

Efecto de varios agentes, a diferentes niveles de pH, sobre la tasa de filtración de la piangua, *Anadara tuberculosa* (Mollusca: Arcidae)

Eric Wong¹, María Isabel González², Florencia Antillón³ y Eduardo Glenn³

¹ Escuela de Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica 2060 Costa Rica.

² Estadística, Escuela de Economía Agrícola, Universidad de Costa Rica 2060 Costa Rica.

³ Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica 2060 Costa Rica.

Recibido 4-IX-1996. Corregido 6-XI-1996. Aceptado 17-III-1997.

Abstract: The effect of lemon juice, lactic acid, acetic acid and a citric seed extract, at different pH levels, on the filtration rate of the "piangua" (*Anadara tuberculosa*) was studied. The study is particularly important because it can be helpful to establish the conditions to be used for depuration systems based on the use of acid compounds. Specimens with diameters ranging from 4.0 to 4.5 cm, were collected from a harvester at the estuary of Puntarenas, Gulf of Nicoya. Bottles containing 1 l of saline solution (25g/l) were prepared in triplicates, adjusting the pH to 4.5, 5.0, 5.5, or 6.0 with each one of the following acids: lemon juice (*Citrus aurantifolia*), acetic acid (4% V/V), lactic acid (85%V/V) and CITREX (a commercial extract of citric seeds). Each bottle was oxygenated to saturation and held at room temperature. Also in triplicates, control essays were performed at pH 7.0. One animal was added to each bottle, and the filtration rate was determined every 8 hr for 48 hr. Citrex caused the death after 10 minutes of exposure. A neutralization of the initial pH levels was found for the different treatments, slowest for acetic acid, followed by lactic acid and lemon juice. No significant difference was found between filtration rates in presence of the acid compounds and the filtration rate of the control assay. The tendency found for the filtration rate was a cyclic, non decreasing, normal one, showing that the acid compounds, in the range of the observed pH values, caused no affection on the animals' metabolism.

Key words: *Anadara*, filtration rate, lemon juice, lactic acid, acetic acid, CITREX

La especie *Anadara tuberculosa*, conocida comúnmente como piangua, es un molusco bivalvo frecuente en los ecosistemas de manglares y se distribuye desde la Laguna Ballenas en Baja California, Estados Unidos, hasta el sur de Tumbes, Perú (Keen 1971). Estos animales son cosechados en los principales manglares de las regiones comprendidas entre esos puntos y de acuerdo con Cruz *et al.* (1983), ofrecen excelentes posibilidades para el desarrollo pesquero y la maricultura.

Al igual que otros bivalvos, *Anadara tuberculosa* respira y se alimenta por medio de un mecanismo de filtración, como respuesta a su condición de animal sedentario. La actividad de filtración se da a través de los sifones o branquias con que cuentan las especies de bi-

valvos. Estas estructuras permiten que el animal promueva una corriente del agua que lo rodea y que ésta sea inhalada permitiéndole atrapar o concentrar las partículas alimenticias presentes en ella (Cantelmo *et al.* 1992).

Las pianguas se encuentran enterradas dentro del lodo de los manglares, y permanecen prácticamente inactivas cuando la marea está baja y no hay agua suficiente en su entorno. Se sabe además, que la piangua se ve afectada por cambios en la salinidad, temperatura y pH del agua, que de presentarse en situaciones extremas causan la inactivación de su metabolismo (Fournier 1994 com.pers.). Según Madrigal *et al.* (1985), no solo la temperatura, el pH y la salinidad afectan la tasa de filtración de los bivalvos, también influyen directamente la talla

del organismo, la concentración de alimento disponible, el ritmo de las mareas y la velocidad de las corrientes. En promedio, y en condiciones normales, las pianguas filtran diariamente 50 litros de agua (Fernández. *et al.* 1977).

El proceso de filtración puede ser evaluado por medio de diversas variables que se han definido en otras investigaciones como la de Madrigal *et al.* (1985), quienes afirman que el metabolismo de los bivalvos puede estudiarse determinando la capacidad de retención, asimilación, la tasa de bombeo, o la tasa de filtración. Esta última se define como el volumen de agua filtrada, libre de partículas, por unidad de tiempo y se mide en forma indirecta suspendiendo algún tipo de partícula en un volumen determinado de agua, y observando la disminución en la concentración de dichas partículas como consecuencia de la actividad metabólica de los animales a lo largo de un tiempo determinado.

En esa misma investigación se determinó que la tasa de filtración óptima (4.5 l/h) para el ostión de manglar (*Crassostea rhizophorae*) se obtiene a una salinidad de 25 g/l y a una temperatura de 28°C, condiciones que se presumen cercanas a las óptimas de otros bivalvos como las pianguas. Sin embargo, el efecto del pH sobre el metabolismo de los bivalvos ha sido poco estudiado, y por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar, a diferentes niveles de pH, el efecto de algunos ácidos naturales y no tóxicos sobre la tasa de filtración de las pianguas. De esta forma, el estudio puede servir como marco para definir sistemas óptimos de depuración de bivalvos, cuyo éxito depende de una adecuada filtración en los animales.

