

# Modelo estadístico de interacción múltiple entre factores que afectan al metabolismo de *Actinia equina* (L.)

ENRIQUE NAVARRO  
JOSÉ M. MADARIAGA  
M. MERTXE ORTEGA

Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad del País Vasco.  
Apartado 644. Bilbao

## INTRODUCCIÓN

El metabolismo en los animales de la zona intermareal es una función muy variable que depende de una situación ambiental extremadamente compleja. Entre las influencias más decisivas figuran aquellos factores que dependen del régimen de mareas, como puede ser la proporción de exposición al aire o la magnitud de las fluctuaciones de temperatura, a los que habría que añadir factores temporales derivados de la sucesión estacional. Finalmente, el tamaño, la actividad o el estadio de desarrollo, como factores endógenos, resultan enormemente decisivos.

En un trabajo previo sobre el metabolismo respiratorio de *Actinia equina* (NAVARRO, ORTEGA & MADARIAGA, 1981) se describió la incidencia de algunos de estos factores sobre la naturaleza de los intercambios respiratorios y se puso de manifiesto la existencia de interacciones muy importantes entre las variables consideradas. En estas circunstancias parecía oportuno llevar a cabo un estudio integrado que, tomando en cuenta sistemáticamente un cierto número

de factores, permitiese cuantificar el efecto individual de cada variable más el efecto de las interacciones entre variables sobre el metabolismo respiratorio.

Tomando como referencia trabajos anteriores sobre el metabolismo en animales de la zona intermareal que integran experimentalmente con múltiples variables (NEWELL & ROY, 1973; NEWELL, ROY & ARMITAGE, 1976; BAYNE & SCULLARD, 1978) y utilizando el método de superficies de respuesta propuesto por ALDERDICE (1972), hemos diseñado un modelo para el efecto combinado de cinco variables sobre el metabolismo de A. equina.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección y mantenimiento de los animales.- Los ejemplares de *Actinia equina* fueron recogidos en el roquedo de la playa de Sopelana (Vizcaya) en mayo de 1979, septiembre de 1979 y enero de 1980. Las recogidas se efectuaron durante la bajamar en dos puntos determinados y caracterizados por un tiempo de

exposición al aire de 12 a 16 h/día y 4 a 8 h/día, respectivamente. En el laboratorio eran mantenidos en acuarios con circulación de agua y aireación constante entre 12 y 16 h, tiempo suficiente para que se fijasen dentro del recipiente respirométrico. Se midió el consumo respiratorio en aire y en agua a cinco temperaturas (10, 15, 20, 25 y 30 °C). Una vez finalizada cada tanda experimental, los animales se disponían en estufas a 110°C durante 48 h y se pesaban (peso seco).

Respirometría en agua.- El consumo respiratorio en agua se determinó en sistema cerrado, en recipientes herméticos de 150 ml, provistos de un sistema de agitación en la base. El consumo se establecía al cabo de 1 h por referencia a un control, utilizando un método microwinkler (HOAR & HICKMAN, 1967).

Respirometría en aire.- El consumo de oxígeno en aire se determinó utilizando un sistema manométrico a volumen constante en un aparato de Warburg, empleando recipientes de 70 ml. Se efectuaron lecturas cada 15 min. durante períodos de 1 a 2 h.

Análisis de los datos.- Las 1041 mediciones individuales de consumo respiratorio obtenidas a lo largo del trabajo se distribuían en principio, en 60 subgrupos correspondientes a una combinación determinada de las variables: temperatura ( $T_p$ ), condición (respiración aérea o acuática) ( $C_d$ ), nivel en la costa ( $N_v$ ) y estación o período anual ( $E$ ). Dentro de cada subgrupo se mantenía la variación individual correspondiente a la dispersión de pesos. La relación entre el metabolismo ( $M = \mu l O_2$  consumido  $\cdot h^{-1}$ ) y el peso ( $P = mg$  peso seco),

se establecería en base a la ecuación potencial:

