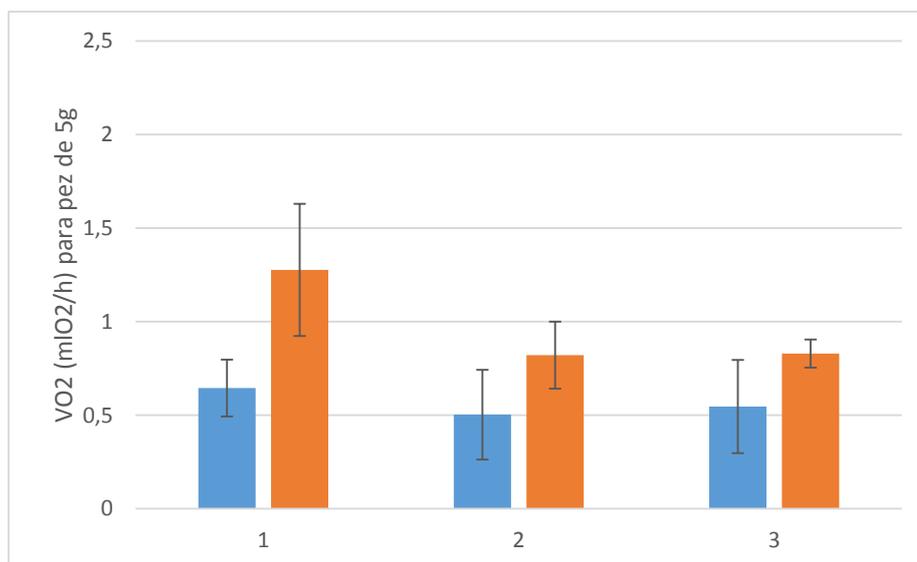


Figura 4: representación gráfica de la media de los datos del consumo de oxígeno y correspondiente desviación estándar de las dos temperaturas de exposición (en azul la fría y en rojo la cálida) para cada uno de los 3 días en los que se realizó la medida (exposición, aclimatación de 2 días y aclimatación de 5 días) en la primera semana (ayuno, ración 0%)

En la figura 4 no se observan grandes diferencias aparentes en los ejemplares correspondientes a $14\pm 1^\circ\text{C}$ a lo largo de la semana, tampoco se aprecian en la segunda semana (figura 5), aunque en conjunto se trata de valores más elevados que los anteriores (0,6 respecto a 0,9 mlO_2/h para cada pez de 5g aproximadamente respectivamente).

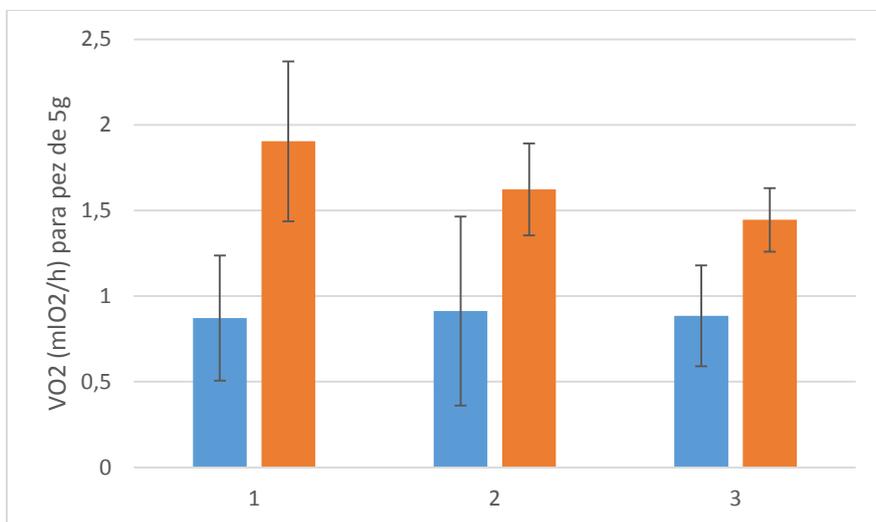


Figura 5: representación gráfica de la media de los datos del consumo de oxígeno y correspondiente desviación estándar de las dos temperaturas de exposición (en azul la fría y en rojo la cálida) para cada uno de los 3 días en los que se realizó la medida (exposición, aclimatación de 2 días y aclimatación de 5 días) en la segunda semana (ayuno, ración 2%)

