



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre variables hematológicas, bioquímicas y de composición muscular de cachama blanca *Piaractus brachypomus* durante la fase final de engorde

Effect of food deprivation and re-feeding on the hematological and biochemistry variables and composition of white muscle of cachama blanca *Piaractus brachypomus* during final phase of commercial production system

Fallon Yamile Riaño Jiménez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de ciencias para la
producción animal

Bogotá, Colombia

2012

**Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación
sobre variables hematológicas, bioquímicas y de
composición muscular de cachama blanca *Piaractus
brachypomus* durante la fase final de engorde**

Fallon Yamile Riaño Jiménez

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en producción animal

Director:

Zootecnista, Ph.D. Miguel Ángel Landines Parra

Línea de Investigación:

Fisiología

Grupo de Investigación:

Fisiología de peces

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de ciencias para

la producción animal

Bogotá, Colombia

2012

Dedicatoria

A tres seres que han sido apoyo, guía y amor; con su luz hicieron más fácil recorrer este camino hacia un enriquecimiento personal, académico y profesional:

A mi mami Beatriz Jiménez, símbolo de fortaleza y voluntad y mis abuelitos, segundos padres, Lilia Téllez y Calixto Jiménez símbolos de amor.

Agradecimientos

Expreso mis más sinceros agradecimientos:

Al Dr. Miguel Ángel Landines Parra director de la tesis, a quien agradezco su dedicación y apoyo, el cual me permitió la ejecución y el buen desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Nhora Martínez, por su valiosa colaboración en el análisis estadístico del presente trabajo.

Al ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por la financiación del proyecto.

A la estación piscícola la Terraza y los pasantes presentes entre junio y septiembre de 2009 por su apoyo y colaboración durante la ejecución de la fase de campo.

A los laboratorios de fisiología de peces e ictiología y su personal que fueron apoyo y acompañamiento fundamental durante la recolección, traslado y procesamiento de muestras.

Al laboratorio de nutrición animal de la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional, sede Bogotá, especialmente a Nancy Sánchez y Constanza Riveros, por su apoyo y acompañamiento durante el análisis de muestras.

Al laboratorio de Toxicología de la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional, sede Bogotá, especialmente al Dr. Gonzalo Días y Milena Cepeda por su apoyo, colaboración y acompañamiento durante el análisis de ácidos grasos.

Al laboratorio de nutrición animal de CORPOICA, especialmente a la Dra. Olga Mayorga por su apoyo en el desarrollo y aplicación de la técnica para medir glucógeno hepático.

Un agradecimiento especial a mi familia y mis más queridos amigos Pilar Moreno, Soliris Corredor, Yolanda Ojeda, Paola Moreno, Daniel Rodríguez, Diego Rodríguez, Nancy Sánchez y Diego Vargas quienes me ofrecieron su apoyo moral y profesional indispensable para la culminación de esta etapa.

Mi más sincero agradecimiento a una persona fundamental en el trabajo de los últimos meses, Juan de Jesús Vargas Martínez, quien de manera incondicional se convirtió en un gran apoyo personal y profesional.

Finalmente, a todas aquellas personas que de alguna manera me ayudaron al logro de este objetivo.

DECLARATORIA DE ORIGINALIDAD

DECLARO QUE LOS RESULTADOS DE ESTA TESIS SON TOTALMENTE ORIGINALES.

Yo certifico, como el autor de esta tesis y como primer autor de las publicaciones resultantes, que yo era la persona principalmente involucrada en los procesos de diseño y aplicación del estudio, igualmente en la fase de análisis de resultados y preparación de manuscritos, así mismo expreso que la información derivada de los artículos publicados y no publicados del trabajo de los demás ha sido reconocida en el texto y las referencias aparecen en la bibliografía. Aseguro que la tesis no ha sido presentada a evaluación en otra institución.

Fallon Yamile Riaño Jiménez

Resumen

Los ciclos climáticos, las migraciones como estrategia reproductiva o simplemente la falta de disponibilidad de alimento son factores que llevan a diferentes especies de peces tanto en su medio ambiente como en cautiverio a enfrentar periodos de ayuno o restricción alimenticia. El propósito del presente trabajo, fue medir la respuesta en la etapa final de un sistema de producción comercial de cachama blanca *Piaractus brachypomus*, bajo diferentes protocolos de restricción alimenticia y posterior realimentación, a través de variables sanguíneas, glucógeno hepático y composición del músculo blanco. Por un periodo de 12 semanas y bajo condiciones normales de producción en estanques de tierra, se seleccionaron y dividieron algunos ejemplares de cachama blanca en tres grupos, el primero de ellos identificado como el grupo control fue alimentado de manera convencional (todos los días); el segundo, denominado como el grupo de restricción moderada fue alimentado por tres días y restringido por dos días de manera consecutiva hasta la semana 10, seguido por 2 semanas de alimentación convencional; el tercero, denominado el grupo de restricción severa tuvo una restricción alimenticia completa de 6 semanas, seguidas de 6 semanas de realimentación. Al finalizar el periodo de restricción no se observaron cambios en las variables hematológicas que pudieran indicar una alteración en el bienestar animal; mientras que los niveles de glucosa y triglicéridos en plasma, glucógeno hepático y lípidos en músculo del grupo de restricción severa presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto al grupo control, señalando que hubo una movilización de reservas corporales necesarias para cubrir la demanda energética. Sin embargo, una vez iniciado el periodo de realimentación se observó una rápida recuperación en dichas variables. Por otro lado, el grupo de restricción moderada no mostró respuestas que indicaran un cambio significativo

en su metabolismo respecto al grupo control. Al finalizar el ensayo no se observaron diferencias entre los grupos restringidos y el grupo control que indicaran un perjuicio en el estatus de salud o de composición muscular.

Palabras clave: Ácidos grasos, cachama blanca, cortisol, glucógeno hepático, metabolitos plasmáticos, *Piaractus brachypomus*, realimentación, restricción alimenticia.

Abstract

Climate cycles, spawning migrations or just lack of food availability are factors that lead to different fish species in both their environment and in captivity to deal with periods of fasting or food deprivation. The aim of this paper was measure the response in final phase of commercial production system of the cachama blanca *Piaractus brachypomus*, under different protocols of feed restriction and subsequent re-feeding, through blood variables, liver glycogen and composition of white muscle. During twelve weeks under normal production conditions in earthen pounds, were selected and divided some specimens of cachama blanca into three groups, the first one was identified as the control group that it was fed normally (every day); the second one was named as moderate restriction group, this group was fed during three days and then restricted during two days consecutively until week number 10, followed by two weeks of normal feeding; the third one, identified as severe restriction group had complete feed restriction during six weeks, followed by six weeks of re-feeding. At the end of the restriction period, it did not show changes in hematological variables that might indicate a disturbance in animal welfare; while the plasma glucose and triglycerides levels, hepatic glycogen and white muscle lipid of severe restriction group, showed significant differences ($p < 0.05$) in comparison with the control group, indicating there was a mobilization of reserves for covering the energetic demand. However, once the re-feeding period was started it presented a fast recuperation of above variables

mentioned. On the other hand, moderate restriction group did not show responses that might indicate a significant change in their metabolism in comparison with the control group. At the end of the experiment did not present differences among the restricted groups and the control group that would indicate a deleterious of the health status or muscle composition.

Keywords: Fatty acids, cachama blanca, cortisol, hepatic glycogen, plasma metabolites, *Piaractus brachypomus*, re-feeding, fasting.

Contenido

	Pág.
Resumen	XI
Lista de figuras	XVII
Lista de tablas	XIX
Introducción	1
1. Restricción alimenticia y realimentación en peces	7
Resumen	7
1.1 Introducción.....	8
1.2 Fuentes de energía y metabolismo en periodos de restricción alimenticia	10
1.3 Efecto de la restricción alimenticia sobre otras hormonas.....	16
1.4 Crecimiento compensatorio	18
1.5 Efectos de la restricción alimenticia sobre la composición corporal.....	20
1.6 Especie experimental.....	23
1.7 Referencias bibliográficas.....	25
2. Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre variables hematológicas, bioquímicas en plasma y sobre los niveles de glucógeno hepático en <i>Piaractus brachypomus</i>	37
Resumen	37
2.1 Introducción.....	38
2.2 Materiales y métodos	39
2.2.1 Localización	39
2.2.2 Material biológico.....	39
2.2.3 Tratamientos y manejo experimental.....	40
2.2.4 Obtención y análisis de muestras	42
2.2.5 Análisis bioquímicos en plasma y glucógeno hepático	43
2.2.6 Análisis estadístico	44
2.3 Resultados.....	45
2.3.1 Hematocrito	45
2.3.2 Hemoglobina.....	46
2.3.3 Glucosa.....	47
2.3.4 Triglicéridos	48
2.3.5 Colesterol.....	49
2.3.6 Proteínas totales.....	50
2.3.7 Cortisol.....	50
2.3.8 Glucógeno hepático.....	51

2.4	Discusión	52
2.5	Conclusiones	66
2.6	Referencias bibliográficas	67
3.	Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre la composición del músculo blanco de <i>Piaractus brachypomus</i>	73
	Resumen	73
3.1	Introducción	74
3.2	Materiales y métodos	76
3.2.1	Localización	76
3.2.2	Material biológico	76
3.2.3	Tratamientos y manejo experimental	77
3.2.4	Obtención y análisis de muestras	79
3.2.5	Análisis estadístico	81
3.3	Resultados	83
3.3.1	Cenizas	83
3.3.2	Proteína	84
3.3.3	Extracto etéreo	85
3.2.1	Energía	85
3.3.4	Ácidos grasos	86
3.3.5	Cantidad de nutrientes finales	88
3.4	Discusión	88
3.5	Conclusiones	99
3.6	Referencias bibliográficas	99
4.	Conclusiones y recomendaciones	107
4.1	Conclusiones	107
4.2	Recomendaciones	108

Lista de figuras

	Pág.
FIGURA 1-1: EJEMPLAR DE CACHAMA BLANCA <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i>	23
FIGURA 2-1: GLUCOSA PLASMÁTICA (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN.	47
FIGURA 2-2: TRIGLICÉRIDOS PLASMÁTICOS (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN.	48
FIGURA 2-3: COLESTEROL PLASMÁTICO (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN.	49
FIGURA 2-4: PROTEÍNAS TOTALES PLASMÁTICAS (MEDIA \pm DS) EN <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN.....	50
FIGURA 2-5: GLUCÓGENO HEPÁTICO (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN	52

Lista de tablas

	Pág.
TABLA 1-1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> Y NOMBRES COMUNES SEGÚN LA REGIÓN.	24
TABLA 2-1: PORCENTAJE DE ALIMENTACIÓN CON BASE EN LA BIOMASA	41
TABLA 2-2. VARIABLES SANGUÍNEAS Y GLUCÓGENO HEPÁTICO EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> PREVIOS AL INICIO DEL EXPERIMENTO.....	45
TABLA 2-3: VARIABLES HEMATOLÓGICAS (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDAS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN	46
TABLA 2-4: CORTISOL PLASMÁTICO (MEDIA \pm DS) EN EJEMPLARES DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN	51
TABLA 3-1: COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA (%) Y ÁCIDOS GRASOS (%) DEL ALIMENTO BALANCEADO.....	78
TABLA 3-2: COMPOSICIÓN INICIAL DEL MÚSCULO DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> EN PORCENTAJE DE MATERIA SECA.	83
TABLA 3-3: COMPOSICIÓN (MEDIA \pm DS) DEL MÚSCULO BLANCO EN PORCENTAJE DE MATERIA SECA, DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> SOMETIDOS A RESTRICCIÓN DE ALIMENTO Y POSTERIOR REALIMENTACIÓN.	84
TABLA 3-4: ÁCIDOS GRASOS (MEDIA \pm DS) E ÍNDICE N6/N3 DEL MÚSCULO BLANCO DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> AL FINAL DEL PERIODO DE REALIMENTACIÓN.....	86
TABLA 3-5: PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS (%) DEL MÚSCULO BLANCO DE <i>PIARACTUS BRACHYPOMUS</i> AL FINAL DEL PERIODO DE REALIMENTACIÓN	87

Introducción

Dentro de los sistemas productivos que contribuyen al aporte de proteína de origen animal para consumo humano, la acuicultura se ha caracterizado en los últimos años por su acelerado crecimiento, destacándose como una alternativa de producción de alimento de alta calidad nutricional (FAO, 2003) con aporte fundamental a la seguridad alimentaria del planeta. Por otro lado, también se ha convertido en una importante fuente de empleo e ingresos para el hombre (FAO, 2001). En nuestro país, parte del crecimiento y desarrollo tecnológico se debe entre otros factores a la drástica disminución de los recursos pesqueros en el medio natural (Merino *et al.*, 2006), ocasionada por factores como la contaminación, el deterioro ambiental y la sobrepesca. Evidencia de esto se observa en el año 1986 con una producción de tan solo 1.256Tn, superada significativamente en 1999 con 51.376Tn. Sin embargo, en el año 2000 se observó una fuerte caída de la producción en aproximadamente 21.461Tn, a pesar de esto en el 2001 comenzó una admirable recuperación (Espinal *et al.*, 2005). Aunque no superada la cifra del año 1999, ya para el año 2004 la acuicultura nacional reportó el 41% de la producción pesquera total (Salazar, 2001; Merino *et al.*, 2006). En este mismo año a nivel mundial se estimó un consumo *per capita* de 16,6 Kg (peso vivo) (FAO, 2007), posterior a ello en el 2006 aproximadamente el 50% del pescado consumido en el mundo provino de la acuicultura (FAO, 2006), lo cual significa que dicha actividad continua creciendo rápidamente comparada con otras producciones del sector pecuario (FAO, 2007), siendo una alternativa eficiente frente a la disminución de la pesca marina y continental (FAO, 2006).

Por las razones anteriores, se debe propender por el desarrollo y establecimiento de estrategias productivas que hagan más eficientes, sostenibles y respalden el crecimiento acelerado de los sistemas productivos acuícolas. Es así, que estrategias como el uso de periodos de restricción alimenticia y realimentación han sido evaluadas por varios años con el objeto de optimizar las tasas de crecimiento e índices productivos (Johansen y Overturf, 2006). Asimismo, estas metodologías también se perfilan como una herramienta útil que permitiría la reducción de los costos de alimento, los cuales, según Espinal *et al.* (2005), pueden llegar a constituir hasta el 80% de los costos de producción, razón por la cual estudios referentes al desarrollo de protocolos de restricción alimenticia y realimentación en peces han llamado la atención no solo por su interés científico, sino porque constituyen una estrategia más económica (Carvalho y Urbinati, 2005; Reigh *et al.*, 2006), que adicionalmente, puede favorecer la disminución de la eutrofización de los cuerpos de agua, debido a un menor vertimiento de materia orgánica en los efluentes.

Este tipo de protocolos además de ser utilizados con el fin de mejorar los parámetros de crecimiento también han sido objeto de estudio para mejorar índices reproductivos con especial interés en especies reofílicas, las cuales tienen una marcada disminución del consumo durante el periodo de reproducción, sin que esto llegue a afectar el rendimiento reproductivo. Cabe anotar que factores como la temperatura y la edad pueden ser determinantes en la obtención de resultados, asimismo, pueden limitar la comparación entre especies y no permitir que los resultados sean reproducibles en todos los sistemas de producción.

Por otro lado, la producción acuícola nacional se ha caracterizado por trabajar con frecuencia las mismas especies, tilapia, trucha, camarón y cachama blanca, siendo esta última, la única de las especies nativas con importancia comercial, la cual, aunque no iguala los niveles de producción y comercialización de la tilapia, es líder en regiones como el Meta, razón por la que se debe profundizar en el

conocimiento que se tiene de ella y así fortalecer el paquete tecnológico para su sistema de producción.

Por lo tanto, se plantearon dos protocolos de restricción alimenticia de tipo moderado (33,3%) y severo (50%) seguidos de periodos de realimentación, los cuales fueron comparados con un grupo control que recibió una ración alimenticia normal a la suministrada bajo condiciones de cultivo; con el propósito de evaluar el impacto de estos periodos y la manera como los individuos responden ante la falta de alimentación continua o alternada seguido de un restablecimiento en la disponibilidad de la misma, se midieron algunos metabolitos sanguíneos, índices de bienestar animal y se evaluó la composición muscular, durante la fase final de engorde de tres lotes de cachama blanca *Piaractus brachypomus* mantenidas en estanques de tierra, con fin comercial, con el propósito de verificar si los ejemplares de esta especie eran capaces de soportar periodos de restricción de alimento, y en caso de ser así, entender el proceso fisiológico mediante el cual lo hacían. Adicionalmente, se buscó entender el mecanismo de regulación energética y de movilización de nutrientes y si dicha movilización podría beneficiar la calidad del producto final en términos de composición muscular.

Tales parámetros son el punto de partida, para futuras investigaciones en las que también se evalúen los componentes económico (menores costos de producción) y medioambiental (reducción de vertimiento de nutrientes al efluente), cuya disminución sería de trascendental importancia en el mejoramiento del sistema de producción. No obstante, los mismos no se pueden evaluar, hasta tanto no se verifique la capacidad fisiológica de los animales para adaptarse a la situación de restricción.

Finalmente, se pretende hacer un aporte al conocimiento de la principal especie nativa de la piscicultura nacional, como una herramienta para la optimización de su producción en cautiverio.

Referencias bibliográficas

Carvalho, E. y Urbinati, E. 2005. Crescimento, desenvolvimento gonadal e composição muscular de matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido à restrição alimentar e realimentação durante um ano. *Ciência rural*, Santa Maria. 35 (4): 897-902.

Espinal, C. Martínez, H. y González, F. 2005. La cadena de la piscicultura en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Disponible en: www.agrocadenas.gov.co. 7 de octubre de 2007

FAO. 2001. Acuicultura sustentable para el alivio de la pobreza. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/y2419s/y2419s04.htm>. 7 de octubre de 2007

FAO. 2003. El papel de la acuicultura en la mejora de la seguridad alimentaria y la nutrición. Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/MEETING/006/Y8871s.HTM>. 7 de octubre de 2007.

FAO. 2006. State of world aquaculture: 2006. Chief publishing Management service. 145p.

FAO. 2007. The estate of world fisheries and aquaculture 2006. Electronic Publishing Policy and support Branch. 180p.

Johansen, K. A. y Overturf, K. 2006. Alterations in expression of genes associated with muscle metabolism and growth during nutritional restriction and refeeding in rainbow trout. *Comparative biochemistry and physiology, part B*.144: 119-127.

Merino, M. Salazar, G. y Gómez, D. 2006. Guía práctica de piscicultura en Colombia. Ministerio de agricultura y Desarrollo rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural MADR. 80p.

Reigh, R. Williams, M. B. y Jacob, B. J. 2006. Influence of repetitive periods of fasting and satiation feeding on growth and production characteristics of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 254:506-516

Salazar, G. 2001. Consideraciones generales sobre la acuicultura. En: Rodríguez, G.H. Daza, P.V. Carrillo, A.M. *Fundamentos De Acuicultura Continental*. Ministerio de agricultura y Desarrollo rural, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. pp. 1-18.

1. Restricción alimenticia y realimentación en peces

Resumen

En piscicultura, una práctica común de manejo es la restricción de alimento, la cual se utiliza en diferentes procesos dentro del sistema productivo. Tal práctica, está sustentada biológicamente por el hecho de que en la naturaleza periodos de ayuno y/o restricción alimenticia constituyen un evento normal y frecuente que forma parte del ciclo de vida de varias especies de peces, las cuales son altamente tolerantes a prolongados periodos de ayuno. Bajo estas condiciones, los individuos manifiestan cambios fisiológicos y metabólicos que les permiten enfrentar dichas circunstancias, los cuales involucran principalmente la utilización de las fuentes endógenas de energía y cuya eficiencia depende principalmente de la capacidad para movilizar nutrientes. Varios factores como la edad, el tipo y duración de la restricción, la temperatura y la historia nutricional, entre otros son determinantes durante la fase de restricción alimenticia y durante los posteriores procesos compensatorios que se observan cuando los individuos retornan a condiciones normales de alimentación, en los que es frecuente observar un restablecimiento de los distintos índices metabólicos y de crecimiento, siempre y cuando el periodo de ayuno o de restricción alimenticia no haya ocasionado daños irreversibles o que requieran mayores tiempos de realimentación. La dinámica de utilización de energía y de movilización de nutrientes durante periodos de restricción y realimentación tendiente a mantener la homeostasis, es presentada en el presente capítulo.

1.1 Introducción

Al igual que en algunos mamíferos, dentro de la naturaleza se encuentran diferentes especies acuícolas que enfrentan de manera natural u obligada periodos de ayuno o de restricción alimenticia, bien sea por causa de factores externos o de aquellos que forman parte de su ciclo de vida. Dichos factores pueden ser únicos o repetitivos, como son, las migraciones (Barboza y Jorde, 2001), dependencia materna (Arnould *et al.*, 2001), incubación y cría bucal de la progenie (Magno, 2003), comportamiento reproductivo (Ridelman *et al.*, 1983; Groscolas y Robin, 2001; Sanabria, 2002), disminución en la disponibilidad de alimento (Cavalli *et al.*, 1997; Feng *et al.*, 2010), ciclos hidrobiológicos (Weatherley y Gill, 1987; Gillis y Ballantyne, 1996), factores antrópicos (Hardy *et al.*, 2000) o cambios en las condiciones ambientales; por ello es necesario aclarar que el tópico al cual nos referimos en páginas posteriores es al de restricción alimenticia como una condición biológica en la cual un animal está disponible y es capaz de comer, pero a causa de una limitación estricta de la fuente alimenticia es incapaz de hacerlo (McCue, 2010).

Siendo la restricción alimenticia un evento posible y natural dentro del ciclo de vida de diferentes especies, ha sido posible identificar como las mismas exhiben mecanismos que les permiten adaptarse, ajustando la energía disponible con el propósito de sobrevivir y preservar las principales funciones del organismo, a través de la movilización de nutrientes con la consecuente pérdida de peso (Collins y Anderson, 1997; Mackenzie *et al.*, 1998; Carvalho, 2001). Estudios en peces sometidos a periodos de restricción alimenticia han demostrado que existen respuestas fisiológicas mediante las cuales se presenta una disminución de las reservas energéticas, re-direccionando la energía hacia el metabolismo de mantenimiento, lo cual se expresa con la disminución de la tasa de crecimiento, condición corporal, peso de diferentes órganos (hígado, músculo), tejido adiposo y un aumento en la movilización de glucosa, lípidos y aminoácidos de reserva

(Navarro y Gutiérrez, 1995, citado en Mackenzie *et al.*, 1998; Gillis y Ballantyne, 1996).

Cuando un organismo es sometido a un periodo en el que su ración alimenticia es restringida, exhibe diferentes cambios a nivel fisiológico y metabólico que le permiten sobrellevar el desafío al cual se enfrenta (Weatherley y Gill, 1987), estos cambios y las diferentes respuestas varían según sea la severidad de la restricción. Así, la pérdida de peso es una de las primeras manifestaciones que se pueden observar fácilmente como resultado de los diferentes cambios internos (Einen *et al.*, 1998; Power *et al.*, 2000; Quin *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000; Montserrat *et al.*, 2007). McCue (2010), señala que los cambios en la masa corporal (o pérdida de peso) son en resumen la suma de los cambios a nivel individual que sufren los diferentes órganos y tejidos; asimismo, la habilidad de estos al experimentar diferentes pérdidas de peso durante periodos de restricción alimenticia pueden sugerir algunos grados de prioridad respecto a su funcionalidad (Bosworth y Wolters, 2005), así, órganos o tejidos metabólicamente muy activos como el hígado o los intestinos muestran las mayores pérdidas de peso (Hornick *et al.*, 2000). Diferentes especies han mostrado una reducción del tejido gastrointestinal al reducir las demandas energéticas durante la restricción ya que en un estado normal de alimentación tienen un elevado costo metabólico de mantenimiento. Por otro lado, el hígado y el tejido adiposo sufren una pérdida de su peso de manera más lenta pero constante según se dé la movilización de sus nutrientes. Por el contrario, órganos como el corazón, cerebro, riñón y gónadas parecen no sufrir pérdidas considerables de peso lo cual sugiere que estos órganos por su función son preferencialmente salvados de los procesos catabólicos o por lo menos son catabolizados más lentamente (McCue, 2010).

