

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE BIOLOGIA

**EFFECTO DEL AYUNO EN CARPA, *Cyprinus carpio L.*, EN FUNCION DE LA
MADUREZ SEXUAL: MOVILIZACION DE RESERVAS Y CAMBIOS PLASMATICOS**

Memoria presentada para optar al Grado de
Doctor en Biología por la Universidad de
Barcelona por JOSEFINA BLASCO MINGUEZ.

V. B.

El Director de la Tesis



Dr. Jaume Fernández Borrás

Profesor titular de Universidad

Departamento de Bioquímica y Fisiología

Universidad de Barcelona

Barcelona, Octubre de 1990

4.3. EFECTO DE LA REALIMENTACION TRAS EL AYUNO EN CARPAS

El período de ayuno al que fueron sometidas las carpas (50 días), se puede considerar dentro de los límites de tiempo de un ayuno natural invernal, y por tanto pueden revertirse totalmente sus efectos con una realimentación a base de pienso completo, confirmando los resultados obtenidos por Bouche et al. (1973a) en carpas realimentadas tras un período de ayuno de dos meses. Por tanto, se puede considerar que estas carpas no presentaban un profundo estado de desnutrición, contrastando con las carpas sometidas a ayunos muy severos (11 meses) en los que la realimentación provoca una elevada mortalidad (Bouche et al., 1972).

El incremento de peso corporal en los 12 días de realimentación representó la mitad del total ganado por las carpas control en 62 días (pág. 33), por lo tanto el incremento relativo de peso diario fue superior al de las carpas control. Weatherley y Gill (1981) también indicaron un mayor crecimiento en truchas realimentadas, después de 13 semanas de ayuno, que en las truchas control. Estos resultados indican un incremento en la tasa de crecimiento con la realimentación y, por tanto, una mayor activación de la síntesis protéica. El fuerte incremento en la concentración de ARN hepático en respuesta a la realimentación, observado en carpas (Bouche et al., 1972; 1973c) y en *Notemigonus crysoleucas* (Bulow, 1969), se ha relacionado con una tasa de síntesis protéica superior a la situación control.

Un período de 12 días de realimentación es suficiente como para que el hígado recupere, e incluso supere, el peso inicial, como indica su mayor IHS. Esto avala la idea de que este órgano es mucho más plástico que el resto del organismo, como también han señalado Weatherley y Gill (1987). Sin embargo, este período no es suficiente como para recuperar el peso del músculo, como lo indica el menor IMS observado. Lógicamente esto indica que este tejido ha sido el más afectado durante el ayuno ó también que su reconstitución es más lenta. Aunque no se haya podido cuantificar la pérdida de tejido a los 50 días de ayuno, la disminución de peso observada entre 19 y 50 días también será causada, en parte, por la continuación de la proteólisis muscular; sin embargo, el incremento de peso observado durante el período de realimentación (5%), así como el IMS similar al observado a los 19 días de ayuno, indican una cierta

recuperación del tejido. Los estudios sobre la ultraestructura del músculo en *Pollachius virens* (Beardall & Johnston, 1985), sometido a un ayuno de 74 días y una posterior realimentación de 10 días, revelaron que el músculo había recuperado su integridad miofibrilar perdida con el ayuno; sin embargo, todavía se observaban grandes espacios interfibrilares a consecuencia del menor diámetro de las fibras musculares. Los resultados obtenidos tanto en la concentración de proteínas, como de agua y de P-DNA fueron prácticamente iguales a los obtenidos a los 19 días de ayuno. Estos resultados indicarán también una recuperación de este tejido.

La recuperación del glucógeno hepático y de la glucemia, así como la sobrecarga de glucógeno en músculo indicarán que las necesidades energéticas de los tejidos tras 12 días de realimentación están cubiertas. El efecto de sobrecarga de glucógeno con la realimentación ha sido también observado en *Gadus morhua* (Kamra, 1966; Black & Love, 1986), *Esox lucius* (Ince & Thorpe, 1976a) y *Boleophthalmus boddarti* (Lim & Ip, 1989). Créach (1972) y Shimeno (1982) también observaron una recuperación de la glucemia en carpas realimentadas. La sobrecompensación de glucógeno en los tejidos con la realimentación podría indicar, según Love (1988), una mala regulación de los carbohidratos, pero otros autores han sugerido que éstos podrían servir como fuente energética para la regeneración del tejido (Kamra, 1966; Murat, 1976a; Beardall & Johnston, 1985). El aumento concomitante del glucógeno y de la relación RNA/DNA en el músculo de *Gadus morhua* con la realimentación apoyaría esta idea (Black & Love, 1986).

La concentración de lípidos en hígado en las carpas realimentadas fue inferior a la inicial, e incluso a la observada después de 19 días de ayuno. En músculo también se observaron niveles inferiores a los iniciales, aunque no significativos. Estos resultados indicarán que esta reserva podría haber sufrido una mayor movilización a partir de los 19 días de ayuno. Por otro lado la lenta recuperación de esta reserva podría responder a una lenta recuperación de la actividad lipogénica con la realimentación. En este sentido, Lin et al. (1977) observaron una significativa disminución de la actividad lipogénica hepática tras 28 días de ayuno en salmón, que no se recuperaba tras 2 semanas de realimentación. Black y Love (1986) observaron que las proteínas musculares empezaban a recuperarse antes que los lípidos hepáticos durante la

realimentación de *Gadus morhua*, a pesar de haber sido movilizados en orden inverso. Love (1988) concluyó que la recuperación de las proteínas del músculo tenían prioridad sobre el acúmulo de reservas lipídicas.

En consecuencia, la mayor tasa de crecimiento observada con la realimentación, así como la recuperación parcial o total de las reservas tisulares, indicarán que los procesos de síntesis están marcadamente estimulados con la realimentación después de un ayuno. Machado et al. (1988) también observaron un gran incremento de la incorporación de sustratos marcados en las reservas del hígado y músculo en pez gato realimentado durante 48 horas después de un ayuno de 30 días.

La total recuperación observada de los niveles de insulina favorecerá los procesos de síntesis y, por tanto, activará el crecimiento. La función anabólica de esta hormona en peces, al igual que en mamíferos, ha sido ampliamente demostrada: la administración de insulina *in vivo* estimula la incorporación de glicina-C¹⁴ en las proteínas musculares de *Opsanus tau* (Tashima & Cahill, 1968), *Esox lucius* (Ince & Thorpe, 1976a) y *Rhamnia hildii* (Machado et al., 1988), y de glucosa-C¹⁴ en los lípidos del músculo de esta última especie. Inui e Ishioka (1983a,b) utilizando un sistema *in vitro* en anguila obtuvieron los mismos resultados. Por otro lado, la insulina acelera la deposición de glucógeno cuando se añade a incubaciones de hígado de *Notemigonus crysoleucas* (de Vlaming & Pardo, 1975) o a hepatocitos aislados de salmón (Plisetskaya et al., 1984). El aumento de los niveles de insulina con la realimentación también ha sido observado en trucha (Thorpe & Ince, 1976). La respuesta de la insulina a la realimentación parece ser inmediata, ya que en truchas se han observado niveles máximos a tan solo 30 minutos del inicio de la misma (A. Sundby, comunicación personal).

Aunque el aumento de glucagón fue significativo, no alcanzó, como sí hace la insulina, los valores control. De cualquier modo, los niveles alcanzados por ambas hormonas parecen ser suficientes como para que se restablezcan los niveles normales de glucemia en este período.

