

UCH-F
MAG-EBE
FY75
CA

**Participación de los pulmones en libro
en la pérdida de agua evaporativa en la
araña migalomorfa *Paraphysa parvula***

Tesis

**Entregada a La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De**

**Magíster en Ciencias Biológicas con mención en
Ecología y Biología Evolutiva**

Facultad De Ciencias

Por

Daniela Patricia Figueroa Pérez



Agosto, 2009

Director de Tesis: Dr. Mauricio Canals L.

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION

TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magíster presentada por la candidata.

DANIELA PATRICIA FIGUEROA PÉREZ

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 26 de Agosto de 2009.

Director de Tesis:

Dr. Mauricio Canals

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Claudio Veloso

Dr. Hugo Torres

[Handwritten signatures in blue ink over dotted lines]

[Circular stamp: FACULTAD DE CIENCIAS - BIBLIOTECA CENTRAL - U. DE CHILE]



Dedicada
a mi familia y amigos

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue financiada por el proyecto FONDECYT 1080038.

El principal agradecimiento es para mi tutor el Dr. Mauricio Canals por su constante apoyo y confianza depositados en mí. A los integrantes del laboratorio de Ecofisiología Animal de la Universidad de Chile, particularmente a los profesores consejeros Dr. Claudio Veloso y Dr. Hugo Torres por sus comentarios y estímulo para la realización de esta tesis.

Y agradezco de todo corazón a todos quienes han estado siempre a mi lado.



INDICE DE MATERIAS

| | Páginas |
|---|---------|
| Índice de materias..... | ii |
| Lista de tablas..... | iv |
| Lista de figuras..... | v |
| Resumen..... | viii |
| Abstract..... | x |
| | |
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| Hipótesis..... | 14 |
| Predicciones..... | 14 |
| Objetivos..... | 15 |
| | |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 16 |
| Sitio de muestreo..... | 16 |
| Modelo animal..... | 16 |
| Captura y mantención de los animales..... | 19 |
| Diseño experimental..... | 19 |
| | |
| RESULTADOS..... | 25 |
| | |
| DISCUSIÓN..... | 43 |
| Consumo de oxígeno..... | 43 |



Producción de CO₂ y cuociente Respiratorio.....44
Pérdida de agua evaporativa.....46
Participación de los pulmones en libro.....48
Correlación entre tasa metabólica y pérdida de agua
evaporativa.....51
CONCLUSIONES.....53
REFERENCIAS.....55



LISTA DE TABLAS

| | Páginas |
|---|---------|
| Tabla 1. Promedios \pm D.E. de consumo de oxígeno (mlO_2/h), producción de CO_2 (mlCO_2/h) y pérdida de agua evaporativa total ($\text{mgH}_2\text{O}/\text{h}$) a las distintas temperaturas con espiráculos libres..... | 25 |
| Tabla 2. Promedios \pm D.E. de consumo de oxígeno (mlO_2/h), producción de CO_2 (mlCO_2/h) y pérdida de agua evaporativa total ($\text{mgH}_2\text{O}/\text{h}$) a las distintas temperaturas con espiráculos ocluidos..... | 25 |
| Tabla 3. Producción de agua metabólica (MWP) a cuatro temperaturas..... | 32 |
| Tabla 4. Cuociente respiratorio a las distintas temperaturas..... | 45 |



LISTA DE FIGURAS

| | Páginas |
|--|---------|
| Figura 1: Predicciones de la hipótesis..... | 14 |
| Figura 2: Biología de la especie..... | 18 |
| Figura 3: Consumo de oxígeno de <i>Paraphysa parvula</i> en función de la temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos..... | 27 |
| Figura 4: Producción de dióxido de carbono de <i>Paraphysa parvula</i> en función de la temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos..... | 28 |
| Figura 5: Q_{10} estimado de la producción de CO_2 a las distintas temperaturas, con espiráculos libres y espiráculos ocluidos..... | 29 |
| Figura 6: Pérdida de agua evaporativa total de <i>Paraphysa parvula</i> en función de la temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos..... | 30 |
| Figura 7: Pérdida de agua evaporativa total por unidad metabólica de <i>Paraphysa parvula</i> en función de la temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos..... | 31 |
| Figura 8: Razón entre producción de agua metabólica y | |

| | | |
|-------------------|--|----|
| | pérdida de agua evaporativa total..... | 33 |
| Figura 9: | Diferencia entre la producción de agua metabólica y pérdida de agua evaporativa total..... | 34 |
| Figura 10: | Pérdida de agua evaporativa total en un ambiente normal y en un ambiente hipercápnic medida a 25°C y 35°C..... | 35 |
| Figura 11: | Pérdida de agua evaporativa total en un ambiente normal y en un ambiente hipercápnic masa específica medida a 25°C y 35°C..... | 36 |
| Figura 12: | Función de autocorrelación de la pérdida de agua evaporativa de la línea de base..... | 37 |
| Figura 13: | Función de autocorrelación del consumo de oxígeno de la línea de base..... | 37 |
| Figura 14: | Función de autocorrelación de la producción de dióxido de carbono de la línea de base..... | 37 |
| Figura 15: | Pérdida de agua evaporativa total de una araña <i>Paraphysa parvula</i> medida a 40°C en función del tiempo..... | 38 |
| Figura 16: | Función de autocorrelación de la pérdida de agua evaporativa total de una araña <i>Paraphysa parvula</i> medida a 40°C..... | 39 |
| Figura 17: | Consumo de oxígeno de una araña <i>Paraphysa</i> | |

| | | |
|-------------------|--|----|
| | <i>parvula</i> medida a 40°C en función del tiempo..... | 39 |
| Figura 18: | Función de autocorrelación del consumo de oxígeno de una araña <i>Paraphysa parvula</i> medida a 40°C..... | 40 |
| Figura 19: | Producción de dióxido de carbono de una araña <i>Paraphysa parvula</i> medida a 40°C en función del tiempo | 40 |
| Figura 20: | Función de autocorrelación de la producción de dióxido de carbono de una araña <i>Paraphysa parvula</i> medida a 40°C..... | 41 |
| Figura 21: | Correlación cruzada entre la pérdida de agua evaporativa total y la producción de dióxido de carbono de una araña medida a 40°C..... | 42 |
| Figura 22: | Correlación cruzada entre la pérdida de agua evaporativa total y la producción de dióxido de carbono de una araña medida a 25°C..... | 42 |

RESUMEN

La eficiencia de los mecanismos de conservación de agua en los pequeños ectotermos es considerada un punto central para su sobrevivencia y reproducción.

Se ha propuesto que en algunas migalomorfos el consumo de oxígeno se reduce a elevadas temperaturas, lo que sugiere la existencia de una depresión metabólica frente a los altos requerimientos impuestos por la relación temperatura-metabolismo. Si la evaporación pulmonar o traqueal es relevante, para limitar la pérdida de agua, un artrópodo terrestre debería ajustar su apertura espiracular con las demandas metabólicas instantáneas. La relación metabolismo-mecanismo espiracular y pérdida de agua evaporativa no se encuentran adecuadamente establecidas. En este trabajo estudiamos específicamente si existe o no, un compromiso entre la tasa metabólica y la pérdida de agua evaporativa total mediado por la apertura de los espiráculos respiratorios.

Encontramos que el metabolismo de *Paraphysa parvula* fue similar a otros teraphosidos, y fue bajo comparado con

el de otros artrópodos. El consumo de oxígeno, la producción de CO_2 y la pérdida de agua evaporativa, tuvieron un aumento en conjunto con la temperatura, siendo el incremento más notorio, el observado entre los 35°C y los 40°C . La pérdida de agua evaporativa total aumentó notablemente a 40°C , aumentando alrededor de 10 veces comparado con las temperaturas más bajas de 25, 30 y 35°C . La participación de los pulmones en libro en la pérdida de agua evaporativa fue de alrededor de un 60%. El rol de los espiráculos fue confirmado, puesto que al tapar los espiráculos se nota una disminución en la pérdida de agua evaporativa, sin embargo, no se encontró correlación entre el metabolismo y la pérdida de agua evaporativa ni se evidenció depresión metabólica a altas temperaturas.

Estos resultados sugieren que la pérdida de agua a través de los pulmones en libro es mayor a lo reportado en otros estudios y que la depresión metabólica reportada en otras especies puede estar relacionada con otros factores, o sólo presentarse en situaciones de alto requerimiento energético.

Abstract

Small animals need efficient water conservation mechanisms for their survival and reproduction, which is relevant to the spiders that have large book lungs with large respiratory surface. It has been suggested that in some miganomorph spiders oxygen consumption is reduced at elevated temperatures, suggesting the existence of a metabolic depression associated to the high requirements imposed by the temperature-metabolism relationship. If tracheal or lung evaporation is relevant to limit water loss, adjustments of their spiracle opening to metabolic demands should be expected. The relation-metabolism mechanism spiracle and evaporative water loss are not well established. In this study, specifically I study whether there is a compromise between metabolic rate and total evaporative water loss mediated by the opening of the respiratory spiracles. I found that the metabolism of *Paraphysa parvula* is similar to other teraphosidos and low

INTRODUCCIÓN

Los ectotermos pequeños presentan mecanismos eficientes de conservación del agua para su sobrevivencia y reproducción (Davies y Edney 1952). A pesar de poseer un exoesqueleto, los insectos y otros artrópodos tienen una mayor relación superficie-volumen, que los vertebrados, lo que los hace muy susceptibles a la pérdida de agua, lo cual es especialmente relevante en ambientes secos y calurosos (Gibbs et al., 2003).

Las reservas de agua de cualquier sistema dependen del equilibrio entre las entradas y salidas, mediadas por mecanismos de control que gobiernan la tasa de flujo de agua. En las arañas, el agua se obtiene directamente bebiendo y a través de los fluidos de sus presas. También el agua producida como resultado del metabolismo lipídico puede ser una importante contribución a las reservas de agua (Vollmer y MacMahon, 1973).

Con el propósito de mantener un balance entre el agua ganada y la perdida, las arañas pueden presentar diferentes estrategias conductuales. Por ejemplo, la selección de

hábitat permite a una araña vivir bajo condiciones de humedad adecuadas y a través del cambio de especies de presas puede incrementar o disminuir su consumo de agua. También los ritmos de actividad y las migraciones les permiten escapar de condiciones desfavorables (Vollmer y MacMahon, 1973).

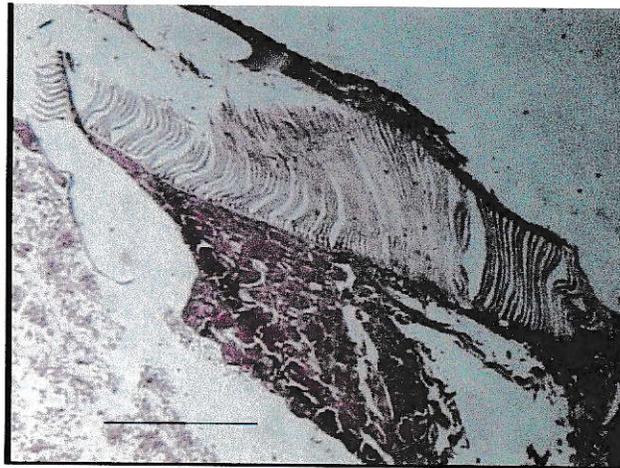
En las arañas del orden Araneae, la regulación hídrica está a cargo de órganos especializados como las glándulas coxales, túbulos de Malpighi y nefrocitos, y de otros órganos que tienen un rol secundario como las células hipodérmicas y células superficiales de los divertículos intestinales (Foelix, 1996). En estos animales, la evaporación ocurre en una gran proporción en la superficie corporal y, según Vollmer y MacMahon (1973), en una menor medida en los pulmones en libro. Sin embargo, Davies y Edney (1952) en un estudio clásico, mostraron que la evaporación total en una araña, estimada a través de la pérdida de peso, aumentaba en alrededor de un 50% cuando se inducía la apertura de los espiráculos mediante la exposición a altos niveles de CO_2 , sugiriendo una participación importante de los pulmones en libro en la pérdida evaporativa de agua. Estos mismos autores mostraron que la tasa de agua evaporada por unidad de superficie

(mg/cm²h) aumentaba significativamente a partir de los 40°C, cuando el metabolismo es elevado y la apertura de los espiráculos es frecuente y asociada a mayores requerimientos de oxígeno.

