

Influencia del lindano sobre la utilización nutritiva de la proteína por la trucha (*Salmo gairdneri*)

P. Mendiola *, F. J. Mataix **, M. Illera y G. Varela ***

Departamento de Fisiología
Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense
Madrid-3

(Recibido el 22 de enero de 1980)

P. MENDIOLA, F. J. MATAIX, M. ILLERA and G. VARELA. *Effect of Lindane on Protein Nutritive Utilization in Trout* (*Salmo gairdneri*). Rev. esp. Fisiol., 37, 141-146. 1981.

Rainbow trout weighing 100 ± 10 g were fed three diets of different proteic content (67.6 %, 53.2 % and 36.1 %) and exposed to 0.01 and 0.001 ppm of Lindane in water during 21 days. The parameters calculated were: Protein Productive Value (PPV), Conversion Index (CI) and Protein Efficiency Ratio (PER). The PPV parameter increased with a diet proteic level decrease, at control and at Lindane treated groups. Minimum protein utilization corresponds to 67.6 % proteic content diet and 0.01 ppm Lindane, while maximum, to 36.1 % proteic content and Lindane 0.001 ppm. The CI and PER parameters were markedly different in groups on extreme diets (67.6 % and 36.1 %) with higher contamination level (0.01 ppm) from all the others. The experimental parameters were not practically affected by the presence or absence of Lindane in groups on diets of medium proteic content.

Existe gran cantidad de datos, y una enorme variación entre ellos, en cuanto a los niveles de plaguicidas capaces de producir un efecto tóxico sobre los peces. Esto puede ser debido a las distintas condiciones experimentales con que se

ha estudiado el problema (temperatura, turbidez del agua, pH, oxígeno, etc.), las cuales varían la acción de estas sustancias modificando la estructura del plaguicida o alterando la fisiología del organismo (3, 8, 13, 15). Esto exige fijar al máximo las condiciones experimentales en este tipo de estudios.

Por otra parte, la acción de estos compuestos se ve también influida por el estado fisiológico del organismo sobre el que actúan (crecimiento, actividad, reproducción) como por su estado nutritivo (1, 2, 17), y así BOYD (2) indica una mayor susceptibilidad de la rata a los pla-

Direcciones actuales:

* Departamento de Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Sección Biología, Murcia.

** Departamento de Fisiología Animal, Facultad de Ciencias, Sección Biología, Granada.

*** Departamento de Fisiología Animal, Facultad de Farmacia, Madrid - 3.

guicidas cuando es alimentada con dietas deficientes en proteína.

En el presente estudio se ha trabajado con un insecticida organoclorado, lindano ($\gamma\text{-C}_6\text{H}_6\text{Cl}_6$), de conocidos efectos neurotóxicos y que en situaciones crónicas afecta a las gónadas, riñón y especialmente al hígado (21). Este plaguicida está ampliamente distribuido y pese a su insolubilidad en el agua, se han detectado cantidades próximas, e incluso superiores, a las calificadas como letales por algunos autores en aguas superficiales de muy diversos lugares (11, 22).

Nuestro propósito es determinar si, como en el caso de la rata (2), una menor disponibilidad proteica en una especie carnívora como la trucha produce una mayor sensibilidad al plaguicida lindano y cómo afecta éste al aprovechamiento de la dieta.

Material y métodos

Material biológico y mantenimiento. Truchas arco iris, procedentes de una piscifactoría local, se mantuvieron durante 30 días como período de aclimatación a las condiciones de nuestro laboratorio (temperatura: $13 \pm 1^\circ\text{C}$; pH: 6,9; dureza total (Ca^{2+}): 617 ppm; oxígeno: 8 ppm; fotoperíodo: 12 h luz/día) en estanques de flujo continuo de agua.

Dietas. Las dietas ensayadas fueron elaboradas utilizando los nutrientes expresados en la tabla I, los cuales, una vez mezclados, homogeneizados y añadido el alginato sódico como aglutinante, se pasan por una granuladora eléctrica y los gránulos obtenidos se secan a temperatura ambiente.

Método experimental. Diez días antes de la experimentación, los animales fueron anestesiados (MS-222, 1:10.000 p/v) pesados y agrupados en 12 lotes de 8 animales de peso 100 ± 10 g cada uno. Se sometieron a las condiciones de experi-

mentación individualizadas con una densidad poblacional de 1 g/160 ml de agua, sin flujo de agua, siendo trasladados cada 48 horas a nuevas peceras para evitar posibles interferencias con metabolitos de desecho. Los animales se alimentaron *ad libitum* y de los 12 lotes, 4 lo hicieron con una dieta de alto contenido proteico (67,6 %), otros 4 con una de nivel proteico medio (53,2 %) y los 4 restantes con una dieta baja en proteína (36,1 %).

