

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS



**EFFECTO DE DOS TIPOS DE ALIMENTACION SOBRE LA
ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS INTESTINALES EN JUVENILES
DE PAICHE (*Arapaima gigas* Cuvier, 1829), CRIADOS EN
JAULAS, EN TINGO MARÍA.**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

HENRY ALEJANDRO REVILLA AGUIRRE

PROMOCIÓN 2007 - II

Tingo María - Perú

2009

L 02

R 46

Revilla Aguirre, Henry A.

Efecto de dos tipos de alimentación sobre la actividad de las enzimas intestinales en juveniles de paiche (*Arapaima gigas* cuvier, 1829), criados en jaulas, en Tingo María. Tingo María, 2009

43 h.; 8 cuadros; 8 figs.; 27 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Zootecnista). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia.

ARAPAIMA GIGAS / ALIMENTACIÓN / ACTIVIDAD ENZIMÁTICA /
CRIANZA-CAUTIVERIO / MALTASA / METODOLOGÍA / TINGO
MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA**

Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280
TINGO MARÍA

"Año de la Unión Nacional Frente a la Crisis Externa"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 26 de febrero del 2009, a horas 12:00 m. para calificar la tesis titulada:

EFFECTO DE DOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS INTESTINALES EN JUVENILES DE PAICHE (*Arapaima gigas* Cuvier, 1829) CRIADOS EN JAULAS, EN TINGO MARÍA.

Presentada por el bachiller **Henry Alejandro REVILLA AGUIRRE**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de **"EXCELENTE"**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 26 de febrero del 2009

Ing. **WALTER PAREDES ORELLANA**
Presidente



(Ausente)

M.Sc. **JULIO GIRALDO HUAYTA**
Miembro

M.Sc. **MEDARDO DÍAZ CESPEDES**
Miembro

Dr. **WILSON CASTILLO SOTO**
Miembro - Asesor

DEDICATORIA

El esfuerzo y la dedicación puestos en esta tesis están dirigidos a profesionales, estudiantes y todas las personas interesadas en el tema.

AGRADECIMIENTOS

A Dios Padre y su Hijo Nuestro Señor, Mi Salvador Personal, por darme fuerza y voluntad, por permitirme ver la luz de un nuevo día, por darme salud y vida.

A Mi Madrecita Amelia A. Aguirre Ramos cuyo afecto y comprensión ha sido mi inspiración, con su dedicación y sacrificio hizo posible mi anhelo de ser profesional.

Al Dr. Wilson Castillo, quien ha sido para mí un gran maestro, un profesor y un amigo, un modelo profesional y humano, por su confianza, apoyo, paciencia y generosidad.

Al Dr. Manuel Sandoval por su apoyo y entusiasmo en el desarrollo de la tesis.

A Mis Tíos Orlando, Nora y Amavilia cuyos apoyos constantes e incondicionales han sido fundamentales en todos estos años de estudios.

A mis adorables Primos Danuska y Jiban quienes han sido mi aliciente.

A mi amiga Lidia Morales por estar pendiente de mí, por su inestimable apoyo incondicional.

A todos mis amigos, colegas de estudio por compartir aquellos buenos momentos.

A los docentes de la Universidad, por su paciencia y exigencia, por enseñarme a descubrir mis potencialidades; por hacer de mi temor en oportunidades para crecer.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por darme la oportunidad de mi formación profesional.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Generalidades de la especie	3
2.2. Comportamiento alimentario de los peces.....	4
2.3. Anatomía digestiva de los peces	4
2.4. Alimentación de los peces	5
2.5. Aspectos nutricionales de los peces.....	6
2.6. Regulación central y periférica de la ingesta	7
2.7. Digestión de los carbohidratos en los peces.....	8
2.8. Digestión de las proteínas	9
2.9. Adaptaciones fisiológicas digestivas.....	10
2.10. La membrana intestinal.....	11
2.11. Actividad enzimática	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1. Lugar y fecha de ejecución	13
3.2. Animales e instalaciones	13
3.3. Alimento y alimentación.....	14
3.4. Metodología de estudio de la actividad enzimática.....	16
3.5. Variable independiente	18
3.6. Tratamientos en estudio	18
3.7. Análisis estadístico	18
3.8. Variables dependientes	19

IV. RESULTADOS	23
4.1. Actividad enzimática de las disacaridasas.....	23
4.2. Actividad Enzimática de la dipeptidasa.....	26
V. DISCUSIÓN.....	29
5.1. Actividad enzimática de las disacaridasas.....	29
5.2. Actividad enzimática de la dipeptidasa	32
VI. CONCLUSIÓN.....	34
VII. RECOMENDACIONES.....	35
VIII. ABSTRACT.....	36
IX. FUENTES DE INFORMACIÓN.....	38
ANEXO	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición porcentual y nutricional del alimento natural para juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>).....	14
2. Composición porcentual y nutricional del alimento balanceado extruído para juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>).....	15
3. Actividad de maltasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.....	23
4. Actividad de maltasa intestinal (UA/mg de mucosa) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.....	24
5. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.....	26
6. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de mucosa) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.....	27
7. Actividad de Maltasa intestinal (segmento 50 %) en paiches (<i>Arapaima gigas</i>) procedentes de estanques, alimentados con ración balanceada.....	47
8. Actividad de dipeptidasa intestinal (segmento 50 %) en paiches (<i>Arapaima gigas</i>) procedentes de estanques, alimentados con ración balanceada.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Actividad de maltasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.	25
2. Actividad de maltasa intestinal (UA/mg de mucosa) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.	25
3. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.	28
4. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de mucosa) en juveniles de paiche (<i>Arapaima gigas</i>) sometidos a dos regímenes de alimentación.	28
5. Flujograma de la colecta de muestras de segmento de intestino y ciegos pilóricos de juveniles de paiche.	44
6. Preparación del extracto bruto de mucosa intestinal y ciegos pilóricos de juveniles de paiche.	45
7. Curva patrón de glucosa.	46
8. Curva patrón de L-Leucina.	46

RESUMEN

El experimento se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva; en la ciudad de Tingo María, Huánuco - Perú; con el objetivo de evaluar la actividad enzimática de la sacarasa (EC 3.2.1.48), maltasa (EC 3.2.1.20) y dipeptidasa (EC 3.4.13.11) en la mucosa intestinal de paiche (*Arapaima gigas* Cuvier, 1829). Los animales (n=80) con peso promedio de 437 g, longitud promedio de 35 cm fueron distribuidos al azar en 2 grupos experimentales con 4 repeticiones, se criaron en jaulas, donde recibieron sus respectivas dietas según sea balanceado extruído (DB) o pez forraje (PF); las muestras se colectaron después de 12 semanas de alimentación, para ello, fueron sacrificados 4 ejemplares por tratamiento. La actividad enzimática se determinó mediante ensayos según la metodología de Dahlqvist (1967), Kidder y Manners (1980) Nicholson y Kim (1975).

Los resultados muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) mediante la prueba de t Student, para la actividad enzimática de maltasa ($847,00 \pm 30,00$ UA/mg en DB y $513,00 \pm 37,00$ UA/mg en PF), y dipeptidasa ($11,41 \pm 0,40$ UA/g en DB y $13,29 \pm 0,58$ UA/g en PF) por unidad de mucosa

intestinal. Sin embargo, cuando se expresa por gramo de proteína intestinal, no muestra diferencias significativas, mientras, la sacarasa intestinal no mostró actividad enzimática. En conclusión, la ausencia de sacarasa intestinal probablemente sea por la carencia de sustrato en la dieta o el hábito alimenticio que genéticamente no le permite expresar enzimas del tipo sacarasa. Asimismo, los niveles de maltasa y dipeptidasa demostraron variaciones en función al tipo de alimentación, lo que permite inferir que el paiche presenta una ligera modulación enzimática inducida por sus respectivos sustratos (maltosas y dipéptidos, respectivamente) en el lumen intestinal; por lo tanto, el paiche tendría la capacidad de digerir los carbohidratos hasta un cierto nivel a pesar de su hábito alimenticio carnívoro.

I. INTRODUCCIÓN

La Amazonía peruana tiene numerosos cuerpos de agua, en el cual habitan especies promisorias para piscicultura. La piscicultura está desarrollándose debido al impulso de instituciones, en base a los principios de uso, conservación y explotación de los recursos naturales, apoyados por acciones de investigación, capacitación y promoción, para una producción sustentable que coadyuva al desarrollo socioeconómico.

El paiche (*Arapaima gigas* Cuvier, 1829) es una de las especies más representativas de la piscicultura, por su gran tamaño y calidad de carne, capaz de cubrir la demanda insatisfecha de proteína de pescado, en una población que crece constantemente, ante la escasez de proteína animal que hasta ahora es un factor limitante para el desarrollo de las poblaciones humanas (REBAZA *et al.*, 1999).

El paiche es una especie en peligro de extinción por la fuerte presión de pesca en el medio natural y está incluido desde 1975 en la base de datos de la CITES apéndice II, por ello se incentiva la crianza en cautiverio, con prácticas de alimentación que cubran sus requerimientos nutricionales, ya sea con peces forrajes o alimento balanceado. En ese sentido, la actividad de las

enzimas digestivas se hace necesario conocer, así también, el desarrollo morfológico de la mucosa intestinal y como el tipo de dieta puede influir en la expresión enzimática.

Los sistemas intensivos buscan optimizar la producción de paiche a escala comercial mediante la alimentación con dietas balanceadas que permitan cubrir sus necesidades y expresar su crecimiento óptimo. Sin embargo, considerando el hábito alimenticio del paiche es prioritario conocer los cambios fisiológicos digestivos que ocurren en un proceso de adaptación a una dieta no natural; dentro de ello es importante conocer la expresión y actividad de las enzimas digestivas a nivel de membrana que son los encargados de realizar el último proceso de la escala digestiva (GUILLAUME *et al.*, 2004). En ese contexto, el conocimiento de la actividad de estas enzimas permitirá inferir de que manera los nutrientes pueden ser digeridos y como consecuencia de ello partir a una formulación de dieta adecuada. En ese sentido, los objetivos fueron:

- ✓ Determinar la actividad enzimática de la sacarasa (EC 3.2.1.48), en la mucosa intestinal del paiche.