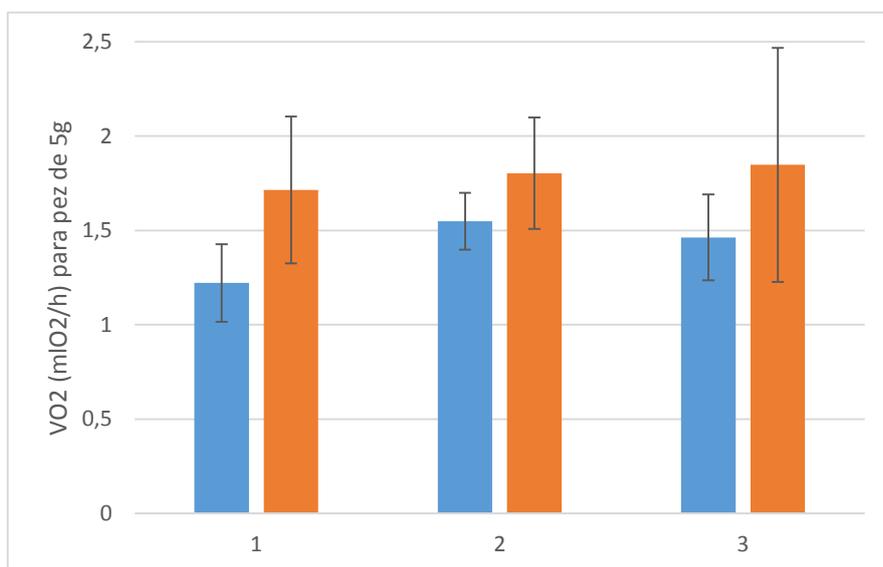


Figura 6: representación gráfica de la media de los datos del consumo de oxígeno y correspondiente desviación estándar de las dos temperaturas de exposición (en azul la fría y en rojo la cálida) para cada uno de los 3 días en los que se realizó la medida (exposición, aclimatación de 2 días y aclimatación de 5 días) en la segunda semana (ayuno, ración 2%)

La figura 6, correspondiente a la mayor ración suministrada, presenta las mayores semejanzas entre ambas temperaturas, así como en el transcurso de los días tras la exposición a las nuevas condiciones.

En los valores Q_{10} recogidos en la tabla 2 se observan los máximos en las mediciones correspondientes al día de exposición a la nueva temperatura (aclimatación 0) en la semana de ayuno y la de ración del 2%. Los valores descienden al aumentar el tiempo de exposición. La tendencia es diferente en aquellos organismos en las condiciones de mayor disponibilidad de alimento (ración 6%), donde los valores de Q_{10} se mantienen bastante constantes.

Tabla 2: valores de Q_{10} obtenidos tomando los datos medios de las dos temperaturas de exposición (representados en las figuras 4, 5 y 6) para cada una de las condiciones de alimento y tiempo de aclimatación

	Ayuno	Ración 2%	Ración 6%
Aclimatación 0	3,12	3,67	1,76
Aclimatación 2 días	2,26	2,60	1,28
Aclimatación 6 días	2,00	2,26	1,49

Respecto a los análisis estadísticos, el análisis ANOVA realizado sin segmentación alguna de los datos (tabla 5); es decir, analizado conjuntamente los datos de consumo de oxígeno de todas las condiciones tanto de temperatura como de aclimatación y alimento, muestra una alta significación (0.000) de los factores temperatura y alimento (denominado como “comida”). La interacción de estos dos factores muestra una significación mucho menor que individualmente. El factor aclimatación no reporta un valor menor a 0.05, es decir, su efecto sobre el consumo no resulta significativo.

