

RESPUESTAS OSMOADAPTATIVAS DEL GUAPOTE JUVENIL (*Dormitator latifrons*, Richardson, 1837) DURANTE TRANSFERENCIA DIRECTA AL AGUA DE MAR

LABORATORIO DE FISIOLÓGIA DR. ERICH GRAETZ.
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y COMPORTAMIENTO ANIMAL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS.
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ.

POR: CÉSAR A. VILLARREAL
GILBERTO E. BECERRA

RESUMEN

El guapote juvenil (*Dormitator latifrons*) presenta un porcentaje de supervivencia muy elevado al ser transferido directamente a diferentes concentraciones de agua dulce, al agua de mar (AD-AM), lo cual demuestra que el mismo es capaz de hipoosmorregular desde etapas muy tempranas de su ciclo de vida. El estudio de la tasa de agua perdida (TAP, mg/día) a diferentes concentraciones AD:AM (V:V) de 0%, 50%, 75%, 100%; demostró que el guapote juvenil muestra **fase de crisis** solamente cuando la concentración fue de 100%. Esta última, describe un comportamiento similar al del pez adulto, lo que indica el carácter **anfriadromo** del guapote, toda vez que es capaz de emigrar desde y hacia medios marinos durante todo su ciclo de vida.

PALABRAS CLAVES: *Dormitator latifrons*, osmorregulación, hipoosmorregulación, anfriadromía, juveniles, porcentaje de supervivencia.

INTRODUCCIÓN

El estudio del desarrollo ontogenético de las capacidades osmorreguladoras de los teleósteos es considerado de enorme importancia para el debido entendimiento de sus diferentes historias de vida y patrones evolutivos (Myer, 1949; Hoar, 1976;

McDowall, 1988). Los análisis más detallados se han centrado en el estudio de los problemas osmóticos a los que están sometidos los huevos y alevines (embriones con bolsa vitelina) (Alderdice, 1988). Estos estados de la historia de vida del grupo han demostrado ser capaces de sobrevivir por períodos relativamente largos en medios hiperosmóticos (Parry, 1960, 1966; Hoar, 1976; Talbot *et al.*, 1982; Alderdice, 1988, Banks *et al.*, 1991). Adicionalmente se ha comprobado que en las formas juveniles, el órgano osmoefector por excelencia es la piel, función que en la forma adulta es transferida al intestino, riñones y branquias (Hoar, 1976; Alderdice, 1988; Li *et al.*, 1995). No obstante, observaciones recientes demuestran que las branquias de los estados larvarios de *Oreochromis mossambicus*, constituyen un órgano ionorregulador mucho antes de que funcione como órgano de intercambio de gases (Li *et al.*, 1995).

El estudio empírico de las capacidades osmorreguladoras en muchas formas juveniles y subadultas de diferentes especies de teleósteos ha sido, sin embargo, muy descuidada y los conocimientos adquiridos se derivan del análisis de la conducta migratoria de muchas poblaciones naturales (para una revisión ver McDowall, 1988). Esta aproximación experimental en el caso del *Dormitator latifrons* ha

creado una situación más bien confusa. Así observamos que el guapote ha sido considerado sucesivamente anádromo (que migra al agua dulce durante la freza) o catádromo (que migra al mar durante la freza); aunque más bien es una especie anfiádroma como la gran mayoría de los gobiodeos (Chang y Navas, 1984; McDowall, 1988; Villarreal *et al.*, 1990). Las especies anfiádrómicas son aquellas que migran desde o hacia el mar por razones distintas a la freza. La distinción es importante pues muchas especies diádrómicas (tanto anádrómicas como catádrómicas) son sólo capaces de resistir choques osmóticos durante un período muy específico de su ciclo de vida (Hoar, 1976; McDowall, 1988). La definición clara de una situación o la otra es solo posible mediante el análisis experimental en el laboratorio.

Villarreal *et al.* (1986, 1993), demostraron que el guapote adulto es capaz de resistir transferencia directa desde y hacia agua de mar durante cualquier época del año. Sugiriendo seguidamente que *D. latifrons* no necesita desarrollar mecanismos osmorreguladores para enfrentar cambios en salinidad del medio.

