

Influencia de distintos tipos de alimentos sobre los indicadores nutricionales y metabólicos en sangre de rana toro, *Rana catesbeiana*

Fioranelli, Santiago A. - Barboza, Noelia N. - Koza, Gabriela A. - Mussart, Norma B. - Coppo, José A.

Cátedra de Fisiología - Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE.

Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes - Argentina.

Tel./Fax: +54 (03783) 425753 - E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

ANTECEDENTES

La cría intensiva con fines comerciales de la rana toro (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802) se inició en Latinoamérica hace unas dos décadas. El pionero de esta actividad fue Brasil; al comenzar la década de 1990 existían allí unos 600 criaderos de ranas con una producción de 200.000 kg de carne/año (21), la mayoría destinada a exportación (22). En vida natural esta rana alcanza la madurez a los 12 meses, con pesos de hasta 300 g; en los criaderos se sacrifica a los 6-7 meses de vida, con pesos medios de 170 g. Se trata de un animal adaptable a la vida en cautiverio, que posee singulares condiciones de rusticidad, precocidad y prolificidad; los reproductores tienen una vida útil de alrededor de 10 años, produciendo de 2.000 a 20.000 huevos por desove (4).

En establecimientos de alta tecnología, la rana toro se alimenta con pellets balanceados flotantes en agua, en cuya composición las proteínas fluctúan entre 38 y 45%, con 3-4% de grasa, 4-5% de fibra, 60-70% de nutrientes digeribles totales y EM = 2100-2200 Kcal/kg. El uso de suplementos como lombrices y larvas de mosca está siendo abandonado por las dificultades que implica su obtención (22). Desde el punto de vista digestivo los renacuajos se comportarían como vegetarianos (12,27), registrando cierto grado de coprofagia en los criaderos (15).

R. catesbeiana exhibiría un crecimiento inicial acelerado hasta los 30 g de peso, etapa donde el consumo diario de alimento es habitualmente del 10% del peso vivo. En "fase de terminación" (80 g de peso) el consumo disminuye al 3-5% del peso corporal por día (21); en adultos, la conversión fluctúa entre índices de 2:1 a 3:1 (3 kg de alimento para producir 1 kg de carne). Llama la atención la ausencia de información técnica sobre los verdaderos requerimientos nutricionales de este anfibio, cuyo sistema de alimentación se transpoló a partir del utilizado en peces. En los criaderos se registran altas tasas de estados carenciales y canibalismo (21,22).

El objetivo del trabajo fue comparar los indicadores sanguíneos nutricionales y metabólicos de ranas toro mantenidas con distintos tipos de alimentos en criaderos del nordeste argentino, a efectos de distinguir las dietas que, a la par de lograr mayores ganancias de peso, promuevan la optimización de los parámetros nutricionales sin producir trastornos metabólicos secundarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de un total de 323 ejemplares de *R. catesbeiana* clínicamente sanos estudiados durante 3 años, se seleccionaron datos de 235 animales adultos (alrededor de 1 año de edad, 50% de cada sexo) cuya alimentación había sido homogénea en cada uno de los 4 establecimientos de cría encuestados, sitios en las provincias de Corrientes, Misiones y Formosa. Se compararon 5 tipos de alimentación, a saber: dieta 1: pellets balanceados (45% proteínas) + lombrices, 2: alimentación natural (laguna), 3: bofe (16% proteínas), 4: balanceado (45% proteínas) + bofe, 5: balanceado (38% proteínas) + larvas. Estos alimentos se administraron a razón del 4% (ξ) del peso vivo/día. La sangre se extrajo por punción cardíaca, en horario matutino (7-8 AM) y con el animal bajo ayuno de 24 horas, para eliminar interferencias por ritmo circadiano (29) y efecto postprandial (3). Usando técnicas convencionales (24) y reactivos Wiener Lab, mediante espectrofotometría, fometría de llama, electroforesis, densitometría, refractometría y microscopía, se obtuvieron valores del proteinograma, lipidograma, ionograma, eritrograma, leucograma, enzimograma, glucosa y nitrógeno no proteico.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado. La normalidad distributiva fue verificada mediante el test de Wilk-Shapiro y las estadísticas paramétricas incluyeron media aritmética y desvío estándar. El análisis de la variancia (ANOVA) se efectuó por modelo lineal a una vía, previa constatación de la homogeneidad de la variancia mediante test de Bartlett. La comparación de medias se realizó con el test de Tukey. Los cálculos estadísticos se llevaron a cabo con el auxilio de un programa informático (Statistix 1996). Para todas las inferencias se estipuló un $\alpha = 5\%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos. Desde el punto de vista de la significación estadística se registraron 3 categorías de pesos. Los más elevados correspondieron a las ranas criadas en semicautiverio (laguna cerrada, las cuales pudieron seleccionar alimentos "naturales") y a los animales que consumieron la dieta 1 (la de mayor contenido protei-

