

ADAPTACION DEL GUPPY *LEBISTES RETICULATUS* AL AMBIENTE

II. LA ADAPTACION FISIOLÓGICO - METABOLICA

Por: Francisco Merino T. (1)
Hermann J. Droste (1)

RESUMEN

Se investigó la adaptación del Guppy *Lebistes reticulatus* proveniente de dos hábitats de clima, templado y cálido, a factores ambientales tales como carencia de oxígeno y variación de temperatura.

Los Guppys que viven bajo carencia de oxígeno, aumentan la actividad de las enzimas glucolíticas, particularmente la deshidrogenasa láctica (EC 1. 1. 1. 27) y acumulan como producto final lactato.

La adaptación a la temperatura se refleja: (1) en la resistencia enzimática a temperaturas altas, (2) en la disminución general de las actividades enzimáticas y (3) en el incremento de la concentración de lactato, lo que significa una mayor participación de la glucólisis para la producción de energía.

INTRODUCCION

Los organismos adaptados tanto a una atmósfera oxidativa como a un ambiente que carece de oxígeno, tienen que producir energía que es utilizable para mantener todas sus funciones celulares. Entre los dos casos extremos existen nichos ecológicos que periódicamente cambian su concentración de oxígeno. Unas veces cuentan con mucho oxígeno, otras carecen de él. A ese nicho pertenecen el poliqueto *Arenicola marina* y los bivalvos *Ostrea edulis* y *Cardium edule*. Los invertebrados mencionados han desarrollado un metabolismo especial que de acuerdo con la concentración de oxígeno, puede trabajar aeróbica o anaeróbicamente (Gäde, 1975; Zebe, 1976 y 1977; Schroff y Schöttler, 1977; Surholt, 1977; Hocháchka y Somero, 1980; Zebe et al., 1980). Este metabolismo especial que se llama "metabolismo anaeróbico condicionado por el hábitat" acumula como productos finales alanina y succinato cuando

hay carencia de oxígeno. Fuera de este metabolismo especial hay otro específico que se llama "metabolismo anaeróbico condicionado por la función". Los bivalvos *Chlamys operculatus*, *Pecten jacobaeus* y *Cardium edule* y el cefalópodo *Loligo vulgaris* pertenecen a este grupo de invertebrados que acumulan la octopina como producto final (Gäde, 1973 y 1975; Grieshaber, 1976; Grieshaber y Gäde, 1976 y 1977), cuando hay carencia de oxígeno causado por un ejercicio pesado.

En cuanto a los vertebrados, se sabe que ellos no sobreviven bajo condiciones anaeróbicas estrictas. Sin embargo, hay especies que pueden regular su consumo de oxígeno bajo carencia de éste (Hill, 1980) o hay otras en las que ciertos órganos pueden trabajar con carencia de oxígeno. Todos estos animales acumulan generalmente ácido láctico como producto final. En cambio, el pez *Cyprinus carpio* produce etanol por el metabolismo anaeróbico.

(1) Profesores del Depto. de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

El pez *Lebistes reticulatus* es capaz de vivir a muy bajas concentraciones de oxígeno (Droste et al., 1982). Debido a esto surge la pregunta: obtiene dicho pez su energía a través de mecanismos metabólicos ya conocidos o la obtiene a través de otra vía metabólica, consiguiendo con ella mayor producción energética?.

Por otra parte, el *Lebistes reticulatus* se adaptó a un hábitat de temperatura alta entre 35°C y 38°C (Velásquez, 1981; Droste et al., 1982). De acuerdo con lo anterior se hace la pregunta: ¿en dicho pez cambiará la concentración de las enzimas presentes o cambiarán las enzimas específicas del sistema o variarán las actividades ya existentes? En otras palabras ¿el *Lebistes reticulatus* se somete a una estrategia cuantitativa, cualitativa o moduladora?.

Es bien conocido que en la trucha, *Salmo gairdneri*, se cambia la constante de Michaelis y Menton (K_M) de las enzimas acetilcolinesterasa y piruvatoquinasa cuando se adapta a temperaturas de 2°C ó 18°C (Baldwin, 1971; Baldwin y Hochachka, 1970), lo que significa que la afinidad enzima-sustrato depende evidentemente de la adaptación a la temperatura o en otras palabras, la estructura enzimática debe alterarse durante el proceso adaptatorio trayendo consigo cambio de la K_M .

La estrategia cualitativa se encuentra más que todo en animales con capacidad de adaptarse periódicamente a temperaturas bajas y altas. En ellos cambian las actividades enzimáticas relativas de vías metabólicas competidoras. En peces que se adaptan a temperaturas frías, el ciclo de pentosa-fosfato parece ser más importante que la glucólisis (Hochachka y Somero, 1980). Además se conoce la estrategia cuantitativa, por la cual los organismos adaptados a temperaturas altas muestran una actividad enzimática más baja en relación a los adaptados a temperaturas bajas (Hazel y Prosser, 1970) debido a una menor síntesis de enzimas.

Ahora bien ¿cuál estrategia "aplica" el pez *Lebistes reticulatus*?

MATERIALES Y METODOS

Se coleccionaron muestras de Guppys en la laguna del Jardín Botánico de Medellín y en el terma "La Salada" de la población de Porcecito, situada al noroeste de la ciudad antes mencionada. Las poblaciones están localizadas a 1.450m s.n.m. y a 1.100m s.n.m. respectivamente. La ciudad de Medellín tiene clima templado con una temperatura promedio de 21°C y la población de Porcecito posee clima cálido con una temperatura promedio de 24°C.

