

VARIACIÓN ESTACIONAL DEL CONTENIDO DE LÍPIDOS EN *TIGRIOPUS CALIFORNICUS* (BACKER) (COPEPODA, HARPACTICOIDA) *

Aurora DELGADO de LAYÑO** y Rosa E. PALLARES***

SUMMARY: Seasonal variation of the lipid content in *Trigriopus californicus* (Backer) (Copepoda, Harpacticoida).

Seasonal variations of the body weight, water content and lipid amount in adult individuals of *Trigriopus californicus* (Backer) from peninsula Foca, Puerto Deseado (Sta. Cruz) were studied. Correlations among them were found.

Experiences were realized during 1978 and 1979, using 100 individuals as optimum number for each test, taking them at random.

Maximum values for body weight and for water content are observed during the spring and minimum values at the end of the summer. In relation to the lipid percentage (based in the dry weight) it reaches its maximum values during the spring, existing an inverse correlation with the former parameters.

It was also proved the influence of the ovigerous female on the lipid content of the adult population during 1978.

Maximum values were obtained in summer and minimum ones in spring, according to the population movement of the species (Lombardo y Pallares, 1981).

Complementary data of nitrogen and protein percentages (based in the dry weight) during 1979 were given. In addition to the lipid and protein percentage, the calorific contents owing to them are expressed in Kcal/g of dry weight.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo trata sobre la variación estacional del contenido lipídico, peso del cuerpo y porcentaje de agua en *Tigriopus californicus*, copépodo, harpacticoideo marino.

Las especies del mencionado género son muy utilizadas para realizar experiencias fisiológicas, etológicas, genéticas, etc... por tratarse de organismos muy tolerantes a las variaciones del medio y de fácil mantenimiento en el laboratorio.

* Contribución Científica N° 183 del Centro de Investigación de Biología Marina (CIBIMA), Buenos Aires. Trabajo presentado en las VI Jornadas Argentinas de Zoología. La Plata, octubre de 1981.

** Investigador permanente del CIBIMA. Miembro de la Carrera del Personal de Apoyo a la Investigación y Desarrollo, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET).

*** Investigador permanente del CIBIMA. Carrera del Investigador Científico (CONICET).

ECOSUR	Argentina	ISSN 0325 — 108X	v.8	n.15	pág. 53-64	marzo 1981
--------	-----------	---------------------	-----	------	---------------	---------------

MATERIAL

El material utilizado para las experiencias fue colectado en el Piso supralitoral de la península Foca, ría Deseado (Sta. Cruz) cuya fisiografía presenta piletas de marea distribuidas en los distintos niveles del Sistema Litoral en la localidad. La temperatura del agua varía en invierno entre 2 y 4°C y en verano entre los 12 y 32°C. La salinidad oscila entre los 28 y 34‰, coincidiendo los valores más bajos en invierno. *T. californicus* habita una facie del litoral muy característica por los factores bióticos y abióticos que la controlan. Forman una población densa y casi pura la mayor parte del año (Pallares, 1980).

MÉTODOS DE CAMPO

Los muestreos planctónicos se obtuvieron mensualmente por el personal extractor de muestras de la Estación de Biología Marina Puerto Deseado. Se utilizó una red de plancton de 96µ y el sistema fue por arrastre. En los meses en que la población era muy densa fue necesario diluir la concentración de organismos para evitar la muerte de los mismos por intoxicación o agresión.

MÉTODOS DE LABORATORIO

Debido al tamaño y peso de esta especie de copépodo, fue imposible realizar determinaciones sobre un sólo espécimen, por eso se ensayó con distintas cantidades de individuos: 50, 100, 150 y 200. Con 50 los resultados no se repetían para una misma muestra mensual, en cambio utilizando entre 100 y 200 no se observaron diferencias significativas. Se eligió como número para cada experiencia el de 100, pues se tomó también en cuenta la disminución poblacional que experimenta la especie durante los meses de invierno (Lombardo y Pallares, 1981).

De la muestra mensual, mantenida viva a una temperatura de 10°C, se separaban pequeñas cantidades de organismos que se colocaban sobre papel de filtro, por medio del cual se evitaba el exceso de agua adherida al individuo. De allí se separaban rápidamente bajo microscopio estereoscópico, colocándose en pequeñas cápsulas de vidrio o porcelana previamente pesadas.

Para cada determinación se utilizaron 100 individuos adultos vivos tomados al azar, sin diferenciar sexos y sin enjuagarlos con agua dulce.