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2005

co), suministrada sobre piso seco. Los pesos más bajos se registraron en anfibios mantenidos con pulmón bovino molido (bofe), con y sin adición de pellets balanceados (alimento flotante en el agua de las piletas).

Tabla 1. Variaciones del medio interno según alimentación (ξ)

parámetro	tipo de dieta				
	1	2	3	4	5
peso (g)	228.6 ^a	231.7 ^a	131.6 ^c	138.1 ^c	183.5 ^b
sodio (meq/l)	128 ^a	130 ^a	108 ^b	112 ^b	120 ^{ab}
potasio (meq/l)	3.83 ^a	3.92 ^a	3.03 ^b	3.19 ^b	3.85 ^a
calcio (mg/dl)	8.73 ^a	9.25 ^a	7.24 ^c	8.16 ^b	8.50 ^{ab}
fósforo inorgánico (mg/dl)	10.4 ^a	9.75 ^a	6.82 ^b	7.14 ^b	9.73 ^a
magnesio (mg/dl)	2.51 ^a	2.68 ^a	2.02 ^b	2.39 ^a	2.44 ^a
hematocrito (%)	33,8 ^a	34,5 ^a	26,8 ^b	29,3 ^c	29,2 ^c
eritrocitos (T/l)	0,43 ^a	0,45 ^b	0,38 ^c	0,41 ^a	0,42 ^a
VCM (fl)	769 ^a	751 ^a	703 ^b	692 ^b	688 ^b
hemoglobina (g/dl)	7,3 ^a	7,5 ^a	6,2 ^b	6,4 ^b	6,3 ^b
HCM (pg)	159 ^a	162 ^a	166 ^a	154 ^a	151 ^a
CHCM (%)	22 ^a	22 ^a	23 ^a	21 ^a	22 ^a
leucocitos totales (G/l)	20.3 ^a	21.4 ^a	22.0 ^a	18.7 ^a	20.2 ^a
neutrófilos (%)	62.4 ^a	58.7 ^a	62.5 ^a	60.1 ^a	59.2 ^a
linfocitos (%)	29.1 ^a	28.0 ^a	23.2 ^a	24.1 ^a	27.6 ^a
monocitos (%)	2.3 ^a	3.5 ^a	2.8 ^a	3.2 ^a	2.8 ^a
eosinófilos (%)	6.5 ^a	6.7 ^a	3.3 ^b	5.7 ^a	5.9 ^a
basófilos (%)	3.8 ^a	3.6 ^a	2.9 ^a	3.8 ^a	3.2 ^a
creatinina (mg/l)	5.25 ^a	5.66 ^a	4.42 ^a	4.51 ^a	4.60 ^a
urea (mg/l)	80.1 ^b	105 ^a	63.8 ^b	75.4 ^b	97.6 ^{ab}