Al comienzo de la experimentación, que duró 21 días, las truchas fueron nuevamente anestesiadas y pesadas, y para cada nivel proteico se procedió como sigue: un lote fue sacrificado y utilizado como blanco para calcular el nitrógeno corporal inicial; dos lotes se trataron con lindano (γ -hexaclorociclohexano) a concentraciones 0,001 mg/l y 0,01 mg/l de agua, respectivamente, disuelto en acetona y posterior dilución en agua, resultando una concentración final de 0,0015 ml de acetona/l de agua; un lote (control) fue mantenido en agua con igual concentración de acetona.

Pasados los 21 días de experimentación los animales fueron nuevamente pesados y sacrificados para determinar en cada uno de ellos su contenido en nitrógeno corporal total.

Parámetros utilizados. Índice de conversión (CI): ingesta respecto al incremento de peso. Coeficiente de eficacia en crecimiento (PER): relación del aumento de peso con la proteína ingerida. Valor productivo de la proteína (PPV): relación porcentual entre nitrógeno corporal retenido e ingerido (5).

Técnicas analíticas. La determinación del nitrógeno se realizó por el método de Kjeldahl utilizando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno en proteína.

La determinación de grasa total se realizó gravimétricamente por extracción en soxhlet, utilizando éter de petróleo como disolvente.

Las cenizas se determinaron por incineración en horno a 500° C hasta peso constante.

Humedad, en estufa a 105° C hasta peso constante.

Extracto libre de nitrógeno, por diferencia hasta 100.

Los datos obtenidos se sometieron a análisis estadístico mediante la prueba t de Student, utilizando como valor $p < 0,01$.

Resultados

Los valores obtenidos sobre los tres parámetros estudiados, con las tres dietas ensayadas (67,6 %, 53,2 % y 36,1 % de contenido proteico) en los tres lotes correspondientes a cada nivel proteico: control, lindano 0,01 mg/l y lindano 0,001 mg/l, se expresan en la tabla II, así como las diferencias significativas que se presentan dentro de cada parámetro.

Según disminuye el contenido proteico de la dieta se observa un aumento del PPV (fig. 1). Esta diferencia es estadísticamente significativa entre el lote de dosis máxima de lindano (0,01 mg/l) y ma-

yor nivel proteico (67,6 %) con respecto a los otros dos de igual dieta, y respecto a los lotes de diferente contenido proteico, pero igual nivel de contaminación, así como entre el nivel medio (53,2 %) y bajo (36,1 %) de proteína con la dosis menor de lindano (0,001 mg/l).

Respecto al parámetro CI no se observa ninguna variación significativa entre los grupos controles y los de lindano en su menor dosis; con la dosis mayor se observan valores más altos para las dietas baja y alta en contenido proteico con respecto a la dieta media, siendo únicamente significativo el valor superior de la dieta alta cuando se compara con su control.

En cuanto al parámetro PER se observa un incremento en sus valores al disminuir la disponibilidad proteica tanto en los grupos controles como en los tratados con las dos dosis de lindano.

Tabla I. Composición (g/100 g) de las dietas experimentales.

| | D1 | D2 | D3 |
|-----------------------------|------|------|------|
| <i>Nutriente</i> | | | |
| Harina de pescado | 50 | 37,5 | 25 |
| Caseína | 30 | 22,5 | 15 |
| Aceite de hígado de bacalao | 2 | 2 | 2 |
| Aceite de maíz | — | 1 | 2 |
| Dextrinas de almidón | — | 19 | 38 |
| Complejo mineral (4) | 3 | 3 | 3 |
| Complejo vitamínico (4) | 2,8 | 2,8 | 2,8 |
| α -celulosa | 7,2 | 7,2 | 7,2 |
| Alginato sódico | 5 | 5 | 5 |
| <i>Macronutriente</i> | | | |
| Proteína | 67,6 | 53,2 | 36,1 |
| Grasa | 6,8 | 6,9 | 6,5 |
| Cenizas | 10,4 | 10,5 | 10,1 |
| Fibra | 7,2 | 7,2 | 7,2 |
| Extracto libre de nitrógeno | 8 | 22,2 | 40,1 |