$$M = k P^b$$

que en su expresión logarítmica toma la forma:

$$\log M = \log k + \underline{b} \log P,$$

o bien,

$$\underline{Lm} = \underline{a} + \underline{b} \underline{Lp} \quad (1)$$

Como resultado del análisis de regresión simple aplicado a los sesenta subgrupos de observaciones se determinaron diferencias tanto en el nivel del metabolismo, representado por  $\underline{a}$ , como en el coeficiente del peso ( $\underline{b}$ ), indicando una clara influencia del resto de los factores ( $T_p$ ,  $C_d$ ,  $N_v$  y  $E$ ). Esta influencia puede expresarse añadiendo a la ecuación (1) nuevos términos que contengan las variables indicadas y combinaciones determinadas de éstas de la siguiente forma:

$$\underline{Lm} = \underline{a} + \underline{b}_1 \underline{Lp} + \underline{b}_2 \underline{Tp} + \dots$$

Este procedimiento conduce a una ecuación de regresión múltiple que, en el presente caso, se ha elaborado siguiendo el tratamiento de superficies de respuesta recomendado por ALDERDICE (1972), y que da como resultado un polinomio de segundo grado conteniendo 21 términos. A partir de esta ecuación, eliminando aquellos términos no significativos (a un nivel del 95 %), se obtiene la ecuación definitiva que explica el 92 % de la variación observada en la variable dependiente ( $\underline{Lm}$ ). El empleo de términos de grado superior a 2 en la ecuación de regresión no se justifica a la vista de los resultados, comprobándose además que, cuando se ensayaban términos al cubo para algunos de los factores (como en el caso de la tempera-

tura), no mejoraba apreciablemente la significación del modelo. Consideramos pues que ha sido optimizado y la variación no explicada hay que atribuirle, por un lado, al error experimental y por otro a la incidencia de factores no tomados en consideración, como puede ser la actividad o el estado nutricional.

Los datos se procesaron en un ordenador UNIVAC-1108, utilizando el paquete estadístico SPSS. Las variables cuantitativas como  $L_p$  o  $T_p$  tomaban sus valores numéricos en el listado. Las variables cualitativas ( $N_v$  o  $C_d$ ) podían tomar valores 0 o 1 ( $C_d=1$  cuando la respiración es aérea, y  $C_d=0$  cuando es acuática;  $N_v=1$  cuando los animales proceden del nivel alto, y  $N_v=0$  en el nivel bajo). El correcto análisis del efecto de la época del año exigió crear dos nuevas variables  $E_1$  y  $E_2$  a partir de  $E$ ;  $E_1=1$  cuando la estación es invierno (enero) y 0 en los demás casos; análogamente,  $E_2=1$  sólo en primavera (mayo). La estación otoño (septiembre) se toma como referencia y su coeficiente queda contenido en la constante  $a$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento de regresión múltiple descrito en el apartado anterior ha conducido finalmente a una ecuación general con 17 términos que relaciona el log de la respiración ( $L_m$ ) con el log del peso ( $L_p$ ), la temperatura ( $T_p$ ), la condición ( $C_d$ ), el nivel de zonación ( $N_v$ ) y la época del año ( $E_1$  y  $E_2$ ), y varias combinaciones de estos factores de la siguiente forma:

$$L_m = 0,1690 + 0,5011 L_p + 0,0623 T_p - 0,5476 \times 10^{-3} T_p^2 - 0,7735 C_d - 0,2699 E_1 - 0,7007 \times 10^{-3} L_p T_p + 0,1519 L_p C_d + 0,0459 L_p N_v + 0,0784 L_p E_1 + 0,0560 L_p E_2 - 0,2992 \times 10^{-2} T_p C_d + 0,2512 C_d N_v + 0,2099 C_d E_1 + 0,1777 C_d E_2 - 0,1175 N_v E_1 - 0,2538 N_v E_2.$$

A partir de esta ecuación se efectuará una discusión del efecto de cada variable sobre el metabolismo respiratorio.