ácido úrico (mg/l)	12.7 ^a	14.8 ^a	12.1 ^a	12.6 ^a	14.2 ^a
fosfatasa alcalina (UI/l)	151 ^a	135 ^b	168 ^a	177 ^a	165 ^a
alanin aminotransferasa (UI/l)	12.0 ^a	10.4 ^a	13.1 ^a	15.1 ^a	12.2 ^a
aspartato aminotransferasa (UI/l)	47.5 ^a	40.8 ^b	57.2 ^c	48.3 ^a	47.4 ^a
gammaglutamil transferasa (UI/l)	9.1 ^a	7.4 ^a	11.7 ^b	9.2 ^a	7.5 ^a
lactato dehidrogenasa (UI/l)	104 ^a	95 ^a	139 ^b	126 ^{ab}	119 ^{ab}
butiril colinesterasa (UI/l)	166 ^a	182 ^a	201 ^a	153 ^a	148 ^a
creatin fosfoquinasa (UI/l)	474 ^a	427 ^a	438 ^a	376 ^a	454 ^a
glucosa (g/l)	0.53 ^a	0.56 ^a	0.38 ^b	0.47 ^{ab}	0.50 ^{ab}
triglicéridos (g/l)	0.51 ^a	0.57 ^a	0.26 ^b	0.28 ^b	0.49 ^a
colesterol total (g/l)	0.65 ^a	0.71 ^a	0.52 ^b	0.57 ^b	0.67 ^a
colesterol ligado a HDL (g/l)	0.04 ^a	0.05 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a	0.04 ^a
colesterol ligado a LDL (g/l)	0.45 ^a	0.46 ^a	0.29 ^b	0.33 ^b	0.43 ^a
lipoproteína alfa (%)	9.6 ^a	8.7 ^a	5.8 ^a	6.6 ^a	7.1 ^a
lipoproteína beta (%)	90.3 ^a	91.5 ^a	94.1 ^a	93.2 ^a	93.0 ^a
proteínas totales (g/dl)	4.41 ^{ab}	4.84 ^a	4.07 ^b	4.22 ^{ab}	4.31 ^{ab}
albúmina (g/dl)	1.52 ^{ab}	1.80 ^a	1.43 ^b	1.45 ^b	1.64 ^{ab}
globulinas alfa-1 (g/dl)	0.24 ^a	0.25 ^a	0.22 ^a	0.28 ^a	0.17 ^a
globulinas alfa-2 (g/dl)	0.52 ^a	0.57 ^a	0.52 ^a	0.51 ^a	0.41 ^a
globulinas beta (g/dl)	0.73 ^a	0.79 ^a	0.65 ^b	0.71 ^a	0.76 ^a
globulinas gamma (g/dl)	1.40 ^a	1.43 ^a	1.25 ^b	1.27 ^b	1.37 ^{ab}
relación albúmina/globulinas	0.53 ^a	0.59 ^a	0.54 ^a	0.52 ^a	0.59 ^a

