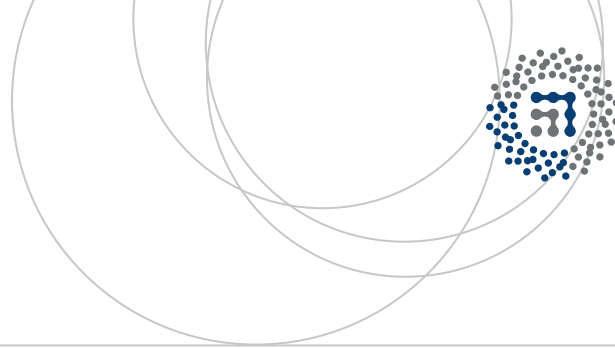




Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología



Trabajo Fin de Grado
Grado en Biología

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

Autor:
Xabier Naseem Mohammad Naveira
Director:
Juan Ignacio Pérez Iglesias

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Materiales y métodos.....	4
3.1 Diseño experimental.....	4
3.2 Determinación del consumo de oxígeno como estimación del metabolismo.....	5
3.3 Tratamiento estadístico.....	7
4. Resultados.....	7
5. Discusión.....	11
6. Bibliografía.....	13

RESUMEN

El presente experimento trata de examinar el efecto de la temperatura sobre el metabolismo de la carpa dorada (*Carassius auratus*), y comprobar, a su vez, si este efecto se ve alterado por el tiempo de exposición a dicha temperatura y/o por la ración de alimento suministrado. Para ello, se expuso a los organismos a diferentes condiciones de disponibilidad de alimento (ayuno y alimento) y a diferentes temperaturas (13 °C y 18 °C). Para la determinación del metabolismo se efectuaron respirometrías, tomando el consumo de oxígeno como resultado indirecto del metabolismo. Tras el tratamiento estadístico, se observó un efecto muy significativo de la ración sobre el metabolismo. Aunque en menor medida, también existió un efecto significativo de la temperatura en dicho parámetro. Sin embargo, no se observaron grandes cambios entre la tasa metabólica de las temperaturas analizadas. Por lo tanto, las carpas doradas poseen mecanismos de compensación a corto plazo, gracias a los cuales mantienen una moderada dependencia térmica del metabolismo.

ABSTRACT

This study aims to examine the effect of temperature on the metabolism of the goldfish (*Carassius auratus*). At the same time, this research seeks to test if this effect is affected by the time of exposure to that temperature or by the availability of food. In order to do so, the organisms are subjected to different conditions of food availability (fast and feed) and temperature (13 °C and 18 °C). Various respirometries are executed with the purpose of determining their metabolism. A detailed statistical study of the collected data shows that there is a significant effect of food availability in the metabolism of the goldfish. In addition, temperature—even if to a lesser degree—also impacts their metabolism. However, the differences on the oxygen consumption between the two exposition temperatures are minimal. This leads to tentatively conclude by arguing that the goldfish possesses short-term compensation mechanisms, which allow them to maintain a moderate thermal dependence of metabolism.

INTRODUCCIÓN

La carpa dorada o carpín dorado (*Carassius auratus*) originaria del continente asiático pertenece a la Familia Cyprinidae, la mayor familia de peces dulceacuícolas conocida del mundo (Nelson, 1994, 2006). Se trata de una de las primeras especies piscícolas en ser empleada ornamentalmente por el ser humano, y por lo tanto introducida en un gran número de nuevas localidades (Doadrio & Elvira, 1985; Kolar *et al.*, 2005). En libertad suele encontrarse en lagos, estanques y ríos con poca corriente (Etnier & Starnes, 1993). Sus características morfológicas más representativas son el gran tamaño de su cabeza en relación al cuerpo, y su color dorado. Su boca es pequeña, de tipo protractil y no presenta barbillas sensoriales. En cuanto a su ciclo vital, el desove o freza tiene lugar en aguas con abundante vegetación, con el fin de obtener protección frente a depredadores y corrientes, entre los meses de mayo y junio, dependiendo de la temperatura del agua, comenzando antes del amanecer y terminando a media tarde (Innes, 1936).

Al tratarse de peces de agua dulce deben hacer frente tanto a la continua pérdida de iones como a la entrada de agua a través de su superficie respiratoria de las branquias (Evans, 1979), y mantener, aún así, la suficiente absorción de oxígeno para sobrevivir. El continuo flujo entrante de agua es neutralizado por una elevada producción de orina, provocando, a su vez, una mayor pérdida de iones. Esta pérdida iónica debe compensarse, lo cual se consigue gracias al transporte activo, a través de las branquias, produciéndose así un gasto energético extra. Por lo tanto, el ser capaz de modificar la superficie respiratoria en respuesta a cambios en la disponibilidad y demanda de oxígeno, debería ser considerado como una característica ventajosa (Sollid *et al.*, 2005). De hecho, las carpas doradas son capaces de hacer frente a situaciones hipóxicas y anóxicas debido a su gran capacidad de extraer oxígeno y su eficiente metabolismo anaeróbico (van den Thillart *et al.*, 1980).

