

Effects of dietary protein level on growth and serum parameters in cachama (*Piaractus brachypomus*)^a

*Efecto del nivel de proteína dietaria sobre el crecimiento y parámetros séricos en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)*

*Efeito do nível de proteína da dieta sobre o crescimento e parâmetros séricos em pirapitinga (*Piaractus brachypomus*)*

Wálter Vásquez-Torres^{1*}, Biol, PhD; Gilma Hernández-Arévalo¹, MVZ, MSc; Mariana C Gutiérrez-Espinosa¹, Zoot, MSc; Martha I Yossa¹, Zoot, PhD.

¹ Profesores Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Sede Barcelona, km 12 vía Puerto López, Villavicencio, Meta, Colombia.

Grupos IALL y GRANAC, Universidad de Los Llanos.

(Recibido: 1 abril, 2011; aceptado: 3 marzo, 2012)

Summary

Blood chemistry parameters are valid and useful indicators to determine the nutritional status and health of farmed fish. These parameters allow establishing normal health, detecting physiological disorders and providing information for diagnosis and prognosis of diseases caused by nutritional and environmental factors. **Objective:** to analyze the growth and changes in biochemical parameters in plasma of juvenile tambaqui (*Piaractus brachypomus*) fed two protein levels. **Methods:** fish were fed diets with 24 and 34% of digestible protein. Experiments were conducted in laboratory tanks, dam cages, and earthen ponds to evaluate weight gain (WG), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER), as well as serum variables such as glucose, total protein, cholesterol, triglycerides, and urea. Fish were sampled at the beginning and end of the experiments for determining body weight and to draw blood samples. In experiments 2 and 3 fish were monthly sampled for four months (three animals per replicate). **Results:** no differences were found between treatments ($p>0.05$) for GP and SGR. The PER values in laboratory tanks and cages showed inverse linear correlation with respect to protein level ($p<0.05$). Serum levels were similar between treatments ($p>0.05$), except cholesterol and urea in the laboratory. The observed initial values differed from those obtained during the course of the experiments ($p<0.05$), except for protein in experiments 2 and 3, and glucose in experiment 3. **Conclusions:** due to the fact that this study was conducted in laboratory and field under normal handling conditions, using animals of different sizes and

□ Para citar este artículo: Vásquez-Torres W, Hernández-Arévalo G, Gutiérrez-Espinosa MC, Yossa MI. Efecto del nivel de proteína dietaria sobre el crecimiento y parámetros séricos en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25:450-461.

* Autor para correspondencia: Wálter Vásquez-Torres. Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Sede Barcelona, km 12 vía Puerto López, Villavicencio, Meta, Colombia. Correo electrónico: wvasquez@unal.edu.co

sampling a large number of individuals, allows establishing blood parameters that can be suggested as reference values for this species.

Key words: blood chemistry, cholesterol, fish, glucose, triglycerides, urea.

Resumen

Los parámetros de química sanguínea son indicadores válidos y útiles para determinar el estado nutricional y de salud de peces cultivados. Dichos parámetros permiten establecer condiciones normales de salud, detectar desórdenes fisiológicos y proveer información para diagnóstico y pronóstico de enfermedades causadas por factores nutricionales, ambientales y sanitarios. **Objetivo:** analizar el crecimiento y variación de los parámetros bioquímicos en plasma de juveniles de cachama (*Piaractus brachypomus*) alimentados con dos niveles de proteína. **Métodos:** se suministraron dietas de 24 y 34% de proteína digestible en experimentos realizados en laboratorio, jaulas y estanques en tierra para evaluar ganancia de peso (GP), tasa específica de crecimiento (SGR), eficiencia de uso de la proteína (PER), así como las variables séricas glucosa, proteínas totales, colesterol, triglicéridos y úrea. Al inicio y al final de los experimentos se tomaron muestras de peces para determinación del peso y para extraer sangre para los análisis. En los experimentos 2 y 3 se realizaron muestreos mensuales durante cuatro meses (tres animales por repetición). **Resultados:** no se observaron diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$) para GP y SGR. Los valores de PER en jaulas y laboratorio mostraron correlación lineal inversa con relación al nivel de proteína ($p < 0.05$). Los niveles séricos fueron similares entre tratamientos ($p > 0.05$), excepto colesterol y úrea en laboratorio. Los valores observados al inicio difirieron de los observados durante el desarrollo de los experimentos ($p < 0.05$), excepto para proteína en los experimentos 2 y 3 y glucosa en el 3. **Conclusiones:** el hecho de haber realizado este estudio en laboratorio y en campo, bajo condiciones habituales de manejo, con animales de tamaños diferentes en cada experimento y a partir de un gran número de individuos muestreados, permitió hallar niveles de parámetros sanguíneos que se sugieren como valores de referencia para esta especie.

Palabras clave: colesterol, glucosa, peces, química sanguínea, triglicéridos, úrea.

Resumo

Os valores dos parâmetros da química sanguínea são indicadores válidos e úteis na determinação do estado nutricional e de saúde de peixes cultivados, os quais permitem estabelecer suas condições normais além de facilitar a detecção de doenças e distúrbios fisiológicos, e prover informações para diagnóstico e prognóstico de doenças causadas por fatores nutricionais, ambientais e sanitários. **Objetivo:** analisar o crescimento e a variação dos parâmetros bioquímicos em plasma de peixes juvenis de Pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) alimentados com dois níveis de proteína na dieta. **Métodos:** ministraram-se dietas com conteúdo de proteína digestível entre 24 e 34% em testes feitos em três condições: laboratório, gaiolas e viveiros (experimento 1, 2 e 3, respectivamente). Foram avaliados os parâmetros: ganho de peso (GP), taxa específica de crescimento (SGR) e eficiência de uso da proteína (PER); e as variáveis séricas: glicose, proteínas totais, colesterol, triglicérides e ureia. No início e no final dos testes foram tomadas amostras de peixes para determinação do peso e para a extração de sangue para os análises. Nos experimentos 2 e 3 foram realizadas amostragens mensais durante quatro meses (três animais por repetição). **Resultados:** quanto ao GP e SGR, não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0.05$), porém, os dados de PER em gaiolas e laboratório mostraram uma correlação lineal inversa com relação ao nível de proteína ($p < 0.05$). Os níveis séricos, exceto colesterol e ureia em ambiente de laboratório, não foram diferentes entre tratamentos. As diferenças entre os valores séricos observados ao início e ao final dos testes foram significativos ($p < 0.05$), exceto para proteína nos experimentos 2 e 3 e glicose no experimento 3. **Conclusões:** o fato de ter realizado este estudo em laboratório e em campo, em condições habituais de manejo, com peixes de tamanhos diferentes em cada experimento e utilizando um grande número de animais amostrados, permite apontar dados que são propostos como valores de referência de metabólitos sanguíneos para esta espécie.