La mayoría de las arañas poseen dos tipos de sistemas respiratorios diferentes: un par de pulmones en libro estrictamente localizados en el opistosoma y uno o dos pares de traqueas tubulares, que pueden ramificarse a lo largo del cuerpo. Las arañas primitivas (Mesothelae, Mygalomorphae, Hypochilidae) tienen pulmones en libro solamente, pero siempre dos pares (Paul et al. 1987). Ellos están situados en el segundo y tercer segmento abdominal. En la mayoría de las arañas labidognathas, solo el primer par de pulmones en libro es retenido, mientras que el segundo par ha sido modificado en una traquea tubular. Los pulmones en libro son estructuralmente muy uniformes en todas las arañas, pero la traquea tubular varía considerablemente en tamaño relativo y patrón de distribución (Foelix, 1996).

En las arañas migalomorfas, la respiración involucra el movimiento de gases a lo largo de una superficie de intercambio y la combinación de éstos con el pigmento respiratorio circulante, la hemocianina (Anderson y

Prestwich, 1982). Sus pulmones en libro se ubican ventralmente en el opistosoma y se pueden visualizar externamente por un parche de falta de pelo en la cutícula, que bordea posteriormente una pequeña abertura, la abertura pulmonar o espiráculo. Estos órganos son invaginaciones del tegumento que desembocan en una cámara llamada atrio, donde una de las paredes tiene una serie de pliegues profundos que en conjunto constituyen entre 50 y 150 lamelas paralelas proyectadas hacia un seno hemolinfático, lo que le confiere el aspecto de libro. El intercambio de gas ocurre a través de una delgada barrera cutículo-hipodérmica que separa los gases del atrio de la hemolinfa (Canals et al., 2007).



Sección semifina del pulmón en libro de *Grammostola rosea* (10X). Barra de escala = 1 mm

Los espiráculos son las aperturas del sistema respiratorio hacia el ambiente, altamente complejas y pueden abrir o cerrarse para permitir una cantidad variable de intercambio de gas. Se ha propuesto que su minucioso control ayuda a impedir la pérdida de agua. Los espiráculos se abrirían más frecuentemente y más ampliamente a altas temperaturas y con el incremento de la actividad del organismo, de acuerdo con el aumento de la necesidad de oxígeno (Schmidt-Nielsen, 1997). No necesariamente se abren todos simultáneamente, están bajo el control del sistema nervioso central, y fuera de la fase de apertura o cerrado permiten el control del flujo de aire a través del sistema respiratorio. La ventilación del sistema respiratorio, y especialmente la función de los espiráculos, está influenciada por la presencia de dióxido de carbono (Schmidt-Nielsen, 1997). Se ha propuesto que el dióxido de carbono es el principal estímulo para su apertura (Davies y Edney, 1952). Si una delgada corriente de dióxido de carbono es dirigida hacia un espiráculo, basta con este estímulo para que se abra. Esto muestra que cada uno de los espiráculos puede responder independientemente. La concentración necesaria de dióxido de carbono para abrir los espiráculos es bastante pequeña; en la cucaracha, por

ejemplo, un 1% de dióxido de carbono en el aire muestra un efecto perceptible; 2% mantiene los espiráculos abiertos; y 3% los hace permanecer ampliamente abiertos (Schmidt-Nielsen, 1997). Alternativamente, Lighton et al. (2004) han propuesto que el grado de apertura espiracular en artrópodos en reposo sería modulado por las presiones parciales de oxígeno además del dióxido de carbono (Burkett y Schneiderman, 1974).

En otros invertebrados el efecto de los espiráculos abiertos sobre la pérdida de agua es considerable. Por ejemplo, en las larvas de *Tenebrio molitor*, el cual pasa gran parte de su vida en el ambiente seco del suelo, el control de sus espiráculos es muy importante, si permanecen abiertos la pérdida de agua inmediatamente incrementa varias veces, pudiendo provocar su muerte (Schmidt-Nielsen, 1997).

Sería esperable que la evaporación a partir de los pulmones en libro en las arañas fuera una proporción significativa del total, debido a que éstos presentan una gran superficie. En insectos, si los espiráculos son mantenidos abiertos por un aumento de la concentración de dióxido de carbono en aire, la evaporación se incrementa significativamente.

Los espiráculos de los pulmones en libro en arañas están prácticamente cerrados en el animal en reposo (Davies y Edney, 1952). La apertura espiracular es mas frecuente a altas temperaturas lo que se ha correlacionado con un incremento metabólico, lo que haría relevante esta variable en la pérdida de agua.

La tasa metabólica es una medida del costo energético de vivir (Terblanche et al. 2004). En el caso de las arañas el estudio del metabolismo se ha centrado principalmente en la participación de los pulmones en libro y las tráqueas como órganos de intercambio de O_2 y CO_2 por medio de difusión (Strazny y Perry, 1984). Por ejemplo, Schmitz y Perry (2001) usaron métodos morfométricos estereológicos para investigar la capacidad de difusión morfológica de los pulmones y las paredes de las tráqueas secundarias, encontrado que el sistema de tráqueas juega un importante rol en el intercambio de gas en arañas saltadoras. Paul et al. (1987) confirmaron que los pulmones en libro utilizan el mecanismo de difusión para el intercambio gaseoso.

Además, los estudios de metabolismo en arañas se han focalizado en la capacidad aeróbica en reposo y actividad. Por ejemplo, Anderson y Preswitch (1985) estudiaron la fisiología de la actividad en una araña migalomorfa a

distintas velocidades, determinando el metabolismo aeróbico máximo en ejercicio. Este nivel fue ocho veces mayor que aquellos medidos en arañas en reposo, concordante con las predicciones basadas en la capacidad funcional de sus pulmones en libro. Angerbach (1978) estudió el transporte de oxígeno en la sangre de la tarántula *Eurypelma californicum* durante el reposo, la actividad y la recuperación. Schmitz y Perry (2001) trabajando con arañas labidognathas, que tienen tráqueas y pulmones, encontraron que los requerimientos de oxígeno durante el reposo y baja actividad puede ser aportado por el intercambio gaseoso en pulmones o las tráqueas por si solos, mientras que para satisfacer las altas demandas metabólicas del ejercicio y el salto es necesario la participación de ambos sistemas trabajando en conjunto. Schmitz (2005) comparó dos especies de arañas, una con tráqueas abundantemente ramificadas y otra pobremente traqueada, durante la actividad a tres velocidades diferentes, y bajo la eliminación selectiva de pulmones o traqueas. Los resultados indicaron que las traqueas en la araña con abundantes traqueas soportan el metabolismo aeróbico solo durante el ejercicio físico más intenso. A mediana y baja actividad, las traqueas pueden jugar su principal rol en el suministro local de órganos

que no están involucrados en la actividad de carrera. Además la eliminación de un pulmón mediante sellado, resultó en una reducción en los tiempos de carrera, los efectos fueron mayores en la araña pobremente traqueada indicando que las tráqueas compensan parcialmente la pérdida de la capacidad pulmonar.

También se ha estudiado la relación entre metabolismo y estrategia de depredación. Por ejemplo, Carrel y Heathcote (1976) estudiaron las tasas metabólicas estándar estimadas a partir de las frecuencias cardíacas en reposo en 18 especies de arañas de diferente masa corporal y estrategia de forrajeo. Ellos sugieren que existe una adaptación para la conservación de energía de las arañas que invierten poco esfuerzo en capturar presas, como las arañas cazadoras primitivas y tejedoras, las cuáles consecuentemente se alimentan ocasionalmente; a diferencia de las arañas más pequeñas que son cazadoras activas. Greenstone y Bennett (1980) midieron las tasas metabólicas estándar de distintas especies de arañas de una gama de estilos de forrajeo, desde arañas que hacen redes, hasta perseguidoras activas. En contraposición con el estudio anterior de Carrel y Heathcote (1976), Greenstone y Bennett (1980), no encontraron diferencias entre familias

de arañas en las tasas de utilización de energía en reposo que sean reflejo de diferentes modos de captura o estrategia de forrajeo.

Se ha determinado que el consumo de oxígeno en las arañas es menor que lo documentado para otros ectotermos de similar masa (Anderson, 1970, 1974; Greenstones y Bennett, 1980, Canals et al., 2007), lo cual ha sido propuesto como una adaptación energética a la depredación (pero ver Lighton et al., 2001 para una opinión diferente).

Las tarántulas (*Aphonopelma sp*), como la mayoría de los animales pequeños y desérticos, evitan las altas temperaturas escondiéndose en guaridas durante el día. Las arañas evitan la temperatura de la superficie del suelo muchas veces considerablemente mayor que su temperatura máxima crítica, viviendo en profundidades que aseguren una temperatura ambiente relativamente constante. Las tarántulas se alimentan de insectos que por casualidad encuentran o que están cerca de la entrada de sus cuevas. Este método de depredación es consistente con una expansividad metabólica aeróbica baja ("aerobic scope"), además están cerca de sus cuevas por lo que necesitan cortas distancias para escapar de sus depredadores (Seymour y Vinegar 1973). Hadley et al. (1981) proponen que la baja

tasa metabólica en arácnidos (arañas) es una adaptación al potencial problema de un suministro intermitente de alimento, consistente con una estrategia de depredación "sit and wait".

Canals et al. (2007) encontraron que la araña migalomorfa (Ortognatha) *Grammostola rosea* presentaba un consumo de oxígeno muy bajo en reposo, requiriendo tan sólo una diferencia de presiones parciales de oxígeno de 0,12-0,16 kPa entre el ambiente y el medio interno para satisfacer sus demandas de oxígeno. Como comparación, un mamífero promedio de similar masa necesitaría un diferencial de aproximadamente 7kPa. Sin embargo, también encontraron que el consumo de oxígeno se reducía con una privación de alimentos de dos semanas pero sólo a elevadas temperaturas (30°C en este estudio), lo que sugirió la existencia de una depresión metabólica que se hace evidente frente a los altos requerimientos impuestos por la relación temperatura-metabolismo.

En ectotermos, el metabolismo es temperatura-dependiente por lo que el consumo de oxígeno y la producción de CO₂ aumentan siguiendo una ley de potencias con el aumento de la temperatura, lo que podría provocar conflictos con la conservación del agua a consecuencia de

las altas tasas de recambio de agua asociadas a tasas metabólicas altas y a la mayor evaporación a estas temperaturas. Es así como en algunos invertebrados, uno de los hechos que más ha llamado la atención en el registro continuo de la tasa metabólica es su total interrupción durante algunos períodos, lo que ha sido interpretado por algunos como una adaptación para evitar la desecación (Alpert, 2006).

Si la evaporación pulmonar o traqueal es relevante, para limitar la pérdida de agua, un artrópodo debería ajustar su apertura espiracular con las demandas metabólicas instantáneas (Lehman, 2001). El ajuste entre la apertura espiracular y las demandas metabólicas en *Drosophila* por ejemplo, permite una reducción en la pérdida de agua de un 23%, entregando suficiente soporte al sentido adaptativo del control espiracular que disminuye el stress por desecación (Duncan y Byrne, 2005), con su consiguiente efecto sobre la sobrevivencia y reproducción.

Debido a que las elevadas tasas de consumo de oxígeno están relacionadas a altas tasas de recambio de agua y evaporación, es también posible que si se presenta depresión metabólica esta sea un mecanismo de reducción de la pérdida de agua por evaporación.

Sin embargo, después del trabajo de Davies y Edney (1952) los estudios efectuados sobre evaporación son muy escasos, y se han centrado casi exclusivamente en la relación entre la evaporación y el medio ambiente en que habitan las especies (Vollmer y MacMahon, 1974; Hadley et al., 1981; Hadley y Quinlan, 1989). Así por ejemplo, Hadley et al. (1981) mostraron que las especies de Lycosidos de ambientes secos y superficiales presentan menores tasas de evaporación que las especies que viven en cuevas. Posteriormente, Hadley y Quinlan (1989) sugieren que la baja tasa de evaporación en la "araña viuda" *Latrodectus hesperus* le permite colonizar exitosamente hábitats desérticos del sudoeste de Norteamérica.

En base a los antecedentes mencionados, es posible concluir que la relación metabolismo-mecanismo espiracular y pérdida de agua evaporativa no se encuentran adecuadamente analizadas, existiendo estudios que abordan la fisiología espiracular, la pérdida de agua o el metabolismo en forma independiente. En este trabajo estudiaremos estas variables en forma integrada planteando la siguiente hipótesis.