El propósito del presente trabajo fue el de comprobar experimentalmente la capacidad del guapote juvenil para sobrevivir en medio hiperosmótico.

PARTE EXPERIMENTAL

Captura y mantenimiento de los especímenes:

Los guapote juveniles fueron capturados a finales de la estación lluviosa de 1991 en un lago artificial de 20 ha ubicado en la localidad de Mata de Corozo, cerca de la desembocadura del Río Cabra, Provincia de Panamá (9° 01' N, 79° 01' W). La captura se realizó mediante el uso de una red de mano (50 x 36 cm) con malla de trama de 0,1 cm.

El peso y longitud total de los especímenes fluctuó entre 0,125 - 1,520 g. y 2,3 - 6,2 cm. con promedios de $0,62 \pm 0,11$ g. y $4,45 \pm 0,33$ cm. respectivamente. Los peces fueron transportados al laboratorio en bolsas plásticas conteniendo agua de río. Para disminuir el

estrés por la captura, los peces eran ligeramente sedados con MS-222 (etil-*m*-aminobenzoato, Villarreal y Valdés, 1995). Una vez en el laboratorio los animales eran aclimatizados a las condiciones experimentales por 15 días.

Tolerancia a diferentes salinidades:

Treinta y cinco (35) juveniles fueron divididos al azar en siete grupos de cinco peces cada uno y colocados en siete frascos de 3,78 L de capacidad, conteniendo una mezcla de agua de grifo de clorinada (AD) y agua de mar (AM) volumen a volumen (V:V) hasta alcanzar los porcentajes de 0%, 5%, 12.5%, 50%, 75%, 100% de AM respectivamente. Los frascos fueron examinados periódicamente durante 120h, anotándose la mortalidad cada 24h.

Determinación de la variación de peso corporal:

Para tal propósito se prepararon doce frascos con una mezcla V:V de AD:AM de 0%, 50%, 75% y 100% (tres frascos por concentración); donde los frascos conteniendo las mezclas de AM eran aereados, lo que trajo como consecuencia la formación de turbulencia dentro de los mismos. Seguidamente se colocaron cinco peces aclimatizados en cada frasco, luego de pesados en conjunto para obtener el peso húmedo promedio (PHM) durante el tiempo 0 (t_0). Para tal efecto los peces eran ubicados en un plato Petri obteniéndose el peso total por diferencia con el plato vacío, mediante la fórmula:

$$\text{PHM (mg)} = (\text{plato Petri} + 5 \text{ peces} - \text{plato Petri vacío}) / 5$$

No se usó anestésico durante el proceso de pesada, puesto que se determinó empíricamente que el MS-222, produce pérdida de peso húmedo. Sin embargo, con el propósito de mejorar nuestro protocolo experimental se introdujo el uso de hipotermia como anestésico, notándose que la aplicación de una temperatura de 15°C por 15 min. induce en el pez el desarrollo de la etapa III de anestesia. La recuperación, empero, no fue mejorada

obteniéndose un alto porcentaje de mortalidad (Villarreal y Valdés, 1995).

Los peces fueron pesados en la forma antes descrita cada 24h durante siete días, procediéndose más tarde a calcular la tasa de agua perdida (mg/día) mediante la ecuación:

$$\text{Tasa de agua perdida (TAP)} = (\text{PHM } t_0 - \text{PHM } t_x) / \text{Días}$$

donde:

t_0 = Momento de inicio del experimento

t_x = Intervalos sucesivos

Este protocolo experimental se repitió dos veces.

Análisis estadístico:

Debido al tamaño de la muestra y con el propósito de soslayar los postulados del análisis estadístico paramétrico, se procedió a someter los datos a la prueba no-paramétrica de Friedman para bloques aleatorizados. En el caso del experimento de supervivencia los datos fueron sometidos a una prueba de X^2 simple (Sokal y Rohlf, 1979; Clegg, 1984).