Las muestras recolectadas al azar, se mantuvieron en un recipiente plástico con agua del lugar, se les suministró oxígeno por medio de una bomba de acuario.

Ensayos enzimáticos

Se midieron las actividades de las enzimas glucosa-6-P-deshidrogenasa (G-6-PDH) (EC 1. 1. 49), hexoquinasa (HK) (EC 2. 7. 1. 1), fosfofructoquinasa (PFK) (EC 2. 7. 1. 11), gliceroaldehído-3-P-deshidrogenasa (GAPDH) (EC 1.2.1.12), piruvatoquinasa (PK) (EC 2.7.1.40), deshidrogenasa láctica *LDH) (EC 1.1.1.27), fosfoenolpiruvato-carboxiquinasa (PEPCK) (EC 4.1.1.32), enzima málica (ME) (EC 1. 1. 1. 40), glutamatopiruvato-transaminasa (GTP) (EC 2. 6. 1. 2), glutamato-oxalacetato-transaminasa (GOT) (EC 2. 6. 1. 1), isocitratodeshidrogenasa (ICDH) (EC 1. 1. 1. 42), deshidrogenasa málica (MDH) (EC 1. 1. 1. 37), glutamatodeshidrogenasa (GLU-DH) (EC 1. 4. 1. 3) y deshidrogenasa alcohólica (ADH) (EC 1. 1. 1. 1) de un extracto muscular de los Guppys (Bücher et al., 1964).

Para preparar el extracto, se tomó la musculatura de unos 4 peces y se colocó en 5 ml de buffer fosfato de pH 7, 4 a una concentración de 62,5 mM con 6,3 mM de EDTA a una temperatura entre 0 °C y 4 °C. Después de homogenizar el tejido se centrifugó en una centrífuga clínica "Piccolo" a unos 2.000 gravedades. El sobrenadante transparente se utilizó como extracto. El cambio de la absorbancia se midió en el espectrofotómetro de Beckman, modelo DB - G o en el de Pye Unicam SP - 400 a una longitud de onda de 340 nm. El último espectrofotómetro se utilizó también para medir las actividades enzimáticas entre 21°C y 64°C debido a que tiene anexada una cubeta calorífica.

La resistencia enzimática a diferentes temperaturas se estableció de dos formas distintas: En primer lugar se preparó una cubeta con las sustancias necesarias para la prueba (Bücher et al., 1964), las cuales fueron calentadas previamente a una temperatura determinada, luego se les agregó extracto que estaba a temperatura ambiental y se midió la actividad de dicho extracto. Como la cantidad de extracto agregado era pequeña, la temperatura dentro de la cubeta no cambió esencialmente. En segundo lugar, se colocó el extracto a diferentes temperaturas y a intervalos de tiempo distintos y luego se midió la actividad a 25°C.

Concentración de metabolitos

Se determinó la concentración de metabolitos de acuerdo con los métodos de Bergmeyer (1974) y Boehringer (1982). Se midieron las sustancias intermediarias alanina, succinato y lactato en el extracto muscular.

Consumo de oxígeno

El consumo de oxígeno de un solo Guppy se midió según el método de Warburg. Un individuo, previamente pesado, fue colocado en un vaso de Warburg que contenía agua esterilizada, para evitar, que las bacterias distorsionaran los resultados. Se expresó el consumo de oxígeno por g peso fresco y hora refiriéndose a un promedio de 3 experimentos.

Concentración de proteínas

La concentración de proteínas se determinó según el método de Lowry et al. (1951).

RESULTADOS

Los resultados de la primera parte de esta investigación (Droste et al., 1982) demuestran que los Guppys del Jardín Botánico y de "La Salada" mueren por debajo de una concentración de 0,5 ml O₂ y 0,25 ml O₂ respectivamente disuelto en 1 litro de agua. Siguiendo esta línea, se midió el consumo de oxígeno de 252 ul O₂/h.g y de 201 ul O₂/h.g respectivamente a 25°C el cual, como era de esperar, aumentó de acuerdo al incremento de temperatura (Tabla I).

Comparando el consumo de oxígeno de 20 peces de los cuales cada uno tiene un peso medio de 52,8 mg (promedio de 25 individuos), con la cantidad de oxígeno disuelto en 5 l de H₂O dentro de un acuario (= 2500 ul O₂), y suponiendo una distribución homogénea del oxígeno en el agua, se deduce que en poco tiempo sería consumido el oxígeno, lo que haría que se afecte rápidamente el metabolismo de los peces, trayendo como consecuencia la muerte. Sin embargo, se observó tanto en los Guppys del Jardín Botánico como en los de "La Salada", que la muerte demoraba unas horas.

Por esta razón se midieron las actividades de diferentes enzimas metabólicas de los Guppys del Jardín Botánico y de "La Salada" en condiciones normales y bajo carencia de oxígeno, es decir por debajo de unos 0,7 ml O₂/litro (Tabla II). Los resultados muestran claramente que las actividades enzimáticas de los Guppys de "La Salada" en general son más bajas que las de los peces del Jardín Botánico bajo condiciones normales. Sin embargo, si se comparan bajo las mismas condiciones los cocientes enzima/hexoquinasa de las enzimas correspondientes, se observa que la mayor parte de los cocientes obtenidos de los individuos de "La Salada", son superiores a los de los Guppys del Jardín Botánico.