Tras superar los periodos de restricción, cuando los individuos cuentan nuevamente con disponibilidad alimenticia, se observa una rápida recuperación en las reservas corporales, que se ve reflejada en el aumento del peso y el

restablecimiento de los diferentes índices fisiológicos y metabólicos (Weatherley y Gill, 1987).

Los efectos de la restricción alimenticia seguida de periodos de realimentación, han sido estudiados en diversas especies de peces de interés comercial (Sanabria, 2002; Bosworth y Wolters, 2005; Cho, 2005; Montserrat *et al.*, 2007), con el objeto de hacer más eficiente la producción de peces, encontrando diversos beneficios para los sistemas de producción, como ahorro en el tiempo del personal, disminución en los costos por alimentación, mejor eficiencia alimenticia y probablemente una reducción en la contaminación de los cuerpos de agua (Bosworth y Wolters, 2005; Cho, 2005).

Peces de clima frío han sido preferencialmente el objeto de estudio para evaluar el efecto de la restricción alimenticia, ya que están obligados a permanecer épocas del año a bajas temperaturas (Einen *et al.*, 1998), motivo por lo cual se ve reducida su actividad alimenticia (Hagen *et al.*, 2009) condición propia por ser ectotermos, lo cual constituye una ventaja frente a la restricción alimenticia pues a bajas temperaturas hay disminución de su tasa metabólica y por ende hay un descenso en el consumo de alimento; no obstante, especies de climas cálidos han mostrado resultados satisfactorios frente a periodos de restricción alimenticia seguidos de periodos de realimentación (Qian *et al.*, 2000).

1.2 Fuentes de energía y metabolismo en periodos de restricción alimenticia

“Todos los animales continuamente gastan energía, la cual es usada para el mantenimiento de las funciones vitales, pero ello no significa que constantemente se encuentren procesando alimento, por lo tanto ellos pueden resistir situaciones en las cuales dependen de sus fuentes endógenas para llevar a cabo diferentes procesos como supervivencia y reproducción (McCue, 2010)”.

En el ser humano son reconocidas tres importantes fuentes de energía: Glucógeno de tipo hepático y muscular, triglicéridos almacenados en el tejido adiposo y proteínas, las cuales son degradadas bajo condiciones críticas (Nelson y Cox, 2005). Estas mismas fuentes de energía han sido reportadas en diferentes estudios realizados en peces bajo periodos de restricción alimenticia (Shiau *et al.*, 2001, Barcellos *et al.*, 2010), en los cuales se evidencia una movilización de nutrientes corporales en proporciones diferentes, para cubrir los requerimientos de mantenimiento, respecto a ello, los peces como otros vertebrados pueden reducir su demanda energética, algunas veces disminuyendo su tasa metabólica lo cual se refleja con una disminución en el consumo de oxígeno (Weatherley y Gill, 1987). Por lo tanto, se requiere una reorganización de los procesos metabólicos como estrategia que permita usar las reservas energéticas (Gillis y Ballantyne, 1996).

Como regla general se ha observado una tendencia a conservar la proteína corporal a expensas del uso del glucógeno y las reservas de lípidos como fuente de energía (Echevarría *et al.*, 1997; Hornick *et al.*, 2000; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007), pero, cuando estas dos reservas son prácticamente agotadas se da una movilización de proteína principalmente del músculo esquelético (Metón *et al.*, 2003). No obstante, se ha demostrado que algunas especies tratan de preservar las reservas de glucógeno, usando proteína y lípidos como fuente de energía (Gillis y Ballantyne, 1996). Bosworth y Wolters (2005), señalan que durante periodos de restricción alimenticia la energía es mantenida a través de las vísceras y del músculo, mientras que los componentes estructurales de los individuos como el esqueleto, la piel y el tejido conectivo permanecen relativamente constantes.

En un gran número de organismos el exceso de glucosa es almacenada en forma de un polímero conocido como **glucógeno**, el cual, en vertebrados se encuentra principalmente en hígado y en músculo esquelético en una cantidad aproximada de 10 y 1-2% de su peso respectivamente. El glucógeno almacenado en el

hígado sirve como fuente de **glucosa** para tejidos extra hepáticos cuando esta no se encuentra disponible en la dieta, por ejemplo en los tiempos entre comidas o ayuno (restricción alimenticia), ya que la glucosa como ya es bien sabido, es la principal fuente de energía para algunos órganos (cerebro, sistema nervioso, eritrocitos, médula renal y tejidos embrionarios) en la gran mayoría de seres vivos; en el ser humano la glucosa sanguínea es la única y más importante fuente de energía, tan solo el cerebro requiere 120 gramos de glucosa al día, que es más de la mitad de la glucosa almacenada en forma de glucógeno en el hígado y en el músculo, sin embargo proveer de glucosa a partir de estas fuentes no siempre es suficiente en especial entre periodos prolongados de restricción alimenticia donde el glucógeno puede ser totalmente consumido (Nelson y Cox, 2005).

En mamíferos, las reservas de carbohidratos (glucógeno hepático), son rápidamente utilizadas durante periodos de restricción alimenticia, en contraste con lo observado en algunas especies de peces (Weatherley y Gill, 1987), en las cuales es frecuente observar el uso del glucógeno hepático como primer sustrato fuente de energía (Montserrat *et al.*, 2007), evidencia de esto fue reportada en ejemplares de *Dicentrarchus labrax* después de 9 días de ayuno, en los que hubo una disminución del glucógeno hepático y de algunos metabolitos plasmáticos como la glucosa, la cual se pudo mantener en niveles adecuados durante la primera fase del ayuno, gracias a la degradación del glucógeno (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007), sin embargo es necesario tener en cuenta que los niveles de glucógeno hepático dependen del nivel nutricional previo a la restricción alimenticia y la duración de este va a depender según sea la severidad de la restricción. Metón *et al.* (2003), encontraron en ejemplares de *Sparus aurata* luego de 18 días de restricción alimenticia niveles de glucógeno hepático apenas detectables, no obstante varios autores coinciden con que estos niveles se restablecen rápidamente al inicio del periodo de realimentación (Power *et al.*, 2000; Metón *et al.*, 2003). Junto al descenso del glucógeno hepático es normal

observar una disminución en los niveles de lípidos, proteína e índice hepato-somático (Echevarría *et al.*, 1997; Power *et al.*, 2000; Montserrat *et al.* 2007), lo cual muestra la importancia del hígado como fuente de nutrientes durante periodos de restricción alimenticia.

En peces tipo elasmobranquios se ha establecido la importancia que en su metabolismo tienen ciertos aminoácidos glucogénicos -lo que significa una mayor gluconeogénesis en el hígado- no obstante, esta característica también ha sido reportada para algunos peces teleósteos, como respuesta durante periodos de restricción alimenticia, con el objeto de mantener estables los niveles de glucosa sanguínea a través de la liberación de aminoácidos mediante la proteólisis muscular (Gillis y Ballantyne, 1996; Shiau *et al.*, 2001).

Dentro del estudio del metabolismo intermediario de los nutrientes ya ha sido muy bien identificada la importancia del sistema endocrino como regulador de este, a través de la acción de la insulina, el glucagón y la adrenalina, hormonas que en particular estimulan diferentes conjuntos de enzimas quienes son las responsables de mantener los diferentes procesos dentro de las vías metabólicas y a su vez mantener el flujo de nutrientes necesario para el adecuado funcionamiento del organismo.

Tras la caída de los niveles de glucosa en sangre (horas después de una comida), el glucagón es liberado con el fin de estimular la glucogenólisis e inhibir la gluconeogénesis a través de su efecto sobre el tejido hepático, garantizando de esta manera la liberación de glucosa hacia la sangre. En contraste la insulina actúa de manera diferente sobre las vías metabólicas, inhibiendo la glucogenólisis y activando la glucogénesis, asegurando la captación de la glucosa sanguínea (McKee y McKee, 2003) no solo por el hígado, sino también por **el músculo** y el **tejido adiposo**, este último de gran importancia pues en él se almacena una importante fuente de energía en forma de triglicéridos (Nelson y Cox, 2005).

Estudios en peces muestran una disminución de la insulina en sangre como una constante durante las restricciones alimenticias (Montserrat *et al.*, 2007), respuesta igualmente observada en la mayoría de vertebrados (Navarro *et al.*, 2002) lo cual se podría explicar por la necesidad de movilizar las reservas nutricionales para mantener los niveles de glucosa en sangre, efecto esperado por su papel de hormona anabólica (MacKenzie *et al.*, 1998). Por el contrario, el glucagón aumenta sus niveles en sangre (Navarro *et al.*, 2002), lo cual en periodos cortos de restricción es un indicador del cambio en el metabolismo de carbohidratos hacia la degradación de reservas (Navarro *et al.*, 1992 en Navarro *et al.*, 2002), al igual que en periodos largos de ayuno, en los cuales la glucosa también es mantenida gracias a la activación de la lipólisis (MacKenzie *et al.*, 1998) vía metabólica que permite la movilización de lípidos de cualquier sitio de almacenamiento, ya sea de los lípidos almacenados en el músculo esquelético o de los lípidos de los depósitos viscerales (Weatherley y Gill, 1987), lo cual se traduce en una disminución de los contenidos de grasa corporal (Pirhonen y Forsman, 1998).

Las respuestas frente a la restricción alimenticia pueden variar entre especies, de acuerdo con la utilización diferencial de proteínas, lípidos, y carbohidratos como fuentes de energía durante la restricción (Sheridan y Mommsen, 1991 en MacKenzie *et al.*, 1998). Otros factores decisivos tienen que ver con la manera como se han ejecutado los experimentos pre y durante, como son: la edad, el estado nutricional previo al periodo de restricción lo que incluye el tipo de dieta, la duración de la restricción alimenticia, la temperatura (Echeverría *et al.*, 1997) y desde luego el hábitat.

En *Salmo trutta* fario, sometida a 50 días de ayuno se observó una disminución de glucógeno hepático y muscular además de grasa visceral. La proteína del músculo blanco fue ahorrada, siendo la última reserva para ser metabolizada (Navarro *et al.*, 2002). Juveniles de *Piaractus mesopotamicus*, sometidos a 60

días de restricción alimenticia presentaron disminución no solo del glucógeno hepático y muscular, sino también del contenido total de lípidos en hígado y carcasa (Souza, 1998). *Ascipenser transmontanus*, después de un ayuno de 10 días mostró que la mayor pérdida de peso fue visceral y no de la carcasa, y en cuanto a nutrientes, los lípidos fueron los que más disminuyeron al compararlos con la proteína (Hung *et al.*, 1997). Carvalho (2001) observó que en reproductores de *Brycon cephalus* sometidos a restricción del 40% de alimento durante un año, no se alteraron los índices metabólicos, metabolitos sanguíneos, ni los depósitos residuales de grasa, proteína y lípidos; concluyendo que una restricción moderada de alimento puede probablemente desencadenar mecanismos de regulación del metabolismo intermediario que permitan mejorar la utilización del alimento disponible y un aporte suficiente de sustrato energético para cubrir el desarrollo gonadal.

La historia nutricional previa a la restricción alimenticia puede ser determinante en la respuesta durante este periodo (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007), dietas ricas en carbohidratos suministradas previas a un periodo de restricción exhiben mayores disminuciones de índices hepato-somáticos y glucógeno (Echevarría *et al.*, 1997) lo cual sugiere una mayor acumulación de glucógeno debido a la dieta, en cambio, en dietas con bajos niveles de grasa al parecer los individuos se ven obligados a utilizar su fuente proteínica, mientras que dietas con altos contenidos grasos permiten gran acumulación de reservas grasas previo al periodo de restricción los cuales son usados durante el mismo (De la higuera 1974, en Echeverría *et al.*, 1997).

Cuando se restablece la disponibilidad alimenticia, posterior a cortos periodos de ayuno normalmente los peces vuelven a recuperar los perfiles metabólicos adquiridos antes del periodo de restricción, excepto en los casos en los cuales la restricción ha inducido daños irreversibles (Morales *et al.*, 2004). En *Sparus aurata* el ayuno en cortos y largos periodos provocó una disminución en los niveles de enzimas como la 6-fosfofructo-1-quinasa, piruvato quinasa, glucosa –

6 – fosfato deshidrogenasa y 6 fosfogluconato deshidrogenasa, mientras que hubo un aumento en la fructosa 1-6 di fosfato, lo cual indica el comienzo de la regulación de la vías metabólicas (glucólisis, gluconeogénesis y pentosas fosfato) como estrategia para mantener los procesos vitales del individuo, niveles que fueron restablecidos durante el periodo de realimentación (Metón *et al.*, 2003). La disminución de la actividad de la glucosa – 6 – fosfato deshidrogenasa como consecuencia a largos periodos de ayuno también puede ser la responsable de la pérdida de las defensas antioxidantes celulares en *Dentex dentex*, las cuales son restablecidas durante los posteriores periodos de realimentación (Morales *et al.*, 2004).

1.3 Efecto de la restricción alimenticia sobre otras hormonas

El balance energético del organismo es mantenido por un sistema que envuelve el cerebro y la periferia, con el hipotálamo como elemento clave. En los últimos años han sido descritos muchos péptidos hipotalámicos que actúan en la homeostasis energética. Bajo condiciones naturales existe un equilibrio entre péptidos anabólicos y catabólicos que intervienen en el comportamiento del consumo alimenticio y la disposición de lípidos en favor o en contra de la deposición de grasa. La información energética periférica es transmitida al sistema nervioso por factores hormonales como la insulina, glucagón, glucocorticoides, hormonas tiroideas, neuropéptido Y, leptina, grelina y por nutrientes como la glucosa y los lípidos (Leibowitz y Wortley, 2004).

Ya se han mencionado algunos efectos de la restricción alimenticia sobre la respuesta endocrina de algunas hormonas pancreáticas (insulina y glucagón); sin embargo, el efecto de manipular la alimentación también tiene respuesta por parte de otras hormonas como son la hormona del crecimiento (GH), factor insulínico de crecimiento (IGF) y las hormonas tiroideas, las cuales son

fuertemente afectadas por el nivel nutricional y a su vez pueden llegar a jugar un rol importante dentro de los periodos de ayuno (Pérez y Le Bail, 1999; Power *et al.*, 2000). Tanto así, que medir los receptores de GH hepáticos, los niveles circulantes de IGF y GH proporcionan una herramienta útil para evaluar el estado nutricional y de crecimiento de un individuo (Pérez y Le Bail, 1999).

Durante periodos de restricción alimenticia se ha determinado un incremento en los niveles de GH, bajos niveles de IGF-1 (Chauvigné *et al.*, 2003; Monserrat *et al.*, 2007) e insulina, perfil metabólico que favorece la lipólisis generando un mecanismo adaptativo que hace disponibles los ácidos grasos a los tejidos periféricos, además de la disminución de las tasas de crecimiento, esta combinación de factores también es observable durante enfermedades crónicas hepáticas y restricciones de proteína dietaria (Pérez y Le Bail, 1999). A nivel de la pituitaria la respuesta se manifiesta en un aumento de la secreción y los niveles circulantes de la GH. El efecto de la GH se da a través de la estimulación de la IGF, pero ante periodos de restricción alimenticia se observa una disminución de los receptores para GH en los diferentes tejidos específicos de tal manera que estos pierden sensibilidad ante el efecto de la GH, lo cual da como resultado una disminución de IGF causa primera de la disminución del crecimiento y un aumento de los niveles de GH circulantes (MacKenzie *et al.*, 1998).

Respecto a la T_3 , es posible que esta sea más sensible a la falta de nutrientes por lo cual se disminuye su nivel circulante (MacKenzie *et al.*, 1998), efecto corroborado por Power *et al.* (2000) quienes encontraron un significativo impacto sobre las hormonas tiroideas en *Sparus aurata* luego de un periodo de tres semanas de restricción alimenticia siendo las concentraciones de T_3 y T_4 menores a las de animales control. Sin embargo, luego de una semana de realimentación se observó un rápido restablecimiento de los niveles de T_3 contrario a lo observado en los niveles de T_4 , lo cual sugiere que a pesar de observarse una recuperación de varios metabolitos plasmáticos, el sistema endocrino requiere de

mayor tiempo para retornar a sus niveles normales (o adaptarse del trastorno nutricional).

1.4 Crecimiento compensatorio

En diferentes estudios, tras la exposición a periodos totales o parciales de restricción alimenticia, han sido evidentes en muchos organismos tasas de crecimiento superiores durante los posteriores periodos de continua disponibilidad de alimento; este fenómeno por el cual un organismo tiende a restablecer nuevamente la trayectoria original de su crecimiento es llamado **crecimiento compensatorio** (Ali *et al.*, 2003). Por lo tanto, el crecimiento compensatorio se define como la *fase de crecimiento acelerado que se presenta cuando condiciones favorables son restablecidas luego de un periodo de crecimiento deprimido* (Hornick, 2000; Ali *et al.*, 2003).

La capacidad con que los individuos regulan su crecimiento y logran o no un crecimiento compensatorio luego de un determinado periodo de escasos o restricción alimenticia puede variar según diversos factores como la edad del pez, temperatura, severidad y duración de la restricción y la realimentación, método de realimentación y tasa de alimentación, estado fisiológico, entre otros factores (Rueda *et al.*, 1998; Gaylord y Gatlin, 2000; Wang *et al.*, 2000; Xie *et al.*, 2001; Tian y Qin, 2003). El crecimiento compensatorio también ha sido observado después de la exposición a condiciones anormales como bajas temperaturas, hipoxia, entre otros (Tian y Qin, 2004).

La compensación se puede presentar en tres diferentes grados: **compensación parcial**, en la cual los individuos restringidos no alcanzan igual tamaño a la misma edad de animales no restringidos. Sin embargo, presentan altas tasas de crecimiento y pueden tener mejores tasas de conversión alimenticia durante el periodo de realimentación; **compensación total**, en la cual los animales que

fueron sometidos a restricción alcanzan igual tamaño a la misma edad que animales no restringidos; **sobre compensación**, aunque poco frecuente, se presenta cuando animales que fueron restringidos alcanzan un mayor tamaño a la misma edad de animales no restringidos. Por otro lado, también se puede presentar la **no compensación del crecimiento**, en la cual la tasa de crecimiento de los animales continúa de acuerdo al peso obtenido al final del periodo de ayuno y no logran alcanzar el peso de peces no restringidos de la misma edad (Ali *et al.*, 2003).

Estudios realizados en *Lates calcarifer*, mostraron que tiempos cortos de ayuno (1 semana) indujeron una compensación total, mientras que tiempos más largos (2 y 3 semanas) llevaron a una compensación parcial, observando que el crecimiento compensatorio se presentó con mayor intensidad durante la primera semana (Tian y Qin, 2003). Tian y Qin (2004), emplearon un protocolo diferente en la misma especie, concluyendo que una restricción alimenticia moderada (50-75% de saciedad) por dos semanas induce un crecimiento compensatorio total, mientras que restricciones severas (0-25% de saciedad) no permiten una compensación total.

Una de las principales características del crecimiento compensatorio que expresan los peces es el restablecimiento de la trayectoria de crecimiento que se presenta en los inicios del periodo de realimentación (Ali *et al.*, 2003). Respecto a este fenómeno, algunos autores explican que este retorno se debe en parte a un componente genético, es decir que la trayectoria del crecimiento puede estar predeterminada genéticamente y los animales pueden detectar las desviaciones causadas en dicha trayectoria y compensarlas reajustando el apetito y metabolismo (Xie *et al.*, 2001). Por lo tanto, animales con crecimiento compensatorio tienden a presentar tasas de crecimiento más rápidas que aquellos animales que no han sufrido depresión en su crecimiento. Sin embargo, este acelerado crecimiento declina de la misma manera que en animales no restringidos (Ali *et al.*, 2003). Asimismo, el crecimiento compensatorio exhibe

reajustes en la tasa de crecimiento minimizando las diferencias entre la tasa lograda y la ideal a causa del periodo de restricción (Xie *et al.*, 2001). Dicho crecimiento se realiza a expensas del aumento de consumo de alimento (hiperfagia) o por un mayor aprovechamiento del alimento, reflejado en una mejora de la eficiencia alimenticia (Gaylord y Gatlin, 2001). La hiperfagia y la eficiencia de crecimiento parecen ser los principales mecanismos causantes del crecimiento compensatorio posterior a periodos de realimentación (Wang *et al.*, 2000; Tian y Qin, 2003). Estudios en la dinámica de la hiperfagia han señalado diferencias según las especies, tal es el caso de *Leiocassis longirostris* el cual presentó hiperfagia constante durante el periodo de realimentación, por el contrario en *Gasteosteus aculeatus* la hiperfagia fue más notoria en la segunda parte del periodo de realimentación (Wu *et al.*, 2002).

Durante los periodos de realimentación se ha observado mayor retención de nutrientes, conversión alimenticia, mejores índices de crecimiento (Qian *et al.*, 2000, Tian y Qin, 2003), aunque los índices de crecimiento no siempre están directamente relacionados con el logro de un crecimiento compensatorio total (Tian y Qin, 2003).

1.5 Efectos de la restricción alimenticia sobre la composición corporal

Durante un normal desarrollo, el músculo exhibe inicialmente las más altas tasas de crecimiento, seguido por el tejido graso, sin embargo, cuando hay una reducción en la tasa de crecimiento (a causa de una restricción alimenticia) se observa un cambio inverso respecto al uso de estos, es decir que unos tejidos reaccionan más que otros ante crisis alimentarias (Vísceras>Tejido adiposo>Músculo), además de observarse una importante disminución en la síntesis de tejidos. Por lo tanto, cuando la disponibilidad alimenticia es reducida, el crecimiento muscular es cercano a cero, mientras se da una continua

movilización de grasa y una reducción del peso visceral, siendo estas dos últimas las principalmente afectadas, ya que la deposición de grasa es más susceptible a ser utilizada que la deposición de proteína, asimismo algunos compartimentos grasos pueden ser movilizados más fácilmente que otros, lo cual conlleva a una alteración en la composición corporal (Hornick *et al.*, 2000).

Como se ha mencionado anteriormente, los peces responden de diferentes formas frente a los periodos de restricción alimenticia y esta respuesta puede variar según sea la severidad, encontrándose que a mayor sea esta, mayor será el impacto en los componentes del músculo, hígado y vísceras; es frecuente observar la preferencia por el uso de los lípidos corporales (Qian *et al.*, 2000) especialmente los lípidos hepáticos (Montserrat *et al.*, 2007), el uso de estos como fuente de energía puede causar principalmente cambios en el perfil de ácidos grasos (De silva *et al.*, 1997). Relacionado a ello, Ali *et al.*, (2003), señalan que adicional a la fuerte evidencia de la restauración de las trayectorias del crecimiento somático, el crecimiento compensatorio durante periodos de realimentación es una respuesta al restablecimiento del nivel de lípidos. Aunque también se evidencia disminución en el nivel de proteínas hepáticas, los cuales son restablecidos en el transcurso de periodos de realimentación (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007).

El músculo esquelético es la principal fuente de proteínas del cuerpo y dentro de este el músculo rojo y el músculo blanco responden diferente bajo restricciones alimenticias. Así, en peces que no almacenan grandes cantidades de lípidos, son las proteínas del músculo blanco las que son altamente utilizadas en periodos largos de restricción alimenticia (Weatherley y Gill, 1987).

A nivel de la carcasa y filete periodos prolongados de restricción ocasionan disminuciones de proteínas, lípidos y energía y aumentos en el porcentaje de agua (Einen *et al.*, 1998; Qian *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000). Aunque es más común observar pocas variaciones en los niveles de proteína muscular en

contraste con los niveles de proteínas hepáticas (Einen *et al.*, 1998). Uno de los efectos de la restricción alimenticia que se observa a través de la reanudación de la alimentación es la mayor capacidad para depositar proteína que individuos no restringidos (Qian *et al.*, 2000).