RESULTADOS

Supervivencia:

Los juveniles al ser transferidos a diferentes concentraciones de AM, demostraron ser altamente resistentes a las condiciones hiperosmóticas luego de 144 h de permanencia en dichos medios. Así anotamos que hubo un 100% de supervivencia a concentraciones entre 0 - 25% de AM. La supervivencia descendió a 80% a una concentración de 50% y 100% AM y, a 60% de supervivencia, a una concentración de 75% AM, sin embargo, tales divergencias no fueron significativamente diferentes entre sí ($X^2 = 0,24$; 6gl; $p > 0,10$) (Fig. 1).

Variación de peso:

La tasa de agua perdida (TAP) por los juveniles de guapote sometidos a 50% y 100% AM. durante la prueba experimental, ascendió a $75,67 \pm 35.9$ y $188.50 \pm 51,28$ mg/día respectivamente a las 24 h; en contraste con los peces sometidos a 0% y 75%

AM que sólo ganaron $49,80 \pm 12,57$ y $60,50 \pm 29,34$ mg/día respectivamente. Las diferencias entre dichos promedios fue significativa para una prueba de dos colas ($X^2 = 8,1$; 3 gl; $p < 0,05$). La diferencia en TAP se mantuvo durante las 48 h para los peces sujetos a las otras concentraciones (0%, 50%, 75% AM) pero las mismas no fueron significativas ($X^2 = 4,8$; 3 gl; $p > 0,05$). Desde ese instante en adelante los peces no mostraron diferencias en cuanto a la TAP (Fig. 2). Al compararse estadísticamente los promedios en la TAP de los peces para cada hora, se encontró que era significativamente ($p < 0,01$) para el caso de los animales sometidos a las concentraciones de 50% y 100% AM (Cuadro 1). Finalmente, es notorio que los peces sujetos a concentraciones de AM de 0% y 75% también pierden agua pero tal pérdida no fue significativa ($p > 0,05$).

Luego de realizada las pruebas aquí descritas, los peces fueron retornados a las peceras con agua de grifo declorinada donde permanecieron durante varias semanas.

DISCUSIÓN

Supervivencia de los juveniles:

Los resultados de este estudio coinciden en demostrar que el guapote juvenil, al igual que el adulto (Villarreal *et al.*, 1993), es capaz de resistir la transferencia directa AD -AM. Por otra parte, el hecho de que los mismos sobrevivieron al ser retornados a peceras con agua declorinada, demuestra que son capaces de resistir la transferencia directa inversa (AM -AD). La supervivencia durante transferencia AD - AM, empero, no fue igual para todas las concentraciones siendo menor entre 50% - 100% AM, resultado éste que puede ser adscrito al tamaño; pues los peces pequeños tienen dificultades de osmorregulación al poseer con respecto a su volumen una mayor superficie expuesta (Huntsman y Hoar, 1939; Hoar, 1976; Talbot *et al.*, 1982).

Pérdida de agua durante transferencia AD - AM:

El experimento de variación en la TAP con los guapotes juveniles confirmaron los resultados obtenidos

en el experimento de supervivencia, toda vez que los juveniles resistieron los cambios osmóticos por una semana (Figs. 1 y 2). No obstante, las respuestas no fueron similares para todos los tratamientos, ya que sólo los peces sometidos a concentraciones de 50% y 100% AM, mostraron diferencias significativas alguna ($p < 0,01$) con respecto a las distintas horas de tratamiento y con el tratamiento control (0%) durante las primeras 24 h (Figs. 2, Cuadro 1). Los peces sometidos a concentraciones entre 0% y 75% no mostraron diferencia alguna en la TAP para cada hora o entre sí. Las causas de tales diferencias en comportamiento se discuten a continuación, separadamente.