El metabolismo energético, es definido como el consumo de energía llevado a cabo por los organismos, con el fin de mantener su compleja organización (Hill, 1979). El estudio de dicho metabolismo en la carpa dorada, objeto del presente estudio, normalmente reflejado por el consumo de oxígeno (Fry & Hart, 1948), está influenciado tanto por la actividad natatoria como por factores ambientales tales como la temperatura, el nivel de aclimatación, salinidad, pH, etc. (Brett, 1962). La tasa

metabólica se define como la cantidad total de energía metabolizada por un organismo por unidad de tiempo (Willmer *et al.*, 2009). En estos organismos, la mayor fuente de aporte energético para dicha actividad son las proteínas (Nagai & Ikeda, 1971).

La temperatura es uno de los factores más influyentes en los seres vivos de los ecosistemas acuáticos. De hecho, tanto las altas como las bajas temperaturas resultan letales para los organismos, y determinan la distribución de estos en sus respectivos hábitats. Al mantener a los individuos en diferentes condiciones térmicas se ha de tener en cuenta que al producirse el cambio de temperatura, los animales poiquilotermos, como lo son las carpas doradas, pueden sufrir una serie de cambios rápidos en sus procesos fisiológicos, seguidos de una segunda oleada de cambios, más lentos en este último caso (Freeman, 1950). Esta última cadena de transformaciones es lo que se conoce técnicamente como aclimatación térmica, proceso que permite a los animales soportar cambios bruscos en las temperaturas ambientales, previniéndoles, por lo tanto, de daños irreversibles e incluso la muerte. Estos cambios presentan diferencias en el tiempo en el que se manifiestan, siendo algunos más duraderos que otros, pero todos son consecuencia de ciertas transformaciones en las propiedades químicas o físicas del organismo.

Los medios en los que habitan las carpas, dulceacuícolas, poseen menor inercia térmica que el mar por lo que, de haber compensación térmica, debe operar en plazos cortos de tiempo, horas o días, y no en semanas o meses como en los animales marinos. Por lo tanto, es previsible que estos animales sean capaces de compensar los efectos del cambio térmico a corto plazo. Estos mecanismos de compensación térmica les permiten mantener sus funciones vitales alrededor de su óptimo y de esta forma resistir, en cierto modo, los cambios ambientales.

Otro factor a tener en cuenta, en lo relativo a la tasa de consumo de oxígeno es la ración alimenticia (Parry, 1978, 1983), parámetro cuya importancia está siendo cada vez más reconocida por los investigadores en este campo (Brockington & Clarke, 2001). Generalmente, tras la alimentación la tasa de consumo de oxígeno aumenta, llegando a valores del doble o el triple (Johnston & Battram, 1993), y posteriormente descendiendo hasta el nivel de reposo, existiendo tres parámetros interesantes: el nivel máximo, la duración de dicho efecto y su magnitud (Jobling, 1981).

Dadas las diferentes condiciones ambientales a las que se enfrentan estos organismos por su cosmopolita distribución, el objetivo del presente estudio es valorar la respuesta del metabolismo respiratorio de las carpas doradas (*Carassius auratus*) en diferentes contextos de temperatura y ración alimentaria, y comprobar, asimismo, si se produce algún fenómeno de compensación térmica a corto plazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño experimental

En este experimento se llevaron a cabo mediciones del metabolismo energético en 24 carpas doradas (*Carassius auratus*) manteniéndolas en diferentes condiciones ambientales, simuladas en el laboratorio de Fisiología Animal de la facultad, durante un tiempo total de 5 días. El alimento fue suministrado en formato granulado a todos los peces de manera conjunta, exceptuando a los ayunados. A los animales alimentados se les suministró una cantidad de alimento diaria equivalente a un 3% de su peso corporal, sabiendo de antemano que los organismos poseen un 80% de hidratación corporal.

En primer lugar, se dividieron las 24 carpas en cuatro grupos de 6 individuos introduciendo cada uno de estos grupos en un acuario de plástico en los que se reprodujeron diversas condiciones de temperatura y alimento que se muestran a continuación en la Tabla 1. Dos de estos acuarios contenían carpas expuestas a temperatura ambiental (18 °C) y otros dos, carpas sometidas a 13 °C. La temperatura experimental de 13 °C se consiguió introduciendo un dedo frío (unidad refrigeradora) en el acuario de dicha temperatura. Asimismo, los 4 acuarios se mantuvieron saturados de oxígeno gracias a 2 compresores y 8 tubos de silicona (2 por cada acuario). Es importante mantener el agua en el que se encuentran las carpas saturada de oxígeno al iniciar las respirometrías para asegurarse de que los peces poseen el 100% de oxígeno disponible para su consumo y así, evitar que lleguen a condiciones anóxicas.