El período de realimentación no modificó los niveles de aa plasmáticos. Sin embargo, se ha de señalar que éstos incrementaron significativamente en el grupo control. Ya habían sido observadas variaciones estacionales en los niveles de aa

plasmáticos en carpa (Gessé et al., 1985); así, durante el período de prepuesta (Febrero-Marzo) se observó un incremento en la concentración de aa totales. Por tanto, los altos niveles encontrados en el grupo control responderán a esta ritmicidad estacional. Este incremento también coincidió con los mayores niveles de insulina. Estos resultados indicarán un aumento generalizado del metabolismo del pez y de la necesidad de acumular reservas en esta época de preparación a la puesta. Posiblemente la ausencia de este incremento de los aa en las carpas realimentadas indique una mayor utilización de los mismos en orden a reparar los tejidos afectados durante el ayuno, además de responder a la mayor demanda energética impuesta por el ritmo estacional.

El mayor incremento de los NEAA (+60 %) que de los esenciales (+34 %) en el grupo control podría indicar una mayor captación de estos últimos por la gónada en base a su proliferación. La mayor concentración de aa libres esenciales, que de no esenciales, en la gónada de carpas durante la maduración gonadal (Maksimov, 1969) apoyaría esta idea.

4.4. MOVILIZACION DE RESERVAS DURANTE EL AYUNO EN CARPAS INMADURAS

4.4.1. Glucógeno

Al inicio del experimento, las carpas presentaban concentraciones de glucógeno en hígado, músculo blanco y cerebro similares a las del primer experimento. Dichas concentraciones serían un reflejo de las características de la especie, de la dieta y del momento del año. Sin embargo, dado el mayor peso relativo tanto del hígado (+43%) como del músculo (+34%), el total de esta reserva fue prácticamente el doble en hígado y un 40 % superior en músculo.

La movilización de glucógeno hepático y cerebral observada al final del período de estudio (67 días) en las carpas control, podrían responder a cambios estacionales. A pesar de tratarse de carpas inmaduras, estos peces responderán a los estímulos ambientales (T^a y fotoperíodo) aumentando su actividad y, por tanto, incrementando su demanda energética. Moroz (1971) también observó una disminución del glucógeno hepático (-30%) en carpas inmaduras de un año de edad a finales de marzo, y Valtonen (1974) observó una importante movilización del glucógeno hepático en ejemplares inmaduros de *Coregonus nasus*, durante la primavera. Por otro lado, Breer y Rahman (1974) observaron en *Scardinius eritrophthalmus* que el glucógeno del cerebro sufría fluctuaciones estacionales, con concentraciones más bajas en primavera y verano y más elevadas en otoño e invierno. El hecho de que la movilización de glucógeno cerebral se haya observado en las carpas control de ambos experimentos (Febrero-Marzo) indicará que este parámetro también está sujeto a variaciones estacionales en esta especie, movilizándose en respuesta a la mayor demanda energética que se produce al entrar en la estación primaveral por aumento de actividad de las carpas. La posibilidad de que la disminución del glucógeno de cerebro e hígado sea consecuencia de un factor de *stress* queda descartada, ya que el glucógeno muscular no sufrió modificaciones y los niveles de lactato y glucosa en plasma se mantuvieron estables.

También en este experimento se observó la movilización de glucógeno hepático durante el ayuno; ahora bien, la pérdida energética de esta reserva fue de 906 calorías

a los 50 días de ayuno, que es aproximadamente el doble de la observada a los 19 días de ayuno del primer experimento (439 cal.). Por tanto, se produce una pérdida importante de esta reserva, aunque la disminución en porcentaje fue inferior. Ello fue consecuencia de la movilización de las otras dos reservas (lípidos y proteínas), como se indicará posteriormente. La disminución de glucógeno no continuó a los 67 días de ayuno. Como en el primer experimento de ayuno, se produce una estabilización de esta reserva cuando el hígado posee un 50% de su reserva inicial. Puesto que sólo se realizó un muestreo a los 50 días de ayuno no se puede saber si la estabilización se produjo con anterioridad a este momento. Sin embargo, el mantenimiento de la glucemia, e incluso el incremento paralelo a la de los controles a los 50 días, ha de responder a una activación de la gluconeogénesis y, por tanto, una disminución de la glucogenolisis. Love (1979) y Hilton (1982) señalan que la disminución de esta reserva se produce desde que se inicia el ayuno.

En conclusión, en los dos experimentos de ayuno se moviliza un 50 % del glucógeno hepático y se produce una posterior estabilización de esta reserva. Por lo tanto, al contrario de lo que sugirieron Nagai e Ikeda (1971), esta reserva es rápidamente movilizada en carpa. Respecto a los resultados de estos autores se ha de señalar que no indicaron los IHS de las carpas ayunadas. En los dos experimentos de ayuno se ha observado que la reducción de este índice es consecuencia de la movilización del glucógeno hepático. También se ha indicado que los cambios porcentuales de las reservas pueden no reflejar la movilización real de una reserva ya que se puede producir una variación no proporcional de las otras dos reservas. Así, a pesar de que a los 67 días de ayuno se observa una disminución significativa de la concentración de glucógeno hepático expresado en peso fresco del tejido, la reserva en el total del órgano así como el porcentaje en peso seco no manifiestan este resultado. Una ligera disminución del glucógeno hepático, una mayor movilización de lípidos y una importante hidratación del tejido son los causantes en esta última fase de la disminución porcentual del glucógeno hepático, es decir se diluye. La relación existente entre el glucógeno hepático y el peso del hígado se confirma en este experimento, así como la relación inversa glucógeno-agua.

La preservación del glucógeno del músculo blanco confirma los resultados del primer experimento, indicando de nuevo que esta reserva sólo se movilizará significativamente cuando se produzca una actividad brusca del pez (Bone, 1966; Shulman, 1974), y a no ser por una situación de *stress*, la disminución del metabolismo que se produce con el ayuno favorecerá el mantenimiento de esta reserva.

4.4.2. Lípidos

La mayor concentración de lípidos en hígado (3%) y, sobre todo en músculo (1%) en estas carpas contrasta con la observada en las carpas del primer experimento (2% y 0,6% respectivamente). Estas diferencias porcentuales, junto con los mayores pesos relativos de ambos tejidos y el destacado valor energético de esta reserva hacen que el contenido energético en lípidos sea el doble en hígado y en músculo.

La proporción de lípidos depende de varios factores, como son el estado nutricional (Sheridan et al., 1985) y el estado de desarrollo, particularmente el estado de madurez sexual (Freemont & Marion, 1982). Por tanto, la mayor reserva lipídica de estas carpas responderá tanto a la previa alimentación natural como a la no necesidad de movilización de reservas para la formación de las gónadas al tratarse de carpas inmaduras, contrastando con las carpas del primer experimento. Asimismo, el menor porcentaje de fosfolípidos del total de los lípidos musculares (52%) que presentaban estas carpas, frente al observado en las carpas del primer experimento de ayuno (70%), es un buen indicador de la mayor concentración de lípidos de reserva (triglicéridos) que presentaban estas carpas. En las del primer experimento, como ya se indicó, podría haberse producido una utilización previa de los triglicéridos musculares.

Durante el ayuno se produce en el hígado una movilización de los lípidos, más concretamente de todas las fracciones lipídicas, y sobre todo en la última fase del ayuno, pero sin modificar el porcentaje de lípidos. El hecho de que no se observen modificaciones importantes en el porcentaje de reservas es consecuencia de que en el amplio período de 50 días de ayuno se produce la movilización de las tres reservas en mayor o menor grado, como se indicó en el apartado anterior.

