

## Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de juveniles de *Petenia kraussii* (Pisces:Cichlidae): Relación ARN/ADN

M.J. Lemus<sup>1</sup>, K.S. Chung<sup>1</sup> y G.J. Holt<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Oceanográfico de Venezuela, y Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela.

<sup>2</sup> Marine Science Institute, University of Texas at Austin, Port Aransas, Texas 78373, USA.

**Abstract:** We determined the instantaneous growth rate (RNA/DNA ratio) in juvenile *Petenia kraussii* exposed during four weeks at 22 and 30°C. The RNA and protein levels were significantly greater ( $P < 0.001$ ) in samples exposed at 22°C than in those at 30°C. The RNA/DNA ratios during four week-experimental periods were three times higher in fish exposed at 22°C than in those at 30°C, suggesting a better physiological condition at low temperatures for *P. kraussii*.

**Key words:** Temperature, ARN/ADN ratio, *Petenia kraussii*.

La temperatura es quizás uno de los factores ambientales más importantes que afecta las actividades metabólicas de los organismos y su comportamiento (Boubeé 1991), que implica desde su distribución en los ecosistemas como su aspecto reproductivo y el crecimiento. Muchos autores sugieren que a temperaturas cálidas los organismos presentan un gasto energético mucho más elevado que a bajas temperaturas, lo que implica una mayor actividad metabólica (Savitz 1969, Graham 1970, Bulow *et al.* 1978), mientras que otros autores opinan lo contrario (Campbell y Stokes 1985).

Smith y Haschemeyer (1980) propusieron que la actividad de la síntesis proteica puede ser utilizada como base para la evaluación de adaptación metabólica interespecífica, basado en que la síntesis de proteínas está correlacionada con la tasa metabólica basal. Ellos encontraron que peces del Antártico tienen tasas de síntesis proteicas 3 veces más elevada a la que se pudiera esperar en peces tropicales.

No existen estudios sistematizados sobre el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de peces tropicales medido en función de las biomoléculas implicadas en el proceso (ARN,

ADN y proteínas) para la estimación de crecimiento instantáneo medido como ARN/ADN y proteínas/ADN propuestas como indicadores de condición fisiológica. Por lo tanto el presente trabajo determinó el efecto de la temperatura sobre el crecimiento instantáneo de juveniles de *Petenia kraussii* (Steindachner, 1978).

**Captura de ejemplares:** Los juveniles fueron recolectados en la laguna "La Aguá", Estado Sucre, Venezuela (10° 30' N y 63° 41' W), durante el período de noviembre de 1990 hasta mayo de 1991 y se trasladaron hasta el laboratorio de ecofisiología para su respectiva aclimatación. El contenido de oxígeno disuelto en el campo osciló entre 8.2-9.2 mg/l, el pH entre 7.8-8.0 y la temperatura entre 26 y 32°C.

**Aclimatación:** Dos grupos de peces con peso promedio  $3.91 \pm 1.2$  g fueron aclimatados en tanques de 100 L de capacidad a las temperaturas de 22 y 30°C durante 15 días. En este período los juveniles se alimentaron de acuerdo a lo estipulado en la dieta comercial utilizada (Universal).

**Bioensayos:** Se colocaron 15 peces por acuario de 40 L de capacidad para un total de 4 acuarios mantenidos a temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$

y 4 a 30°C, el pH presentó un valor promedio de  $8.1 \pm 0.2$ . Para minimizar la presencia de amonio en los acuarios se renovó el 50 % del agua diariamente. Se les suministró alimento que contiene 61.5% de proteínas crudas, 4.52% de grasa cruda y 5.52% de fibra cruda al 5% del peso corporal.

**Toma de muestras:** Seis ejemplares de cada temperatura fueron sacrificados cada semana por decapitación y de inmediato se les disectó una porción de la musculatura epaxial blanca de la región dorsal superior, por encima de la línea media, el tejido se congeló en hielo seco y se almacenó a -40°C, tomándose una porción de musculatura blanca para la determinación del peso seco.

**Determinación de ácidos nucleicos:** Para la determinación de los ácidos nucleicos se utilizó una modificación del método fluorométrico de Bentle (Westerman y Holt 1988).

**Análisis de proteínas:** Las proteínas se determinaron con el reactivo de Azul de Comasie de acuerdo con Bradford (1976).

Existe un efecto altamente significativo ( $P < 0.001$ ) de la temperatura sobre los niveles de ARN, ADN, proteínas y las relaciones ARN/ADN y proteínas/ADN. El tiempo de exposición afectó significativamente ( $P < 0.001$ ) la concentración de las biomoléculas ARN, ADN y proteínas y en menor grado ( $P < 0.05$ ) las relaciones ARN/ADN y proteínas/ADN. También se pudo observar un efecto interactivo entre las factores que afectaron los parámetros estudiados (Cuadro 1).