MATERIALES Y METODOS

Las pianguas utilizadas en este estudio fueron recolectadas en el estero de Puntarenas, Chacarita, Golfo de Nicoya, Costa Rica. Se utilizaron pianguas con tallas comprendidas entre 4.0 y 4.5 cm de diámetro, las cuales fueron colocadas en los diferentes tratamientos tan pronto como fue posible (máximo cuatro horas), con el fin de minimizar la afección de su metabolismo por haber sido extraídas de su hábitat natural.

Los agentes ácidos empleados fueron: jugo puro de limones criollos (*Citrus aurantifolia*), vinagre sintético (ácido acético) (Columbia)

con una concentración de 4% V/V, ácido láctico al 85% V/V (J.T. Baker Chemical Company) y un extracto comercial de semillas de cítricos (CITREX).

Para los ensayos "in vitro" se utilizaron recipientes de vidrio con capacidad para 1 l de agua y una solución salina preparada con agua de la cañería que se mantuvo en reposo por 24 hr, a la cual se agregó sal cruda sin tratar, obtenida de la deshidratación al sol de agua de mar, a una concentración de 25 g/l (Madrigal *et al.* 1985). La oxigenación de los ensayos se llevó a cabo utilizando motores de pecera de alto rendimiento (MAXIMA), los cuales suministraron la presión requerida para lograr saturar con oxígeno la solución salina. Para que la oxigenación de todos los acuarios fuera la misma, se utilizaron mangueras y válvulas de paso plásticas.

En los recipientes necesarios se colocó un litro de solución salina, se incluyó oxigenación a saturación y se mantuvieron a temperatura ambiente. Se prepararon los diferentes ensayos ajustando la solución salina a niveles de pH de 4.5, 5.0, 5.5 y 6.0 para cada uno de los agentes investigados, y por triplicado. Se preparó también por triplicado un ensayo control con la solución salina ajustada a un pH de 7.0.

En cada recipiente preparado se colocó una piangua. A partir de ese momento, cada 8 hr, y por un período de 48 hr, se midió el pH de cada recipiente y se determinó la tasa de filtración de las pianguas de acuerdo con el método espectrofotométrico descrito por Madrigal *et al.* (1985), midiendo la concentración de azul de metileno, el cual se agregó a los recipientes en una concentración inicial de 0.003% antes de colocar cada piangua.

El diseño correspondió a un irrestricto al azar, en un arreglo factorial desbalanceado 4 x 4 x 6 (pH x agente x tiempo), que produjo 96 tratamientos más 6 tratamientos control (control x tiempo). Todos los análisis de resultados se efectuaron utilizando el paquete estadístico SAS.

Mediante el módulo GLM del paquete estadístico utilizado se realizó un análisis de covariancia con el fin de determinar la significancia de cada efecto simple (pH inicial, tiempo, agente) y sus interacciones. Se utilizó como covariable el pH observado a través del tiempo, y como variable dependiente la absorbancia, de la cual se deriva la tasa de filtración. También se estudió la tendencia de la tasa de filtración de las pianguas en el tiempo, mediante un análisis de regresión.

Por otra parte se realizó un análisis de variancia utilizando como variable dependiente el pH observado a través del tiempo, con el fin de estudiar la significancia de los efectos simples (tiempo, pH inicial y agente) y sus interacciones. También se llevó a cabo un análisis de regresión para determinar la tendencia del pH observado en el tiempo para cada uno de los agentes y con un pH inicial de 4.5.

RESULTADOS Y DISCUSION

El extracto de semillas de cítricos causó la muerte de las pianguas, en todos los niveles de pH ensayados, 10 minutos después de agregar el animal en el recipiente respectivo. Por lo tanto, el análisis de los resultados no incluye los datos correspondientes a los tratamientos con el extracto.

En el resto de los tratamientos el pH inicial no se mantuvo constante sino que aumentó en el tiempo de la observación. El análisis de variancia correspondiente reveló que los valores de pH observado para los diferentes agentes y tiempos fueron distintos ($p=0.0001$). También se determinó que la tendencia de neutralización en el tiempo fue diferente para cada uno de los agentes, en vista de que la interacción agente-tiempo fue significativa ($p=0.0001$).