Si se comparan los resultados obtenidos bajo carencia de oxígeno, con los recibidos bajo condiciones normales, se observa que muchas actividades enzimáticas disminuyen cuando falta oxígeno. Las excepciones a este caso se de-

tectan bien cuando se calcula el cociente antes mencionado. Resulta que la actividad de la LDH en los Guppys del Jardín Botánico es relativamente mucho más alta cuando falta oxígeno. Esto significa la posibilidad de un metabolismo anaeróbico. La enzima ADH que significaría fermentación alcohólica, no fue detectada.

Las actividades enzimáticas, sin embargo, demuestran sólo una potencia de una célula pero no siempre el estado metabólico real. Por lo cual se midieron las concentraciones de los metabolitos lactato, alanina y succinato; las dos últimas sustancias intermediarias sirven para comprobar si existe una vía metabólica semejante a la que ocurre en ciertos invertebrados. Los resultados de la tabla III confirman que bajo condiciones de carencia de oxígeno a través de la LDH se acumula el lactato. En cambio, las concentraciones de alanina y succinato no se aumentan significativamente en la musculatura.

Además, los Guppys de "La Salada" acumulan bajo condiciones aeróbicas más lactato que los Guppys del Jardín Botánico bajo carencia de oxígeno.

En cuanto a la resistencia de temperatura de los Guppys del Jardín Botánico basado en mecanismos metabólicos se obtuvo los resultados graficados en las figuras de 1 a 6.

La figura 1 muestra que las enzimas LDH, MDH y G-6-PDH a muy corto plazo soportan temperaturas hasta 50°C, y 64°C respectivamente. Por encima de 50°C las primeras dos enzimas mencionadas se desnaturalizan más o menos rápido (Fig. 2).

Las mismas tres enzimas, previamente incubadas hasta 1 hora a 30°C, 35°C, 40°C y 50°C, se comportan de otra ma-

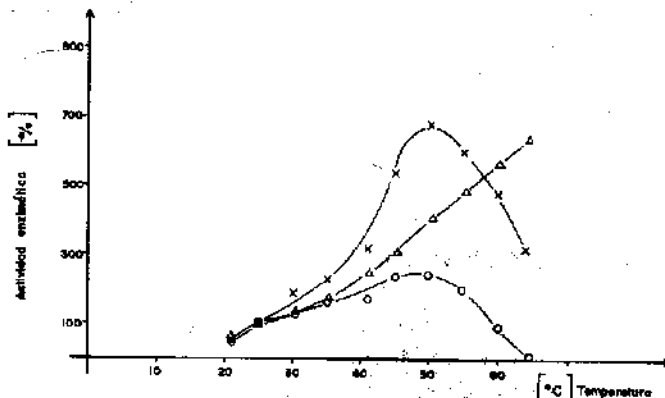


Fig. 1. Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x-x), MDH (o-o) y G-6-PDH (A-A) de los Guppys del Jardín Botánico y la temperatura. El extracto muscular mantenido a 0°C, se agregó a la cubeta previamente calentada a la temperatura determinada. La actividad a 25°C corresponde a 100 o/o.

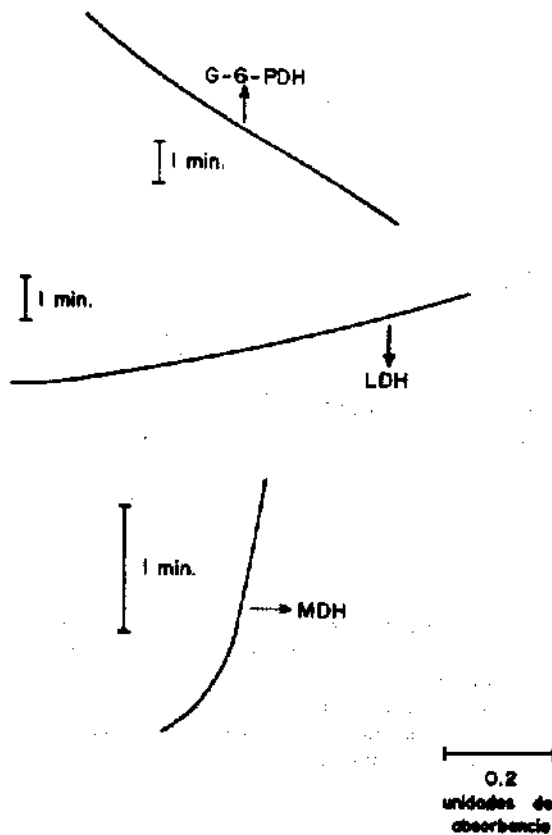


Fig. 2: Demostración del cambio de la actividad enzimática de los Guppys del Jardín Botánico durante muy corto tiempo a 64°C.