Además, en cada temperatura descrita, uno de los grupos se mantuvo en ayuno y el otro fue alimentado tal y como se ha especificado anteriormente, pudiendo comparar así el metabolismo tanto en diferentes temperaturas como en diferentes condiciones de alimentación.

Tabla 1. Resumen de las cuatro condiciones a las que se expusieron los organismos.

Temperatura 13 °C – Ayuno
Temperatura 13 °C - Ración 3% de su peso corporal
Temperatura 18 °C – Ayuno
Temperatura 18 °C - Ración 3% de su peso corporal

2. *Determinación del consumo de oxígeno como estimación del metabolismo*

La medida del consumo de oxígeno (VO₂) se realizó mediante la Sonda HQ 40d multi, obteniendo valores en unidades de mg O₂ / ml. Para llevar a cabo el cálculo de dicho parámetro se introdujeron las carpas en respirómetros de 700 ml repletos de agua saturada de oxígeno y se taparon para evitar la difusión de oxígeno entre la atmósfera y el respirómetro. Las medidas fueron tomadas cada 10 minutos durante un tiempo total de 60 minutos, para los seis peces de cada condición y sus respectivos controles, repitiendo dicho proceso tres días, lunes, miércoles y viernes.

Los datos de concentración de oxígeno proporcionados por la sonda se representaron gráficamente en función del tiempo, mediante Microsoft Excel 2007, para cada individuo y sus respectivos controles. Así, se obtuvieron las ecuaciones de la recta de cada pez de modelo $Y = a + bX$ (Figura 1).

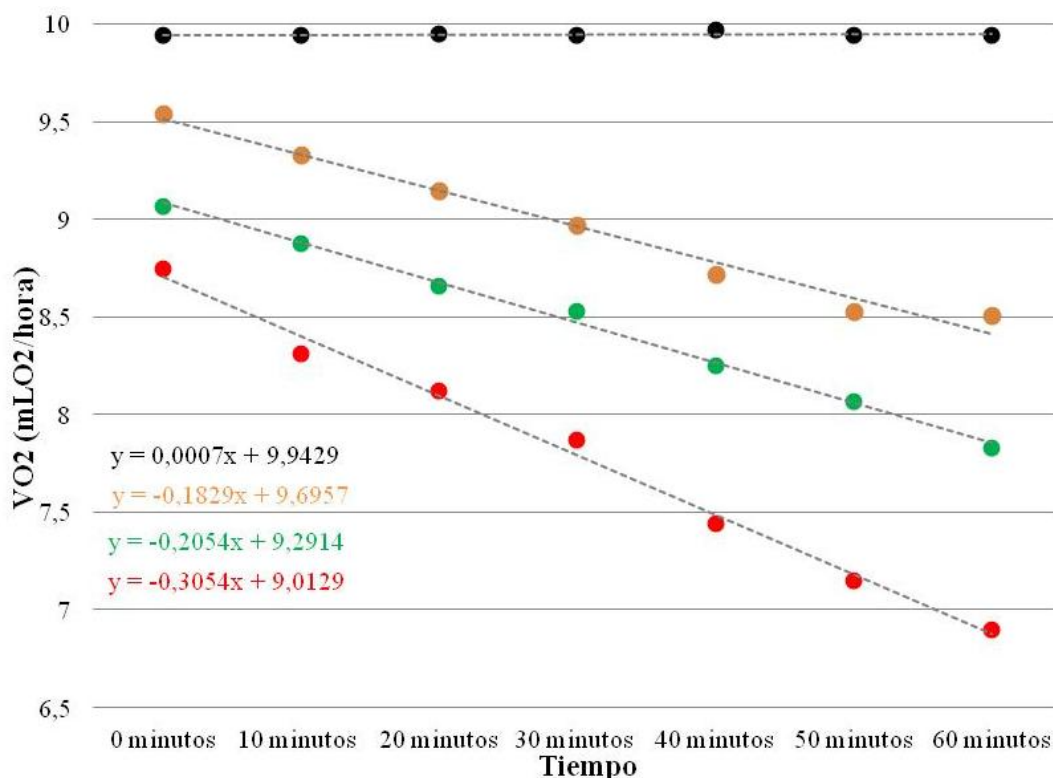


Figura 1. Representación gráfica de la tasa de consumo de oxígeno de los peces expuestos a una temperatura de 18 °C y alimentados el primer día en el que se realizó la respirometría, con su respectivo control (negro).

El coeficiente (b), que corresponde a la pendiente de cada pez, se introdujo en la siguiente fórmula para calcular el consumo de oxígeno (VO₂):

$$VO_2 = \frac{(b - b') \times Vol \times 0,7 \times 60}{1000}$$

En esta ecuación b' es la pendiente del control; Vol corresponde al volumen del respirómetro (700 ml en este caso); 0,7 es el volumen de oxígeno que hay en 1 mg de masa en condiciones estándar; y 60 es la conversión de minutos a horas.