- ✓ Evaluar la actividad enzimática de la maltasa (EC 3.2.1.20) en la mucosa intestinal del paiche.

- ✓ Calcular la actividad enzimática de la dipeptidasa (EC 3.4.13.11) en la mucosa intestinal del paiche.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades de la especie

El paiche es una especie de gran importancia económica y social debido a la calidad y cantidad de su carne (proteína 36.5 % y grasa 1.6 %); alcanza en su estado adulto una longitud de 3 m y pesos superiores a los 200 k (REBAZA *et al.*, 1999). Asimismo, IMBIRIBA *et al.* (1996) indican que el paiche tiene el cuerpo en forma alargada, circular y elipsoidal, revestida de grandes y gruesas escamas cicloideas.

Referente a la taxonomía, Imbiriba y Palmeira (1994), citado por REBAZA *et al.* (1999) indican que el paiche pertenece a la subclase *Actinopterygii*, orden osteoglossiformes, suborden osteoglossoidei, superfamilia osteoglossidae, familia arapaimidae (PADILLA *et al.*, 2003), género arapaima, especie *Arapaima gigas* Cuvier, 1829.

En cuanto a el hábitat y distribución geográfica, REBAZA *et al.* (1999) refieren que el paiche habita en clima ecuatorial de aguas calientes y tolera temperaturas entre 24 a 31 °C. El paiche habita exclusivamente en los ríos de la cuenca amazónica de América del Sur. En el Perú se encuentra en las cuencas bajas de los ríos Napo, Putumayo, Marañón, Pastaza y Ucayali.

2.2. Comportamiento alimentario de los peces

El paiche tiene hábito alimenticio carnívoro, por tanto, se alimenta de peces, crustáceos, moluscos, plancton e insectos acuáticos (REBAZA *et al.*, 1999). Por lo general, el paiche se alimenta cerca de la superficie del agua y procura alimentarse en el atardecer o amanecer (CRESCÊNCIO *et al.*, 2005). En ese sentido, la ingesta voluntaria es influenciada por la temperatura, así que, para cada especie existe un óptimo térmico en que la ingesta voluntaria es máxima. Asimismo, la temperatura actúa sobre el intervalo de separación de la toma alimentaria, por lo tanto, a bajas temperaturas las tomas alimentarias son más espaciadas que a temperaturas altas; este intervalo se relaciona directamente con el tiempo de vaciado gástrico, inversamente proporcional a la temperatura (GUILLAUME *et al.*, 2004).

2.3. Anatomía digestiva de los peces

El tracto digestivo de los peces es similar a de los mamíferos, pero, con mayor diversidad anatómica (MARTÍNEZ y RÍOS, 2003). Asimismo, el aparato digestivo presenta características anatómicas en estrecha dependencia de la naturaleza de los alimentos, las características del hábitat, el estado nutricional (SEIXAS *et al.*, 2001) que puede influenciar la presencia, posición, forma y tamaño de un órgano en particular (ROTTA, 2003).

Kramer y Briant (1995), citado por SANTIGOSA (2006) indican que los peces carnívoros presentan generalmente intestinos cortos (TOBÍAS *et al.*, 2006) y está relacionada con la cantidad de proteína de la dieta. Asimismo,

ROTTA (2003) refiere que el intestino presenta una amplia variedad de estructuras especializadas, los más importantes son los ciegos pilóricos, presentes en algunas especies de peces como los salmonideos y los curimatideos.

2.4. Alimentación de los peces

Las dietas balanceadas para paiche están formuladas en base a insumos tradicionales, tales como: la harina de pescado, torta de soya, maíz, polvillo de arroz y afrecho de trigo. Estas dietas deben ser suplementadas con premezclas de vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para garantizar un crecimiento óptimo (SANDOVAL, 2007).

Pezzato (1995), citado por SILVA (2008) refiere que la harina de pescado es un insumo padrón en la composición de dietas en función de su valor biológico, equilibrio de niveles de aminoácidos, calcio y fósforo, los que son importantes en el crecimiento de los peces. Sin embargo, SILVA (2008) indica que la calidad de la ración se mejora con la sustitución de fuentes de proteína animal por fuentes de proteína vegetal que poseen una composición química aceptable, un buen perfil de aminoácidos y de alta disponibilidad. Asimismo, BARROSO *et al.* (2002) y SOARES *et al.* (2006) refieren que los carnívoros requieren mayor contenido de proteínas en cautiverio y no aprovechan bien los alimentos de origen vegetal.

SANDOVAL (2007) indica que la alimentación de los alevinos de paiche en cautiverio debe estar constituida por peces pequeños, como tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), bujurqui (*Cichlasoma amazonarum* Kullander, 1983) y mojarra (*Gymnocorimbus thayeri* Boulenger, 1895).

Las raciones pelletizadas representan otras de las alternativas para la alimentación del paiche en condiciones de cultivo (IMBIRIBA, 2001 y PADILLA *et al.*, 2002), en la que se debe considerar la fase de adaptación a la ración. En investigaciones con raciones balanceadas pelletizadas (40% de proteína), los animales obtuvieron ganancias de peso diario muy inferiores de lo observado en aquellos alimentados con pez forraje. Esto indica que la naturaleza física de la dieta no permitió un aprovechamiento eficiente del alimento (SANDOVAL, 2007).

2.5. Aspectos nutricionales de los peces

Las proteínas son esenciales para el crecimiento y son una fuente de energía para los peces. Los carbohidratos y los lípidos también constituyen fuentes de energía para los peces. Los lípidos tienen un valor específico de energía alto (8 kcal/g) y son casi completamente digeribles (MARTINEZ y RÍOS, 2003). Asimismo, Cavero (2004) citado por SILVA (2008) refiere que las especies carnívoras requieren altos niveles de proteína animal (40 - 45%) en la dieta.

SANTIGOSA (2006) refiere que existen muchos carbohidratos, sólo algunos tienen valor nutritivo en la alimentación de los peces: las hexosas, los disacáridos y algunos homopolisacáridos como el almidón. Asimismo, LAZO (2000) refiere que existen tres disacáridos dietéticos como la lactosa, maltosa y sacarosa. Por su parte, REBOLLAR (2002) indica que la maltosa es un disacárido producido durante la degradación del almidón. Mientras, SANTIGOSA (2006) indica que los glúcidos no son esenciales en la alimentación de los peces carnívoros y tienen baja capacidad de uso de los mismos, sin embargo, son una fuente de energía poco costosa.

2.6. Regulación central y periférica de la ingesta

ROTTA (2003) refiere que la inervación parasimpática procede de tres nervios craneales que son los nervios vago, glossofaríngeo y facial, que se extienden hacia varias partes del tracto digestivo. Además de nervios extrínsecos, existen nervios intrínsecos dentro de los tejidos del sistema digestivo. El estímulo de liberación de las secreciones pancreáticas e intestinales parecen estar controladas tanto hormonal como nervioso.

GUILLAUME *et al.* (2004) indica que el animal modifica su ingesta voluntaria mediante dos procesos diferentes de regulación. El control central se realiza en el hipotálamo, gracias a los centros del apetito y saciedad, esta región del cerebro integra la información procedente de diferentes señales físicas, metabólicas o endocrinas y regula la estimulación o inhibición de la toma alimenticia por mediación del sistema nervioso central. El control

periférico comprende varias vías de control de la ingesta a través de las señales de tipo humoral que inhiben la toma alimenticia. Estas señales emitidas por el tubo digestivo o por el cerebro pueden provocar la interrupción de la ingesta o la regulación del alimento.

ROTTA (2003) refiere que el peristaltismo en los peces es estimulado por la acetilcolina e inhibido por la adrenalina. Asimismo, la peristalsia es un reflejo de un nervio intrínseco localizado en la pared del intestino. La colecistocinina es una hormona producido por la mucosa del intestino y de los ciegos pilóricos; ésta reduce la hostilidad gástrica y estimula la contracción del esfínter pilórico, también de la vesícula biliar, por lo que permite la liberación de la bilis en lumen intestinal.

2.7. Digestión de los carbohidratos en los peces

MARTÍNEZ y RÍOS (2003) refieren que la utilización de los carbohidratos requiere de procesos digestivos en que los almidones son transformados en disacáridos por diversas amilasas, y éstos a su vez, se transforman en monosacáridos por las disacaridasas específicas. La principal enzima que degrada los carbohidratos es la α -amilasa, la cual es secretada en el jugo pancreático y actúa en el lumen del intestino. Sin embargo, SILVA (2008) indica que los peces carnívoros poseen baja tasa de secreción de amilasa, lo que puede ser una barrera en la inclusión de componentes de origen vegetal en su dieta.

LAZO (2000) refiere que los disacáridos se absorben mal como tal y se hidroliza en el intestino delgado por disacaridasas, lactasa, sacarasa y maltasa, que se encuentran en las microvellosidades de las células epiteliales o enterocitos (SHAPIRO, 1997 y BUDDINGTON *et al.*, 1997) y la mayor parte de la hidrólisis tiene lugar en la celda de la membrana. La actividad de las cuales declina desde la zona proximal hasta la distal y depende de la composición de la dieta natural, (BRUDESETH, 1996).

2.8. Digestión de las proteínas

SANTIGOSA (2006) refiere que la hidrólisis de las proteínas de los alimentos se inicia en el estómago. La pepsina, una endopeptidasa secretada como pepsinógeno por las células parietales de la mucosa gástrica, hidroliza las proteínas en segmentos de menor peso molecular, éstos pasan al duodeno donde se encuentran las endopeptidasas como tripsina, quimiotripsina y elastasa del jugo pancreático, que los degradan en polipéptidos. Asimismo, La carboxipeptidasa, de origen pancreático, y la aminopeptidasa intestinal que liberan tripéptidos y dipéptidos, cuya hidrólisis es catalizada por tripeptidasas y dipeptidasas del borde en cepillo del intestino (BUDDINGTON *et al.*, 1997), así, es como las proteínas de la dieta son degradadas hasta aminoácidos libres; las actividades de las cuales varían a lo largo del intestino, disminuyendo desde la zona proximal hasta la distal (BRUDESETH, 1996).