La temperatura parece ser un factor determinante sobre la concentración de las biomoléculas (ARN y ADN) implicadas en el crecimiento y por tanto sobre la síntesis de proteínas expresada como Proteínas/ADN y la tasa de crecimiento instantáneo calculada mediante la relación ARN/ADN. Los niveles de ARN en los ejemplares expuestos a 22°C oscilaron entre 5.30-6.65  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de peso seco y entre 2.39-3.12  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de peso seco a 30°C que se reflejaron directamente en mas altos niveles proteicos (440.75-538.68  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de peso seco) para 22°C y mas bajos para 30°C (243.26-305.56  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de peso seco), estos resultados afectaron significativamente los niveles proteicos expresados como Prot/ADN y la tasa de crecimiento instantáneo, ARN/ADN (Cuadro 2).

Este hecho pone de manifiesto lo propuesto por muchos autores, que sugieren, que las relaciones Prot/ADN y ARN/ADN pueden ser afectadas por factores ambientales (Das 1967, Jurss *et al.* 1987), en este mismo orden de ideas estudios realizados *in vivo* en síntesis de proteínas en *Cyprinus carpio* y *Salmo gairdneri* han demostrado una dependencia del proceso respecto a la temperatura, encontrando que peces aclimatados a bajas temperaturas tienen una tasa de síntesis proteica mas elevada que los aclimatados a altas (Loughna y Goldspink 1985).

Este aumento en los niveles de Prot/ADN a 22°C podría indicar que en *P. kraussii* la síntesis de proteínas está directamente relacionada con su metabolismo, de tal manera que los ejemplares expuestos a 22°C podrían no estar

CUADRO 1

*Análisis de varianza para las concentraciones de ARN, ADN y proteínas ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de peso seco) y las relaciones ARN/ADN y proteínas/ADN en músculo blanco de juveniles de *Petenia kraussii* expuestos a 22 y 30°C durante 4 semanas*

| Fuente de Variación | ARN                                  | ADN      | Prot      | Pro/ADN   | ARN/ADN   |
|---------------------|--------------------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
|                     | $\mu\text{g}/\text{mg}$ de peso seco |          |           |           |           |
| Temperatura         | 873.14***                            | 59.39*** | 453.17*** | 386.26*** | 640.13*** |
| Tiempo              | 11.53***                             | 7.31***  | 7.47***   | 4.78*     | 4.16*     |
| Interacción         | 16.47***                             | 6.92**   | 10.77***  | 8.35***   | 10.08***  |

\* =  $P < 0.05$ \*\* =  $P < 0.01$ \*\*\* =  $P < 0.001$

CUADRO 2

Valores promedios del contenido de ARN, ADN y proteínas (µg/mg de peso seco) y las relaciones PROT/ADN y ARN/ADN en músculo blanco de juveniles de *Petenia kraussii* expuestos a 22 Y 30 °C durante 4 semanas

Temperatura de 22°C

| Semanas |    | ARN  | ADN  | Proteínas | Prot/ADN | ARN/ADN |
|---------|----|------|------|-----------|----------|---------|
| I       | X  | 5.30 | 1.57 | 440.75    | 280.86   | 3.30    |
|         | SD | 0.61 | 0.57 | 32.55     | 20.29    | 0.18    |
| II      | X  | 5.47 | 1.58 | 459.56    | 291.42   | 3.47    |
|         | SD | 0.21 | 0.08 | 7.53      | 14.23    | 0.21    |
| III     | X  | 5.35 | 1.55 | 444.59    | 287.03   | 3.53    |
|         | SD | 0.23 | 0.10 | 26.42     | 26.97    | 0.33    |
| IV      | X  | 6.65 | 1.52 | 538.68    | 356.20   | 4.24    |
|         | SD | 0.46 | 0.10 | 46.72     | 42.21    | 0.57    |

Temperatura de 30°C

| Semanas |    | ARN  | ADN  | Proteínas | Prot/ADN | ARN/ADN |
|---------|----|------|------|-----------|----------|---------|
| I       | X  | 3.12 | 1.77 | 305.56    | 168.90   | 1.77    |
|         | SD | 0.37 | 0.13 | 44.17     | 32.27    | 0.25    |
| II      | X  | 3.06 | 2.04 | 291.34    | 143.30   | 1.51    |
|         | SD | 0.20 | 0.17 | 29.71     | 19.01    | 0.16    |
| III     | X  | 2.39 | 1.62 | 243.26    | 150.34   | 1.48    |
|         | SD | 0.10 | 0.07 | 14.33     | 13.61    | 0.12    |
| IV      | X  | 2.70 | 1.86 | 269.54    | 147.73   | 1.45    |
|         | SD | 0.19 | 0.11 | 24.39     | 30.02    | 0.17    |

