Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente 36 (1&2): 21-29 (1997); 10 Figs., 6 Tabs.

INFLUENCIA DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE EL CRECIMIENTO INSTANTANEO DE PECES TROPICALES EVALUADO POR EL SEGUIMIENTO DE LA RELACION ARN/ADN

M.I. SEGNINI DE BRAVO & K.S. CHUNG

Instituto Oceanográfico Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

RESUMEN: Los efectos directos de los factores ambientales sobre los organismos se manifiestan en último término como cambios en el crecimiento, siendo la salinidad, temperatura y disponibilidad del alimento los que afectan principalmente la tasa de crecimiento. Esta se puede evaluar a corto plazo, a través de los índices bioquímicos (ARN/ADN, PROTEINAS/ADN). En este trabajo se determinó la tasa de crecimiento instantáneo de juveniles de *Astyanax bimaculatus, Orthopristis ruber, Mugil curema* y *Oreochromis mossambicus*. Previamente cada grupo de organismos fue sometido a diferentes condiciones ambientales (temperatura, salinidad, régimen alimenticio o interacción de todos). Posteriormente, cada tres días se sacrificaron ocho peces, tomándose muestras del músculo blanco, para medir las concentraciones de ARN, ADN por el método fluorométrico con bromuro de etidio, y las proteínas por el método colorimétrico de azul de comassie. Los resultados mostraron una relación directa entre los parámetros estudiados y la tasa de crecimiento. El índice ARN/ADN fue mayor en los peces alimentados y en los cultivados a 30°C que en aquellos mantenidos en ayunas a esta temperatura y también a 22°C. Estos resultados sugieren que la relación ARN/ADN es un índice útil para evaluar el crecimiento a corto plazo, y puede ser usado además como indicador de la condición fisiológica y buen estado de salud de las especies cultivadas.

ABSTRACT: The direct effects of environmental factors on organisms ultimately appear as changes in growth, salinity, temperature and food availability are the main factors that affect the growth rate. This rate may be evaluated on the short term, through biochemical indexes (RNA/DNA ratio, Protein/DNA ratio). In this work, we evaluated the instant growth rate in juveniles belonging to *Astyanax bimaculatus, Orthopristis ruber, Mugil curema and Oreochromis mossambicus*, Previously, each group of organisms was exposed to different environmental conditions (variations in temperature, salinity, diet and/or their interaction). Next, every three days, eight fishes were taken out in order to measure RNA and DNA concentrations in white muscle samples, using the fluorometric method with ethydium bromide, and to measure protein concentration, using the colorimetric method with comassie blue. The results showed a direct relationship between the parameters under study and the growth rate. The RNA/DNA ratio was higher in fishes fed and maintained at 30° than in fishes starved at this temperature and also at 22°. These results suggest that the RNA/DNA ratio is useful in order to evaluate short term growth, and that it may also be used as an indicator of physiological conditions and health in cultivated species.

INTRODUCCION

Los efectos directos de los factores ambientales sobre los organismos se manifiestan en último término como cambios en el crecimiento siendo la salinidad, temperatura y disponibilidad de alimentos los que afectan principalmente la tasa de crecimiento (GOOLISH *et al.*, 1984; BULOW, 1987; MIGLAVS & JOBLING, 1989; SEGNINI *et al.*, 1996; SEGNINI & CHUNG, 1996).

El crecimiento puede ser positivo o negativo, temporal o a largo plazo. Esto ocurre a todos los niveles de organización biológica: células, tejidos, órganos, organismos, poblaciones y comunidades. Dependiendo del nivel de organización, el crecimiento se puede medir en términos de número, dimensión lineal, peso, volumen, energía transformada o cantidad de un componente específico como por ejemplo proteínas. También puede ser medido como variación o tasa de cambio. Por ello se han desarrollado una serie de índices relacionados con el crecimiento tales como citocromo oxidasa, vitamina C, ornitina descarboxilasa, relación ARN/ADN, etc. (MATHERS *et al.*, 1992; ARNDT *et al.*, 1994). Esta última mide la tasa en la cual el tejido es elaborado, ya que en las células el contenido de ADN es relativamente constante mientras que el contenido de ARN tiene una mayor variación (BULOW, 1987). En este trabajo nos proponemos estudiar la influencia de la temperatura, salinidad y alimentación sobre el crecimiento de algunas especies tropicales, de posible uso comercial como fuente de alimento, *(Orthopristis ruber, Mugil curema, Oreochromis mossambicus y Astyanax bimaculatus)*, midiendo las

concentraciones de ARN, ADN y proteínas (macromoléculas implicadas en el crecimiento de los organismos) y expresándolas como ARN/ADN y Proteínas/ADN las cuales han sido propuestas como indicadores de crecimiento instantáneo y condición fisiológica en peces.

MATERIALES Y METODOS

Los peces utilizados en esta investigación fueron capturados en diferentes localidades del Golfo de Cariaco, Venezuela (10°30'00" N, 64°15'00" W) y trasladados al laboratorio en recipientes de anime donde permanecieron 36 horas para su ambientación. Posteriormente fueron aclimatados por un período de 4 semanas, en acuarios de 300 L de capacidad, a diferentes temperaturas: los juveniles de las especies *Astyanax bimaculatus* (20,03±1,51 mm de longitud estándar LS) y *Oreochromis mossambicus* (15,47±1,08 mm LS) a 22 y 30°C; juveniles de *Orthopristis ruber* (42,41±3,21 mm LS) y de *Mugil curema* (39,22±2,53 mm LS) a 27°C. Después de la aclimatación térmica se tomaron grupos de 180 peces con dos replicas para cada especie y fueron estudiados bajo diferentes condiciones experimentales: a) régimen alimenticio: *Astyanax bimaculatus, Orthopristis ruber* y *Mugil curema;* b) térmico: *Astyanax bimaculatus* y *Oreochromis mossambicus* c) salinidad: *Oreochromis mossambicus* previamente aclimatados a 27°C. Durante todo el período experimental, cada tres días, se tomaron ocho peces de cada uno de los tratamientos, éstos fueron congelados inmediatamente con hielo seco y guardados a -17°C hasta el momento de la determinación de los ácidos nucleicos. Para la cuantificación de éstos se tomaron 20 mg de músculo blanco de la zona epiaxial utilizándose el método fluorométrico con bromuro de etidio propuesto por KARSTEN y WOLLEMBERGER (1977), con modificaciones en la concentración de ribonucleasa, la cual fue aumentada de 25µg/mL a 100 µg/mL y el tiempo de incubación alargado hasta 30 minutos. Esto se hizo con la finalidad de asegurarse de que todo el ARN fuera hidrolizado completamente por la enzima. Posteriormente, los valores encontrados fueron llevados a una curva de calibración para determinar las concentraciones de ARN y ADN. Las proteínas fueron cuantificadas por el método de BRADFORD (1976) usando el reactivo de azul de coomasie con una curva de calibración preparada con suero de albúminas de bovino. A los peces se les suministró alimento dos veces al día en un equivalente al 10% de su peso húmedo del alimento para peces tropicales "Universal" (contenido mínimo de proteínas: 61,56%; mínimo de grasa: 4,52%; mínimo de fibra: 4,50%). Durante todo el período experimental, diariamente se tomaban muestras de agua de cada uno de los acuarios para medir la concentración de oxígeno y pH, los cuales oscilaron entre los rangos de 6,5-7,2 mg/L y 7,5-8,0 respectivamente. Además se les succionaban las macromoléculas de desechos fecales y se les cambiaba el 75% del agua para tratar de esta manera de minimizar las concentraciones de amonio y otros productos del metabolismo diario.