No obstante, al tratar cada una de las condiciones de disponibilidad de alimento por separado y realizar el mismo tipo de análisis (tablas 3, 4 y 5), los resultados difieren de los anteriores. Para los animales en condiciones de ayuno (tabla 3), tanto la temperatura como la aclimatación tienen un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno. La interacción de ambos, sin embargo, no lo tiene.

Tabla 3: análisis ANOVA tomando la variable consumo como dependiente y aliemnto, temperatura y aclimatación como factores

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: consumo

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	19,885 ^a	17	1,170	11,010	,000
Intersección comida	131,578	1	131,578	1238,449	,000
temperatura	10,540	2	5,270	49,602	,000
aclimatacion	5,996	1	5,996	56,433	,000
comida * temperatura	,164	2	,082	,770	,467
comida * aclimatacion	,695	2	,348	3,272	,044
temperatura * aclimatacion	,877	4	,219	2,064	,094
comida * temperatura * aclimatacion	,454	2	,227	2,136	,125
Error	,088	4	,022	,206	,934
Total	7,756	73	,106		
Total corregido	155,946	91			
	27,641	90			

Tabla 4: análisis ANOVA para testar el efecto de los factores temperatura y ración (alimento) así como su interacción, en la condición de ayuno

Pruebas de efectos inter-sujetos^a

Variable dependiente: consumo

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2,393 ^b	5	,479	8,845	,000
Intersección temperatura	19,721	1	19,721	364,471	,000
aclimatacion	1,403	1	1,403	25,925	,000
temperatura * aclimatacion	,641	2	,321	5,927	,007
Error	,211	2	,105	1,949	,161
Total	1,515	28	,054		
Total corregido	23,905	34			
	3,908	33			

a. comida = ,0

b. R al cuadrado = ,612 (R al cuadrado ajustada = ,543)

Al aumentar la ración al 2% (tabla 4) el factor aclimatación pierde efecto sobre el consumo, no resulta significativo, el efecto de la temperatura persiste. Por último, para los organismos con plena disponibilidad de alimento (ración 6%, tabla 5), para los cuales la aclimatación tampoco

supone una condición determinante, disminuye también el efecto de la temperatura de exposición.

Tabla 5: análisis ANOVA para testar el efecto de los factores temperatura y ración (alimento) así como su interacción, en la condición de ración del 2%

Pruebas de efectos inter-sujetos^a

Variable dependiente: consumo

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4,960 ^b	5	,992	6,999	,000
Intersección temperatura aclimatacion	48,685	1	48,685	343,523	,000
temperatura	4,421	1	4,421	31,194	,000
aclimatacion	,248	2	,124	,874	,430
temperatura * aclimatacion	,291	2	,146	1,028	,373
Error	3,401	24	,142		
Total	57,046	30			
Total corregido	8,361	29			

a. comida = 2,0

b. R al cuadrado = ,593 (R al cuadrado ajustada = ,508)

Tabla 6: Tabla 3: análisis ANOVA para testar el efecto de los factores temperatura y ración (alimento) así como su interacción, en la condición ración del 6%

Pruebas de efectos inter-sujetos^a

Variable dependiente: consumo

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1,225 ^b	5	,245	1,812	,154
Intersección temperatura aclimatacion	68,255	1	68,255	504,799	,000
temperatura	,948	1	,948	7,012	,015
aclimatacion	,234	2	,117	,865	,436
temperatura * aclimatacion	,063	2	,032	,235	,793
Error	2,839	21	,135		
Total	74,994	27			
Total corregido	4,064	26			

a. comida = 6,0

b. R al cuadrado = ,301 (R al cuadrado ajustada = ,135)

DISCUSIÓN

El efecto de la temperatura sobre el metabolismo estándar de la carpa dorada ha sido investigado en numerosas ocasiones. Se observó una clara relación en un amplio rango de temperaturas (ente las cuales se encuentran las dos temperaturas de exposición que ocupan en este proyecto) en los trabajos de Ege & Krogh, 1914 y Gardner, 1922. En estos casos también se determinó la tasa de consumo en un intervalo de tensiones de oxígeno decrecientes, acercándose a los niveles de asfixia. De esta manera los efectos del oxígeno y de la temperatura se pueden determinar simultáneamente y el alcance del experimento se extendía.