Por otro lado, durante periodos de realimentación con frecuencia se observa un rápido desarrollo del tejido adiposo y animales que logran un crecimiento compensatorio tienden a ser más grasos, lo cual generalmente está relacionado con la duración de la fase de realimentación, es decir que la composición corporal final depende de lo extenso de dicha fase (Hornick *et al.*, 2000). Sin embargo, es común observar un restablecimiento de los nutrientes corporales a valores similares de individuos no restringidos.

La obtención de un producto final de óptima calidad es uno de los principales objetivos de la acuicultura, para ello, se han estudiado algunas estrategias que permitan mejorar la calidad del producto, generalmente aquellas que tienen que ver con la manipulación cualitativa y cuantitativa de las dietas suministradas periodos antes del sacrificio (Einen *et al.*, 1998; Rasmussen *et al.*, 2000), con el objeto de producir filetes más magros (Einen *et al.*, 1998). Heide *et al.* (2006) sometieron ejemplares de *Hippoglossus hippoglossus* a un periodo de ayuno de 32 días, encontrando que dicho periodo no afectó la composición final del filete, sugiriendo al igual que otros autores la posibilidad de usar periodos de restricción y realimentación sin detrimento de la composición final del tejido corporal destinado para consumo humano; no obstante, los autores señalan que es necesario plantear periodos de ayuno adecuados, ya que espacios prolongados pueden aumentar la cantidad de agua en el filete en las fases finales de engorde.

1.6 Especie experimental

Debido al especial interés por reconocer y ampliar los conocimientos sobre las especies nativas, para el desarrollo del presente estudio se utilizó la cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Figura 1).

Figura 1-1: Ejemplar de cachama blanca *Piaractus brachypomus*



La cachama blanca es una especie originaria y actualmente distribuida en los canales principales de caños, ríos y lagunas de toda la cuenca de los ríos Orinoco y Amazonas (González, 2001; Merino *et al.*, 2006), pertenece al orden de los Characiformes (Tabla 1), cuyas especies se caracterizan por formar grandes cardúmenes para migrar por los caños en busca de alimento o para reproducirse (Landines y Mojica, 2005). Esta especie se caracteriza por su facilidad de cultivo, adaptación a las bajas concentraciones de oxígeno, poca susceptibilidad a contraer enfermedades, resistencia a los parásitos, fácil alimentación, buen crecimiento y aceptación en el mercado (González, 2001; Merino *et al.*, 2006); su adaptación en ambientes pobres de oxígeno o durante periodos críticos en cautiverio, se da a través de una modificación que hacen en sus labios para permitir el intercambio de gases en la capa superficial del cuerpo del agua (Landines y Mojica, 2005). Es una especie omnívora (Vásquez-Torres *et al.*, 2002) con tendencia a frugívora – herbívora (Lucas, 2008), con capacidad para

filtrar fito y zooplancton, y afinidad por los alimentos concentrados; se desarrolla muy bien en aguas con temperaturas entre 23 y 30°C; asimismo, es muy apetecida por el consumidor nacional por su color y cabeza pequeña. (Mora, 2005; Merino *et al.*, 2006). Esta especie presenta condiciones ideales para el desarrollo de policultivos y aunque resiste densidades de siembra entre 3 y 5 peces por metro cuadrado, los mejores resultados económicos se obtienen a densidades de 1-1,5 peces por metro cuadrado (Argumedo y Rojas, 2008).

Tabla 1-1: Clasificación taxonómica de *Piaractus brachypomus* y nombres comunes según la región.

Taxón	
Reino	Animalia
Phyllum	Chordata
Clase	Actinopterygii
Orden	Characiformes
Familia	Characidae
Género	<i>Piaractus</i>
Especie	<i>Piaractus brachypomus</i>
Región	Nombres comunes
Amazonas	Cachama blanca, paco, pirapitinga,
Venezuela	Morocoto
Guaviare y Perú	Paco
Brasil	Caranha

Tomado y modificado de Coy (2007).

Dichas características hacen de esta especie un pez rústico, lo cual le ha permitido difundirse a lo largo del país demostrando que el cultivo de especies nativas es una actividad rentable y de gran importancia, pues en el caso particular de la cachama blanca su gran difusión la ha posicionado en el segundo lugar de producción en la piscicultura nacional (González, 2001). Además, ha sido considerada como la especie nativa de mayor potencial productivo y comercial en

piscicultura extensiva, semi-intensiva e intensiva en aguas cálidas continentales de América Latina (Mesa y Botero, 2007; Peñuela-Hernández *et al.*, 2007).

Es una especie de considerable importancia económica en la actividad acuícola de Brasil, Colombia, Venezuela, Perú y Centro América (Nascimento *et al.*, 2010). En Colombia las principales zonas de producción son los departamentos del Meta, Córdoba, Tolima, Santander, Caquetá, Valle, Putumayo y Antioquia (Merino *et al.*, 2006).

De la acuicultura nacional se destaca siendo la única especie nativa que ha mostrado un ritmo de crecimiento constante (de hasta 29%) en los últimos 20 años (Agrocadenas, 2004). En Colombia el mercado interno consume la totalidad de la producción nacional de cachama; para el 2006 en el departamento del Meta se estimó una producción de 7500 toneladas de pescado de cultivo, donde la cachama participó con el 25% de la producción total (Torres, 2006); para este mismo año el ICA reportó una producción de 17417 toneladas de cachama, seguida por la trucha y superada por la producción de tilapia. Esto significa que las especies nativas pueden desarrollar un gran potencial productivo bajo cautiverio, siempre y cuando se logren satisfacer sus requerimientos, pero, para lograrlo se debe profundizar el conocimiento sobre ellas y así fortalecerlas como una alternativa productiva, generando un nuevo bien para la canasta familiar, al tiempo que se protegen las poblaciones naturales.

1.7 Referencias bibliográficas

Agrocadenas. 2004. Acuerdo de competitividad de la cadena de la piscicultura en Colombia. Disponible en: www.agrocadenas.gov.co. 12 de junio de 2008.

Ali, M.; Nicieza, A. y Wootton, J.R. 2003. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*. 4:147-190.

Argumedo, E. y Rojas, H. 2008. Manual de piscicultura con especies nativas. Asociación de acuicultores del Caqueta, ACUICA. Ed. Produmedios.151p

Arnould, J.P.; Green, J.A. y Rawlins, D.R. 2001. Fasting metabolism in Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazelle*) pups. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 129: 829-841

Barboza, P. y Jorde, D. 2001. Intermittent Feeding in a Migratory Omnivore: Digestion and Body Composition of American Black Duck during Autumn. *Physiological and Biochemical Zoology*. 74(2): 307-317

Barcellos, L.; Marqueze, A.; Trapp, M.; Quevedo, R. y Ferreira, D. 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. 300: 231-236.

Bosworth, B. y Wolters, W. 2005. Effects of short-term feed restriction on production, processing and body shape traits in market-weight channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquaculture research*. 36: 344-351.

Carvalho, E. 2001. Redução na oferta de ração: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, Teleostei: Caharacidae), em cativeiro. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Tese para obtenção do título de Doutor em Zootecnia área de concentração em Produção Animal. 64p.

Cavalli, L.; Chappaz, R.; Bouchard, P. y Brun, G. 1997. Food availability and growth of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), in a French alpine lake. *Fisheries management and ecology*. 4: 167-177.

Chauvigné, F.; Gabillard, J.C.; Weil, C. y Rescan, P.Y. 2003. Effect of refeeding on IGFI, IGFII, IGF receptors, FGF2, FGF6, and myostatin mRNA expression in rainbow trout myotomal muscle. *General and Comparative Endocrinology* 132: 209-215

Cho, S. 2005. Compensatory Growth of Juvenile Flounder *Paralichthys olivaceus* L. and Changes in Biochemical Composition and Body Condition Indices during Starvation and after Refeeding in Winter Season. *Journal of the World Aquaculture Society*. 36 (4): 508-514

Collins, A.L. y Anderson, T.A. 1997. The influence of changes in food availability on the activities of key degradative and metabolic enzymes in the liver and epaxial muscle of the golden perch. *Journal of Fish Biology*. 50: 1158–1165.

Coy, S.; Agudelo, C.; González, A.; Piraquive, P. y Bonilla, O. 2007. *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1817).

<http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=588&method=displayAAT>

De Silva, S.; Gunasekera, R. y Austin, C. 1997. Changes in the fatty acid profiles of hybrid red tilapia, *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term starvation, and a comparison with changes in seawater raised fish. *Aquaculture*. 153: 273-290

Echevarría, G.; Martínez, M y Zamora, S. 1997. Evolution of biometric indices and plasma metabolites during prolonged starvation in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). *Comparative Biochemistry Physiology, Part A*. 118 (1):111-123.

Einen, O.; Waagan, B. y Thomassen, M. 1998. Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*) I. Effects on weight loss, body shape, slaughter- and fillet-yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture*. 166:85-104.

Feng, Y.; Tuo, Y.; Zhongming, H.; Yuehuan, Z.; Xiwu, Y. y Guofan, Z. 2010. Effects of starvation on growth, survival, and body biochemical composition among different sizes of Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Acta Ecologica Sinica*. 30:135-140.

Gaylord, T. G. y Gatlin III, D. M. 2000. Assessment of Compensatory Growth in Channel Catfish *Ictalurus punctatus* R. and Associated Changes in Body Condition Indices. *Journal of the World Aquaculture Society*. 31(3): 326-336

Gaylord, T. G. y Gatlin III, D. M. 2001. Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 194: 337-348.

Gillis, T.E y Ballantyne, J.S. 1996. The effects of starvation on plasma free amino acid and glucose concentrations in lake sturgeon. *Journal of Fish Biology*. 49: 1306–1316

González, R. 2001. El cultivo de la cachama. pp. 329-346 En: Rodríguez, H.; Daza, P. y Carrillo, M (Eds). *Fundamentos de acuicultura continental*. Ministerio de agricultura y Desarrollo rural, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura INPA. 423p.

Groscolas, R. y Robin, J.P. 2001. Long-term fasting and re-feeding in penguins. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 128:645-655

Hagen, O.; Fernandes, J.; Solberg, C. y Johnston, I. 2009. Expression of growth-related genes in muscle during fasting and refeeding of juvenile Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 152: 47-53.

Hardy, D.; Dutil, J.D.; Godbout, G. y Munro, J. 2000. Survival and condition of hard shell male adult snow crabs (*Chionoecetes opilio*) during fasting at different temperatures. *Aquaculture*. 189:259–275

Heide, A.; Foss, A.; Stefansson, S. O.; Mayer, I.; Norberg, B.; Roth, B.; Jenssen, M. D.; Nortvedt, R. y Imsland, A. K. 2006. Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: Effects of short term starvation periods and subsequent feeding. *Aquaculture*. 261: 109-117.

Hornick, J.L.; Van Eenaeme, C.; Gérard, O.; Dufrasne, I. y Istasse, L. 2000. Mechanisms of reduced and compensatory growth. *Domestic Animal Endocrinology*. 19: 121-132.

Hung, S.; Liu, W.; Li, H.; Storebakken, T. y Cui, Y. 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*. 151:357-363.

Landines, M. A. y Mojica, O. H. 2005. Manejo y reproducción de carácidos. pp. 91-104. En: Daza, P.V. Landines, M.A. Sanabria, A.I. Reproducción de peces en el trópico. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural MADR. 246p.

Leibowitz, S. y Wortley, K. 2004. Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides*. 25: 473-504

Lucas, C. M. 2008. Within flood season variation in fruit consumption and seed dispersal by two Characin fishes of the Amazon. *Biotropica, the journal of tropical biology and conservation*. 40(5):581-589.

MacKenzie, D.; VanPutte, C. y Leiner, K. 1998. Nutrient regulation of endocrine function in fish. *Aquaculture*. 161: 3-25.

Magno, H. 2003. La reproducción. En: Bermudez, N.V. y Certuche, L.V. Arawana, un recurso que vale la pena conservar. Alcaldía Municipal de Puerto Leguizamo, Putumayo. pp. 17-22.

McCue, M. D. 2010. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animal use to survive a common challenge. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 156:1-18.

McKee, T. y McKee, J. 2003. Metabolismo de los hidratos de carbono En: *Bioquímica, la base molecular de la vida*, tercera edición. University of the sciences in Philadelphia. McGraw Hill. 234-271.

Merino, M.; Salazar, G. y Gómez, D. 2006. Guía práctica de piscicultura en Colombia. Ministerio de agricultura y Desarrollo rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural-INCODER. 80p.

Mesa, M. y Botero, M. 2007. La cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), una especie potencial para el mejoramiento genético. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20, 1:15-21.

Metón, I.; Fernández, F. y Baanante, V. 2003. Short and long term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis-gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 225: 99-107.

Montserrat, N.; Gómez, P.; Bellini, G.; Capilla, E.; Pérez, J.; Navarro, I. y Gutiérrez, J. 2007. Distinct role of insulin and IGF-I and its receptors in white skeletal muscle during the compensatory growth of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 267:188-198.

Mora, J. A. 2005. Rendimiento de la canal en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y el híbrido *Colossoma macropomun* x *P. brachypomus*. Procesamiento primario y productos con valor agregado. *Bioagro*. 17(3).

Morales, A. E.; Perez, A.; Hidalgo, M. C.; Abellan, E. y Cardenete, G. 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 139: 153–161.

Nascimento, A.F.; Maria, A.N.; Pessoa, N.O.; Carvalho, M.A. y Viveiros, A.T. 2010. Out-of-season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). *Animal Reproduction science*. 118:324-329.

Navarro, I.; Rojas, P.; Capilla, E.; Albalat, A.; Castillo, J.; Montserrat, N.; Codina, M.; y Gutierrez, J. 2002. Insights into insulin and glucagon responses in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*. 27: 205-216

Nelson, D y Cox, M, 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry* four edition. pp. 521-559.

Peñuela-Hernández, Z.; Hernández-Arevalo, G.; Corredor, J. y Cruz-Casallas, P. 2007. Consumo de oxígeno en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) durante diferentes etapas de desarrollo corporal. *Revista Orinoquia, Universidad de los llanos*. 11(1): 49-55.

Pérez-Jiménez , A.; Guedes, M.; Morales, A. y Oliva-Teles, A. 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*. 265: 325-335

Pérez, J y Le Bail, P. 1999. Growth hormone axis as marker of nutritional status and growth performance in fish. *Aquaculture*. 177: 117-128

Pirhonen, J. y Forsman, L. 1998. Effect of prolonged feed restriction on size variation, feed consumption, body composition, growth and smolting of brown trout, *Salmo trutta*. *Aquaculture*. 162: 203-217.

Power, D.; Melo, J. y Santos, C. 2000. The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream. *Journal of Fish Biology*. 56: 374-387

Qian, X.; Cui, Y.; Xiong, B. y Yang, Y. 2000. Compensatory growth, feed utilization and activity in gibel carp, following feed deprivation. *Journal of Fish Biology*. 56: 228–232

Quin, X.; Cut, Y.; Xiong, B. y Yang, Y. 2000. Compensatory growth, feed utilization and activity in gibel carp, following feed deprivation. *Journal of Fish Biology* 56: 228–232

Rasmussen, R.; Ostefeld, T.; Rénsoldt, B. y Mclean, E. 2000. Manipulation of end-product quality of rainbow trout with finishing diets. *Aquaculture Nutrition*. 6: 17-23.

Ridelman, J. M.; Hardy, R. W. y Brannon, E. L. 1983. The effect of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 37: 133-140.

Rueda, F.; Martinez, F.; Zamora, S.; Kentouri, M. y Divanach, P. 1998. Effect of fasting and refeeding on growth and body composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquaculture research*. 29:447-452.

Sanabria, A.I. 2002. Efeito da restrição alimentar no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã *Brycon cephalus*. Universidade Estadual Paulista. Centro de Aqüicultura. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura – Área de concentração em Aqüicultura de Águas Continentais. 60p.

Shiau, C.; Pong, Y.; Chiou, T. y Tin, Y. 2001. Effect of starvation on free histidine and amino acids in white muscle of milkfish *Chanos chanos*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 128:501-506

Souza, V. 1998. Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). Universidade Estadual Paulista, centro de aqüicultura. Tese para obtenção do título de Doutor em aqüicultura 114p.

Tian, X. y Qin, J. G. 2003. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 224: 169-179.

Tian, X. y Qin, J. G. 2004. Effects of previous ration restriction on compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 235: 273-283.

Torres, Q. 2006. Transferencia tecnológica en piscicultura, convenio gobernación del Meta – ACUIORIENTE. 52p.

Vásquez-Torres, W.; Pereira, F. y Arias-Castellanos, J. 2002. Estudos para Composição de uma Dieta Referência Semipurificada para Avaliação de Exigências Nutricionais em Juvenis de Pirapitinga, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 31(1): 283-292 (suplemento)

Wang, Y.; Cui, Y.; Yang, Y. y Cai, F. 2000. Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*, reared in seawater. *Aquaculture*. 189: 101-108.

Weatherley, A. y Gill, H. 1987. *The biology of fish growth*. Academic Press. p443.

Wu, L.; Xie, S.; Zhu, X.; Cui, Y. y Wootton, R. J. 2002. Feedings dynamics in fish experiencing cycles of feed deprivation: a comparison of four species. *Aquaculture research*. 33:481-489

Xie, S.; Zhu, X.; Cui, Y.; Wootton, R. J.; Lei, W. y Yang, Y. 2001. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Journal of fish biology*. 58:999-1009.

2.Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre variables hematológicas, bioquímicas en plasma y sobre los niveles de glucógeno hepático en *Piaractus brachypomus*

Resumen

Frente a periodos de restricción alimenticia se requiere que los organismos exhiban ciertos cambios metabólicos y fisiológicos, que les permita afrontar la crisis nutricional, los cuales son normalmente restablecidos ante la normal disponibilidad de alimento. Con el objeto de medir esta respuesta en individuos de talla comercial de cachama blanca de 490 g peso promedio, se evaluaron algunos parámetros hematológicos, metabolitos sanguíneos y glucógeno hepático, bajo dos protocolos de restricción alimenticia, durante 84 días: en el primero de ellos se hizo una restricción alimenticia del 33,3% (Restricción moderada) y en el segundo se hizo una restricción del 50% (Restricción severa), los cuales fueron comparados con un grupo control que recibió una ración alimenticia similar a la suministrada bajo condiciones de cultivo (todos los días). Basados en los resultados obtenidos para las variables hematológicas (hematocrito y hemoglobina) y el cortisol no se evidenció una alteración en el bienestar animal causado por los periodos de restricción alimenticia. Por otro lado, el grupo de restricción severa presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto al grupo control en los niveles de glucosa, glucógeno hepático y triglicéridos, indicando un cambio en el metabolismo necesario para mantener la homeostasis del organismo y el uso de reservas energéticas en especial el glucógeno hepático, el cual fue consumido en su mayor parte en los primeros días de restricción; sin

embargo, los niveles de estas variables fueron restablecidos rápidamente durante el periodo de realimentación. Mientras que el grupo de restricción moderada presentó valores similares a los del grupo control, tanto en su fase de restricción como de realimentación, lo cual indica que este tipo de restricción no afecta dramáticamente las variables estudiadas y permite un ajuste o mejor utilización de los nutrientes disponibles. Finalmente, las respuestas obtenidas por parte de las proteínas plasmáticas y el colesterol no reflejaron un efecto significativo de los protocolos de restricción. Estos resultados permitieron concluir que los protocolos de restricción alimenticia aplicados no ejercieron efectos negativos sobre el bienestar animal y el metabolismo de *Piaractus brachypomus*, asimismo estos tienen la capacidad de responder y reponerse ante los desafíos que implica la falta de alimento.

2.1 Introducción

El ayuno o restricción alimenticia como evento natural en el ciclo de vida de diferentes especies (Weatherley y Gill, 1987; Mackenzie, 1998), puede ser superado por los individuos a través de diversas estrategias metabólicas y fisiológicas que incluyen el uso de las reservas corporales y probablemente la disminución de las tasas metabólicas. Como respuesta se observan a nivel plasmático cambios en algunos metabolitos, como la glucosa, los triglicéridos y las proteínas, entre otros, según sea la severidad de la restricción, la especie, el estatus nutricional previo a la restricción y el estado fisiológico de los animales. Estos cambios van a depender de la capacidad de movilización desde las fuentes o reservas de energía, localizadas especialmente en el hígado (Glucógeno, lípidos, proteínas), tejido adiposo (Triglicéridos, ácidos grasos) y músculo (Glucógeno, proteína); entre estos es de gran importancia el glucógeno hepático que en los peces, al igual que en mamíferos, se comporta como una importante y eficiente fuente energética durante periodos de restricción alimenticia, lo que deja al descubierto la importancia del hígado como órgano metabólicamente activo, en

el cual además se da la síntesis de ácidos grasos y proteínas esenciales para el mantenimiento de las funciones vitales.

Así, el propósito de este trabajo fue medir los efectos de la restricción alimenticia sobre algunos de los principales indicadores de bienestar animal y del estado metabólico de los peces y de esta manera determinar si los ejemplares de *Piaractus brachypomus* tienen la capacidad de enfrentar periodos de restricción de alimento y de ser así cual es el proceso fisiológico mediante el cual lo hacen.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Localización

La fase experimental fue realizada en las instalaciones de la Estación Piscícola La Terraza, adscrita a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, ubicada en la ciudad de Villavicencio a 467 m.s.n.m. y temperatura media de 28°C.

La fase de análisis de muestras sanguíneas se llevó a cabo en el Laboratorio de Fisiología de Peces de la misma facultad y la determinación de glucógeno hepático en el Laboratorio de Nutrición Animal de CORPOICA sede Tibaitatá.

2.2.2 Material biológico

Con el fin de monitorear el desarrollo de los individuos experimentales y garantizar que aquellos que fueran seleccionados se encontraran en iguales condiciones y con una misma historia nutricional, en la estación piscícola se llevó a cabo la cría de un lote de 900 individuos de cachama blanca, *Piaractus brachypomus*, posteriormente, se escogieron 791 individuos de 490 ± 45 g de peso promedio, los cuales fueron distribuidos al azar en 3 estanques con similares condiciones previamente adecuados, a una densidad de 1,5 peces/m²; allí fueron sometidos a un periodo de adaptación de 2 semanas previas al

experimento, durante el cual recibieron alimentación al 3% de la biomasa con alimento balanceado de tipo comercial de 32% de proteína cruda, recomendado para el cultivo de este tipo de especies tropicales, el mismo que fue suministrado durante la fase experimental.

Con el fin de evaluar los diferentes parámetros bajo condiciones normales de cultivo comercial, la fase de campo se desarrolló en estanques de tierra con entrada y recambio permanente de agua; durante el periodo experimental no se realizó ningún tipo de fertilización ni mantenimiento a los estanques, ya que estas actividades se realizaron antes de iniciar el ensayo. En general, las condiciones de manejo se realizaron con base en un cultivo de tipo comercial (de engorde) establecido dentro de la estación piscícola, dentro del cual se incluye el manejo del agua (suministro constante), monitoreo de los individuos (en horas de suministro de la comida y pescas ocasionales), división de la ración alimenticia en dos raciones diarias (con base en la biomasa), monitoreo de las condiciones físico químicas del agua y prevención en el crecimiento de plantas como la azolla, a través de limpieza semanal de las orillas de los estanques.