2.9. Adaptaciones fisiológicas digestivas

MOYANO (2006) refiere que la selección de especies para la crianza en cautiverio ocasionó la modificación radical tanto de las características del alimento suministrado en relación al alimento natural, como de las pautas de alimentación en relación con los ritmos biológicos normales o la edad de los individuos. Esto repercute en la efectividad del alimento, ya que las enzimas pueden no ser producidas en cantidad suficiente para mantener una relación enzima/sustrato adecuada a la composición de dicho alimento.

ROTTA (2003) concluyó que un aumento en la cantidad de carbohidratos en la alimentación provoca un incremento en la longitud del intestino y en la absorción de glucosa por algunos teleósteos, no ocurre este hecho en los carnívoros, como el pintado y trucha arco iris. Esta diferencia se debe a la adaptación de las especies, ya que los peces omnívoros y herbívoros están sujetos a grandes variaciones en la composición bromatológica de la dieta.

CASTILLO (2008) refiere que las carbohidrasas tienen un interés especial en peces, ya que, no todos digieren los carbohidratos con la misma eficiencia, es así, los carnívoros presentan una limitada habilidad para modular los procesos digestivos (SANTIGOSA, 2006) que permitan asimilarlos. Por lo tanto, la inclusión de altos niveles de carbohidratos en la dieta puede causar disturbios metabólicos en los peces carnívoros (ROTTA, 2003).

2.10. La membrana intestinal

REBAZA *et al.* (1999) indican que el tipo y funcionalidad de las enzimas es el resultado de su expresión génica que está en continua evolución por el tipo de alimento y las pautas de alimentación.

ROTTA (2003) refiere que las microvellosidades están en contacto con el lumen intestinal. El jugo entérico producido en la superficie luminal del intestino es el resultado de las secreciones oriundas de las glándulas de Brûnner y de Lidberkuhn. Las glándulas de Brûnner secreta el moco que actúa como lubricante y protege la mucosa intestinal contra el ácido clorhídrico. Asimismo, contienen ión bicarbonato. Las glándulas de Lidberkuhn secretan las enzimas intracelulares sacarasa, maltasa, oligo-1,6-glicosidasas, aminopeptidasas, lecitinasas, fosfolipasas, ribonucleasas, nucleosidasas y fosfatasas. Las peptidasas encontradas son de dos tipos: aminopeptidasas es una exopeptidasa que actúa en las uniones terminales de cadena. Las dipeptidasas y tripeptidasas actúan en las uniones peptídicas de los di y tripéptidos liberando aminoácidos.

2.11. Actividad enzimática

MOYANO (2006) refiere que las especies más estudiadas han sido los salmónidos y ciprínidos, también se han estudiado las enzimas de otras especies como el lenguado, el bacalao y la tilapia. Asimismo, Alarcón *et al.* (2001), citado por MOYANO (2006) concluyen que la mayoría de los trabajos prestan especial atención a las proteasas, también algunos se ocupan de las

carbohidrasas. Sin embargo, el momento de muestreo y el historial alimenticio de los animales empleados influyen en la cantidad de actividad, por tanto, son difíciles de comparar con otras especies.

La habilidad de un organismo para digerir partículas de alimento depende de la presencia y de la cantidad apropiada de enzimas digestivas (REIMER, 1982), aún cuando estas enzimas no han sido cuantificadas en la mayoría de peces de agua dulce, alguna inferencia de una especie a otra se ve imposibilitada por los hábitos alimenticios diferentes que tienen cada especie, lo cual repercute en la expresión génica de sus enzimas en respuesta al sustrato que consumen. Asimismo, RESENDE (2006) concluye que las enzimas intestinales implicadas en los procesos de digestión y absorción han sido reportadas en tilapia, como: amilasa, pepsina, tripsina, estereasas y fosfatasa alcalina. La tilapia presenta mayor actividad de carbohidrasas que de proteasas y una pequeña actividad de lipasa, comparada con los peces carnívoros.

BUDDINGTON (1997) refiere que el menor nivel de carbohidratos en la dieta de las truchas a lo largo de su evolución se ha traducido en una disminución de la capacidad de regular fenotípicamente la digestión de los carbohidratos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha de ejecución

La alimentación de los peces se realizó en la Estación Piscícola Villa Hidalgo en el caserío Santa Rosa de Shapajilla, ubicada en el distrito Padre Felipe Luyando de la provincia de Leoncio Prado. El experimento se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) de la UNAS; ubicada en la ciudad de Tingo María capital del distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco. Geográficamente se ubica a 660 msnm, 09°17'58" latitud sur y 76°01'07" longitud oeste, con una temperatura promedio de 24.8 °C y humedad relativa de 80%, cuya zona de vida es bosque húmedo pre-montano subtropical (bh – PMT)

El experimento se realizó en los meses de septiembre a noviembre del 2008.

3.2. Animales e instalaciones

El experimento se inició con 80 juveniles de paiche, con peso promedio de 437 g, longitud promedio de 35 cm y de ello se sacrificó 8 ejemplares para el estudio de la actividad enzimática.

Los animales se criaron en 4 jaulas de madera con dos compartimientos, provistas de una tapa y cubiertas con malla anchovetera, con dimensiones de 3.00 x 1.50 x 1.10 m largo, ancho y altura respectivamente. Las jaulas se ubicaron en un estanque de 3500 m² de espejo de agua, con profundidad de 1.00 m. con un tirante de agua de las jaulas de 0.80 m. La fuente de abastecimiento de agua al estanque fue de una quebrada, conducido a través de tubos de PVC.

3.3. Alimento y alimentación

El alimento natural fue a base de peces forrajes, con especies de: tilapias (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), bujurquis (*Cichlasoma amazonarum* Kullander, 1983) y mojarra (*Gymnocorimbus thayeri* Boulenger, 1895) los cuales se colectaron de las quebradas/ríos de la zona y suministraron en forma picada a los paiches juveniles.

Cuadro 1. Composición porcentual y nutricional del alimento natural para juveniles de paiche (*Arapaima gigas*).

Ingredientes	%
Peces forrajes	100,00
Total	100,00
Valor nutricional¹	
Proteína bruta	14,87
Fibra cruda	0,11
Extracto etéreo	1,90
Ceniza	6,12
Materia seca	24,38

¹ Nutrientes expresados en base fresca o tal como ofrecido.

El alimento balanceado extruído se elaboró en la planta de alimentos balanceados de la Facultad de Zootecnia-UNAS. El alimento se presentó en forma de gránulos con textura semidura, de forma cilíndrica, con diámetros 8 mm y de color oscuro, con un fuerte olor a harina de pescado y de sabor sui generis. La composición nutricional se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición porcentual y nutricional del alimento balanceado extruído para juveniles de paiche (*Arapaima gigas*).

Ingredientes	%
Harina de pescado	60,00
Afrecho de trigo	12,30
Polvillo de arroz	12,00
Maíz molido	10,00
Proapak 13A	0,10
BHT	0,02
Cloruro de colina	0,10
Zinc	0,05
Fungiban	0,05
Almidón de yuca	5,00
Aceite de palma	0,40
Total	100,02
Valor nutricional¹	
Proteína bruta	43,0
Fibra bruta	3,2
Grasa	5,0
Ceniza	6,8
Materia seca	92,2

¹ Nutrientes expresados en base fresca o tal como ofrecido.

La alimentación se realizó de forma manual con una frecuencia de dos veces por día (8:00 y 18:00 h); la ración se calculó en función a la biomasa existente y la tasa de alimentación (5 %) según REBAZA *et al.* (1999). Asimismo, el ajuste de la ración se realizó cada 15 días considerando los incrementos de peso diario.

3.4. Metodología de estudio de la actividad enzimática

3.4.1. Colecta de muestras

La colecta de muestras se realizó al final del experimento, para ello se sometió a los peces en condiciones de ayuno por 6 horas. Los peces previos al sacrificio fueron aturdidos, posterior a ello se realizó una incisión longitudinal ventral. El intestino se midió y colectó las porciones craneal, medio y posterior (segmentos 25; 50 y 75 %). El segmento de intestino se lavó con solución salina helada al 0.9% con la ayuda de una jeringa para limpiar el contenido intestinal. Asimismo, las muestras de segmento intestinal se envolvieron con papel aluminio y etiquetaron según la porción de segmento y tratamiento, luego se sumergió en nitrógeno líquido y almacenó en un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior estudio.

3.4.2. Preparación de extracto bruto de mucosa intestinal

El segmento de intestino se descongeló y las enzimas intestinales se extrajeron raspando la mucosa (0,5 a 1,0 g) del segmento colectado y se trituraron en un homogenizador Ultra Turrax T25 Basic, con solución tampón Tris-HCl 2,0 mM + Manitol 50,0 mM, pH 7,1 en proporción de 1:5 (p/vol). El

homogenizado de mucosa se centrifugó a 10 000 rpm por 15 min a 4 °C, luego se recuperó el sobrenadante denominado extracto bruto de mucosa (EBM) los que fueron separados en eppendorf en alícuotas de $\pm 1,20$ ml y se almacenaron a - 80 °C (CASTILLO, 1999).

3.4.3. Protocolo de recta padrón de glucosa.

Las condiciones padrones de los ensayos fue tampón fosfato 0.25 M + EDTA 6,25 mM, pH 6,5 según la metodología de Dahlqvist (1964). Asimismo, la solución madre de glucosa (10 mg/mL) se diluyó en concentraciones intermedias de 0; 1; 2; 3; 4 y 5 mg/mL en un volumen total de 1.0 mL y a partir de ello se preparó las concentraciones finales de 0; 10; 20; 30; 40 y 50 $\mu\text{g/mL}$ en un volumen final de 1010 μL . (CASTILLO, 1999).