Hipótesis: Existe un compromiso entre la tasa metabólica y la pérdida de agua evaporativa total mediado por la apertura de los espiráculos respiratorios y este compromiso sería el principal responsable de la potencial depresión metabólica de las arañas migalomorfas a altas temperaturas.

Predicción 1: A temperaturas moderadamente elevadas el metabolismo aumenta pero a altas temperaturas existiría una disminución de la tasa metabólica (depresión metabólica) a consecuencia del compromiso entre apertura espiracular y pérdida de agua evaporativa (Figura 1a).

Predicción 2: A altas temperaturas se espera que exista una correlación positiva entre el metabolismo y la pérdida de agua evaporativa total; de esta forma, de existir depresión metabólica a altas temperaturas, esta sería mediada por el cierre de los espiráculos (Figura 1b).

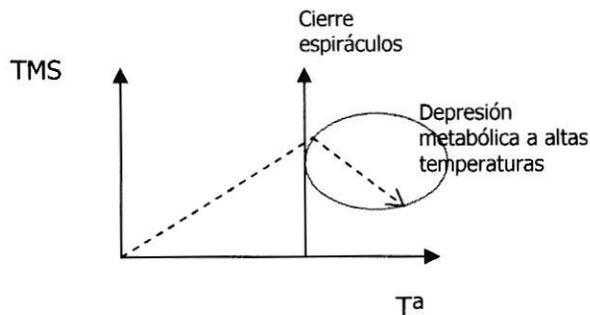


Figura 1a. Tasa metabólica estándar (TMS) versus temperatura (T^a).

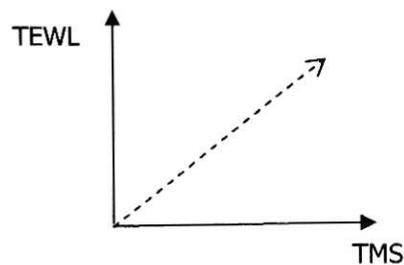


Figura 1b. Pérdida de agua evaporativa total (TEWL) versus tasa metabólica estándar (TMS).

Objetivo General:

Estudiar el compromiso entre la energética y la pérdida de agua evaporativa en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula*.

Objetivos específicos:

- Medir la tasa metabólica estándar (TMS) y la pérdida de agua evaporativa total (TEWL) en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula* expuesta a diferentes temperaturas.
- Estimar la participación de los pulmones en libro y el rol de la apertura de los espiráculos en la pérdida de agua evaporativa en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula*.
- Estimar la correlación entre la depresión metabólica, si existe, y la pérdida de agua evaporativa total a altas temperaturas en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo:

Todos los animales utilizados fueron capturados en la zona cordillerana de Farellones, 33°21'40''S - 70°15'56''O, sobre los 2300 m s.n.m. en una zona de matorral arbustivo bajo, dominado por *Chuquiraga oppositifolia*, *Ephedra chilensis*, *Acaena andina* y *A. splendens* (Rosacea), y con una alta cobertura rocosa donde se distribuye habitualmente *Paraphysa parvula*.

Modelo animal:

Se utilizó como animal de estudio a la araña migalomorpha *Paraphysa parvula* (Araneae; Theraphosidae) la cual posee dos pares de pulmones en libro y una masa corporal adulta de las hembras entre 6 y 10 g. Registros de nuestro equipo de trabajo sugieren que se trata de una araña de hábitos crepusculares y probablemente nocturnos, aunque los machos pueden verse ocasionalmente a pleno sol. Durante el día se encuentra en refugios bajo piedras. Su período de postura ocurre entre Diciembre y Enero, con tamaños de postura entre 200 y 700 huevos/hembra (Veloso, C.; datos no publicados). La temperatura preferencial en

terreno es de $28,8 \pm 4,0^{\circ}\text{C}$ (rango entre $17,8 - 37,0^{\circ}\text{C}$) y en el laboratorio es de $31,7^{\circ}\text{C}$ no dependiendo de la masa corporal (Veloso, C; datos no publicados).

Se cuenta con estudios preliminares de la biología básica de *Paraphysa parvula* (Veloso, C.; datos no publicados) relacionados con aspectos reproductivos (Figura 2a) y ecológicos. La identificación de la especie, fue realizada por expertos en taxonomía de Araneae (Montes de Oca L & Aguilera M, comunicación personal). Se tienen registros preliminares de metabolismo a 20°C de esta especie a lo largo de su ontogenia mediante mediciones de consumo de oxígeno en sistema cerrado (Veloso, C.; datos no publicados) (Figura 2b).

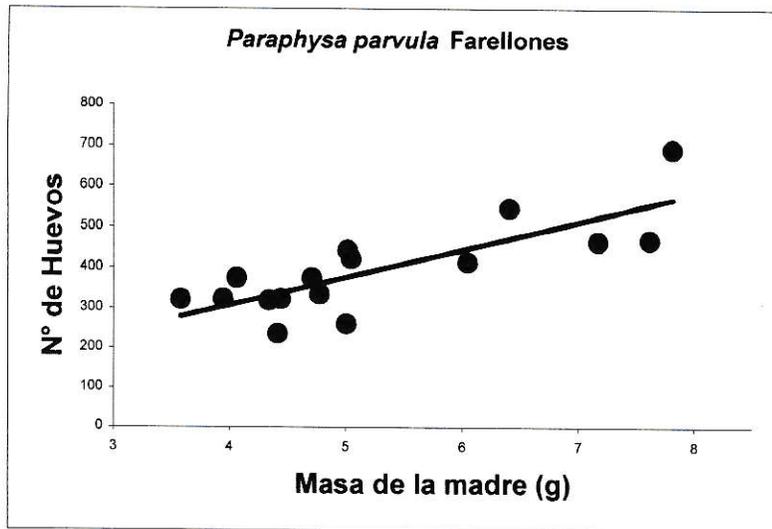


Figura 2a. Relación entre la masa corporal de la madre y el esfuerzo reproductivo en *Paraphysa parvula*

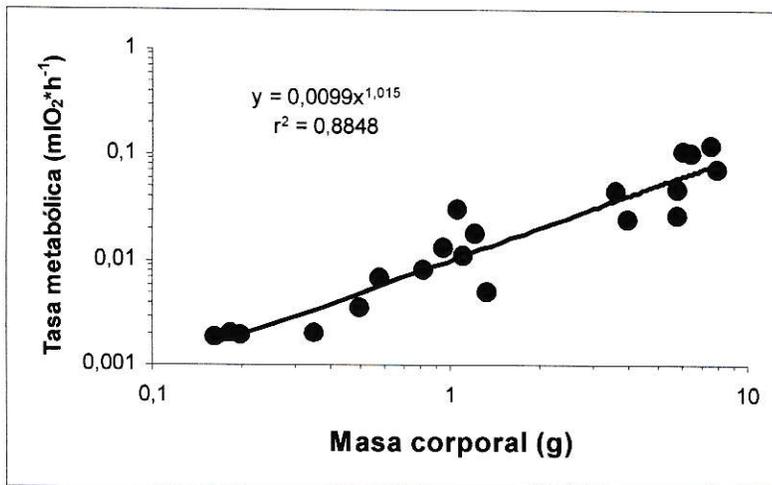


Figura 2b. Consumo de oxígeno durante el desarrollo de *Paraphysa parvula* a 20°C

Se trabajó sólo con hembras adultas de la población.

Captura y mantención de los animales:

Los animales fueron capturados mediante extracción manual bajo piedras y trasladados inmediatamente al Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile en Santiago.

Diseño experimental

Objetivo 1: Medir la tasa metabólica estándar (TMS) y la pérdida de agua evaporativa total (TEWL) en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula* expuesta a diferentes temperaturas.

Se capturaron 15 individuos ($M_b = 8,4 \pm 1,6$ g, Media \pm Desviación estándar), los que se mantuvieron individualmente en cajas de vidrio de 34 x 34 x 7 cc, con fotoperíodo y temperatura ambiente naturales. El agua fue periódicamente adicionada humedeciendo un pedazo de algodón ubicado al final de la caja. Entre dos y tres larvas de *Tenebrio molitor* fueron administradas diariamente como un recurso alimentario *ad lib*.

Después de un período de aclimatación de varias semanas, las hembras fueron mantenidas a una temperatura ambiente de $20^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$ por 3 semanas, y luego se les midió la TMS y la TEWL a temperaturas de 25, 30, 35 y 40°C .

Los animales fueron pesados utilizando una balanza

electrónica ($\pm 0,1$ g) y luego introducidos en cámaras metabólicas de 150 cc, especialmente diseñadas para el registro metabólico. Todas las medidas metabólicas fueron hechas durante el día, el cual corresponde a la fase de reposo de esta especie. Se utilizó un sistema computarizado de flujo abierto para determinación de consumo de oxígeno y de producción de CO₂ (Sable Systems). El equipo fue calibrado con una mezcla conocida de oxígeno (20%) y nitrógeno (80%) que fue certificado por cromatografía (INDURA, Chile). Las cámaras metabólicas recibieron aire seco a un flujo de 50 ml/min. El aire pasó a través de columnas de Drierita y Baralime para remover el agua y el CO₂ del aire, respectivamente. Se registró simultáneamente la pérdida de agua evaporativa total con un Higrómetro acoplado a las cámaras metabólicas (Sable Systems) (Sabat et al., 2006). La salida del agua y los analizadores de CO₂ y O₂ fueron digitalizados utilizando una Interface Universal II (UI II) (Sable Systems) y grabadas en un computador personal utilizando el software EXPEDATA (Sable Systems), con un intervalo de muestreo de 1 segundo. Las arañas permanecieron en las cámaras por al menos 3 horas durante cada registro metabólico.

Además se calculó la producción de agua metabólica (MWP), considerando que se producen 0,1107 mg H₂O/cal y 1 ml O₂ produce 5 calorías (Schmidt-Nielsen, 1997), a partir del consumo de oxígeno estimado del cuociente respiratorio calculado de la composición de las larvas de *Tenebrio molitor*.

Objetivo 2: Estimar la participación de los pulmones en libro y el rol de la apertura de los espiráculos en la pérdida de agua evaporativa en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula*.

Los mismos animales utilizados para el objetivo 1 fueron pesados y se les midió su TMS y TEWL a temperaturas de 25, 30, 35 y 40°C con la oclusión al azar de dos de sus espiráculos. La oclusión de los espiráculos se realizó con polivinil acetato.

El cambio en la pérdida de agua evaporativa total en cada tratamiento de temperatura entre condición libres versus ocluidos fue una estimación de la contribución a la pérdida de agua producida por los pulmones en libro, ya que cuando se encuentran ocluidos, la superficie expuesta por ellos al ambiente es la mitad de la condición libres. Además, se calculó la razón entre contribución a la pérdida

de agua por evaporación y producción de CO₂ masa específica (mgH₂O/gh)/(mlCO₂/gh), y se compararon las condiciones con y sin oclusión espiracular.

Para analizar la apertura espiracular forzada, se utilizaron 10 nuevos individuos a los que se les determinó sus tasas metabólicas estándar, con flujo de aire normal y expuestos a una atmósfera de aire hipercápnico con una concentración de CO₂ al 6,7% (Davies y Edney, 1952), y a temperaturas de 25°C y 35°C, midiéndose la pérdida de agua evaporativa total con un higrómetro conectado a las cámaras (Sable System) con el mismo diseño anterior. El cambio en la pérdida de agua entre estas dos situaciones experimentales permitió estimar el efecto de la apertura espiracular sobre la pérdida de agua evaporativa.

Objetivo 3: Estimar la correlación entre el metabolismo y la pérdida de agua evaporativa total a altas temperaturas en la araña migalomorfa *Paraphysa parvula*.

Para esto, en los animales expuestos a flujo de aire normal se realizó un análisis de correlación cruzada entre la tasa metabólica estándar (estimada a través de la producción de CO₂) y la pérdida de agua evaporativa total. Esto último, permitió evaluar si existe correlación entre

dos variables desfasadas temporalmente.

Análisis estadístico

El consumo de oxígeno, la producción de CO₂, la pérdida de agua evaporativa, la pérdida de agua evaporativa-metabolismo-específica (razón entre pérdida de agua y producción de CO₂) y el Q₁₀ fueron comparados utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para medidas repetidas, considerando los factores i) temperatura y ii) condición espiracular (ocluidos o libres; condiciones que corresponden a las medidas repetidas).

Los valores de Q₁₀ (cambio metabólico para una diferencia de 10°C de temperatura) se estimaron aplicando

la ecuación $Q_{10} = \left(\frac{TMS_2}{TMS_1} \right)^{\frac{10}{T_2 - T_1}}$ donde TMS_i y T_i corresponden a la tasa metabólica estándar y la temperatura en la condición "i" (Schmidt-Nielsen, 1997).