2.2.3 Tratamientos y manejo experimental

La fase experimental tuvo una duración de 12 semanas (84 días), la cual fue dividida en dos periodos cada uno de 6 semanas, así:

- Periodo inicial o de restricción alimenticia (I): del día 1 al 42
- Periodo final o de realimentación (F): del día 43 al 84

Durante este tiempo se aplicaron 2 tratamientos o protocolos de alimentación los cuales fueron comparados con un tratamiento control y asignados aleatoriamente a cada estanque luego de terminado el periodo de adaptación, así:

- Grupo control: se le suministró alimentación todos los días.
- Grupo de restricción moderada: durante el periodo inicial fue restringido por dos días y alimentado por tres días de manera alternada y consecutiva; con una

restricción del 42,86% (18 días), frente al grupo control. Durante el segundo periodo fue restringido por dos días y alimentado por tres días de manera alternada y consecutiva durante las primeras cuatro semanas y finalizó dicho periodo con dos semanas de alimentación continua; con una restricción del 23,81% (10 días), frente al grupo control. Para un total del 33,3% de restricción alimenticia durante todo el estudio.

- Grupo de restricción severa: durante el periodo inicial tuvo una restricción alimenticia total es decir un 100% (42 días) de restricción frente al grupo control; una vez iniciado el periodo final y durante este se le suministró alimentación todos los días, es decir 0% de restricción alimenticia. Para una restricción total del 50% frente al grupo control a través de todo el estudio.

Los individuos fueron alimentados de acuerdo al tratamiento, suministrándoles dos raciones diarias (9:00 y 14:00 horas) con base en la biomasa de cada estanque (Tabla 2-1), la cual fue calculada a través de muestreos periódicos del 10% de la población, los cuales además permitieron hacer un seguimiento detallado del estado de los peces.

Tabla 2-1: Porcentaje de alimentación con base en la biomasa

Grupo	Periodo (Día)	Alimentación (% biomasa)
Control y moderado	1	2,8
	5-13	1,8
	14-84	1,4
Severo	42-67	1,8
	68-84	1,4

Periódicamente se tomaron muestras de calidad de agua (temperatura, oxígeno, pH, nitritos NO₂, amonio NH₃, alcalinidad, dureza) las cuales se mantuvieron dentro del rango ideal para el cultivo de la especie bajo las condiciones de la estación: Temperatura: 23°C; oxígeno: 6ppm; pH: 6,5; amonio: 0,00648 mg/l NH₃;

nitritos: 0,077 mg/l NO_2 ; alcalinidad: 28,5 mg/l CaCO_3 y dureza: 22,8. Sin embargo se observó un ligero oscurecimiento (turbio) en el color del agua del estanque del grupo de restricción severa a medida que transcurría el periodo de restricción alimenticia, lo cual pudo obedecer a una menor productividad primaria por falta de vertimiento de nutrientes al agua o un mayor consumo de esta por parte de los individuos, no obstante al finalizar el periodo de realimentación no se observaron diferencias en el color del agua de los tres estanques.

2.2.4 Obtención y análisis de muestras

Para la obtención de muestras y su evaluación se realizaron 6 colectas durante la fase experimental, así:

- Periodo inicial (I): en los días 7, 14 y 42, con 6 peces muestreados para los días 7 y 14 y 7 peces para el día 42 (19 peces en el periodo por tratamiento).
- Periodo final (F): en los días 50, 68 y 84 con 7 peces muestreados por día (21 peces en el periodo por tratamiento).

Los intervalos de tiempo entre muestreos se determinaron con el fin de comparar el efecto de los protocolos propuestos con los diferentes estudios reportados, los cuales en su mayoría registran diferencias dentro de estos intervalos, además de marcar puntos determinantes en las respuestas como el inicio y el final de cada periodo. A parte de estas colectas se realizó un muestreo inicial, con el fin de evaluar el estado previo de los individuos al comenzar el estudio. El día de la colecta los peces fueron capturados y anestesiados individualmente con benzocaina (100 mg/l.), seguido a ello se tomó una muestra de sangre a cada individuo a través de punción en la vena caudal con jeringas cubiertas de EDTA para evitar la coagulación de la sangre y realizar el posterior análisis bioquímico. En seguida los animales fueron sacrificados y eviscerados con el objeto de retirar el hígado el cual fue conservado rápidamente en hielo seco (-70°C) para el posterior análisis de glucógeno hepático.

2.2.5 Análisis bioquímicos en plasma y glucógeno hepático

Las muestras de sangre de cada animal fueron divididas en tres alícuotas para los siguientes análisis:

- **Alícuota I:** colectada en tubos capilares para medir el hematocrito (previa centrifugación en *micro centrifuga* a $2500 \times G/5$ min.). Luego de la respectiva lectura se utilizó el plasma separado de la centrifugación para determinar proteínas totales a través de un refractómetro digital.
- **Alícuota II:** colectada en tubos de ependorff® para medir hemoglobina, a través de una prueba de colorimetría utilizando el kit comercial Drabkin Spinreact® a través del equipo analizador de química sanguínea Stat Fax 3300 Awareness Technology Inc®.
- **Alícuota III:** colectada en tubos de ependorff® y reservada a 4°C para su posterior centrifugación a través de una centrifuga refrigerada a $2000 \times G$ durante 10 minutos, lo que permitió obtener el plasma, el cual fue dividido en tres sub-muestras que se congelaron a -20°C para el posterior análisis de metabolitos sanguíneos y cortisol.

A través del equipo analizador de química sanguínea Stat Fax 3300 Awareness Technology Inc® se determinaron en plasma los siguientes parámetros:

- **Glucosa**, a través del Kit comercial Trinder GOD-POD de Spinreact®.
- **Triglicéridos**, a través del Kit comercial colorimétrico enzimático GPO-POD de Spinreact®.
- **Colesterol**, a través del kit comercial colorimétrico enzimático CHOD-POD de Spinreact®.

Mediante la técnica de Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) utilizando un equipo Stat Fax® 303 + Microstrip Reader Awareness Technology Inc® se determinó en plasma:

- **Cortisol**, a través del kit EIA 3625-300 cortisol de Monobind®.

Finalmente, se liofilizó y pulverizó cada hígado para la determinación de glucógeno hepático a través del método descrito por Carroll *et al.* (1955), en el cual se hizo una extracción del glucógeno con ayuda del Ácido Tricloro Acético y posterior precipitación con etanol para ser determinado por el método de Antrona.

2.2.6 Análisis estadístico

El análisis de las diferentes variables sanguíneas y el glucógeno hepático se realizó bajo el siguiente modelo estadístico:

Modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j (\alpha_i) + \gamma_k (\alpha_i * \beta_j) + \theta_l (\alpha_i * \beta_j * \gamma_k)$$

En donde,

Y_{ijkl} : Es la observación del pez l del tratamiento i media en el periodo j del muestreo k .

μ : Media general

α_i : es el efecto del i -ésimo tratamiento.

$\beta_j (\alpha_i)$: es el efecto del periodo j anidado en el tratamiento i .

$\gamma_k (\alpha_i * \beta_j)$: es el efecto del día de muestreo k anidado en el tratamiento i y en el periodo j

$\theta_l (\alpha_i * \beta_j * \gamma_k)$: efecto del pez l anidado en el tratamiento i , en el período j y en el muestreo k (error de muestreo).

Los supuestos de este modelo son material experimental homogéneo y el error de muestreo es una variable aleatoria independiente con distribución normal, media 0 y varianza común, los cuales se probaron mediante Shapiro-Wilk para la normalidad del error y homogeneidad de varianzas a través de una prueba de Levene (Martínez y Martínez, 1997).

Para el análisis de las variables se aplicó un diseño experimental con estructura jerárquica. Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) para evaluar la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de los periodos, las diferencias encontradas fueron comparadas a través de la prueba de Duncan (5%). Los valores son expresados como media y desviación estándar (DS). El análisis estadístico se realizó a través del programa estadístico SAS V8.

2.3 Resultados

En la tabla 2-2 se encuentran los valores iniciales para cada una de la variables analizadas.

Tabla 2-2. Variables sanguíneas y glucógeno hepático en ejemplares de *Piaractus brachypomus* previos al inicio del experimento.

Variable	Cantidad
Hematocrito (%)	32,7 ± 7,56
Hemoglobina(mg dl ⁻¹)	8,07 ± 1,36
Glucosa (mg dl ⁻¹)	138,43 ± 19,90
Triglicéridos (mg dl ⁻¹)	172,06 ± 42,94
Colesterol(mg dl ⁻¹)	99,33 ± 31,26
Proteína (g dl ⁻¹)	3,95 ± 0,27
Cortisol(μg dl ⁻¹)	4,49 ± 0,81
Glucógeno (μg ml ⁻¹)	21,70 ± 9,06

2.3.1 Hematocrito

Los grupos control y de restricción moderada presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) a través del periodo inicial, mientras que el grupo de restricción severa no presentó diferencias significativas para esta variable en ninguno de los dos periodos (Tabla 2-3). Los niveles más bajos de hematocrito se observaron en el periodo inicial al día 7 para el grupo control y al día 42 para el

grupo de restricción moderada con diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tres grupos en estos días de muestreo.

Tabla 2-3: Variables hematológicas (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidas a restricción de alimento y posterior realimentación

Variable	Periodo	Día	Grupos experimentales					
			Control	Moderado	Severo			
Hematocrito (%)	I	7	28,67 \pm 1,97	B,b	34,00 \pm 0,71	A,a	35,17 \pm 1,17	a
		14	32,00 \pm 3,52	AB	35,67 \pm 2,88	A	33,00 \pm 1,79	
		42	34,00 \pm 1,87	A,a	29,71 \pm 2,14	B,b	35,29 \pm 2,14	a
	F	50	34,43 \pm 4,39		34,00 \pm 2,00		34,86 \pm 2,04	
		68	35,57 \pm 0,98		36,00 \pm 2,52		33,57 \pm 1,27	
		84	34,43 \pm 2,30		33,57 \pm 2,30		35,00 \pm 10,71	
Hemoglobina (g dl ⁻¹)	I	7	7,85 \pm 0,87	B	8,45 \pm 0,68		8,68 \pm 0,81	B
		14	7,47 \pm 0,84	B,b	8,68 \pm 0,92	a	9,22 \pm 0,71	AB,a
		42	10,30 \pm 1,44	A,a	8,83 \pm 1,49	b	9,92 \pm 0,73	A,a
	F	50	10,19 \pm 1,81	A	9,33 \pm 0,60		9,54 \pm 0,94	
		68	10,21 \pm 0,50	A	9,49 \pm 0,99		9,36 \pm 0,55	
		84	8,71 \pm 0,67	B	9,40 \pm 0,77		8,64 \pm 0,80	

Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

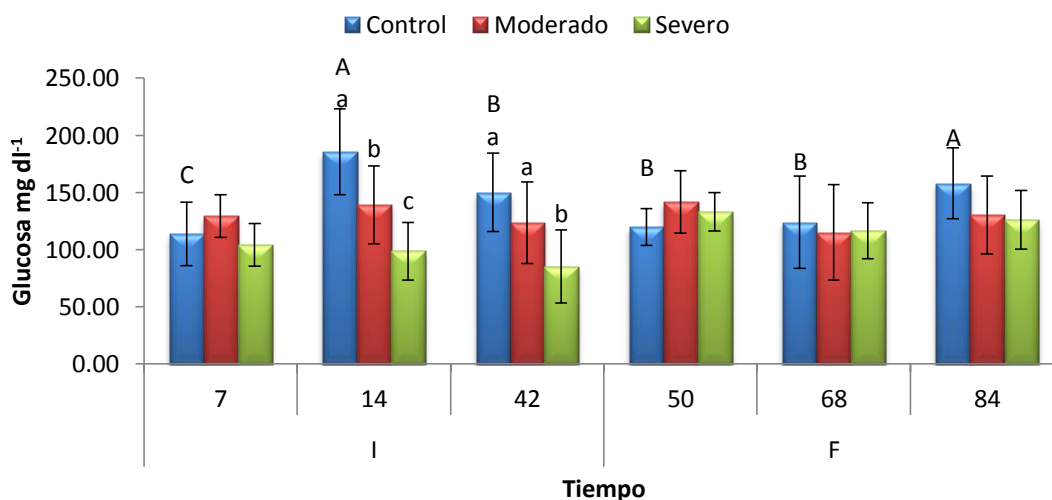
2.3.2 Hemoglobina

A través del periodo inicial se observó un aumento gradual en los niveles de hemoglobina para los tres grupos experimentales, de los cuales el grupo control y el grupo de restricción severa presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de muestreo, asimismo, al día 14 y al día 42 se observaron diferencias significativas entre los tres grupos (Tabla 2-3); mientras que en el periodo final solo el grupo control mostró diferencias significativas, sin embargo al finalizar este periodo no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tres grupos. El grupo control exhibió el promedio más bajo (7,47 mg dl⁻¹) y el más alto (10,30 mg dl⁻¹) para esta variable al día 14 y al día 42 respectivamente.

2.3.3 Glucosa

De los tres grupos experimentales (Figura 2-1), solo el grupo control mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de muestreo en los dos periodos y en este mismo, se observó al día 14 el nivel de glucosa más alto del estudio, por otro lado el grupo de restricción severa presentó un descenso gradual a través del periodo inicial con los valores más bajos para esta variable, pero sin diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los días de muestreo, sin embargo, al día 14 y 42 fueron significativamente inferiores comparados con los dos grupos restantes. El grupo de restricción moderada no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) a lo largo de los dos periodos. El rango el grupo control ($113,61 \pm 27,66 - 185,42 \pm 37,66 \text{ mg dl}^{-1}$) fue ligeramente más amplio que el del grupo de restricción moderada ($115,09 \pm 41,78 - 141,71 \pm 27,38 \text{ mg dl}^{-1}$) y más alto que el del grupo de restricción severa ($85,13 \pm 32,06 - 133,0 \pm 16,70 \text{ mg dl}^{-1}$).

Figura 2-1: Glucosa plasmática (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación.

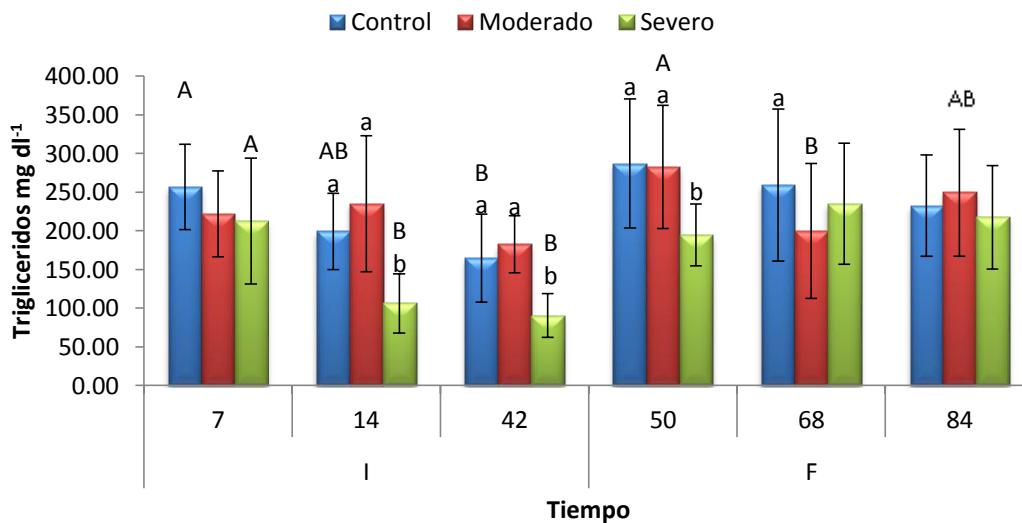


Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.4 Triglicéridos

Los grupos control y de restricción severa presentaron disminuciones significativas para esta variable en el transcurso del periodo inicial (Figura 2-2), tendencia similar se observó en el grupo de restricción moderada, pero sin diferencias significativas ($p > 0,05$), en contraste, en el periodo final solo el grupo de restricción moderada mostró diferencias significativas, con un descenso al día 68. No obstante, el grupo de restricción severa que había presentado los niveles más bajos de triglicéridos plasmáticos durante el periodo inicial, mostró un aumento en el periodo final sin diferencias significativas con los 2 grupos restantes al día 84. El grupo control presentó un rango de $164,8 \pm 56,72 - 287,13 \pm 83,61$ mg dl⁻¹, el cual fue ligeramente más amplio que el del grupo de restricción moderada ($182,53 \pm 36,77 - 282,84 \pm 79,51$ mg dl⁻¹), pero superior al del grupo de restricción severa ($90,44 \pm 28,34 - 235,14 \pm 78,17$ mg dl⁻¹).

Figura 2-2: Triglicéridos plasmáticos (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación.

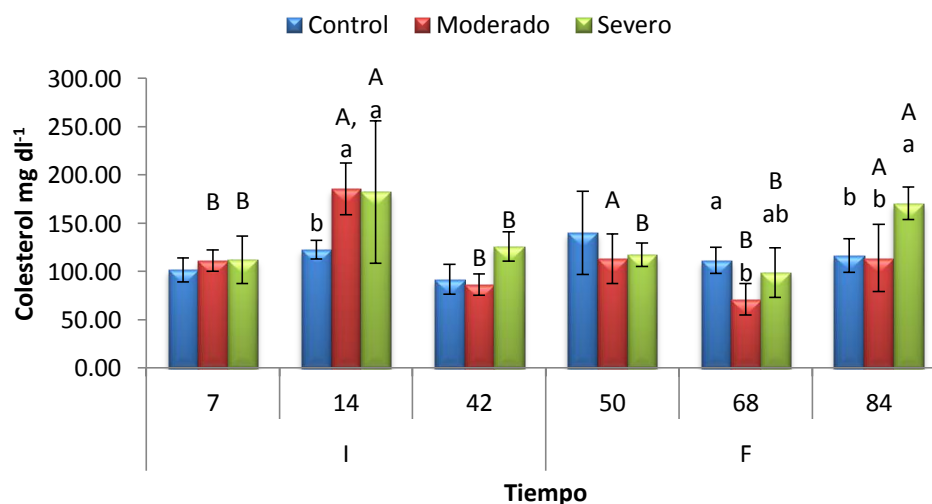


Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.5 Colesterol

El grupo control no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) en ninguno de los dos periodos estudiados, en contraste, los dos grupos de restricción presentaron cambios significativos en estos periodos (Figura 2-3), con un pico al día 14 el cual descendió al día 42; sin embargo, el grupo de restricción moderada mostró un ligero aumento al inicio del periodo final en contraste al grupo de restricción severa, el cual aumentó al día 84. A diferencia de las otras variables, en este día el grupo de restricción severa presentó con diferencia significativa ($p < 0,05$) el valor más alto para la variable estudiada. Por otro lado, los valores medios para el grupo control ($91,73 \pm 15,65 - 139,95 \pm 43,09 \text{ mg dl}^{-1}$) estuvieron dentro de un rango más estrecho, pero con valores cercanos, comparado con el grupo de restricción moderada ($70,95 \pm 16,18 - 185,4 \pm 26,81 \text{ mg dl}^{-1}$) y el grupo de restricción severa ($98,66 \pm 25,46 - 182,06 \pm 73,83 \text{ mg dl}^{-1}$).

Figura 2-3: Colesterol plasmático (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación

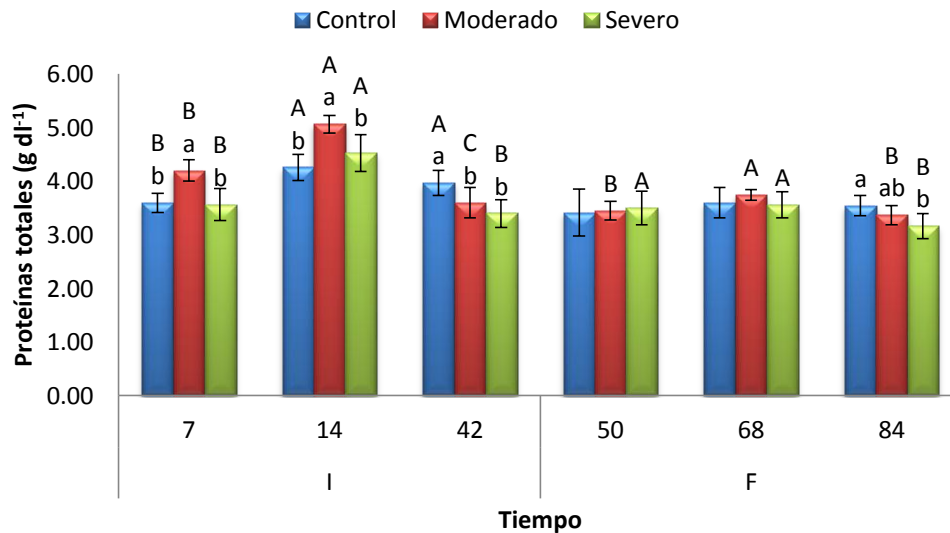


Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.6 Proteínas totales

En el periodo inicial, los tres grupos mostraron una dinámica similar con un pico al día 14, sin embargo al día 42 los dos grupos de restricción presentaron una disminución significativa para esta variable (Figura 2-4). En el periodo final los dos grupos de restricción presentaron disminuciones significativas ($p < 0,05$) al día 84, asimismo se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de restricción severa. El rango para esta variable de los grupos de restricción moderada ($3,37 \pm 0,18 - 5,07 \pm 0,16 \text{ g dl}^{-1}$) y severa ($3,17 \pm 0,23 - 4,52 \pm 0,34 \text{ g dl}^{-1}$) fue muy similar al del grupo control ($3,54 \pm 0,19 - 4,26 \pm 0,24 \text{ g dl}^{-1}$).

Figura 2-4: Proteínas totales plasmáticas (media \pm DS) en *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación



Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.7 Cortisol

Los valores más bajos para esta variable se observaron para el grupo de restricción moderada al día 7 (Tabla 2-4), los cuales presentaron un

comportamiento atípico con alta variabilidad dentro del total de datos, probablemente por un factor no controlado durante el muestreo o el análisis de los mismos. Contrario al periodo inicial, en el periodo final no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tres grupos para cada día de muestreo.

Tabla 2-4: Cortisol plasmático (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación

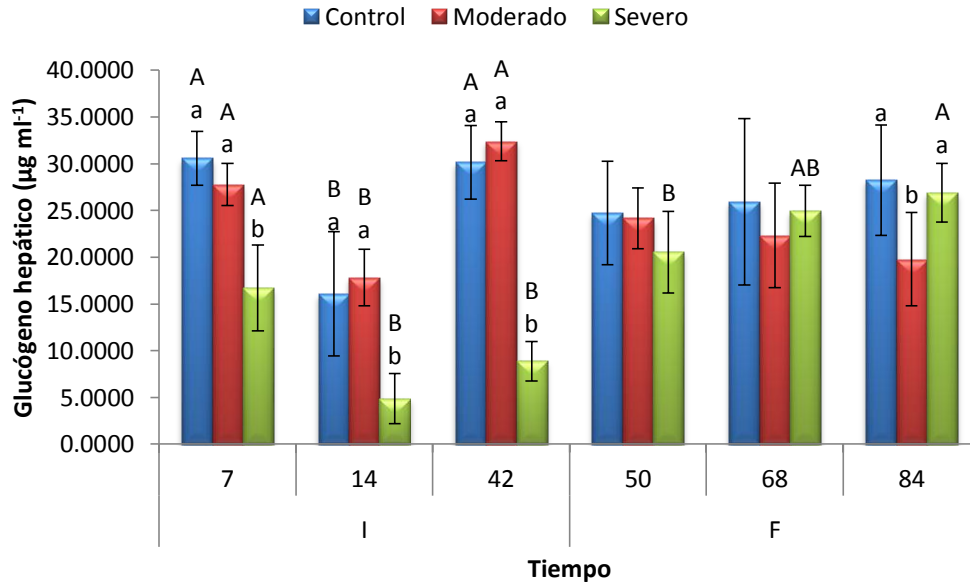
Variable	Periodo	Día	Grupos experimentales		
			Control	Moderado	Severo
Cortisol ($\mu\text{g dl}^{-1}$)	I	7	3,14 \pm 0,76 B,a	0,61 \pm 0,23 C,b	3,69 \pm 0,90 A,a
		14	3,78 \pm 0,98 AB,a	3,82 \pm 0,83 A,a	2,05 \pm 1,12 B,b
		42	4,96 \pm 0,44 A,a	2,57 \pm 0,43 B,b	3,59 \pm 1,01 A,b
	F	50	4,75 \pm 0,72 B	4,09 \pm 0,87	4,49 \pm 0,89
		68	4,78 \pm 1,40 B	4,13 \pm 1,23	4,88 \pm 0,57
		84	6,10 \pm 0,92 A	5,10 \pm 0,90	5,56 \pm 0,88

Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.3.8 Glucógeno hepático

Los tres grupos mostraron un descenso significativo ($p < 0,05$) al día 14 para esta variable (Figura 2-5), sin embargo al finalizar el periodo inicial (día 42) se observó en el grupo control y de restricción moderada un aumento significativo, similar a los valores del día 7, contrario al grupo de restricción severa, el cual desde el día 7 mostró los valores más bajos para la variable en estudio. En el periodo final el grupo de restricción severa aumentó significativamente hasta el día 84 sin diferencias con el grupo control, mientras que el grupo de restricción moderada aunque no mostró cambios significativos a lo largo de este periodo, presentó un ligero descenso al día 84 frente le grupo control.