Para los análisis estadísticos se utilizaron anovas de una y dos vías para determinar el efecto de la disponibilidad de alimento, temperatura o salinidad sobre los niveles de proteínas y los índices fisiológicos de crecimiento instantáneo ARN/ADN y Proteínas/ADN o la interacción de estos factores con el tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las especies estudiadas: *Mugil curema, rthopristis ruber, Astyanax bimaculatus* y *Oreochromis mossambicus,* se observó que la relación ARN/ADN se alteró de acuerdo al factor ambiental que enfrentó el organismo. Para el caso de los peces sometidos a diferentes regímenes alimenticios, en la especie *Mugil curema* (Fig. 1, Tabla 1) se encontró una relativa constancia de los valores obtenidos para los peces alimentados durante todo el período experimental (3,64±0,56 en el primer día hasta 4,74±0,18 al final del experimento) y una disminución significativa ($p<0,01$) para los no alimentados (de 3,55±0,18 para el primer día hasta 0,52±0,02 para el término del experimento). Resultados similares fueron observados por HASCHEMEYER & SMITH (1979) quienes encontraron que la especie *Mugil cephalus* disminuyó su crecimiento instantáneo en los peces no alimentados de esta especie.

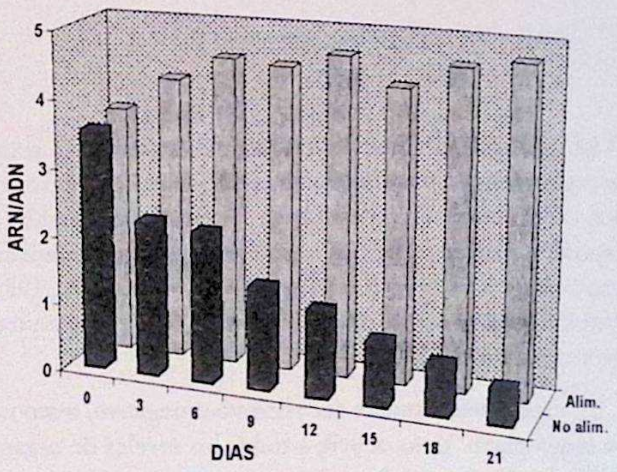


Figura 1. Relación ARN/ADN para *Mugil curema* cultivados a 27°C bajo diferentes regímenes alimenticios. Alim.: Alimentados; No alim.: No alimentados.

TABLA 1. Valores medios de las concentraciones de ARN, ADN y Proteínas (µg/mg) y la relación ARN/ADN en *Mugil curema*.

DIA	ARN (µg/mg)	ADN (µg/mg)	ARN/ADN (µg/mg)
Alimentados			
0	1,53 ± 0,07	0,42 ± 0,02	3,64±0,56
3	1,70 ± 0,06	0,41 ± 0,01	4,15±0,20
6	1,90 ± 0,10	0,42 ± 0,02	4,51±0,21
9	1,87 ± 0,04	0,42 ± 0,01	4,45±0,25
12	2,00 ± 0,03	0,43 ± 0,01	4,65±0,18
15	1,79 ± 0,07	0,42 ± 0,01	4,26±0,09
18	1,94 ± 0,06	0,42 ± 0,02	4,62±0,19
21	2,04 ± 0,05	0,43 ± 0,05	4,74±0,18
Ayunados			
0	1,49 ± 0,05	0,42 ± 0,02	3,55±0,18
3	1,03 ± 0,06	0,45 ± 0,01	2,29±0,12
6	1,01 ± 0,04	0,46 ± 0,01	2,20±0,08
9	0,80 ± 0,03	0,53 ± 0,01	1,51±0,07
12	0,73 ± 0,04	0,57 ± 0,02	1,28±0,05
15	0,59 ± 0,05	0,62 ± 0,01	0,95±0,04
18	0,48 ± 0,03	0,65 ± 0,03	0,74±0,04
21	0,36 ± 0,03	0,69 ± 0,02	0,52±0,02

Para *Orthopristis ruber* (Fig. 2) alimentados se observó que la relación varió desde 3,04±0,08 para el primer día, 5,54±0,15 al noveno día y 7,45±0,30 a los 21 días de experimentación, lo que indica un incremento sostenido de dicho índice. Para los no alimentados-realimentados, se encontró un valor de 3,65±0,17 para el primer día, observándose una disminución significativa ($p < 0,01$) continua hasta 0,55±0,01 en el noveno día. A partir de ese día se les suministró alimento a estos peces, observándose que la relación ARN/ADN aumentó continuamente alcanzando su valor inicial (3,60±0,17) a los 13 días y un valor de 7,57±0,22 para el vigésimo cuarto día (Tablas 2 y 3) .