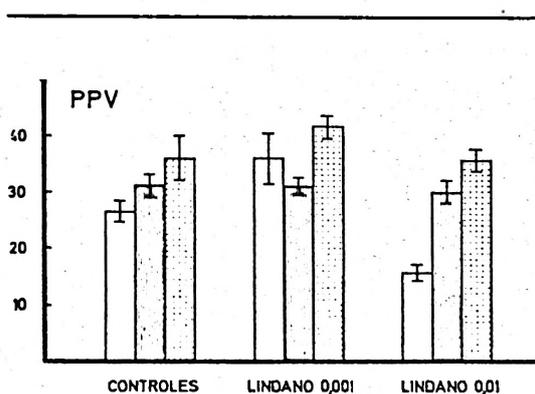


Fig. 1. Valor productivo de la proteína (PPV) en truchas controles y tratadas con lindano (0,01 y 0,001 mg/l) alimentadas con dietas de diferente contenido proteico (área blanca 67,6 %, rayada 53,2 % y punteada 36,1 %).

Tabla II. Valor productivo de la proteína (PPV), índice de conversión (CI) y coeficiente de eficacia en crecimiento (PER) en truchas tratadas con lindano, alimentadas con dietas de diferente contenido proteico.

Significación estadística entre las distintas concentraciones de lindano (L) y dietas (D) ($p < 0,01$): a) L: 0,01 mg/l, y D: 67,6 %; b) L: 0,001 mg/l, y D: 53,2 %; c) control, y D: 67,6 %; d) L: 0,001 mg/l, y D: 36,1 %, y e) L: 0,01 mg/l, y D: 36,1 %.

| Parámetro | Grupo | Contenido proteico | | |
|-----------|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 67,6 % | 53,2 % | 36,1 % |
| PPV | Control | 26,55 ± 1,89 | 31,25 ± 1,94 | 35,94 ± 3,84 |
| | Lindano 0,001 mg/l | 35,91 ± 4,59 ^a | 30,89 ± 1,53 | 41,68 ± 2,13 ^b |
| | Lindano 0,01 mg/l | 15,62 ± 1,52 ^a | 29,74 ± 2,23 ^a | 35,58 ± 1,99 ^a |
| CI | Control | 1,33 ± 0,11 | 1,37 ± 0,15 | 1,43 ± 0,08 |
| | Lindano 0,001 mg/l | 1,78 ± 0,28 | 1,60 ± 0,23 | 1,37 ± 0,17 |
| | Lindano 0,01 mg/l | 2,26 ± 0,35 ^c | 1,47 ± 0,07 | 2,17 ± 0,27 |
| PER | Control | 1,16 ± 0,09 | 1,48 ± 0,14 | 1,95 ± 0,10 ^e |
| | Lindano 0,001 mg/l | 0,97 ± 0,15 ^d | 1,29 ± 0,15 ^d | 2,14 ± 0,24 ^e |
| | Lindano 0,01 mg/l | 0,72 ± 0,14 ^e | 1,30 ± 0,07 ^a | 1,37 ± 0,15 ^a |

Discusión

El parámetro utilizado como índice del aprovechamiento de la proteína de la dieta (PPV) ha sido considerado más preciso en estudios de nutrición en peces, que los utilizados preferentemente en mamíferos como Valor Biológico (VB) y Utilización Neta de la Proteína (NPU) (12).

Se han elegido truchas de 100 g por estar en una situación de crecimiento prácticamente estabilizado a efectos experimentales y por lo tanto los posibles efectos del plaguicida no estarían mediatizados a su vez por otras situaciones que afectan a la demanda proteica como puede ser el crecimiento.

Puesto que la proteína es el nutriente fundamental para la trucha, dado el carácter carnívoro de la misma y la doble misión, energética y estructural, que cumple en esta especie, es previsible que cualquier situación afecte de modo preeminente la utilización nutritiva de la proteína. Así, en los animales control (tabla II) al disminuir el nivel proteico de la dieta aumenta la capacidad de utilización proteica juzgada por el PPV, hecho

indicado por diversos autores (9, 10, 16, 18).