3.4.4. Determinación de glucosa

La glucosa se cuantificó por espectrofotometría según la metodología de Dahlqvist (1967), Kidder y Manners (1980) para ello se adicionó 10 μL de la concentración intermedia (para la recta padrón) o del medio de reacción (MR) y se reacciona con 1000 μL de Glucosa-LS VALTEK® cronometrando cada 20 s en baño maría a 37 °C por 10 min e inmediatamente se interrumpió la reacción con agua fría, luego se protegió de la luz directa con papel aluminio y se efectuó las lectura a 500 nm contra el blanco. (CASTILLO, 1999).

3.5. Variable independiente

Tipo de alimentación.

3.6. Tratamientos en estudio

DB: Alimento balanceado extruído.

PF: Alimento natural con pez forraje.

3.7. Análisis estadístico.

Los animales fueron distribuidos al azar en 2 tratamientos con 4 repeticiones por tratamiento, en donde cada unidad experimental estuvo compuesta por 10 ejemplares de paiches juveniles. El modelo aditivo lineal para la distribución de los tratamientos fue:

$$Y_{ij} = u + T_i + e_{ij},$$

Donde:

Y_{ij} = j-ésima observación en el i-ésimo tratamiento.

$i = 1; 2$ tratamientos.

$j = 1; 2; 3; 4$ repeticiones.

u = Media poblacional

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento

e_{ij} = Error experimental.

Los resultados de la actividad enzimática se analizaron mediante la prueba de t student para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos mediante el programa estadístico INSTAT V2.05.

La fórmula de la prueba estadística t student se describe a continuación:

$$t = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B}{\sqrt{S_p^2 \left(\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B} \right)}}, \text{ Donde:}$$

\bar{x}_A = Media muestral grupal de las observaciones del factor A

\bar{x}_B = Media muestral grupal de las observaciones del factor B

S_p^2 = Varianza ponderada

n_A = numero de observaciones del factor A

n_B = Número de observaciones del factor B.

3.8. Variables dependientes

Actividad enzimática de la sacarasa (EC 3.2.1.48)

Actividad enzimática de la maltasa (EC 3.2.1.20)

Actividad enzimática de la dipeptidasa (EC 3.4.13.11)

3.8.1. Actividad enzimática de las disacaridasas

Las actividades de sacarasa o Sucrosa α -D-Glucohidrolase (EC 3.2.1.48) y maltasa (EC 3.2.1.20) se determinaron a través de los niveles de glucosa liberada en la hidrólisis de los sustratos sacarosa y maltosa 0,125 M en un volumen final de 1,0 mL respectivamente, por las enzimas presentes en el extracto bruto de mucosa (EBM).

El EBM se diluyó para el caso de maltasa con tampón fosfato-EDTA en 1:2 y para el caso de sacarosa no se diluyó. En los tubos prueba (2-3 repeticiones) se colocó 800 μ L de sustrato según corresponda y se adicionó 200 μ L de EBM diluida, cada 20 s, se incubaron a 37 °C por 60 min. En los tubos blancos o controles se adicionó el EBM diluido e inmediatamente se interrumpió la reacción enzimática con agua en ebullición, por 2 min y luego se enfrió con agua temperatura ambiente. En los tubos prueba se realizó la misma reacción enzimática luego de la incubación. Asimismo, el contenido de los tubos se colocó en eppendorf para centrifugar a 15 000 rpm por 15 min a 4 °C, cuyo sobrenadante se denominó medio de reacción (CASTILLO, 1999).

Los niveles de glucosa liberada en el medio de reacción se determinó utilizando Glucosa-LS VALTEK® de Biodiagnóstico, donde 10 μ L del MR se adicionó a 1000 μ L de reactivo de glucosa y se incubó a 37°C por 10 min. La cuantificación de la reducción sustrato se realizó mediante la cuantificación de la absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro UV (ultravioleta) Genesys 6.

La actividad de las enzimas sacarasa y maltasa se expresan en unidades de actividad enzimática (UA) y ésta se define como la cantidad de enzima que reduce 1 μmol de sustrato por minuto en las condiciones de reacción (CASTILLO, 1999).

3.8.2. Actividad enzimática de la dipeptidasa

La actividad de la dipeptidasa (EC 3.4.13.11) en la mucosa intestinal se determinó según la metodología de Nicholson y Kim (1975) usando como sustrato el dipéptido L-leucilglicina (LEU-GLI), resulta la liberación de leucina, la misma que por catálisis de la L-aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2) forma peróxido de hidrógeno. Finalmente, la oxidación de o-dianisidina por el peróxido de hidrógeno, mediado por la peroxidasa resulta en un punto final de reacción, se determinó a 530 nm en un espectrofotómetro UV-Genesys 6 (CASTILLO, 1999).

Las condiciones padrones de los ensayos fueron: sustrato LEU-GLI 50 mM en 0.5 ml de tampón TRIS.HCL 50 mM, pH 8,0; extracto bruto de mucosa diluido en glicerol 14 % y reactivo L-aminoácido oxidasa (LAOR) 1.0 ml, en un volumen final de 1525 ml. Cada 100 ml de reactivo LAOR contiene: L-aminoácido oxidasa (18 unidades), peroxidasa (2 mg), o-dianisidine (10 mg), p-hidroximercuribenzoato (PHMB 0,7625 Mm; 27,5 mg) y TRIS.HCL 50 mM, pH 8,0. La reacción se inició por la adición de 25 μL de EBM en un medio de reacción conteniendo 1,0 mL de reactivo LAOR y 0,5 mL de sustrato LEU-GLI. Después, se incubó a 37°C por 20 min en la que dicha reacción fue

interrumpida con 0,74 mL de H₂SO₄ 50 %, centrifugada por 1 min en una microcentrífuga SPIN I (10 000 rpm) a 4°C. La absorbancia se determinó a 530 nm. Además, se realizaron controles en ausencia de sustrato LEU-GLI, de EBM de ambos para estimar la presencia de posibles interferente presentes en las soluciones. Paralelo, se ensayaron concentraciones conocidas de leucina para construir una recta padrón de leucina (CASTILLO, 1999)

Como el reactivo LAOR oxida completamente 100 nmoles de L-leucina en 6 a 8 min, el EBM fue diluido para que la tasa de hidrólisis no exceda en cantidad de 100 nmoles de aminoácido liberado en 20 min; sobre estas condiciones, la tasa de hidrólisis de LEU-GLI es proporcional a la concentración de la enzima presente en el EBM.

Una unidad de actividad de dipeptidasa es definida como la cantidad de enzima que hidroliza 1 μ mol de LEU-GLI por minuto en condiciones de la reacción, metodología de Nicholson y kim (1975). (CASTILLO, 1999).

IV. RESULTADOS

4.1. Actividad enzimática de las disacaridasas

En el Cuadro 3 se presenta los resultados de actividad de maltasa (UA/g de proteína) en los ejemplares de paiche alimentados con dos dietas diferentes, se observa que las actividades enzimáticas en ambos regímenes de alimentación no muestra un efecto significativo ($P < 0,05$).

Cuadro 3. Actividad de maltasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

Tipo de Dieta ¹	Segmento Intestinal ²			
	SI25	SI50	SI75	SCP
DB	9,79 ± 0,81 ^a	15,02 ± 1,19 ^a	12,35 ± 1,62 ^a	11,12 ± 2,61 ^a
PF	8,18 ± 1,54 ^a	10,53 ± 2,35 ^a	9,24 ± 1,57 ^a	11,24 ± 2,36 ^a

Valor promedio ± SEM. Superíndices iguales no presentan un efecto significativo ($P < 0,05$).

¹ Tipo de dieta: DB=Dieta balanceada, PF=Dieta pez forraje.

² Segmento intestinal: SI25=Segmento intestinal 25 %, SI50=Segmento intestinal 50 %, SI75=Segmento intestinal 75 %, SCP=Segmento ciego pilórico.

La maltasa se expresa desde 9,79 UA en el segmento intestinal 25%, hasta un máximo de 15,02 UA en el segmento 50% en animales que recibieron alimento balanceado; 8,18 UA en el segmento 25% como mínimo, y un máximo de 11,24 UA en el ciego pilórico de ejemplares alimentados con

peces forrajes. Asimismo, la Figura 1 muestra los niveles de maltasa en los diferentes segmentos intestinales. Las actividades enzimáticas máximas se evidencia en la porción de segmento intestinal 50% en el caso de los peces alimentados con DB, y con PF se observa niveles mayores en el ciego pilórico y el segmento intestinal 50%.

En el Cuadro 4 se observa que el tipo de dieta causó efectos significativos ($P < 0,05$) en la actividad de la maltasa (UA/mg de mucosa) en los ejemplares juveniles de paiche. Asimismo, se observa que no hubo diferencias significativas en los ciegos pilóricos.

Cuadro 4. Actividad de maltasa intestinal (UA/mg de mucosa) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

Tipo de Dieta ¹	Segmento Intestinal ²			
	SI25	SI50	SI75	SCP
DB	653 ± 47 ^a	847 ± 30 ^a	543 ± 44 ^a	619 ± 80 ^a
PF	466 ± 38 ^b	513 ± 37 ^b	398 ± 12 ^b	536 ± 60 ^a

Valor promedio ± SEM. Valores en una misma columna con diferente superíndice presentan un efecto significativo ($P < 0,05$).

¹ Tipo de dieta: DB=Dieta balanceada, PF=Dieta pez forraje.

² Segmento intestinal: SI25=Segmento intestinal 25 %, SI50=Segmento intestinal 50 %, SI75=Segmento intestinal 75 %, SCP=Segmento ciego pilórico.

Por otro lado, la Figura 2 muestra la actividad enzimática de maltasa UA/g de mucosa en los diferentes segmentos intestinales.