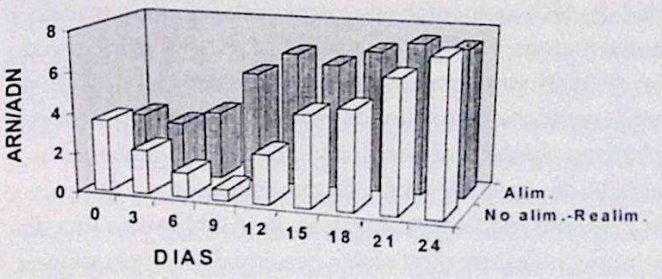


Figura 2. Relación ARN/ADN para *Orthopristis ruber* cultivados a 27°C bajo diferentes regímenes alimenticios. Alim.: Alimentados, No alim.-Realim.: No alimentados-Realimentados.

TABLA 2. Valores medios de las concentraciones de ARN, ADN y Proteínas (µg/mg) y la relación ARN/ADN en *Orthopristis ruber*.

DIA	ARN (µg/mg)	ADN (µg/mg)	PROTEINAS (µg/mg)	ARN/ADN
Alimentados				
0	0,90 ± 0,01	0,29 ± 0,01	209,25 ± 3,96	3,04 ± 0,08
3	0,78 ± 0,01	0,29 ± 0,01	213,82 ± 3,44	2,71 ± 0,06
6	0,86 ± 0,01	0,25 ± 0,01	203,15 ± 3,73	3,39 ± 0,20
9	1,81 ± 0,06	0,33 ± 0,01	237,21 ± 2,10	5,54 ± 0,15
12	1,81 ± 0,04	0,28 ± 0,01	287,93 ± 7,55	6,64 ± 0,56
15	1,89 ± 0,05	0,31 ± 0,03	290,42 ± 2,86	6,20 ± 0,86
18	2,02 ± 0,06	0,29 ± 0,04	330,82 ± 3,64	6,96 ± 0,75
21	2,47 ± 0,03	0,33 ± 0,01	337,69 ± 4,53	7,45 ± 0,30
24	2,48 ± 0,03	0,34 ± 0,01	402,14 ± 8,74	7,29 ± 0,16
Ayunados y posteriormente realimentados				
0	0,95 ± 0,03	0,26 ± 0,01	229,11 ± 5,75	3,65 ± 0,17
3	0,76 ± 0,01	0,34 ± 0,01	151,93 ±18,92	2,24 ± 0,04
6	0,61 ± 0,01	0,49 ± 0,01	72,68 ± 8,38	1,24 ± 0,05
9	0,38 ± 0,01	0,69 ± 0,01	20,92 ± 2,88	0,55 ± 0,01
12	0,80 ± 0,05	0,32 ± 0,01	211,96 ± 6,33	2,50 ± 0,25
15	0,93 ± 0,01	0,23 ± 0,06	296,24 ± 2,66	4,04 ± 1,76
18	1,50 ± 0,01	0,30 ± 0,01	314,98 ± 4,35	5,00 ± 0,12
21	1,95 ± 0,08	0,30 ± 0,01	355,21 ± 3,78	6,50 ± 0,11
24	2,42 ± 0,02	0,32 ± 0,01	414,50 ± 5,93	7,57 ± 0,22

TABLA 3. Valores de F del análisis de varianza para las concentraciones de proteínas (µg/mg) y la relación ARN/ADN en el músculo blanco de *Orthopristis ruber* alimentado, no alimentado-realimentado. .

Dia	ARN/ADN	Proteínas (µg/mg)
0	26,32**	24,26**
3	139,26**	31,08**
6	322,19**	766,13**
9	3178,95**	11024,26**
12	139,04**	178,04**
15	2,10 NS	6,65*
18	20,96**	23,41**
21	24,65**	26,42**
24	3,13 NS	4,99*

En la especie *Astyanax bimaculatus* (Fig. 3) se observa que para los peces alimentados *ad libitum*, la relación ARN/ADN se mantuvo sin variaciones significativas ($p < 0,05$) (4,09±0,27 para el primer día y 4,18±0,15 al término del experimento) en los peces cultivados a 22°C. Por otra parte, para los peces cultivados a 30°C se observó un incre-

mento desde 3,60±0,51 en el primer día hasta 6,50±0,61 a los 21 días (final de la experimentación). Para el caso de aquellos mantenidos en ayuno, se observó que el índice ARN/ADN disminuyó significativamente ($p < 0,01$) desde 3,80±0,30 en el primer día de experimentación hasta 1,08±0,06 en el noveno día para los peces cultivados a 30°C y desde 3,82±0,28 en el primer día hasta 1,50±0,08 en el noveno día para los peces mantenidos en ayunas a 22°C. Posteriormente al suministrarle alimentos, la relación ARN/ADN comenzó a aumentar rápidamente alcanzando un valor de 4,09±0,30 y 6,75±0,40, para aquellos cultivados a 22° y 30°C respectivamente, a los 21 días.

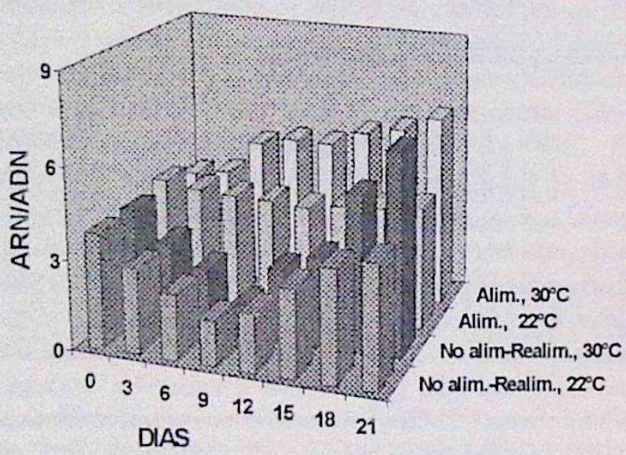


Figura 3. Relación ARN/ADN para *Astyanax bimaculatus* cultivados a diferentes condiciones de temperatura y régimen alimenticio. Alim.: Alimentados; No alim.-Realim.,: No alimentados-Realimentados.