Los valores de tasa de consumo de oxígeno obtenidos fueron estandarizados para peces de 4 gramos de peso, teniendo en cuenta que la relación entre el consumo de oxígeno y el peso es de tipo alométrica y, por consiguiente, no lineal; esto es, no hay una proporcionalidad estricta entre el consumo de oxígeno y el peso de los animales. Por lo tanto, se realizó la siguiente conversión:

$$r_1 = r_2 \times \left(\frac{W_1}{W_2}\right)^{0,75}$$

En ella r₁ es la tasa de VO₂ estandarizada; r₂ es la tasa de VO₂ experimental; W₁ es el peso estándar (4 gramos en este caso); y W₂ es el peso experimental de cada pez. Se emplea el valor 0,75 como exponente ya que es el valor de la pendiente que relaciona la masa corporal y el metabolismo basal en la mayoría de los grupos filogenéticos.

Además, se calculó el valor Q₁₀, un indicador del grado de dependencia térmica del metabolismo; los valores de Q₁₀ comprendidos entre 2 y 2,5 reflejan una dependencia térmica del metabolismo propia de las reacciones químicas y, por lo tanto, indicaría que no se produce compensación de los efectos de la temperatura sobre el metabolismo. Por debajo de 2, el Q₁₀ indicaría grados decrecientes de dependencia térmica. Un Q₁₀ de 1 indicaría ausencia de tal dependencia. Para el cálculo del Q₁₀ se empleó la siguiente ecuación:

$$Q_{10} = \left(\frac{V_2}{V_1}\right)^{\left(\frac{10}{T_2 - T_1}\right)}$$

En esta fórmula la V_x es la tasa de consumo de oxígeno; y T_x es la temperatura de exposición, que en este caso T_2 corresponde a 18 °C y T_1 a 13 °C por lo que la potencia tendrá un valor de 2.

3. *Tratamiento estadístico*

En lo referente al tratamiento estadístico los datos fueron tratados mediante el paquete SPSS. Mediante el mismo se realizó una ANOVA de 3 factores. En ella el consumo de oxígeno fue la variable dependiente, mientras que el resto de parámetros (Ración, Tiempo y Temperatura) y sus respectivas interacciones (Ración & Tiempo; Ración & Temperatura; Tiempo & Temperatura; y Ración & Tiempo & Temperatura) se comportaron como variables independientes.

Dicha técnica se realizó con el fin de estudiar las relaciones entre el metabolismo (variable dependiente) y las demás variables, esto es, comprobar cómo afectaban los diferentes parámetros a la variable dependiente. Se ha de tener en cuenta que el nivel de significación requerido para aceptar la existencia de efectos significativos ha sido de 0,05.

RESULTADOS

Los datos de VO_2 estandarizado, para peces de 4 gramos de peso, han sido representados gráficamente en función del tiempo. Cada una de las barras representa los valores obtenidos de la media de consumo de oxígeno para los peces ayunados (Figura 2) y alimentados (Figura 3), sometidos a las diferentes temperaturas de exposición.

En general se observó que, independientemente de la temperatura de exposición, los peces alimentados mostraron una mayor tasa de consumo de oxígeno. Además, los individuos expuestos a temperaturas más frías presentaron valores de consumo de oxígeno más bajos que los expuestos a la temperatura ambiental.

Como queda reflejado en la Figura 2, los peces ayunados alcanzaron un valor máximo de consumo de oxígeno de $5,3 \pm 1,58$ ml O_2 / g · h (media \pm desviación estándar). Se aprecia que en ambas temperaturas el consumo de oxígeno se mantuvo prácticamente constante a lo largo del tiempo. Los valores más bajos de VO_2 estandarizado correspondieron a los individuos expuestos a 13 °C.