No obstante, no es menester de este proyecto analizar la respuesta a las condiciones de hipoxia; por ello se realiza un reajuste de los cálculos, para excluir los efectos de la concentración decreciente de oxígeno observados en algunos casos (figura 3) y estudiar aisladamente el factor temperatura. Las gráficas de descenso de la concentración de oxígeno frente al tiempo construidas en este experimento para determinar la tasa de consumo (figuras 2 y 3 como ejemplo) presentan la misma tendencia que las obtenidas en los artículos de Toryu, 1927 y Fry, 1948. En todos los casos donde la concentración de oxígeno se aproxima a las condiciones de anoxia, se observa un descenso del grado de incurvación. Inicialmente, cuando las condiciones no son limitantes, la tasa de consumo de oxígeno es mayor (mayor pendiente en la representación gráfica); después, la curva se va a aplanando. Esto pone de manifiesto una cierta acomodación a las condiciones de hipoxia.

Este cambio en la tendencia se observa con mayor recurrencia en aquellos recipientes correspondientes a los organismos expuestos a la temperatura elevada y en los que la ración de alimento no resulta limitante. Cabe reseñar que, al disminuir la solubilidad del oxígeno en el agua con la temperatura (Manahn, 2007), la concentración inicial disponible para estos organismos es menor.

Analizando conjuntamente las figuras 4, 5 y 6 puede apreciarse como el consumo es menor para los ejemplares en ayuno comparado con los que disponen de alimento. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Elliot en 1969, recogidos en la publicación de Brett, 1979. En este caso, se emplearon ejemplares de salmón real (*Oncorhynchus tshawytscha*), se llegó a la conclusión de que el consumo de oxígeno se ve incrementado en raciones crecientes de alimento, mismo resultado obtenido en este experimento.

En las condiciones de ayuno, el valor de consumo de oxígeno medido se aproxima a representar el metabolismo estándar; es decir, valor mínimo de energía que precisan las células para realizar las funciones de mantenimiento y subsistir. Este parámetro se determina tras mantener a los animales en ayuno y excluir así la energía destinada a los procesos digestivos (Hill, 2007).

En condiciones de ayuno es donde se observa un efecto mayor tanto del factor temperatura como el factor aclimatación sobre el consumo de oxígeno (tabla 4). En la figura 4 puede apreciarse una gran diferencia del metabolismo entre las dos temperaturas de exposición. El primero de los días el metabolismo de los organismos expuestos a la temperatura baja se encuentra deprimido mientras que el de los correspondientes a la elevada está notablemente acelerado. Esto se debe a los efectos tanto directos con indirectos de la temperatura sobre las reacciones metabólicas.

Dentro de los efectos directos se engloban aquellas modificaciones que experimenta la cinética de las reacciones químicas metabólicas. Al producirse un aumento de la temperatura, aumenta la velocidad de las moléculas. También disminuye la energía de activación de éstas (estado que deben alcanzar para que se produzcan las reacciones). Todo ello desemboca en un aumento no lineal de la velocidad de reacción con la temperatura. Además han de tenerse en cuenta los efectos indirectos del aumento de temperatura. Se produce un incremento de la fluidez de las membranas ya que las uniones entre los lípidos que las conforman son débiles y se desestabilizan. Las enzimas embebidas en las membranas se encuentran más libres y esto provoca una mayor disminución de la energía de activación (Willmer, 2000). Lo contrario ocurre con el descenso de temperatura: disminuye la velocidad de las moléculas, aumentan la energía de activación y la solidez de las membranas, todo ello conlleva la ralentización del metabolismo.

Sin embargo, conforme pasan los días se observa en la figura 4 un acercamiento entre los valores correspondientes a las dos temperaturas, ligero al pasar dos días de aclimatación y más acusado al pasar 5. Esto se debe a que se dan fenómenos de compensación térmica a corto-medio plazo. Tal y como se comprueba en la tabla 4, el factor aclimatación es significativo en esta condición.