A partir de estos resultados se puede evidenciar que el estado nutricional está directamente relacionado con el índice ARN/ADN. La mayor síntesis de ARN y por ende de proteínas (Fig. 4 y 5, Tablas 4 y 5 permite inferir que esta relación aumentó en los períodos de alimentación debido a que estos organismos utilizaron gran parte de la energía suministrada por los alimentos para su crecimiento. Por otro lado, en los peces realimentados (Fig. 2 y 3) se encontró que éstos fueron más eficientes para canalizar y utilizar mejor la energía suministrada que aquellos peces que tenían un régimen alimenticio constante, lo que concuerda con resultados previamente reportados por otros autores (MIGLAVS & JOBLING, 1989; CHUNG *et al.*, 1991, MATHERS *et al.*, 1993; FOSTER *et al.*, 1993a,b; SEGNINI *et al.*, 1996). La disminución de la concentración de proteínas en los peces no alimentados, tal como se muestra en la figuras 4 y 5 para *Astyanax bimaculatus* y *Orthopristis ruber*, respectivamente, indica que estos organismos utilizaron sus proteínas musculares de reserva para sobrevivir (reparación de tejidos, etc.) hasta un

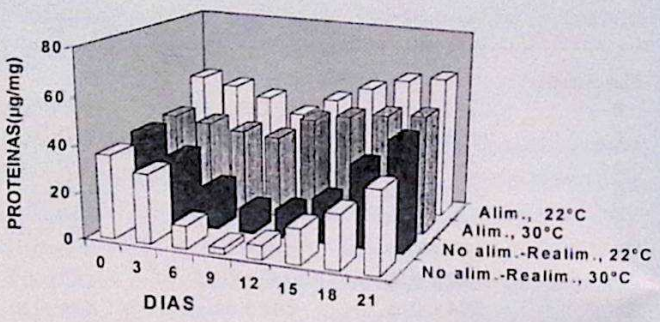


Figura 4. Concentración de proteínas para *Astyanax bimaculatus* cultivados a diferentes condiciones de temperatura y régimen alimenticio. Alim.: Alimentados; No alim.-Realim.: No alimentados-Realimentados.

cierto tiempo y posteriormente esta cantidad no se incrementó. Como es bien conocido aproximadamente el 80% del ARN es ribosómico (del resto, 15% corresponde al ARN de transferencia y 5 % al ARN mensajero). Medir en el tejido el contenido de ARN proporciona una estimación del número de ribosomas presentes (KIKUCHI *et al.*, 1986, REEDS, 1987). Está documentado que en el proceso de cambio en la síntesis proteica en el músculo se encuentran involucradas dos variables: a) la concentración de ribosomas, los cuales alteran la capacidad para la síntesis de proteínas y b) la actividad de estos ribosomas lo cual indica la extensión a la cual la capacidad de síntesis proteica es realizada, (SMITH, 1981; LIED & ROSENLUND, 1984; LOUGHNA & GOLDSPINK, 1984; REEDS, 1987; MIGLAV & JOBLING, 1989, FOSTER *et al.*, 1993). Por la tanto la disminución de la síntesis de proteínas es una respuesta al ayuno y viene como consecuencia de una reducción del número de ribosomas combinado con un descenso en la actividad de estos ribosomas. Esto concuerda con los resultados de CLEMMESEN (1987) y MILLWARD (1989) quienes observaron que la cantidad de ARN aumentaba en los períodos de alimentación y de realimentación. Por otra parte, CLEMMESEN *op. cit.* señaló que el ADN aumentaba solamente a finales del período de abstinencia, confirmando los resultados obtenidos en este trabajo en donde la concentración de ADN aumentó por unidad de peso después de los nueve días de ayuno. Un aumento en la concentración de ADN refleja una disminución en el tamaño celular, resultando un gran número de células por unidad de peso en el tejido (JURSS *et al.*, 1986). MUSTAFÁ & MITTAL (1982) explicaron que los altos valores de concentración de ADN en el músculo de peces mantenidos en ayunas ocurre porque las sustancias intracelulares

fueron catabolizadas durante el ayuno, decreciendo el volumen de la célula y aumentando el número de células por unidad de peso de tejido. Generalmente, valores constantes de la concentración de ADN en el músculo de peces alimentados indica que los materiales intracelulares tales como agua, proteínas, grasas y carbohidratos y el volumen celular individual se mantienen en una condición estacionaria mientras que el pez esté creciendo.

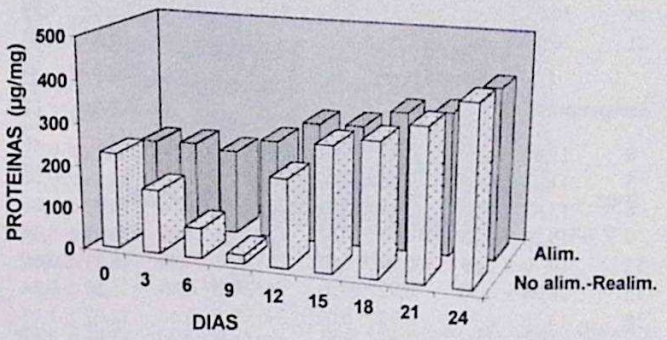


Figura 5. Concentración de proteínas para *Orthopristis ruber* cultivados bajo diferentes régimenes alimenticios. Alim.: Alimentados; No alim.-Realim.: No alimentados-Realimentados.

Con respecto a la influencia de la temperatura sobre el índice ARN/ADN se observó que tanto para la especie *Astyanax bimaculatus* (Fig. 3) como para *Oreochromis mossambicus* (Fig. 6), la relación fue mayor en los peces alimentados a 30°C que a 22°C. *Oreochromis mossambicus* presentó una relación oscilante entre 10,90±0,30 y 11,80±0,58 a 22°C y entre 13,11±0,07 y 16,38±0,81 a 30°C. Es posible observar también que, en estas condiciones de estrés térmico, la relación ARN/ADN es relativamente más constante a 22°C que a 30°C para ambas especies. Por otra parte, a los 9 días de experimentación, *Astyanax bimaculatus*, en el período de no alimentación, presentó un índice ARN/ADN mayor a 22°C (1,50±0,08) que a 30°C (1,08±0,06). Esto posiblemente se deba a la interacción de los dos factores, temperatura y falta de alimento, donde *Astyanax bimaculatus* a una temperatura de 22°C tiene la estrategia de presentar poca actividad de nado y desplazamiento y almacenando mayor cantidad de proteínas; en cambio en una condición de varios días de ayuno, esta especie cultivada a una temperatura de 30°C, las proteínas musculares serán utilizadas para resolver los problemas de ajuste metabólico debido a su hiper-actividad; pero cuando estos peces fueron realimentados, el índice ARN/ADN fue aumentando en ambas temperaturas, pero con mayor rapidez a 30°C. A los 18 días de cultivo, los peces mantenidos a 22°C alcanzaron su valor inicial (3,75±0,58); mientras que los cultivados a 30°C alcanzaron un 40% por encima de su valor inicial (5,25±0,59) en ese período. Una disminución

TABLA 4. Valores medios de las concentraciones de ARN, ADN y Proteínas (µg/mg) y la relación ARN/ADN en *Astyanax bimaculatus*.