Palavras chave: colesterol, glicose, peixes, química sanguínea, triglicérides, ureia.

Introducción

La acuicultura mundial alcanzó una producción cercana a 51.7 millones de TM en el 2008 de los cuales más de 33 millones correspondieron a peces (FAO, 2009); estas cifras justifican la necesidad de investigar, entre otros aspectos, el desempeño fisiológico de animales en confinamiento.

De acuerdo con Tabares-Dias & Moares (2007), la medición de variables sanguíneas permite detectar alteraciones fisiológicas y provee información que puede ser utilizada para diagnóstico y pronóstico de enfermedades en peces cultivados. Por esta razón, los procedimientos de evaluación hematológica gradualmente vienen siendo considerados una práctica rutinaria para determinar el estado de salud de peces criados bajo diferentes condiciones de cultivo. La hematología permite conocer detalles del equilibrio metabólico de peces en relación a condiciones de cultivo (Chena et al., 2003; Pavlidis et al., 2007).

Los valores de química sanguínea son considerados indicadores válidos en la determinación del estado nutricional (Abimorad et al., 2007) y de salud de peces cultivados (Barcellos et al., 2003; Bittencourt et al., 2003); permiten determinar condiciones normales, detectar desórdenes fisiológicos y enfermedades causadas por factores diversos (Tabares-Dias y Mataquero, 2004); la evaluación comparativa de parámetros de química sanguínea depende de la disponibilidad de valores de referencia "normales" para cada especie (Manera y Britti, 2006; Tavares-Dias y Moraes, 2007). Las variables plasmáticas más estudiadas en peces son glucosa, proteínas, triglicéridos, colesterol y úrea (Bittencourt et al., 2003; Atencio-García et al., 2007; Bicudo et al., 2009), minerales como Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca²⁺, P⁺, Mg⁺ y enzimas (Cataldi et al., 1998; Congleton and Wagner, 2006); los valores detectados son semejantes a los observados en mamíferos, con excepción de la proteína que oscila entre 3.8 y 5.6 mg/dL (Barcellos et al., 2003; Bittencourt et al., 2003), comparada con 7.5 mg/dL, valor promedio en perros, gatos, ratas y ovejas (González et al., 2001; Schneider et al., 2008).

La dieta es un factor que puede influir los parámetros séricos como ha sido demostrado en diversas especies como la Carpa (*Cyprinus carpio*) (Friedrich y Stepanowska, 1999), Bagre Americano (*Rhamdia quelen*) (Melo et al., 2006), Trucha (*Salmo gairdneri*) y Salmón del Atlántico (*Salmo salar*) (Hemre et al. 2007); aunque para los carácidos neotropicales como el Pacú (*Piaractus mesopotamicus*) y Tambaqui (*Colossoma macropomum*), hay estudios que analizan efectos de la dieta sobre parámetros de química sanguínea, para la Pirapitinga o Cachama (*Piaractus brachypomus*) del mismo grupo y que es la especie nativa más cultivada en Colombia (CCI, 2011), no existen tales; sólo se hallaron en la literatura dos trabajos sobre hematología en juveniles (Eslava y Hernández, 1995; Tocidowski et al., 1997) y uno sobre determinación de valores de parámetros de química sanguínea en alevinos criados bajo condiciones controladas de laboratorio como peces ornamentales (Sakamoto et al., 2001). De esta manera, con el interés de ampliar conocimientos sobre este tema en especies nativas, la presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar parámetros de química sanguínea y de crecimiento de juveniles de Cachama (*Piaractus brachypomus*) alimentados con dietas conteniendo diferentes niveles de proteína bajo condiciones de cultivo en laboratorio, en estanques y en jaulas.

Materiales y métodos

Animales y sistema experimental

Se utilizaron juveniles de Cachama Blanca (*P. brachypomus*) obtenidos por reproducción inducida en la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos; se realizaron tres experimentos: el experimento 1, bajo condiciones controladas de laboratorio en el IALL, utilizando una batería de 12 tanques de 500 L (tres tratamientos con cuatro repeticiones), cada uno con 15 peces de 21 g de peso inicial; se empleó un sistema controlado de recirculación de agua a través de un filtro biológico para eliminar amonio; se usaron difusores de aire ubicados en los tanques y en el filtro para garantizar niveles de oxígeno superiores a 60% de saturación; la calidad del agua se monitoreó una vez por semana y los valores observados fueron: temperatura 25.4 ± 0.5 °C, pH

6.5 ± 0.3 , oxígeno disuelto 5.5 ± 0.9 mg/l, nitritos y nitratos <0.01 mg/l y amonio 0.17 ± 0.11 mg/l.

En el experimento 2 se utilizaron nueve jaulas flotantes de 2.0 m^3 ubicadas en una represa de aproximadamente 25000 m^2 localizada en el Bioparque los Ocarros, cerca a la ciudad de Villavicencio (Meta); en cada jaula se colocaron 200 juveniles de 29 g de peso inicial. Las características de calidad de agua de la represa, promedio de cinco monitoreos realizados durante el experimento fueron: temperatura 24.8 ± 0.28 °C, pH 5.41 ± 0.4 , oxígeno 5.78 ± 0.3 mg/l, nitritos 0.03 ± 0.02 mg/l y amonio <0.01 mg/l.

El experimento 3 se realizó en un granja comercial -Piscicola Yavir, localizada a 5 km de la ciudad de Villanueva (Casanare); se utilizaron nueve estanques en tierra de 2000 m^2 que tenían recambio de agua constante a una tasa de aproximadamente 5 l/s, cada uno con 4000 peces de 65 g de peso medio inicial; los valores promedio de cinco muestreos de calidad de agua realizados durante el tiempo de cultivo fueron: temperatura 30.3 ± 1.0 °C, pH 6.9 ± 0.4 , oxígeno 5.5 ± 0.5 mg/l, nitritos 0.14 ± 0.03 mg/l y amonio 0.08 ± 0.03 mg/l.