Como ejemplo pueden analizarse los datos (Cuadro 1) y las tendencias (Fig.1) para los tratamientos con un pH inicial de 4.5. Las pendientes encontradas para los ajustes lineales de las curvas de neutralización para cada agente fueron significativas ($p=0.0001$) y confirman que esta tendencia es diferente entre ellos. Mientras que la neutralización del jugo de limón y del ácido láctico sigue un comportamiento muy similar después de las 24 hr, la del ácido acético se diferencia marcadamente desde las 16 hr. La pendiente de neutralización del ácido acético (0.49) es menor que la del jugo de limón (0.55) y el ácido láctico (0.51), indicando que, a pesar de que las tasas de filtración fueron similares entre los agentes, en el caso del vinagre ocurrieron a niveles inferiores de pH.

CUADRO 1

Valor de pH observado en el tiempo, según agente.

Tiempo (horas)	Acido acético	Jugo de limón	Acido láctico
0	4.5	4.5	4.5
8	4.7	5.1	5.2
16	4.9	5.4	6.1
24	5.4	6.8	6.9
32	6.0	7.3	7.4
40	6.9	7.5	7.6
48	7.2	7.6	7.8

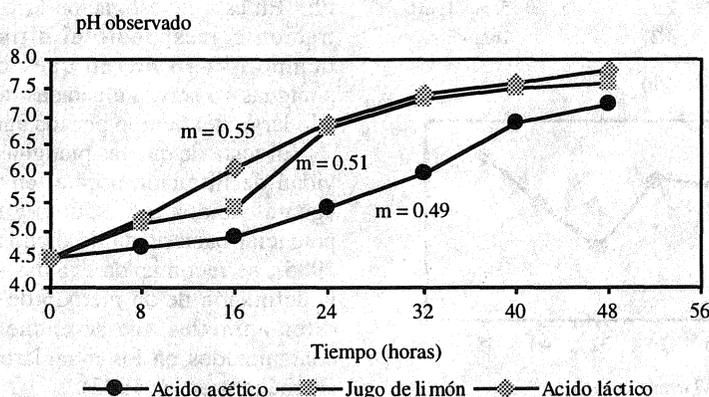


Figura 1. Valor de pH observado en el tiempo, según agente.

A pesar de que no se estudiaron las posibles causas de la neutralización encontrada, se plantea como hipótesis que ésta pudo deberse a una reacción del organismo contra el cambio de pH en su hábitat. También pudo deberse a una interacción del ácido con la concha de este bival-

vo que está compuesta por carbonato de calcio (Keen 1971).

La neutralización inesperada del pH en presencia de la piangua implicó la utilización de un análisis de covariancia para estudiar la tasa de filtración, definiendo al pH observado como

la covariable. De acuerdo con dicho análisis, las tasas de filtración obtenidas para cada uno de los agentes no fueron significativamente diferentes a las tasas obtenidas para el control ($p=0.4279$). Esto implica que las pianguas filtraron de la misma forma en presencia de ácido que en su ausencia.

El efecto del tiempo sobre la tasa de filtración fue significativo ($p=0.0001$), indicando que la tasa de filtración no fue constante a lo largo de las 48 hr de estudio. En vista de que la interacción agente-tiempo fue no significativa ($p=0.9491$), lo que equivale a decir que la tendencia de la tasa de filtración en el tiempo fue la misma para cualquier tratamiento, se obtuvo una gráfica de la tasa promedio de filtración en el tiempo (Cuadro 2 y Fig. 2).

CUADRO 2.

Tasa de filtración promedio, según intervalo de tiempo y hora de medida, para las pianguas mantenidas en una solución salina a 25 g/l y en un ámbito de temperatura de 15 a 28°C

Intervalo de tiempo (horas)	Tasa de filtración (l/h)	Hora de medida
0 - 8	1.59	9pm - 5am
8 - 16	2.66	5am - 1pm
16 - 24	2.80	1pm - 9pm
24 - 32	1.43	9pm - 5am
32 - 40	2.31	5am - 1pm
40 - 48	3.27	1pm - 9pm

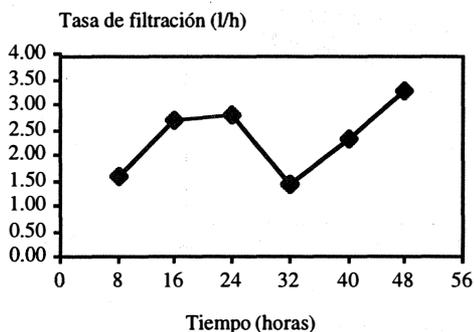


Figura 2. Tasa de filtración promedio, según tiempo, para las pianguas mantenidas en una solución salina a 25 g/l y en un ámbito de temperatura de 15 a 28°C.

La tendencia encontrada pareciera corresponder a una tendencia cíclica en el tiempo, y no a una decreciente. Los coeficientes de re-

gresión (m), de diferentes ajustes realizados, fueron no significativos e indican que la tendencia no responde a un comportamiento lineal ($p=0.3756$), cuadrático ($p=0.3470$) o semilogarítmico ($p=0.4227$). Por lo tanto, se puede afirmar que los agentes estudiados no causan una afección en el metabolismo de la piangua, comparados con el control.