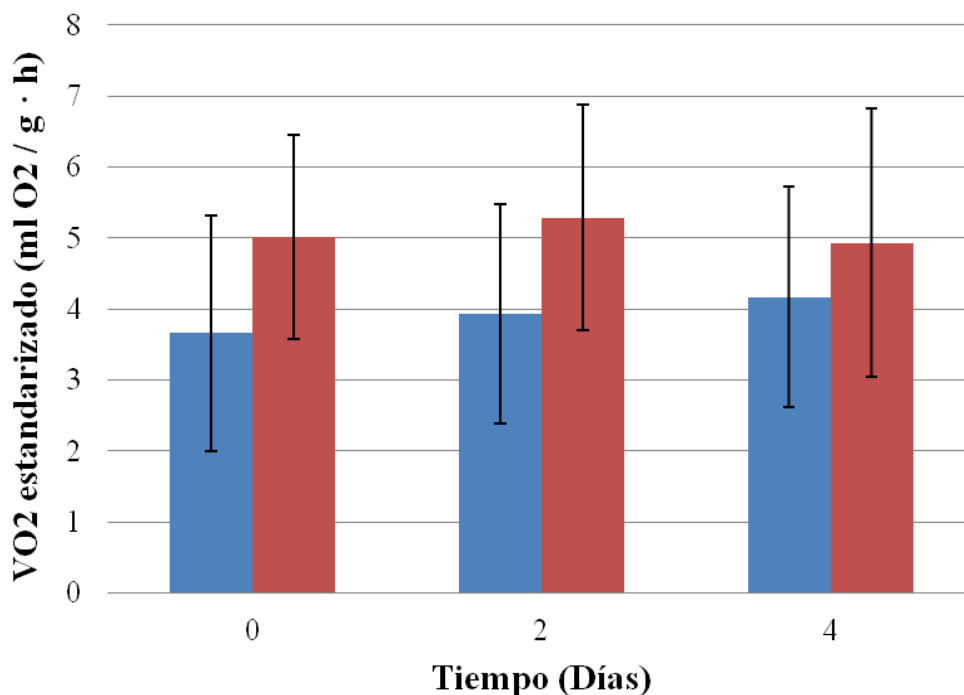


Figura 2. Representación gráfica de las medias de VO₂ estandarizado con sus respectivas desviaciones estándar, de los peces que se mantuvieron en ayuno tanto los expuestos a 13 °C (azul) como los expuestos a 18 °C (rojo), los tres días en los que se realizaron las respirometrías (0: lunes; 2: miércoles; y 4: viernes).

En la Figura 3 tampoco se aprecian grandes diferencias en el consumo de oxígeno entre ambas temperaturas, aunque en conjunto los valores fueron más altos que los obtenidos para los peces ayunados. En este caso la variación del consumo de oxígeno desde el inicio hasta final del experimento es menor que en la Figura 2.

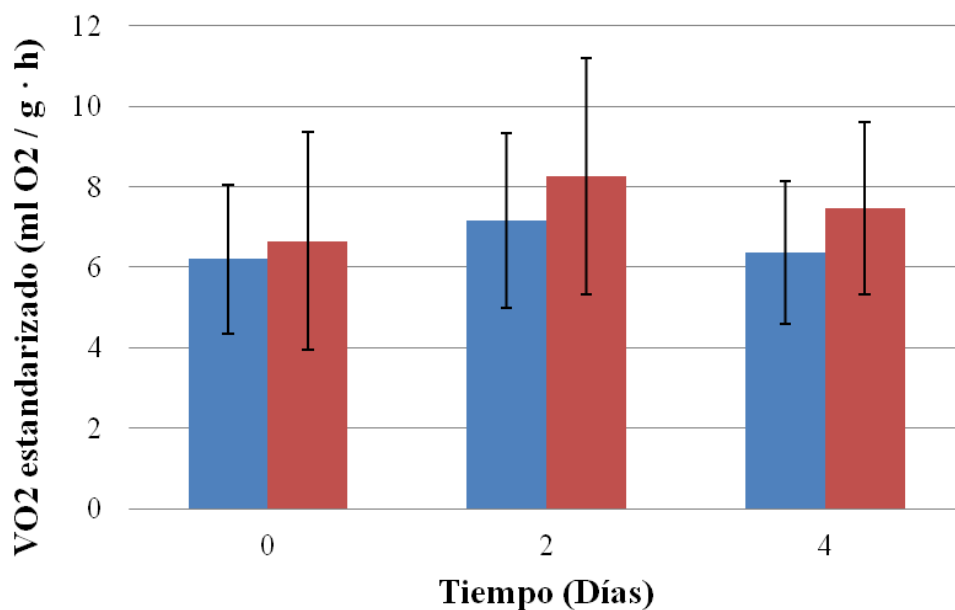


Figura 3. Representación gráfica de las medias de VO₂ estandarizado con sus respectivas desviaciones estándar, de los peces que se mantuvieron alimentados tanto los expuestos a 13 °C (azul) como los expuestos a 18 °C (rojo), los tres días en los que se realizaron las respirometrías (0: lunes; 2: miércoles; y 4: viernes).

A su vez, el ANOVA de tres factores realizado (Tabla 2) mostró que no existía ninguna interacción significativa, ya que sus valores de significación (valor p) fueron mayores de 0,05. De hecho, se puede apreciar que solo dos de las variables afectaron de manera significativa al consumo de oxígeno, que fueron la ración y la temperatura. La ración fue muy significativa presentando un valor $p < 0,001$, mientras que la temperatura, a pesar de ser significativa ($p = 0,033$), no tuvo tanta influencia como la primera variable citada. El tiempo no fue una variable significativa. Una vez que se descartó la variable tiempo, ya se pudo calcular una media para cada combinación de temperatura y ración (Figura 4), y utilizar esos datos para el cálculo del Q_{10} (Tabla 3).