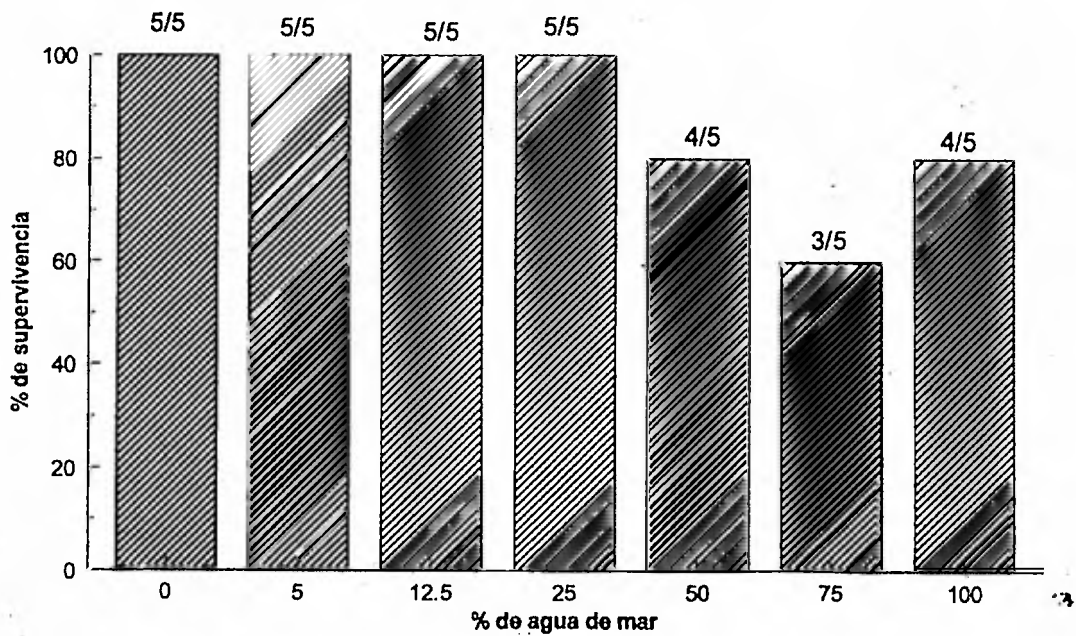
Los cambios transitorios en la TAP presentados por los peces sometidos a 100% AM son consistentes con resultados experimentales previos obtenidos en guapotes adultos (Villarreal *et al.*, 1986, 1993). En efecto, los guapotes juveniles, al igual que los adultos sometidos a las mismas condiciones, mostraron un incremento temporal en la TAP durante las primeras 24 h, que descendió al valor correspondiente a los peces sujetos a las otras concentraciones (0%, 50% y 75%) a las 72 h (Fig. 2). Este resultado extiende a los guapotes juveniles la afirmación de Villarreal *et al.* (1986, 1993) en el sentido de que esta especie, luego de transferencia directa AD - AM, atraviesa por una **fase de crisis** transitoria. Esta fase tiene una duración aproximada de 96 h y durante ella los valores normales de concentración iónica y de humedad tisular se desequilibran. A esta fase la sucede una **fase regulativa** cuando las variables mencionadas retornan a los valores controles (AD). Por otra parte, la musculatura del guapote adulto presenta un comportamiento similar al del la TAP del juvenil (ver Fig. 3, en Villarreal *et al.*, 1986). Como quiera que en el teleósteos el tejido muscular representa el 80% de la masa corporal (Love, 1970) podemos concluir: primero, que el tejido muscular es el que da razón de la pérdida de peso acuoso que sufren los juveniles, durante las primeras 72 h de transferencia directa AD - AM al 100%. Segundo, que la fase de crisis de los

juveniles tiene la misma duración temporal que en el adulto.

Diferencialmente, el incremento en la TAP observado tanto en peces controles (0%) como experimentales sometidos a 50% y 75% parece deberse a estrés causado por las condiciones experimentales. Así anotamos, que el protocolo experimental aquí denominado **variación de peso**, consistió en colocar los juveniles en frascos de pequeño volumen en donde el burbujeo para aerar el agua traía como resultado la formación de turbulencia, desencadenando que los animales tuvieran que nadar activamente para mantener su posición en la columna de agua (**reotaxia positiva**), lo cual actuaría como factor estresante. Si esta interpretación es correcta, es de esperar que no haya diferencias estadísticas en la pérdida de agua entre los peces sometidos a estos tratamientos, lo que ocurrió efectivamente (Fig. 1). El otro corolario importante de esta observación es la de que los guapotes juveniles están naturalmente "preparados" para sobrevivir en medios salobres.