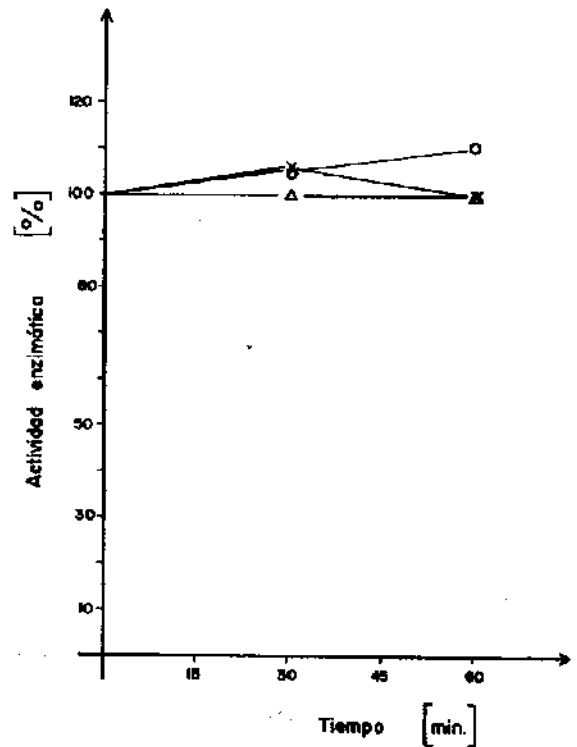


Fig. 3: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x—x), MDH (o—o) y G-6-PDH (Δ—Δ) de los Guppys del Jardín Botánico y el tiempo de incubación a 30°C.

nera (Fig. 3 - 6). Ninguna de ellas soporta más de 15 min una temperatura de 40°C sin desnaturizarse. La MDH incluso pierde actividad antes de 30 min a 35°C.

Por consiguiente los Guppys no deberían sobrevivir durante mucho tiempo a 35°C. Los resultados de la tabla IV lo confirman.

En cambio, en los Guppys de "La Salada", las mismas tres enzimas presentan una mejor resistencia a la temperatura. No pierden actividad durante 1 hora a 35°C (Fig. 7). Incluso a 40°C la disminución de la actividad es muy baja (Fig. 8). Sin embargo, a 45°C y 50°C se desnaturizan rápidamente y se comportan como las de los Guppys del Jardín Botánico (Fig. 9 y 10).

La Fig. 11 muestra que las enzimas LDH, MDH y G-6-PDH de los Guppys de "La Salada" soportan por muy corto tiempo temperaturas hasta 50°C, 50°C y 63°C respectivamente. Las dos primeras bajan su actividad más o menos rápidamente por encima de 50°C.

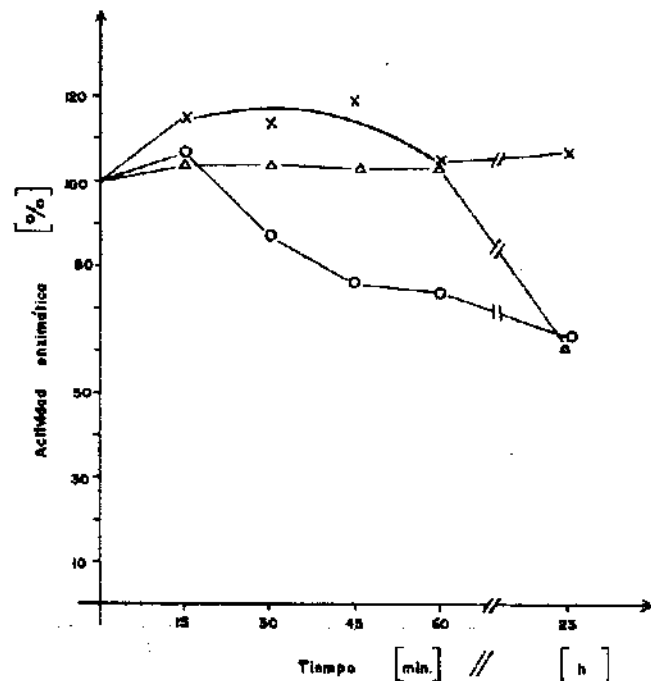


Fig. 4: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x—x), MDH (o—o) y G-6-PDH (Δ—Δ) de los Guppys del Jardín Botánico y el tiempo de incubación a 35°C.

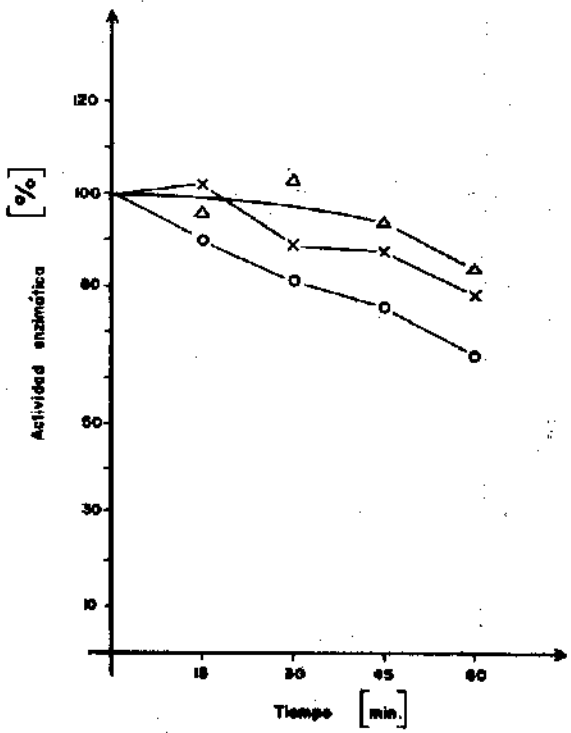


Fig. 5: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys del Jardín Botánico y el tiempo de incubación a 40°C.