Esta tendencia se mantiene prácticamente en los lotes tratados con las dos dosis de lindano, presentando la mayor utilización proteica los grupos que dispusieron de ella en menor proporción, aunque con diferencias más marcadas en el caso de dosis máxima de plaguicida. Este fenómeno se explica por el hecho también observado en otras especies y otras situaciones fisiológicas, de una mayor eficacia en la retención nitrogenada a medida que los niveles proteicos disminuyen hacia los niveles de requerimientos mínimos. Además, la menor cantidad de proteína en la dieta se sustituye por hidratos de carbono y, aunque la trucha no los utiliza con la misma eficacia que otros animales carnívoros, es previsible una mayor utilización cuando están presentes en la dieta en mayor cantidad, bien por el metabolismo directo de los mismos o indirecto a través de su conversión en grasa. Lógicamente esto se traduciría en un efecto economizador de proteínas en beneficio de su destino estructural.

Cuando se examina, dentro de cada ni-

vel proteico, el efecto producido por la presencia o no de lindano sobre el PPV, no se observa una acción en las dietas de bajo y medio contenido proteico, presentándose, sin embargo, en el lote de mayor disponibilidad proteica y dosis máxima de lindano un valor notablemente inferior al resto de los animales y a los datos aportados por numerosos autores (9, 10, 12).

En este caso (67,6 % de proteína y 0,01 mg de lindano/l), existe una muy baja retención de nitrógeno frente al que se ha ingerido, lo que habla a favor de un efecto negativo del lindano sobre la utilización de la proteína de la dieta que es más acusado aún si se tiene en cuenta la ingesta de estos animales. En efecto, los animales de este lote responden al modelo de comportamiento alimentario descrito por PAGE y ANDREWS (19) en el sentido de que realizan una menor ingesta cuando los niveles proteicos son altos, pero además, en el caso concreto de este lote, la ingestión fue menor que la de los otros dos que se alimentaron con esta misma dieta; por ello, el efecto negativo del lindano se manifiesta incluso ante una situación de mejor utilización por menor nivel de ingestión, como anteriormente se expuso. Ello explica la mejor utilización proteica, aunque sin diferencias significativas, del lote de menor concentración de lindano, ya que en este caso, ante una ingesta proteica menor que presentaron los animales, el lindano carece de efecto, hecho que a su vez estaría apoyado por la ausencia de efecto en lotes de menor contenido proteico e idéntica situación experimental.

Otro hecho destacable es el de la falta del efecto negativo expuesto, cuando los niveles proteicos fueron inferiores. En este caso, la única argumentación posible es que la necesidad de utilización de la proteína de estas dietas puede compensar el efecto contrario del lindano, sin que se tengan datos de si el citado efecto se lleva a cabo a nivel digestivo, a nivel

anabólico impidiendo la biosíntesis o a nivel catabólico favoreciendo la degradación.

La ingesta proteica total de estos últimos lotes fue superior a la del lote más afectado debido a una mayor ingestión de alimento que se traduce también en mayor aporte de calorías a partir de las grasas, ya que la sustitución de la proteína en la dieta por hidratos de carbono que son poco utilizables por la trucha (14, 20) tiene como resultado un menor contenido calórico de ésta, y una superior ingestión tendería a equilibrar el aporte calórico a través de las grasas (19).

En cuanto al PER, presenta la misma tendencia al incremento según disminuye la proteína dietaria, al igual que en el PPV, ya que este parámetro es también dependiente del contenido proteico de la dieta, coincidiendo con los datos aportados por otros autores (9, 10, 12).

Cabe destacar dos datos como son los valores correspondientes al lote de tratamiento máximo con lindano y dieta de mayor contenido proteico, que presentaba un PPV inferior al normal, y al lote de igual dosis de plaguicida y menor contenido proteico con un valor inferior a los de igual dieta; no se observa efecto sobre el PPV al compararlo con el control, por lo que se deduce que este lote, que presenta un aumento de peso también menor a los de igual dieta, prácticamente este aumento ha sido debido a la retención de nitrógeno y en mucho menor grado a otros nutrientes, manifestándose por tanto una mayor retención proteica respecto al bajo aumento de peso.

En cuanto al CI, que relaciona la ingesta con el aumento de peso, al disminuir el contenido proteico de la dieta nuestros resultados coinciden con los bibliográficos (9, 10, 12), en cuanto a los controles. Del resto de los grupos, es decir, los tratados con lindano, así como los valores de los dos lotes anteriormente citados, presentan un aumento de peso muy bajo en relación a la ingesta.

Destaca también el hecho de que con la dieta de contenido proteico medio, que ha sido calificado como óptimo por numerosos autores para peces carnívoros (4, 6, 7), los parámetros estudiados prácticamente no varían al tratar las truchas con lindano en su mayor o menor dosis.