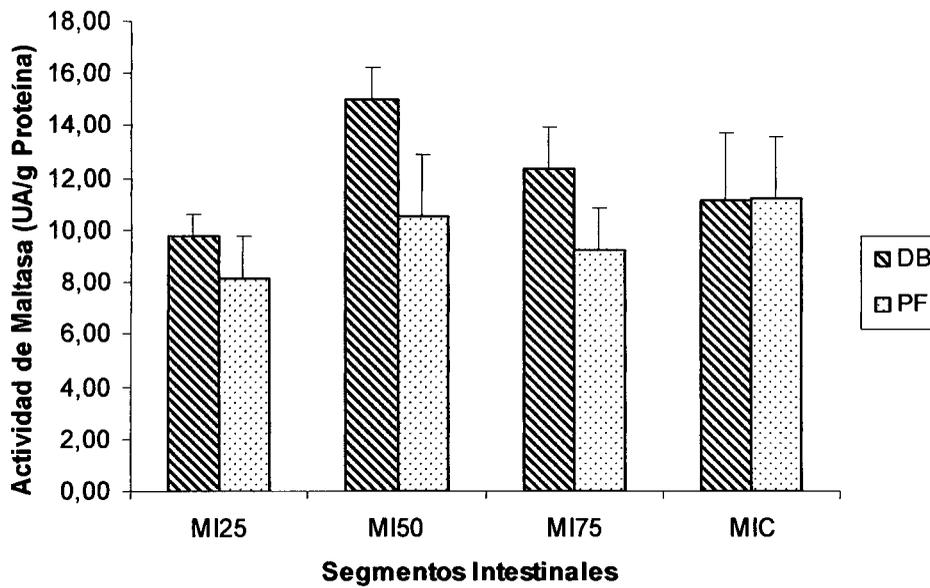


Figura 1. Actividad de maltasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

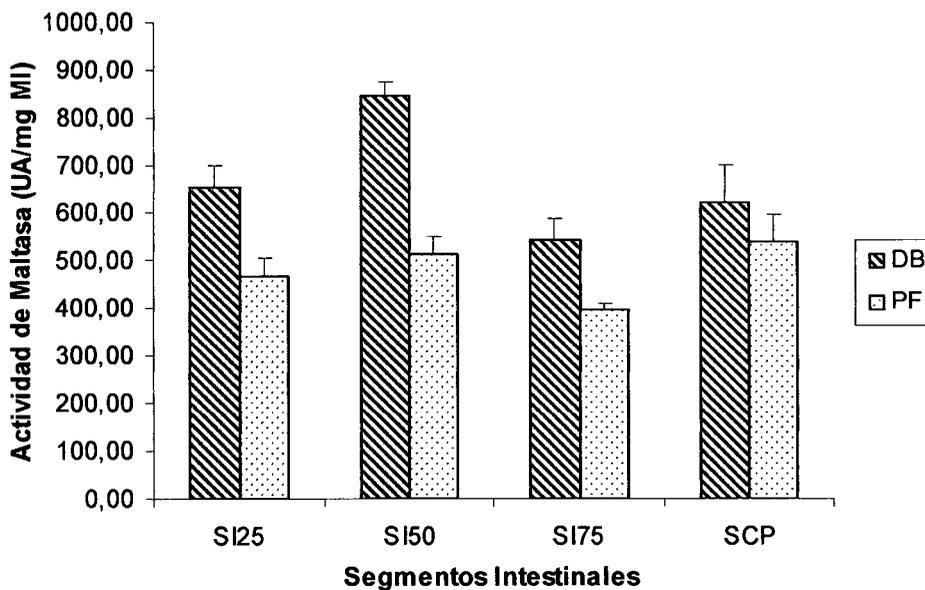


Figura 2. Actividad de maltasa intestinal (UA/mg de mucosa) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

4.2. Actividad Enzimática de la dipeptidasa

Las dipeptidasas que hidrolizan el sustrato leucilglicina y las tasas de liberación de leucina se muestran en el cuadro 5, en el cual se observa un efecto significativo de la dieta ($P < 0,05$) en el segmento intestinal 25%, y no significativo en los otros segmentos estudiados.

Cuadro 5. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

Tipo de Dieta ¹	Segmento Intestinal ²			
	SI25	SI50	SI75	SCP
DB	147 ± 50 ^a	201 ± 10 ^a	208 ± 70 ^a	157 ± 14 ^a
PF	199 ± 13 ^b	259 ± 28 ^a	234 ± 35 ^a	202 ± 23 ^a

Valor promedio ± SEM. Valores en una misma columna con diferente superíndice presentan un efecto significativo ($P < 0,05$).

¹ Tipo de dieta: DB=Dieta balanceada, PF=Dieta pez forraje.

² Segmento intestinal: SI25=Segmento intestinal 25 %, SI50=Segmento intestinal 50 %, SI75=Segmento intestinal 75 %, SCP=Segmento ciego pilórico.

Los valores mayores en liberación de leucina se dieron en ejemplares alimentados a base de pez forraje (259 UA) en el segmento intestinal 50%.

La tasa de hidrólisis que realiza la dipeptidasa intestinal aumenta hasta llegar al segmento medio y decrece en la medida de avanza hacia el recto, para el caso de los individuos alimentados con peces forrajes.

La Figura 3 muestra los niveles de dipeptidasas expresados por gramo de proteína intestinal.

En el Cuadro 6 se observa que el tipo de dieta causó efectos significativos ($P < 0,05$) en la expresión de dipeptidasas en los segmentos intestinales 25; 50% y ciegos pilóricos.

Cuadro 6. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de mucosa) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

Tipo de Dieta ¹	Segmento Intestinal ²			
	SI25	SI50	SI75	SCP
DB	9,80 ± 0,37 ^a	11,41 ± 0,40 ^a	9,26 ± 0,26 ^a	9,10 ± 0,18 ^a
PF	11,69 ± 0,41 ^b	13,29 ± 0,58 ^b	10,25 ± 0,55 ^a	9,96 ± 0,19 ^b

Valor promedio ± SEM. Valores en una misma columna con diferente superíndice presentan un efecto significativo ($P < 0,05$).

¹ Tipo de dieta: DB=Dieta balanceada, PF=Dieta pez forraje.

² Segmento intestinal: SI25=Segmento intestinal 25 %, SI50=Segmento intestinal 50 %, SI75=Segmento intestinal 75 %, SCP=Segmento ciego pilórico.

La Figura 4 muestra la actividad de dipeptidasa por gramo de mucosa intestinal de juveniles de paiches criados en jaulas.

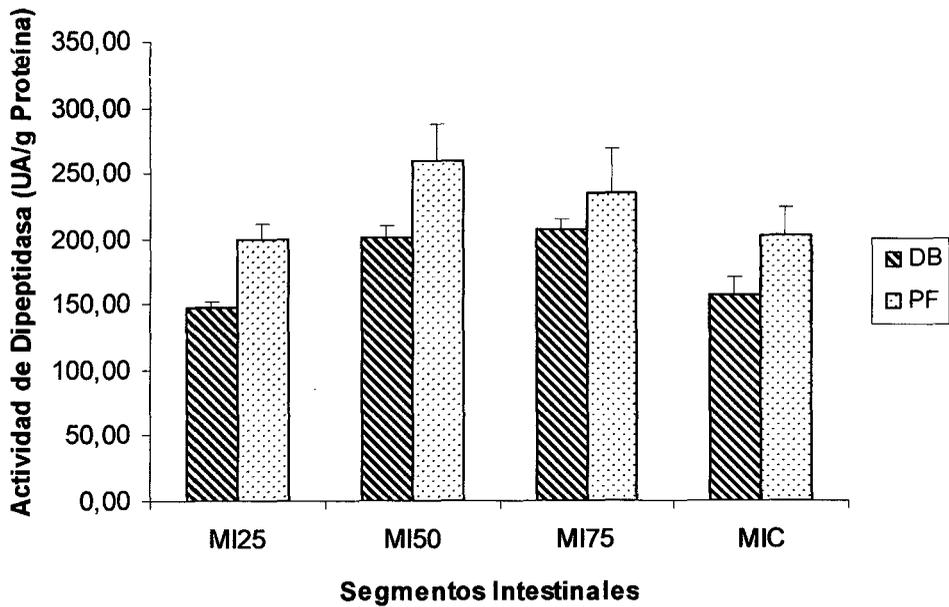


Figura 3. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de proteína) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

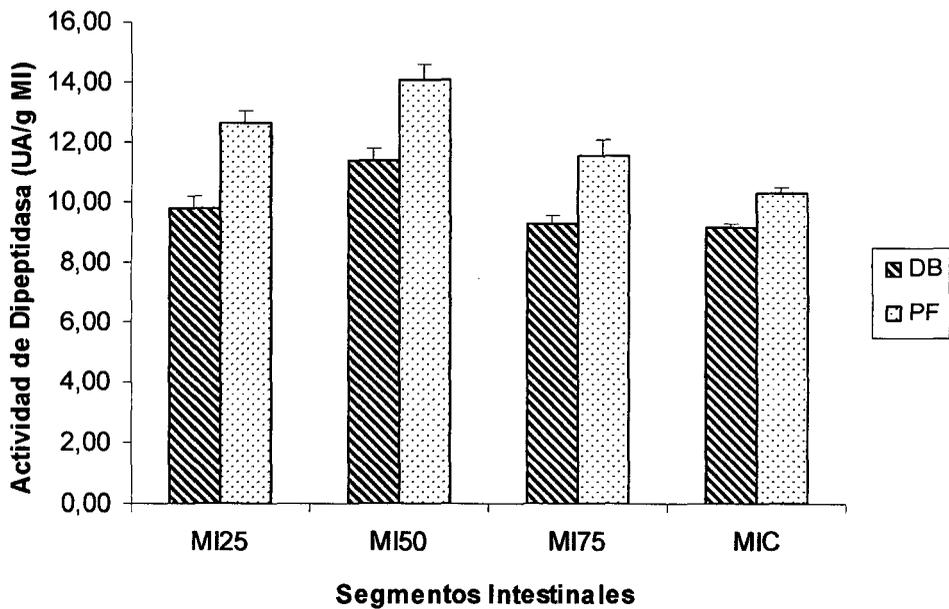


Figura 4. Actividad de dipeptidasa intestinal (UA/g de mucosa) en juveniles de paiche (*Arapaima gigas*) sometidos a dos regímenes de alimentación.