Comparando los resultados de ambos experimentos de ayuno se puede concluir que la movilización de lípidos hepáticos se produce cuando el hígado ha perdido un elevado porcentaje de su principal reserva, el glucógeno. Esto contrasta de nuevo con las observaciones de Nagai e Ikeda (1971) en carpas ayunadas, donde los lípidos hepáticos se movilizaban con anterioridad al glucógeno. Además de las diferencias ya citadas en apartados anteriores, en cuanto al nivel inicial del glucógeno en hígado y tamaño de las carpas utilizadas por estos autores, se ha de añadir que la dieta que utilizaron antes del experimento no era una dieta equilibrada, pues presentaba ausencia total de lípidos y un 50 % de carbohidratos.

El ayuno provocó una importante movilización de los lípidos musculares, manifestada en la reducción de la fracción fosfolipídica a los 50 días y posteriormente afectando a todas las fracciones lipídicas, coincidiendo con lo observado en el primer experimento de ayuno y con otros autores ya citados anteriormente. La correlación positiva entre las proteínas del músculo y los fosfolípidos ($r=0,5213$, $p<0,05$), indicará que la movilización de los lípidos del músculo es consecuencia directa de la intensa hidrólisis protéica que se produce al final del período de ayuno estudiado. Wilkins (1967) también observó durante el ayuno de *Clupea harengus* una reducción de los fosfolípidos del músculo coincidiendo con la movilización de las proteínas e indicó que lo que se produce es una cierta destrucción tisular. La mayor facilidad de los peces en movilizar las proteínas musculares durante el ayuno les permite utilizar los fosfolípidos al mismo tiempo, mientras que en mamíferos el mismo grado de desorganización celular sería desastroso (Love, 1970). La movilización de los lípidos del músculo también contribuye, aunque en menor grado que las proteínas, a la hidratación del tejido (fig. 50), lo cual coincide con los resultados de Ross y Love (1979) en *Gadus morhua*.

4.4.3. Proteínas

La concentración de proteínas hepáticas de las carpas control coincidió con la observada en las del primer ayuno. Como ya se indicó, las proteínas hepáticas juegan principalmente un papel estructural y, por tanto, la constancia en el total del hígado de las proteínas y del P-DNA indicarán que los aumentos porcentuales observados en las carpas control responden a una reorganización celular por movilización de otra reserva, el glucógeno. Esto queda avalado por la relación inversa entre las proteínas hepáticas y el glucógeno en este órgano ($r = -0,6720$, $p < 0,001$).

El aumento porcentual de las proteínas hepáticas con el ayuno responde a la mayor movilización del glucógeno hepático. Sin embargo, aunque las proteínas por célula se mantienen, la reducción de un 41 % en el total del órgano podría indicar una disminución en el número de células. La significativa disminución del P-DNA total del hígado confirmó la destrucción celular. Estos resultados coinciden con los observados en *Gadus morhua* sometido a un ayuno de tres meses (Black & Love, 1986), donde también se redujo en un 44 % la proteína total del hígado con una pérdida significativa del ADN total del órgano. Estos resultados demuestran claramente que los cambios porcentuales que se producen en las reservas tisulares pueden enmascarar los resultados y que la medida más útil y significativa es la cuantificación de los constituyentes en el total del órgano (Black & Love, 1986; Machado et al., 1988). En carpas sometidas a un ayuno de 11 meses, donde la temperatura no superó los 10°C en los 6 primeros meses, no se observaron cambios en el contenido total de ADN hepático (Bouche, 1975); sin embargo, la movilización de reservas, indicada por la reducción del IHS y la hidratación del tejido se observa a partir de los 6 meses de ayuno. Por tanto, el efecto del ayuno no fue tan drástico en esas condiciones.

La movilización de las proteínas del músculo también se manifestó durante el ayuno. A los 50 días de ayuno tan sólo se evidenció a nivel de la reserva total, sin alterar la proporción de la reserva en el músculo. Estos resultados recuerdan lo observado a los 8 días de ayuno en las carpas del primer experimento, de manera que la pérdida calórica de esta reserva en el período de 50 días de ayuno es similar 3662 calorías. Créach (1972) también observó una disminución importante de las proteínas

en el total de la carcasa en carpas a los dos meses de ayuno, tampoco manifestada al expresarlas en porcentaje. La disminución paralela que se produce en el peso del músculo y el peso corporal en este período, constatada por el mantenimiento del IMS a los 50 días, afectará en mayor medida a las proteínas del músculo, por ser la reserva mayoritaria, pero sin alterar la proporción de sus reservas.

El mantenimiento de la glucemia hasta los 50 días de ayuno indicará una intensa activación de la vía gluconeogénica en estas carpas a partir de los aa provenientes de la proteína hepática y, principalmente, de la muscular. El aumento paulatino de los aa en plasma refleja claramente esta situación. Sin embargo, la intensa hidrólisis protéica que se produce en la última fase del ayuno, manifestada por muchos parámetros (hidratación del músculo, reducción del IMS, fuerte aumento del P-DNA por reducción del contenido celular), se acompaña de una disminución de la glucemia (pág. 103); ello indica que la demanda energética en esta última fase del ayuno no es totalmente paliada. Posiblemente el aumento de actividad que se produce en esta época, señalado en el caso de las carpas control, también afecte a las carpas ayunadas. De hecho, la disminución del glucógeno en cerebro, aunque no tan marcada como en los controles, también se produjo. Por tanto, el gran consumo energético de las carpas ayunadas en estos 17 días responderá a la suma de dos factores: ayuno y variación estacional.

4.4.4. Efecto del ayuno sobre los aminoácidos plasmáticos

La concordancia obtenida en las carpas control de ambos experimentos con respecto al nivel de aa totales en plasma, así como la gran similitud obtenida en el patrón de aa individuales, y la confirmación de la relación entre los EAA del plasma y su concentración en dieta evidencian un perfil característico de los aa plasmáticos en carpa para unas mismas condiciones experimentales: 24 horas de ayuno, temperatura de 15°C, momento del año, y principalmente el tipo de dieta (idéntica en ambos experimentos).

El aumento en la concentración de aa plasmáticos durante el ayuno se manifestó en este experimento a los 19 días coincidiendo con el primer experimento. Aunque el

incremento se produjo tanto en los EAA (indicando su procedencia de la proteína endógena) como en los no esenciales, estos últimos sufrieron un mayor incremento. El músculo blanco de carpa se distingue de otros tejidos no sólo por su composición, sino también por la riqueza de su fracción α -amino libre (43 % del nitrógeno soluble) (Créach, 1972). Este mismo autor indicó que el 56 % de esta fracción correspondía a los NEAA, y que tras 8 meses de ayuno, a pesar de la reducción en un 122% en el total del *pool*, la proporción de EAA y NEAA se mantenía.

Por tanto el incremento observado en plasma tanto de los EAA como no esenciales podría ser el reflejo de su disminución en músculo. Posiblemente el mayor aumento de los no esenciales responda a que una parte considerable de los aa son desaminados *in situ* para la síntesis de aquellos aa potencialmente gluconeogénicos, destacando alanina y glutámico. Ambos aa representan un 46 % del total de NEAA. La importancia de la alanina como sustrato gluconeogénico ha sido ampliamente comentada anteriormente. Con respecto al glutamato, Nagai e Ikeda (1972) destacaron su importancia como precursor gluconeogénico en carpa, mientras que en salmónidos no es relevante (Renaud & Moon, 1980a). Posiblemente la salida de aa procedentes del músculo supere la entrada de éstos al hígado, acumulándose en plasma; sin embargo el mantenimiento de la glucemia es un buen indicador de la activación de la vía gluconeogénica, siendo los aa su principal sustrato.