Tabla 2. Resultados obtenidos del Análisis de la varianza (ANOVA) siendo el consumo de oxígeno la variable dependiente y ración, temperatura, tiempo y sus interacciones son las variables independientes.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: VO2 estándar

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	146,038 ^a	11	13,276	3,355	,001
Intersección	2388,390	1	2388,390	603,645	,000
Temperatura	18,749	1	18,749	4,739	,033
Ración	114,720	1	114,720	28,995	,000
Tiempo	7,341	2	3,670	,928	,401
Temperatura * Ración	,331	1	,331	,084	,773
Temperatura * Tiempo	,407	2	,204	,051	,950
Ración * Tiempo	3,352	2	1,676	,424	,657
Temperatura * Ración * Tiempo	1,138	2	,569	,144	,866
Error	237,397	60	3,957		
Total	2771,826	72			
Total corregido	383,435	71			

a. R al cuadrado = ,381 (R al cuadrado ajustada = ,267)

En la Figura 4, que representa una única media para todos los días en los que se llevó a cabo el experimento, se observa que las mayores tasas de consumo de oxígeno la presentaron los individuos alimentados expuestos a una mayor temperatura. Además, la variación encontrada entre ambas condiciones de disponibilidad de alimento fue mayor para los ejemplares expuestos a temperaturas frías. También se aprecia que la diferencia existente en el consumo de oxígeno entre ambas temperaturas de exposición fue mayor para los peces ayunados. Sin embargo, aunque eso fue lo que aparentaron los datos, en

realidad no se aprecia base estadística para poder afirmarlo, ya que no hubo efecto significativo de la interacción Temperatura & Ración. Por lo tanto, desde un estricto punto de vista estadístico, el efecto de la ración fue el mismo en las dos temperaturas o, lo que es lo mismo, el efecto de la temperatura fue el mismo en las dos raciones. Las desviaciones estándar indican que los datos obtenidos fueron muy homogéneos, ya que sus valores son bastante bajos.

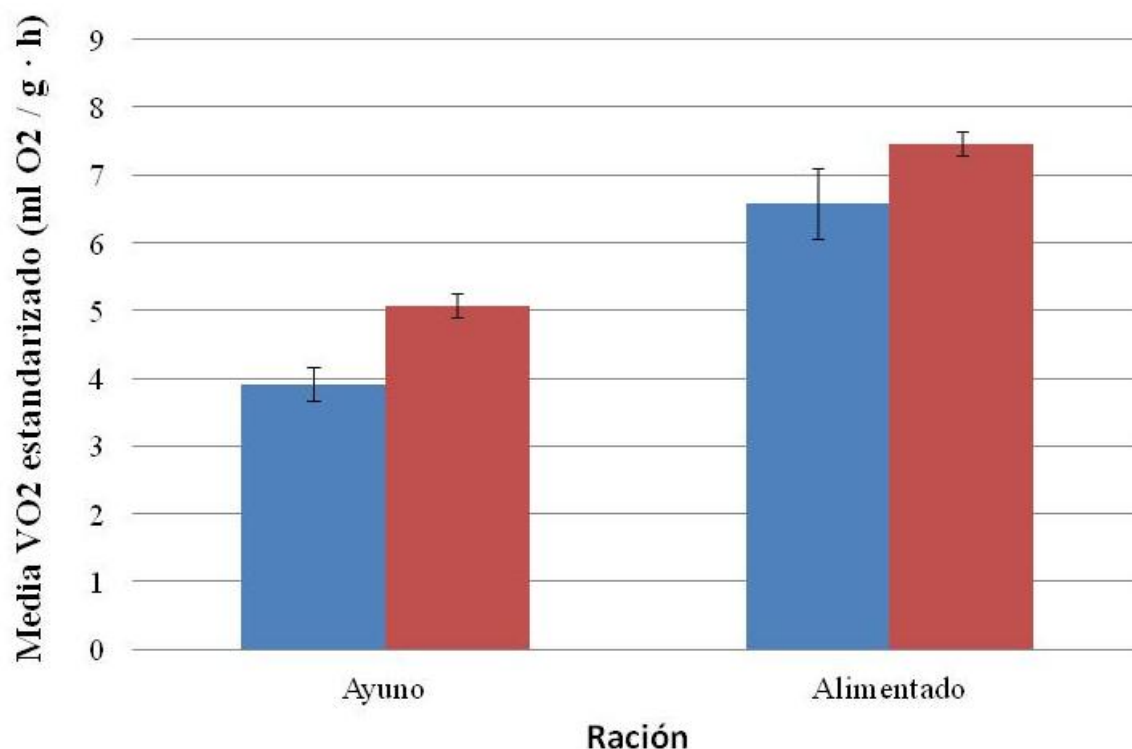


Figura 4. Representación gráfica de la media de las VO₂ estandarizado con sus respectivas desviaciones estándar de todos los días, tanto de los ayunados como de los alimentados, a las temperaturas de exposición de 13 °C (azul) y 18 °C (rojo).

Los resultados obtenidos de Q₁₀ se muestran en la Tabla 3, apreciándose que en los peces alimentados el Q₁₀ fue más cercano a 1 que el de los peces ayunados.