Para los animales con espiráculos sin ocluir, se estimó la producción de agua metabólica de la siguiente manera: se estimó la participación de la producción de agua metabólica en la pérdida de agua evaporativa a partir de la razón y la diferencia entre estas variables, estudiando el efecto de la temperatura mediante ANOVA de una vía.

La tasa de pérdida de agua evaporativa total y masa-específica en las condiciones "normal" y "ambiente hipercápnico" a diferentes temperaturas, se compararon con ANOVA de medidas repetidas.

La sincronía entre la pérdida de agua evaporativa y la producción de CO_2 se estudió mediante la función de autocorrelación (que se define como la correlación de una serie temporal consigo misma pero desfasada en un tiempo δ). El estimador de la autocorrelación tiene la estructura de un coeficiente de correlación de Pearson (Canals M., comunicación personal) de cada serie individual (oxígeno, CO_2 y agua) y luego con autocorrelación cruzada (correlación de una serie temporal con otra serie pero desfasada en un tiempo δ (Canals M., comunicación personal) entre las series de producción de CO_2 y pérdida de agua evaporativa. Se estudió la estabilidad en las estimaciones del consumo de oxígeno, producción de CO_2 y pérdida de agua mediante la función de autocorrelación de los registros de 10 minutos de la línea de base (cámara con flujo de aire, pero sin el animal).

RESULTADOS

Estudio del consumo de oxígeno, la producción de CO₂ y la pérdida de agua evaporativa.

Las tablas 1 y 2 muestran los valores de consumo de oxígeno (O₂), producción de dióxido de carbono (CO₂) y pérdida de agua evaporativa total (TEWL) a cuatro temperaturas ambiente y en 2 condiciones: espiráculos libres (tabla 1) y espiráculos ocluidos (tabla 2).

Tabla 1. Promedios \pm D.E. de consumo de oxígeno (mlO₂/h), producción de CO₂ (mlCO₂/h) y pérdida de agua evaporativa total (mgH₂O/h) a las distintas temperaturas con espiráculos libres.

| Variables | Temperatura ambiente | | | |
|-----------------|----------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | 25°C | 30°C | 35°C | 40°C |
| O ₂ | 0,443 \pm 0,27 | 0,817 \pm 0,53 | 0,983 \pm 0,52 | 1,923 \pm 0,86 |
| CO ₂ | 0,166 \pm 0,08 | 0,331 \pm 0,17 | 0,439 \pm 0,22 | 1,104 \pm 0,48 |
| TEWL | 2,929 \pm 0,79 | 4,015 \pm 1,002 | 6,004 \pm 2,07 | 58,93 \pm 15,98 |

Tabla 2. Promedios \pm D.E. de consumo de oxígeno (mlO₂/h), producción de CO₂ (mlCO₂/h) y pérdida de agua evaporativa total (mgH₂O/h) a las distintas temperaturas con espiráculos ocluidos.

| Variables | Temperatura ambiente | | | |
|-----------------|----------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | 25°C | 30°C | 35°C | 40°C |
| O ₂ | 0,551 \pm 0,28 | 0,782 \pm 0,31 | 1,019 \pm 0,41 | 1,754 \pm 0,65 |
| CO ₂ | 0,201 \pm 0,08 | 0,321 \pm 0,16 | 0,481 \pm 0,24 | 1,013 \pm 0,45 |
| TEWL | 3,896 \pm 0,98 | 4,751 \pm 1,56 | 5,841 \pm 1,74 | 38,52 \pm 15,35 |

El consumo de oxígeno (figura 3) aumentó con la temperatura ($F_{3,112} = 42,92$, $p < 0.001$) a una tasa relativamente constante entre los 25 y 35°C, pero aumentó más entre 35 y 40°C. Al contrario de lo esperado de acuerdo a nuestra hipótesis no se apreció depresión metabólica a altas temperaturas.

Al tapar los espiráculos no se apreció ningún cambio en el consumo de oxígeno respecto a la condición libres ($F_{1,112} = 0,056$, $p = 0,81$) (Figura 3).

Tampoco se encontró interacción entre las condiciones de apertura o cierre de los espiráculos y la temperatura ($F_{3,112} = 0,277$, $p = 0,84$).

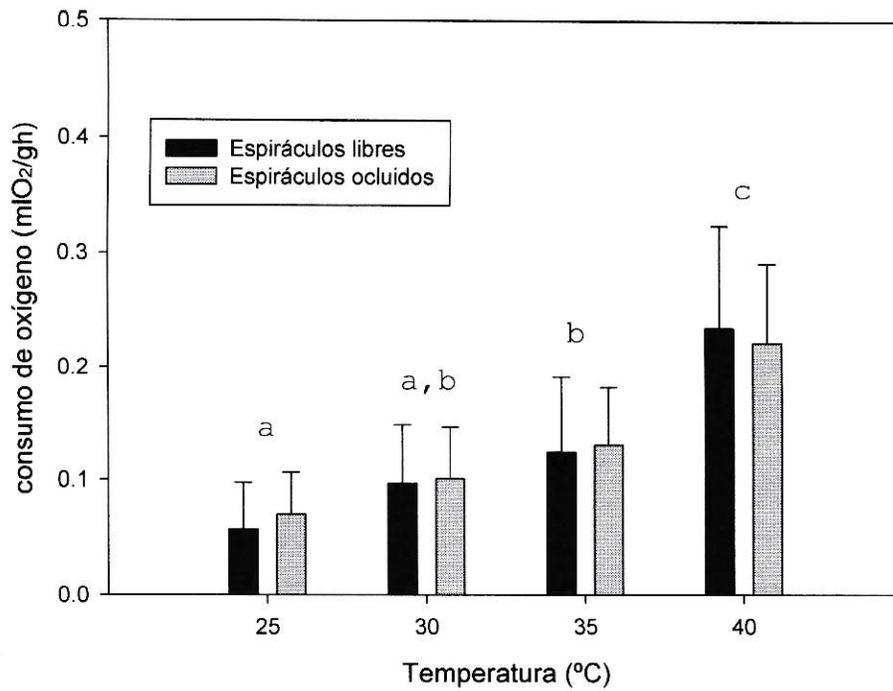


Figura 3. Consumo de oxígeno versus temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos. Las barras corresponden al promedio y las líneas verticales corresponden a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Al igual que para el caso del O_2 la elevación de la temperatura produjo un aumento en la producción de CO_2 ($F_{3,112}= 79,42$, $p<0.001$). Las tasas de aumento en la producción de CO_2 presentan una relación parecida a la del consumo de oxígeno (Figura 5).

No se encontraron diferencias en la producción de CO_2 en las 2 condiciones experimentales ($F_{1,112}= 0,12$, $p =0,73$) ni se aprecia interacción ($F_{3,112}= 0,38$, $p=0,77$).

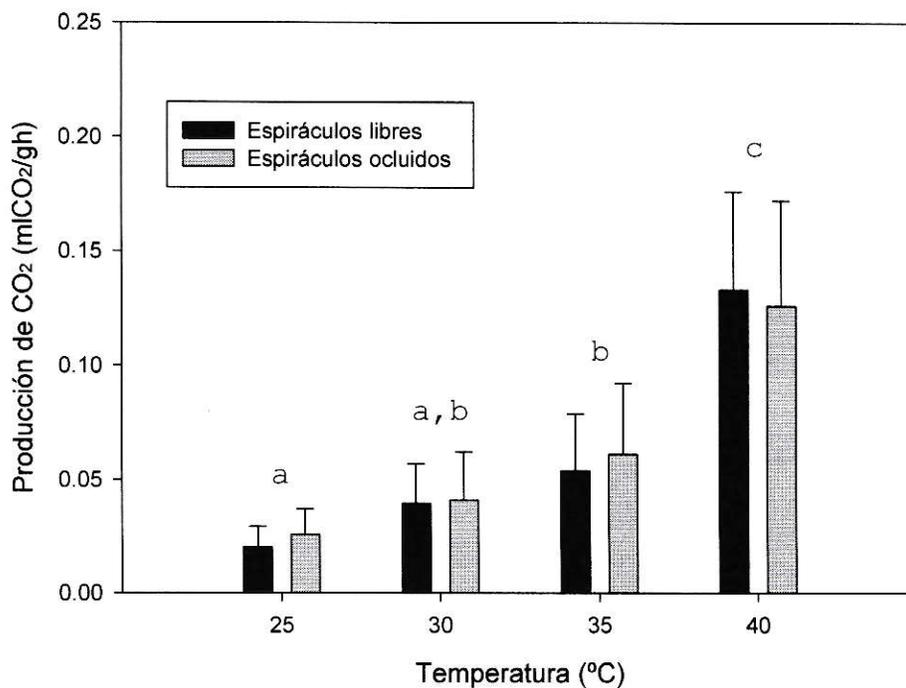


Figura 4. Producción de CO_2 versus temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos. Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

El Q_{10} calculado (Figura 5) con los pulmones libres a partir de la producción de CO_2 fue de: $Q_{10\ 25-35} = 2,8 \pm 0,79$, $Q_{10\ 30-40} = 3,8 \pm 1,52$ ($T_{14}=-2,65$; $p<0,05$). Y con los espiráculos tapados fue de: $Q_{10\ 25-35} = 2,4 \pm 0,48$, $Q_{10\ 30-40} = 3,4 \pm 0,89$ ($T_{14}=-4,15$; $p<0,01$).

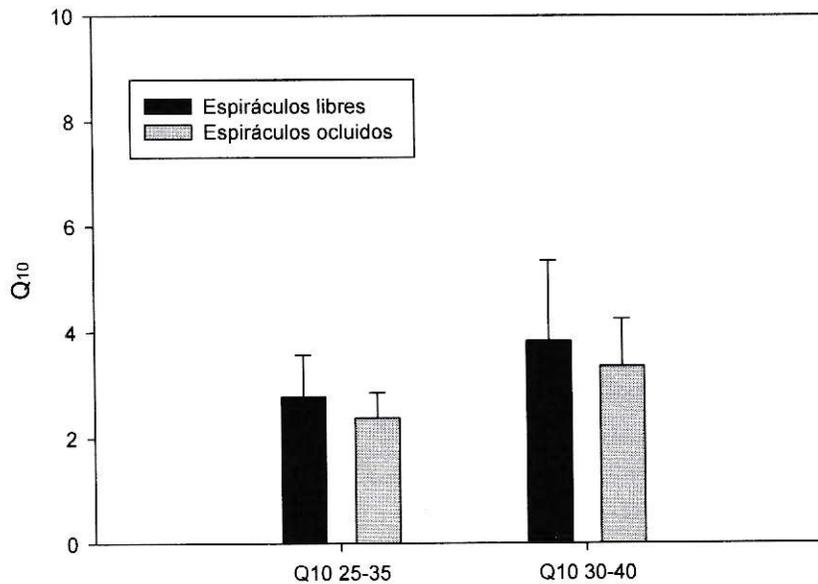


Figura 5. Q_{10} estimado de la producción de CO_2 a las distintas temperaturas, con espiráculos libres y espiráculos ocluidos. Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar.

La pérdida de agua aumentó significativamente a la temperatura de 40°C ($F_{3,112} = 168,07$, $p < 0,001$).

Se observó la existencia de interacción entre las condiciones experimentales debido a un aumento en la pérdida de agua en las 2 condiciones. Mientras a 25, 30 y 35°C la pérdida de agua fue constante, a los 40°C la producción de agua aumentó aproximadamente 10 veces (Figura 6). También se encontró diferencias entre los espiráculos libres y ocluidos a 40°C.