El fuerte incremento que sufrieron los aa en plasma a los 50 días de ayuno contrasta con lo observado en el experimento anterior. Posiblemente la importante pérdida de proteína hepática que se produjo a los 50 días de ayuno, junto con la del músculo explicarán el gran aumento del *pool* plasmático, sin que sea necesario aumentar el flujo gluconeogénico hacia el hígado ya que la glucemia todavía se mantenía a los 50 días de ayuno.

La intensidad de la proteólisis muscular fue máxima en el período comprendido entre 50 y 67 días de ayuno; sin embargo, no queda reflejada en un aumento de la aminoacidemia. Esto indicará que, a la vez que se produce una intensa salida de los aa del músculo, éstos son captados activamente por el hígado; se producirá un fuerte incremento del flujo gluconeogénico en este período, posiblemente mediado por el aumento de glucagón plasmático como comentaremos posteriormente. La necesidad de

activar esta vía para la síntesis *de novo* de glucosa se hace patente ante la significativa disminución de la glucemia, posiblemente como respuesta a una mayor demanda energética en esta última fase (ya comentada en el apartado anterior). A pesar de que el aumento de los niveles de aa totales no fue significativo, es interesante resaltar que el mayor incremento se produjo en los EAA (22 %), mientras que los NEAA se mantuvieron estables. Esto indicará una mayor utilización de éstos últimos frente a los esenciales, confirmando la idea de una preservación parcial de los EAA ya expuesta en el primer experimento.

El único aminoácido que disminuyó fue la alanina, indicando su mayor captación por el hígado. Estos resultados, junto con los observados en el primer experimento de ayuno, confirman la importancia de la alanina como precursor gluconeogénico en la carpa (Nagai & Ikeda, 1973; Zébian & Créach, 1979), como ya se había observado en otros teleósteos (Walton & Cowey, 1982) y elasmobranquios (Leech et al., 1979).

4.4.5. Respuesta de las hormonas pancreáticas al ayuno en carpas inmaduras.

Los niveles de insulina y glucagón plasmáticos en estas carpas contrastan con los observados en las carpas del primer experimento de ayuno, presentando el doble de insulina y la mitad de glucagón. Puesto que la diferencia más destacable entre ambos grupos de carpas era el estado de madurez (adultas y maduras en el primer experimento e inmaduras en este segundo), las diferencias en los niveles de hormonas pancreáticas responderán principalmente a esta causa. Se ha observado en ejemplares inmaduros de *Abramis brama* niveles de insulina plasmática dos veces superiores a los de individuos adultos (Murat et al., 1981). Gutiérrez (1985) también observó mayores insulinemias en juveniles de lubina que en adultos. Estos mayores niveles de insulina en los peces inmaduros pueden ser consecuencia de una intensa alimentación, favoreciendo así la entrada de reservas y por tanto el crecimiento. Con respecto a los niveles de glucagón no existen datos bibliográficos.

Los altos niveles de insulina de estas carpas podrían tener un efecto inhibitor de la secreción de glucagón. Los menores niveles de glucagón de estas carpas podrían favorecer y reforzar la entrada de reservas a los tejidos mediada por la insulina. Sin

embargo, el incremento del peso corporal fue similar en ambos grupos de carpas control. Aún cuando la situación hormonal de estas carpas control del segundo experimento favorezca la captación de sustratos energéticos, el hecho de que no quede reflejado en una mayor tasa de crecimiento puede indicar que una mayor parte de estos sustratos son consumidos para producción de energía y, por tanto, que estos peces presentarán una tasa metabólica más elevada. Umminger (1977) observó que existe una relación directa entre los niveles de glucosa en peces, y en general en toda la escala de vertebrados, con la tasa metabólica. El mayor nivel medio de glucemia durante todo el estudio (54mg/100ml), en comparación al que presentaban las carpas control del primer estudio (35mg/100ml), avalaría esta suposición.

Las fluctuaciones de los niveles de insulina del grupo control (rango: 7-10ng/ml) responderán a una variación estacional de esta hormona, situación ya descrita en peces (Plisetskaya et al., 1976; Murat et al., 1981; Sower et al., 1985; Gutiérrez et al., 1987). Lógicamente, esta variación también se observa en la glucemia, relacionada con la insulina, así como en los niveles de glucógeno en cerebro los cuales responderán a cambios de actividad metabólica de las carpas a lo largo del estudio. A pesar de que el glucagón no manifestó fluctuaciones tan marcadas como la insulina, ambas hormonas están correlacionadas (pág. 105), observándose además una constancia en la relación molar glucagón/insulina en las carpas control durante todo el período estudiado.

La respuesta de las hormonas pancreáticas al ayuno también contrastó con la observada en el primer experimento. Este segundo experimento se caracterizó por el aumento paulatino del glucagón plasmático y la significativa disminución de la insulina y de la glucemia en la fase final.

El mantenimiento de la glucemia hasta los 50 días de ayuno puede responder a tres mecanismos: Primero, un descenso de su consumo por disminución de la tasa metabólica a consecuencia del ayuno; segundo, la síntesis de la glucosa a partir de precursores gluconeogénicos, principalmente los aminoácidos provenientes de la proteólisis muscular; tercero, la contribución del glucógeno hepático. Asimismo, el mantenimiento de la relación molar glucagón/insulina en plasma a 19 días de ayuno se corresponderán con los niveles constantes de glucosa.

La respuesta de la insulina al ayuno en mamíferos es una rápida disminución de sus niveles (Félig, 1979). En este experimento esta disminución se produjo pero con retardo; posiblemente el mantenimiento de los niveles de insulina a los 19 días de ayuno estén en relación con los niveles mantenidos de glucagón en ese momento. La acción insulinoatrófica del glucagón exógeno ha sido demostrada en *Lamprea fluviatilis*, *Scorpaena porcus* (Plisetskaya et al., 1976) y en *Dicentrarchus labrax* (Pérez et al., 1988). Este efecto se observó claramente a los 50 días de ayuno. Así el incremento de insulina responderá al aumento de glucagón y de la glucosa en plasma.

Como ya se indicó en el apartado anterior la intensa proteólisis muscular que se produjo entre 50 y 67 días de ayuno, no se reflejó en un fuerte incremento de la aminoacidemia, indicando por una parte la utilización de los mismos en el propio órgano y principalmente una intensa captación hepática de los aminoácidos. El gran incremento de la relación molar glucagón/insulina, en este último período marcará una intensa activación de la gluconeogénesis hepática, de acuerdo con los resultados de Moon et al. (1989) en trucha los cuales sugirieron que la relación molar entre ambas hormonas era la responsable de la activación de los enzimas gluconeogénicos hepáticos. Sin embargo, Moon et al. (1989) no observaron un incremento del glucagón plasmático, sino una mayor disminución de los niveles de insulina que de glucagón. En nuestro experimento la respuesta del glucagón plasmático al ayuno es similar a la descrita en mamíferos, aunque retardada.