DIA	ARN (µg/mg)	ADN (µg/mg)	PROTEINAS (µg/mg)	ARN/ADN
Temperatura: 22°C				
Alimentados				
0	0,45 ± 0,00	0,11 ± 0,01	53,05 ± 2,49	4,09 ± 0,27
3	0,43 ± 0,00	0,11 ± 0,01	50,34 ± 1,83	3,91 ± 0,27
6	0,42 ± 0,03	0,11 ± 0,01	46,34 ± 2,88	3,82 ± 0,51
9	0,42 ± 0,02	0,11 ± 0,01	40,04 ± 4,41	3,82 ± 0,38
12	0,41 ± 0,01	0,11 ± 0,01	48,25 ± 1,04	3,73 ± 0,25
15	0,43 ± 0,01	0,11 ± 0,01	55,00 ± 3,78	3,91 ± 0,26
18	0,44 ± 0,00	0,11 ± 0,01	60,00 ± 11,95	4,00 ± 0,24
21	0,46 ± 0,01	0,11 ± 0,00	62,24 ± 2,66	4,18 ± 0,15
Ayunados y posteriormente realimentados				
0	0,42 ± 0,01	0,11 ± 0,01	39,05 ± 1,64	3,82 ± 0,28
3	0,37 ± 0,01	0,13 ± 0,01	30,25 ± 1,67	2,85 ± 0,28
6	0,35 ± 0,01	0,16 ± 0,01	18,50 ± 1,54	2,19 ± 0,19
9	0,33 ± 0,02	0,22 ± 0,01	10,65 ± 0,86	1,50 ± 0,08
12	0,39 ± 0,01	0,20 ± 0,01	12,23 ± 2,14	1,95 ± 0,08
15	0,44 ± 0,00	0,15 ± 0,06	18,93 ± 1,27	2,93 ± 0,14
18	0,45 ± 0,01	0,12 ± 0,02	35,38 ± 3,46	3,75 ± 0,58
21	0,45 ± 0,00	0,11 ± 0,01	47,95 ± 5,82	4,09 ± 0,30
Temperatura: 30°C				
Alimentados				
0	0,18 ± 0,01	0,05 ± 0,01	40,31 ± 2,31	3,60 ± 0,51
3	0,19 ± 0,01	0,05 ± 0,01	38,58 ± 2,71	3,80 ± 0,38
6	0,20 ± 0,00	0,04 ± 0,01	36,61 ± 1,81	5,00 ± 0,56
9	0,21 ± 0,00	0,04 ± 0,01	35,39 ± 0,97	5,25 ± 0,81
12	0,21 ± 0,00	0,04 ± 0,01	45,01 ± 1,47	5,25 ± 0,72
15	0,23 ± 0,01	0,04 ± 0,00	48,05 ± 2,18	5,75 ± 0,86
18	0,24 ± 0,00	0,04 ± 0,01	50,23 ± 7,62	6,00 ± 0,97
21	0,26 ± 0,01	0,04 ± 0,00	51,50 ± 5,17	6,50 ± 0,61
Ayunados y posteriormente realimentados				
0	0,19 ± 0,00	0,05 ± 0,01	35,94 ± 1,23	3,80 ± 0,30
3	0,17 ± 0,06	0,06 ± 0,00	29,81 ± 2,64	2,83 ± 1,16,
6	0,15 ± 0,01	0,07 ± 0,00	9,80 ± 0,93	2,14 ± 0,13
9	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	2,61 ± 0,40	1,08 ± 0,06
12	0,17 ± 0,01	0,07 ± 0,00	6,04 ± 0,38	2,43 ± 0,23
15	0,18 ± 0,00	0,06 ± 0,01	15,18 ± 2,00	3,00 ± 0,46
18	0,21 ± 0,01	0,04 ± 0,00	23,31 ± 0,65	5,25 ± 0,59
21	0,27 ± 0,01	0,04 ± 0,00	35,30 ± 3,64	6,75 ± 0,40

TABLA 5. Análisis de varianza para las concentraciones de proteínas (µg/mg) y las relaciones ARN/ADN y Proteína/ADN en el músculo blanco de las especies estudiadas.

Fuente de Variación	ARN/ADN	Proteína (µg/mg)	Proteína /ADN	ESPECIE
Temperatura	629,20***	265,76***	138,07**	*Oreochromis mossambicus*
Tiempo	93,46***	147,30***	88,87***	cultivada a 30 y 22°
Interacción	11,84***	3,80***	4,71***	
Alimentación	98,63***	2060,70***	963,13***	*Astyanax bimaculatus*
Tiempo	107,22***	128,33***	75,72***	cultivada a 30°C. Ali-
Interacción	27,09***	71,87***	30,22***	mentada y no alimentada.
Alimentación	386,80***	6244,08***	937,20***	*Astyanax bimaculatus*
Tiempo	660,18***	96,71***	76,,99***	cultivada a 22°C. Ali-
Interacción	35,20***	18,44***	17,94***	mentada y no alimentada.
Temperatura	115,88***	271,25***	446,22***	*Astyanax bimaculatus*
Tiempo	306,86***	501,49***	339,81***	cultivada 22 y 30°C. No
Interacción	45,71***	13,44***	45,92***	Alimentada.
Temperatura	179,66***	124,69***	776,93***	*Astyanax bimaculatus*
Tiempo	25,41***	35,83***	33,16***	cultivada a 22 y 30°C.
Interacción	22,43***	2,40***	15,89***	Alimentada.