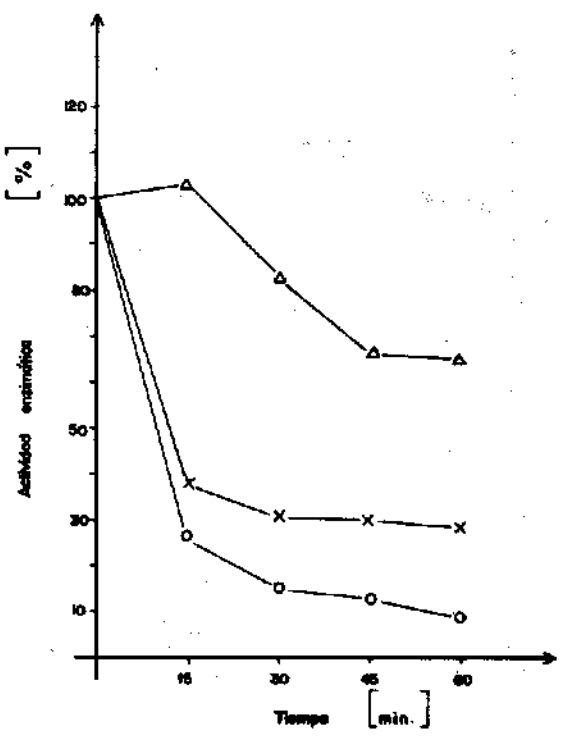


Fig. 6: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys del Jardín Botánico y el tiempo de incubación a 50°C.

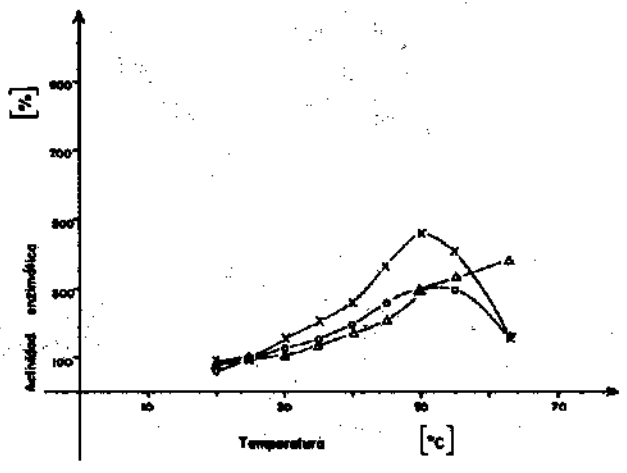


Fig. 7: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys de "La Salada" y la temperatura. El extracto muscular mantenido a 0°C, se agregó a la cubeta previamente calentada a la temperatura determinada. La actividad a 25°C corresponde a 100 o/o.

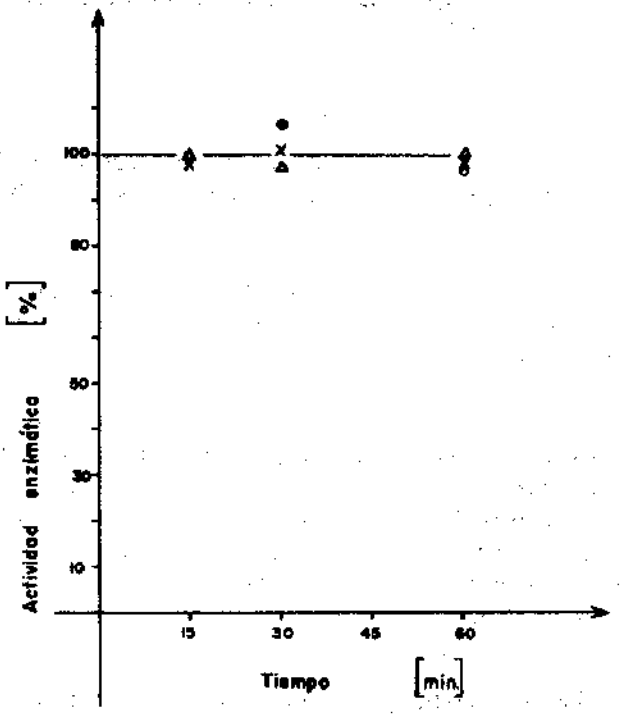


Fig. 8: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys de "La Salada" y el tiempo de incubación a 35°C.

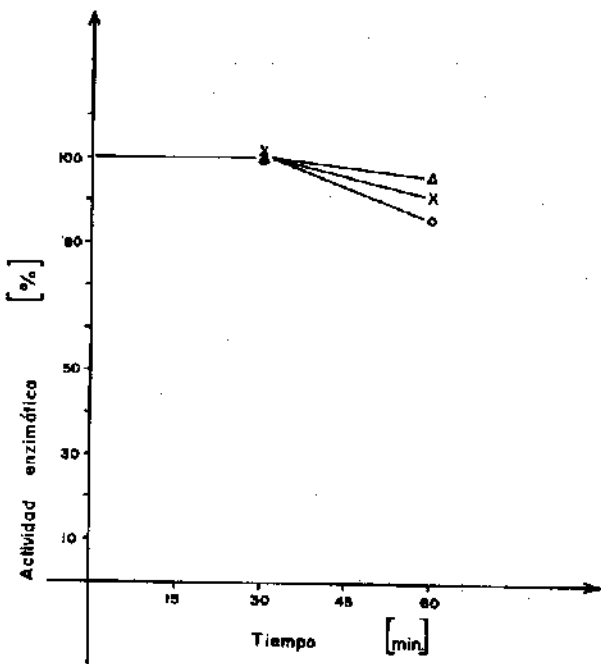


Fig. 9: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys de "La Salada" y el tiempo de incubación a 40°C.