Dietas experimentales

Durante cuatro semanas previas al inicio de los experimentos, los lotes de animales seleccionados fueron alimentados con ración comercial de 28% de proteína bruta (PB). Las dietas experimentales

se formularon para contener diferentes niveles de proteína digestible (PD) (Tabla 1); el balanceo de nutrientes se hizo utilizando los Coeficientes de Digestibilidad Aparente (CDA) de materias primas de uso común en la industria de las raciones para peces determinados para la cachama blanca por Vásquez-Torres *et al.* (2011a). En el experimento 1 las dietas D1, D2 y D3 se formularon para contener 24, 30 y 34% de PD, respectivamente y fueron fabricadas utilizando micro-extrusora de laboratorio (EXTECC®, Riberão Preto, Brasil); las dietas D4, D5 y D6 para los experimentos 2 y 3, se formularon con 26, 30 y 34% de PD, respectivamente; en razón a la alta cantidad requerida en estos dos experimentos, estas formulaciones fueron manufacturadas por una empresa comercial de alimentos para peces.

El criterio para la determinación de los niveles de proteína en las dietas experimentales fue utilizar niveles acordes a los de las raciones que se comercializan en el país. En los tres experimentos se suministró alimento dos veces al día hasta aparente saciedad, durante 60 días en el experimento 1 y durante 120 días en los experimentos 2 y 3; el día anterior a los muestreos los peces no se alimentaron. Los análisis de composición proximal fueron realizados en el Laboratorio Experimental de Alimentación y Nutrición de Peces del IALL-Unillanos utilizando metodologías estándar descritas por la AOAC (1995). La energía fue determinada en bomba calorimétrica adiabática (PARR 121 EA, USA).

Tabla 1. Composición de ingredientes y análisis proximal de las dietas experimentales.

Ingredientes	Tratamientos					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Torta de soya (42.1% PD)	30	30	30	30	30	30
Harina de trigo de tercera (8.5% PD)	25	25	25	25	25	25
Harina de arroz (9.3% PD)	15	14.2	13	15	10.55	6.87
Soya integral nacional (29.2% PD)	1	0	1	1	1	1
Yuca seca integral (4.5% PD)	12	12	6.9	12	12	12
Trigo duro (10.5% PD)	4.5	3.1	1	11.9	5.6	1
Gluten de maíz (48.9% PD)	4.5	10.2	18.6	0	7	15
Harina de Carne (34.6% PD)	5.1	1.2	1	1	1.71	1
Harina de Pescado (49.6% PD)	1	1	2	3	4	5
Harina de sangre (54.5% PD)	1.7	3.1	1.4	1	3	3
Premix vitaminas	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Premix minerales	0.035	0.035	0.035	0.04	0.035	0.035
<i>Composición proximal analizada</i>						
Materia seca	93.9	92.7	92.9	87.9	89.0	88.6
Proteína Bruta (% de MS)	30.0	32.4	36.5	27.7	33.3	36.3
Extracto Etéreo (% de MS)	4.05	3.25	3.30	3.1	2.5	2.3
Cenizas (% de MS)	6.10	5.80	5.81	5.5	5.7	5.1
Energía Bruta (kcal/kg)	4538	4647	4639	4425	4445	4572

Muestreos, colecta y procesamiento de muestras

En los tres experimentos, un día antes del pesaje y siembra de peces en las unidades experimentales, fueron colectadas muestras de sangre a partir de los lotes iniciales, 12 animales en el experimento en laboratorio y 20 en cada uno de los experimentos de campo. En el experimento bajo condiciones controladas, se realizó un único muestreo al finalizar el experimento a los 60 días, mientras que en los experimentos en campo se realizaron muestreos cada 30 días durante cuatro meses.

En las jaulas y los estanques se pescaron entre 40 y 50 peces de cada repetición utilizando redes de pesca; para minimizar efectos estresantes que pudieran afectar los valores de los parámetros sanguíneos en estudio, antes del pesaje se separaron tres peces de cada repetición los cuales fueron anestesiados por inmersión en una solución de Eugenol al 85% (Laboratorios EUFAR); la sangre fue extraída de la vena caudal utilizando jeringas heparinizadas e inmediatamente centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos; el plasma fue depositado en tubos Eppendorf bajo condiciones de refrigeración y rápidamente transportados al laboratorio; las determinaciones de contenido de glucosa (GLU), proteínas totales (PT), colesterol (CLT), triglicéridos (TGC) y úrea (UR) fueron hechas utilizando método colorimétrico con kits comerciales (BYOSYSTEM®) y espectrofotómetro SPECTRONIC® Genesys 20 a longitudes de onda que variaron según especificaciones de la casa comercial fabricante de los kits.

Análisis estadístico

Los valores de los parámetros analizados se presentan como la media \pm DE de tres repeticiones por tratamiento. Para determinar la significancia de los efectos de las dietas sobre la ganancia de peso (GP), la tasa específica de crecimiento (SGR) y la tasa de eficiencia proteica (PER) fue realizado análisis de varianza y para los casos de diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$) el test de Tukey para comparación de medias ($p < 0.05$). Igual procedimiento se utilizó para analizar los efectos sobre los parámetros de química sanguínea. La significancia de las diferencias entre los valores de

los parámetros de química sanguínea iniciales con respecto a los observados por efecto de cada una de las dietas, fue determinada usando t-student y el test de Bonferroni ($p < 0.05$); el promedio, el rango de variación y el coeficiente de variación (CV%) de cada parámetro fue calculado tomando la totalidad de los datos colectados en cada experimento. Todos los análisis fueron realizados utilizando Systat for Windows (ver. 10.2).

Resultados

Los resultados de desempeño de crecimiento se resumen en la tabla 2. Las diferencias entre los valores de los parámetros peso final y tasa específica de crecimiento (SGR), no fueron significativas ($p > 0.05$); en los experimentos en laboratorio y en jaulas los valores del PER mostraron que en la medida que la proteína aumentó en las raciones, la eficiencia de aprovechamiento se redujo significativamente ($p < 0.05$). La sobrevivencia durante el periodo experimental en el ensayo bajo condiciones controladas fue de 100%. En las jaulas y estanques, aunque hubo pérdida de animales por tratarse de cultivos comerciales, fueron consideradas normales y en ningún caso debidas a problemas de deficiencias nutricionales o a problemas de enfermedades.