ξ: media aritmética. Dieta 1: balanceado + lombrices, 2: natural (laguna), 3: bofe, 4: balanceado + bofe, 5: balanceado + larvas. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, p < 0.05).

Las necropsias permitieron verificar que el tubo digestivo de las ranas criadas en laguna contenía pequeños peces, otras ranas y renacuajos, cangrejos, miriápodos, coleópteros y hemípteros acuáticos, así como abundante pasto. Si bien el consumo de alimentos “naturales” se traduciría en mayores ganancias de peso, *R. catesbeiana* es considerada como *huésped indeseable* en las lagunas, porque su voraz apetito no tardaría en aniquilar a la fauna acuática original; el canibalismo no resultaría inusual en esta especie (21,22). En vida libre, los anfibios se alimentarían con insectos, anélidos, crustáceos, moluscos y pequeños vertebrados (10,14). En el nordeste argentino, la dieta natural de *Bufo sp* estaría principalmente constituida por coleópteros e himenópteros (9).

En el ionograma, los valores significativamente más bajos de electrolitos fueron registrados en las ranas mantenidas con bofe como único alimento (dieta 3). El contenido mineral del plasma también fue bajo en los animales alimentados con bofe + pellets balanceados (dieta 4). Los más altos niveles de calcio, magnesio, sodio y potasio correspondieron a los

anfibios criados en laguna (dieta 2) y la concentración más alta de fósforo inorgánico se obtuvo en ranas alimentadas con balanceado + lombrices (dieta 1). Estos resultados confirman que en anfibios, el tipo de alimento condiciona el nivel de los electrolitos plasmáticos, tal como ocurre en mamíferos (7,25), y sugieren que las ranas obtienen mejores niveles de minerales plasmáticos eligiendo sus nutrientes naturales, antes que siendo mantenidas con alimentos balanceados, cuya formulación quizás no responda a sus necesidades. En efecto, la mayoría de los pellets balanceados utilizados en anfibios son formulaciones concebidas para peces, como las truchas; los verdaderos requerimientos nutricionales de *R. catesbeiana* no se conocen en profundidad (21). Es primordial controlar la calidad del agua del criadero, cuyo pH debería situarse entre 6.5-7.0, poseyendo abundante oxígeno, escaso NH₃ y no más de 20 mg/l de calcio (8).

El eritrograma mostró elevados valores de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina en animales alimentados con las dietas 1 y 2, donde también se registraron los más altos valores para el volumen corpuscular medio (VCM) de los glóbulos rojos. Los más bajos valores eritrocitarios correspondieron a la dieta 3. Estos datos revisten singular importancia porque los parámetros de la serie roja son considerados como eficaces indicadores nutricionales (7), especialmente la hemoglobina (25). En los mamíferos el eritrograma integra el panel nutricional, afectándose ante el insuficiente aporte alimentario de proteínas, vitaminas B₁₂, E, niacina y folato (20). La adecuada eritropoyesis requeriría el continuo y equilibrado aporte de elementos como hierro, cobre, cobalto y selenio; sus carencias causarían decrementos de hematocrito y hemoglobina (17). En unos pocos ejemplares (n=12) fueron determinados los metabolitos terminales de la hemoglobina, resultando de 0,70 mg/l para bilirrubina total y de 0,50 mg/l para la fracción directa, sensiblemente inferiores a las concentraciones habituales halladas en mamíferos (5,7,18). Este hecho quizás se deba a que en los anfibios el pigmento de excreción del hem sea predominantemente biliverdina en lugar de bilirrubina (16).

En el leucograma no se detectaron grandes diferencias atribuibles al tipo de alimentación, salvo el caso de los eosinófilos, significativamente más bajos en la dieta 3. Para dicha dieta también se verificaron los valores más altos de leucocitos totales y neutrófilos, así como las proporciones más bajas de linfocitos, aunque sin significación estadística. Examinadas bajo la óptica de los mamíferos, estas variaciones se compadecerían con un *leucograma de estrés* (6,17).

El nitrógeno no proteico fue influenciado por el tipo de alimentación. Los animales criados en la laguna revelaron altos niveles plasmáticos de urea (significativos) y de creatinina y ácido úrico (no significativos), en contraposición a los bajos valores verificados en ranas alimentadas con bofe. Desde el punto de vista nutricional la urea es un indicador de ingesta proteica y desde el punto de vista metabólico marca la activa biosíntesis hepática, en tanto que la creatinina, al relacionarse con la talla (mamíferos), es un indicador de la magnitud de las masas musculares (25). Es llamativo que los valores más bajos de urea se hayan registrado en los criaderos con mayor superficie de piletas cubierta de agua, lo cual implicaría mayor actividad natatoria de las ranas. Esta hipótesis podría ser congruente teniendo en cuenta que, en otras especies, la urea disminuye ante el alto consumo de energía, y que este metabolito parece ser necesario para la normal contractilidad muscular de los anfibios (28).

El enzimograma mostró altas actividades de ALP, ALT, AST, GGT y LDH en anfibios alimentados con bofe. Dado que se trata de enzimas preponderantemente hepáticas, no se descarta que este alimento pueda haber ocasionado una sobrecarga del hepatopáncreas de las ranas, tal como ocurre en otras especies (5,7,13,26). Apoya esta hipótesis el hecho que la alimentación natural en laguna se correspondió con los valores significativamente más bajos de dichas enzimas.