La actividad de muchas enzimas está controlada vía hormonal o a través de sistema nervioso, lo cual permite la modulación del sistema enzimático. Existen al menos 4 cambios que pueden darse en estas condiciones de cambio de temperatura. Puede alterarse directamente la concentración de enzimas (aumentándola en el caso de la temperatura baja para acelerar el

metabolismo y disminuyéndola en la temperatura elevada para ralentizarlo), puede alterarse la concentración de los sustratos más relevantes (poco probable en este caso dado que los organismos se encuentran en condiciones de ayuno), puede aumentarse o disminuirse la energía de catálisis necesaria y puede alterarse el medio intracelular para modificar la velocidad de las reacciones. Resulta prácticamente imposible discernir cuáles de estos mecanismos pueden estar poniéndose en práctica puesto que el resultado observado proviene de la interacción entre ellos.

Conforme la nueva condición de temperatura de exposición se prolonga, nuevos mecanismos son activados para mejorar la aclimatación. El consumo de oxígeno por parte de los animales de ambas temperaturas difiere menos conforme pasan los días. Los fenómenos más estudiados en este contexto son los referentes a la restauración de las condiciones de fluidez de las membranas que se habían visto alteradas.

Aunque no se han realizado en este caso análisis para la comprobación de éstos sucesos, en otros estudios en condiciones similares de cambios en la temperatura ambiental (Cossins, 1977 & Roots, 1968;) se observaron diferencias en la naturaleza de los ácidos grasos con la finalidad de contrarrestar el efecto de la temperatura sobre la fluidez de la membrana. Esto se conoce como adaptación homeoviscosa. Se observan diferencias en la naturaleza de la cabeza polar de los mismos. Los

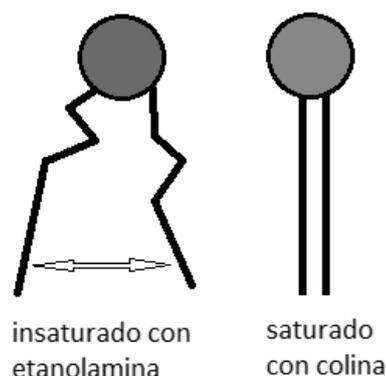


Figura 7: representación esquemática de la diferente naturaleza de los ácidos grasos

ácidos grasos saturados con colina como grupo hidrofílico confieren una mayor estabilidad y contrarrestan la excesiva fluidez provocada por las altas temperaturas. Por el contrario, los insaturados con etanolamina experimentan una repulsión entre las colas apolares que permite contrarrestar la compactación provocada por las bajas temperaturas (figura 7).

El efecto del cambio de temperatura observado el primer día en las condiciones de ayuno, así como de los posibles mecanismos de compensación y adaptación explicados anteriormente, puede comprobarse al observar el cambio del valor Q_{10} (tabla 2) a lo largo de los días esta primera semana. El índice metabólico presenta normalmente un valor Q_{10} de 2-3 para la mayoría de los animales (Hill, 2000). Es decir; un incremento de 10 grados en la temperatura ambiente supone duplicar o triplicar la tasa metabólica.

En este experimento, condición de ayuno, los valores obtenidos (tabla 2) son diferentes dependiendo del tiempo de exposición. El primero de los días el valor es mayor a 3 (3.12), lo que refleja un fuerte efecto de la temperatura, el segundo de los días de medición (2 días tras la exposición), el Q_{10} va reduciendo hasta llegar a un valor de 2 el tercero de los días. Inicialmente el factor temperatura tiene un efecto mayor al esperado, que se va reduciendo hasta su implicación normal en las reacciones (duplicación del metabolismo con un incremento de 10°C).

Al analizar las figuras 5 y 6, correspondientes a los ejemplares a los que se les suministra alimento, se aprecia que todos los valores de consumo son más elevados. Esto se debe al incremento en la tasa metabólica que supone la ingesta de alimento. Este aumento general es reflejo de numerosos procesos incluyendo la digestión, absorción y almacenamiento de nutrientes así como la desaminación de aminoácidos, la síntesis de productos de excreción, de proteínas y otras macromoléculas asociadas con el crecimiento. Estos hechos se recogen en estudios como los llevados a cabo por Hephher en 1988. El metabolismo de todos los individuos, incluidos aquellos expuestos a la temperatura baja, se encuentra acelerado.