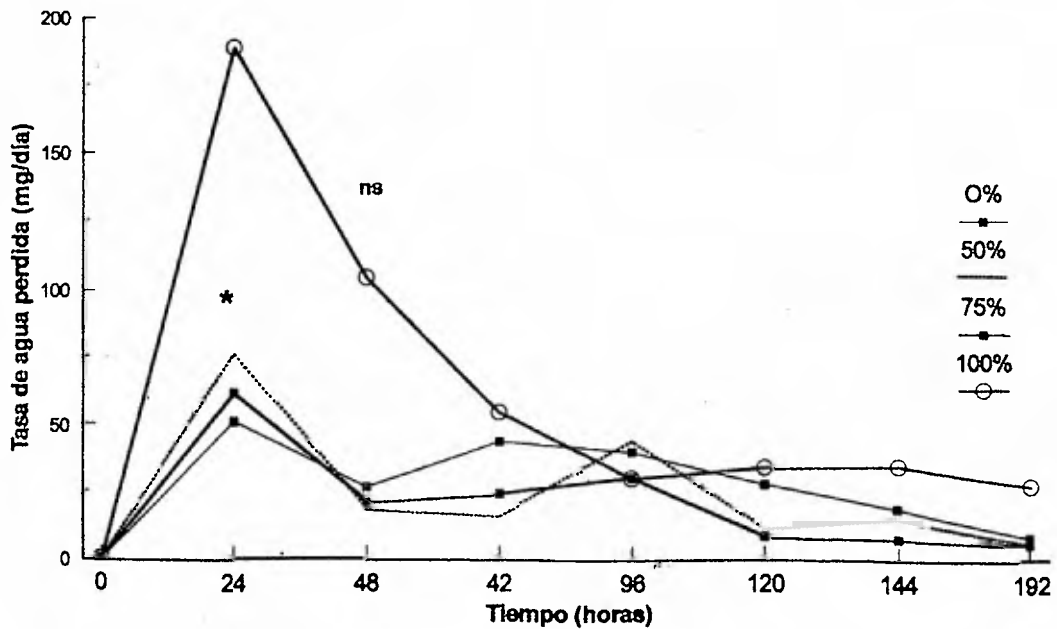
La resistencia de los juveniles subadultos de *D. latifrons* al choque osmótico, demuestra que esta forma está capacitada para migrar de los medios salobres o marinos a los rivereños y viceversa; se refuerza así la sugerencia en el sentido de que esta especie es anfiádroma (McDowall, 1988). Villarreal *et al.*, (1990) sugirieron que los reclutas juveniles tardíos (abril - mayo) que inundan los estuarios salobres durante inicio de época lluviosa migran desde los afluentes río arriba. Chang y Navas (1984) mientras tanto, indicaron que la migración río arriba ocurría con los desbordamientos de las planicies durante períodos de lluvia cuando la disponibilidad de alimento aumentaba. Ambas explicaciones no son necesariamente contradictorias entre sí (Villarreal *et al.*, 1990), pero indican el carácter anfiádromo del guapote, el cual es capaz de migrar en uno u otro sentido puesto que es susceptible de resistir el reto osmótico a todo lo largo de su ciclo de vida.

Figura 1.



Porcentaje de supervivencia del guapote juvenil durante transferencia directa a diferentes concentraciones de agua de mar (0%; 5%; 12,5%; 50%; 75% y 100% AM). n₁/n₁ (N₁ peces sobrevivientes; N₁ peces totales), ns: no significativa.

Figura 2.



Valor promedio de la tasa de agua perdida (TAP mg/día) por el guapote juvenil, para cada hora luego de transferencia directa a 0%; 50%; 75% y 100% de agua de mar. *: p < 0,05. ns: no significativo.

Cuadro 1:

Grado de significancia entre las diferencias observadas para cada hora, en guapotes juveniles sometidos a diferentes salinidades (AD : AM; V : V) Prueba de Friedman para bloques aleatorizados.