Como ya se indicó anteriormente, la significativa disminución de la glucemia entre 50 y 67 días de ayuno respondería a un aumento de la demanda energética en este período de ayuno, ya observada en las carpas control. La disminución de la insulina, a la vez que bajan los niveles de glucosa en plasma, favorecerá los procesos gluconeogénicos reforzando la acción del glucagón. El papel del glucagón como activador de la gluconeogénesis ya ha sido demostrado en carpa (Murat et al., 1978).

A la vista de las diferencias observadas entre ambos experimentos, en el nivel de las hormonas pancreáticas en plasma, en los niveles totales de reservas al inicio del ayuno, así como en las diferentes respuestas al ayuno, podemos indicar que estas hormonas modulan su respuesta según las necesidades metabólicas del pez. Estas necesidades energéticas estarán influenciadas por el estado de madurez de los peces.

5. CONCLUSIONES

- 1.- El glucógeno representa en carpa la reserva mayoritaria del hígado y tanto su incorporación como su movilización condicionan el peso del órgano. Por lo tanto el IHS es un buen indicador de los cambios que se producen en esta reserva. Por su parte, el músculo presenta una composición porcentual muy constante y prácticamente independiente del peso de la masa muscular total. En consecuencia, no hay una buena correlación con el IMS.
- 2.- Durante el ayuno la reserva principal o mayoritaria de cada órgano es parcialmente intercambiada por agua: en el hígado el glucógeno y en músculo las proteínas.
- 3.- El órgano más afectado cualitativamente en la primera fase del ayuno es el hígado; sin embargo, en cuanto a contenido energético total movilizado el músculo es el más importante (por el tamaño total de este tejido).
- 4.- El glucógeno hepático es la primera reserva movilizada durante el ayuno. Su disminución durante los primeros días de ayuno provoca una hiperglucemia inicial y transitoria y un aumento paralelo del lactato.
- 5.- La movilización del glucógeno hepático a consecuencia del ayuno en carpa, aunque es muy importante y rápida, no provoca un agotamiento de esta reserva, pues cuando se ha reducido un 50% se estabiliza.
- 6.- A medida que el hígado se reduce durante el ayuno la concentración de proteínas hepáticas aumenta a consecuencia de la reducción del volumen celular, evidenciada por el aumento de la concentración de P-DNA.
- 7.- La estabilización del glucógeno hepático, de la glucemia, así como de la disminución de la tasa de pérdida de peso corporal caracterizó una nueva situación metabólica, pasando a ser las proteínas musculares el principal sustrato energético en un ayuno más prolongado.

- 8.- La mayor concentración de lípidos hepáticos que presentaban las carpas inmaduras respecto a las del primer ayuno puso de relieve que esta reserva es movilizada en mayor proporción que en las carpas maduras, lo cual indujo un ahorro en la utilización de proteínas.
- 9.- La movilización de las proteínas musculares durante el ayuno provoca la disminución de los fosfolípidos del músculo, lo cual pone de manifiesto una alteración de las membranas celulares, además de las miofibrillas.
- 10.- La relación directa que se establece entre los aminoácidos esenciales del plasma y su correspondiente concentración en dieta, así como la no relación con los no esenciales, caracteriza el estado nutricional del pez y pone de manifiesto que los aminoácidos no esenciales son metabolizados en mayor grado.
- 11.- En los primeros días de ayuno disminuyen los aminoácidos esenciales en plasma, y entre éstos aún más los de cadena ramificada. En cambio, los no esenciales no experimentan cambios a excepción de la Alanina, que incrementa en gran manera a los 5 días de ayuno manteniéndose hasta los 19 días.
- 12.- En el ayuno a más largo plazo incrementan los aminoácidos plasmáticos, y especialmente los esenciales, de forma paralela a la disminución de la reserva proteica muscular, única fuente endógena de estos aminoácidos durante el ayuno. El menor incremento de los no esenciales indicará que en el ayuno también se produce una mayor utilización de los mismos, preservando en parte a los esenciales.
- 13.- La disminución de los aminoácidos plasmáticos a los 50 días de ayuno indica que las necesidades energéticas de las carpas son paliadas principalmente por estos sustratos. El mantenimiento de los aminoácidos de cadena ramificada en este momento contrasta con el resto, indicando su baja utilización hepática.

- 14.- Tras 12 días de realimentación los parámetros plasmáticos (glucosa, insulina y glucagón) recuperan niveles similares a los controles. Este período de realimentación es suficiente para recuperar la integridad hepática, indicada por la recuperación total de sus reservas, pero no la del músculo. En este tejido, se observó una sobrecarga de glucógeno, aunque su principal componente, las proteínas, aún estaban por debajo de los valores iniciales.
- 15.- Los niveles de hormonas plasmáticas y su dinámica en respuesta al ayuno fueron distintos en los dos experimentos. En las carpas sexualmente maduras los niveles de insulina fueron inferiores, y los de glucagón muy superiores, a los de carpas inmaduras; además, en el primer experimento, las hormonas pancreáticas disminuyeron en mayor proporción durante la primera semana de ayuno.
- 16.- En las carpas inmaduras, hay que destacar el aumento del glucagón plasmático y el descenso de la insulina y de la glucosa en la fase final, cuando se intensificó la hidrólisis proteica muscular. Esta movilización proteica no se reflejó en un mayor aumento de la aminoacidemia, es más la Alanina disminuye en esta fase final.
- 17.- A la vista de las diferencias observadas entre ambos experimentos, en el nivel de hormonas pancreáticas y glucosa en plasma, en los niveles totales y tipo de reservas al inicio del estudio, así como en las diferentes respuestas al ayuno, podemos concluir que las necesidades energéticas del pez se ven influenciadas por el estado de madurez de las carpas y por su composición, y que las hormonas pancreáticas modulan su respuesta según las necesidades metabólicas del pez.

6. BIBLIOGRAFIA

- ABLETT, R.; SINNHUBER, R.; HOLMES, R. & SELIVONCHICK, D. (1981). The effect of prolonged administration of bovine insulin in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 43, 211-217.
- ADIBI, S.A. (1971). Interrelationships between level of amino acids in plasma and tissues during starvation. *Am. J. Physiol.*, 221, 829-832.
- ADIBI, S.A.; MODESTO, T.A.; MORSE, E.L. & AMIN, P.M. (1973). Amino acid levels in plasma, liver, and skeletal muscle during protein deprivation. *Am. J. Physiol.*, 225, 408-414.
- ALEMANY, M. (1973). Algunos aspectos del metabolismo del glucógeno en el mejillón (*Mytilus edulis*L.). Tesis Doctoral. Public. Univ. Barcelona.
- AREVALO, A. (1948). Study of the variation in the chemical composition of the *Trachurus trachurus*. *Bold. Inst. Esp. Oceanogr.*, 8 (13), 91.
- ASTER, P.L. & MOON, T.W. (1981). Influence of the fasting and diet on lipogenic enzymes in the American eel, *Anguilla rostrata* (LeSueur). *J. Nutr.*, 111, 346-354.
- BEAMISH, F.W.H. (1964). Influence of starvation on standard and routine oxygen consumption. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 93, 127-137.
- BEARDALL, C.H. & JOHNSTON, I.A. (1985). The ultrastructure of myotomal muscles of the saithe *Pollachius virens* L. following starvation and refeeding. *Europ. J. Cell. Biol.*, 39, 105-111.
- BERGER, T.S. & PANASENKO, L.D. (1974). Relationship between beginning of spawning migrations and fatness of mature cod. ICES Demersal Fish committee, cm 1974/f23. Pub. International Council for the exploration of the sea, Denmark.
- BILINSKY E. & GARDNER, L.T. (1968). Effect of starvation on free fatty acid level in blood plasma and muscular tissues of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 25, 1555-1560.
- BIRD, J.W.C.; CARTER, J.H.; TRIEMER, R.E.; BROOKS, R.M. & SPANIER, A.M. (1980). Proteinases in cardiac and skeletal muscle. *Fed. Proc.*, 39, 20-55.