Es notoria en la curva la presencia de dos mínimos y dos máximos para la tasa de filtración. La hora de medida para los dos mínimos fue la misma (9pm a 5am) (Cuadro 2), al igual que para los dos máximos (1pm a 9pm), y es coherente además con lo que plantean Madrigal *et al.* (1985), quienes afirman que la tasa de filtración de los bivalvos disminuye conforme disminuye la temperatura en su hábitat y viceversa. La temperatura mínima encontrada en el estudio (15°C) correspondió al período de las 9pm a las 5am en donde la tasa fue mínima, y la temperatura máxima (28°C) correspondió al período en el que la tasa de filtración fue máxima, es decir de 1pm a 9pm.

Adicionalmente, las tasas de filtración encontradas para las pianguas, entre 1.43 y 3.27 l/h, son coherentes en magnitud con las que informan para otros géneros de bivalvos. Madrigal *et al.* (1985) encontraron una tasa máxima de 4.5 l/h para el ostión de manglar, y Fernández y Brunker (1977) afirman que la tasa de filtración promedio de los bivalvos es de 2.08 l/h. En esta investigación la mayor tasa de filtración correspondió al último intervalo de tiempo (40-48 hr.) lo que confirma que las pianguas no se ven afectadas de forma negativa a lo largo del tiempo por los agentes ácidos.

En vista de que las pianguas tienen una actividad de filtración normal en presencia de los agentes ácidos estudiados, y considerando el potencial bactericida de dichos agentes (Lueck 1985), se recomienda evaluar su utilización en la definición de un método de depuración para estos animales que se encuentran altamente contaminados en los manglares de Costa Rica (Fernández *et al.* 1983).

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a María Luisa Fournier (ECOTEC) por su asesoría, especialmente en el establecimiento de las condiciones de cultivo "in vitro" para las pianguas. A Laura Villalo-

bos, de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, por su significativo aporte.

RESUMEN

Se estudió el efecto de jugo de limón, ácido láctico, ácido acético y un extracto comercial de semillas de cítricos, a diferentes niveles de pH, sobre la tasa de filtración de la piangua (*Anadara tuberculosa*). Este estudio es particularmente importante porque puede ayudar a establecer condiciones para sistemas de depuración basados en compuestos ácidos. Se recolectaron especímenes cuyo diámetro midiera entre 4.0 y 4.5 cm, en el estero de Puntarenas, Golfo de Nicoya. Se prepararon por triplicado botellas con 1 l de solución salina ajustando el pH a 4.5, 5.0, 5.5 o 6.0 con cada uno de los siguientes ácidos: Jugo de limón (*Citrus aurantifolia*), ácido acético, (4% V/V), ácido láctico (85% V/V) y CITREX (un extracto comercial de semillas de cítrico). Cada botella fue oxigenada hasta la saturación y mantenida a temperatura ambiente. También por triplicado, se llevaron a cabo pruebas control a un pH de 7.0. Se agregó un animal a cada botella y se determinó la tasa de filtración cada 8 hr por 48 hr. El extracto de semillas de cítricos causó la muerte de las pianguas luego de 10 minutos de exposición. Se encontró una neutralización, en el tiempo, del pH inicial en los diferentes tratamientos, más lenta para el ácido acético, seguida por el ácido láctico y el jugo de limón. No se encontró diferencia significativa entre las tasas de filtración para los agentes ácidos y la tasa de filtra-

ción para el control. La tendencia de la tasa de filtración correspondió a una tendencia cíclica normal, no decreciente, demostrando que los agentes ácidos, en el ámbito de pH observado, no causan afección sobre el metabolismo de los animales.

REFERENCIAS

- Cantelmo, F. & T. Carte. 1992. A physiological indicator of hard clam commercial depuration. *MTS J.* 23:9-13.
- Cruz, R. & J. Palacios. 1983. Biometría del molusco *Anadara tuberculosa* en Punta Morales, Puntarenas, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 31:175-179.
- Fernández, B. & T. Brunker. 1977. Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica (I Parte). *Rev. Biol. Trop.* 25:101-107.
- Fernández, B. & T. Brunker. 1983. Estudio bacteriológico de bivalvos del Golfo de Nicoya, Costa Rica (II Parte). *Rev. Biol. Trop.* 31:311-316.
- Keen, A. 1971. *Sea shells of tropical West America*. Stanford University Press, Stanford California.
- Lueck, E. 1985. *Antimicrobial food additives*. Springer, Berlín.
- Madrigal, E. *et al.* 1985. Tasa de filtración del ostión de manglar, (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828), a diferentes salinidades y temperaturas. *Rev. Biol. Trop.* 33:77-79.