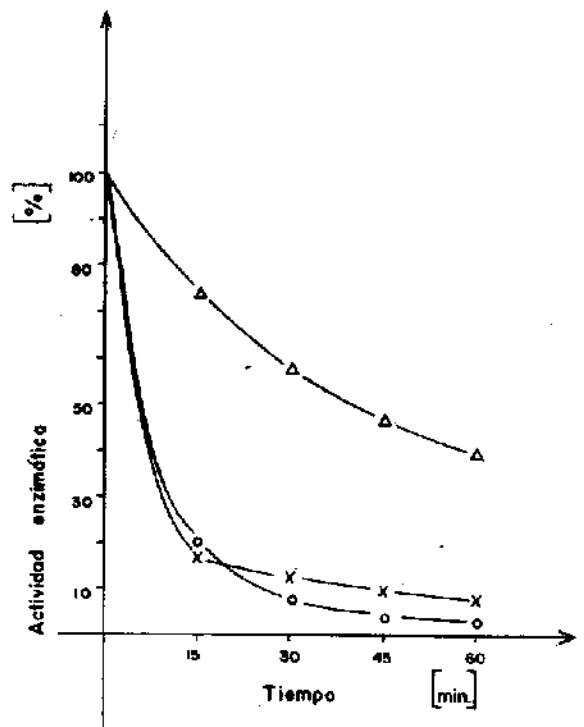


Fig. 11: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys de "La Salada" y el tiempo de incubación a 50°C.

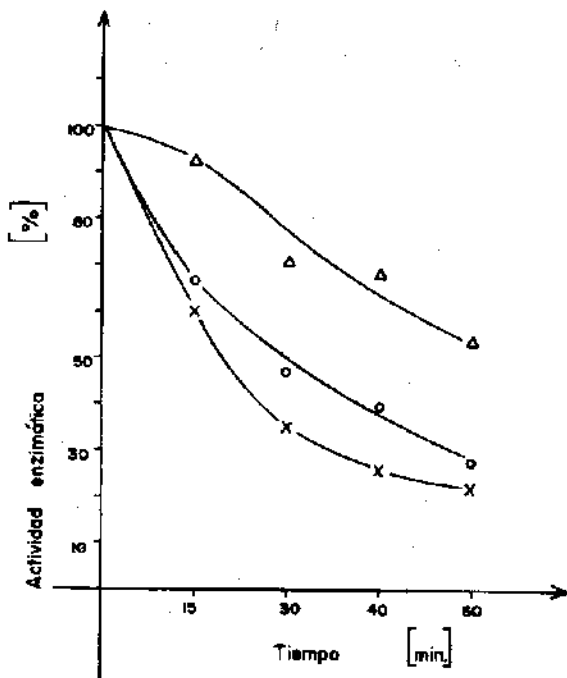


Fig. 10: Correlación entre la actividad de las enzimas LDH (x — x), MDH (o — o) y G-6-PDH (Δ — Δ) de los Guppys de "La Salada" y el tiempo de incubación a 45°C.

DISCUSION

Un Guppy del Jardín Botánico de un peso medio de 52,8 mg consume 13,3 ul O_2/h a 25°C. Esto fue medido en el aparato de Warburg. Por lo tanto 20 Guppys consumen 266/ul O_2/h .

Cuando se analizó la disminución de O_2 en los experimentos realizados en la primera parte de la investigación (Droste et al., 1982), se observó que los Guppys consumen apenas la mitad del oxígeno.

Estas diferencias fueron debidas al método empleado en los dos experimentos. El stress de los Guppys en el aparato de Warburg es mucho más alto que en un acuario de 5 litros, pues este último se encuentra siempre en reposo.

Teniendo en cuenta esta variable y suponiendo que un Guppy de un peso medio consume solamente 6 ul O_2/h , 20 Guppys consumirán 2.880 ul O_2/d . Si estos 20 Guppys están en un acuario que contiene 5 litros de agua con una concentración de 0,5 ml O_2/l , el total de oxígeno disuelto es de 2.500 ul. Por lo cual se ve claramente que el consumo de oxígeno en un día es mayor que la cantidad que hay en el acuario. Por esta razón los 20 Guppys del Jardín Botánico mueren al cabo de pocas horas.

Para los Guppys de "La Salada" se puede hacer un cálculo muy semejante.

La concentración de oxígeno que se encontró disuelto en el agua, fue de 0,5 ml/l en el caso de los peces del Jardín Botánico. Es decir ni siquiera el 10o/o de la cantidad que se pudiera disolver a una presión atmosférica de 760 Torr y una temperatura de 25°C. Con esto queda claro que no es fácil para el Guppy absorber suficiente oxígeno a través de las branquias. Por esta razón se afecta el metabolismo energético aeróbico de la musculatura, pues para obtener la misma cantidad de energía bajo estas condiciones, el Guppy necesita degradar más glucosa, la que descompone a través de la glucólisis.