Se pesaron las cápsulas conteniendo los organismos, lo más rápidamente posible y restándole el peso de la cápsula se halló el *peso húmedo* o *peso fresco* de 100 copépodos. Luego se secaron en estufa a 85°C (Ansell, 1974) hasta peso constante, aproximadamente 24 horas, volviéndose a pesar para determinar así el *peso seco* de los 100 individuos.

Todos los análisis posteriores se realizaron partiendo de 100 individuos secos en las mencionadas condiciones, expresándose los resultados en base al peso seco.

La cantidad de lípidos totales se determinó por el método de Holland y Gabbot (1971) con pequeñas modificaciones que se detallan más adelante y nitrógeno total por el método de micro-Kjeldahl (Lang, 1958).

Determinación de lípidos

Se ha demostrado experimentalmente (Giese, 1967) que por el método de extracción a reflujo en un aparato Soxhlet usando éter etílico como solvente, se extraen generalmente menos lípidos que por los métodos en que se usan cloroformo y metanol como solventes (Foch, 1956; Freeman, 1957; Bligh, 1959; Holland, 1971). Esto se debe a que el éter etílico es un solvente no polar que extrae principalmente los lípidos de reserva, mientras que los solventes polares, cloroformo y metanol, remueven también los lípidos estructurales (Niemirko, 1960). Además el método del cloroformo-metanol es más sencillo y requiere menos tiempo para la extracción de lípidos.

Se ensayaron entonces dos técnicas extractivas usando como solventes, cloroformo y metanol: Folch (1956) y Holland (1971). En ambos casos se obtuvieron resultados muy similares, eligiéndose el método de Holland, basado en el de Bligh y Dyer, 1959, por ser el más sencillo y rápido pero con algunas modificaciones.

Descripción de la técnica empleada

Se agregan 200 μ l de agua destilada a 1-2 mg de material seco, se agita durante 1 min y se le adicionan 250 μ l de cloroformo y 500 μ l de metanol. Se agita nuevamente durante 1 min y se deja reposar 10 min a 4°C. Se centrifuga a 3500 rpm aproximadamente, durante 10 min. El sobrenadante se separa con jeringa y el material orgánico se reextrae con 500 μ l de cloroformo. El producto de la reextracción se une al sobrenadante anterior y se procede a separar la capa lipídica. Para ellos se agregan al extracto 250 μ l de cloroformo y 250 μ l de agua. Se agita 1 min y se centrifuga durante 5 min. Se saca la capa superior con jeringa y la inferior se seca en pequeñas cápsulas de vidrio (Giese, 1967) a 45-50°C durante aproximadamente 45 min hasta que se evapore todo el solvente. Se pesa el residuo seco que contiene lípidos totales y fosfolípidos.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

El peso húmedo de los 100 individuos adultos se tomó por pesada directa en balanza analítica (Sartorius; 0,1 mg). Se dan valores de peso húmedo con el objeto de permitir, si se deseara, comparaciones con la macrofauna, en la que generalmente se trabaja con dicho peso (Wieser, 1960). El peso húmedo medio de *T. californicus* de Patagonia, basado en los datos obtenidos durante 1979 es de 0,50 mg por individuo y el peso seco promedio es de 0,013 mg por individuo. Según Wieser (1960) el peso seco promedio de un copépodo es de

0,0017 mg y para Mare (1942) el peso (húmedo?) promedio individual es de 0,0024 y 0,005 mg. En Marshall y Orr, 1955 se da para *Calanus finmarchicus* obtenido en el mar de Barents, un peso seco promedio de 0,67 mg y para los obtenidos en el English Channel, 0,019 mg por individuo.

En la tabla I se pueden observar los valores medios mensuales del peso seco de 100 copépodos, en marzo es de 0,8 mg, siendo éste el valor mínimo del año (fines del verano) y el valor máximo se alcanza en el mes de noviembre (primavera) con 1,6 mg.

El peso húmedo de 100 individuos presenta su mínimo valor en marzo con 1,9 mg y va aumentando en forma más pronunciada que el peso seco hasta alcanzar un máximo de 7,8 mg en octubre.

En cuanto al porcentaje de agua, expresado en base al peso seco es de 56,83 en el mes de marzo, siendo éste el valor mínimo y el máximo de 81,75 en octubre; en otoño e invierno es elevado alcanzando el máximo en primavera, luego decrece en verano llegando a su valor mínimo.

También se calculan las medias anuales y los coeficientes de variación porcentual.