Los valores de los parámetros de química sanguínea se presentan en la tabla 3. En el experimento 1 (laboratorio), se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, únicamente sobre los parámetros CLT y UR ($p < 0.05$), con una tendencia de incremento en los niveles de GLU y PT con el aumento de los niveles de PD en la dieta, y reducción en los niveles de TGC, pero en ambos casos la diferencia no fue significativa ($p > 0.05$). En los experimentos realizados en ambientes abiertos (jaulas y estanques) no se hallaron diferencias significativas entre tratamientos. El análisis estadístico de las diferencias entre los valores observados antes de iniciar los experimentos y los observados por efecto de cada una de las dietas, mostraron significancia estadística ($p < 0.05$), excepto para la proteína en los experimentos 2 y 3 y GLU en el experimento 3.

Tabla 2. Peso final, tasa específica de crecimiento (SGR) y eficiencia de utilización de proteína (PER) de cachamas alimentadas con las diferentes dietas experimentales (D1- D6).

Ambiente	Parámetros		Tratamientos [†]			p
			D1	D2	D3	
Laboratorio (Exp. 1)	Peso (g)	Inicial	21.0	21.0	21.0	
		Final	48.0 ± 9.00	49.0 ± 9.0	51.0 ± 9.0	p>0.05
	SGR	1.70 ± 0.20	1.74 ± 0.23	1.82 ± 0.15	p>0.05	
	PER	2.37 ± 0.16 ^{ab}	2.17 ± 0.11 ^{bc}	1.99 ± 0.16 ^{cd}	p<0.05	
Jaulas (Exp. 2)	Peso (g)	Inicial	29.0	29.0	29.0	
		Final	180.7 ± 20.0	176.5 ± 25.6	190.7 ± 51.3	p>0.05
	SGR	1.4 ± 0.07	1.38 ± 0.10	1.46 ± 0.18	p>0.05	
	PER	0.43 ± 0.05 ^a	0.26 ± 0.04 ^b	0.33 ± 0.08 ^b	p<0.05	
Estanques (Exp. 3)	Peso (g)	Inicial	65.0	65.0	65.0	
		Final	344.0 ± 66.5	484.0 ± 28.5	396.5 ± 129.4	p>0.05
	SGR	1.66 ± 0.38	1.33 ± 0.32	1.70 ± 0.57	p>0.05	
	PER	DND *	DND	DND		

[†] Los valores representan la media ± DE de cuatro repeticiones por tratamiento en el experimento 1 y tres repeticiones en los experimentos 2 y 3. Valores en la misma línea con superíndices diferentes representan diferencias estadísticas significativas (p<0.05). * Datos no disponibles.

Tabla 3. Parámetros de química sanguínea en juveniles de cachama antes y después de alimentación con dietas experimentales.

Ambiente	Parámetros	Inicial	Tratamientos [†]			Significancia de las diferencias		
			D1	D2	D3	Ini-D1	Ini-D2	Ini-D3
Laboratorio	GLU (mg/dl)	32.0 ± 58	89.7 ± 51.5	93.4 ± 10.5	103 ± 22.5	*	*	**
	PT (g/dl)	2.63 ± 0.3	2.92 ± 0.2	2.88 ± 0.2	3.08 ± 0.25	*	*	**
	CLT (mg/dl)	121 ± 25	119 ± 28 ^a	88.9 ± 18 ^b	102.7 ± 14 ^{ab}	NS	**	*
	TGC (mg/dl)	187 ± 29	158 ± 24	155.3 ± 32	153.2 ± 13	*	*	**
	UR (mg/dl)	3.4 ± 1.0	4.5 ± 2.2 ^a	1.0 ± 0.6 ^b	1.6 ± 1.6 ^b	NS	**	*
Jaulas	GLU (mg/dl)	170.5 ± 34	85.7 ± 19	80.4 ± 25	75 ± 20.3	**	**	**
	PT (g/dl)	2.89 ± 0.4	2.69 ± 0.4	2.71 ± 0.4	2.65 ± 0.35	NS	NS	NS
	CLT (mg/dl)	201 ± 44	121.6 ± 36	123.8 ± 28	120 ± 29	**	**	**
	TGC (mg/dl)	146 ± 17	228 ± 83	200 ± 91	184.5 ± 86	**	*	NS
	UR (mg/dl)	5.0 ± 0.9	3.5 ± 1.3	4.1 ± 1.7	3.3 ± 1.7	**	NS	**
Estanques	GLU (mg/dl)	114.0 ± 34	112 ± 38.7	96.5 ± 32	107 ± 37.7	NS	NS	NS
	PT (g/dl)	2.66 ± 0.3	2.74 ± 0.65	2.85 ± 0.5	2.72 ± 0.5	NS	NS	NS
	CLT (mg/dl)	197 ± 40	128.6 ± 50	128 ± 33.5	105 ± 31	**	**	**
	TGC (mg/dl)	240 ± 84	187.4 ± 104	224 ± 96	160.4 ± 67	NS	NS	**
	UR (mg/dl)	1.3 ± 0.9	4.7 ± 2.0	4.1 ± 1.5	4.2 ± 1.9	**	**	**

[†] Los valores representan la media ± DE de cuatro repeticiones por tratamiento en el experimento 1 y tres repeticiones en los experimentos 2 y 3. Valores en la misma línea con superíndices diferentes representan diferencias estadísticas significativas (p<0.05).

* Diferencias significativas (p<0.05); ** Diferencias altamente significativas (p<0.01); NS=diferencias No Significativas.

Tabla 4. Parámetros de química sanguínea en juveniles de Cachama Blanca según el ambiente de cultivo y para toda la población muestreada, al inicio y durante el periodo experimental.

Parámetros	Laboratorio	Jaulas	Estanques	Todos los tratamientos	
GLU (mg/dl)	Media ± DE	94.1 ± 35	89.5 ± 35.5	106 ± 36.7	97.7 ± 36.4
	Rango (IC 95%)*	86.4 -101.7	82 - 97	99.5 - 112.6	93.5 - 101.9
	CV%	37.0	38.7	34.6	37.3
	N	83.0	89	124	295
PT (g/dl)	Media ± DE	2.86 ± 0.66	2.71 ± 0.38	2.82 ± 0.85	2.78 ± 0.62
	Rango (IC 95%)	2.72- 3.01	2.62 - 2.79	2.67 - 2.97	2.71 - 2.84
	CV%	23.2	14.1	30.2	22.2
	N	83	88	124	295
CLT (mg/dl)	Media ± DE	100.3 ±25	129.7 ± 40.2	135.6 ± 50.5	123.8 ± 44.1
	Rango (IC 95%)	94.9 - 105-7	121.1 - 138.2	126.7 - 144.7	118.7-128.8
	CV%	24.7	31.0	37.2	35.6
	N	83	88	124	295
TGC (mg/dl)	Media ± DE	158.7 ± 32	198.4 ± 84	209.6 ± 118	192.2 ± 92.6
	Rango (IC 95%)	151.7 - 165.7	180.5 - 216.3	188.4 - 230.9	181.6 - 202.9
	CV%	20.2	42.0	56.5	48.1
	N	83	88	122	293
UR (mg/dl)	Media ± DE	3.07 ± 1.97	3.77 ± 1.58	3.94 ± 2.22	3.63 ± 2.0
	Rango (IC 95%)	2.64 - 3.50	3.43 - 4.11	3.55 - 4.35	3.4 - 3.9
	CV%	63.9	42.0	56.2	55.3
	N	82	93	120	285

* CI% = Intervalo de confianza 95%, valores mínimo y máximo; CV% = Coeficiente de variación; N = número de animales muestreados.