Influencia del peso.- El coeficiente del peso toma un valor de 0,5011, indicando un factor de incremento respiratorio de 3,17 (antilog de 0,5011) cuando el peso se multiplica por 10. Se constatan interacciones del peso con el resto de las variables: el coeficiente para el término que describe la interacción del peso con la temperatura es de -0,007; el signo negativo indica que la influencia del peso sobre el metabolismo se hace progresivamente menor conforme aumenta la temperatura. Una expresión gráfica de tal efecto se muestra en la figura 1, en la convergencia, hacia la derecha de la gráfica, de las rectas de regresión  $L_m$  frente a  $L_p$  a varias temperaturas. VERNBERG (1959) encuentra también una correlación inversa entre el valor del coeficiente del peso ( $b$ ) y la temperatura, aunque esto no parece ser una regla general en los casos de invertebrados estudiados (ver, por ejemplo, NEWELL & ROY, 1973, para *Littorina littorea*).

El coeficiente para la interacción del peso con la condición (aérea o acuática) toma el valor 0,152, que representa, cuando el resto de las variables permanece constante, la diferencia entre el coeficiente  $b$  para la respira-

ción aérea y la acuática. Teniendo en cuenta los valores que toma la variable condición, resulta evidente que el coeficiente del peso se mantiene siempre superior en aire (ver fig. 1). Un comportamiento similar en este coeficiente ha sido descrito en la mayoría de los casos en que se ha relacionado la respiración aérea y la acuática en animales de la zona intermareal (ver TOULMOND, 1976a y b, para varias especies del género *Littorina*; BRANCH, 1979, para *Patella granatina*). Su significado en *Actinia equina* se ha discutido con anterioridad (NAVARRO et al., 1981).

Influencia de la temperatura.— La ecuación parcial que describe el efecto de la temperatura sobre el metabolismo respiratorio es un polinomio de segundo grado:

$$L_m = K + (0,0623 - 0,007 L_p - 0,003 C_d) \cdot T_p - 0,547 \times 10^{-3} T_p^2$$

forma de una curva exponencial en la que el valor de  $Q_{10}$  disminuye progresivamente con el aumento de la temperatura (tabla I).

El modelo establece interacciones de la temperatura con el peso y la con-

Tabla I - Valores de  $Q_{10}$  para la respiración aérea y acuática, calculados para un animal de 100 mg de peso seco. Estación: primavera.

Table I - Values of the  $Q_{10}$  for the aerial and aquatic respiration calculated for an 100 mg dry weight animal. Season: Spring.

	$Q_{10}$ (intervalos de 5 °C)			
	10-15	15-20	20-25	25-30
Aire	2,06	1,83	1,60	1,42
Agua	2,20	1,96	1,71	1,52

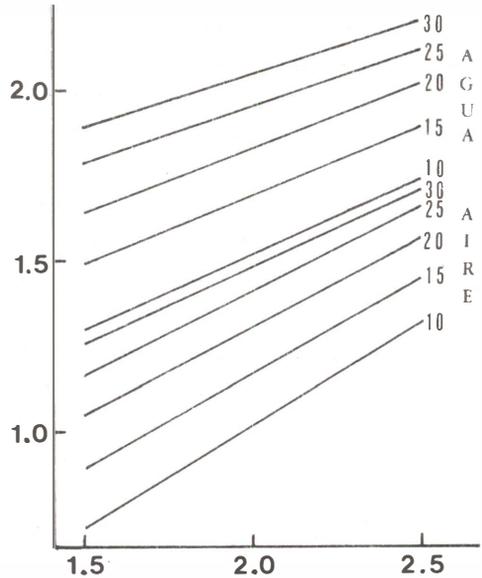


Fig. 1. Representación de  $L_m$  frente a  $L_p$  para la respiración aérea y acuática del nivel bajo a cinco temperaturas. Estación: verano.