X = media

SD = desviación estándar

movilizando las proteínas musculares para otras actividades metabólicas, como posiblemente ocurrió con los ejemplares a 30°C que presentaron movimientos y desplazamientos mucho mas rápidos que los observados en los aclimatados a baja temperatura, donde los peces permanecían en su mayor parte del tiempo realizando movimientos muy lentos. Esta hiperactividad de nado en los expuestos a 30°C se compensaba con un elevado consumo de alimento y probablemente con la utilización de toda la energía proveniente de ella, solo para actividades de mantenimiento a esta condición de temperatura cálida. Esto sugiere que la temperatura de 30°C no es la óptima para una mejor condición metabólica para el crecimiento de los juveniles, por el contrario los peces expuestos a 22°C presentaron tasas de crecimiento hasta 3 veces mayores que los expuestos a 30°C, pudiera ser que todo el alimento que consumen es utilizado en su mayoría para fines de crecimiento.

Estos resultados son comparables con lo establecido por muchos autores quienes sugieren que los organismos expuestos a temperaturas cálidas presentan tasas metabólicas mas elevadas que los aclimatados a bajas temperaturas (Savitz 1969, Graham 1970, Bulow *et al.* 1978).

La concentración de ADN en los ejemplares sometidos a 30°C aumenta, indicando un decrecimiento del volumen celular en esta condición, es obvio que un aumento del ADN a esta temperatura indica decrecimiento del volumen celular muscular. Es probable que el decrecimiento del volumen celular del tejido este relacionado con el mantenimiento de los requerimientos energéticos asociado con las altas temperaturas como lo han sugerido Savits (1969) y Bulow *et al.* (1981). Mientras que en la temperatura de 22°C un aumento en el volumen celular podría ser el resultado de un aumento en el almacenamiento de energía y un decrecimiento en los requerimientos energéticos basales asociados con las bajas temperaturas.

En conclusión se puede decir que las Proteínas/ADN y ARN/ADN reflejan condiciones fisiológicas de *P. kraussii* expuestos a diferentes temperaturas, siendo 22°C óptima para una mayor tasa de crecimiento instantáneo y síntesis de proteínas.

### AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente, CI:05-019-00544/92 y al "Texas Advanced Technology Research Program" de la Universidad de Texas en Austin.

### REFERENCIAS

- Boubee, A. J., K. P. Schicker & A. G. Stanchff. 1991. Thermal avoidance in Inanga, *Galaxias maculatus* (Jenyns), from the Waikato River, New Zealand. *New Zealand J. Mar. Freshwater Res.* 25:177-180.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principal of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-252.
- Bulow, F. J., C. B. Coburn, JR., & C. S. Cobb. 1978. Comparisons of two bluegill populations by means of the RNA-DNA ratio and liver somatic index. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 107:799-803.
- Bulow, F. J., M. E. Zeman, J. R. Winningham & W. F. Hudson. 1981. Seasonal variation in RNA-DNA ratios and indicators of feeding reproduction, energy storage and condition in a population of bluegill *Lepomis macrochirus* Rafinesque. *J. Fish Biol.* 18:237-244.
- Campbell, P. G. & P. M. Stokes. 1985. Acidification and toxicity of metals to aquatic biota. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42:2034-2049.
- Das, B. A. & C. L. Prosser. 1967. Biochemical changes in tissue of goldfish acclimated to high and low temperatures. I. Protein synthesis. *Comp. Biochem. Physiol.* 21:449-467.
- Graham, J. B. 1970. Temperature sensitivity of two species of intertidal fishes. *Copeia* 1970:49-57.
- Jurss, K., Th. Bittore, Th. Vokler & R. Wacke. 1987. Effects of temperature, food deprivation and salinity on growth, RNA/DNA ratio and certain enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Comp. Biochem. Physiol.* 87C:241-283.
- Loughna, P. T. & G. Goldspink. 1985. Muscle protein synthesis rates during temperature acclimation in a eurythermal (*Cyprinus carpio*) and a stenothermal (*Salmo gairdneri*) species of teleost. *J. Exp. Biol.* 118:267-276.
- Savitz, J. 1969. Effects of temperature and body weight on endogenous nitrogen excretion in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *J. Fish. Res. Board Can.* 26:1813-1821.
- Smith, M. A. K. & A. E. V. Haschemeyer. 1980. Protein metabolism and cold adaptation in Antarctic fishes. *Physiol. Zool.* 53:373-382.
- Westerman, M. E. & G. J. Holt. 1988. The RNA-DNA ratio: measurement of nucleic acids in larval *Sciaenops ocellatus*. *Contr. Mar. Sci.* 30:117-124.