En la tabla 4 se presentan los promedios de los cinco parámetros séricos analizados en cada ambiente, calculados tomando en cuenta todos los datos obtenidos; la magnitud de las variaciones fue pequeña para todos los parámetros estudiados y se observó una gran similitud en las medias y en el rango de variación de proteínas, GLU y UR entre experimentos. La mayor amplitud de variación de los parámetros proteína, CLT y TGC, se observó en los animales cultivados en estanques y la menor, en los alimentados en laboratorio.

Discusión

Crecimiento

La Cachama Blanca (*P. brachypomus*), igual que el Pacú (*P. mesopotamicus*) y el Tambaqui (*C. macropomum*) son peces de hábito típicamente omnívoro, con tendencia al consumo de frutas, semillas y hojas (Araujo-Lima y Goulding, 1997). En condiciones de cautiverio aceptan muy bien dietas artificiales y en el caso de Cachama, raciones con bajos niveles de proteína (Vásquez-Torres, 2005). Gutiérrez et al. (1996) determinaron que el

requerimiento mínimo de proteína en dietas para crecimiento de este pez era de 29.8%, sin embargo Vásquez-Torres et al. (2011b) demostró que para alcanzar máximo crecimiento esta especie requería 31.6% de PB y que el suministro de dietas con niveles superiores a 31.6% no mejoraban la GP y causaban además, reducción significativa en los valores de SGR, PER, tasas de retención de proteína y conversión de alimento.

En trabajos realizados con Pacú (*P. mesopotamicus*), Bicudo et al. (2009) observaron que el aumento del nivel de proteína de 22.0 a 27.1% causaba un significativo incremento en la GP y que con niveles superiores, hasta 38%, no se lograban mayores incrementos; estos investigadores concluyeron que 27.1% era el nivel de PB recomendado para el pacú; en este mismo contexto Fernandes et al. (2000), quienes utilizaron dietas con contenidos de 22 a 30% PB, concluyeron que 26% era suficiente para atender las exigencias y proporcionar buen desempeño a juveniles de pacú; en estos dos trabajos los valores de SGR siguieron la misma tendencia de la ganancia de peso y el PER presentó una correlación lineal inversa. Tales resultados fueron similares a los obtenidos en la

actual investigación donde se corroboran los bajos requerimientos proteicos de la cachama ya que 24-26% de PD en las dietas D1 y D4 (equivalentes a 27.7-30.0% de PB, respectivamente), fue suficiente para promover óptimo desempeño de crecimiento de la Cachama en los tres ambientes; con niveles de PD mayores, la GP y SGR no aumentaron significativamente y la eficiencia de uso de la proteína (PER) mostró una correlación lineal negativa; tal comportamiento sugiere que la proteína en las dietas D2 y D3, D5 y D6 excedió sus necesidades para crecimiento y por tal razón, en lugar de ser fijada en los tejidos fue utilizada para generación de energía; este comportamiento fue comparable al observado en las otras dos especies del grupo, Pacú (Bicudo *et al.*, 2009) y Cachama Negra (Vázquez-Vidal Jr. *et al.*, 1998), e igualmente, en otras especies de hábitos alimenticios diferentes como la Trucha (Green y Hardy, 2008), el Perca (Yang *et al.*, 2002) y Bagrid Catfish (Li *et al.*, 2010).

Parámetros bioquímicos en sangre

Jirasek *et al.* (1998) sugiere que en peces los valores de los parámetros bioquímicos en el plasma sanguíneo pueden ser afectados por las características nutricionales de la dieta. En el Experimento 1 se observó que el aumento en la proporción de proteína de las raciones, aparentemente causó, descenso significativo en los niveles de CLT y UR en sangre. En los Experimentos 2 y 3 los valores y la tendencia de variación de los cinco parámetros fue semejante a la observada en el experimento en laboratorio, excepto para CLT y UR, ya que las diferencias entre tratamientos no fueron significativas.

En la literatura son pocos los trabajos conducidos para estudiar los efectos de dietas o de condiciones de cultivo sobre el perfil metabólico en sangre en peces. En carpas adultas Friedrich y Stepanowska (1999) demostraron que diferencias en la proporción de carbohidratos y grasas en la composición de la dieta afectaban significativamente los niveles de GLU y lípidos en sangre. Un trabajo realizado con catfish (*Silurus glanis*) mostró que en reproductores de esta especie la concentración de PT en sangre era significativamente afectada por el nivel de

alimentación, siendo mayor cuanto más alta era la disponibilidad de alimento (Svobodová *et al.*, 1998).

En dos investigaciones diferentes Melo *et al.* (2006) y Vieira *et al.* (2005) analizaron el efecto de dietas con niveles de proteína entre 20 y 41% de PB sobre el perfil metabólico en sangre de juveniles del Bagre Americano (*Rhamdia quelen*) y de Matrinaxã (*Brycon cephalus*), respectivamente; sus resultados fueron similares entre si y mostraron que por efecto del nivel de proteína en la dieta, la concentración de GLU se incrementó y la de TGL se redujo; en forma independiente estos dos trabajos llegaron a una misma conclusión, en la que se sugieren posibles reacomodaciones metabólicas para mantener funcional el proceso de obtención de energía a partir de la proteína, en respuesta a las diferencias en su proporción en las dietas experimentales.