Fig. 1.  $L_m$  vs.  $L_p$  plotted for the aerial and aquatic respiration in the low shore level at five temperatures. Season: Summer.

dición. El significado de la interacción  $L_p T_p$  ya ha sido discutido. El coeficiente para la interacción  $T_p C_d$  toma un valor negativo indicando que en aire (valor 1 de la variable  $C_d$ ) el metabolismo respiratorio crece más despacio con los aumentos de temperatura (el  $Q_{10}$  es menor en aire: ver la tabla I).

Influencia de la condición.— El coeficiente para la variable condición es  $-0,773$ , lo cual indica que el metabolismo depende en gran medida de la modalidad respiratoria (aérea o acuática). Un valor negativo ( $C_d=1$  en aire) significa que la exposición al aire supone un descenso metabólico que, en las condiciones de un animal sésil, puede con-

siderarse asociado a un descenso de la actividad. Existe la idea (NEWELL, 1979) de que este tipo de fenómenos reflejarían la adopción de un "metabolismo estándar" durante la bajamar, caracterizado por una restricción del gasto metabólico y menor dependencia frente al cambio de temperatura de cara a compensar las fluctuaciones más frecuentes de este factor en aire. Ya se ha indicado que los valores del  $Q_{10}$  para la respiración aérea son menores que los correspondientes a la respiración acuática.

Influencia del nivel.- La posición en la costa o nivel de zonación no determina por sí misma un efecto significativo en el metabolismo, y en el modelo se ha rechazado la variable Nv. Sin embargo, adquiere gran significación el coeficiente para la interacción Cd Nv que vale 0,2512. Teniendo en cuenta los valores que pueden tomar ambas variables, este coeficiente refleja la diferencia entre los consumos aéreos (como Lm) correspondientes a animales que ocupan distintos niveles de zonación. Este tipo de fenómeno ha sido ampliamente descrito para distintas especies de moluscos intermareales y se ha interpretado generalmente en términos de sus límites de distribución vertical (ver SANDISON, 1966; MICALLEF, 1967 y MC MAHON & RUSSELL-HUNTER, 1977).

Influencia de la estación.- El efecto de la sucesión estacional sobre el metabolismo no muestra una tendencia definida al venir afectada por múltiples interacciones con otros factores como son la condición respiratoria o el nivel. En principio, el valor negativo de que está afectado el coeficiente para E<sub>1</sub>,

supone que, globalmente, los valores mínimos respiratorios corresponden a esta estación (invierno), crecen hacia la primavera y se mantienen hasta finales de verano. Sin embargo, al considerar las interacciones de la estación con el nivel y la condición se obtiene una situación algo más compleja, que se expresa gráficamente en la figura 2.

El signo positivo que toma el coeficiente para las interacciones Cd E<sub>1</sub> y Cd E<sub>2</sub> indica que se amplía la diferencia entre la respiración aérea y la acuática desde el invierno hasta finales de verano, es decir, en el sentido creciente de las temperaturas anuales. Este fenómeno se puede interpretar en

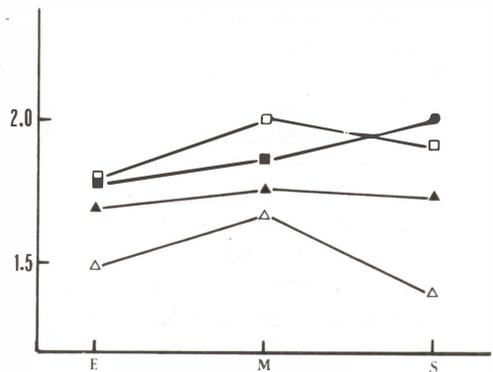


Fig. 2. Evolución por estaciones del consumo respiratorio (como Lm) a 20 °C, para un animal de 100 mg de peso seco. △ Respiración aérea, nivel bajo; ▲ respiración aérea, nivel alto; □ respiración acuática, nivel bajo; ■ respiración acuática, nivel alto.