Los máximos valores del peso seco, peso húmedo y porcentaje de agua se observaron en primavera y los mínimos en verano, existiendo correlaciones entre ellos (tabla II).

También se observa en la tabla I el contenido de lípidos en 100 individuos expresado en mg y el porcentaje de los mismos en base al peso seco. Además se calculó el contenido calórico producido por los lípidos usando 9,45 como equivalente calórico y expresando su valor en Kcal/g de peso seco (Ansell, 1974).

El contenido de lípidos alcanza su valor máximo de 37,95%, en base al peso seco, en el mes de marzo (fines del verano); decrece en otoño e invierno, produciéndose el valor mínimo en primavera con 19,99%.

Existe una correlación inversa entre el peso seco-contenido de lípidos y entre el porcentaje de agua-contenido de lípidos. Mientras que el peso seco y el porcentaje de agua, alcanzan su valor máximo en primavera, el contenido de lípidos tiene en esa misma época su valor mínimo y viceversa (tabla II).

En algunos meses del año 1979, cuando se disponía de material abundante se realizaron determinaciones de nitrógeno; expresando los resultados en mg de nitrógeno por 100 individuos y en porcentaje de nitrógeno en base al peso seco. También se calculó el porcentaje de proteínas (como $N \times 6,25$) y el contenido calórico producido por ellas utilizando 5,7 como equivalente y el resultado se expresa en Kcal/g peso seco (Ansell, 1974).

Los valores más altos del porcentaje de nitrógeno se registran en verano y los más bajos en otoño e invierno.

En la tabla III se detalla el contenido de lípidos durante el año 1978 en 100 individuos adultos, expresado en mg y en porcentaje en base al peso seco. Se da también el porcentaje de hembras ovígeras en base a la población adulta en cada mes del mismo año. Se calculan las medias anuales y los coeficientes de variación porcentual, no observándose variación. En la fig. N° 2 se observa que el porcentaje de lípidos y el de hembras ovígeras tiene su valor máximo

en el mes de marzo, es decir en verano, va luego decreciendo en otoño e invierno para alcanzar el valor mínimo en primavera (octubre-noviembre). Esto demuestra la influencia de las hembras ovígeras sobre el contenido de lípidos de la población adulta. Al realizar la regresión se obtuvo un coeficiente de correlación relativamente bajo: 0,50, pero significativo estadísticamente.

Existe correlación entre los porcentajes de lípidos hallados durante los meses del año 1978 y 1979 (tabla II y IV). La media anual durante 1978 es de 27,26% y en 1979/80 es de 25,16% en base al peso seco; prácticamente no se observa variación porcentual (tabla I y III).