V. DISCUSIÓN

5.1. Actividad enzimática de las disacaridasas.

El interés del estudio de las carbohidrasas en el intestino y sacos ciegos pilóricos en el paiche, considerando su hábito alimenticio, radica en conocer la habilidad de la modulación de los procesos digestivos en respuesta al cambio de dieta de una natural a una balanceada (CASTILLO, 2008); ya que otros carnívoros presentan una limitada habilidad de adaptación a dietas con altos niveles de carbohidratos (SANTIGOSA, 2006). Por lo tanto, los altos niveles de carbohidratos en la dieta pueden causar disturbios metabólicos en los peces carnívoros (ROTTA, 2003). Sin embargo, los sustratos utilizados fueron sensibles a las enzimas presentes en el homogenizado, mostrando diferentes niveles de hidrólisis de maltosa, a excepción de la sacarosa que no fue hidrolizada, probablemente porque la sacarosa se expresa en niveles muy bajos o quizás nulos. Asimismo, el régimen alimenticio de los juveniles de paiche no afectó la actividad de maltasa intestinal (UA/g Proteína). Sin embargo, los ejemplares alimentados con dieta balanceada superaron a los que se alimentaron con pez forraje en un 42,6 % en el segmento 50 % y en un 33,5 % en el segmento 75 %. Los resultados indican que el paiche a pesar de su hábito carnívoro presenta una ligera modulación enzimática y adaptación al alimento balanceado a base maíz (10 %), polvillo de arroz, afrecho de trigo y

almidón de yuca (5 %) como aglutinante, que evidencia la presencia de almidón (LAZO, 2000), que son hidrolizados por la α -amilasa (MARTÍNEZ y RÍOS, 2003) hasta maltosa, sustrato que estimuló la producción de maltasa intestinal, que permite el desdoblamiento del disacárido en glucosa, la forma absorbible de los carbohidratos, que tiene importancia nutritiva como fuente energética en los peces (SANTIGOSA, 2006). Asimismo, en el alimento balanceado utilizado en la alimentación de los peces podemos encontrar maltosa y sacarosa (LAZO, 2000), mientras que el paiche no expresa enzimas del tipo sacarasa; y la maltosa es producto de la hidrólisis del almidón (REBOLLAR, 2002). Sin embargo, los peces carnívoros poseen baja tasa de secreción de amilasa, lo que puede ser una barrera la inclusión de componentes de origen vegetal en su dieta (SILVA, 2008).

Los carnívoros no aprovechan bien los alimentos de origen vegetal (BARROSO *et al.*, 2002), por los altos niveles de carbohidratos (SOARES *et al.*, 2006). Sin embargo, las raciones balanceadas son una alternativa en la alimentación de paiche en crianza intensiva, a pesar de que los paiches aceptan mejor los peces forrajes en comparación con la dieta balanceada.

La actividad de maltasa expresada en UA/mg de mucosa intestinal muestra que los peces alimentados con DB superan en un 65 % a los que consumieron PF, para el segmento medio, en donde se muestra mayor actividad. Al respecto, la adaptación a la dieta se debe considerar desde la

temprana edad (IMBIRIBA, 2001) lo que ayudaría a la modulación enzimática para la digestión de los carbohidratos (PADILLA *et al.*, 2002).

La actividad de la maltasa aumenta de la porción anterior hacia el segmento intestinal medio en donde se observa una máxima de expresión y luego disminuye hacia el segmento posterior. Sin embargo, (BRUDESETH, 1996) sostiene que la actividad de las disacaridasas declina desde la zona proximal hasta la distal. El intestino del paiche presenta dos ciegos pilóricos que son estructuras accesorias que participan también en la hidrólisis de maltosa y dipéptidos, lo cual se evidencia en la presente investigación.

Los paiches obtienen mejores crecimientos alimentados con peces forrajes, en comparación con la dieta balanceada, lo que hace suponer que la naturaleza física de la dieta no permite el aprovechamiento de la dieta (SANDOVAL, 2007). Asimismo, la actividad enzimática de maltasa en los juveniles de paiche alimentados con dieta balanceada en el segmento intestinal medio (14,64 UA/g de proteína) son similares a los observados en ejemplares de paiche de 2,5 años criados en estanques, procedentes de Pucallpa con el mismo régimen de alimentación, cuya actividad de maltasa es 15,02 UA/g de proteína, datos que se muestran en el Cuadro 7 del anexo, apéndice 3.

5.2. Actividad enzimática de la dipeptidasa

La harina de pescado (60%) fue el insumo padrón en la elaboración del alimento balanceado de los paiches, por su gran aporte de proteína (60%), además, los otros insumos aportaron proteínas pero en menor porcentaje, lo cual implica la presencia de sustrato para la estimulación de proteinasas que permiten la liberación de dipéptidos en el lumen intestinal como indica SANTIGOSA (2006), y estos, a su vez, estimularon la producción de dipeptidasas citosólicas y de membrana (BUDDINGTON *et al.*, 1997) por lo que los paiches en los regímenes de alimentación sea con dieta balanceada o peces forrajes expresan dipeptidasa los que participan en la digestión final de las proteínas. Asimismo, las actividades de dipeptidasas varían en su expresión en el mismo sentido que las disacaridasas, tal como refiere (BRUDESETH, 1996). Sin embargo, (GUILLAUME *et al.*, 2004) indica que la digestión intracelular se realiza principalmente en la región posterior del intestino.

La actividad de dipeptidasa no se afectó en función a los regímenes de alimentación cuando expresamos en UA/g de proteína, a excepción del segmento anterior, en donde la actividad enzimática de los peces alimentados con PF fue mayor en un 35 % comparando con los ejemplares alimentados con DB. Sin embargo, los ejemplares alimentados a base de peces forrajes superaron en un 29 % de su actividad enzimática, a los animales que consumieron dieta balanceada en los segmentos 50 % y ciegos pilóricos. Asimismo, el tipo de dieta influyó en la actividad de dipeptidasa expresada en UA/g de mucosa intestinal ($P < 0,05$). Por lo tanto, se encuentra niveles

mayores de expresión enzimática en un 19 %, 16 % y 10 % para los segmentos anterior, medio y ciegos pilóricos, respectivamente. En ese sentido, la mayor actividad enzimática observada en juveniles de paiche alimentados con peces forrajes en comparación con aquellos que recibieron dieta balanceada, es el resultado de su expresión genética (REBAZA *et al.*, 1999), y de la presencia de sustrato que estimula la producción de la enzima, ya que consumieron una dieta estrictamente proteica.

La actividad de dipeptidasa en juveniles de paiches alimentados con peces forraje (259 UA/g de proteína) son similares a los observados en paiches de 2,5 años criados en estanques, procedentes de Pucallpa, y alimentados con dieta balanceada (262 UA/g de proteína). Datos que se muestran en el Cuadro 8 del anexo, apéndice 3.

VI. CONCLUSIÓN

Los juveniles de paiche no expresan actividad de sacarasa intestinal, probablemente por la carencia de sustrato en la dieta que no estimuló la producción de la enzima o el hábito alimenticio que genéticamente no le permite expresar enzimas del tipo sacarasa.

El tipo de dieta no afectó la actividad enzimática de maltasa por gramo de proteína intestinal. Sin embargo, cuando se expresa por gramo de mucosa intestinal, evidencia que los animales alimentados con dieta balanceada mostraron mayor actividad enzimática de maltasa.

La expresión enzimática de dipeptidasa por gramo de proteína no se modifica por el tipo de dieta. Asimismo, dicha actividad en gramos por mucosa intestinal expresa una diferenciación en función de los cambios de regimenes de alimentación.

VII. RECOMENDACIONES

Continuar con las investigaciones en bioquímica digestiva del paiche (*Arapaima gigas*) como el conocimiento de las variaciones existentes en su expresión enzimática a lo largo del desarrollo biológico de la especie.

Realizar estudios a nivel metabólico que permita demostrar el nivel y eficiencia en la utilización de la glucosa en el paiche como una fuente energética.

VIII. ABSTRACT

EFFECT OF TWO TYPES FEED ON THE INTESTINAL ENZYMES ACTIVITY IN JUVENILE PAICHES *Arapaima gigas* Cuvier, 1829, RAISED IN CAGES IN TINGO MARÍA

This research work was carried out at the Amazonian Research Center of Biotechnological Development laboratory of the Forest National Agrarian University, Tingo Maria city, Huanuco – Peru, with the objective to evaluate enzymatic activity of sucrase (EC 3.2.1.48) maltase (EC 3.2.1.20) and dipeptidase (3.4.13.11) in the paiche (*Arapaima gigas*) intestinal mucous. Eighty Animals with 437 g average body weight, 35 cm length were randomly distributed in two experimental groups with 4 replicates. They were raised in cages, where received their respective diets as means of extruded balanced (EB) or fish forage (FF). Samples collections were performed after 12 weeks feeding, by killing 4 animals per treatment. Activity enzymatic was determined by means of testing according to Dahlqvist (1967), Kidder and Manners (1980) and Nicholson and Kim (1975) methodology.

Results showed significant differences ($P < 0,05$) using t Student test to enzymatic activity of maltase ($847,00 \pm 30,00$ UA/mg in EB y $513,00 \pm 37,00$

UA/mg in FF) and dipeptidase ($11,41 \pm 0,40$ UA/g in EB and $13,29 \pm 0,58$ UA/g in FF) per intestinal mucous unit. However, when it is expressed by protein intestinal gram showed no significant differences, while intestinal sucrase showed no enzymatic activity. In conclusion, absence of intestinal sucrase maybe due to the lack the lack of substrate in the diet or to the eating habit that can not allow to genetically express sucrase-type enzymes. Likewise, maltase and dipeptidase levels showed variations as means of type of feed, which allow infer that paiche would has a slight enzymatic modulation induced by their respective substrates (maltose and dipeptides repectively) in the intestinal lumen, therefore paiche may has the capacity of digest charbohidrataes until certain level in spite of their feeding habit paiche.