del contenido de ADN en el tejido acompañado de un incremento continuo del índice ARN/ADN al incrementar la temperatura (Tabla 6) resulta en un aumento de la relación Proteína/ADN a la temperatura de 30°C. Esto concuerda con un aumento del volumen celular, el cual a su vez es acompañado por un incremento de biosíntesis proteica. La alta concentración de ADN y la baja relación Proteína/ADN en los peces cultivados a 22°C sugiere que estos peces tienen en su tejido (músculo blanco) células más pequeñas que aquellos peces cultivados a 30°C. El aumento constante de ADN y ARN se explica porque éste es un crecimiento de ajuste (FERGUSON & DANZMANN, 1990). Es importante señalar que a esta última temperatura se

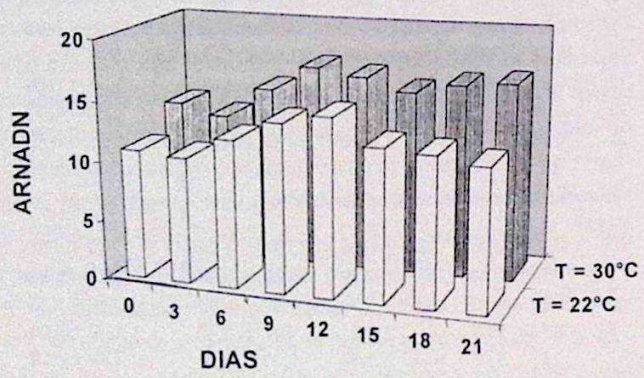


Figura 6. Relación ARN/ADN para *Oreochromis mossambicus*, alimentados, cultivados a diferentes temperaturas.

TABLA 6. Valores medios de las concentraciones de ARN, ADN y Proteínas (µg/mg) y la relación ARN/ADN en *Oreochromis mossambicus*.

DIA	ARN (µg/mg)	ADN (µg/mg)	PROTEINAS (µg/mg)	ARN/ADN
Temperatura: 22°C				
0	13,30 ± 0,37	1,22 ± 0,01	320,75 ± 9,91	10,90 ± 0,30
3	12,95 ± 0,49	1,22 ± 0,01	299,50 ± 7,07	10,61 ± 0,30
6	15,39 ± 1,06	1,24 ± 0,01	320,75 ± 22,07	2,41 ± 0,84
9	17,20 ± 0,64	1,22 ± 0,02	280,50 ± 16,99	14,10 ± 0,61
12	18,29 ± 0,44	1,23 ± 0,02	388,50 ± 21,93	14,87 ± 0,49
15	17,03 ± 1,04	1,34 ± 0,03	400,00 ± 7,56	12,71 ± 0,69
18	16,27 ± 0,48	1,31 ± 0,04	415,25 ± 21,51	12,.42 ± 0,50
21	16,05 ± 0,78	1,36 ± 0,05	427,00 ± 9,26	11,80 ± 0,58
Temperatura: 30°C				
0	11,80 ± 0,07	0,90 ± 0,01	310,00 ± 8,86	13,11 ± 0,07
3	11,27 ± 0,66	0,92 ± 0,02	275,88 ± 23,54	12,25 ± 0,51
6	13,49 ± 0,20	0,91 ± 0,01	283,00 ± 16,90	14,82 ± 0,28
9	15,22 ± 0,53	0,90 ± 0,01	250,10 ± 11,65	16,91 ± 0,49
12	14,70 ± 0,69	0,90 ± 0,01	263,00 ± 32,40	16,33 ± 0,66
15	14,08 ± 0,30	0,92 ± 0,03	369,50 ± 6,80	15,30 ± 0,54
18	14,78 ± 0,91	0,92 ± 0,02	345,00 ± 19,15	16,07 ± 1,15
21	15,23 ± 0,94	0,93 ± 0,01	367,00 ± 15,12	16,38 ± 0,81

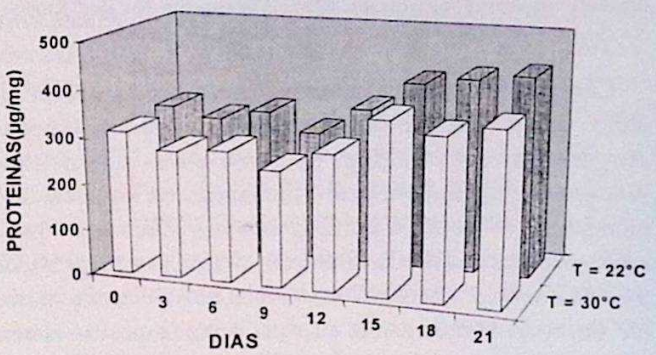


Figura 7. Concentración de proteínas para *Oreochromis mossambicus* alimentados, cultivados a diferentes temperaturas.

encontró una menor concentración de ARN (Tablas 4 y 6) y por ende, menor concentración de proteínas (Fig. 4 y 7), es decir, a mayor temperatura menor cantidad de proteínas; pero sin embargo se obtuvo un índice ARN/ADN mayor. Estos resultados muestran entonces que el sinergismo de los dos factores estudiados: temperatura y disponibilidad de alimento (Fig. 3, Tabla 5), produce un efecto contrapuesto entre uno y otro, sobre todo en la síntesis de proteínas, porque en la condición de mayor temperatura hay necesidad de mayor uso de proteínas debido a la gran acti-

vidad metabólica. Por otra parte, si hay mayor disponibilidad de alimento, se puede utilizar una mayor cantidad de la proteína sintetizada para el crecimiento. Para explicar esta ambivalencia, algunos autores (HOULIHAN et al., 1993; MATHER *et al.*, 1993), han sugerido que una gran cantidad de proteínas son utilizadas para mantener el nivel metabólico y también para el crecimiento. Cuando éste crecimiento se mide mediante el índice Proteínas/ADN como indicador del tamaño celular (Fig. 8, Tabla 6), como por ejemplo