- BLACK, E.C.; ROBERTSON, A.C. & PARKER, R. (1961). Some aspects of carbohydrate metabolism in fish. En "Comp. Physiol. Carbohyd. Metabolism in heteroform", (ed. Martin, A.W) pag. 89-124. Seattle.
- BLACK, D. & LOVE, R.M. (1986). The sequential mobilisation and restoration of energy reserves in tissues of Atlantic cod during starvation and refeeding. *J. Comp. Physiol. B*, 156, 469-479.
- BLASCO, J. (1984). Niveles de glucógeno en tejidos de peces. Efecto de la temperatura. Tesina. Univ. Barcelona.
- BLASCO, J.; GUTIERREZ, J.; FERNANDEZ, J. & PLANAS, J. (1988). The effect of temperature on Immunoreactive glucagon plasma level in carp *Cyprinus carpio*. *Rev. esp. Fisiol.*, 44(2), 157-162.
- BLAZKA, P. (1958). The anaerobic metabolism of fish. *Physiol. Zool.*, 31, 117-128.
- BOETIUS, I. & BOETIUS, J. (1967). Studies on the European eel, *Anguilla anguilla* (L.). Experimental induction of the male sexual cycle, its relation to temperature and other factors. *Fisk.-Og. Havunders*, 4, 339-405.
- BONE, Q. (1966). On the function of the two types of myotomal muscle fibre in elasmobranch fish. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 46, 321-349.
- BOUCHE, G.; MURAT, J.C. & PARENT, J.P. (1971). Study of the influence of synthetic (dietary) regimes on protein synthesis and the carbohydrate and lipid reserves in the liver of starving carp. *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 165 (11), 2202-2205.
- BOUCHE, G.; NARBONE, J.F. & SERFATY, A. (1972). Starvation and refeeding in carp (*Cyprinus carpio* L.). III. Influence on polysomal and ribosomal RNA and on the soluble RNA. *Archs. Sci. Physiol.*, 26, 101-109.
- BOUCHE, G.; CREACH, Y.; LACOMBE, C. & NARBONE, J.F. (1973a). Starvation and refeeding in the carp (*Cyprinus carpio* L.) VI. Influence of four methods of refeeding on the nitrogen metabolism. *Archs. Sci. Physiol.*, 27, 25-35.
- BOUCHE, G.; VELLAS, F. & SERFATY, A. (1973b). Influence of total prolonged starvation followed by a period of realimentation on the nucleic acids and the proteins of the white muscle of the common carp. *C. r. Séan. Soc. Biol.*, 167, 148-149.

- BOUCHE, G. (1975). Researches on the nucleic acids and protein synthesis during prolonged starvation and refeeding in carp. Thesis Docteur D'etat mention sciences, Université Paul Sabatier. Toulouse.
- BRANDES, C.H. & DIETRICH, R. (1958). Observations on the correlations between fat and water content and the fat distribution in commonly eaten fish. Veroff. Inst. Mceresforsch. Bremenh., 5, 299-305.
- BREER, H. & RAHMANN, H. (1974). Temperature effect on brain glycogen of fish. Brain Research, 74, 360-365.
- BRETT, J.R. & GROVES, T.D.D. (1979). Physiological energetics. En "Fish physiology, vol. VIII. Bioenergetics and growth". Ed. Hoar, W.S.; Randall, D.J. & Brett, J. R. Academic Press, N.Y./London.
- BULOW, F.J. (1969). Biochemical indicators of recent growth of fishes: RNA and DNA. Ph. D. Thesis, Iowa State University, University Microfilm n° 69-15.600.
- CAHILL, G.F. Jr. (1970). Starvation in man. N. Engl. J. Med. 282: 668.
- CAHILL, G.F. Jr. (1986). Physiology of gluconeogenesis. En "Hormonal control of gluconeogenesis". Vol. 1. Ed. Kraus-Friedmann, N. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fl, pag. 3-13.
- CARNEIRO, N.M. & AMARAL, A.D. (1983). Effects of insulin and glucagon on plasma glucose levels and glycogen content in organs of the freshwater teleost *Pimelodus maculatus*. Gen. Comp. Endocrinol., 49, 115-121.
- CAULTON, M.S. & BURSELL, E. (1977). The relationship between changes in condition and body composition in young *Tilapia rendalli* Boulenger. J. Fish. Biol., 11, 143-150.
- CHAN, D.K. & WOO, N.Y.S. (1978). Effect of glucagon on the metabolism of the Japanese eel. Gen. Comp. Endocrinol., 35, 216-225.
- CHANG, W.M. & IDLER, D.R. (1960). Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration. XII. Liver glycogen. Can. J. Biochem. Physiol., 38, 553-558.
- CHANGE, R.E. (1962). Part II. Free amino acids and related compounds in the plasma of chinook salmon and swine. Purdue Univ. Ph. D. Thesis, Lafayette, Indiana.

- CHERRINGTON, A.D. & VRANIC, M. (1986). Hormonal control of gluconeogenesis *in vivo*. En "Hormonal control of gluconeogenesis". Vol 1. Ed. Kraus-Friedmann, CRC Press. pag. 15-37.
- CHRISTENSEN, H.N.; CURTHOYS, N.P.; MORTIMORE, G.E. SMITH, R.J.; GOLDSTEIN, L. & HARPER, A.E. (1985). En "Interorgan transport". 69th Annual Meeting of the Federation of American Soc. Exp. Biol. California. Federation Proceeding, 45(8), 2165-2183.
- CHRISTIANSEN, D.C. & KLUNGSOYR, L. (1985). Metabolic utilization of nutrients and the effects of insulin in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 88B, 701-711.
- CORDIER, G. (1959). Research on the concentration of cardiac glycogen in freshwater fish. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 153, 435-437.
- CORNISH, I. & MOON, T.W. (1985). Glucose and lactate kinetics in American eel *Anguilla rostrata*. *Am. J. Physiol.*, 249, R67-R72.
- COWEY, C.B.; DAISLEY, K.W. & PARRY, G. (1962). Study of amino acids, free or as components of protein, and of some B vitamins in the tissues of the Atlantic salmon, *Salmo salar*, during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 7, 29-38.
- COWEY, C.B. & SARGENT, J.R. (1979). Nutrition. En "Fish Physiology, vol VIII. Bioenergetics and growth". Ed. Hoar, W.s.; Randall, D.J. & Brett, J.R. Academic Press. N.Y./London.
- CRAIG, J.F. (1977). The body composition of adult perch, *Perca fluviatilis* in Windermere, with reference to seasonal changes and reproduction. *J. Anim. Ecol.*, 46, 617-632.
- CRAWFORD, R.E. (1979). Effect of starvation and experimental feeding on the proximate composition and caloric content of an antarctic teleost, *Notothenia coriiceps neglecta*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 62A, 321-326.
- CREACH, Y. (1967). Transamination entre les acides aminés et l'acide α -cétoglutarique chez la carpe. *Arch. Sc. Physiol.*, 21, 443-448.
- CREACH, Y. (1972). Experimental starvation in carp: nitrogen metabolism and hydromineral equilibrium. Thesis Docteur ès-sciences naturelles, Univ. Paul Sabatier. Toulouse.