La concentración plasmática de glucosa fue baja en las ranas alimentadas con bofe (como único alimento o combinado con balanceado) y alta en los ejemplares criados en laguna. Dado que la glucemia es un indicador nutricional (energético) que varía según la ingesta, tales cambios deberían relacionarse a la cantidad y calidad de los nutrientes ingeridos; se afirma que el desarrollo de *R. catesbeiana* está fuertemente condicionado a la disponibilidad de alimento (21). La glucemia también está condicionada a la temperatura ambiental (2).

Similar argumentación cabría para interpretar los cambios del lipidograma, donde los más bajos valores de triglicéridos, colesterol total y C-HDL se registraron en las dietas 3 y 4, en tanto que los más altos ocurrieron cuando las ranas consumieron alimento natural (laguna) y balanceado con alta proporción de grasa (4%). En mamíferos, estos parámetros lipídicos también varían según la índole de la dieta (13,18,20). En renacuajos de *Rana catesbeiana*, dietas con 38.6% de proteína y niveles crecientes de energía digestible produjeron aumentos de los lípidos de depósito directamente proporcionales al contenido de energía del alimento (1).

Finalmente, el proteinograma reveló altos niveles plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas beta y gamma (significativos), así como de globulinas alfa-2 (no significativos), en las ranas que eligieron su alimento "natural" en la laguna. Los valores significativamente más bajos se registraron nuevamente en los ejemplares mantenidos con vísceras (16% proteínas), seguidos de cerca por los alimentados con vísceras + pellets balanceados, siendo intermedios los restantes. La cantidad y calidad de proteínas de la dieta son factores decisivos para la ganancia de peso de las ranas. En ranas con peso vivo inicial de 12 g, el coeficiente de conversión alimentaria fue de alrededor de 3.8 luego de 70 días de control, pero los ejemplares que consumieron alimento con 35% de proteínas alcanzaron pesos de solamente 76.3 g, en tanto que otro grupo donde el alimento contenía 48% de proteínas obtuvo pesos de 119.1 g (21). Las variaciones del peso y proteínas plasmáticas podrían constituir referentes idóneos para valorar distintas composiciones de alimentos balanceados, en búsqueda de los verdaderos requerimientos nutricionales de este animal. Sería primordial comprobar el efecto de diferentes *tamaños* de pellets balanceados, dado que ejemplares juveniles de *R. catesbeiana* revelaron ganancia

cias de peso inversamente proporcionales al tamaño de las partículas del alimento (23). La calidad de la proteína alimentaria sería fundamental, pues el crecimiento sería más rápido con proteína de alta calidad (origen animal) y más lento con proteína vegetal (11).

En animales enfermos (excluidos de las estadísticas) se registraron indicadores nutricionales y metabólicos sumamente distanciados de su intervalo de referencia, revelando poseer utilidad diagnóstica tal como ocurre en otras especies (5,7,13,19,26).

CONCLUSIONES

El tipo de alimento influye significativamente sobre los indicadores nutricionales y metabólicos de *R. catesbeiana* en cautiverio y semi-cautiverio. Ningún alimento artificial (o combinaciones de ellos) pudieron superar los resultados obtenidos en la alimentación natural, en laguna. Se coincide en que es necesario evaluar científicamente el tipo de alimento a suministrar a las ranas productoras de carne, atendiendo tanto las ganancias de peso como los indicadores nutricionales y metabólicos del medio interno (4), a fin de establecer sus verdaderas exigencias alimentarias, lo cual se traduciría en mayores ganancias económicas para los productores (21,22).