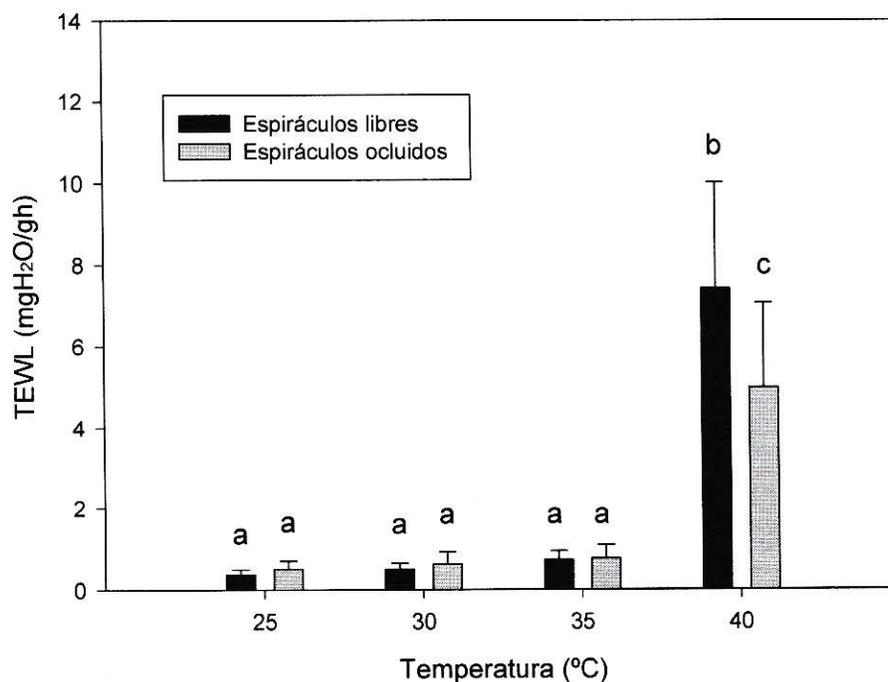


Figura 6. Pérdida de agua evaporativa total (TEWL) versus temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos. Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Al corregir la pérdida de agua por la tasa metabólica (producción de CO₂) se aprecia el mismo fenómeno. Hay diferencias en la pérdida de agua por unidad de actividad metabólica a los 40°C (Figura 7). También se encontró diferencias entre los espiráculos libres y ocluidos a los 40°C.

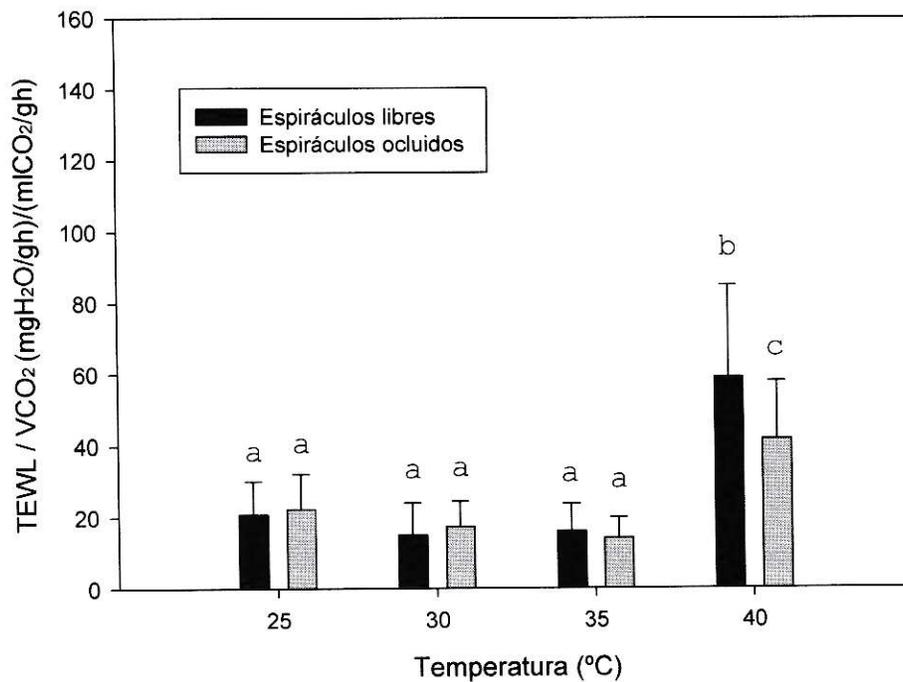


Figura 7. Pérdida de agua evaporativa total por unidad metabólica (TEWL/VCO₂) versus temperatura con espiráculos libres y espiráculos ocluidos. Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

La producción de agua metabólica (MWP) fue muy baja en relación a la pérdida evaporativa total a las diferentes temperaturas (Tabla 3). Estudiando la razón entre MWP y TEWL, ésta fue baja especialmente a la temperatura de 40°C ($F_{3,56} = 17,228$; $p < 0,01$) (Figura 8).

Tabla 3. Producción de agua metabólica (MWP) a cuatro temperaturas (D.E.=Desviación Estándar).

| Temperatura | MWP (promedios \pm D.E.) |
|-------------|----------------------------|
| 25°C | 0,014 \pm 0,006 |
| 30°C | 0,028 \pm 0,013 |
| 35°C | 0,034 \pm 0,018 |
| 40°C | 0,095 \pm 0,031 |

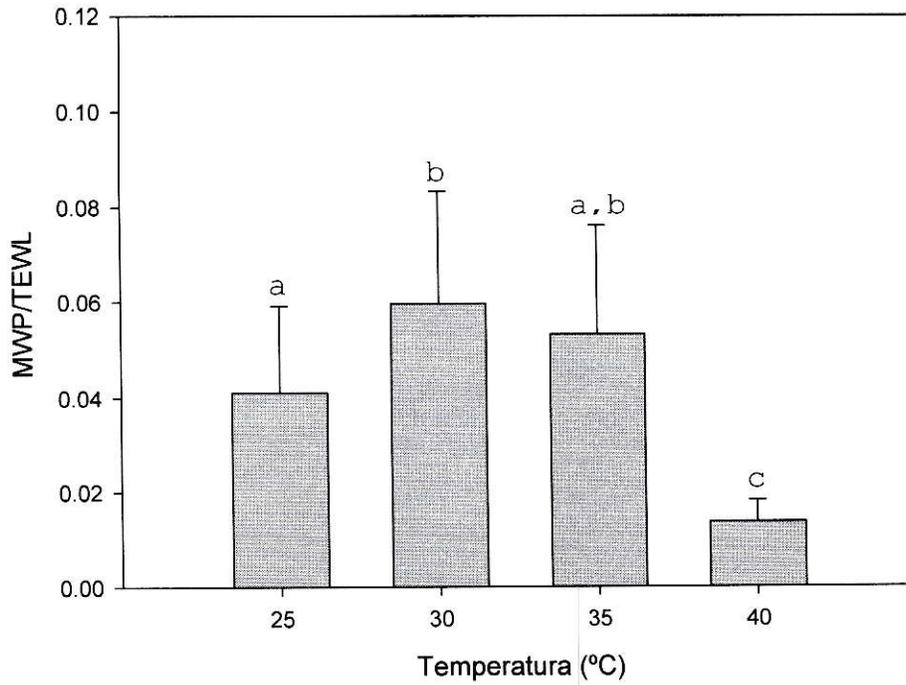


Figura 8. Razón entre la producción de agua metabólica (MWP) y la pérdida de agua evaporativa total (TEWL) versus temperatura. Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Se puede apreciar que a 40°C (Figura 9), existe una gran diferencia entre TEWL y MWP ($F_{3,56} = 103,35$; $p < 0,01$) y es constante entre 25 y 35°C.

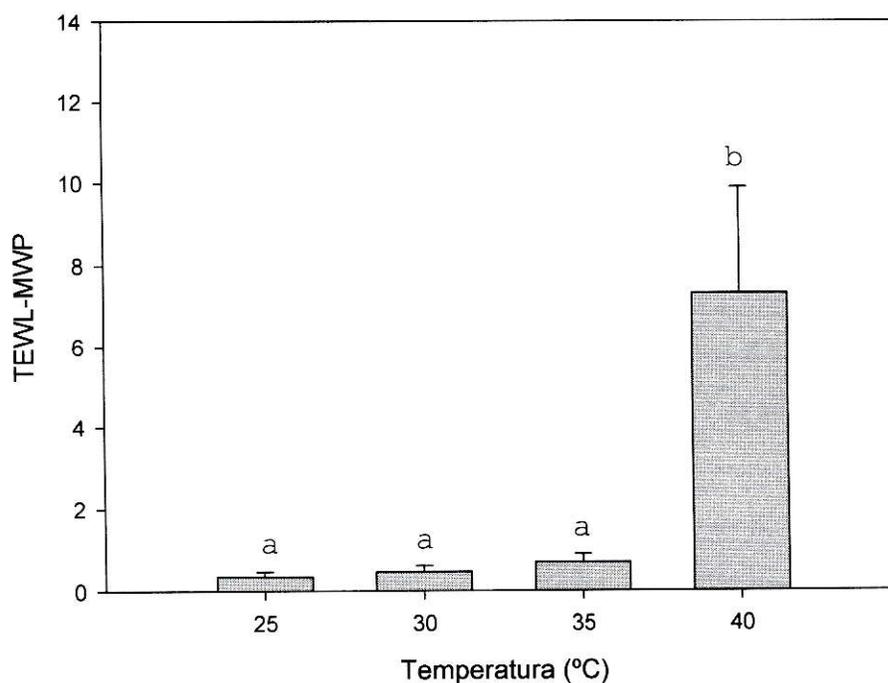


Figura 9. Diferencia entre la producción de agua metabólica (MWP) y la pérdida de agua evaporativa total (TEWL) versus Temperatura. Las barras verticales corresponden a los promedios y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Estudio en ambiente hipercápnico

Se encontró un aumento en la pérdida de agua evaporativa total en los animales cuando fueron expuestos a un ambiente hipercápnico en comparación a la pérdida de agua en un ambiente normal ($F_{1,18} = 414,85$, $p < < 0,001$) y entre las distintas temperaturas ($F_{1,18} = 79,58$, $p < < 0,001$) (Figura 10)

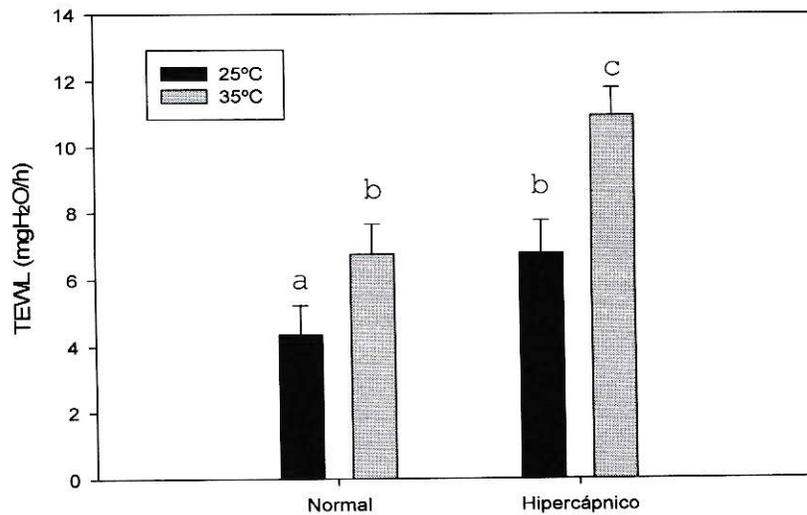


Figura 10. Pérdida de agua evaporativa total (TEWL) en dos condiciones (normal e hipercápnico) y en dos temperaturas (25 y 35°C). Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Se encontraron diferencias significativas en la pérdida de agua evaporativa total masa específica en un ambiente normal y en un ambiente hipercápnicico ($F_{1,18}=111,69$, $p<<0.001$) y entre distintas temperaturas ($F_{1,18}=17,69$, $p<<0.001$) (Figura 11).

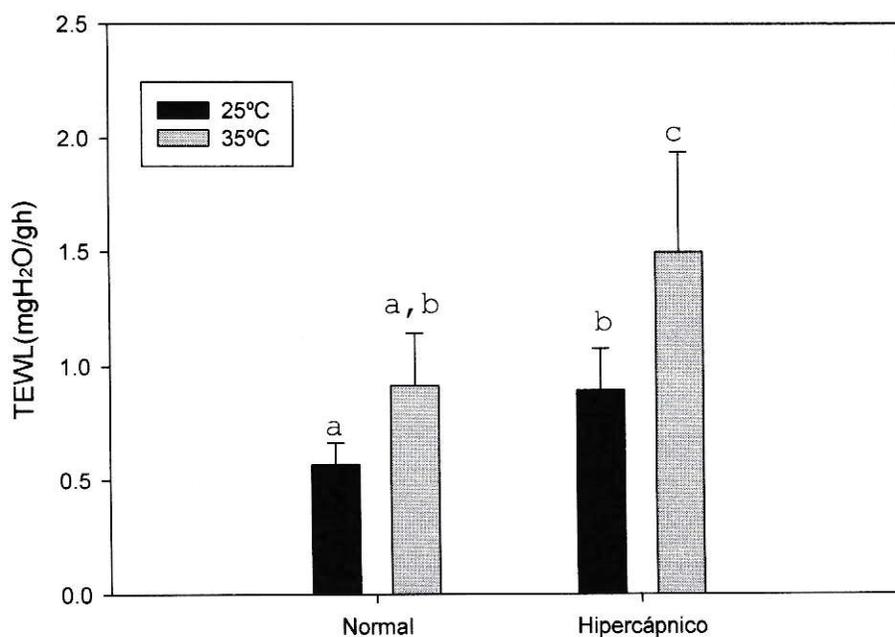


Figura 11. Pérdida de agua evaporativa total (TEWL) masa específica en dos condiciones (normal e hipercápnicico) y en dos temperaturas (25 y 35°C). Las barras verticales corresponden al promedio y las líneas verticales a la desviación estándar. Letras distintas corresponden a diferencias significativas.