Fig. 2. Seasonal evolution of the oxygen consumption (given as Lm) at 20 °C for a 100 mg dry weight animal. △ Aerial respiration, low shore; ▲ aerial respiration, high shore; □ aquatic respiration, low shore; ■ aquatic respiration, high shore.

términos de la aparición de mecanismos según prevé el signo de que van afectados los coeficientes para los términos de resistencia a la desecación, y de hecho se intensifica en el nivel alto,  $\frac{Nv}{N} E_1$  y  $\frac{Nv}{N} E_2$ .

### SUMMARY

#### STATISTICAL MODEL OF MULTIPLE INTERACTION BETWEEN FACTORS AFFECTING THE METABOLISM OF *Actinia equina* (L.)

The respiratory metabolism of *Actinia equina* (L.) has been studied in relation to five variables: weight, temperature, level on shore, season and aerial or aquatic condition. Data-processing involves the elaboration of a multiple regression model, according to a basic equation designed by the method of response surfaces (ALDERDICE, 1972). This treat-

ment analyses the individual influence of each variable as well as the interactions between them. From this equation, non-significant terms have been eliminated and the final equation obtained, which accounts for the 92 % of the experimentally observed variation in the metabolism of *A. equina*.

### BIBLIOGRAFÍA

- ALDERDICE, D.F., 1972. Factor Combinations. Responses of marine poikilotherms to environmental factors acting in concert. In: Marine Ecology, 1: Environmental Factors (KINNE, O., Ed.):1159-1272. Wiley-Interscience, London.
- BAYNE, B.L. & SCULLARD, C., 1978. Rates of oxygen consumption by *Tais* (*Nucella*) *lapillus*. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 32(1):97-111.
- BRANCH, G.M., 1979. Respiratory adaptations in the limpet *Patella granatina*: a comparison with other limpets. Comp.Biochem. Physiol., 62A:641-647.
- HOAR, W.S. & HICKMAN, C.P., 1967. A laboratory companion for general and comparative physiology. Prentice-Hall. New Jersey.
- MC MAHON, R.F. & RUSSELL-HUNTER, W.D., 1977. Temperature relations of aerial and aquatic respiration in six littoral snails in relation to their vertical distribution. Biol.Bull.,152:182-198.
- MICALLEF, H., 1967. Aerial and aquatic respiration of certain trochids. Experientia,23: 52.
- NAVARRO, E., ORTEGA, M.M. & MADARIAGA, J.M., 1981. Effect of body size, temperature and shore level on aquatic and aerial respiration of *Actinia equina* (L.) (ANTHOZOA). J. Exp. Mar.Biol.Ecol., (en prensa).
- NEWELL, R.C., 1979. Biology of intertidal animals. Marine Ecological Surveys. Kent.
- NEWELL, R.C., & ROY, A., 1973. A statistical model relating the oxygen consumption of a mollusk (*Littorina littorea*) to activity, body size and environmental conditions. Physiol. Zool., 46(4):257-275.
- NEWELL, R.C., ROY, A. & ARMITAGE, K.B., 1976. An analysis of factors affecting oxygen consumption of the isopod *Ligia oceanica*. Physiol. Zool., 49(1):109-137.
- SANDISON, E.E., 1966. The oxygen consumption of some intertidal gastropods in relation to zonation. J.Zool.Lond., 149:163-173.
- TOULMOND, A., 1967a. Consommation d'oxygène dans l'air et dans l'eau, chez quatre gastéropodes du genre *Littorina*. J. Physiol. (Paris),59:303-304.
- TOULMOND, A., 1967b. Étude de la consommation d'oxygène en fonction du poids, dans l'air et dans l'eau, chez quatre espèces du genre *Littorina*. C.R.Acad.Sci.Paris,264:636-638.
- VERNBERG, F.J., 1959. Studies on the physiological variation between tropical and temperate zone fiddler crabs of the genus *Uca*. II. Oxygen consumption of the whole organisms. Biol.Bull.,117:163-184.