Los resultados obtenidos lo confirman. Además coinciden con las observaciones hechas. Los Guppys, bajo carencia de oxígeno, empiezan a moverse más lentamente y por lo tanto necesitan menos energía. Esto se refleja en la actividad de la HK, la cual baja a la mitad de su actividad normal. Sin embargo, analizando las actividades de las otras enzimas de la glucólisis en relación con la actividad de la HK, se observa un aumento de las actividades. Es decir, el Guppy gasta menos energía pero eleva la actividad glucolítica. Entre las actividades más altas está la de la LDH que se manifiesta por una acumulación de lactato de 9,7 uMol/g peso fresco de la musculatura. Lógicamente se puede concluir que el Guppy fermenta glucosa a lactato bajo carencia de oxígeno.

Por otra parte no se encontró acumulación de succinato y de alanina, lo que indica que no se produce en el Guppy un metabolismo anaeróbico como el que ocurre en la ostra. Tampoco se detectó la ADH, lo que significa, que no hay fermentación alcohólica, como sí sucede en la carpa. En consecuencia, el metabolismo del pez *Lebistes reticulatus* parece ser un metabolismo semejante al que ocurre generalmente en los vertebrados.

No obstante todas estas observaciones, quedan dudas acerca del metabolismo anaeróbico. Aunque se acumula lactato, la cantidad no es muy alta, lo que indica que fuera de la glucólisis sigue funcionando la cadena de citocromos. Esto significa que el abastecimiento de la musculatura con oxígeno por lo menos no es muy malo, a pesar de que la concentración de oxígeno disuelto en el agua, es muy baja. La curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina podría explicarlo. Creemos que en el Guppy existe una alta afinidad hemoglobina-oxígeno como ocurre en otros animales que viven periódicamente bajo carencia de oxígeno (Hill, 1980).

Fuera de las variaciones en las actividades glucolíticas, se observa un aumento de las actividades de las transferasas GPT y GOT como de la PEPCK, la enzima clave de la gluconeogénesis.

Comparando las actividades enzimáticas de los Guppys del Jardín Botánico con las de los de "La Salada" bajo condiciones aeróbicas, se observa que son generalmente más bajas en los peces de "La Salada". Esto coincide con las observaciones realizadas en los organismos adaptados a temperaturas altas en los cuales las actividades enzimáticas son más bajas (Hochachka y Somero, 1980).

La LDH juega un papel muy especial, pues aunque muestra una actividad baja en los extractos de los Guppys de "La Salada", presenta una producción de lactato muy grande. Esto indica que la glucólisis está funcionando predominantemente para la producción de energía. Todo esto concuerda con la concentración de oxígeno de 0,33 ml/l H₂O encontrada en "La Salada".

En cuanto a la adaptación de *Lebistes reticulatus* a la temperatura se encontró que tanto los peces adaptados a una temperatura entre 20°C y 25°C como los individuos adaptados a 35°C elevan su tasa metabólica en forma parecida de 1,97 y 2,22 respectivamente.

Cuando se miden las actividades de las enzimas LDH, MDH y G-6-PDH a temperaturas entre 30°C y 50°C, se ve que las de los Guppys de "La Salada" adaptados a temperaturas altas, son más resistentes que las de los del Jardín Botánico.

Reflexionando sobre todo lo anterior, se puede concluir que la adaptación del *Lebistes reticulatus* a temperaturas altas trae consigo un cambio metabólico debido a que sus enzimas se han adaptado a dichas temperaturas.

AGRADECIMIENTOS

Se dan los agradecimientos tanto a la Universidad de Antioquia que apoyó y respaldó este trabajo como al Gobierno de Alemania Federal que donó parte del equipo científico y de la financiación. Particularmente agradecemos al Departamento de Bioquímica que nos prestó por mucho tiempo el espectrofotómetro de Beckman y el aparato de Warburg; también a Olga Beatriz Giraldo C. quien dibujó las gráficas.

TABLA No. I

CONSUMO DE OXIGENO DE LOS GUPPYS DEL JARDIN BOTANICO Y DE "LA SALADA" EN EL APARATO DE WARBURG A DIFERENTES TEMPERATURAS

Temperatura (°C)	Consumo de O ₂ (u MI O ₂ /h.g peso fresco) -	
	Jardín Botánico	La Salada
25	252	201
30	374	—
35	497	446

TABLA No. III

CONCENTRACIONES DE LOS METABOLITOS LACTATO, ALANINA Y SUCCINATO EN LA MUSCULATURA DE NATACION DE LOS GUPPYS DEL JARDIN BOTANICO Y DE "LA SALADA" BAJO CONDICIONES AMBIENTALES NORMALES Y CARENCIA DE OXIGENO

Concentración de metabolitos (u Mol/g peso fresco) en los peces del

Metabolitos	Jardín Botánico		"La Salada"	
	Influencia ambiental normal	carencia de O ₂	Influencia ambiental normal	carencia de O ₂
Lactato	4,1	9,7	21,7	42,9
Alanina	2,4	3,2	—	—
Succinato	0	0	—	—

TABLA No. II

ACTIVIDADES DE DISTINTAS ENZIMAS METABOLICAS DE LOS GUPPYS DE "LA SALADA" Y DE LOS DEL JARDIN BOTANICO TANTO BAJO CONDICIONES AMBIENTALES NORMALES COMO BAJO CARENCIA DE OXIGENO