Análisis temporal de la pérdida de agua evaporativa, el consumo de oxígeno y la producción de CO₂

En todas las serie temporales de la línea de base (O₂, CO₂ y TEWL) (Figuras 12, 13 y 14) se encontró un ciclo de autocorrelación de un período entre 10 y 12 segundos. Éste es explicado por el funcionamiento de la bomba del equipo que proporciona el flujo de gases.

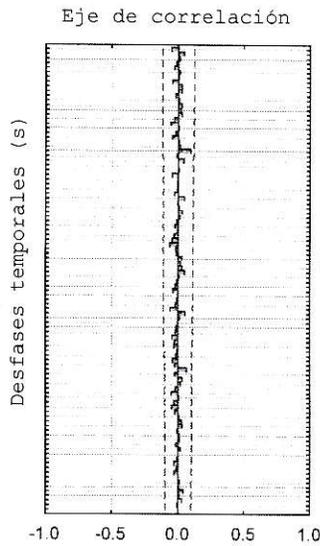


Figura 12. Función de autocorrelación de la línea de base de la pérdida de agua evaporativa.

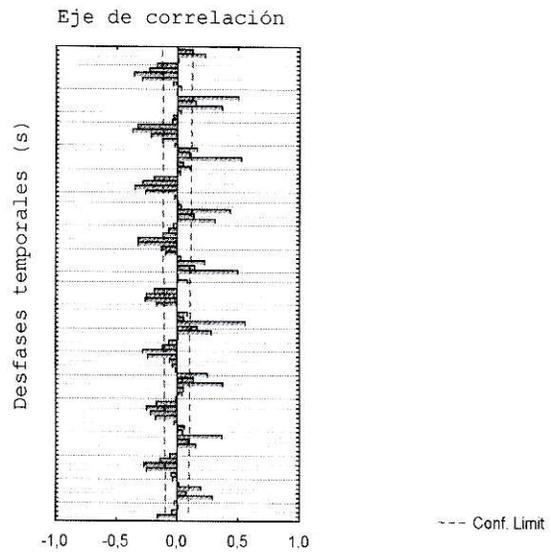


Figura 13. Función de autocorrelación de la línea de base del consumo de oxígeno.

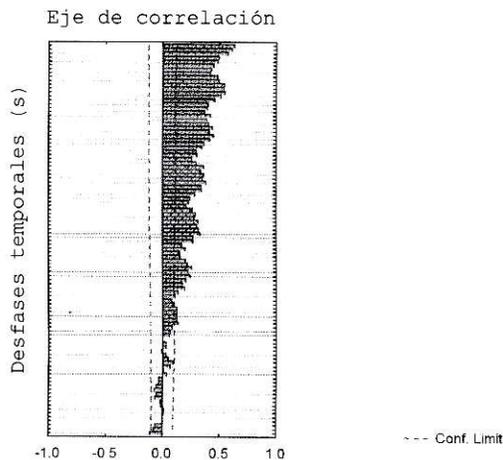


Figura 14. Función de autocorrelación de la línea de base de la producción de CO₂.

Las autocorrelaciones de las series de pérdida de agua fueron siempre bajas. Estas fluctuaron entre -0.09 y 0.025 ($p > 0.05$). La función de autocorrelación (FAC) mostró el ciclo de base atribuible al funcionamiento de la bomba, no se evidenciaron ciclos de otra naturaleza. En la figura 15 y 16 se muestra la pérdida de agua evaporativa y la FAC para una araña a 40°C.

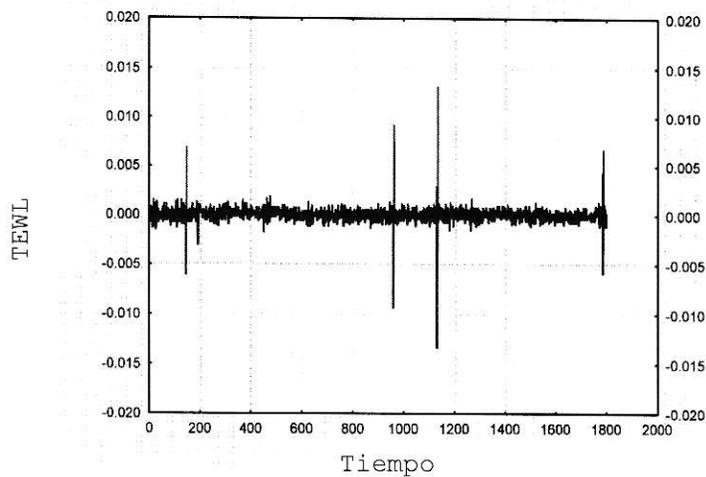


Figura 15. Comportamiento de la variable TEWL en el tiempo.

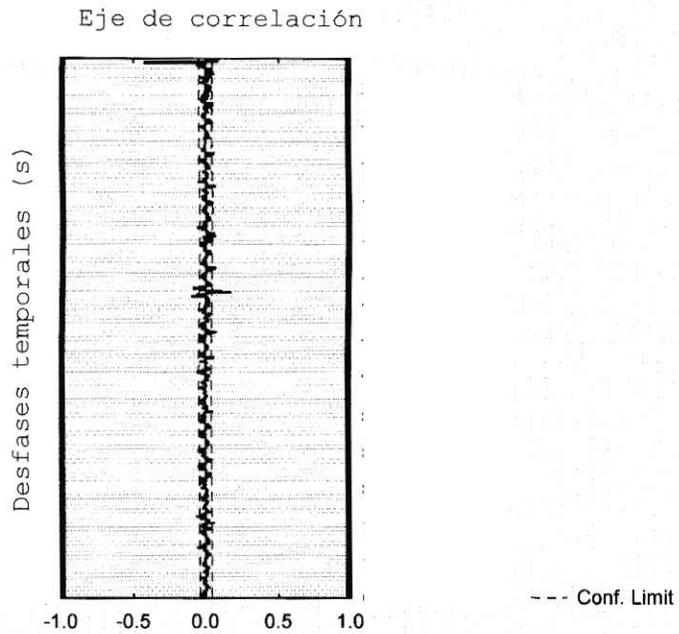


Figura 16. Función de autocorrelación de la pérdida de agua evaporativa.

Lo mismo se observó para el consumo de oxígeno y la producción de CO_2 . Los valores de autocorrelación fueron siempre bajos y no significativos a excepción de los picos de autocorrelación que revelan el ciclo de la bomba (Figura 18 y 19)

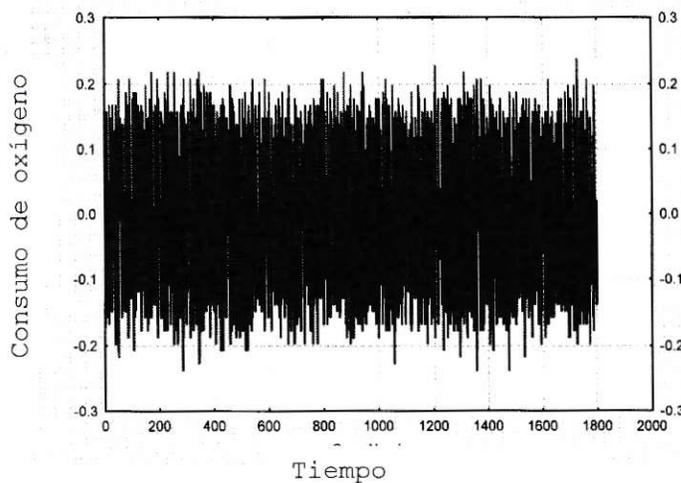


Figura 17. Comportamiento de la variable oxígeno en el tiempo.

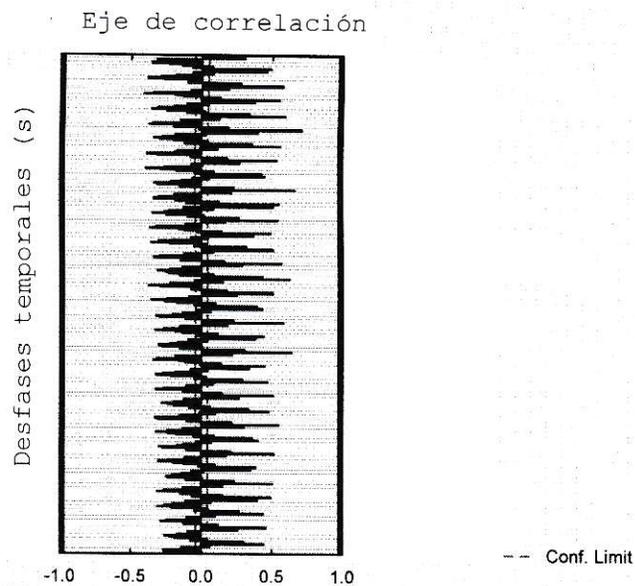


Figura 18. Función de autocorrelación del consumo de oxígeno.

Para el CO₂ (Figura 20) no se ven ciclos mayores, producción de CO₂ es continua.

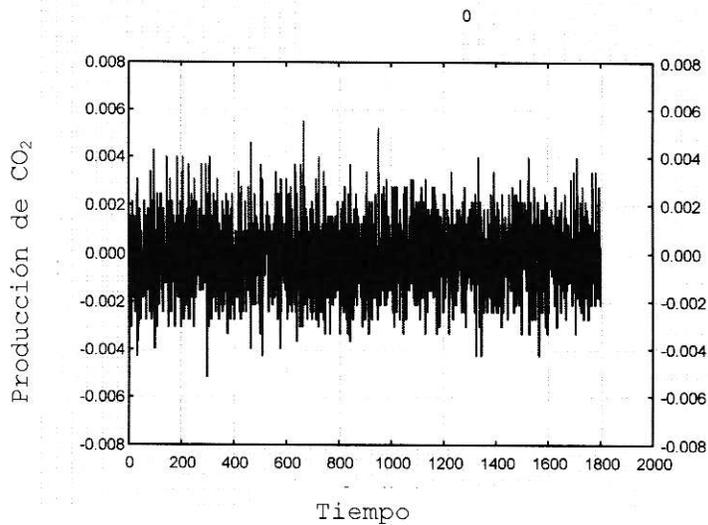


Figura 19. Comportamiento de la variable CO₂ en el tiempo.

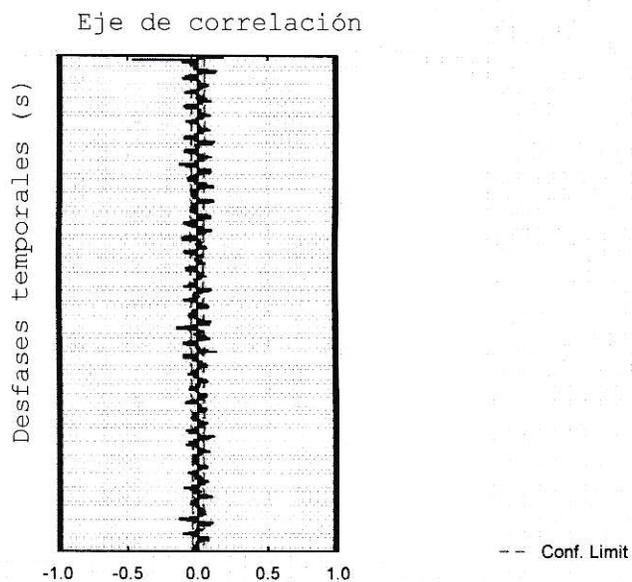


Figura 20. Función de autocorrelación de la producción de CO₂.

Al realizar un estudio de correlación cruzada entre pérdida de agua y producción de CO₂, los valores de correlación fueron siempre menores a 0,05 y no se encontraron picos de correlación que revelen sincronización de las variables.