Figura 2-5: Glucógeno hepático (media \pm DS) en ejemplares de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación



Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

2.4 Discusión

La evaluación de las diferentes variables hematológicas junto con variables endocrinas y bioquímicas son usadas como una herramienta para determinar el estado de salud de los animales, la actividad física, la adaptación al medio ambiente, entre otras (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004; Abdel *et al.*, 2006). En relación a ello y con base en los resultados hematológicos obtenidos, se podría afirmar que periodos de restricción moderada o severa de alimento no perjudican el estatus de salud de los peces, ya que las diferencias en los niveles de hematocrito y hemoglobina encontradas en los grupos estudiados parecieran no estar asociadas a un efecto de la restricción alimenticia, asimismo, no se evidencia un cambio entre los valores observados durante el periodo de restricción alimenticia con los obtenidos a través del periodo de realimentación.

En referencia al hematocrito, el grupo de restricción severa excepto el día 7 no mostró diferencias significativas con el grupo control. De acuerdo con estos resultados Cho (2005) no encontró una tendencia en el cambio de los niveles de hematocrito durante el periodo de restricción ni de realimentación de *Paralichthys olivaceus* que se pudieran asociar a un efecto negativo o positivo a la restricción alimenticia, similares resultados fueron reportados por Abdel *et al.* (2006). Sin embargo, Gillis y Ballantyne (1996), observaron una disminución en los niveles del hematocrito conforme aumentaba el tiempo de restricción, lo cual fue relacionado con una disminución en la capacidad de transportar oxígeno, como respuesta a una disminución en los requerimientos de este. El grupo de restricción moderada mostró un descenso al finalizar el periodo de restricción, respuesta similar a la obtenida por Ríos *et al.* (2005), después de 150 días de restricción; dicho descenso en los niveles de hematocrito fueron similares a los observados en el grupo control al día 7, siendo estos dos los valores más bajos para esta variable, se podrían explicar por la presencia de factores externos no contemplados en el estudio que probablemente influenciaron dicha variable o por variaciones propias de la especie. Durante el periodo de realimentación ninguno de los grupos restringidos mostró diferencias significativas con el grupo control, similar a lo reportado por Ríos *et al.* (2005) en individuos restringidos por 90 días y realimentados por 30 días. Sin embargo, estos autores observaron que aquellos peces que habían sido restringidos por 240 días y realimentados por 30 días no lograron restablecer el valor de hematocrito a valores de individuos control. No obstante, los ligeros cambios que se observaron para esta variable podrían explicarse por cambios en el volumen de los eritrocitos o como fue sugerido anteriormente a variaciones normales de los individuos (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004).

Los valores de hematocrito medidos en ejemplares de *Piaractus brachypomus* del grupo control ($28,67 \pm 1,97$ - $35,57 \pm 0,98\%$), presentaron un rango más amplio pero ligeramente cercano a lo reportado para ejemplares del mismo género

($32,47 \pm 2,26 - 33,83 \pm 2,93\%$) criados bajo condiciones controladas (Almeida *et al.*, 2009); sin embargo, fue menos disperso comparado con el de otras especies de peces de la amazonia (21 - 35%) (Val y Almeida-Val, 1995) y especies cercanas criadas bajo cautiverio o tomadas del medio natural como *Colossoma macropomum* (20,8 - 41,6%), *Piaractus mesopotamicus* (28,2 - 39,8%) e inferior al de *Brycon cephalus* (39,0 - 47,0%) (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004). Los valores encontrados en los individuos restringidos en el presente estudio también se encuentran dentro del mismo rango ($29,71 \pm 2,14 - 36,0 \pm 2,52\%$).

La calidad y la cantidad del alimento unido a otros factores como los medio ambientales tienen un efecto sobre la fisiología de los individuos, especialmente en los peces mantenidos en cautiverio, logrando interferir en las variables hematológicas, sin embargo, variaciones de estas como la concentración de hemoglobina en relación directa con la ganancia de peso, no ha sido una constante observada en todas las especies de peces (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004). Aunque con diferencias al día 42, los dos grupos de restricción alimenticia mostraron un incremento progresivo en el nivel de hemoglobina a través del periodo inicial, similar al incremento reportado en *Hoplias malabaricus* bajo periodos de restricción, pero, entre 60 y 150 días, mientras que en periodos de restricción más cortos y más largos que estos no se observó un incremento o disminución significativa (Rios *et al.*, 2005). No obstante, al finalizar el periodo inicial el grupo de restricción moderada presentó diferencias con el grupo control, de lo cual no se podría concluir que una restricción alimenticia de tipo moderada afecte la producción de hemoglobina, ya que hubo un incremento de esta en el grupo control similar al grupo de restricción severa, lo que podría obedecer a cambios naturales de los individuos. Contrario a lo observado en ejemplares de *Oreochromis niloticus* cuyos niveles de hemoglobina disminuyeron a medida que aumentaba el tiempo de restricción, indicando una posible amenaza contra la salud de los peces como consecuencia del periodo de restricción, sin embargo, una vez iniciado el periodo de realimentación se observó que la hemoglobina

retornó a niveles normales comparados con aquellos de individuos control (Abdel *et al.*, 2006). De la misma manera en el presente trabajo no se observaron diferencias entre los individuos restringidos y los del grupo control durante el periodo de realimentación, señalando que los periodos de restricción aplicados no afectaron a los individuos en un tiempo posterior al periodo de restricción.

Los valores de hemoglobina observados en los peces del grupo control ($7,47 \pm 0,84 - 10,30 \pm 1,44 \text{ g dl}^{-1}$) presentaron un rango más amplio al reportado para individuos de la misma especie criados bajo condiciones controladas ($8,84 \pm 0,70 - 9,29 \pm 0,65 \text{ g dl}^{-1}$) (Almeida *et al.*, 2009), por el contrario, fue un rango más estrecho comparado con otros peces tropicales suramericanos como *Colossoma macropomum* ($3,5 - 11,3 \text{ g dl}^{-1}$), *Piaractus mesopotamicus* ($6,6 - 10,4 \text{ g dl}^{-1}$) y más bajo que los de *Brycon cephalus* ($10,9 - 11,4 \text{ g dl}^{-1}$) (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004), y muy similar a los reportados para tilapia criada en altas densidades ($7 - 9,8 \text{ g dl}^{-1}$) (Hrubec *et al.*, 2000).

En el presente estudio, el análisis de los diferentes metabolitos sanguíneos no tiene en cuenta la respuesta postprandial ya que esta etapa dura generalmente hasta un día de ayuno pos-alimentación y puede variar según la dieta y la especie (Figueiredo-Garutti *et al.*, 2002; Shi *et al.*, 2010) y debido a que los individuos que recibían alimento fueron restringidos un día antes de cada muestreo, con el fin de permitir una máxima evacuación intestinal, sería muy difícil concluir sobre posibles efectos postprandiales, ya que no se realizó un seguimiento detallado de esta dinámica bajo las condiciones experimentales.

El descenso en los niveles de glucosa plasmática en periodos de restricción alimenticia es una respuesta característica observada en diferentes especies sometidas a diferentes periodos de restricción, como *Brycon cephalus* (Figueiredo-Garutti *et al.*, 2002), *Oncorhynchus mykiss* (Pottinger *et al.*, 2003), *Sparus aurata* (Montserrat *et al.*, 2007). Esta respuesta coincide con lo observado

en los peces sometidos al periodo de restricción severa, en los cuales, los niveles de glucosa descendieron a través del periodo inicial en un 38,50% (al día 42) del valor inicial (138,43 mg dl⁻¹), pero sin diferencias significativas, lo cual sugiere que los peces tuvieron la capacidad de conservar los niveles de glucosa dentro de un rango adecuado para su mantenimiento, característica igualmente observada en otros trabajos, en donde hubo disminuciones significativas pero dentro de un rango óptimo para los individuos según diferentes autores (Echevarría *et al.*, 1997; Hung *et al.*, 1997; Power *et al.*, 2000; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007).

Figueiredo-Garutti *et al.* (2002), hicieron un seguimiento de los niveles de glucosa en plasma durante 14 días de restricción, a partir de la última comida suministrada a ejemplares de *Brycon cephalus*, encontrando un pico de glucosa a las 12 horas pos-alimentación como respuesta postprandial, posterior a ello observaron un descenso significativo hasta el día 7 de restricción alimenticia seguido de un ligero aumento al día 14, tal como lo reportan Pottinger *et al.* (2003), lo que en primera instancia sugiere que sería normal encontrar picos de glucosa en periodos prolongados de restricción, los cuales pueden estar promovidos por el uso de las reservas corporales. En contraste, en el presente trabajo hasta el día 42 los valores del grupo de restricción severa se mantuvieron bajos comparados con individuos control y de restricción moderada, sugiriendo que la especie en estudio tuvo un descenso progresivo en los niveles de glucosa o que los tiempos muestreados no coincidieron con posibles elevaciones de esta variable, sí se hubieran presentado; por otro lado, el descenso de la glucosa en plasma indica que hubo un continuo uso de esta para el mantenimiento, además, de una posible disminución en la tasa de uso de la misma, lo cual se refleja con el descenso en un 46,89 y 43,30% en los días 14 y 42 respectivamente, comparados con el grupo control. En contraste, ejemplares de *Acipenser fulvescens*, solo mostraron disminuciones significativas al día 10 (de 60) de restricción respecto al grupo control, manifestando que los niveles de glucosa fueron mantenidos mediante algunos aminoácidos glucogénicos (Gillis y

Ballantyne, 1996), estos autores hacen énfasis en que las concentraciones plasmáticas de glucosa y amino ácidos reflejan la producción neta y la utilización de estos metabolitos por los tejidos; por lo tanto, cambios en estos procesos pueden resultar en cambios en las concentraciones de dichas variables. En relación a esto Love (1970), Navarro y Gutiérrez (1995) en Montserrat *et al.* (2007), señalan que el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa durante restricciones alimenticias está directamente relacionada con la capacidad de la movilización del glucógeno hepático la cual suele ocurrir en estadios tempranos de la restricción alimenticia, además depende del subsecuente cambio en el metabolismo de carbohidratos con la activación de la glucogenólisis y gluconeogénesis hepática y la reducción en la tasa de utilización de la glucosa.

En el grupo de restricción severa el descenso de glucosa en plasma estuvo acompañado de una disminución significativa del glucógeno hepático. Este resultado concuerda con lo observado por otros autores (Power *et al.*, 2000; Figueiredo-Garutti *et al.*, 2002; Pottinger *et al.*, 2003; Montserrat *et al.*, 2007; Barcellos *et al.*, 2010), y confirmaría la importancia del hígado como fuente de reserva energética capaz de modificar el metabolismo, con la activación de la glucogenólisis y/o la gluconeogénesis, para facilitar la obtención de glucosa (Metón *et al.*, 2003); en este mismo grupo, el glucógeno hepático al día 7 ya presentaba una marcada diferencia con los niveles de individuos control, demostrando la disponibilidad del glucógeno como rápida fuente de energía, de acuerdo con lo revisado en otras especies (Hung *et al.*, 1997; Metón *et al.*, 2003), mientras que los niveles de glucosa presentaron diferencias desde el día 14, lo cual sugiere que en tempranos periodos de restricción *Piaractus brachypomus* utiliza el glucógeno hepático como estrategia para el mantenimiento de la homeostasis de glucosa y aunque en esta no se ve un incremento al final del periodo de restricción, se podría afirmar que la tasa de uso disminuyó y fue mantenida a través del glucógeno hepático, lo que explicaría el descenso no significativo de la glucosa, que también es un reflejo de la falta de ingesta de

nutrientes dietarios. Pérez-Jiménez *et al.* (2007) proponen que la baja circulación de glucosa en plasma se debe al bajo consumo por parte de órganos que no dependen exclusivamente de esta como fuente de energía; sin embargo, se observó que el glucógeno hepático se mantuvo desde el día 14 hasta finalizar el periodo de restricción, probablemente por un incremento en la actividad del metabolismo de los lípidos. En *Dicentrarchus labrax* se observó un descenso en las enzimas responsables de la lipogénesis durante 9 días de restricción (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). Cabe recordar que el presente estudio se llevó a cabo en estanques de tierra, en el cual los peces pudieron tener accesibilidad a otro tipo de fuentes alimenticias, como plantas y pequeños pececillos, tal como lo indicó la presencia de restos en el estómago de algunos de los peces del grupo de restricción severa, durante la evisceración, lo que en dadas circunstancias podría ser una alternativa para tolerar la crisis alimentaria, sin embargo, este tipo de cultivos requieren un 100% de alimento de origen exógeno y no se consideraron estos alimentos ocasionales como una fuente importante de alimentación. Power *et al.* (2000), indican que en los primeros estadios de restricción se da una baja tasa de gluconeogénesis primando una mayor actividad de la glucogenólisis y tan solo en periodos avanzados aumenta la gluconeogénesis, lo que permitiría el bajo pero constante mantenimiento de los niveles de glucógeno, así como lo observaron en ejemplares de *Sparus aurata*, los cuales enfrentaron el periodo de restricción (3 semanas) con las reservas de lípidos y proteínas hepáticas, aparte del glucógeno.

Respecto al grupo de restricción moderada se observó que los valores de glucosa durante el periodo inicial se mantuvieron dentro un estrecho rango y similares a individuos control, lo que sugiere que los periodos intermitentes de restricción y realimentación no causaron efectos drásticos sobre los niveles de glucosa circulante, sin embargo, parte del mantenimiento de estos niveles de glucosa también se podrían explicar con el descenso del glucógeno que se observó al día 14 el cual estuvo acompañado de un ligero aumento de la glucosa plasmática; al

final del periodo inicial el grupo de restricción moderada mostró niveles de glucosa y glucógeno similares a los del inicio y a los del grupo control, lo cual sugiere que hubo una adaptación o ajuste en el uso de los nutrientes disponibles, que le permitió mantener su metabolismo de carbohidratos.

Durante el periodo de realimentación, los niveles de glucosa y glucógeno en el grupo sometido a *restricción severa*, aumentaron respecto a los niveles alcanzados al finalizar el periodo de restricción y se mantuvieron similares a los valores del grupo control, esto, en respuesta a la disponibilidad de alimento, así como fue observado en otros trabajos (Power *et al.*, 2000; Barcellos *et al.*, 2010). Al cumplirse la primera semana de realimentación (Día 50) se observó un rápido incremento en estas dos variables, lo cual sugiere una rápida respuesta en el metabolismo, accionado por el retorno a condiciones favorables de alimentación; asimismo se confirma la importancia en la síntesis de glucógeno hepático como reserva energética, ya que en esta fecha la diferencia con el grupo control fue tan solo del 16,94%, el cual aumento gradualmente a través del periodo de realimentación, similar a los hallazgos reportados por Metón *et al.* (2003). Barcellos *et al.* (2010), observaron un retorno del glucógeno a niveles normales luego de dos días de realimentación, además de un incremento superior al grupo control, por lo cual sugirieron que la rápida recuperación y el exceso del glucógeno hepático acumulado a través del periodo de realimentación parece ser una táctica para almacenar energía que sería luego utilizada en la síntesis de tejidos. Montserrat *et al.* (2007), observaron al mes de realimentación un rápido equilibrio en los niveles de glucosa, luego de 1, 3 y 4 semanas de restricción, mientras que el glucógeno hepático en los individuos de 1 y 3 semanas necesitaron más de 1 mes para alcanzar y superar los niveles de individuos no restringidos, señalando que los niveles de glucógeno hepático son dependientes del estatus nutricional (Metón *et al.*, 2003). No obstante, en los diferentes estudios referenciados así como en el presente trabajo es notoria la velocidad de restablecimiento del glucógeno hepático luego de periodos de restricción que

hayan ocasionado grandes pérdidas de este (Power *et al.*, 2000; Metón *et al.*, 2003).

Los valores de glucosa medidos en los peces del grupo control ($113,61 \pm 27,66 - 185,42 \pm 37,66 \text{ mg dl}^{-1}$) son superiores a los reportados para tilapias criadas a baja densidad ($39 - 96 \text{ mg dl}^{-1}$) (Hrubec *et al.*, 2000), y también a lo reportado para ejemplares del mismo género ($67,06 \pm 17,07 - 80,11 \pm 16,23 \text{ mg dl}^{-1}$) por Almeida *et al.* (2009). El contraste con estos valores reportados puede ser por las diferencias en la metodología usada, ya que en el primer estudio el análisis para este metabolito se hizo mediante un análisis de química seca y en el segundo, aunque el autor utilizó la misma metodología del actual trabajo, lo hizo en un tiempo más corto luego de tomada la muestra.

La restricción alimenticia y la inhibición en la síntesis de ácidos grasos podrían ser los responsables de una reducción en los triglicéridos, colesterol y lípidos totales plasmáticos durante periodos de restricción (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). De acuerdo con esto, en el periodo inicial los individuos bajo restricción severa mostraron una disminución en los niveles de triglicéridos, inclusive menores a los del grupo control, similar a lo reportado por Hung *et al.* (1997) y Pérez-Jiménez *et al.* (2007), lo que sugiere un aumento en la lipólisis probablemente del tejido adiposo y/o de los lípidos hepáticos, para suplir ácidos grasos con la consecuente obtención de energía, de ser así, esto podría relacionarse con un posible aumento en los ácidos grasos libres reportado en diferentes trabajos con protocolos de restricción alimenticia similares (Figueiredo-Garutti *et al.*, 2002; Pottinger *et al.*, 2003; Montserrat *et al.*, 2007). Al relacionar el descenso de los triglicéridos con la disminución del glucógeno hepático y los niveles de glucosa del grupo de restricción severa, se sugiere que ante periodos prolongados de restricción alimenticia *Piaractus brachypomus* experimenta un incremento en la utilización de los lípidos con el objeto de cubrir las necesidades energéticas, lo que explicaría porque no hubo un total agotamiento del glucógeno hepático y por

ende no se observó una caída dramática en la glucosa plasmática, es decir que hubo un reajuste metabólico en respuesta a la falta de alimentación. Pottinger *et al.* (2003) y Montserrat *et al.* (2007) proponen que esta condición permitiría que los individuos sean más tolerantes a la hipoglucemia presentada en periodos de restricción, en contraste Echevarría *et al.* (1997) no reportaron cambios en los niveles de triglicéridos en los primeros 40 días de restricción. Asimismo, el grupo de restricción moderada no presentó cambios significativos respecto al grupo control, señalando que la intermitencia de la restricción no afecta el nivel de triglicéridos en plasma, presentándose un probable equilibrio en el consumo, tasa de uso y almacenamiento de los nutrientes.

Al finalizar la primera semana de realimentación, el grupo de restricción severa mostró niveles inferiores de triglicéridos comparado con el grupo control y de restricción moderada, lo que en primer lugar indica, que se requirió más de una semana para restablecer los triglicéridos en plasma a niveles similares de individuos no restringidos y probablemente como respuesta a la disponibilidad de alimento se presentó una alta actividad en el almacenamiento de lípidos. En contraste, juveniles de *Dicentrarchus labrax* al tercer día de realimentación mostraron un aumento en los triglicéridos iguales a aquellos en pre-restricción (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007). Posterior a ello el grupo de restricción severa no presentó diferencias con los otros dos grupos, lo cual sugiere que hubo un restablecimiento en el metabolismo de los lípidos, gracias a la disponibilidad del alimento. De este mismo modo, el grupo de restricción moderada durante el transcurso del periodo de realimentación, no presentó cambios respecto al grupo control lo que confirmaría que periodos intermitentes no afectan dicha variable y podrían estimular un adecuado uso de los nutrientes a pesar de la intermitencia de la alimentación. Sin embargo, el grupo control (periodo inicial) y el grupo de restricción moderada (periodo final) mostraron cambios en los triglicéridos que podrían obedecer a diferencias en la tasa de uso y almacenamiento de los nutrientes.

Los valores de triglicéridos medidos en los individuos control de *Piaractus brachypomus* ($164,8 \pm 56,72 - 287,13 \pm 83,61 \text{ mg dl}^{-1}$) del presente estudio son superiores a lo reportados por Almeida *et al.* (2009) para ejemplares del mismo género ($131,9 \pm 36,4 - 146,2 \pm 36,2 \text{ mg dl}^{-1}$) y a los encontrados en *Oreochromis niloticus* ($35,0 - 65,0 \text{ mg dl}^{-1}$) alimentados con dietas en las que se incluyeron diferentes fuentes de aceite, (Ferreira *et al.*, 2011), pero inferiores a los reportados por Ferro *et al.* (2007) en *Colossoma macropomum* ($240,0 - 320,0 \text{ mg dl}^{-1}$). Aunque el método de análisis de estos estudios se realizó con base en una prueba enzimática-colorimétrica, igual a la utilizada en el presente trabajo, es probable que la diferencia con los resultados reportados se deba a un factor de la dieta, la especie y al tiempo de lectura posterior a la toma de la muestra, en el cual hay diferencias con algunos autores, siendo mayor en el actual trabajo.

Las mayores fluctuaciones significativas en los niveles de colesterol se observaron en los dos grupos de restricción, aunque el grupo control exhibió una tendencia ligeramente similar a estos en los dos periodos. Sin embargo, la variabilidad en las fluctuaciones observadas no se podría explicar exclusivamente por un efecto de la restricción moderada o severa, ya que las diferencias con el grupo control no reflejan un efecto por el cambio en el estatus nutricional. Las fuentes de colesterol pueden ser endógenas (síntesis hepática) o externas (dieta) (Engelhardt, 2006), y con relación a ello se podría sugerir que los peces sometidos a restricción tuvieron una elevada función hepática, lo que supondría una actividad normal del colesterol como componente estructural de las membranas y precursor de una amplia variedad de esteroides (Nelson y Cox, 2005). Sin embargo, Shi *et al.* (2010) reportaron en juveniles de *Acipenser schrenckii* un incremento paulatino en los niveles de colesterol durante 3 días de restricción, lo cual lo atribuyó a una respuesta de estrés a causa de la restricción alimenticia; en contraste con esta observación, Echevarría *et al.* (1997) encontró al igual que lo reportado en este trabajo, variaciones en los niveles de colesterol los cuales asoció a cambios en los índices hepato-somático, gonado-somático y

digesto-somático, además de una posible relación con los cambios en la esterificación plasmática. Contrario a esto, en ejemplares de *Dicentrarchus labrax* se observó un descenso paulatino a través de 9 días de restricción, los cuales retornaron a valores normales durante la fase de realimentación (Pérez-Jiménez *et al.*, 2007).