Tabla 3. Valores de Q₁₀ en base a los valores medios de consumo de oxígeno en las diferentes condiciones de temperatura de exposición y disponibilidad de alimento.

Ayuno	Alimentado
1,694433521	1,28572605

DISCUSIÓN

La respuesta en el metabolismo de las carpas doradas, en diferentes condiciones de temperatura y ración de comida, ha sido objeto de numerosos estudios hasta la fecha. Existe una clara relación entre la tasa de consumo de oxígeno y, principalmente, la disponibilidad de alimento, aunque también la temperatura. En efecto, los individuos que se mantuvieron expuestos a la temperatura ambiental y alimentados fueron los que mayores valores de tasa de consumo de oxígeno mostraron, y por el contrario, los que se mantuvieron ayunados y a 13 °C los que menores (Figuras 2 y 3).

El tiempo de exposición no fue una variable que afectara significativamente al consumo de oxígeno de las carpas. A su vez, los peces sometidos a las diferentes temperaturas de exposición no presentaron grandes diferencias en lo relativo al consumo de oxígeno. De hecho, la ración fue la variable que realmente afectó en mayor medida al metabolismo. En síntesis, las carpas se ven condicionadas mayoritariamente por tener más o menos alimento y poco afectadas por la temperatura.

Los peces ayunados (Figura 2) presentaron menores tasas de consumo de oxígeno, ya que no disponían de la energía que proporciona el alimento y, aparentemente, la falta de aporte energético determinó un nivel inferior de gasto metabólico. Su tasa de consumo de oxígeno es una representación de la energía mínima que necesitan las células para llevar a cabo sus funciones vitales (Hill *et al.*, 2006). En condiciones de mayor disponibilidad de alimento aumentó el consumo de oxígeno. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Jobling en 1981. Este incremento es denominado SDA (Specific Dynamic Action) (Guinea & Fernández, 1997). Es el fenómeno metabólico resultante de la digestión y asimilación de alimento (Secor *et al.*, 2007). Representa la energía empleada en los procesos anteriores y posteriores a la absorción, incluyendo la producción de enzimas y ácidos digestivos, la contracción del músculo gastrointestinal liso, la absorción de nutrientes, etc. (Brody & Lardy, 1946).

Los valores obtenidos de Q_{10} para ambas condiciones de disponibilidad alimento fueron cercanos a 1 (Tabla 3), siendo el de los individuos alimentados más próximo a este número. Esto indica que la temperatura ejerce un efecto pequeño en el consumo de oxígeno de los peces alimentados, es decir, la tasa de consumo de oxígeno permanece bastante estable en respuesta al factor térmico. Por otro lado, no existió base estadística

para confirmar que el efecto de la temperatura fuera diferente para cada disponibilidad de alimento, ya que la interacción entre ambos factores, temperatura y ración, no alcanzó significación estadística (Tabla 2). Por lo tanto, el efecto de la temperatura fue prácticamente el mismo para ambas condiciones de disponibilidad de alimento.

Los organismos poiquilotermos suelen presentar diferentes tasas de consumo de oxígeno en función de la temperatura de exposición. En algunas especies esos cambios pueden ser contrarrestados mediante la activación de una serie de mecanismos. Estos mecanismos les permiten llevar a cabo un metabolismo bastante constante, dando lugar a la compensación inmediata o a corto plazo de la temperatura. Los resultados obtenidos (Figuras 2, 3 y 4) sugieren la existencia de dicha compensación, ya que no se apreciaron grandes diferencias en el consumo de oxígeno entre las dos temperaturas de exposición. La compensación térmica inmediata conlleva una serie de cambios enzimáticos (cualitativos). La temperatura influye en la afinidad entre la enzima y el sustrato (Baldwin & Hochachka, 1970), y por consiguiente, a dicha actividad. Cuando aumenta la temperatura baja la afinidad de las enzimas por el sustrato y aumenta la velocidad máxima de la reacción, de acuerdo a los resultados obtenidos por Somero en 1969. Es la reducción de la afinidad lo que permite compensar el efecto que tiene el aumento de la velocidad máxima, aunque ello no sería posible si la concentración de sustrato es alta. Esto es, esa forma de compensación sólo es posible si, a la vez, se mantienen bajas concentraciones de sustrato. La disminución de la afinidad del enzima por el sustrato es posible ya que muchas enzimas poseen uniones lábiles con respecto a la temperatura, entre la enzima y el sustrato. Al aumentar la temperatura se reduce la posibilidad de dicha unión, compensando así los cambios en la temperatura ambiental.