En otro experimento Bicudo *et al.* (2009), estudiaron el efecto de diferentes relaciones proteína/energía de la dieta (niveles de proteína entre 22 y 38%) sobre el crecimiento y sobre el perfil metabólico en alevinos de Pacú y observaron diferencias significativas en las variables de desempeño de crecimiento e igualmente, detectaron un aumento significativo en los niveles séricos de proteínas y reducción de la GLU en la medida que aumentó la proteína y la energía en la dieta. Un resultado similar con respecto a la GLU, también fue observado en *Salvelinus alpinus* donde se utilizaron dietas isoenergéticas con diferentes niveles de proteína, entre 25 y 58% (Cameron *et al.*, 2002). En muchas especies de peces se ha observado una correlación positiva entre nivel de proteína en la dieta y el incremento de la concentración de GLU en el plasma (Kłyszajko y Łyczywek, 1999; Vieira *et al.*, 2005; Abimorad *et al.*, 2007).

Todos estos resultados observados en diferentes especies de peces, permiten afirmar que el consumo de dietas con diferente composición nivel de proteínas y energía, pueden inducir cambios en el perfil metabólico en sangre, cambios que son proporcionales a la magnitud de la variación de estos nutrientes en las dietas experimentales. En esta investigación, solamente en el experimento 1 los niveles de GLU en sangre mostraron una tendencia

de incremento con el aumento de la proteína en las dietas; en general, las diferencias observadas entre tratamientos en los tres experimentos no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$) y esto probablemente se debió a que la magnitud de variación de los contenidos de proteína en las dietas experimentales fue pequeña en torno al promedio del valor estimado para óptimo desempeño de la especie Vásquez-Torres *et al.* (2011b) de 31,6% de PB, e igualmente, porque en la formulación de las raciones de este experimento el aumento en el nivel de proteína fue compensado con la reducción en las fuentes de carbohidratos; algunos investigadores sugieren que cuando hay deficiencia de azúcares en la dieta, los peces logran mantener sus reservas de glucógeno y niveles de GLU en sangre a través del proceso de gluconeogénesis a partir de aminoácidos y TGC (Hemre *et al.*, 1989; Barcellos *et al.*, 2003; Melo *et al.*, 2006).

En esta investigación no se detectaron incrementos significativos en los niveles de PT sérica con el incremento en los niveles de proteína en la dieta, diferente de lo que se ha observado en otras especies (Vieira *et al.*, 2005; Melo *et al.*, 2006; Abimorad *et al.*, 2007; Bicudo *et al.*, 2009). Podría pensarse que la Cachama, por ser un pez omnívoro con exigencias de proteína en la dieta en torno a 32% de PB, fisiológicamente no respondió a incrementos en los niveles de proteína superiores a este nivel de requerimiento; esta observación es compatible con los resultados de ganancia de peso discutidos en líneas anteriores, en donde se demostró que niveles de proteína superiores a 28% en la dieta no mejoraron el desempeño de crecimiento y por el contrario, redujeron significativamente el PER.

La diferencia en la concentración de lípidos en el alimento aparentemente afectó el nivel de CLT plasmático reduciéndolo sensiblemente en los peces alimentados con las dietas que contenían menor cantidad de lípidos, mostrando diferencias que fueron significativas únicamente en el experimento 1. En la bibliografía hay evidencia de que los niveles de CLT y TGC están ligados al metabolismo de los lípidos y dependen del valor calorífico del alimento (Kłyszczko *et al.*, 1999; Regost *et al.*, 2001). Dietas con altos contenidos

de fuentes energéticas no proteicas (lípidos y/o carbohidratos), normalmente causan incremento en los niveles de TGC en sangre y lo contrario cuando estos se reducen (Vieira *et al.*, 2005; Melo *et al.*, 2006; Abimorad *et al.*, 2007). En la actual investigación las dietas D1 y D4 que contenían aproximadamente 20% más lípidos que las demás, dieron como resultado valores de TGC y CLT un poco más altos que los observados en los peces alimentados con las dietas de menor contenido. La tendencia general fue de reducción en la medida en que en las raciones experimentales la proporción de proteína aumentó y la de lípidos disminuyó, pero las diferencias observadas entre tratamientos no fueron significativas en ninguno de los tres experimentos. Estos resultados son comparables con los descritos para pacú (Abimorad *et al.*, 2007; Bicudo *et al.*, 2009), bagre suramericano (Melo *et al.*, 2006), matrinxã (Vieira *et al.*, 2005) y rodaballo (*Psetta* máxima), un pez marino (Regost *et al.*, 2001).

En el experimento 1 se observó que en la medida que la proteína aumentó en las raciones, los niveles de UR en sangre se redujeron significativamente, contrario a lo descrito por Barcellos *et al.* (2003) en Jundiá (*Rhamdia quelen*) y Kłyszczko y Lyczywek (1999) en carpa; un aumento de la concentración de UR en sangre asociado con incrementos en los niveles séricos de PT, generalmente son indicativos de movilización de proteína como sustrato para gluconeogénesis hepática, pero aparentemente en la presente investigación no fue el caso porque en ninguno de los experimentos se observó aumento de la PT sérica en respuesta a los niveles de proteína de las dietas.

La ración comercial de mantenimiento suministrada a los peces antes de los experimentos contenía 28% de PB (aproximadamente 23-24 de PD). Como se observa en la tabla 3, comparando los valores de GLU, CLT y TGC plasmáticos de los peces obtenidos al inicio con los observados después de alimentar con las dietas experimentales, se redujeron significativamente ($p < 0.05$ y $p < 0.01$), excepto en el experimento 1 en donde los valores de GLU fueron muy bajos al inicio, posiblemente debido a que los muestreos se realizaron en peces mantenidos en ambiente confinado después de un periodo de ayuno de aproximadamente 18 horas;

los niveles de PT mostraron una tendencia contraria, es decir de aumento, que fue significativa solamente en el experimento 1. De acuerdo con lo discutido en párrafos anteriores, la dieta comercial con bajo perfil nutricional, sería responsable de los bajos valores de proteína y altos niveles de GLU, TGC y CLT plasmáticos en los peces antes de iniciar los experimentos. Con las dietas experimentales la concentración de estos metabolitos cambió, posiblemente a niveles aparentemente normales descritos en la tabla 3.