Enzima	Actividades enzimáticas de los Guppys de					
	"La Salada"		Jardín Botánico			
	Condición normal		Condición normal		Carencia de O ₂	
	(u Mol Sust) h. mg Prot	Enzima HK	(u Mol Sust) h. mg Prot	Enzima HK	(u Mol Sust) h. mg Prot	Enzima HK
Glucosa-6-P-DH	0,68	1,5	1,91	1,8	1,18	2,4
Hexoquinasa	0,45	1,0	1,09	1,0	0,49	1,0
P-Frucoquinasa	35,3	78,4	40,6	37,2	19,1	38,9
P-Gliceraldehido-DH	26,5	58,9	13,0	11,9	9,24	18,9
Piruvatoquinasa	29,4	65,3	30,7	28,2	28,3	57,8
DH - láctica	20,0	44,4	37,6	34,5	31,1	63,5
P-Enolpiruvato-carboxiquinasa	3,61	8,02	10,0	9,2	6,46	13,2
Enzima mállica	0,06	0,13	0,26	0,24	0,02	0,04
GPT	1,1	6,89	4,31	3,95	4,16	8,49
GOT	0,29	0,64	0,44	0,40	0,40	0,82
Isocitrate-DH	5,08	11,3	14,0	12,8	8,33	17,0
DH-malica	26,5	58,9	44,8	41,1	61,2	125
Glutamato-DH	0,06	0,13	0,44	0,40	0,44	0,90
DH-alcoholica	—	—	0,0	0,0	0,0	0,0

TABLA No. IV

TASA DE SUPERVIVENCIA DE LOS GUPPYS (o/o) A 35°C Y A TEMPERATURA AMBIENTAL EN RELACION CON EL TIEMPO

Guppys a diferentes temperaturas	Porcentaje de sobrevivientes a diferentes tiempos (h)			
	0	27	46	141
35°C	100	21,7	6,5	0
Ambiental	100	100	95,2	71,4

BIBLIOGRAFIA

- BALDWIN, J. y HOCHACHKA, P. W.: Funktional Significance of Isoenzymes in Thermal Acclimation: Acetylcholinesterase from Trout Brain. *Biochemical Journal* 116, 883-887, 1970.
- BALDWIN, J.: Adaptation of Enzymes to Temperature: Acetylcholinesterase In the Central Nervous System of Fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* 40, 181-187, 1971.
- BERGMEYER, H. U.: *Methoden der enzymatischen Analyse*, Bd I/II, Verlag Chemie Weinheim/Bergstrasse/Alemania, 1974.
- BOEHRINGER MANNHEIM: *UV-Test zur Bestimmung von Bernsteinsäure in Lebensmitteln*, 1982.
- BÜCHER, T., LUH, W. y PETTE, D.: Einfache und zusammengesetzte optische Test mit Pyridinnucleotiden. *Handbuch der physiologisch und pathologisch - chemischen Analyse*, 10. Aufl., Bd IV/A, Springer Verlag Berlin 1964.
- DROSTE, H. J., MERINO, F. y SALAZAR, A.: Adaptación del Guppy *Lebistes reticulatus* al ambiente. I. Experimentos generales en el Laboratorio. *Actualidades Biológicas* 11 (40), 40 - 47, 1982.
- GÄDE, G. y ZEBE, E.C.: Über den Anaerobiosestoffwechsel von Mollusken muscheln. *J. comp. Physiol.* 85,252-301, 1973.
- GRIESHABER, M.: An Enzymatic Method for the Estimation of Octopine. *Analyt. Biochem.* 74, 600 - 603, 1976.

- GRIESHABER, M. y GÄDE, G.: The Biological Role of Octopine in the Squid, *Loligo vulgaris*. *J. comp. Physiol.* 108, 225-232, 1976.
- GRIESHABER, M. y GÄDE, G.: Energy Supply and the Formation of Octopine in the Scallop, *Pecten jacobaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58 B, 249 - 252, 1977.
- HAZEL H. y PROSSER, C. L.: Interpretation of Inverse Acclimation to Temperature. *Zeitschrift für vergl. Physiologie* 67, 217 - 228, 1970.
- HILL, R. W. : *Fisiología Animal Comparada*, Editorial Reverté España, 1980.
- HOCHACHKA, P. W. y SOMERO, G. N.: *Strategien biochemischen Anpassung*. Thieme Verlag Stuttgart/Alemania, 1980.
- LOWRY, O.H. et al.: Proteinmeasurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275, 1951.
- SCHROFF, G. y SCHÖTTLER, U. Anaerobic Reduction of Fumarate in the Body Wall Musculature of *Arenicola marina*. *J. comp. Physiol.* 118, 325 - 336, 1977.
- SURHOLT, B.: Production of volatile fatty acids in the anaerobic carbohydrate catabolism of *Arenicola marina*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58 B, 147-150, 1977.
- VELASQUEZ T, L. E. : Aspectos Ecofisiológicos del Guppy, *Poecilia (Lebistes) reticulata*, en un terminal de Antioquia (Colombia). Trabajo para optar el título del Biólogo de la Universidad de Antioquia, 1981.
- ZEBE, E. C. : In vivo - Untersuchungen über den Glucose - Abbau bei *Arenicola marina* (Annelida, Polychaeta). *J. Comp. Physiol.* 112, 263-272, 1976.
- ZEBE, E. C. : Anaerober Stoffwechsel bei wirbellosen Tieren. *Rheinische - Westfälische Akademie der Wissenschaften, Vorträge No. 269*, Westdeutscher Verlag, 1977.
- ZEBE, E. C., GRIESHABER, M. y SCHÖTTLER, U.: Biotopbedingte und funktionsbedingte Anaerobiose. *Biologie in unserer Zeit* 10 (6), 175-182, 1980.