- CREACH, Y. & SERFATY, A. (1974). Starvation and refeeding in the carp (*Cyprinus carpio* L.). J. Physiol., Paris, 68, 245-260.
- CREACH, Y. & COURNEDE, C. (1965). Contribution to study of enforced starvation in the carp, *Cyprinus carpio* L.; variations in the amount of water and nitrogen in the tissues. Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse, 100, 361-370.
- CRIM, L.W. (1982). Environmental modulation of annual and daily rhythms associated with reproduction in teleost fishes. Can. J. Fish. Aquat. Scien., 39, 17-21.
- DABROWSKY, K. (1982). Postprandial distribution of free amino acids between plasma and erythrocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Comp. Biochem. Physiol., 72A, 753-763.
- DAMBERGS, N. (1964). Extractives of fish muscle. 4. Seasonal variations of fat, water-solubles, protein, and water in cod (*Gadus morhua* L.) fillets. J. Fish. Res. Board. Can., 21, 703-709.
- DAWSON, A.S. & GRIMM, A.S. (1980). Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and energy content of the carcass, ovaries and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L. J. Fish. Biol., 16, 493-504.
- DE ROOS, R. & DE ROOS, C.C. (1979). Severe insulin induced hypoglycemia in the spiny dogfish shark (*Squalus acanthias*). Gen. Comp. Endocrinol., 37, 186-191.
- DE VLAMING, V.L. (1971). The effects of food deprivation and salinity changes on reproductive function in the estuarine gobiid fish, *Gillichthys mirabilis*. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole, 141, 458-471.
- DE VLAMING, V.L. & PARDO, R.J. (1975). *In vitro* effects of insulin on liver lipid and carbohydrate metabolism in the teleost, *Notemigonus crysoleucas*. Comp. Biochem. Physiol., 51B, 489-497.
- DIANGELO, C.R. & HEATH, A.G. (1987). Comparison of *in vivo* energy metabolism in the brain of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, and bullhead catfish, *Ictalurus nebulosus*, during anoxia. Comp. Biochem. Physiol., 88b, 297-303.
- DICKHOFF, W.W.; YAN, L.; PLISETSKAYA, E.M.; SULLIVAN, C.V. SWANSON, P.; HARA, A. & BERNARD, M.G. (1989). Relationship between metabolic and reproductive hormones in salmonid fish. Fish. Physiol. Biochem., 7, 147-155.

- DRIEDZIC, W.R. & HOCHACHKA, P.W. (1978). Metabolism in fish during exercise. En "Fish Physiology, vol VII. Locomotion". Ed. Hoar, W.S. & Randall, D.J. Academic Press. N.Y./London, pag. 503-543.
- DUNCAN (1955). Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, 11. 1-42.
- DUNN, J.F.; HOCHACHKA, P.W.; DAVISON, W. & GUPPY, M. (1983). Metabolic adjustments to diving and recovery in the African lungfish. *Am. J. Physiol.*, 245, R651-R657.
- ELLIOT, J.M. (1972). Rates of gastric evacuation in brown trout, *Salmo trutta* L. *Freshwater Biol.*, 2, 1-18.
- FALKMER, S. & MATTY, A.I. (1966). Blood sugar regulation in the hagfish, *Myxine glutinosa*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 6, 334-346.
- FELIG, P. (1979). Starvation. En "Endocrinology", vol. 3, (eds. De Groot, L.J.; Cahill, G.F.; Odell, W.D.; Martini, L.; Potts, J.T.; Nelson, D.H.; Steinberg, E. & Winegrad, A.I.). Grune & Stratton. N.Y. 1927-1940.
- FERNANDEZ, J. (1985). Estudio del metabolismo de *Scyliorhinus canicula* L.: Variaciones durante el ciclo anual y efecto del ayuno. Tesis Doctoral. Univ. Barcelona.
- FISKE, C.M. & SUBBAROW, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorous. *J. Biol. Chem.*, 86, 375-400.
- FOLCH, J. & LESS, M. & SLOANE-STANLEY, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- FONTAINE, M. & OLIVEREAU, M. (1963). "Nutrition et sexualité chez les poissons". En "La nutrition chez les poicilothermes" (ed. C.N.R.S), 125-152, París.
- FOSTER, G.D. & MOON, T.W. (1987). Metabolism in sea raven (*Hemirhamphus americanus*) hepatocytes: The effects of insulin and glucagon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 66, 102-115.
- FOSTER, G.D. & MOON, T.W. (1989). Insulin and the regulation of glycogen metabolism and gluconeogenesis in American eel hepatocytes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 73, 374-381.

- FRAGA, F. (1956). Determinación de glucógeno en moluscos con el reactivo de antrona. Investigaciones Pesqueras, 3, 69.
- FREEMONT, L. & MARION, D. (1982). A comparison of the lipoprotein profiles in male trout (*Salmo gairdneri*) before maturity and during spermiation. Comp. Biochem. Physiol., 73B, 849-855.
- FRENCH, C.J.; MOMMSEN, T.P. & HOCHACHKA, P.W. (1981). Amino acid utilization in isolated hepatocytes from rainbow trout. Eur. J. Biochem., 113, 311-317.
- FRENCH, C.J.; HOCHACHKA, T.P. & MOMMSEN, T.P. (1983). Metabolic organization of liver during spawning migration of sockeye salmon. Am. J. Physiol., 245, R827-R830.
- GAS, N. (1972). Structural alterations in the white muscle of carp (*Cyprinus carpio* L.) during prolonged starvation. C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., París, 275, ser. D, 1403-1406.
- GAS, N. (1973). Cytophysiology of the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.). II. Modes of alteration of the ultrastructures during prolonged experimental starvation. J. Physiol., París, 66, 283-302.
- GAS, N. & SERFATY, A. (1972). Cytophysiology of the liver of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Consecutive modifications to the ultrastructure during maintenance of conditions of winter starvation. J. Physiol., París, 64, 57-67.
- GELFAND, R.A. & SHERWIN, R.S. (1983). Glucagon and starvation. En "Handbook of experimental pharmacology". Vol 66. Ed. Lefebvre, P.J. Berlin. pag. 223-237.
- GESSE, J.M.; BLASCO, J.; FERNANDEZ, J. GUTIERREZ, J. & PLANAS, J. (1985). Aminoácidos libres plasmáticos en *Cyprinus carpio*: variación anual y efecto de la temperatura. (Abstract). XXI Congreso Nacional de la Sociedad española de Ciencias Fisiológicas. Oviedo.
- GLUTH, G. & HANKE, W. (1982). The effect of temperature on physiological changes in carp, *Cyprinus carpio* L., induced by phenol. Ecotoxicol. environment. safety, 7, 373-389.
- GOOD, B.C.A.; KRAMER, H. & SOMOGY, M. (1933). The determination of glycogen. J. Biol. Chem., 100, 491.
- GOODMAN, M.N. & RUDERMAN, N.B. (1980). Effect of age and obesity on organ weights, RNA, DNA, and protein. Am. J. Physiol., 239, 269-276.