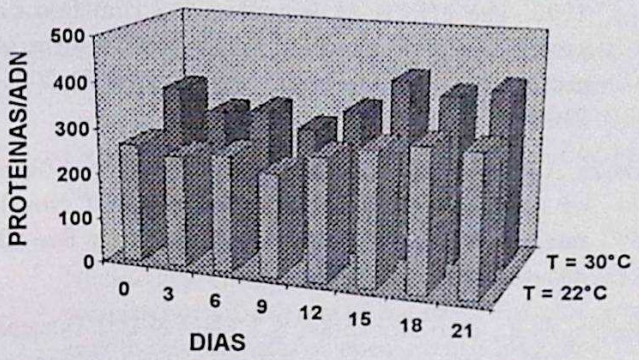


Figura 8. Relación proteínas/ADN para *Oreochromis mossambicus* alimentados, cultivados a diferentes temperaturas.

para la especie *Oreochromis mossambicus*, se encuentra que los organismos cultivados a 22°C tienen una mayor síntesis proteica (Fig. 7) pero un menor índice Proteínas/ADN (Tabla 6), indicando que estos organismos están bajo estrés por la baja temperatura y que una gran porción de las proteínas son usadas para resolver ese problema, lo que implica que las proteínas disponibles son usadas mayoritariamente para vivir y sólo una pequeña cantidad de ellas son utilizadas para el crecimiento (RAAE *et al.*, 1988; FERGUSON & DANZMANN, 1990; MALLOY & TARGETT, 1994). Con relación al efecto de la temperatura sobre la tasa de crecimiento y niveles de ácidos nucleicos y proteínas se han realizado diversas investigaciones: BRETT (1979), observó un máximo crecimiento a las temperaturas de 15-17°C para juveniles de truchas. GOOLISH *et al.* (1984), informaron que la concentración de ARN aumentaba a temperaturas bajas como un mecanismo compensatorio para reducir la actividad de los niveles de ARN a bajas temperatura. Esto fue corroborado por FOSTER *et al.* (1992), quienes midieron la concentración de ácidos nucleicos y proteínas en juveniles de trucha y encontraron que la concentración de ARN aumentaba cuando la temperatura de aclimatación se reducía desde 8° a 5°C.

Con respecto al efecto de la salinidad, ésta resultó ser un factor abiótico muy favorable para la especie *O. mossambicus* (Fig. 9) ya que el índice ARN/ADN aumentó

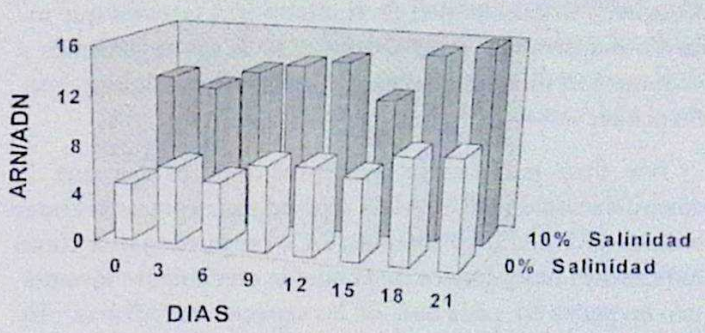


Figura 9. Relación ARN/ADN para *Oerochromis mossambicus*, cultivados a diferentes salinidades.

en dos veces el valor obtenido para aquellos peces cultivados en agua salobre al 10‰ de salinidad comparado con los peces cultivados en agua a 0‰ de salinidad, indicando que *Oreochromis mossambicus* en un medio hiperosmótico puede adaptarse metabólicamente a este medio manteniendo su balance de flujo energético entre los requerimientos de crecimiento y la actividad metabólica básica tales como la osmoregulación, respiración, etc. Estos resultados concuerdan con los reportados previamente por CHUNG *et al.*, (1993), donde la concentración de ARN, las proteínas y la relación ARN/ADN aumentó en mayor cantidad en el pez estuarino *O. ocelatus* cuando se aclimató a diferentes salinidades (20, 36‰), que cuando permanecía en agua dulce. Asimismo CHUNG (1982) señaló que los juveniles de tilapia (*O. mossambicus)* presentaron el mayor crecimiento (expresado como factor de condición) en los peces cultivados en salinidades de 10‰ y 20‰, lo que corrobora los resultados mostrado en la (figura 10), donde se observa que los peces mantenidos a 10‰ de salinidad presentaron mayor índice Proteínas/ADN, lo que indica un mayor crecimiento a esta concentración de salinidad.

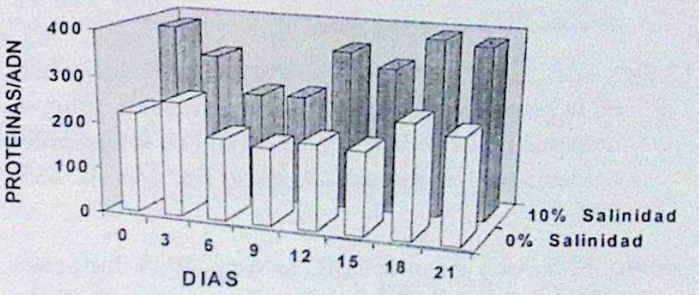


Figura 10. Relación proteínas/ADN para *Oreochromis mossambicus* alimentados, cultivados a diferentes salinidades.

En conclusión, se puede decir que la temperatura, salinidad y disponibilidad de alimento son factores que influyen mayormente en el crecimiento de los organismos y su control es fundamental para el cultivo de cualquier especie acuática

Por otro lado, estos estudios demuestran que la cuantificación de ARN, ADN y proteínas expresadas como índices ARN/ADN, Proteínas/ADN se pueden usar como indicadores bioquímicos de la tasa de crecimiento instantáneo en peces en cada una de las especies estudiadas. En acuicultura estas medidas pueden ser una herramienta útil para chequeos rutinarios y para observar diariamente la condición fisiológica de las especies en cultivo.

REFERENCIAS

ARNDT, S. K.A., T. J. BENFEY & R. A. CUNJAK. 1994. A comparison of RNA concentrations and ornitine decarboxylase activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle tissue, with respect to specific growth rates and diel variations. *Fish Physiol. and Biochem.* 13: 1-9.

BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of protein utilizing principles of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.

BRETT, J. R. 1979. Environmental factors and growth. In: *Fish Physiol., Vol. VIII. Part A* (Hoar, W.S. & D. J. Randall, eds.), Academic Press, London. pp. 599-675.