(Figura 21 y 22).

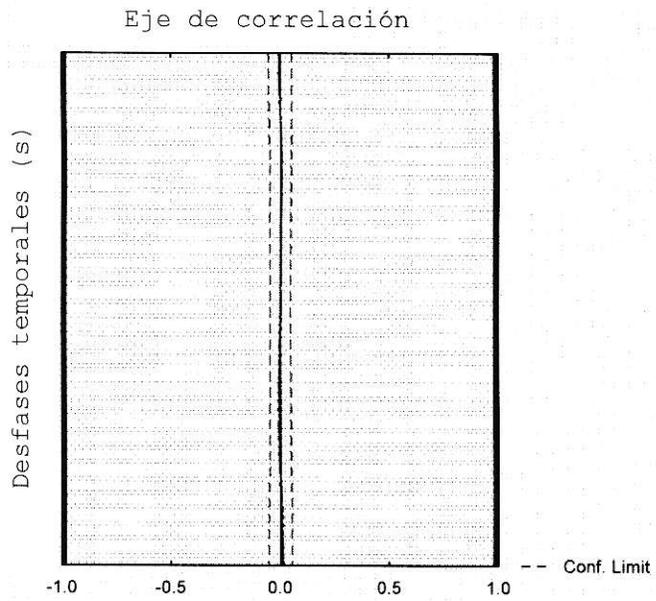


Figura 21. Correlación cruzada entre pérdida de agua evaporativa y producción de CO₂ de una araña a 40°C.

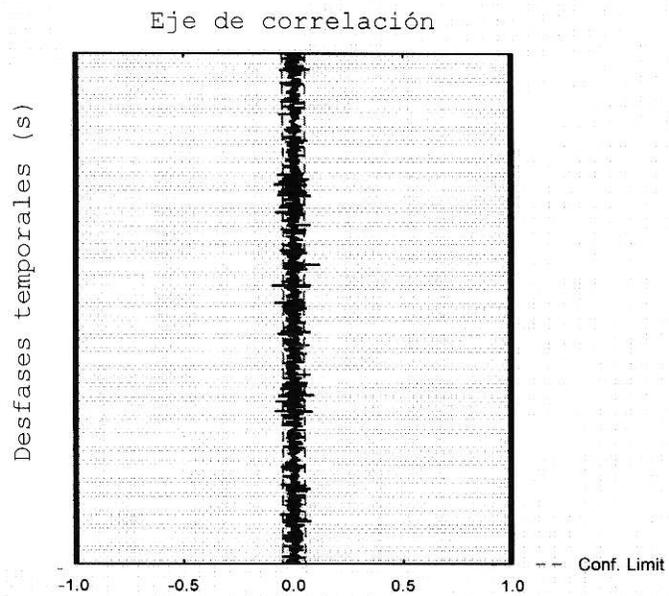


Figura 22. Correlación cruzada entre pérdida de agua evaporativa y producción de CO₂ de una araña a 25°C.

DISCUSIÓN

Consumo de oxígeno

Nuestros valores de consumo de oxígeno, $0,443 \pm 0,27$ mlO₂/h a 25°C y $0,817 \pm 0,53$ mlO₂/h a 30°C, fueron relativamente superiores a los reportados por Paul et al. (1989) en individuos de la especie *Eurypelma californicum*, una Theraphosidae de masa en el rango de nuestra especie ($M_b = 2,5$ a $23,3$ g) expuestas a 20°C: $0,187$ mlO₂/h y a 30°C: $0,537$ mlO₂/h.

En otras especies de theraphosidos, los valores fluctúan entre $0,27$ mlO₂/h a 22°C en *Aphonopelma eutylenum* ($M_b = 15$ g) (Greenstone y Bennett, 1980) y $0,73$ mlO₂/h a 23°C en *Brachypelma smithii* ($M_b = 26,9$ g) (Anderson y Prestwich, 1985).

Los valores de consumo de oxígeno masa-específicos de nuestra especie se encuentran en el rango de los valores reportados para *Grammostola rosea* ($M_b = 13,62$ y $16,8$ g) (Canals et al. 2007). En este estudio se encontró en dos ejemplares, metabolismos de $0,0372$ y $0,0659$ mlO₂/g h a 20°C, similar a nuestros resultados $0,056 \pm 0,04$ mlO₂/g h a

25°C. Estos valores representan 1/100 del consumo de oxígeno de un homeotermo de igual tamaño.

Comparando nuestros valores de consumo de oxígeno con lo esperado para artrópodos (sin considerar escorpiones ni ácaros) a partir de la ecuación $MR = 973M_b^{0,856}$, donde MR es el consumo de oxígeno a 25°C (μW) y M_b es la masa corporal en gramos (Lighton et al., 2001) encontramos que *P parvula* tiene un consumo de oxígeno equivalente a un $45,6 \pm 30,6\%$ de lo esperado. Esto puede tener dos explicaciones: que efectivamente el consumo de oxígeno en arañas migalomorfas es más bajo que en los demás artrópodos como sugieren Anderson (1970) y Greenstone y Bennet (1980), o bien, la estimación de consumo de oxígeno es una subestimación del consumo real. Sin embargo, se ha propuesto que la medida más adecuada para estimar el metabolismo en animales con bajos requerimientos energéticos es la producción de CO_2 (Walsberg y Wolf, 1995).

Producción de CO_2 y Cuociente Respiratorio (CR)

Al comparar ahora la producción de CO_2 con los valores esperados para artrópodos mediante la relación de Lighton et al (2001), los valores de *P parvula* corresponden a un $16,35 \pm 7,3 \%$ de lo esperado, confirmando que el

metabolismo de esta especie es bajo, coincidiendo con lo propuesto por Anderson (1970) y Greenstone y Bennet (1980).

La producción de CO₂ es similar a otros theraphosidos (Shillington y Peterson 2002, Shillington 2005). A 25°C la producción de CO₂ promedio fue 0,166 mlCO₂/h y a 30°C igual a 0,331 mlCO₂/h los mismos resultados obtenidos por Shillington (2005) para animales con una masa corporal de 13,19 y 13,88 g, respectivamente.

Entre los arácnidos, las teraphosidae, tienen comparativamente bajas tasas metabólicas, probablemente relacionado a su bajos requerimientos de energía para su forma de vida, que incluye meses de inactividad en un escondite durante el invierno y durante períodos de muda, también como períodos de baja disponibilidad de alimento debido a su estrategia depredatoria "sit and wait" (Shillington 2005).

Los valores del cuociente respiratorio (CR = VCO₂/VO₂) variaron entre 0,476 y 0,585 (Tabla 4).

Tabla 4. Cuociente respiratorio a las distintas temperaturas.

| Temperatura ambiente | CR |
|----------------------|-------------|
| 25°C | 0,510±0,344 |
| 30°C | 0,476±0,268 |
| 35°C | 0,543±0,339 |
| 40°C | 0,585±0,078 |

Estos valores son muy bajos con respecto a lo esperado para el consumo de diferentes tipos de alimentos. El CR debería variar entre 0,711 para consumo exclusivo de lípidos y 1 para el consumo exclusivo de carbohidratos (Schmidt-Nielsen, 1997). Los animales fueron alimentados con larvas de *Tenebrio molitor*. Su composición corresponde a 33,87% de lípidos, 53,97% de proteínas, 3,38% de carbohidratos y 8,78% de cenizas y fibra (<http://www.the-lizard-lounge.com/content/insects/mealworms.asp>), en función de los antecedentes, el cociente respiratorio esperado sería de 0,774. La diferencia entre los valores observados (de 0,476 a 0,585) podría estar explicada por una sobreestimación del consumo de oxígeno producida por la inestabilidad del método. Otra posibilidad es la intervención de metabolismo anaerobio o bien una caída del CR secundaria a desbalance energético (Walsberg y Wolf, 1995). Sin embargo, las arañas durante toda la experimentación mantuvieron su masa corporal.

Pérdida de agua evaporativa

Como se esperaba, la pérdida de agua evaporativa fue influida por la temperatura ambiente. Sin embargo, mientras a las temperaturas de 25, 30 y 35°C la pérdida de agua fue

relativamente baja y constante, esta aumentó significativamente alrededor de 10 veces a la temperatura de 40°, en las dos condiciones experimentales (espiráculos libres y ocluidos). Siendo mayor la pérdida de agua bajo la condición de espiráculos libres. En esta pérdida de agua, la producción de agua endógena (MWP) es muy baja.

La razón entre las dos variables (MWP/TEWL) es siempre muy baja, especialmente a 40°C, donde representa sólo un $1,3 \pm 0,4$ %. Este valor es menor que a las temperaturas más bajas lo que sugiere un aumento en la pérdida de agua evaporativa que no está correlacionada con la elevación del metabolismo a esta temperatura.

En aves paseriformes que habitan ambientes áridos se ha propuesto que existe una disminución en la pérdida de agua evaporativa compensada por un aumento en la producción de agua endógena (Williams, 1996; Cavieres, 2007). En nuestros resultados se observó lo contrario, una alta TEWL y baja MWP.

Según Cortés et al. (2000) la eficiencia en la regulación hídrica en mamíferos se puede calcular a través de un índice que relaciona la producción de agua metabólica (MWP) y la pérdida de agua evaporativa total (TEWL), $T_a @ MWP=TEWL$, donde $T_a @$ corresponde a la temperatura a la cual

se igualan la producción de agua metabólica y la pérdida de agua evaporativa. Como en el caso de *P. parvula* la producción de agua metabólica es siempre muy baja, éste índice propuesto para endotermos tiene escaso valor, ya que extrapola a valores de temperatura muy elevados.

El aumento súbito de la pérdida de agua a 40°C puede ser explicado por un aumento de la permeabilidad del exoesqueleto a éstas temperaturas, por la secreción de líquidos humectantes en las glándulas coxales y por la mayor frecuencia de la apertura espiracular. Según Finke y Paul (1989) las arañas en reposo mantienen sus espiráculos completamente cerrados y cuando se exponen a máxima actividad, abren sus espiráculos completamente. Esto puede significar que los animales expuestos a altos requerimientos abren sus espiráculos eliminando más agua.

Participación de los pulmones en libro

La participación de los pulmones en libro y el rol de la apertura de los espiráculos en la pérdida de agua evaporativa fue estimada de dos maneras.

La primera, a partir de la oclusión espiracular. Ya que las mismas arañas fueron medidas con y sin oclusión de la mitad de sus espiráculos. Así, si el cambio en la

pérdida de agua evaporativa entre estas condiciones se debe sólo a este factor se puede proponer lo siguiente: la pérdida de agua evaporativa se debe a dos componentes, la superficie del exoesqueleto (A) y la pérdida por los pulmones en libro (P). Entonces, cuando se tienen los espiráculos libres la pérdida se debe al efecto aditivo de estos dos componentes (p.e. $TEWL_i = A + P$). Cuando se ocluyen la mitad de los espiráculos la pérdida es $TEWL_o = A + P/2$. Así, el componente P se puede estimar como $P = 2(TEWL_i - TEWL_o)$. Por ejemplo, para una araña: $P + A = 7,4 = TEWL_i$ y

$P/2 + A = 4,98 = TEWL_o$, lo que implica $P = 4,84$ es decir la participación de la pérdida pulmonar sería de un $4,84/7,4 = 65\%$. Realizando este cálculo para todas las arañas a 40°C esta estimación permite proponer una participación de los pulmones de un $60,7 \pm 47,02\%$ en la pérdida de agua. Sin embargo, esto supone que a las altas temperaturas efectivamente, se produjo una mayor frecuencia de apertura espiracular, hecho que no se verificó directamente.

En el segundo enfoque se usaron temperaturas más bajas (25 y 35°C) evitando así la posible alteración de la permeabilidad a altas temperaturas, y se generó un ambiente hipercápnic de un $6,7\%$, pero normóxico, lo que asegura la

apertura espiracular (Davis y Edney 1952, Schimdt-Nielsen, 1997).

Al realizar estos experimentos la exposición a ambientes hipercápnicos produjo un aumento del $58,43 \pm 14,6\%$ a 25°C y del $63,84 \pm 20,58\%$ a 35°C . Estos dos valores son muy cercanos al valor estimado por el método anterior, con la diferencia que aquí no existe el efecto de la temperatura, y la apertura espiracular se encuentra asegurada. Esto permite afirmar que la participación de los espiráculos en la pérdida de agua evaporativa es del orden de un 60% aproximadamente, lo que es algo mayor que el 50% propuesto por Davies y Edney (1952).