Los valores de colesterol medidos en los individuos del grupo control ($91,73 \pm 15,65 - 139,95 \pm 43,08 \text{ mg dl}^{-1}$) estuvieron en un rango ligeramente más estrecho pero similar lo reportado por Ferreira *et al.* (2011) en *Oreochromis niloticus* ($70-130 \text{ mg dl}^{-1}$) quien utilizó una técnica enzimática-colorimétrica igual a la utilizada en el presente trabajo; en contraste, Hrubec *et al.* (2000) reportó rangos más dispersos en híbridos de tilapias criadas a baja ($64,0 - 299,0 \text{ mg dl}^{-1}$) y alta densidad ($110,0 - 318,0 \text{ mg dl}^{-1}$), estas diferencias podrían explicarse por un efecto de la especie y el tipo de técnica utilizada en ese estudio (Química seca).

En los días 7 y 14 en los tres grupos experimentales se observó una dinámica similar en la movilización de proteínas plasmáticas; sin embargo, al finalizar el periodo inicial el grupo control se mantuvo con valores constantes mientras que los dos grupos de restricción mostraron un descenso en dicha variable, variaciones similares han sido reportadas en *Acipenser transmontanus* (Hung *et al.*, 1997) y *Dicentrarchus labrax* (Echevarría *et al.*, 1997), sugiriendo que dichas variaciones se deben a una movilización de proteínas para ser usadas como fuente de energía a través de los aminoácidos y/o para ser usados por el hígado para la síntesis de nuevas proteínas plasmáticas. Teniendo en consideración la diversidad que tienen las proteínas plasmáticas (enzimas, transportadoras de diversas sustancias, inmunoglobulinas, etc.) en resumen, constituyen una solución nutritiva disponible permanentemente para el organismo en especial durante periodos de carencia alimentaria (Engelhardt, 2006). No obstante, las variaciones observadas en el nivel de proteína en plasma no se podrían atribuir del todo a un efecto directo de la restricción alimenticia o la realimentación, ya

que al finalizar el periodo de realimentación, el grupo de restricción severa presentó una diferencia significativa con el grupo control, lo que podría obedecer a un cambio normal del individuo, ya que en los días de muestreo previos al día 84 dentro de este periodo no se observó diferencias entre los grupos, sin embargo, al finalizar el periodo de restricción en el que también se observaron diferencias significativas, éstas, se explicarían por un posible incremento en el uso de aminoácidos, en respuesta a la restricción alimenticia. Pottinger *et al.* (2003), observaron un descenso significativo en el nivel de proteínas plasmáticas luego de 13 semanas de restricción comparado con individuos no restringidos, indicando un cambio hacia el catabolismo de proteínas. En contraste, Power *et al.* (2000) no encontraron diferencias después de tres semanas de restricción ni durante el periodo de realimentación.

El nivel de proteínas plasmáticas de los individuos control estuvieron en un rango de $3,54 \pm 0,19 - 4,26 \pm 0,24 \text{ g dl}^{-1}$, menor al reportado por Hrubec *et al.* (2000) para tilapia ($4,8 - 7,8 \text{ g dl}^{-1}$), y al reportado para especies del mismo género ($5,28 \pm 0,30 - 5,66 \pm 0,31 \text{ g dl}^{-1}$) por Almeida *et al.* (2009), y aunque en dichos estudios el análisis de esta variable se realizó bajo los mismos parámetros que en el actual trabajo, se desconoce cuál es la razón en la diferencia entre los valores mencionados, sin embargo es probable que factores como la dieta, la especie y el tipo de cultivo puedan influenciar el nivel de proteínas plasmáticas.

En el presente trabajo se consideró la restricción alimenticia como un factor externo, que posiblemente podría causar estrés y alteraciones en el bienestar animal. En relación a ello, la evaluación de los niveles de cortisol como parámetro del nivel de estrés, el cual aumenta en situaciones críticas (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004), no fue un indicador de la existencia de estrés en los individuos restringidos, ya que estos mostraron niveles de cortisol parecidos o inferiores a los de individuos control, resultados comparables con los reportados por Small (2005) en *Ictalurus punctatus*, donde se observó después de 21 días de

restricción alimenticia niveles de cortisol similares e inferiores comparados con individuos no restringidos. Lo que en primera instancia podría señalar que los individuos restringidos lograron adaptarse a la falta de alimento y a los ciclos de restricción y realimentación según los tratamientos probados en este trabajo; una adaptación como respuesta ante un agente estresor puede disminuir la demanda energética (Iwama *et al.*, 2006). De acuerdo con esto, Mommsen *et al.* (1999), explica que los niveles de cortisol varían según sea la intensidad del agente causante del estrés, así, bajo largos periodos de situaciones estresantes, los peces parecen adaptarse y se observan fluctuaciones del cortisol en plasma dentro del rango normal, contrario al efecto observado bajo estrés agudo, como lo demostró Corredor (2008), quien observó el mayor pico en el nivel cortisol a los 5 minutos de aplicar un agente estresante en juveniles de *Piaractus brachypomus* y un descenso significativo luego de seis horas. No obstante, no se puede dejar de lado el papel de glucocorticoide del cortisol, como regulador del metabolismo energético (Takei y Loretz, 2005). En individuos estresados las alteraciones hematológicas generalmente están acompañadas por una hiperglucemia como resultado del incremento en la liberación del cortisol que induce a una gluconeogénesis hepática (Respuesta secundaria al estrés) (Tavares-Dias y Ruas de Moraes, 2004; Iwama *et al.*, 2006), lo cual no fue comprobado en los resultados obtenidos en este trabajo, ya que los niveles de glucosa no mostraron relación con un efecto de esta hormona, efecto similar al reportado por Pottinger *et al.* (2003). En contraste con nuestros hallazgos, restricciones alimenticias entre 7 y 21 días causaron incrementos en el nivel del cortisol ($124,5 \pm 16,52$ a $174,0 \pm 11,75$ ng ml⁻¹) en *Rhamdia quelen*, comparados con animales control ($25,3 \pm 11,25$ a $32,0 \pm 17,4$ ng ml⁻¹) los cuales descendieron a niveles basales al cuarto día de realimentación, donde el autor postula que los elevados niveles de cortisol en plasma probablemente jugaron un rol en la movilización de substratos energéticos de los peces restringidos (Barcellos *et al.*, 2010).

El rango de cortisol observado en los individuos control ($3,14 \pm 0,76 - 6,10 \pm 0,92 \mu\text{g ml}^{-1}$) fue similar al reportado por Corredor (2008) en individuos de la misma especie ($3,8 - 7,5 \mu\text{g dl}^{-1}$), quien utilizó una técnica de ELISA igual a la usada en el presente estudio.

2.5 Conclusiones

- El cortisol, principal variable indicadora de estrés no fue afectada por los periodos de restricción severa o moderada evaluados en el presente trabajo.
- El grupo de restricción moderada presentó un comportamiento similar al grupo control.
- Los periodos de restricción alimenticia aplicados no causaron daños irreversibles en las variables sanguíneas ni en el glucógeno hepático.
- Las variables hematológicas al igual que las proteínas plasmáticas y el colesterol presentaron un comportamiento variable que no reflejaron un posible efecto de los protocolos de restricción.
- Ejemplares de *Piaractus brachypomus* tienen la capacidad de movilizar reservas energéticas como estrategia para enfrentar los periodos de restricción alimenticia.
- El glucógeno hepático es la principal fuente de energía usada en tempranos estadios de restricción severa.
- Los periodos de realimentación aplicados fueron suficientes para permitir el restablecimiento de las diferentes variables alteradas a través del periodo de restricción.

2.6 Referencias bibliográficas

Abdel, M.; Khattab, Y.; Ahmad, M. y Shalaby, A 2006. Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of applied aquaculture*. 18(3):17-36.

Almeida, A.J.; Yuji, R. y Possebon, J.E. 2009. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture research*. 40: 486-495

Barcellos, L.; Marqueze, A.; Trapp, M.; Quevedo, R. y Ferreira, D. 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*. 300: 231-236.

Carroll, N.; Longley, R. y Roe, J. 1956. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 220 (2): 583-593.

Cho, S. 2005. Compensatory Growth of Juvenile Flounder *Paralichthys olivaceus* L. and Changes in Biochemical Composition and Body Condition Indices during Starvation and after Refeeding in Winter Season. *Journal of the World Aquaculture Society*. 36 (4): 508-514

Corredor, S. 2008. Efecto de la inclusión de ácido ascórbico en la dieta sobre las respuestas fisiológicas de la cachama blanca *Piaractus brachypomus* sometida a estrés agudo. Trabajo de grado presentado para optar al título de Magíster en ciencias para la salud y la producción animal.

Echevarría, G.; Martínez, M. y Zamora, S. 1997. Evolution of biometric índices and plasma metabolites during prolonged starvation. *Comparative Biochemistry Physiology, Part A*. 118(1): 111-123

Engelhardt, W. y Breves, G. *Fisiología veterinaria*. 683p.

Ferreira, F.; Araujo, F.; Costa, D.; Rosa, P.; Figueiredo, H. y Murgas, L. 2011. Influence of Dietary Oil Sources on Muscle Composition and Plasma Lipoprotein Concentrations in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the world aquaculture society*. 42, 1: 24-33

Ferro, C.; Aguiar, L.; Lundstedt, L. y Moraes, G. 2007. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 147, A: 857–862

Figueiredo-Garutti, M.; Navarro, I.; Capilla, E.; Souza, R.; Moraes, G.; Gutiérrez, J y Vicentini-Paulino, M. 2002. Metabolic changes in *Brycon cephalus* (Teleostei, Characidae) during post-feeding and fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 132: 467-476.

Gillis, T.E y Ballantyne, J.S. 1996. The effects of starvation on plasma free amino acid and glucose concentrations in lake sturgeon. *Journal of Fish Biology*. 49: 1306–1316

Hrubec, T.; Cardinale, J. y Smith, S. 2000. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*. 29 (1): 7-12.

Hung, S.; Liu, W.; Li, H.; Storebakken, T. y Cui, Y. 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*. 151:357-363.

Iwama, G.; Afonso, L. y Vijayan, M. 2006. Stress in Fishes. En: Evans, D. y Claiborne, J. *The physiology of fishes*. 601p

Martínez, B. R. y Martínez, R. N. 1997. Diseño de experimentos, análisis de datos estándar y no estándar. Primera edición, Fondo Nacional Universitario. 461p.

Metón, I., Fernández, F. y Baanante, I. 2003. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis–gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 225: 99-107.

Mommsen, T.; Vijayan, M. y Moon, T. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Fish Biology and Fisheries* 9: 211–268

Montserrat, N.; Gómez, P.; Bellini, G.; Capilla, E.; Pérez, J.; Navarro, I. y Gutiérrez, J. 2007. Distinct role of insulin and IGF-I and its receptors in white skeletal muscle during the compensatory growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 267: 188-198.

Nelson, D y Cox, M, 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry* fourth edition. 1119 p.

Pérez-Jiménez, A.; Guedes, M.; Morales, A. y Oliva-Teles, A. 2007. Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*. 265: 325-335

Pottinger, T.; Rand, M y Sumpter, J. 2003. Overwinter fasting and re-feeding in rainbow trout: plasma growth hormone and cortisol levels in relation to energy mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*. 136: 403–417

Power, D.; Melo, J. y Santos, C. 2000. The effect of food deprivation and refeeding on the liver, thyroid hormones and transthyretin in sea bream. *Journal of Fish Biology*. 56: 374-387.

Rios, F; Oba, E.; Fernandes, M.; Kalinin, A. y Rantin, F. 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 140: 281– 287

Shi, X.; Zhuang, P.; Zhang, L.; Chen, L.; Xu, B.; Feng, G. y Huang, X. 2010. Optimal starvation time before blood sampling to get baseline data on several blood biochemical parameters in Amur sturgeon, *Acipenser schrenckii*. *Aquaculture nutrition*. 16: 544-548.

Small, B. 2005. Effect of fasting on nycthemeral concentrations of plasma growth hormone (GH), insulin-like growth factor I (IGF-I), and cortisol in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Comparative biochemistry and physiology*. 142, B: 217-223

Takei, Y. y Loretz, C. 2006. Endocrinology. En: Evans, D. y Claiborne, J. *The physiology of fishes*. 601p

Tavares-Dias, M. y Ruas de Moraes, F. 2004. *Hematologia de peixes teleósteos*. 144p.

Val y Almeida-Val. 1995. En: Val, A.; Almeida-Val, V. y Randall, D. *the physiology of tropical fishes, Fish physiology Vol. 21*. 2006. 634p.

3.Efecto de la restricción alimenticia y la realimentación sobre la composición del músculo blanco de *Piaractus brachypomus*

Resumen

Periodos de restricción alimenticia pueden ser superados a través del uso de los nutrientes depositados en el músculo, promoviendo cambios principalmente en los niveles de carbohidratos y lípidos, y en extremas circunstancias se puede observar una alta movilización de la proteína. Dichos cambios frecuentemente son restablecidos a través de periodos de realimentación. Con el propósito de medir los posibles cambios en los nutrientes del músculo blanco de ejemplares de talla comercial de cachama blanca, se aplicaron dos protocolos de restricción alimenticia, divididos en dos periodos, durante 84 días: en el primero de ellos se hizo una restricción alimenticia del 33,3% (Restricción moderada) y en el segundo se hizo una restricción del 50% (Restricción severa), los cuales fueron comparados con un grupo control que recibió una ración alimenticia similar a la suministrada bajo condiciones de cultivo (todos los días); en el transcurso del experimento se analizó la composición proximal del músculo blanco (proteína cruda, lípidos y cenizas), los niveles de energía y al final de este se realizó un análisis del perfil de ácidos grasos. Se encontró que ninguno de los tiempos de restricción alimenticia tuvo efectos significativos sobre el porcentaje de proteína cruda. Sin embargo, se observaron efectos significativos sobre la energía y el porcentaje de lípidos y cenizas. Respecto a las cenizas, se observó que periodos de restricción alimenticia tienden a aumentar el porcentaje de estas en el músculo, en contraste con ello, los periodos de restricción alimenticia aplicados, provocaron disminuciones en el porcentaje de lípidos y por ende se observaron

iguales fluctuaciones en los niveles de energía. No obstante, cuando los individuos finalizaron su respectivo periodo de realimentación se observó un restablecimiento en el porcentaje de los nutrientes comparados con los individuos no restringidos, aunque al finalizar el experimento y debido a la diferencia de pesos se observó una menor cantidad de nutrientes de los grupos restringidos comparados con el grupo control, lo que comprueba que se presentó una movilización de nutrientes necesaria para enfrentar la crisis alimentaria. En cuanto al perfil de ácidos grasos, la única diferencia entre los tres grupos se observó en el mayor porcentaje de omega-3 en especial en el porcentaje de DHA que mostró el grupo control. Estos resultados permiten concluir que los protocolos de restricción aplicados estimularon en *Piaractus brachypomus* una movilización de nutrientes musculares, sin afectar la integridad del músculo blanco.

3.1 Introducción

Adicional a los cambios endocrinos y su respectivo efecto sobre algunos metabolitos sanguíneos como respuesta a periodos de restricción alimenticia, también se observa un efecto sobre la composición corporal, el cual está ligado y es respuesta a los previos cambios fisiológicos dados en el individuo.

Durante periodos de restricción alimenticia los procesos vitales del cuerpo son mantenidos gracias a las reservas energéticas (depósitos hepáticos, viscerales y musculares) acumuladas durante periodos de disponibilidad alimenticia y como resultado se da un paulatino descenso en los tejidos corporales, por lo cual los antecedentes nutricionales pueden determinar el nivel de reservas energéticas e influenciar la respuesta del individuo en el transcurso de la restricción según sea su severidad (Weatherley y Gill, 1987). Para ello los peces cuentan con reservas de carbohidratos (glucógeno), lípidos y proteínas que les permiten resistir periodos de crisis alimentaria, en los cuales ha quedado claro a través de diversos estudios que su uso puede variar entre especies (De Silva *et al.*, 1997), aunque en la mayoría de trabajos se observa un patrón similar y es el de proteger

la reserva de proteína, la cual generalmente comienza a ser usada cuando ya se han agotado las reservas energéticas restantes.

En los peces, las reservas de lípidos se encuentran principalmente en la grasa visceral, hígado y músculo esquelético (Ali *et al.*, 2003), este último de gran importancia ya que es la principal fuente de proteína y sus respectivos componentes (músculo rojo en menor cantidad y músculo blanco en mayor cantidad) actúan de manera diferencial frente a restricciones alimenticias. En el caso de peces que no acumulan grandes cantidades de lípidos, son las proteínas del músculo blanco la principal fuente de energía durante restricciones prolongadas (Weatherley y Gill, 1987). Mientras que el músculo rojo es una mayor fuente de lípidos (Carvalho y Urbinati, 2005). Sin embargo, se ha comprobado en varias especies la importancia de los lípidos como la principal fuente de energía, ya que tiende a ser el primer componente en ser utilizado para cubrir las necesidades metabólicas, proviniendo principalmente de las reservas hepáticas y viscerales seguido de las musculares. En detalle, en el músculo la energía es obtenida por la oxidación de los ácidos grasos. De los cuales también se han observado cambios debido a restricciones alimenticias, no solo a nivel muscular, sino también en la grasa peri visceral y hepática (Einen *et al.*, 1998; Rondán *et al.*, 2004).

Estrategias de restricción alimenticia y realimentación se han utilizado con el propósito de modificar los componentes corporales para la obtención de productos de mejor calidad. Grigorakis y Alexis (2005), utilizaron periodos de restricción con el fin de mejorar el producto final de *Sparus aurata* y Einen *et al.* (1988) reportan que los productores de salmón restringen ocasionalmente a los peces días previos al sacrificio con el fin de promover el catabolismo y la movilización de los lípidos y así mejorar la calidad del producto final, dado el efecto que tiene la restricción alimenticia sobre la movilización de grasa.

Diversos estudios han comprobado el restablecimiento de los componentes corporales mencionados cuando los peces comienzan periodos de realimentación, sin embargo ha sido notorio el restablecimiento de estos en tejido hepático, depósitos viscerales seguidos del músculo, los cuales llegan a valores semejantes de animales no restringidos.

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de periodos de restricción alimenticia seguidos de periodos de realimentación sobre los principales componentes del músculo blanco de *Piaractus brachypomus*.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Localización

La fase experimental fue realizada en las instalaciones de la Estación Piscícola La Terraza, adscrita a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, ubicada en la ciudad de Villavicencio a 467 m.s.n.m. y temperatura media de 28°C.

La fase de análisis de muestras se llevó a cabo en los Laboratorios de Nutrición Animal y Toxicología, en este último se realizó la identificación de ácidos grasos en el filete (músculo blanco).

3.2.2 Material biológico

Con el fin de monitorear el desarrollo de los individuos experimentales y garantizar que aquellos que fueran seleccionados se encontraran en iguales condiciones y con una misma historia nutricional, en la estación piscícola se llevó a cabo la cría de un lote de 900 individuos de cachama blanca, *Piaractus brachypomus*, posteriormente, se escogieron 791 individuos de 490 ± 45 g de peso promedio, los cuales fueron distribuidos al azar en 3 estanques de similares condiciones previamente adecuados, a una densidad de 1,5 peces/m²; allí fueron

sometidos a un periodo de adaptación de 2 semanas previas al experimento, durante el cual recibieron alimentación al 3% de la biomasa con un alimento balanceado de tipo comercial, recomendado para el cultivo de este tipo de especies tropicales, el mismo que fue suministrado durante la fase experimental, cuya composición se presenta en la tabla 3-1, la cual se identificó a través de un análisis proximal y de ácidos grasos, según la metodología que se describe en la sección 3.2.4.

Con el fin de evaluar los diferentes parámetros bajo condiciones normales de cultivo comercial, la fase de campo se desarrolló en estanques de tierra con entrada y recambio permanente de agua; durante el periodo experimental no se realizó ningún tipo de fertilización ni mantenimiento a los estanques, ya que estas actividades se realizaron antes de iniciar el ensayo. En general, las condiciones de manejo se realizaron con base en un cultivo (de engorde) de tipo comercial establecido dentro de la estación piscícola, dentro del cual se incluye el manejo del agua (suministro constante), monitoreo de los individuos (en horas de suministro de la comida y pescas ocasionales), división de la ración alimenticia en dos raciones diarias (con base en la biomasa), monitoreo de las condiciones físico químicas del agua y prevención en el crecimiento de plantas como la azolla, a través de limpieza semanal de las orillas de los estanques.

3.2.3 Tratamientos y manejo experimental

La fase experimental tuvo una duración de 12 semanas (84 días), la cual fue dividida en dos periodos cada uno de 6 semanas, así:

- Periodo inicial o de restricción alimenticia (I): del día 1 al 42
- Periodo final o de realimentación (F): del día 43 al 84

Tabla 3-1: Composición bromatológica (%) y ácidos grasos (%) del alimento balanceado

Variable	Cantidad
Materia Seca	90,46
Cenizas	9
Proteína	32,32
Extracto etéreo	3,07
Ácidos Grasos	
C8:0	0,995
C12:0	0,08
C14:0	1,24
C15:0	0,175
C16:0	19,385
C16:1	2,305
C17:0	0,345
C18:0	5,03
C18:1n-9	27,07
C18:1n-7	1,455
C18:2n-6	33,775
C18:3n-3	2,465
C18:3n-6	0,125
C20:0	0,44
C20:1	0,65
C20:2	0,29
C20:4n-6	0,37
C20:5n-3	1,05
C22:0	0,22
C22:5n-3	0,325
C22:6n-3	1,69
C24:0	0,53
Pufas	40,095
Mufas	31,48
Sfas	28,425
n - 3	5,535
n - 6	34,27
n - 6 / n - 3	6,195

Durante este tiempo se aplicaron 2 tratamientos o protocolos de alimentación los cuales fueron comparados con un tratamiento control y asignados aleatoriamente a cada estanque luego de terminado el periodo de adaptación, así:

- Grupo control: se le suministró alimentación todos los días
- Grupo de restricción moderada: durante el periodo inicial fue restringido por dos días y alimentado por tres días de manera alternada y consecutiva; con una restricción del 42,86% (18 días), frente al grupo control. Durante el segundo periodo fue restringido por dos días y alimentado por tres días de manera alternada y consecutiva durante las primeras cuatro semanas y finalizó dicho periodo con dos semanas de alimentación continua; con una restricción del 23,81% (10 días), frente al grupo control. Para un total del 33,3% de restricción alimenticia durante todo el estudio.
- Grupo de restricción severa: durante el periodo inicial tuvo una restricción alimenticia total es decir un 100% (42 días) de restricción frente al grupo control; una vez iniciado el periodo final y durante este se le suministró alimentación todos los días, es decir 0% de restricción alimenticia. Para una restricción total del 50% frente al grupo control a través de todo el estudio.

Los individuos fueron alimentados de acuerdo al tratamiento, suministrándoles dos raciones diarias (9:00 y 14:00 horas) con base en la biomasa de cada estanque, la cual fue calculada a través de muestreos periódicos (cada 20 días) del 10% de la población, los cuales además permitieron hacer un seguimiento detallado del estado de los peces.

3.2.4 Obtención y análisis de muestras

Para la obtención de muestras y su evaluación se realizaron 6 colectas durante la fase experimental, así:

- Periodo inicial (I): en los días 7, 14 y 42, con 6 peces muestreados para los días 7 y 14 y 7 peces para el día 42 (19 peces en el periodo por tratamiento).

- Periodo final (F): en los días 50, 68 y 84 con 7 peces muestreados por día (21 peces en el periodo por tratamiento).