En la figura 5 puede observarse diferencia entre el consumo de los peces expuestos a temperatura baja frente a alta, el factor temperatura resulta significativo, tal como se comprueba al realizar el análisis estadístico correspondiente (tabla 5). Sin embargo, el consumo de los organismos expuestos a la baja temperatura se mantiene más o menos constante. Resulta ser tan solo el consumo correspondiente a la elevada temperatura el que se ve alterado. Se observa un aumento el día de exposición a las nuevas condiciones, que va descendiendo paulatinamente hasta asemejarse al consumo por parte de los de la temperatura baja. Esto explica el descenso que se observa en los valores Q_{10} (muy elevado el primero de los días y con un valor medio tras 5 días de aclimatación). No obstante, al mantenerse los consumos de los ejemplares a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$, el análisis estadístico no refleja que el factor aclimatación resulte significativo.

Los costes que suponen la ingestión, digestión y asimilación del alimento mantienen suficientemente activado el metabolismo de los organismos expuestos a la baja temperatura. No obstante, la ración no resulta suficiente para sustentar eficazmente el acelerado metabolismo de los que se encuentran a $21\pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Parece que es posible limitarlo, con las ventajas que ello conlleva: un mayor balance energético. En este caso, cabe esperar que se ponga en marcha alguno de los mecanismos comentados anteriormente para los ejemplares en ayuno: se ralentiza el metabolismo, apreciándose así el descenso observado en la figura 5.

La figura 6 corresponde a las condiciones mayor disponibilidad de alimento (ración 6%). A pesar de que se aprecian diferencias entre el consumo de las dos condiciones de temperatura, en todos los casos la tasa es elevada. También se obtuvieron las mayores tasas en estas condiciones en los estudios de Elliot, 1969 (presentes en la publicación de Brett, 1979) Al observar los valores de Q_{10} recogidos en la tabla 2 se aprecia como en los 3 tiempos de aclimatación en los que se tomaron las medidas de consumo, el valor es menor a 2. Al disponer de suficiente alimento, los costes que supone la ingesta elevan el metabolismo tanto de los animales expuestos a $21\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ como a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$. Sin embargo, a diferencia de lo observado en el caso anterior, la ración suministrada en este caso permite a los animales mantener eficazmente estas tasas metabólicas. En estas condiciones ni el factor temperatura ni tampoco el factor aclimatación tienen un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno (tabla 6).

CONCLUSIONES

Se observa un gran efecto de la temperatura de exposición en aquellos ejemplares sometidos a condiciones de ayuno, tanto en los peces que se encuentran a $14\pm 1^{\circ}\text{C}$ como a $21\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. El efecto que provoca en el consumo de oxígeno se atenúa conforme pasan los días; es decir, el factor aclimatación resulta significativo. En las condiciones de ración de alimento del 2% el consumo de oxígeno se ve menos alterado por la temperatura y no se observan fenómenos de aclimatación. Las condiciones donde cualquiera de los factores, tanto temperatura como aclimatación tienen un efecto menor son aquellas en las que el alimento no resulta limitante, cuando la ración diaria suministrada es del 6%. Conforme se aumenta la ración de alimento el factor temperatura deja de tener un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno de *Carassius auratus*.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer al director de este proyecto de fin de grado, Juan Ignacio Pérez Iglesias, su asesoramiento profesional como experto en el campo de fisiología animal, tanto a la hora de diseñar el proyecto como en la posterior interpretación de los resultados obtenidos en la realización del mismo.

En segundo lugar quisiera agradecer a Maite Martínez Madrid su enorme disponibilidad, ya que, como profesora de prácticas, fue quien me informó a cerca de la disponibilidad de los laboratorios y me proporcionó el acceso a ellos. También le agradezco que me presentase al técnico del laboratorio, a quien doy las gracias por su gran precisión y ayuda en la puesta en marcha de los aparatos necesarios para la realización de la parte experimental del proyecto.