BULOW, F. J. 1987. RNA-DNA ratios as indicators of growth in fish: A review. The Age and Growth of Fish (R.C. Summerfelt & G. E. Hall, 1987). *The Iowa State Univ. Press.* Ames, Iowa. pp. 45-64.

CHUNG, K .S. 1982. Effects of the salinity on the growth, survival and temperature tolerance of Mozambique Mouthbrooder (*Sarotherodon mossambicus*) under laboratory condition. *Actas VIII Cong. Latinoamericano Zool.* 8(1): 445-464.

CHUNG, K. S., G: J. HOLT & C. R. ARNOLD. 1991. Influencia de la privación de la dieta y realimentación sobre el crecimiento y la relación ARN-ADN en los juveniles del pez rojo *Sciaenops ocellatus*. *Acta Cient. Ven.* 42: 335-344.

CHUNG, K. S., G: J. HOLT & C. R. ARNOLD. 1993. Influence of salinity and food deprivation on growth and RNA-DNA ratio in red drum *Sciaenops ocellatus* (Pisces: Sciaenidae). *Rev. Biol. Trop.* 41 (2): 187-195.

CLEMMESEN, C. M. 1987. Laboratory studies on RNA/DNA ratios of starved and fed herring (*Clupea harengus*) and turbot (*Scopthalamus maximus*) larvae. *J. Conseil Int. pour l'Exploration de la Mer.* 43: 122-128.

FERGUSON, M. M. & R. G. DANZMANN. 1990. RNA/DNA ratios in white muscle as estimates of growth in rainbow trout held at different temperatures. *Can. J. Zool.* 68: 1494-498.

FOSTER, A. R., D. F HOULIHAN, S. J. HALL & L. J. BURREN. 1992. The effects of temperature acclimation on protein synthesis rates and nucleic acid content of juvenile cod *(Gadus morhua). Can. J. Zool.* 70: 2095-2102.

FOSTER, A.R., S. J. Hall & D.F Houlihan.1993a. The effects of seasonal acclimatization on correlates of growth rate in juvenile cod *(Gadus morhua L.). J. Fish Biol.* 42: 461-464.

FOSTER, A. R., D. F HOULIHAN, S. J. HALL & L. J. BURREN. 1993b. Effects of nutritional regime on correlates of growth rates in juvenile atlantic cod *(Gadus morhua).* Comparison of morphological and biochemical measurements. *Can. J. Fish. Aquacult. Sc.* 50: 502-512.

GOOLISH, E. M., M. G. BARRON & I. R. ADELMAN. 1984. Thermoacclimatory response of nucleic acid and protein content of carp muscle tissue: influence of growth rate and relationship of glycine uptake by scales. *Can. J. Zool.* 62: 2164-2170.

HASCHEMEYER, A. E. V. & M. A. K. SMITH. 1979. Protein synthesis in liver, muscle and gill of mullet *(Mugil cephalus) in vivo. Bull. Mar. Biol. Lab. Biol. Woods Hole* 156: 93-102.

HOULIHAN, D. F., E. M. MATHERS & A. FOSTER. 1993. Biochemical correlates of growth rates in fish. In: *Fish Ecophysiol.* (Rankin, J. C. & F. B. Jensen, eds), *Chapman & Hall,* London. pp. 45-71.

JURSS, K., T. H. BITTORF & TH. VOKLER. 1986. Influence of salinity and food deprivation on growth, RNA/DNA ratio and certain enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Comp. Biochem. Physiol.,* 83B(2): 425-433)

KARSTEN, U. & A. WOLLEMBERGER. 1997. Improvements in the ethidium bromide method for a direct fluorometric estimation of DNA and RNA in cell tissue homogenates. *Anal. Biochem.* 77: 464-470.

LIED, E. & G. ROSENLUND, 1984. The influence of the ratio of protein energy to total energy in the feed on the activity of protein synthesis *in vitro*, the level of ribosomal RNA and the RNA-DNA ratio in white thunk muscle of atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp Biochem. Physiol.* 77(3): 489-494),

LOUGHNA, P. T. & G GOLDSPINK. 1984. The effect of starvation upon protein turnover in red and white myotomal muscle of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 25: 223-230)

MALLOY, K. D. & T. E. TARGETT. 1994. The use of RNA:DNA ratios to predict growth limitation of juvenile summer flounder (*Paralicthys dentatus*) from Delaware and North Carolina estuaries. *Mar. Biol.* 118: 367-375.

MATHERS, E. M., D. F. HOULIHAN, & M. J. CUNNINGHAM. 1992. Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe *Pollachius virens*: growth-rate estimates of open-sea fish. *Mar. Biol.* 112: 363-369.

MATHERS, E. M., D. F. HOULIHAN, I. D. MCCARTHY & L. J. BURREN. 1993. Rates of growth and protein synthesis correlated with nucleic acid content in fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effect of age and temperature. *J. Fish Biol.* 43: 245-263.

MIGLAVS, I. & M. JOBLING. 1989. Effect of feeding regime on food consumption, growth rates and tissue nucleic acids in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, with particular respect to compensatory growth. *J. Fish Biol.* 34: 947-957.

MILLWARD, D. J. 1989. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquacult.* 79: 1-28.

MUSTAFA, S. & A. MITTAL. 1982. Protein, RNA and DNA values in liver and brain of starved catfish, *Clarias batrachus, Jap. J. Ichtyiol.* 28: 396-400.

RAAE, A.J., I. OPSTAD, P. KVSENTH & B. TH. WALTER. 1988. RNA, DNA and protein during early development in feeding and starved cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Aquacult.* 73: 247-259.

SEGNINI DE B., M. I., K.S. CHUNG & M. LEMUS. 1996. Feeding effects on RNA/DNA ratio in juveniles of *Oreochromis mossambicus*. *Crangon (Mar. Biol. Center, Gdynia, Poland)* 1: 87-90

SEGNINI DE B., M. I. & K.S. CHUNG. 1996. Feeding effects on RNA/DNA ratio in juveniles of corocoro *grunt (Orthopristis ruber)*. "Gutshop 96". Feeding Ecology and nutrition in Fish. Simp. *Proc.* San Francisco State Univ., USA. (D. MacKinlay & K. Shearer, eds.). pp. 195-200.