Pese a que los peces herbívoros y omnívoros como la cachama blanca, tienen alta capacidad para regular la GLU, la fuente de carbohidratos en la dieta, el nivel de inclusión y el balance entre macronutrientes, influyen en alto grado sobre su metabolismo. De acuerdo con Friedrich y Stepanowska (1999), los TGC en sangre también aumentan por efecto de dietas ricas en carbohidratos y esto se debe a que la insulina secretada estimula el ciclo de las pentosas que provee precursores para la síntesis de ácidos grasos. Cameron *et al.* (2002) alimentó juveniles de *Salvelinus alpinus* con dietas isocalóricas que contenían igual proporción de carbohidratos y diferentes niveles de proteína observando que la GLU en sangre se reducía en la medida que la proteína aumentaba, concluyendo que dado que el nivel de carbohidratos era igual en todas las dietas, la reducción en los niveles de GLU en el plasma no estaba significativamente correlacionada con el nivel de carbohidratos en la dieta y si con

el nivel de proteína. Los resultados de este trabajo coinciden con los observados en Pacú (Abimorad *et al.*, 2007) y fueron opuestos a lo sugerido por Friedrich y Stepanowska (1999), puesto que los mayores niveles de GLU en sangre se observaron en la etapa pre-experimental; después de suministrar las dietas experimentales, que tenían menor contenido de carbohidratos, los niveles de GLU en sangre se redujeron. Como lo señalan Friedrich y Stepanowska (1999), el mecanismo de regulación de la GLU en sangre en peces es complejo y aún no ha sido completamente explicado. Con respecto a los niveles de triglicéridos, se observó que son coincidentes con los resultados de otros investigadores (Vieira *et al.*, 2005; Melo *et al.*, 2006; Abimorad *et al.*, 2007); fueron altos en los peces alimentados con dietas ricas en carbohidratos antes de los experimentos y luego, cuando su concentración disminuyó y aumentó la proteína en las dietas experimentales, se redujeron.

La información colectada en los tres experimentos fue tabulada para calcular la Media \pm DE, el rango de variación con un intervalo de confianza del 95% y el coeficiente de variación en porcentaje de cada variable y para cada uno de los ambientes de cultivo estudiados (Tabla 4). Estos resultados, comparados con los observados para su congénere, el Pacú y otras especies, muestran que los valores observados están dentro de rangos descritos en la literatura para peces de agua dulce (Tabla 5).

Tabla 5. Valores promedio de parámetros químicos de sangre observados en diferentes especies de peces de agua dulce.

Especie	GLU (mg/dl)	PT (g/dl)	CLT (mg/dl)	TGC (mg/dl)	UR (mg/dl)	Referencia
<i>P. brachyomus</i>	97.7	2.8	123.8	192.2	3.6	Actual
<i>P. mesopotamicus</i>	72.2	5.5		135.5		Bicudo <i>et al.</i> (2009)
	78.6					Svobodová <i>et al.</i> (1998)
	76.4					Tavares-Días <i>et al.</i> (1999)
	78.6	4.1	526.0			Abimorad <i>et al.</i> (2007)
<i>Rhandia quelen</i>	47.2	5.6	220.2		3.3	Barcellos <i>et al.</i> (2003)
<i>Cyprinus carpio</i>	71.5		150.7	165.3		Friedrich y Stepanowska (1999)
	155.6	4.1	282.5		4.2	Kłyszajko y Lyczywek (1999)
<i>Salminus affinis</i>	128.9	3.8	277.8	192.0		Atencio-García <i>et al.</i> (2007)
<i>Silurus glanis</i>		3.0				Jirasek <i>et al.</i> (1998)
<i>Oreochromis niloticus</i>	60.3	3.1				Bittencourt <i>et al.</i> (2003)
<i>Ictalurus punctatus</i>	35.1	4.2				Tavares-Días y Moraes (2007)
<i>Brycon cephalus</i>	60.4					Tavares-Días <i>et al.</i> (1999)
	8.5*			174.5		Vieira <i>et al.</i> (2005)

* μ mol/ml

Los resultados de este estudio, que fue realizado bajo condiciones de laboratorio y de campo en jaulas y en estanques, con juveniles sanos, de tamaños diferentes y realizando muestreos mensuales durante un periodo de cuatro meses, permitieron calcular valores promedio \pm DE, rango de variación (IC 95%) y Coeficiente de Variación (CV%) de cada parámetro analizado utilizando muestras entre 285 y 295 individuos (N). Por esta razón, consideramos que mientras no se reporten en la literatura otras investigaciones que le aporten al tema, los valores hallados podrían ser utilizados como valores de referencia para la especie.

Los resultados observados en esta investigación, así como los descritos en la literatura para diversas especies de peces, muestran que la composición del alimento afecta los valores de los parámetros bioquímicos en sangre en grado variable en función de la magnitud de variación en las proporciones de los nutrientes que componen la dieta. En ausencia de otros reportes en la literatura sobre este tema para Cachama y, hasta tanto no se desvirtúen los hallazgos de esta investigación con nuevas investigaciones, se propone asumir como valores referencia de parámetros bioquímicos normales en sangre de la Cachama Blanca, los valores obtenidos en el presente estudio.

Agradecimientos

Al Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos -IALL y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por la cofinanciación del proyecto a través del convenio 018-05 IICA/Unillanos. A las empresas comerciales ITALCOL por el suministro de materias primas y la fabricación de las dietas experimentales; al personal administrativo del Bioparque los Ocarros en Villavicencio y a Acuicultura Yavir en Villanueva (Casanare) quienes facilitaron las instalaciones para la realización de los experimentos.

Referencias

Abimorad EG, Carneiro D, Urbinati EC. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquac Res* 2007; 38:36-44.

AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis. 16th ed. AOAC. Ed. S. Willians. 16th ed. Arlington, Virginia; 1995.

Araujo-Lima C, Goulding M. So fruit a fish: Ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. *Biology and Resource Management in the Tropic*. New York: Columbia University Press; 1997.

Atencio-García V, López FG, Mendoza DM, Carrasco SP. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio (*Salminus affinis* Pisces: Characidae) del río Sinú. *Acta Biol Col* 2007; 12 S:27-40.

Barcellos LJG, Kreutz LC, Rodrigues LB, Fioreze I, Quevedo R, Cericato L, Conrad J, Soso AB, Fagundes M, Lacerda LDA, Silvia Terra. Haematological and biochemical characteristics of male Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy & Gaimard Pimelodidae): changes after acute stress. *Aquacult Res* 2003; 34:1465-1469.

Bicudo AJdA, Sado R, Cyrino JEP. Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquacult Res* 2009; 40:486-495.

Bittencourt NdLR, Molinari LM, Scoaris DdO, Pedroso RB, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T, Filho BAdA, Filho BPD. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Sci Biol Sci* 2003; 25:385-389.

Cameron C, Gurure R, Reddy K, Moccia R, Leatherland J. Correlation between dietary lipid:protein ratios and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile arctic charr, *Salvelinus alpinus* (Linnaeus). *Aquacult Res* 2002; 33:383-394.