No se observa una alteración clara con la dieta de menor contenido proteico como en la rata (2), probablemente porque la dieta más baja (36,1 %) asegura los requerimientos estructurales y los energéticos se ven suministrados por las grasas a través de una mayor ingesta de dieta a la de los otros lotes.

Resumen

Se estudia la influencia del lindano 0,01 y 0,001 mg/l sobre la utilización de la proteína dietaria en la trucha (*Salmo gairdneri*) alimentada con dietas de diferente contenido proteico (67,6 %, 53,2 % y 36,1 %). Se hallaron los parámetros: valor productivo de la proteína (PPV), índice de conversión (CI) y coeficiente de eficacia en crecimiento (PER). Se presenta una tendencia al aumento del PPV según disminuye el contenido proteico de la dieta, tanto en los grupos controles como en los que fueron tratados. El máximo efecto se presenta con la dosis superior de lindano y dieta de mayor nivel proteico, resultando una utilización proteica muy por debajo de la normal. El valor más alto del PPV se alcanza con la dieta de menor contenido proteico y más bajo tratamiento de lindano (36,1 %, 0,001 mg/l). Los lotes de dietas extremas (67,6 % y 36,1 %), con mayor nivel de contaminación, muestran valores para los índices CI y PER notablemente diferentes al resto de los animales. Los parámetros estudiados apenas varían con el tratamiento cuando los animales se alimentan con la dieta de contenido proteico medio.

Bibliografía

- BOULEKBACHE, H. y SPIESS, C.: *Bull. Soc. Zool. France*, **99**, 79-85, 1974.
- BOYD, E. M. y CHEN, C. P.: *Arch. Environ. Hlth.*, **17**, 156-163, 1968.
- BREIDENBACH, A. W. y LICHTENBERG, J. J.: *Science*, **141**, 899-900, 1963.
- COWEY, C. B., POPE, J. A., ADRON, J. W. y BLAIR, A.: *Br. J. Nutr.*, **28**, 447-456, 1972.
- CREMER, H. D.: National Academy of Sciences. National Research Council. Washington, 1963, 32-38.
- DELONG, D. C., HALVER, J. E. y MERTZ, E. T.: *J. Nutr.*, **65**, 589-595, 1958.
- DUPREE, H. K. y SNEED, K. E.: *Tech. Pap. Bur. Sport Fish. Wildl. (US)*, **9**, 99-109, 1966.
- FERGUSON, D. E., LUDKE, D. E., WOOD, J. P. y PRATHER, J. W.: *J. Miss. Acad. Sci.*, **11**, 219-228, 1965.
- GÓMEZ JARABO, G., MATAIX, F. J., ILLERA, M. y VARELA, G.: *Rev. Nutr. Animal*, **13**, 213-221, 1975.
- GÓMEZ JARABO, G., MATAIX, F. J., ILLERA, M. y VARELA, G.: *Inv. Pesq.*, **40**, 561-569, 1976.
- HERZEL, F.: *Pestic. Monit. J.*, **6**, 179-187, 1972.
- DE LA HIGUERA, M., MURILLO, A., VARELA, G. y ZAMORA, S.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **56A**, 37-41, 1977.
- JOHNSON, D. W.: *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **97**, 398-424, 1968.
- KITAMIKADO, M., MORISHITA, T. y TACHINO, S.: *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **30**, 50-54, 1964.
- LLOYD, R. y HERBERT, D. W.: *J. Inst. Publ. Hlth. Eng.*, **61**, 132-133, 1962.
- MATAIX, F. J., GÓMEZ-JARABO, G., ILLERA, M. y DE LA HIGUERA, M.: *Rev. Nutr. Animal*, **14**, 95-102, 1976.
- MEHRLE, P. M., STALLING, D. L. y BLOOMFIELD, R. A.: *Comp. Biochem. Physiol.*, **38B**, 373-377, 1971.
- NOSE, T.: *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, **21**, 85-97, 1971.
- PAGE, J. W. y ANDREWS, J. W.: *J. Nutr.*, **103**, 1339-1346, 1973.
- PHILLIPS, A. M. Jr., TUNISON, A. V. y BROCKWAY, D. R.: *Fish. Res. Bull.*, **11**, 15-24, 1948.
- O'BRIEN, R. D.: «Insecticides, Action and Metabolism». Academic Press, Nueva York, 1967.
- TOOBY, T. E. y DURBIN, F. J.: *Environ. Pollut.*, **8**, 79-89, 1975.