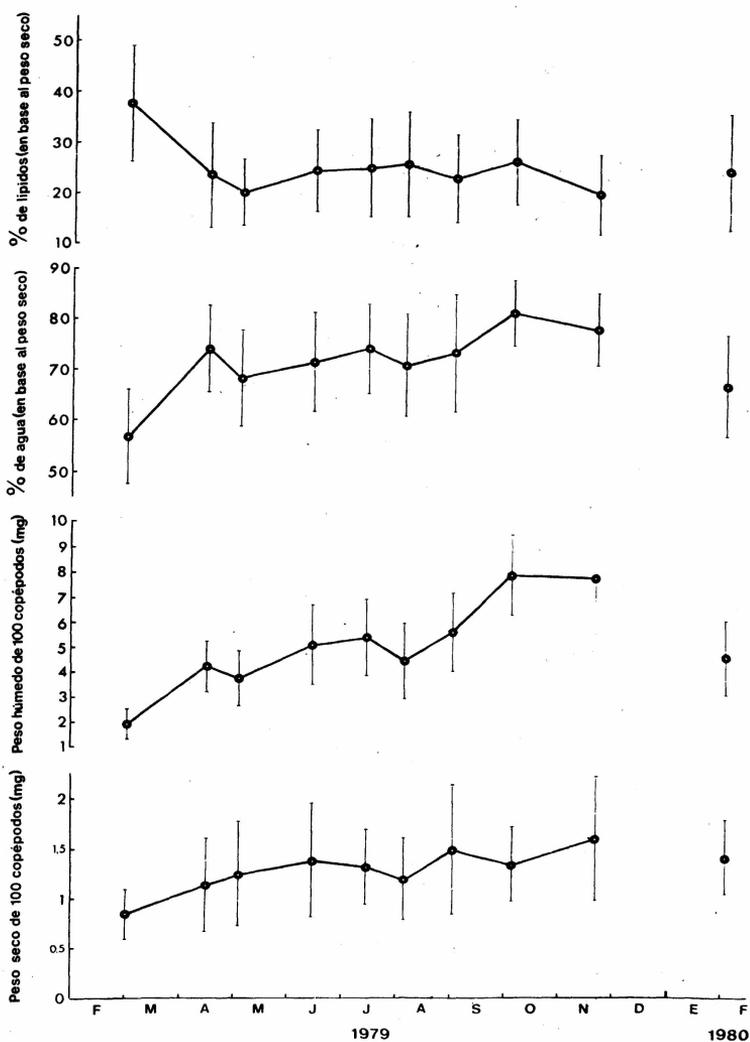


Fig. 1. Variación estacional del peso, cantidad de agua y contenido de lípidos en *Tigriopus californicus*.

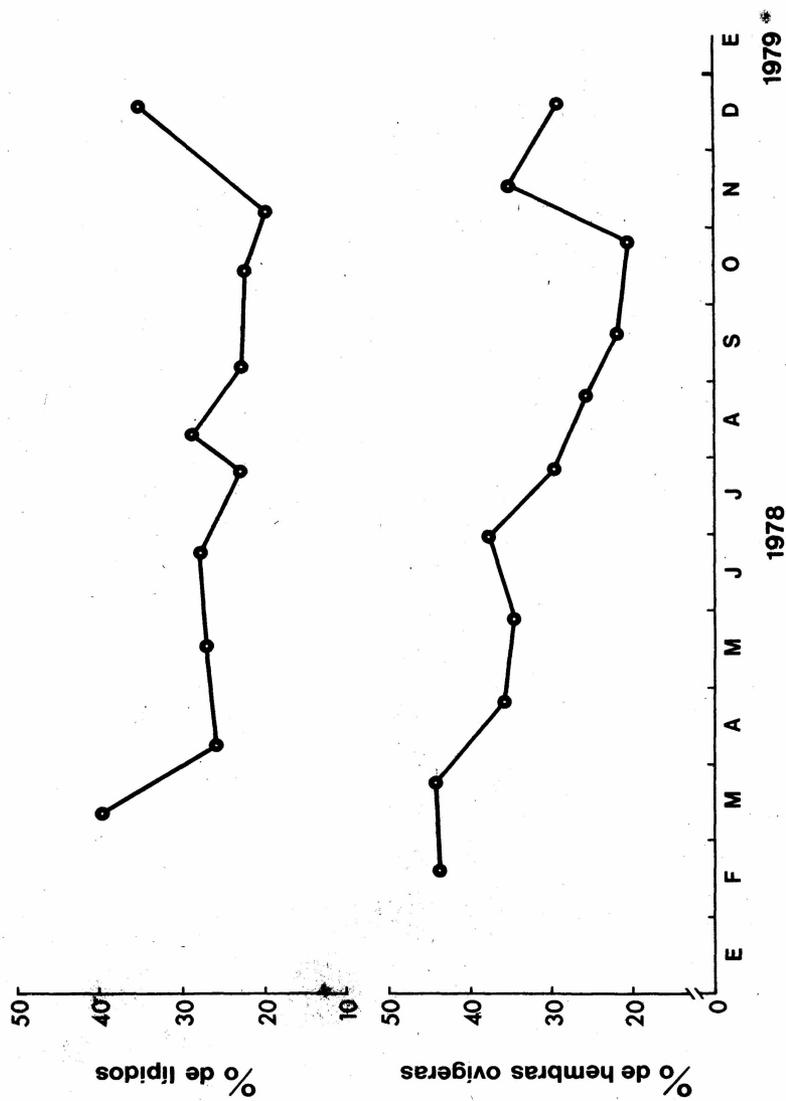


Fig. 2. Contenido de lípidos (en base al peso seco) y porcentaje de hembras ovígeras (en base a la población adulta) durante 1978.