Cataldi E, Marco PD, Mandich A, Cataudella S. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Comp Biochem Physiol Part A* 1998; 121:351-354.

CCI, 2011. Pesca y Acuicultura Colombia. Informe Técnico Regional Cuencas del Orinoco y Amazonas. Corporación Colombia Internacional/ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Bogotá, 2010; 94 p.

Congleton JL, Wagner T. Blood-chemistry indicators of nutritional status in juvenile salmonids. *J Fish Biol* 2006; 69:473-490.

Chena C-Y, Woostera GA, Getchella RG, Bowsera PR, Timmons MB. Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture* 2003; 218:89-102.

Eslava PR, Hernández CP. Hematología básica de la Cachama Blanca, *Piaractus brachypomus*. *Rev Med Vet Zoot* 1995; 1:3-5.

Fernandes KJB, Carneiro DJ, Sakomura KN. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de Pacú (*Piaractus mesopotamicus*). *Rev Brasil Zootenologia* 2000; 29:646-653.

Friedrich M, Stepanowska K. Effect of diet composition on the levels of glucose, lipids, and lipoproteins of the blood and on the chemical composition of two-year-old carp (*Cyprinus*

- carpio* L.) reared in cooling waters. Acta Ich Piscatoria 1999; 29:13-23.
- González FHD, Carvalho V, Möller VA, Duarte FR. Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Arquivos da Faculdade de Veterinária. UFRGS 2001; 29:1-6.
- Green JA, Hardy RW. The effects of dietary protein:energy ratio and amino acid pattern on nitrogen utilization and excretion of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Fish Biol 2008; 73:663-682.
- Gutiérrez W, Zaldivar J, Deza S, Rebaza M. Determinación de los requerimientos de proteína y energía de juveniles de paco, *Piaractus brachyomus* (Pisces Characidae). Folia Amazônica 1996; 8:35-45.
- Hemre G-I, Lie O, Lied E, Lambertsen G. Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): digestibility and retention. Aquaculture 1989; 80:261-270.
- Hemre G-I, Sagstad A, Bakke-Mckellep AM, Danieli A, Acierno R, Maffia M, Frøystad M, Krogdahl A, Sanden M. Nutritional, physiological, and histological responses in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed diets with genetically modified maize. Aquac Nutr 2007; 13:186-199.
- Jirasek J, Mares J, Palikova M. Haematological and biochemical indices of blood in wels (*Silurus glanis* L.) from intensive aquaculture. Acta Vet Brno 1998; 67:227-233.
- Klyszejko B, Lyczzywek G. Effect of a sublethal concentration of deltamethrin on biochemical parameters of the blood serum of carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Ich Piscatoria 1999; 29:109-117.
- Li X-F, Liu W-B, Jiang Y-Y, Zhu H, G X-P. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. Aquaculture 2010; 303:65-70.
- Manera M, Britti D. Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. J Fish Biol 2006; 69:1427-1434.
- Melo JFB, Tavares-Dias M, Lundestadt LM, Moraes G. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros Hematológicos e metabólicos do bagre sul americano *Rhamdia quelen*. Rev Ciên Agroambiental 2006; 1:43-51.
- Pavlidis M, Futter WC, Katharios P, Divanach P. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. J. Appl. Ichthyol 2007; 23:70-73.
- Regost C, Arzel J, Cardinal M, Robim J, Laroche M, Kaushik SJ. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture 2001; 193:291-309.
- Sakamoto K, Lewbart GA, II TMS. Blood Chemistry Values of Juvenile Red Pacu (*Piaractus brachyomus*). Vet Clin Pathol 2001; 30:50-52.
- Schneider A, Schwegler E, Goulart MA, Roos TB, Rabassa VR, Pino FABD, Pfeifer LFM, Corrêa MN. Efeito do jejum e da administração de insulina sobre os parâmetros metabólicos de ovelhas em confinamento. Acta Sci Vet 2008; 36:39-42.
- Svobodová Z, Kolarova J, Modra H, Vajcova V, Hmackova J, Kouril J, Kozak P. Values of haematological indices of wels (*Silurus glanis* L.) in relationship to the level of nutrition during the pre-spawning period. Acta Vet Brno 1998; 67:235-242.
- Tabares-Dias M, Mataquero MI. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus brachyomus* Holmberg (Osteichthyes:Characidae) oriundos de cultivo intensivo. Acta Scient Biol Sci 2004; 26:157-162.
- Tavares-Dias M, Frascá-Scorvo CMD, Campos-Filho E, Moraes FR. Características hematológicas de teleosteos brasileiros. IV. Parâmetros eritroleucométricos, trombométricos e glicemia do matrinxã (*Brycon cephalus* Günther, 1869) (Osteichthyes: Characidae). Ars Vet 1999; 15:149-153.
- Tavares-Dias M, Martins ML, Kronka SdN. Evaluation of the haematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Caharacidae) with *Argulus sp* (Crustacea. Brachiura) infestation and treatment with organophosphate. Rev Bras Zool 1999; 16:553-555.
- Tavares-Dias M, Moraes FR. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. J Fish Biol 2007; 71:383-388.
- Tocidowski ME, Lewbart GA, Stoskopf MK. Hematology study of red pacu (*Colossoma brachypomum*). Vet Clin Pathol 1997; 26:119-125.
- Vásquez-Torres, W, Gutiérrez-Espinosa, MC, Yossa, MI. Digestibilidade aparente de ingredientes de origen animal y vegetal para Cachama (*Piaractus brachyomus*). Rev Colomb Cienc Pecu 2011a; 24:472.
- Vásquez-Torres W, Pereira-Filho M, Arias-Castellanos, JA. Optimum dietary crude protein requirement for juvenile Cachama (*Piaractus brachyomus*). Ciência Rural 2011b; 41:2183-2189.
- Vásquez-Torres W. "A pirapitinga, reprodução e cultivo" Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. Eds. Bernardo Baldisserotto, Levy de Carvalho Gomes. Santa Maria, RS, Brasil: Editoraufsm; 2005. p.203-223.
- Vazquez-Vidal Jr. M, Lopes-Donzele J, Silva-Camargo da AC, Andrade de DR, Santos dos LC. Níveis de proteína bruta para Tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. 1. Desempenho dos tambaquis. R Bras Zootec 1998; 27:421-426.
- Vieira VP, Inoueb LAK, Moraes G. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. Comp Biochem Physiol Part A 2005; 140:337-342.
- Yang S-D, Liou C-H, Liu F-G. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile Silver Perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture 2002; 213:363-372.