BIBLIOGRAFÍA

1. **Albinati RC, Lima SL, Donzele JL.** 2001. Níveis de energia digestível na ração de girinos de rã-touro. *Rev Bras Saúde Prod An* 2: 48-52.
2. **Bicego KC, Branco LG.** 1999. Seasonal changes in the cardiorespiratory responses to hypercarbia and temperature in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp Biochem Physiol* 124: 221-229.
3. **Busk M, Jensen FB, Wang T.** 2000. Effects of feeding on metabolism, gas transport, and acid-base balance in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Am J Physiol* 278: 185-195.
4. **Carnevia D.** 1995. Ranicultura, estado actual de la explotación y comercialización de ranas para consumo. *Anales de las VIII Jornadas Veterinarias de Corrientes, Argentina*, 81 p.
5. **Coles EH.** 1989. *Veterinary Clinical Pathology*, 4th ed., Saunders, Philadelphia, 486 p.
6. **Coppo JA.** 2000. ¿Estrés o alarma simpática? *Selecc Vet* 9: 336-342.
7. **Coppo JA.** 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Ed. Dunken, Buenos Aires, 297 p.
8. **Culley DD, Sotiariadis PK.** 1983. Progress and problems associated with bullfrog tadpole diets and nutrition. *Proc Confer Nutrition Captive Wild Animals*, Chicago, p. 30.
9. **Dure MI, Kehr AI.** 1999. Explotación diferencial de los recursos tróficos en cuatro especies de bufonidos del nordeste argentino. *Actas Ciencia & Técn UNNE* 6: 17-20.
10. **Eckert R, Randall D, Augustine G.** 1992. *Fisiología Animal*, Ed. Interamericana, Madrid, 798 p.
11. **Fontanello D, Arruda SH, Mandelli JJ, Justo CL, Penteadó LA, Santo BE.** 1985. Effect of protein of animal and vegetable origin on weight gain of tadpoles of *Rana catesbeiana*. *Bolet Instit Pesca* 12: 43-47.
12. **Goldstein L.** 1982. *Fisiología Comparada*, Ed. Interamericana, México, 454 p.
13. **Gómez Piquer J.** 1992. *Manual Práctico de Análisis Clínicos*, Ed. Mira, Zaragoza, 445 p.
14. **Hill RW.** 1980. *Fisiología Animal Comparada*, Ed. Reverté, Barcelona, 726 p.
15. **Hoffmann DF, Lebouté EM, Souza SM.** 1990. Performance of bullfrogs tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw 1802) at 20°C, with or without free access to own faeces. *Rev Soc Bras Zoot* 19: 321-325.
16. **Houssay BA.** 1980. *Fisiología Humana*, 5^o ed., El Ateneo, Buenos Aires, 972 p.
17. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 417 p.
18. **Kalinov A.** 1984. *El Laboratorio y su Interpretación Semiológica*, 2^o ed., López Libreros, Buenos Aires, 1209 p.
19. **Kaneko JJ.** 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed., Academic Press, San Diego, 832 p.
20. **Kolb E.** 1987. *Fisiología Veterinaria*, 3^o ed., Acribia, Zaragoza, 1115 p.
21. **Lima SL, Agostinho CA.** 1992. *A Tecnologia de Criação de Rás*, Imprensa Universitaria, Viosa, 246 p.
22. **Longo AD.** 1985. *Manual de Ranicultura*, 2^o ed., Icone, Sao Paulo, 317 p.
23. **Mandelli JJ, Justo CL, Penteadó LA, Fontanello D, Arruda SH, Santo BE.** 1985. Effect of particle size of the feed on weight gain of intensively reared tadpoles of *Rana catesbeiana* Shaw 1802. *Bolet Instit Pesca* 12: 61-66.
24. **Pesce AJ, Kaplan LA.** 1990. *Methods in Clinical Chemistry*, Ed. Mosby, Saint Louis, 1380 p.
25. **Slobodianik NH, Zago L, Pallaro AN, Feliu MS.** 1999. Biochemical parameters and nutritional status. *Acta Bioq Clin Lat* 33: 415-427.
26. **Sodikoff CH.** 1996. *Laboratory Profiles of Small Animal Diseases*, 2nd ed., Mosby, Baltimore, 435 p.
27. **Villee CA.** 1997. *Biology*, 10th ed., Saunders, Philadelphia, 821 p.
28. **Wilson JA.** 1989. *Fundamentos de Fisiología Animal*, Ed. Limusa, México, 782 p.
29. **Winmill RE, Chen AK, Hedrick MS.** 2005. Development of the respiratory response to hypoxia in the isolated brainstem of the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J Exp Biol* 208: 213-222.