Fincke y Paul (1989) estudiaron la función y control de los espiráculos en arácnidos revelando que el intercambio de gas esta regulado por el área de entrada de los espiráculo. Un ambiente con un incremento en la P_{CO_2} y disminución en la P_{O_2} , ambas en forma independiente, afectan el área de entrada de los espiráculos.

Según Schneiderman (1960) la principal función del mecanismo de cierre espiracular es la conservación de agua en insectos. Desde un punto de vista evolutivo, la selección natural favorecería el desarrollo de mecanismos que mantengan los espiráculos con una apertura óptima para

permitir tanto el intercambio de gases respiratorios, como la conservación de agua. Esta apertura óptima debería ser más eficiente en insectos con severas restricciones hídricas. Por ejemplo, en insectos de hábitat áridos se reduce la pérdida de agua cuticular a un nivel tal que la pérdida de agua espiracular es el principal componente (Zachariassen 1996).

Correlación entre tasa metabólica y pérdida de agua evaporativa

Nuestros resultados no apoyan la existencia de depresión metabólica a altas temperaturas, ni tampoco un compromiso entre tasa metabólica y pérdida de agua evaporativa total. Al estimar la asociación entre la tasa metabólica y pérdida de agua evaporativa a altas temperaturas no existió correlación entre ambas variables. En insectos, este tema ha sido controversial los últimos años, ya que estudios comparativos han encontrado una correlación positiva entre tasas metabólicas y tasas de pérdida de agua en especies xéricas pero no en especies mésicas (Gibbs et al. 2003), lo que coincide con el caso de nuestra especie. Tampoco encontramos una sincronía entre la pérdida de agua evaporativa y la producción de CO₂.

Nuestros resultados difieren de lo encontrado por Canals et al (2007) en la especie *Grammostola rosea*, donde se documentó una baja en el consumo de oxígeno a altas temperaturas. Sin embargo, Canals et al (2007) trabajaron con arañas expuestas a deprivación de alimentos, por lo cual es posible que la depresión metabólica se manifieste en condiciones en que sea necesario un ahorro energético. De existir compromiso entre pérdida de agua y producción metabólica, la falta de ingesta de agua podría gatillar depresión metabólica en altas temperaturas, coincidiendo con el compromiso agua-metabolismo en artrópodos de ambientes xéricos (Gibbs et al 2003).

Además vemos que la producción de CO₂ es continua como se debería esperar en un artrópodo con pulmones en libro (Terblanche et al., 2004) no cíclica como en algunos insectos (Chown 2002; Quinlan y Gibbs 2006; Nespolo et al. 2007). La respiración discontinua ha ocurrido independientemente y en forma convergente en varias ocasiones y grupos, Entre ellos en varios órdenes de insectos traqueados, algunos Chilopoda (Scolopendromorpha) y en algunos pequeños quelicerados (Acari, Solifugae y Pseudoscorpiones) (Klok et al., 2002).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican que el consumo de oxígeno y la producción de CO₂ en *Paraphysa parvula* es similar a otros teraphosidos, confirmando el hecho de que éstos tienen un metabolismo bajo comparado con otros artrópodos.

En las variables estudiadas, el consumo de oxígeno, la producción de CO₂ y la pérdida de agua evaporativa, se observó un incremento en conjunto con la temperatura, siendo más notorio el aumento a 40°C.

Los valores de cuociente respiratorio son bajos respecto a lo esperado, probablemente por una sobrestimación del consumo de oxígeno, puesto que los analizadores de oxígeno son menos sensibles que para el CO₂. Los analizadores de CO₂ son aproximadamente 100 veces más sensibles que los típicos analizadores para oxígeno, por eso se ha propuesto que la medida más adecuada para estimar el metabolismo en animales pequeños es la producción de CO₂.

Respecto a la pérdida de agua evaporativa total el gran incremento a 40°C es significativo, aumentando cerca de 1 orden de magnitud comparado con las temperaturas más

bajas de 25, 30 y 35°C.

La participación de los pulmones en libro en la pérdida de agua evaporativa fue de alrededor de un 60%. Y el rol de los espiráculos fue confirmado, puesto que al ocluirlos se observó una disminución significativa en la pérdida de agua evaporativa.

No existió correlación entre el metabolismo y la pérdida de agua evaporativa, ni tampoco se evidenció depresión metabólica a altas temperaturas.

REFERENCIAS

- Alpert, P. 2006. Constraints to tolerance: why are desiccation-tolerant organisms so small and or rare? *J Experimental Biology* 209: 1575-1584.
- Anderson, J.F. 1970. Metabolic rates of spiders. *Comparative Biochemistry and Physiology* 33:51-72.
- Anderson, J.F. 1974. Responses to starvation in the spiders *Lycosa lenta* Hentz and *Filistata hibernalis* Hentz. *Ecology* 55: 576-585.
- Anderson, J.F. y K.N. Prestwich 1982. Respiratory exchange in spiders. *Physiological Zoology* 55: 72-90.
- Anderson, J.F. y K.N. Prestwich. 1985. The physiology of exercise at the above maximal aerobic capacity in a theraphosid (tarantula) spider *Brachypelma smithi* (F.O. Pickard-Cambridge). *Journal of Comparative Physiology B* 1985: 529-539.
- Angersbach, D. 1978. Oxygen transport in the blood of the tarántula *Euripelma californicum*: PO₂ and PH during rest, activity and recovery. *Journal of Comparative Physiology* 123: 113-125.

- Burkett, B. y Schneiderman, H. A. 1974. Role of oxygen and carbon dioxide in the control of spiracular function in *Cecropia pupae*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole 147,274 -293.
- Canals M, M.J. Salazar, C. Durán, D. Figueroa, C. Veloso. 2007. Respiratory Refinements in the mygalomorph spider *Grammostola Rosea* Walckenaer 1837 (Araneae, Theraphosidae). The Journal of Arachnology 35: 481-486.
- Carrel, J.E. y R.D. Heathcote. 1976. Heart rate in spiders: influence of body size and foraging energetics. Science 193: 148-150.
- Cavieres, G. 2007. Heterogeneidad ambiental y variabilidad de la respuesta plástica en los rasgos energéticos y osmoregulatorios de *Zonotrichia capensis* a lo largo de un gradiente latitudinal. Tesis para optar al grado de magíster en ciencias biológicas m/c Ecología y Biología Evolutiva. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile.
- Chown, S. L. 2002. Respiratory water loss in insects. Comp. Biochem. Physiol. 133A,791 -804.
- Chown, S.L. Nicholson, S.W. 2004. Insect Physiological Ecology Oxford University Press, Oxford.
- Davis, M.E. y Edney, E.B. 1952. The evaporation of water

- from spiders. *J Experimental Biology* 29: 571-582.
- Duncan, F.D. y Byrne, M.J. 2005. The role of the mesothoracic spiracles in respiration in flighted and flightless dung beetles. *The Journal of experimental biology* 208:907-914.
- Fincke, T y R. Paul (1989). Book lung function in arachnids. III. The function and control of the spiracles. *J Comp Physiol B* 159:433-441.
- Foelix, R.F. 1996. *Biology of spiders*. Oxford University Press, New York, Oxford.
- Gibbs, A. G.; Fukuzato, F. y L. M. Matzkin. 2003. Evolution of water conservation mechanisms in *Drosophila*. *J E Exp Biol* 206(7): 1183 - 1192.
- Greenstone, M.H. y A.F. Bennett 1980. Foraging strategy and metabolic rate in spiders. *Ecology* 61:1255-1259.
- Hadley, N.F.; Ahearn, G.A.; Howarth, F.G. 1981. Water and metabolic relations of cave-adapted and epigean lycosid spiders in Hawaii. *J Arachnology* 9: 215-222.
- Hadley, N.F. y Quinlan, M.C. 1989. Cuticular permeability of the black widow spider *Latrodectus Hesperus* *J Comp Physiology* 159: 243-248.
- Hill, R.W. 1980. Intercambios de oxígeno y dióxido de carbono: principios básicos, medios respiratorios y

respiración externa. **In:** Fisiología animal comparada: un enfoque ambiental. Editorial Reverté. Barcelona. España. p. 405-516.

Klok, C.J., Mercer, R. D. y Chown, S.L. 2002. Discontinuous gas-exchange in centipedes and its convergent evolution in tracheated arthropods. *The Journal of Experimental Biology* 205: 1019-1029.

Lehmann, F-O. 2001. Matching spiracle opening to metabolic need during flight in *Drosophila*. *Science* 294, pp. 1926-1929.

Lighton, J.R.B.; Brownell, P.H.; Joos, B. y Turner, R. 2001. Low metabolic rate in scorpions. Implications for population biomass and cannibalism. *J Exp. Biol* 204:607-613.

Lighton, J.R.B.; Schilman, P.E. y Holway, D.A. 2004. The hyperoxic switch: assessing respiratory water loss rates in tracheate arthropods with continuous gas exchange. *J of Exper Biol* 207: 4463-4471.

Nespolo, R.F.; Artacho, P. y Castañeda, L.E. 2007. Cyclic gas-exchange in the Chilean red cricket: interindividual variation and thermal dependence. *The Journal of Experimental Biology* 210: 668-675.

Paul, R.; Fincke, T. y B. Linzen. 1987. Respiration in the

- tarantula *Eurypelma californicum*: evidence for diffusion lungs. *Journal of Comparative Physiology B* 157: 209-217.
- Paul, R.; Fincke, T. y B. Linzen. 1989. Book lung function in arachnids. I. Oxygen uptake and respiratory quotient during rest, activity and recovery -relations to gas transport in the haemolymph. *Journal of Comparative Physiology B* 159: 409-418.
- Quinlan MC, Gibbs AG. 2006. Discontinuous gas exchange in insects. *Respir Physiol Neurobiol.* 154(1-2):18-29. Review.
- Sabat, P.; Cavieres, G.; Veloso, C. y M. Canals. 2006. Water and energy economy of an omnivorous bird: population differences in the rufous-collared sparrow (*Zonotrichia capensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology.* 144A: 485-490.
- Schmidt-Nielsen, K. 1998. Respiration. **In:** *Animal physiology: adaptation and environment.* 5th ed. Cambridge University Press. New York. USA. p. 5-64.
- Schmitz, A. 2005. Spiders on a treadmill: influence of running activity on metabolic rates in *Pardosa lugubris* (Araneae Lycosidae) and *Marpissa muscosa* (Araneae Salticidae) *J Exp Biology* 208: 1401-1411.

- Schmitz, A. y S.F. Perry. 2001. Bimodal Breathing in jumping spiders: morphometric partitioning of the lungs and tracheae in *Salticus scenicus* (Arachnida, Araneae, Salticidae). *The Journal of Experimental Biology* 204:4321-4334.
- Schneiderman H. 1960. Discontinuous Respiration in Insects: Role of the Spiracles. *Biological Bulletin*, Vol. 119, No. 3, pp. 494-528.
- Seymour, R.S. y A. Vinegar. 1973. Thermal relations, water loss and oxygen consumption of a North American tarantula. *Comparative Biochemistry and Physiology* 44A:83-96.
- Strazny, F. y S.F. Perry. 1984. Morphometric diffusing capacity and functional anatomy of the book lungs in the spider *Tegenaria spp.* (Agelenidae). *Journal of Morphology* 182: 339-354.
- Terblanche, J. S.; Klok, C. J.; Marais, E. y Chown, S.L. 2004. Metabolic rate in the whip spider, *Damon annulatipes* (Archnida: Amblypygi). *Journal of Insect Physiology* 50: 637-645.
- Williams, J.B. 1996. A phylogenetic perspective of evaporative water loss in birds. *Auk* 113: 457-472.
- Vollmer, A.T.; Mac Mahon, J.A. 1974. Comparative water

relations of five species of spiders from different habitats. *Comp Biochem Physiology* 47 A 753-765.

Walsberg, G.E. y Wolf B. 1995. Variation in the respiratory quotient of birds and implications for indirect calorimetry using measurements of carbon dioxide production. *The Journal of Experimental Biology* 198, 213-219.

<http://www.the-lizard->

[lounge.com/content/insects/mealworms.asp](http://www.the-lizard-lounge.com/content/insects/mealworms.asp). Composición larvas de *Tenebrio molitor*.

Zachariassen K.E. 1996. The water conserving physiological compromise of desert insects. *Eur. J. Entomol.* 93:359-367.