IX. FUENTES DE INFORMACIÓN

- BARROSO, V., Castro, C., Aoki, M., Helmer, L. 2002. Valor Nutritivo de alguns ingredientes para o robalo *Centropomus parallelus*. Rev. Bras. Zoot., Brasília. 31: 2157-2164.
- BRUDESETH B. 1996. Effects of diet composition on apparent nutrient absorption along the intestinal tract and of subsequent fasting on mucosal disaccharidase activities and plasma nutrient concentration in Atlantic salmon *Salmo salar* L. Rev. Aquaculture Nutrition. Norway. 5(2):121-133.
- BUDDINGTON, R. Krogdahl, K., Bakke-McKellep, A. 1997. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. Acta Physiol. Scand. Europe. 161(Supplement 638):67-80.
- CASTILLO, M. 2008. Diferentes aspectos fisiológicos en el esturión *Acipenser naccarii*. Estudio comparado con la trucha. *Oncorhynchus mykiss*. Tesis doctoral. Granada, España. Universidad de Granada. 248 p.

- CASTILLO, W. 1999. Digestibilidade da levedura desidratada (*saccharomyces cerevisiae*) e efeitos da sua utilização sobre a morfologia intestinal, atividade das enzimas digestivas e desempenho de suínos. Tesis PhD. São Paulo, Brasil. Universidade Estadual Paulista, 94 p.
- CRESCÊNCIO, R., ITUASSÚ, D., ROUBACH, R., PEREIRA, M., SAGRATZKI, B., GANDRA, A. 2005. Influência do período de alimentação no consumo e ganho de peso do pirarucu. Rev. Pesq. Agropec. Bras., Brasília. 40(12):217-222.
- GUILLAUME, J., KAUSHIK, S., BERGOT, P., MÉTAILLER, R. 2004. Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. Trad. por Aixa Sopeña, Madrid, España. Mundi Prensa Libros. 475 p.
- IMBIRIBA, E. 2001. Potencial de Criação de pirarucu em cativeiro. Rev. Acta Amazônica, Brasil, Brasília. 31(2): 299-316.
- IMBIRIBA, E., LOURENÇO, J., DE MOURA CARBALHO, L., BRANDÃ, G.L., ULIANA, D., BRITO, F.L. 1996. Criação da pirarucu. EMBRAPA-CPATU. Brasilia, Brasil. 93 p.
- JORNADAS CIENTÍFICO TÉCNICAS. (1., 2005. Andalucía, Marruecos) 2006. Aplicaciones biotecnológicas de las enzimas digestivas en acuicultura. Ed. por J. Moyano López. Marruecos. 3 p. [En línea]: OPAM, (<http://opam.org.es/>, Jornadas y Conferencias, 20 Ene. 2009).

- LAZO, J., 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. *In*: Cruz, L., Ricque, D., Tapia, M., Olvera, M., Civera, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición acuícola. Yucatán, México. p. 300-312.
- MARTÍNEZ, C., RÍOS, M. 2003. Aspectos de la alimentación de los peces y el uso de microagregados en acuicultura. *In*: IV Seminario Internacional de Acuicultura. (1., 2003, Bogotá, Colombia). 2003. Universidad Nacional de Colombia. 15 p.
- MORRIS, H. 2002. Aspectos bioquímicos de la recuperación de ratones balb/c malnutridos con un hidrolizado proteico de *chlorella vulgaris*. *Rev. Cubana aliment. Nutri. Cuba*. 16(1):5-12.
- PADILLA, P. ISMIÑA, R., ALCÁNTARA, F., TELLO, S. 2003. Producción y manejo de alevinos de paiche en ambientes controlados. *In*: Seminario Taller Internacional de Manejo de Paiche o Pirarucu. Ed. por F. Alcántara, V. Montreuil. Iquitos, Perú, IIAP. p. 125-142.
- PADILLA, P., ALDEA, G., ALCANTARA, F. 2002. Adaptación del paiche *Arapaima gigas* a la alimentación con ración artificial. Libro de resúmenes del V Seminario Colombiano de Limnología & I Reunión Internacional de Limnología de alto Amazonas. Colombia. 127 p.
- REBAZA, M., ALCÁNTARA, F., VALDIVIESO, M. 1999. Manual de piscicultura del paiche *Arapaima gigas*. Edit. Manatí gráfico S.A. Caracas, Venezuela. 72p.

- REBOLLAR, M., 2002. Evaluación de indicadores productivos en pollos de engorda al incluir maíz y pasta de soya extruidos y malta de cebada. Tesis MSc. Universidad de Colima. Colima, 134p.
- REIMER, G. 1982. Studies on the enzymatic activities in the gastrointestinal of the *Brycon metanoptoris*. J. Fish Biol., 21:637-642.
- RESENDE, G.. 2006. Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Dissertação Pós-Graduação em Zootecnia. Minas Gerais – Brasil Universidade Federal de Lavras. 112 p.
- ROTTA, A., 2003. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Embrapa Pantanal. Curumba, Brazil. Documento 53:1-58 [En línea]: CPAP-EMBRAPA, (http://www.cpap.embrapa.br/publicaciones_publicaciones, 8 Ene. 2009).
- SANDOVAL, M. 2007. Aspectos de manejo, reproducción y alimentación del paiche (*Arapaima gigas*) en la Amazonía Peruana. IIAP, BIODAMAZ. Documento técnico 8:1-31.
- SANTIGOSA, E. 2006. Modulació dels processos digestius en resposta a la composició de la dieta en orada (*Sparus aurata*) i truita (*Oncorhynchus mykiss*). Tesi Doctoral. Universitat de Barcelona. Barcelona, España. 207 p.

- SEIXAS, J., MOURA, J., TASSIS., A., GORETI., M., LOPES, J., MENIN, E. 2001. Anatomia funcional e morfometria do intestino no teleósteo (Pisces) de água doce Surubim (*Pseudoplatystoma oruscans*-Agassiz, 1829). Viçosa, Brasil. Rev. Bras. Zootec. 30(6): 1670-1680.
- SHAPIRO, F., MAHAGNA, M., NIR, I. 1997. Stunting Syndrome in Broilers: Effect of Glucose or Maltose Supplementation on Digestive Organs, Intestinal Disaccharidases, and Some Blood Metabolites. Poultry Science 76:369–380.
- SILVA, E. 2008. Avanços no cultivo de espécies carnívoras. PUBVET, 2(20):234. [En línea]: PUBVET, (http://www.pubvet.com.br/texto_publicaciones, 15 Ene. 2009).
- SOARES, E., PEREIRA-FILHO, M., ROUBACH, R., ITUASSÚ, D., SILVA, R. (2006). Substituição de proteína animal por proteínas de origem vegetal na dieta para o tucunaré paca *Cichla sp.* Bol. Tec. Cient. Cepnor, 6 (1): 121-131.
- TOBIÁS, A., OLAYA, C., GUEVARA, F., PETRO, G., BRÚ, S. 2006. Ecología trófica de La doncella (*Ageneiosus pardales* Lutken, 1874) en la cuenca del río sinú. Rev. MVZ Córdoba, 11(Supplement 1):37-46.

ANEXO

Apéndice 1. Flujograma de procesos de colecta de muestras y preparación de extracto bruto.

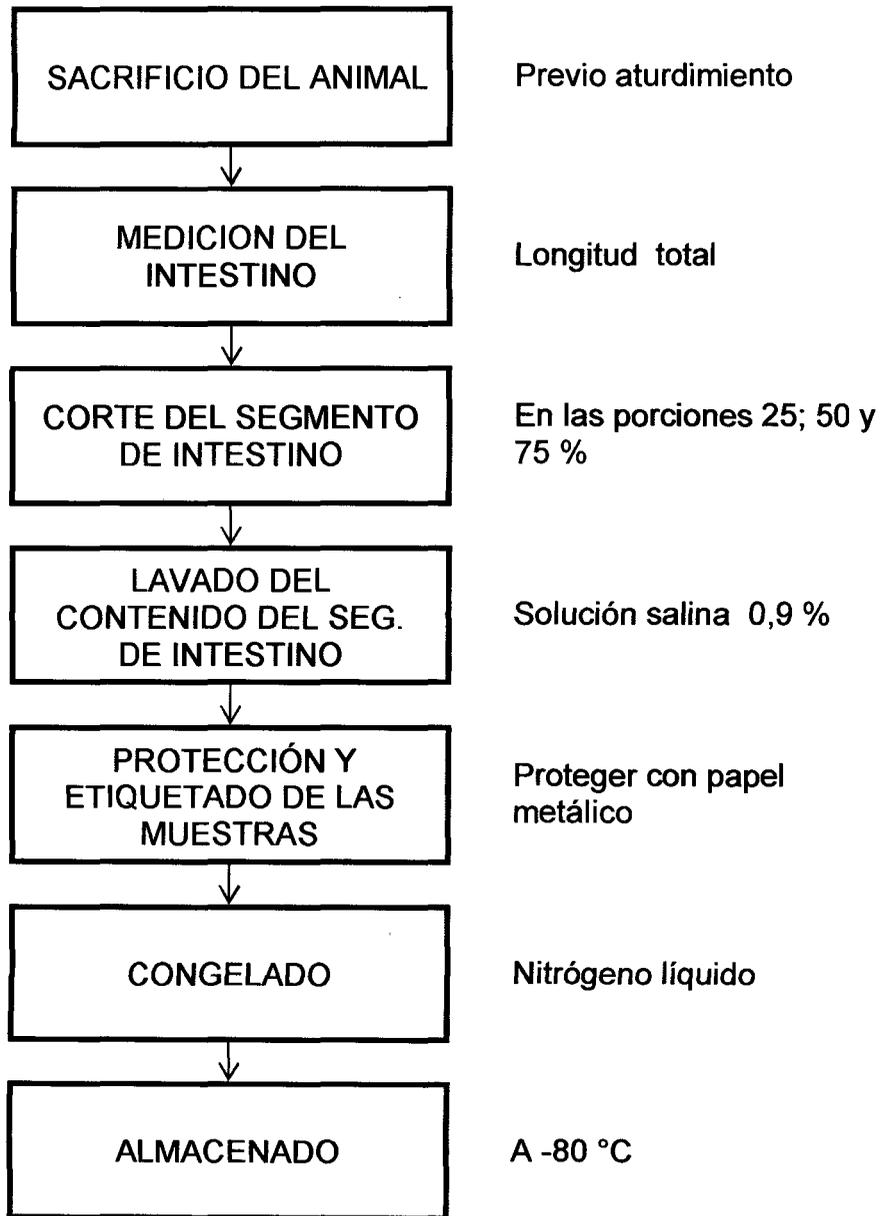


Figura 5. Flujograma de la colecta de muestras de segmento de intestino y ciegos pilóricos de juveniles de paiche.