TABLA I

Variación estacional del peso, cantidad de agua, contenido de lípidos y de proteínas en 100 individuos

Fecha	Peso hímab (mg)		Peso seco (mg)		Agua (%)		Lípidos (mg)		Lípidos (%)		N Nitrógeno (mg)		N Nitrógeno (%)		S		N Proteínas (%)		Contenido calórico Proteínas (cal) (Kcal/g peso seco)		Contenido calórico Lípidos (cal) (Kcal/g peso seco)			
	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N		
Media mensual																								
1.03.79	1,9	0,59	19	0,8	0,24	25	56,83	9,56	19	0,3	0,10	11	37,95	11,72	11	—	—	—	—	—	—	—	—	
15.04.79	4,2	1,01	34	1,1	0,48	38	74,10	8,78	34	0,3	0,13	16	23,71	10,56	16	0,7	4,57	0,41	6	28,56	4,05	3,58		
2.05.79	3,8	1,09	27	1,3	0,53	31	68,55	9,74	27	0,2	0,09	7	20,02	6,54	7	0,8	7,47	1,24	6	46,69	4,45	3,56		
13.06.79	5,1	1,54	37	1,4	0,57	37	71,54	9,87	37	0,4	0,16	16	24,42	8,17	16	0,8	7,15	1,54	5	44,69	4,50	3,24		
13.07.79	5,3	1,51	37	1,3	0,38	40	74,29	8,79	37	0,3	0,11	20	25,21	9,85	20	0,5	5,57	1,09	6	34,81	3,08	2,31		
4.08.79	4,4	1,44	38	1,2	0,42	42	71,16	9,68	38	0,3	0,11	18	25,95	10,66	18	—	—	—	—	—	—	—		
2.09.79	5,6	1,54	33	1,5	0,65	37	73,83	11,6	33	0,3	0,12	17	23,16	8,71	17	0,5	4,65	0,54	6	29,06	2,79	1,86		
5.10.79	7,8	1,62	34	1,4	0,35	34	81,75	6,85	34	0,4	0,13	9	26,60	8,54	9	0,1	6,73	0,82	5	42,06	0,63	0,46		
21.11.79	7,7	2,44	22	1,6	0,63	22	78,21	7,16	22	0,4	0,12	11	19,99	7,92	11	0,1	8,63	0,66	6	53,31	0,68	0,42		
3.02.80	4,6	1,45	32	1,4	0,38	32	67,21	9,99	32	0,3	0,15	39	24,56	11,59	39	0,1	10,64	0,62	6	66,5	0,74	0,53		
Media anual	5,0	1,76	10	1,3	0,23	10	71,75	6,76	10	0,3	0,06	10	25,16	5,02	10	—	—	—	—	—	—	—	3,05	2,38
C. V. %	0,35			0,18			0,09			0,20														

Los porcentajes se expresan en base al peso seco. N = número de determinaciones. S = desviación típica.

TABLA II
Parámetros de regresión. Modelo lineal.

REGRESIÓN	A	B	r
Peso seco medio	0,8054	0,0983	0,8053
Peso seco medio % de agua	42,8726	22,1940	0,7025
Peso húmedo medio % de agua	53,9621	3,5291	0,9154
Peso seco medio % de lípidos	48,8658	- 18,2235	0,7779
% de agua % de lípidos	59,7176	- 0,4817	0,6496
% de lípidos/78	5,3549	0,7533	0,8283

A = ordenada al origen, B = pendiente, r = coeficiente de correlación.

TABLA III

Contenido de lípidos en 100 individuos y porcentaje de hembras ovígeras durante 1978.

Fecha	Lípidos (mg) med. mens.	S	N	Lípidos % b/peso seco med. mens.	S	N	Fecha	Hembras % b/pobl. adulta	S	N
							18.02.78	43,75		
11.03.78	0,6	0,16	7	39,81	7,45	7	23.03.78	44,13		
7.04.78	0,4	0,20	27	25,86	10,42	27	24.04.78	35,67		
16.05.78	0,4	0,10	13	27,09	11,33	13	26.05.78	34,55		
22.06.78	0,4	0,21	3	27,88	10,50	3	29.06.78	37,45		
24.07.78	0,4	0,06	3	22,96	3,66	3	25.07.78	29,62		
8.08.78	0,6	0,23	7	28,70	13,76	7	24.08.78	25,55		
5.09.78	0,3	0,12	6	22,74	11,40	6	18.09.78	21,81		
13.10.78	0,3	0,16	23	22,4	9,84	23	24.10.78	20,42		
6.11.78	0,3	0,15	13	19,92	7,89	13	16.11.78	35,09		
16.12.78	0,4	0,18	7	35,29	12,90	7	18.12.78	29,09		
med. anual	0,4	0,11	10	27,26	6,17	10		32,47	7,97	11
c v %	0,27			0,23				0,24		

TABLA IV

Contenido de lípidos en base al peso seco durante los meses de 1978 y los correspondientes de 1979.