Finalmente, agradecer a la Universidad del País Vasco el hecho de tener un laboratorio en el que poder llevar a cabo el estudio, además de poner a mi disposición materiales para ello; así como a los compañeros de otro laboratorio de fisiología animal que hicieron a bien compartir parte del material que ellos estaban empleando para su tesis.

BIBLIOGRAFÍA

Baensch, H.A. & Riehl, R. (1991). *Aquarium Atlas*. Mergus. Melle, Germany: 992

Brett, J.R. & Groves, T.D.D. (1979). *Fish Physiology*, Cap.: 6: 298-305

Chapman, F.A. (2000). Ornamental fish culture freshwater. In: Stickney, R.R. (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley and Sons Inc., New York: 1063.

Clarke, A. & Johnston, N.M. (1999). Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *Journal of Animal Ecology*, 68: 893–905.

Cossins, A.R. (1977). Adaptation of biological membranes to temperature. Effect of seasonal acclimation of goldfish upon the viscosity of synaptosomal membranes. *Biochim. biophys.*

Doadrio, I. & Elvira, B. (1986). Distribución geográfica actual del género *Carassius Jarocki*, 1822 (Ostariophysi, Cyprinidae) en España. *Miscellanea Zoologica* 10: 385-387.

Doadrio, I. (2001). Atlas y libro rojo de los peces continentales de España. Madrid MMA, CSIC.

Fry, F.E.J. & Hart, J. S. (1948). The relation of temperature to oxygen consumption in the goldfish. *The Biological Bulletin*: 66-77.

Hepher, B. (1988). Nutrition of pond fishes. *Cambridge University Press*.

Hertz, Y.; Fine, M.; Madar, Z.; Tchelet, A.; Shechter, Y. & Gertler, A. (1992). The effect of different levels of dietary protein on the metabolic/endocrine profile and growth of carp (*Cyprinus carpio*): involvement of growth hormone and insulin. *Progress in aquaculture research: proceedings of the 4th German-Israeli. Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc*, 17: 311-325

Kottelat, M. & Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Berlin, Germany.

Lachner, E. A.6 Robins, C.R. & Courtenay, Jr.W.R. (1970). Exotic fishes and other aquatic organisms introduced into North America. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 59:1-29.

Lee, D.S; Gilbert, C.R.; Hocutt, C.H.; Jenkins, R.E.; McAllister, D.E. & Stauffer Jr.J.R. (1980). Atlas of North American Fresh Water Fishes. Publication #1980-12 of the *North Carolina Biological Survey*. North Carolina State Museum of Natural History.

Lozano Rey, L. (1935). Los peces fluviales de España. Mem. Real Acad. Ciencias Exactas Físicas y Naturales de Madrid, Serie Ciencias Naturales. Tomo V.

Manahan, S.E. (2007). Introducción a la Química Ambiental. Ed.: Reverté, Cap.: 2.6

McDowall, R. M. (2000). The Reed field guide to New Zealand freshwater fishes. Auckland, Reed.

Page, L. M. & Burr, B. M. (1991). A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico. *The Peterson Field Guide Series*, vol.: 42. Houghton Mifflin Company, Boston, MA.

Robison, H. W. & Buchanan, T.M. (1988). Fishes of Arkansas. University of Arkansas Press, Fayetteville, AR.

Roots, B.I. (1968). Phospholipids of goldfish (*Carassius auratus* L.) brain: the influence of environmental temperature. *Comp. Biochem. Physiol.*, 25: 457-466

Toryu, Y. (1927). Respiratory exchange in *Carassius auratus* and the gaseous exchange of the air bladder. *Sci. Rept. Tohoku Imp. Univ. L.*, 3: 87-96

Willmer, P.; Stone, G. & Johnston, I. (2000). Environmental Physiology of Animals. Ed.: Blackwell Science

*FishBase, 2004. Species profile *Carassius auratus* Goldfish
(<http://www.fishbase.org/summary/speciessummary.cfm?id=271>)