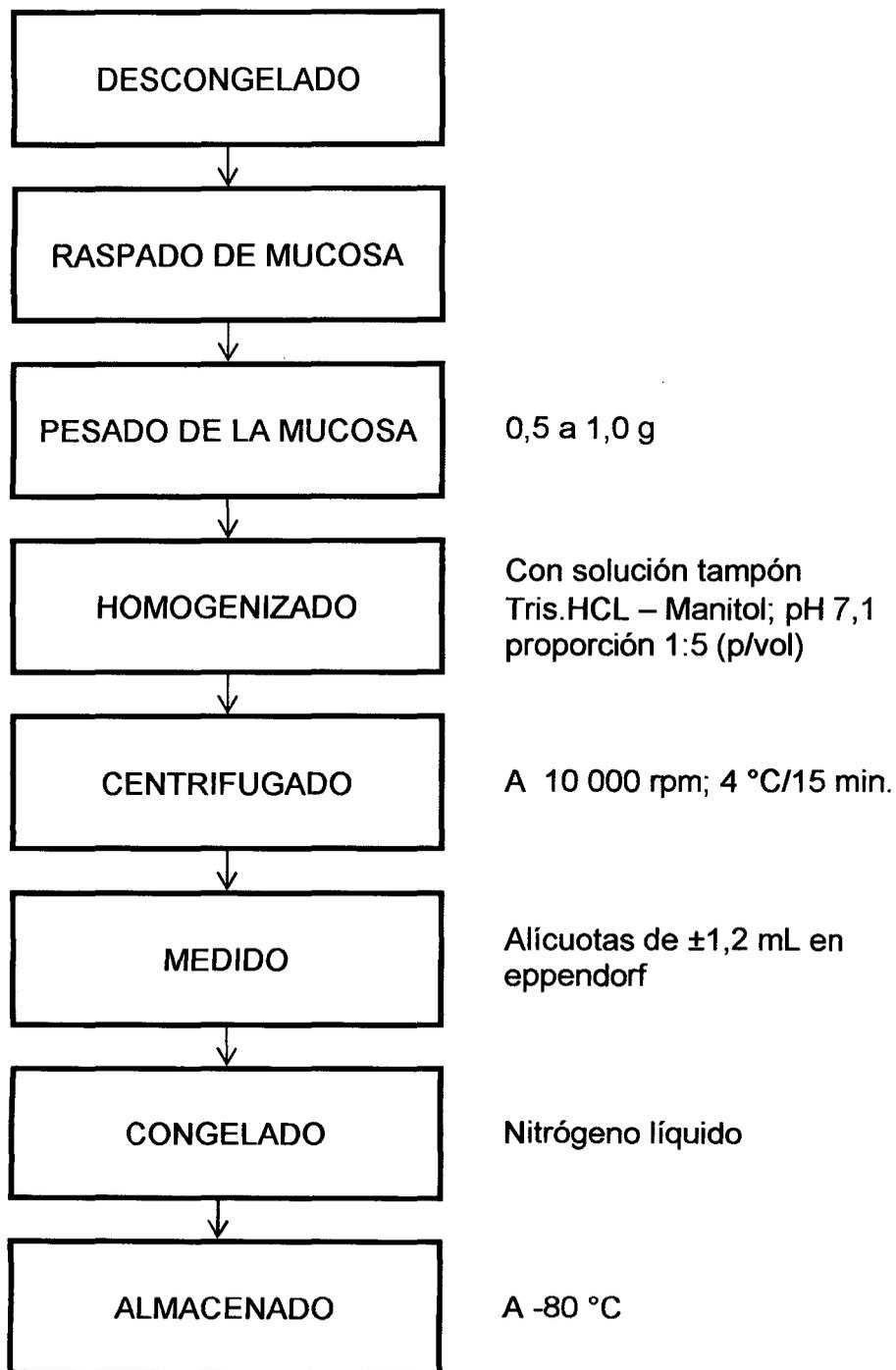


Figura 6. Preparación del extracto bruto de mucosa intestinal y ciegos pilóricos de juveniles de paiche.

Apéndice 2. Curva patrón para los ensayos de maltasa y dipeptidasa.

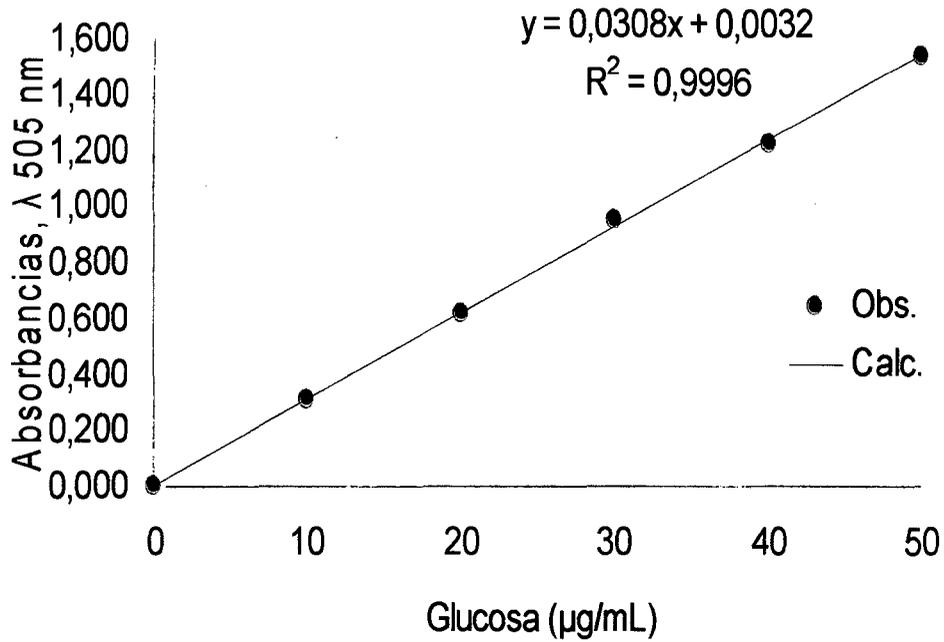


Figura 7. Curva patrón de glucosa

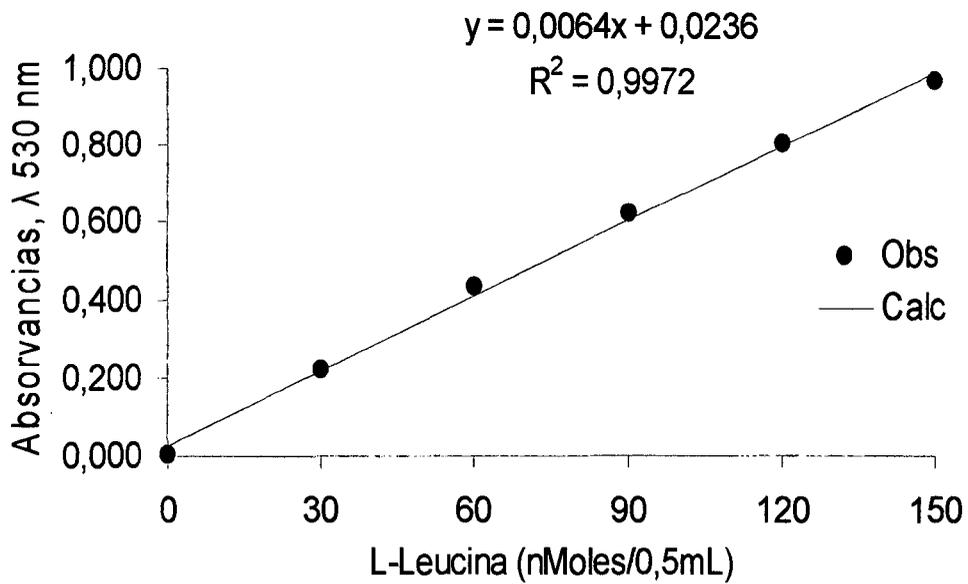


Figura 8. Curva patrón de L-Leucina.

Apéndice 3. Actividad enzimática de paiches (*Arapaima gigas*) de 2,5 años, procedentes de Pucallpa, alimentados con ración balanceada.

Cuadro 7. Actividad de Maltasa intestinal (segmento 50 %) en paiches (*Arapaima gigas*) procedentes de estanques, alimentados con ración balanceada.

N	Talla (cm)	Peso (g)	Maltasa	
			(UA/g Prot.)	(UA/mg MI)
1	77	1950	13,39	304
2	77	2300	13,41	412
3	74	1700	12,45	360
4	72	1700	13,97	520
5	81	2400	15,74	464
6	91	2700	18,85	504
Media ¹	78,67	2125	14,64	427
SD ²	6,77	407,12	2,34	85
SEM	2,39	143,94	0,83	3

¹Valor promedio de las observaciones (N)

²Desviación Estándar

³Error Estándar de la media

Cuadro 8. Actividad de dipeptidasa intestinal (segmento 50 %) en paiches (*Arapaima gigas*) procedentes de estanques, alimentados con ración balanceada.

N	Talla (cm)	Peso (g)	Dipeptidasa	
			(UA/g Proteína)	(UA/g Mucosa)
1	77	1950	276,17	7,84
2	77	2300	150,85	5,79
3	74	1700	252,14	9,12
4	72	1700	298,56	13,89
5	81	2400	313,75	11,56
6	91	2700	278,77	9,32
Media ¹	78,67	2125	261,71	9,59
SD ²	6,77	407,12	58,22	2,84
SEM ³	2,39	143,94	20,58	1,00

¹Valor promedio de las observaciones (N)

²Desviación Estándar

³Error Estándar de la media