TRATAMIENTO	GL	X ²	P
0%	5	8,000	0.05 ns
50%	5	19,9553	0.005***
75%	5	9,6667	0.05ns
100%	5	14,6190	0.010**

*** p < 0.001

** p < 0.01

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALDERDICE, D.F. 1988. Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. En: Fish Physiology. Eds. W.S. Hoar y D. Randall. Vol. 9A: 163-251. New York: Academic Press.
2. BANKS, M.A.; G. J. HOLT y J. M. WAKEMAN. 1991. Age-linked changes tolerance of larval spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*, Cuvier). J. Fish Biol. 39: 505-504.
3. CLEGG, F. 1984. Estadística Fácil. Barcelona: Editorial Crítica. 304 pp.
4. CHANG, B. D. y W. NAVAS. 1984. Seasonal variation in growth, condition and gonads of *Dormitator latifrons* (Richardson) in the Chone River Basin, Ecuador. J. Fish Biol. 24: 637-648.
5. HOAR, W. S. 1976. Smolt transformation: Evolution, Behavior and Physiology. J. Fish. Res. Bd. Can. 33: 1233-1252.
6. HUNTSMAN, A. G. y W. S. HOAR. 1939. Resistance of Atlantic salmon to sea water. J. Fish. Res. Bd. Can. 4: 400-411.
7. LI, J.; J. EYGENSTEYN, R.A.C. LOCK; P. M. VERBOST, A. J. H. VAN DER HEIJDEN; S. E. WENDELAAR BONGA y FLIK. 1995. Branchial chloride cells in larvae and juveniles of freshwater tilapia *Oreochromis mossambicus*. J. Exp. Biol. 198: 2177-2184.
8. LOVE, R. M. 1970. The Chemical biology of Fishes London: Longman. 547 pp.

9. MCDOWALL, R. 1988. *Diadromy in Fishes*. London: Croom Helm. 308 pp.
10. MYERS, G. S. 1949. Salt-tolerance of freshwater fish groups in relation to zoogeographical problems: *Bijde Dierk*. 28: 315-322.
11. PARRY, G. 1960. The development of salinity tolerance in the salmon *Salmo salar* L. and some related species. *J. Exp. Biol.* 37: 426-434.
12. PARRY, G. 1966 Osmotic adaptation in fishes. *Biol. Rev.* 41: 392-444.
13. SOKAL, R. R. y E. J. ROHLF. 1979. *Biometría*. Madrid H. Blume Ediciones. 832 pp.
14. TALBOT, C.; F. B. EDDY y J. JOHNSTON. 1982. Osmoregulation in salmon and sea trout alevins. *J. Exp. Biol.* 101: 61-70.
15. VILLARREAL, C. A.; M. A. DE LÓPEZ; F. DE VINCENTI; E. DE FANILLA y D. G. BERROCAL. 1986. Adaptación osmótica del góbido eurihalino *Dormitator latifrons* (Richardson). *Scientia (Panamá)*. 1: 9-15.
16. VILLARREAL, C. A.; M. A. DE LÓPEZ; M. E. HERRERA y M. CLARKE. 1990. Estudios del crecimiento corporal y gonadal del *Dormitator latifrons* (pisces: Elotridae). I. Frecuencia de tallas y ciclo de madurez gonadal. *Scientia (Panamá)*. 5(2): 29-42.
17. VILLARREAL, C. A.; M. A. DE LÓPEZ; E. E. VALDÉS; D. G. BERROCAL y M. E. HERRERA. 1993. Respuestas osmoadaptativas del guapote *Dormitator latifrons* (Richardson, 1837), durante la transferencia directa hacia y desde agua de mar. *Revista Universidad*. IV Época N° 48: 69-78.
18. VILLARREAL, C. A. y E. VALDÉS. 1995. Efecto estresante del metanosulfonato de tricaína (MS-222) en estudios fisiológicos del *Dormitator latifrons* (Richardson, 1837). *Informe Final. VIP*. Universidad de Panamá, Panamá, 42 pp.