Fecha	Lípidos %	Fecha	Lípidos %
11.03.78	39,81	1.03.79	37,95
7.04.78	25,86	15.04.79	23,71
16.05.78	27,09	2.05.79	20,02
22.06.78	27,88	13.06.79	24,42
24.07.78	22,96	13.07.79	25,21
8.08.78	28,70	4.08.79	25,95
5.09.78	22,74	2.09.79	23,16
13.10.78	22,4	5.10.79	26,60
6.11.78	19,92	21.11.79	19,99

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Alberto S. Cerezo por la lectura final del trabajo, al Lic. Rubén Lombardo por su asesoramiento en la parte estadística y a la Sra. Matilde Gonçalves Carralves por la realización de los gráficos.

RESUMEN

Se estudiaron las variaciones estacionales del peso del cuerpo, contenido de agua y cantidad de lípidos en individuos adultos de *Tigriopus californicus* (Backer) procedentes de península Foca, Puerto Deseado (Sta. Cruz), encontrándose correlacionados entre ellas.

Las experiencias se realizaron durante 1978 y 1979, utilizándose como número óptimo para cada determinación el de 100 individuos tomados al azar.

Los valores máximos del peso del cuerpo y del contenido de agua se observan en primavera y los mínimos a fines del verano. Con respecto al porcentaje de lípidos (en base al peso seco) alcanza su máximo valor en verano y el mínimo valor en primavera, existiendo una correlación inversa con los parámetros anteriores. También se comprobó la influencia de las hembras ovigeras sobre el contenido lipídico de la población adulta durante 1978. Los máximos valores se obtuvieron en verano y los mínimos en primavera, coincidiendo con el movimiento poblacional de la especie (Lombardo y Pallares, 1981).

Se aportan datos complementarios de porcentajes de nitrógeno y proteínas (en base al peso seco) en algunos meses de 1979. Además del porcentaje de lípidos y proteínas se expresa el contenido calórico debido a ellos en Kcal/g peso seco.

BIBLIOGRAFÍA

- ANSELL, A.D. 1974. Seasonal changes in biochemical composition of the bivalve *Abra alba* from the Clyde Sea Ares. *Mar. Biol.* 25: 13-20.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.F. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37(8): 911-917.
- GIESE, A.C. 1967. Some methods for study of the biochemical constitution of marine invertebrates: 159-186. In Barnes H. (ed.) "Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.". Vol. 5. George Allen and Unwin Ltd., London. 653 p.

- FOLCH, J. ; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G.H. 1956. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- FREEMAN, N.K.; LINDGREN, F.T.; NG, Y.C.; NICHOLS, A.V. 1957. *J. Biol. Chem.* 227(1): 449-464.
- HOLLAND, D.L.; GABBOTT, P.A. 1971. A micro-analytical scheme for the determination of protein, carbohydrate, lipid and RNA levels in marine invertebrate larvae. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 51(3): 659-668.
- LANG, C.A. 1958. Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.* 30(10): 1692-1694.
- LEE, R.F. 1974. Lipids of Zooplankton from Bute Inlet, British Columbia. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 31(10): 1577-1582.
- LOMBARDO, R. y PALLARES, R.E. 1981. Estructura y dinámica de población del *Tigriopus californicus* (Copepoda, Harpacticoida) *Ecosur, Argentina*, 8 (15): 65-77.
- MARE, M. 1942. A study of a marine benthic community with special reference to a micro-organisms. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 25: 517-54.
- MARSHALL, S.M.; ORR, A.P. 1955. The biology of a marine copepod. Oliver & Boyd, Edinburgh: Tweeddale Court. Great Britain. 188p.
- NIEMIERKI, W. 1960. *Folia morph.* 11: 177-199.
- PALLARES, R.E. 1980. Observaciones sobre el ciclo biológico y comportamiento "in vitro" de un copepodo Harpacticoida litoral *Tigriopus californicus* (Backer). *Contr. Cient. (CIBIMA, B. Aires)*. (169).
- VINOGRADOV, A.P. 1953. The elementary chemical composition of marine organisms. Parr, A.E. (ed.), Sears Foundation for Marine Research N° 2. Yale Univ. Copenhagen, Denmark. 647 p.
(Chapter XVI: Elementary composition of Arthropoda: 375-387).
- WIESER, W. 1960. Benthic studies in Buzzards Bay II. The meiofauna. *Limnology and Oceanography* 5(2): 121-137.