Los intervalos de tiempo entre muestreos se determinaron con el fin de comparar el efecto de los protocolos propuestos con los diferentes estudios reportados, los cuales en su mayoría registran diferencias dentro de estos intervalos, además de marcar puntos determinantes en las respuestas como el inicio y el final de cada periodo. Aparte de estas colectas se realizó un muestreo inicial, con el fin de evaluar el estado previo de los individuos al comenzar el estudio. El día de la colecta los peces fueron capturados y anestesiados individualmente con benzocaina (100 mg/l), posteriormente fueron sacrificados por sección de la médula espinal y eviscerados. Luego se tomó una porción de músculo blanco de cada individuo la cual se reservó a -20°C para posterior análisis, para ello fue necesario liofilizar cada muestra por 25 horas. A las muestras ya liofilizadas se les efectuaron los siguientes análisis:

- **Cenizas:** se calculó por diferencia de peso antes y después de incinerar aproximadamente 1g de muestra en una mufla a 600°C por dos horas, (A.O.A.C. 2005).
- **Proteína:** se calculó el nitrógeno total de la muestra (800 mg, aproximadamente) por el método de Kjeldahl y se multiplicó el valor obtenido por 6,25 para hallar el valor total de proteína, (A.O.A.C. 2005).
- **Extracto etéreo:** se hizo una extracción con éter de petróleo en aproximadamente 1g de muestra a través de un equipo Soxhlet, por dos horas a 60°C, (A.O.A.C. 2005).
- **Energía:** se hizo una combustión de aproximadamente 300 mg de muestra a través de una bomba calorimétrica. En este tipo de muestras, debido a su voluminosidad, se recomienda usar entre 200 y 500 mg de muestra para una adecuada combustión.
- **Ácidos Grasos:** La composición porcentual (perfil) de los ácidos grasos se realizó únicamente en las muestras de filete obtenidas al finalizar el experimento

(día 84), ya que se buscaba verificar el contenido de estos en el producto final destinado al consumo humano. Los lípidos se extrajeron utilizando la metodología descrita por Folch (1957) ajustándola al contenido de humedad de las muestras liofilizadas. Los lípidos extraídos fueron sometidos a metil-esterificación utilizando un reactivo comercial (Meth-Prep II[®]) y analizados en un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama (Shimadzu GC-20A). La separación de los metil-ésteres de los ácidos grasos se realizó con una columna Supelco[®] Omegawax 320 de 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm de grosor de película utilizando una rampa de temperatura (temperatura inicial de 80°C, 10°C/min hasta 190°C, 20 min a 190°C, 2°C/min hasta 220°C y 10 min a 220°C). Como gas transportador se utilizó helio y la inyección se realizó en modo “split” (relación 1:50). Los analitos se identificaron por comparación de los tiempos de retención de las muestras con los de una mezcla estándar de ácidos grasos (Supelco[®] 37component FAMEMix).

3.2.5 Análisis estadístico

- El análisis de las variables cenizas, proteína, extracto etéreo y energía se realizó bajo el siguiente modelo estadístico:

Modelo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j(\alpha_i) + \gamma_k(\alpha_i * \beta_j) + \theta_l(\alpha_i * \beta_j * \gamma_k)$$

En donde,

Y_{ijkl} : Es la observación del pez l del tratamiento i media en el periodo j del muestreo k .

μ : Media general

α_i : es el efecto del i -ésimo tratamiento.

$\beta_j(\alpha_i)$: es el efecto del periodo j anidado en el tratamiento i .

$\gamma_k(\alpha_i * \beta_j)$: es el efecto del día de muestreo k anidado en el tratamiento i y en el periodo j

θ_l ($\alpha_i * \beta_j * \gamma_k$): efecto del pez l anidado en el tratamiento i, en el período j y en el muestreo k (error de muestreo).

Los supuestos de este modelo son material experimental homogéneo y error de muestro como una variable aleatoria independiente con distribución normal, media 0 y varianza común, los cuales se probaron mediante Shapiro-Wilk para la normalidad del error y homogeneidad de varianzas a través de una prueba de Levene (Martínez y Martínez, 1997).

Para el análisis de las variables se aplicó un diseño experimental con estructura jerárquica. Se realizó un análisis de varianza (ANAVA) para evaluar la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos y entre periodos, las diferencias encontradas fueron comparadas a través de la prueba de Duncan (5%). Los valores son expresados como media y desviación estándar (DS). El análisis estadístico se realizó a través del programa estadístico SAS V8.

- El análisis de la composición de ácidos grasos se realizó bajo el siguiente modelo estadístico:

Modelo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \varepsilon_{ij}$$

En donde,

Y_{ij} : es la observación del filete j medida en el tratamiento i

μ : es la media general

T_j : es el efecto del j-ésimo tratamiento

ε_{ij} : es el error experimental.

Los supuestos del modelo fueron los mismos del modelo anterior. El análisis estadístico de los ácidos grasos se llevó a cabo bajo un diseño experimental

completo al azar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, las diferencias encontradas fueron comparadas a través de la prueba de Duncan (5%).

3.3 Resultados

En la tabla 3-2, se detalla el porcentaje inicial de cada una de las variables en estudio en el músculo, excepto el de ácidos grasos. Los resultados obtenidos para cenizas, proteína, extracto etéreo, energía y ácidos grasos del músculo blanco son expresados en términos de materia seca (23,49%).

Tabla 3-2: Composición inicial del músculo de *Piaractus brachypomus* en porcentaje de materia seca.

Variable	
Cenizas (%)	6,46 ± 0,61
Proteína Cruda (%)	86,15 ± 6,50
Extracto etéreo (%)	5,20 ± 1,41
Energía (cal g ⁻¹)	5249,99 ± 103,01

3.3.1 Cenizas

El grupo de restricción moderada en el periodo inicial y el grupo de restricción severa en el periodo final (Tabla 3-3) presentaron diferencias estadísticas ($p < 0,05$), asimismo, hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos dentro de cada día de muestreo, excepto los días 7 y 84, observándose en el grupo control los porcentajes más bajos de cenizas y en el grupo de restricción severa los más altos excepto en los días 14 y 84. En la última fecha de muestreo no se observaron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) entre los tres grupos.

Tabla 3-3: Composición (media \pm DS) del músculo blanco en porcentaje de materia seca, de *Piaractus brachypomus* sometidos a restricción de alimento y posterior realimentación.

Variable	Periodo	Día	Grupos experimentales					
			Control	Moderado	Severo			
Cenizas (%)	I	7	6,19 \pm 0,19	6,23 \pm 0,12	AB	6,32 \pm 0,18		
		14	6,07 \pm 0,22	b	6,41 \pm 0,08	A,a	6,33 \pm 0,16	a
		42	6,03 \pm 0,32	b	6,12 \pm 0,24	B,b	6,47 \pm 0,13	a
	F	50	5,90 \pm 0,16	b	6,06 \pm 0,14	b	6,54 \pm 0,21	A,a
		68	5,77 \pm 0,31	b	6,01 \pm 0,47	a	6,23 \pm 0,13	B,a
		84	5,89 \pm 0,25		5,95 \pm 0,22		5,88 \pm 0,19	C
Proteína (%)	I	7	83,37 \pm 3,98	86,30 \pm 1,68		84,82 \pm 2,13		
		14	85,00 \pm 2,87	86,56 \pm 0,55		88,39 \pm 1,59		
		42	83,99 \pm 2,56	84,54 \pm 3,74		86,38 \pm 1,58		
	F	50	80,70 \pm 3,24	85,17 \pm 2,86		87,42 \pm 2,69		
		68	83,81 \pm 4,63	85,25 \pm 3,55		84,74 \pm 2,79		
		84	83,18 \pm 3,70	83,94 \pm 2,09		82,56 \pm 4,67		
Extracto Etéreo (%)	I	7	5,95 \pm 1,35	5,25 \pm 1,61		5,26 \pm 1,48		
		14	7,49 \pm 1,95	a	5,76 \pm 0,92	b	3,70 \pm 1,17	c
		42	7,61 \pm 1,52	a	5,90 \pm 1,24	a	4,13 \pm 0,99	b
	F	50	9,42 \pm 0,74	A,a	6,21 \pm 1,52	b	4,85 \pm 1,60	B,b
		68	7,05 \pm 0,79	B	6,84 \pm 1,21		6,19 \pm 0,36	B
		84	8,40 \pm 1,54	AB	7,81 \pm 1,28		8,22 \pm 2,40	A
Energía (cal g ⁻¹)	I	7	5145,74 \pm 147	B	5088,30 \pm 102	B	5082,36 \pm 125	
		14	5360,04 \pm 107	A	5168,13 \pm 55	AB	5162,28 \pm 149	
		42	5408,38 \pm 114	A,a	5311,28 \pm 165	A,ab	5161,15 \pm 73	b
	F	50	5578,55 \pm 141	a	5465,69 \pm 132	ab	5298,64 \pm 280	B,b
		68	5632,96 \pm 255	a	5364,25 \pm 313	b	5294,74 \pm 88	B,b
		84	5543,39 \pm 250		5474,48 \pm 159		5597,85 \pm 277	A

Periodo de restricción o inicial (I) y periodo de realimentación o final (F). Letras mayúsculas diferentes dentro de cada periodo en cada tratamiento indican diferencias significativas ($p < 0,05$); Letras minúsculas diferentes entre los tratamientos dentro de cada día de muestreo indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

3.3.2 Proteína

A pesar de no observar diferencias significativas sobre el porcentaje de proteína cruda (Tabla 3-3) entre los tiempos y periodos de colecta, al comparar los valores

promedio para cada tratamiento (Control: 83,34%; Moderado: 85,28% y Severo: 85,72%) se encontraron diferencias significativas entre ellos, siendo el grupo control estadísticamente menor a los grupos de restricción ($p < 0,05$), en los cuales se observó un descenso a lo largo del estudio. Los valores más altos de proteína se registraron el día 14 y 50 en el grupo de restricción severa, mientras que en el grupo control se obtuvo el menor valor el día 50.

3.3.3 Extracto etéreo

Los valores más altos a lo largo de los dos periodos los presentó el grupo control mientras que el grupo de restricción severa presentó los valores más bajos (Tabla 3-3). A través del periodo inicial, el tratamiento de restricción severa no presentó diferencias estadísticas ($p > 0,05$) entre sí, aun cuando se observó un descenso en el porcentaje de extracto etéreo a medida que aumentaba el periodo de restricción, siendo estadísticamente menor a los dos grupos restantes en los días 14 y 42, llegando a disminuir en un 50,53% al día 14 y un 45,67% al día 42 respecto al grupo control. Mientras que el grupo de restricción moderada sin diferencias estadísticas entre sí, disminuyó significativamente en el día 14 en un 23,07% respecto al grupo control. En el periodo final, tan solo al día 50, los grupos de restricción fueron significativamente inferiores al grupo control, observándose un descenso significativo en los niveles de extracto etéreo del grupo control y de restricción severa, aunque al finalizar el periodo de realimentación no se observaron diferencias entre los grupos experimentales.

3.2.1 Energía

En el transcurso del periodo inicial se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) en el nivel de energía en las muestras del grupo control y de restricción moderada, cuyo nivel se mantuvo sin diferencias en el periodo final (tabla 3-3). En el grupo de restricción severa los niveles de energía se mantuvieron constantes durante el periodo de restricción contrario a lo observado en el periodo de

realimentación donde se hizo evidente un aumento significativo en los niveles de energía, aunque fueron estadísticamente inferiores al grupo control en los días 42, 50 y 68. Mientras que el grupo de restricción moderada solo presentó diferencias con el grupo control al día 68. Durante el experimento los valores más altos se registraron para el grupo control. Sin embargo, en el día 84 no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos.

3.3.4 Ácidos grasos

En el perfil lipídico de las muestras de filete (músculo blanco) al finalizar el experimento (día 84), se observaron diferencias significativas para los ácidos grasos omega 3, siendo mayor en el tratamiento control (Tabla 3-4). Los ácidos grasos omega 6, poli insaturados (PUFAS), mono insaturados (MUFAS) y saturados (SFAS) y la relación N6/N3 no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. En la tabla 3-5 se puede observar el perfil de ácidos grasos obtenidos al final del ensayo para los tres grupos experimentales, donde es evidente el mayor porcentaje de los ácidos grasos omega 3 alfa-linolénico, EPA, DPA pero en especial el DHA del grupo control.

Tabla 3-4: Ácidos Grasos (media \pm DS) e índice N6/N3 del músculo blanco de *Piaractus brachypomus* al final del periodo de realimentación

Ácidos Grasos	Grupos experimentales		
	Control	Moderado	Severo
SFA	39,53 \pm 1,05	39,86 \pm 0,91	39,84 \pm 0,53
MUFA	34,66 \pm 1,93	36,36 \pm 1,10	36,59 \pm 2,02
PUFA	25,82 \pm 1,90	23,78 \pm 1,30	23,57 \pm 2,04
N3	8,22 \pm 1,19 a	6,65 \pm 1,05 b	6,87 \pm 1,31 b
N6	16,84 \pm 0,71	16,47 \pm 0,31	16,04 \pm 0,76
N6/N3	2,08 \pm 0,22	2,53 \pm 0,34	2,40 \pm 0,42

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

Tabla 3-5: Perfil de ácidos grasos (%) del músculo blanco de *Piaractus brachypomus* al final del periodo de realimentación

Ácidos Grasos	Grupos experimentales		
	Control	Moderado	Severo
Ácidos grasos saturados (SFA)			
C14:0 Mirístico	2,61	2,53	2,71
C15:0 Pentadecanoico	0,21	0,19	0,21
C16:0 Palmítico	26,45	26,27	27,12
C17:0 Heptadecanoico	0,33	0,31	0,32
C18:0 Esteárico	9,60	10,17	9,19
C20:0 Araquídico	0,19	0,21	0,18
C22:0 Behénico	0,13	0,21	0,11
Ácidos grasos mono-insaturados (MUFA)			
C14:1 Miristoleico	0,19	0,20	0,22
C16:1 Palmitoleico	6,06	5,82	6,97
C17:1 cis-10 Heptadecanoico	0,13	0,11	0,12
C18:1n-9c/t Oléico	27,64	29,48	28,58
C20:1 Eicosanoico	0,60	0,68	0,66
C24:1 Nervónico	0,05	0,10	0,04
Ácidos grasos poli-insaturados (PUFA)			
C18:2n-6c/t Linoléico	14,06	14,01	13,60
C18:3n-3 α -Linolénico	0,99	0,84	0,92
C18:3n-6 γ - Linolénico	0,14	0,17	0,14
C20:2 Eicosadiénico	0,58	0,52	0,51
C20:3n-3 cis-11,14,17Eicosatriénico	0,14	0,18	0,17
C20:3n-6 cis-8,11,14Eicosatriénico	0,94	0,86	0,82
C20:4n-6 Araquidónico	1,71	1,58	1,47
C20:5n-3 Eicosapentanoico(EPA)	1,46	1,15	1,22
C22:2 Decosadiénico	0,18	0,14	0,15
C22:5n-3 Decosapentanoico (DPA)	0,73	0,67	0,62
C22:6n-3 Decosahexanoico (DHA)	4,90	3,84	3,94

3.3.5 Cantidad de nutrientes finales

Al finalizar el periodo de realimentación se obtuvieron los siguientes pesos promedios: 680,19 g para el grupo control, 632,83 g para el grupo de restricción moderada y 602,79 g para el grupo de restricción severa; con base en estos resultados, se calculó el contenido de los diferentes nutrientes, en donde se encontró para cenizas: 2,45 g en el grupo control, 2,20 g en el grupo de restricción moderada y 2,14 g en el grupo de restricción severa; para proteína: 34,56 g en el grupo control, 30,96 g en el grupo de restricción moderada y 30,0 g en el grupo de restricción severa; para lípidos: 3,49 g en el grupo control, 2,88 g en el grupo de restricción moderada y 2,99 g en el grupo de restricción severa.

3.4 Discusión

Individuos bajo periodos de restricción pueden exhibir cambios en su composición corporal como estrategia para compensar y mantener la “homeostasis” de sus funciones vitales, bajo esta circunstancia el músculo está en capacidad de actuar como fuente de energía a través de la reserva de lípidos, carbohidratos y proteínas. El uso de estos substratos bajo condiciones críticas de alimentación varía según la especie y las condiciones ambientales, aun cuando se observa preferencia por el uso de carbohidratos y lípidos como fuente de energía para el mantenimiento durante épocas de restricción (Cho, 2005), siendo los primeros en forma de glucógeno rápidamente usados para la actividad muscular (Nelson y Cox, 2005; Montserrat *et al.*, 2007). Seguido de los lípidos (fuente energética en mayor proporción) con el fin de preservar la proteína, la cual es generalmente usada como última alternativa cuando las reservas de lípidos se han agotado (Hung *et al.*, 1997).

Durante el periodo inicial, en los dos grupos de restricción no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de lípidos del músculo blanco, esto podría explicarse por dos factores, el primero: un posible gasto inicial de los carbohidratos del músculo; segundo: es probable que el periodo de restricción no

fue lo suficientemente extenso para causar una disminución significativa, como fue señalado por Echeverría *et al.* (1997), quienes sugieren que en la fase inicial del periodo de restricción se da una movilización de la masa muscular como un todo, lo cual se refleja en los cambios del peso corporal y sólo con tiempos mayores de restricción se podrían observar cambios significativos en la composición muscular, teniendo en cuenta que es el músculo rojo el que tiene principal actividad metabólica, ya que el músculo blanco principalmente es estructural, esta diferencia es confirmada por Carvalho y Urbinati (2005) en reproductores de *Brycon cephalus* quienes reportan mayor porcentaje de lípidos en músculo rojo que en músculo blanco, proporción igualmente observada en reproductores de *Sarda sarda* (Zaboukas *et al.*, 2006). Sin embargo, en el presente trabajo se observó en el día 14 un descenso en el porcentaje de lípidos en los dos grupos de restricción, significativamente diferentes al nivel registrado por el grupo control, diferencia que desapareció en el día 42 para el grupo de restricción moderada, sugiriendo que hubo una mejor disposición y utilización de los nutrientes y alimento suministrado durante los periodos intermitentes de restricción y realimentación, lo que se ve reflejado en un incremento de los lípidos hacia el final del periodo, siguiendo una dinámica similar a la del grupo control; mientras que el grupo de restricción severa continuo con bajos niveles, indicando así el constante uso de lípidos musculares durante la fase de restricción. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Heide (2006) y Echevarria *et al.* (1997) quienes observaron ligeros cambios en los niveles de lípidos pero sin diferencias significativas. En contraste con estos resultados, Souza (1998) encontró disminuciones significativas en los niveles de lípidos después de 30 días de restricción alimenticia en ejemplares de *Piaractus mesopotamicus* sugiriendo una utilización de reservas lipídicas como fuente energética para suplir las necesidades metabólicas, repuesta también observada en tiempos que oscilan entre 1 y 4 semanas de restricción en otras especies (Xie *et al.*, 1997; Shiau *et al.*, 2001; Cho, 2005; Grigorakis y Alexis 2005; Montserrat *et al.*, 2007).

Zhu *et al.* (2005), observaron en *Leiocassis longirostris* en la primera semana de realimentación que los niveles de lípidos fueron restablecidos al nivel de animales no restringidos, respuesta que concuerda con lo observado en el presente trabajo; una vez iniciado el periodo de realimentación y en el transcurso del mismo, se observó un aumento en el porcentaje de lípidos de los dos grupos restringidos, el cual fue especialmente significativo dentro del grupo de restricción severa y sin diferencias estadísticas a partir del día 68 con el grupo control, es decir que estos individuos tardaron entre 7 y 25 días post alimentación para llegar a valores similares de animales no restringidos, esta respuesta confirma que los animales movilizaron parte de la reserva de lípidos del músculo para su mantenimiento durante la fase de restricción alimenticia. En el caso del grupo de restricción moderada se observó a lo largo del ensayo, un incremento paulatino en el porcentaje de lípidos, similar al observado en el grupo control, aunque no lo suficientemente marcado como en este último grupo, lo cual supone que periodos alternados de restricción y realimentación impiden una alta deposición de lípidos a nivel muscular, mientras que periodos de alimentación continua aumentan el depósito de ellos, como se pudo corroborar a partir del día 68, tiempo en el cual los individuos recibieron alimento de manera continua. En contraste, Abdel *et al.* (2006) encontraron que tilapias restringidas por 4 semanas y realimentadas por 9 semanas no depositaron igual cantidad de lípidos que los controles al final del periodo de realimentación.

Contrario a la dinámica observada para los lípidos en el presente trabajo, algunos autores reportan que periodos de restricción alimenticia no afectan de la misma manera el nivel de proteína en la carcasa o filete de los individuos (Souza, 1998; Cho, 2005; Heide, 2006). De acuerdo con ello, en el actual trabajo la aplicación de periodos de restricción alimenticia de tipo severo o moderado, seguidos de periodos de realimentación no afectaron negativamente el porcentaje de proteína en el músculo blanco, por el contrario se observó que los individuos restringidos presentaron mayores porcentajes de proteína (en promedio) que los del grupo

control, lo cual no significa que los individuos restringidos hayan depositado una mayor cantidad de proteína, por el contrario, tal aumento es una respuesta al movimiento de nutrientes importantes para el mantenimiento corporal durante periodos de restricción, que hacen que en dicha situación se concentren otros nutrientes; es decir, durante restricciones alimenticias son los carbohidratos y los lípidos los primeros en ser utilizados y su movilización explicaría la presencia de mayor porcentaje de proteína en los individuos restringidos. Esto soportaría la teoría de que en momentos de restricción alimenticia se protegen ciertos nutrientes, en este caso, la proteína (Regost, 2001; Abdel *et al.*, 2006). Sin embargo, una vez se agotan las reservas de lípidos en el músculo es posible observar movilización de proteínas (Grigorakis y Alexis, 2005). En contraste con estos resultados, Shiau *et al.* (2001), observaron que al someter ejemplares de *Chanos chanos* a 60 días de restricción, se presentaba una disminución significativa en el porcentaje de proteína y lípidos casi de manera simultánea, lo cual sugiere que esta especie utiliza estos dos nutrientes como fuente de energía. Resultados similares también han sido reportados por otros autores (Xie *et al.*, 1997; Rueda *et al.*, 1998; Zhu *et al.*, 2005), asimismo, Hung *et al.* (1997) reportaron en *Acipenser transmontanus* un marcado descenso en los niveles de lípidos en periodos de restricción acompañado de una baja disminución de la proteína. Por otro lado, Quian *et al.* (2000) señalan que periodos de restricción mejoran la retención de proteína durante los posteriores periodos de realimentación.

La restricción severa evaluada en el presente trabajo no parece afectar significativamente el porcentaje de cenizas en el músculo blanco de *Piaractus brachypomus*. Sin embargo, es claro que hubo una diferencia entre el porcentaje del grupo de restricción severa y el grupo control durante el periodo de restricción alimenticia, lo cual no significa que en los peces del grupo control haya disminuido la cantidad de cenizas o que en los peces del grupo de restricción severa haya aumentado la cantidad de estas, sino que a través del tiempo se

presentaron ligeros cambios en la proporción de acuerdo al peso del animal y al tratamiento aplicado; en el caso del grupo de restricción moderada se observó un aumento significativo al día 14 pero cae nuevamente al día 42 llegando a valores similares a los del grupo control, lo cual concuerda con los reportes de Shiau *et al.* (2001) en músculo blanco de *Chanos chanos*, Souza (1998) en carcasa de *Piaractus mesopotamicus*, Tian y Qin (2003) en *Lates clacarifer* y Cho (2005) en carcasa de *Paralichthys olivaceus*, quienes no encontraron diferencias significativas durante los respectivos periodos de restricción ni diferencias con el grupo control; sin embargo, en los dos últimos trabajos se observó un ligero aumento en el porcentaje de cenizas a medida que avanzaba el periodo de restricción, similar a lo reportado por Abdel *et al.* (2006), pero contrario a lo observado por Echevarría *et al.* (1997) en músculo blanco de ejemplares de *Dicentrarchus labrax* los cuales al día 40 de restricción mostraron un aumento en el porcentaje de cenizas, pero al prolongar el tiempo de restricción hasta 150 días se observó un descenso en este. En el periodo de realimentación del grupo de restricción severa se observó una disminución significativa en el porcentaje de cenizas, similar a la tendencia presentada por los dos grupos restantes, pero contrario a lo observado por Souza (1998) y Cho (2005) quienes no encontraron diferencias en dicha variable después del periodo de realimentación. Estas diferencias podrían indicar que restricciones alimenticias promueven la movilización de esta fracción muscular según sea la intensidad de la restricción y al ser también las cenizas parte esencial, se movilizan junto con la proteína y los lípidos en conjunto dentro del músculo.