En las masas de agua dulce las variaciones de temperatura suelen ser mayores y más rápidas que en las masas de agua marina, simplemente porque el mar al ser tan grande tiene un considerable volumen de agua y su temperatura tarda en variar. En ríos y lagos, sin embargo, la temperatura cambia más rápido. Por esa razón, es lógico que los animales de agua dulce que son poiquilotermos sean capaces de mantener su actividad (metabólica incluida) relativamente independiente de los cambios de temperatura a corto plazo. Hecho que se ha visto en este estudio. Desde el primer día los animales presentaron poca dependencia térmica. No necesitaron más de un día para compensar los efectos de la temperatura. Y eso es beneficioso para ellos porque gracias a ello

pueden desarrollar actividad bastante constante incluso aunque cambie rápidamente la temperatura ambiental (y corporal).

BIBLIOGRAFÍA

Baldwin, J., & Hochachka, P. W. (1970). Functional significance of isoenzymes in thermal acclimatization. Acetylcholinesterase from trout brain. *Biochemical Journal*, *116*(5), 883-887.

Brett, J. R. (1962). Some considerations in the study of respiratory metabolism in fish, particularly salmon. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, *19*(6), 1025-1038.

Brockington, S., & Clarke, A. (2001). The relative influence of temperature and food on the metabolism of a marine invertebrate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *258*(1), 87-99.

Brody, S., & Lardy, H. A. (1946). Bioenergetics and growth. *The Journal of Physical Chemistry*, *50*(2), 168-169.

Doadrio, I., & Elvira, B. (1985) Distribución geográfica actual del género *Carassius auratus jarocki*, 1822 (Ostariophysi, Cyprinidae) en España. *Miscellanea Zoologica* *10*:385-387.

Etnier, D. A., & Starnes, W. C. (1993). *The fishes of Tennessee*. University of Tennessee Press.

Evans, D. H. (1979). Comparative Physiology of Osmoregulation in Animals, vol. 1 (ed. G. M. O. Maloiy), pp. 305-349. London: Academic Press.

Freeman, J. A. (1950). Oxygen consumption, brain metabolism and respiratory movements of goldfish during temperature acclimatization, with special reference to lowered temperatures. *The Biological Bulletin*, *99*(3), 416-424.

Fry, F., & Hart, J. S. (1948). The relation of temperature to oxygen consumption in the goldfish. *The Biological Bulletin*, *94*(1), 66-77.

Guinea, J., & Fernández, F. (1997). Effect of feeding frequency, feeding level and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata*. *Aquaculture*, *148*(2), 125-142.

Hill, R. W. (1979): *Fisiología Animal Comparada, un enfoque ambiental*. Harper and Row, Eds, Reverté, Barcelona, España.

Hill, R. W., Wyse, G. A., & Anderson, M. (2006). *Fisiología animal*. Ed. Médica Panamericana.

Innes, W. T. (1936). *The complete aquarium book: The care and breeding of goldfish and tropical fish*, Halcyon House, New York. 317 pp.. 1949. *Goldfish varieties and water gardens*.

Jobling, M. (1981). The influences of feeding on the metabolic rate of fishes: a short review. *Journal of Fish Biology*, 18(4), 385-400.

Johnston, I. A., & Battram, J. (1993). Feeding energetics and metabolism in demersal fish species from Antarctic, temperate and tropical environments. *Marine biology*, 115(1), 7-14.

Kolar, C. S., Chapman, D. C., Courtenay Jr, W.R., Housel, C. M., Williams, J. D., & Jennings, D. P. (2005). Asian carps of the genus *Hypophthalmichthys* (Pisces, Cyprinidae)-a biological synopsis and environmental risk assessment.

Nagai, M., & Ikeda, S. (1971). Carbohydrate metabolism in fish. 1. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid contents in carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 37(5), 404-409.

Nelson, J. S. (1994). *Fishes of the world*. John Wiley & Sons, New York.

Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World*. John Wiley & Sons.

Parry, G. D. (1978). Effects of growth and temperature acclimation on metabolic rate in the limpet, *Cellana tramoserica* (Gastropoda: Patellidae). *The Journal of Animal Ecology*, 351-368.

Parry, G. D. (1983). The influence of the cost of growth on ectotherm metabolism. *Journal of Theoretical Biology*, 101(3), 453-477.

Secor, S. M., Wooten, J. A., & Cox, C. L. (2007). Effects of meal size, meal type, and body temperature on the specific dynamic action of anurans. *Journal of Comparative Physiology B*, 177(2), 165-182.

Sollid, J., Weber, R. E., & Nilsson, G. E. (2005). Temperature alters the respiratory surface area of crucian carp *Carassius carassius* and goldfish *Carassius auratus*. *Journal of Experimental Biology*, 208(6), 1109-1116.

Somero, G. N. (1969). Enzymic mechanisms of temperature compensation: immediate and evolutionary effects of temperature on enzymes of aquatic poikilotherms. *American Naturalist*, 517-530.

van den Thillart, G., Kesbeke, F., & van Waarde, A. (1980). Anaerobic energy-metabolism of goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Journal of comparative physiology*, 136(1), 45-52.

Willmer, P., Stone, G., & Johnston, I. (2009). *Environmental physiology of animals*. John Wiley & Sons.