No son muchos los trabajos que reportan el efecto de periodos de restricción sobre la energía de la carcasa o el músculo blanco. En el presente trabajo el grupo de restricción moderada presentó un aumento significativo en los niveles de energía similar al grupo control, lo cual indicaría que el periodo de restricción moderada como fue aplicada en este trabajo le permite a los individuos una deposición de energía total a través de los nutrientes similar a la de peces no

restringidos; por el contrario, en el grupo de restricción severa los valores de energía permanecieron estables, sugiriendo que este tipo de restricción no afecta negativamente el nivel energético total del músculo de cachama blanca, sin embargo, es evidente que al finalizar el primer periodo los valores obtenidos son menores a los del grupo control, lo cual confirma que hubo una movilización de nutrientes del músculo para el mantenimiento de las funciones vitales durante la restricción alimenticia y efectivamente no fue posible la deposición energética. En contraste Zhu *et al.* (2005), reportaron disminuciones significativas luego de dos semanas de restricción en *Leiocassis longirostris* consecuencia de la baja en los niveles de lípidos y proteínas, lo mismo que ocurrió en *Oreochromis niloticus* luego de 27 días de restricción (Xie *et al.*, 1997), de igual manera *Lates calcarifer* exhibió una disminución progresiva de la energía a medida que aumentaba el tiempo de restricción (Tian y Qin, 2003). En el transcurso del periodo de realimentación no se observaron cambios significativos para el grupo de restricción moderada y el grupo control, en contraste con lo observado para el grupo de restricción severa que mostró un aumento significativo de la energía, similar a la dinámica observada en los lípidos, señalando así una relación con el aumento en la deposición de nutrientes en el músculo y su respectivo equilibrio. Es así, que la relación más cercana observada se dio entre el nivel de lípidos y el de energía; mientras que entre los nutrientes se observó una relación inversamente proporcional entre la proteína y los lípidos.

Al finalizar cada uno de los periodos de restricción alimenticia fue evidente el movimiento de nutrientes, necesario para sobrevivir al desafío alimenticio, lo cual se comprobó al comparar los valores obtenidos por grupos de restricción con los del grupo control. Weatherley y Gill (1987) señalan que luego de retornar a condiciones favorables de alimentación después de periodos críticos de restricción los cuales hayan podido causar alteraciones en uno o más componentes corporales, es común observar el restablecimiento de estos a valores similares de individuos no restringidos. En consecuencia, al finalizar el

periodo de realimentación se observó que todas las variables hasta aquí evaluadas para los grupos de restricción igualaron los valores obtenidos por el grupo control, resultados que concuerdan con los hallazgos reportados por otros autores bajo diferentes esquemas de restricción en diferentes especies (Cho, 2005; Zhu, 2005). Sin embargo, aunque en términos porcentuales hay un restablecimiento similar al grupo control, no se debe dejar de lado la relación con el peso de los individuos, ya que este determina las cantidades netas de los nutrientes a nivel muscular, así como se observó al finalizar el presente trabajo, en el cual los grupos de restricción mostraron menor cantidad de nutrientes que el grupo control resultado de la diferencia en el peso final, lo que indica una movilización integral del músculo. Gaylord y Gatlin (2001), evaluaron el efecto de la restricción alternada con periodos de realimentación y al final encontraron que tal régimen no afectó la composición final del músculo de *Ictalurus punctatus*. Igualmente Ali y Jauncey (2004), probaron diferentes esquemas de restricción y realimentación en periodos alternantes en *Clarias gariepinus* y observaron que ninguno de ellos afectó la composición final en la carcasa con o sin vísceras de los individuos. Por su parte reproductores de *Brycon cephalus* sometidos a periodos de restricción alternado no presentaron cambios en la composición del músculo rojo o blanco que pudieran ocasionar daños en la calidad del mismo (Carvalho y Urbinati, 2005). Takahashi *et al.* (2010) en juveniles de *Piaractus mesopotamicus* no encontraron diferencias en los niveles de proteína y lípidos musculares al finalizar cortos periodos repetitivos de restricción y realimentación. No obstante, el nivel de lípidos musculares mostró una leve disminución. Lo anterior permitiría concluir que los periodos restricción alimenticia seguidos de periodos de realimentación permiten una adecuada compensación respecto a la composición muscular sin afectar la calidad final del producto.

Los niveles de proteína y cenizas son similares a los obtenidos para otras especies tropicales, por ejemplo Gonzales y Brown (2006) reportan 83,4% y 5,1% de proteína y ceniza respectivamente en filete de tilapia alimentados con dietas

libres de fuentes de origen animal. Jabeen y Chaudhry (2011) reportaron niveles de proteína inferiores para proteína y mayores para lípidos en músculo de *Cyprinus carpio* y *Oreochromis mossambicus*, especies que también son cultivadas en ambientes similares al de la cachama blanca. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la composición corporal y perfil de ácidos grasos de las especies es susceptible de ser modificado y depende de varios factores entre ellos la dieta y el hábitat como ha sido verificado en diferentes trabajos (Nanton *et al.*, 2007).

El estatus nutricional previo a la restricción alimenticia puede ser determinante en la respuesta durante la restricción. En el presente trabajo la dieta suministrada previo al periodo de restricción fue una dieta con niveles estándares para peces tropicales (dieta comercial), la cual aparentemente permitió una adecuada respuesta frente a la fase de restricción, pues no se observaron cambios drásticos que determinaran un detrimento de la composición muscular. Regost *et al.* (2001), suministraron dietas altas en grasa a ejemplares de *Salmo trutta* previo al periodo de restricción, al finalizar este no hubo diferencias en los niveles de grasa corporal ni lípidos en músculo, sin embargo, se observó un descenso en el nivel de los componentes comparados con los previos al periodo de restricción, lo cual podría sugerir la utilización de los lípidos como fuente de energía. Grigorakis y Alexis (2005) finalizaron ejemplares de *Sparus aurata* con tres semanas de restricción alimentados previamente con dietas con niveles diferentes de proteína y lípidos, encontrando que estos niveles les permitió a los individuos afrontar el periodo de restricción con la consecuente pérdida de grasa en filete lo que a la postre mejoró la calidad del producto final.

Al finalizar el periodo de realimentación se observó en el perfil de ácidos grasos del músculo blanco de los grupos que fueron restringidos un menor porcentaje en la cantidad de omega 3, en especial en el ácido graso DHA (C22:6n-3), lo cual podría sugerir que hubo un efecto residual de los periodos de restricción

alimenticia sobre el contenido de ácidos grasos, el cual no fue compensado a través del periodo de realimentación. Debido a que los ácidos grasos son oxidados en el músculo para la obtención de energía y teniendo en cuenta que los ácidos grasos poli-insaturados tienen un menor potencial energético que los ácidos grasos saturados, no se podría asegurar que los omega 3 fueron usados para la producción de energía; asimismo en estos grupos se observó un ligero aumento en los niveles de los MUFA. Varios estudios reportan el efecto de periodos de ayuno (sin posteriores periodos de realimentación) sobre el perfil de ácidos grasos en filete de diferentes especies. Einen *et al.* (1998), encontraron que los MUFA aumentaron significativamente con el grado de restricción, lo cual concuerda con los hallazgos del actual trabajo. Sin embargo, sugiere a través de sus resultados que periodos de restricción tuvieron efectos marginales sobre la composición de ácidos grasos en el filete de *Salmo salar*. Rondán *et al.* (2004) observaron en músculo blanco de *Diplodus puntazo* luego de 15 días de restricción, una disminución de los omega 6 similar a la encontrada por Suárez y Rincón (2010) quienes observaron en *Dentex dentex*, además de la disminución de los omega 6, un aumento de los omega 3, en contraste a lo reportado por De Silva *et al.* (1997), quienes a través de 45 días de ayuno observaron en el híbrido de tilapia una disminución en el porcentaje de MUFA y un aumento en el porcentaje de PUFA y omega 6, lo cual difiere del presente trabajo, ya que los niveles de omega 6 se observaron casi constantes entre los tres grupos estudiados. La variabilidad en los resultados reportados para ácidos grasos en este estudio frente a los de otros autores podría obedecer a un efecto de la especie, dieta y tipo de ayuno aplicado.

La inclusión de alimentos ricos en ácidos grasos tipo omega 3 como el EPA y el DHA en dietas para seres humanos ha hecho que las especies marinas se conviertan en una excelente alternativa para cubrir dichos requerimientos, ya que se ha demostrado el efecto benéfico de estos ácidos grasos sobre la salud humana y en especial en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Sin

embargo, especies de agua dulce también constituyen una importante fuente de ácidos grasos esenciales ya que contienen mayores cantidades de PUFA C18 que las especies marinas, además de altas proporciones de Omega-6 especialmente ácido araquidónico y linoleico (Steffens, 1997), este último en el presente estudio se encontró en mayor proporción dentro de los PUFA con 54,46; 58,91 y 57,70% para los grupos control, de restricción moderada y de restricción severa respectivamente, lo que en términos de estudio del aporte nutricional de esta especie, permite ofrecerla al consumidor como una opción en la dieta y que la exposición a periodos de restricción no alteró la composición final.

Jabeen y Chaudhry (2011) reportaron en tres especies de agua dulce mayores cantidades de SFA seguidos de MUFA y PUFA, resultados que concuerdan con los hallazgos de este estudio para los tres grupos experimentales, e igualmente observado en otras especies tropicales como *Cichla* sp., aunque ha sido reportado que dichos niveles pueden variar según la época del año en el medio ambiente (Inhamuns *et al.*, 2009). Estas proporciones contrastan con lo reportado para otras especies de agua dulce como *Piaractus mesopotamicus* y *Silurus glanis* en las cuales se han encontrado mayores niveles de MUFA comparado con los PUFA y los SFA (Sant'Ana y Mancini-Filho, 2000; Hallier *et al.*, 2007), observaciones similares a las reportadas para algunas especies marinas (Einen *et al.*, 1998; Nanton *et al.*, 2007; Suárez y Rincón, 2010).

Los ácidos grasos predominantes en el músculo blanco de cachama blanca en su orden fueron el oleico (C18:1), el palmítico (C16:0), el linoleico (C18:2), el esteárico (C18:0), el palmitoleico (C16:1) y el DHA (C22:6), similares resultados han sido reportadas para otras especies (De Silva *et al.*, 1997; Sant y Mancini-Filho 2000; Moreira *et al.*, 2001). Entre estos, el ácido palmítico (C16:0) y el ácido oleico (C18:1n-9) han sido reportados como los ácidos en mayor cantidad dentro de los SFA y los MUFA respectivamente en especies de agua dulce (Sant y Filho, 2000; Moreira *et al.*, 2001; Luzia *et al.*, 2003; Bahurmiz y Ng, 2007; Hallier *et al.*,

2007), lo cual concuerda con los hallazgos del presente estudio, en donde el palmítico se encontró en un 66,92; 65,90 y 68,07% del total de los SFA y el oleico se presentó en un 79,76; 81,08 y 78,12% del total de los MUFA, para el grupo control, de restricción moderada y de restricción severa respectivamente. Contrario a las especies marinas, es frecuente observar en especies de agua dulce valores inferiores de omega-3 y superiores de omega-6, lo que concuerda con los resultados de este trabajo, en donde los ácidos omega-3 contribuyeron con el 31,82, 27,96 y 28,38% y los omega-6 con el 65,23, 69,26 y 68,05% del total de los PUFA para el grupo control, moderado y severo respectivamente. Dentro de los omega-3 el DHA (C22:6n-3) fue el ácido en mayor cantidad para los tres grupos mientras que en los omega-6 el más alto fue el ácido linoleico (C18:2n-6), resultados similares a los reportados para *Piaractus mesopotamicus*, *Oreochromis* sp., *Cichla* sp., *Cyprinus carpio*, *Labeo rohita* y *Oreochromis mossambicus* (Sant y Filho, 2000; Bahurmiz y Ng, 2007; Inhamuns *et al.*, 2009; Jabeen y Chaudhry, 2011).

La relación ideal de omega-6/omega-3 para el consumo humano debe estar cerca de 4:1 o 5:1 (Sahena, 2009), siendo proporciones menores las ideales, en relación a ello Simopoulos (2000) hace énfasis en la importancia del adecuado balance de esta proporción ya que beneficia un normal crecimiento y desarrollo, buena salud mental y prevención en enfermedades cardiovasculares. La relación de omega-6/omega-3 encontrada para cachama blanca en este estudio fue en promedio de 2,34 la cual se encuentra dentro del rango ideal para el consumo humano y ligeramente superior a lo reportado para algunas especies salvajes (Moreira *et al.*, 2001; Inhamuns *et al.*, 2009).

El balance omega-6/omega-3 y en general el perfil de ácidos grasos encontrados en el músculo de cachama blanca indican que esta especie nativa puede ser una buena alternativa para la inclusión dentro de la dieta humana y como se mencionó anteriormente, la exposición previa a periodos de restricción de tipo

moderada o severa no demuestra una alteración dentro del contenido de ácidos grasos que perjudique el estatus de calidad del producto final.

3.5 Conclusiones

- *Piaractus brachypomus* utilizó parte de sus lípidos musculares para enfrentar periodos de restricción alimenticia
- Ningún tipo de restricción, moderada o severa afectó el porcentaje de proteína a lo largo de periodos de restricción o en el producto final.
- Los nutrientes presentes en el músculo de *Piaractus brachypomus* fueron movilizados en conjunto como consecuencia de los periodos de restricción alimenticia.
- Los periodos de realimentación permitieron el restablecimiento de los nutrientes y el nivel de energía bruta alterados durante el periodo de restricción alimenticia.
- Los protocolos de restricción alimenticia aplicados no afectaron la relación N6/N3.
- La aplicación de restricciones severas o moderadas no afectaron la composición final del filete.

3.6 Referencias bibliográficas

Ali, M. y Jauncey, K. 2004. Evaluation of mixed feeding schedules with respect to compensatory growth and body composition in African catfish *Clarias gariepinus*. Aquaculture nutrition 10: 39-45

Ali, M.; Nicieza, A y Wootton, R. 2003. Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*. 4: 147-190.

Abdel, M.; Khattab, Y.; Ahmad, M. y Shalaby, A 2006. Compensatory Growth, Feed Utilization, Whole-Body Composition, and Hematological Changes in Starved Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Journal of applied aquaculture*. 18(3):17-36.

Bahurmiz, O. y Ng, W. 2007. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., raised from stocking to marketable size. *Aquaculture*. 262: 382-392.

Carvalho, E. y Urbinati, E. 2005. Crescimento, desenvolvimento gonadal e composicao muscular de matrinxas (*Brycon cephalus*) submetidos a restricao alimentar e realimentacao durante um ano. *Ciencia rural*. 35(4):897-902.

Cho, S. H. 2005. Compensatory Growth of Juvenile Flounder *Paralichthys olivaceus* L. and Changes in Biochemical Composition and Body Condition Indices during starvation and after Refeeding in Winter Season. *Journal Of The World Aquaculture Society*. 36(4): 508-514

De Silva, S.; Gunasekera, R. y Austin, C. 1997. Changes in the fatty acid profiles of hybrid red tilapia, *Oreochromis mossambicus* X *O. niloticus*, subjected to short-term starvation, and a comparison with changes in seawater raised fish. *Aquaculture*. 153: 273-290

Echevarría, G., Martínez, M., Zamora, S. 1997. Evolution of biometric índices and plasma metabolites during prolonged starvation. *Comparative Biochemistry Physiology, Part A*. 118(1): 111-123

Einen, O.; Waagan, B. y Thomassen, M. 1998. Starvation prior to slaughter in Atlantic salmon (*Salmo salar*) I. Effects on weight loss, body shape, slaughter- and fillet-yield, proximate and fatty acid composition. *Aquaculture*. 166:85-104

Folch, J.; Lees, M. y Sloane, G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The journal of biological chemistry*. 497-509.

Gaylord, T. G. y Gatlin III, D. M. 2001. Dietary protein and energy modifications to maximize compensatory growth of channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 194: 337-348.

Gonzales, J. y Brown, P. 2006. Nile tilapia *Oreochromis niloticus* as a food source in advanced life support systems: Initial considerations. *Advances in Space Research* 38: 1132–1137

Grigorakis, K. y Alexis, M. 2005. Effects of fasting on the meat quality and fat deposition of commercial-size farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fed different dietary regimes. *Aquaculture Nutrition*. 11: 341–344

Hallier, A; Serot, T y Prost, C. 2007. Influence of rearing conditions and feed on the biochemical composition of fillets of the European catfish (*Silurus glanis*). *Food chemistry* 103: 808-815

Heide, A., Foss, A., Stefansson, S. O., Mayer, I., Norberg, B., Roth, B., Jenssen, M. D., Nortvedt, R. y Imsland, A. K. 2006. Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: Effects of short term starvation periods and subsequent feeding. *Aquaculture*. 261: 109-117.

Hung, S.; Liu, W.; Li, H.; Storebakken, T. y Cui, Y. 1997. Effect of starvation on some morphological and biochemical parameters in white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*. 151:357-363.

Inhamuns, A.; Bueno, M. y Santos, W. 2009. Seasonal variations in total fatty acid composition of muscles and eye sockets of tucunaré (*Cichla* sp.) from the Brazilian Amazon area. *Food chemistry*. 117:272-275

Jabeen, F. y Chaudhry, A. 2011. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. *Food chemistry*. 125:991-996.

Luzia, L.; Sampaio, G.; Castellucci, C. y Torres, E. 2003. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food chemistry*. 83:93-97.

Martínez, B. R. y Martínez, R. N. 1997. Diseño de experimentos, análisis de datos estándar y no estándar. Primera edición, Fondo Nacional Universitario. 461p.

Montserrat, N.; Gómez, P.; Bellini, G.; Capilla, E.; Pérez, J.; Navarro, I. y Gutiérrez, J. 2007. Distinct role of insulin and IGF-I and its receptors in white skeletal muscle during the compensatory growth of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*. 267: 188-198.

Moreira, A.; Visentainer, J.; Souza, N. y Matsushita, M. 2001. Fatty Acids Profile and Cholesterol Contents of Three Brazilian Brycon Freshwater Fishes. *Journal Of Food Composition And Analysis*. 14: 565-574.

Nanton, D.; Vegusdal, A.; Bencze, A.; Ruyter, B.; Baeverfjord, G. y Torstensen, B. 2007. Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in

different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture*. 265: 230-243.

Nelson, D y Cox, M, 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry* fourth edition. 1119 p.

Regost, C.; Arzel, J.; Cardinal, M.; Laroche, M. y Kaushik, S. 2001. Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. *Aquaculture*. 193:325-345.

Rondán, M.; Hernández, M.; Egea, M.; García, B. Rueda, F. y Martínez, F. 2004. Effect of feeding rate on fatty acid composition of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture nutrition*. 10:301-307

Rueda, F.; Martinez, F.; Zamora, S.; Kentouri, M. y Divanach, P. 1998. Effect of fasting and refeeding on growth and body composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquaculture research*. 29:447-452.

Sahena, F.; Zaidul, I.; Jinap, S.; Saari, N.; Jahurul, H.; Abbas, K. y Norulaini, N. 2009. PUFAs in Fish: Extraction, Fractionation, Importance in Health. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 8: 59-74

Sant'Ana, L. y Mancini-Filho, J. 2000 Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. *Food Chemistry*. 68:175-178

Shiau, C.; Pong, Y.; Chiou, T. y Tin, Y. 2001. Effect of starvation on free histidine and amino acids in white muscle of milkfish *Chanos chanos*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 128, B:501-506

Simopoulos, A. 2000. Symposium: role of poultry products in enriching the human diet with n-3 PUFA, human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids, 2000. Poultry Science 79:961–970.

Souza, V.L. 1998. Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no crescimento e metabolismo energético de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887). Universidade Estadual Paulista. Centro de Aqüicultura. Tese para obtenção do título de Doutor em Aqüicultura – Área de concentração em Aqüicultura de Águas Continentais. 118p.

Steffens, W. 1997. Effects of variation feeds on nutritive in essential fatty acids in fish value of freshwater fish for humans. 151: 97-119.

Suárez, M. y Rincón, M. 2010. Influence of Starvation on Flesh Quality of Farmed Dentex, *Dentex dentex*. Journal of the world aquaculture society. 41(4): 490-505.

Takahashi, L.; Biller, J.; Urbinati, E. y Urbinati, E. 2010. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. Journal of animal physiology and animal nutrition.

Tian, X. y Qin, J. G. 2003. A single phase of food deprivation provoked compensatory growth in barramundi *Lates calcarifer*. Aquaculture. 224: 169-179.

Weatherley, A. y Gill, H. 1987. Protein, lipid and caloric contents, In: The biology of fish growth. Academic press. pp.101-146.

Xie, S.; Cui, Y.; Yang, Y. y Liu, J. 1997. Energy budget of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in relation to ration size. Aquaculture 154:57-68.

Zaboukas, N.; Miliou, H.; Megalofonou, P. y Moraitou, M. 2006. Biochemical composition of the atlantic bonito *Sarda sarda* from the Aegean sea (Eastern Mediterranean sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology*. 69:347-362

Zhu, X.; Xie, S.; Lei, W.; Cui, Y.; Yang, Y. y Wootton, R. 2005. Compensatory growth in the Chinese longsnout catfish, *Leiocassis longirostris* following feed deprivation: Temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *Aquaculture* 248: 307– 314

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

- *Piaractus brachypomus* muestra una adecuada adaptación a periodos de restricción moderada obteniendo resultados similares a los individuos no restringidos.
- Restricciones severas indujeron cambios en los índices metabólicos y fisiológicos de *Piaractus brachypomus*, los cuales fueron fácilmente recuperables durante el periodo de realimentación aplicado.
- Durante periodos prolongados de restricción se da una movilización de nutrientes corporales que se traduce en la pérdida de peso.
- Periodos de restricción alimenticia moderada podrían ser incluidos en la fase final de engorde sin que ello ocasione alteraciones en el bienestar animal y la composición muscular.
- Ningún tipo de restricción moderada o severa seguido de un periodo de realimentación perjudica la calidad del filete de *Piaractus brachypomus* en términos del análisis proximal.
- La cachama blanca se perfila como una buena alternativa en la inclusión de dietas para humanos por su óptimo perfil de ácidos grasos.

4.2 Recomendaciones

Las principales respuestas fisiológicas y metabólicas de los diferentes estudios han permitido identificar el comportamiento de los peces frente a crisis alimentarias, especialmente bajo condiciones de laboratorio controladas, sin embargo el empleo de este tipo de protocolos requiere una evaluación más detallada en campo que permita aprovechar de manera más eficiente las respuestas de los individuos y las ventajas que el medio natural ofrece.

De acuerdo al comportamiento mostrado por los ejemplares de *Piaractus brachypomus* se sugiere continuar investigando los efectos de protocolos de restricción como estrategia para finalizar animales de engorde, que permitan mejorar los rendimientos productivos y con un posible beneficio económico para el productor, sin embargo, esto requiere evaluar y comparar los diferentes parámetros productivos de cultivos comerciales finalizados con y sin restricciones alimenticias y realizar un análisis económico detallado que permita identificar y relacionar los mejores protocolos de restricción alimenticia con la rentabilidad del sistema productivo.

En futuras investigaciones se sugiere evaluar con más precisión el efecto de la temperatura y sus variaciones, ya que esta constituye un factor determinante en la fisiología de los peces. De igual manera, en términos de crecimiento y deposición de nutrientes, es necesario contemplar la edad como un factor que podría potencializar los resultados obtenidos por los cambios metabólicos a través de la restricción y la realimentación.

Además, se recomienda investigar la evaluación del efecto de los periodos de restricción alimenticia sobre diferentes parámetros de calidad del agua que permitan identificar si es posible una mejora en la calidad de los cuerpos de agua.

Respecto a la calidad del producto final, se considera importante identificar si la aplicación total o parcial de estos protocolos tiene un efecto sobre las características de palatabilidad de la carne.