- GOODMAN, M.N.; LARSEN, P.R.; KAPLAN, M.M.; AOKI, T.T.; YOUNG, V.R. & RUDERMAN, N.B. (1980). Starvation in the rat. II. Effect of age and obesity on protein sparing and fuel metabolism. *Am. J. Physiol.*, 239, E277.
- GOODMAN, M.N.; MCELANEY, M.A. & RUDERMAN, N.B. (1981). Adaptation to prolonged starvation in the rat: untaiment of skeletal muscle proteolysis. *Am. J. Physiol.*, 241, E321-E327.
- GOSS, R.J. (1964). "Adaptative growth". Academic Press, N.Y./London.
- GOSS, R.J. (1978). "The physiology of growth". Academic Press, New York.
- GUTIERREZ, J.; CARRILLO, M.; ZANUY, S. & PLANAS, J. (1984). Daily rhythms of insulin and glucose levels in the plasma of sea bass *Dicentrarchus labrax* after experimental feeding. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 55, 393-397.
- GUTIERREZ, J. (1985). Hormonas pancreáticas en peces: Variaciones estacionales, efecto del ayuno y de factores ambientales. Tesis Doctoral. Univ. Barcelona.
- GUTIERREZ, J.; FERNANDEZ, J.; BLASCO, J.; GESSE, J.M. & PLANAS, J. (1986). Plasma glucagon levels in different species of fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 63, 328-333.
- GUTIERREZ, J.; FERNANDEZ, J.; CARRILLO, M.; ZANUI, S. & PLANAS, J. (1987). Annual cycle of plasma insulin and glucose of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Fish. Physiol. Biochem.*, 4, 137-141.
- HARDING, D.E.; ALLEN, O.W. & WILSON, R.P. (1977). Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine. *J. Nutr.* 107, 2031-2035.
- HASHIMOTO, R. (1974). Investigation of feeding habits and variation of inhabiting depths with cod (*Gadus macrocephalus*) distributed on the north-eastern fishing ground in Japan. *Bull. Tohoku reg. Fish. Res. Lab.* 33,51-67.
- HAYASHI, S. & OOSHIRO, Z. (1977). Gluconeogenesis in perfused eel liver -effect of starvation, amino-oxyacetate, D-malate, and hormones. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.*, 26, 89-95.
- HEATH, D.F. & CORNEY, P.L. (1973). The effect of starvation, environmental temperature and injury on the rate of disposal of glucose by the rat. *Biochem. J.*, 136, 519.

- HEDING, M. G. (1966). En "Labelled proteins in liver studies". Ed. Danato, L.; Milhaud, G. & Suchis, J. Euratom, Bruselles.
- HERRERA, J. & MUÑOZ, F. (1957). Biological considerations on the chemical composition of the sardine (*Sardina pilchardus* Walb) from Castellón. *Investigación Pesquera*, 7, 33-48.
- HERS, H.G. (1976). The control of glycogen metabolism in the liver. *Annual Review of Biochemistry*, 45: 167-189.
- HERTZ, Y.; EPSTEIN, N.; ABRAHAM, M.; MADAR, Z.; HEPHER, B. & GERTLER, A. (1989). Effects of metformin on plasma insulin, glucose metabolism and protein synthesis in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 80, 175-187.
- HILTON, J.W. (1982). The effect of pre-fasting diet and water temperature on liver glycogen and liver weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during fasting. *J. Fish. Biol.*, 20, 69-78.
- HOCHACHKA, P.W. & SINCLAIR, A.C. (1962). Glycogen stores in trout tissues before and after stream planting. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 19, 127-136.
- HOCHACHKA, P.W. & SOMERO, G.N. (1984). En "Biochemical Adaptation". Princeton University Press, New Jersey.
- HOCHACHKA, P.W.; FIELD, J. & MUSTAFA, T. (1973). Animal life without oxygen: basic biochemical mechanisms. *Am. Zoologist.*, 13, 543-555.
- IDLER, D.R. & CLEMENS, W.A. (1959). The energy expenditure of Fraser River salmon during the spawning migration to Chiko and Stuart Lakes. *Int. Pac. Salmon Fish. Comm. Prog. Rep.*, 1959.
- IDLER, D.R. & BITNERS, I. (1960). Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration. IX. Fat, protein and water in the major internal organs and cholesterol in the liver and gonads of the standard fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 17, 113-122.
- INCE, B.W. & THORPE, A. (1974). Effects of insulin and of metabolite loading on blood metabolites in European Silver eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 23, 460-471.
- INCE, B.W. & THORPE, A. (1976a). The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the northern pike, *Esox lucius* L. *J. Fish. Biol.*, 8, 79-88.

- INCE, B.W. & THORPE, A. (1976b). The *in vivo* metabolism of ^{14}C -glucose and ^{14}C -glycine in insulin treated northern pike, *Esox lucius* L. Gen. Comp. Endocrinol., 28, 481-486.
- INCE, B.W. & THORPE, A. (1977a). Glucose and amino acid stimulated insulin release *in vivo* in the European siver eel (*Anguilla anguilla* L.). Gen. Comp. Endocrinol., 31, 249-256.
- INCE, B.W. & THORPE, A. (1977b). Plasma insulin and glucose responses to glucagon and catecholamines in the European silver eel. Gen. Comp. Endocrinol., 33, 453-459.
- INUI, Y. & OSHIMA, Y. (1966). Effect of starvation on metabolism and chemical composition of eels. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 32, 492-501.
- INUI, Y. & YOKOTE, M. (1974). Gluconeogenesis in the eel. I. Gluconeogenesis in the fasted eel. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., Tokyo, 24, 33-45.
- INUI, Y. & YOKOTE, M. (1975). Gluconeogenesis in the eel. III. Effects of mammalian insulin on the carbohydrate metabolism of the eel. Bull. Jap. Soc. Scien. Fish., 41, 1101-1104.
- INUI, Y. & GORBMAN, A. (1977). Sensitivity of Pacific hagfish, *Epratus stouti*, to mammalian insulin. Gen. Comp. Endocrinol., 28, 481.
- INUI, Y. & YOKOTE, M. (1977). Effects of glucagon on amino acid metabolism in Japanese eels, *Anguilla japonica*. Gen. Comp. Endocrinol., 33, 167-173.
- INUI, Y. & ISHIOKA, H. (1983a). Effect of insulin and glucagon on the incorporation of ^{14}C -glycine into the protein of the liver and opercular muscle of the eel *in vitro*. Gen. Comp. Endocrinol., 51, 208-212.
- INUI, Y. & ISHIOKA, H. (1983b). Effects of insulin and glucagon on amino acid transport into the liver and opercular muscle of the eel *in vitro*. Gen. Comp. Endocrinol., 51, 213-218.
- INUI, Y.; ARAI, S. & YOKOTE, M. (1975). Gluconeogenesis in the eel. IV. Effects of hepatectomy, alloxan, and mammalian insulin on the behaviour of plasma amino acids. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., 41, 1105-1111.
- JANSSENS, P.A. (1960). The metabolism of the aestivating African lungfish. Comp. Biochem. Physiol., 11, 105-117.

- JEZIERSKA, B.; HAZEL, J.R. & GERKING, S.D. (1982). Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* R., with attention to fatty acids. *J. Fish. Biol.*, 21, 681-692.
- JOBLING, M. (1980). Effects of starvation on proximate chemical composition and energy utilization of plaice, *Pleuronectes platessa*. *J. Fish. Biol.*, 17, 325-334.
- JOHNSTON, I.A. (1981). Quantitative analysis of muscle breakdown during starvation in the marine flatfish *Pleuronectes platessa*. *Cell. Tissue Res.*, 214, 369-386.
- JOHNSTON, I.A. & GOLDSPINK, G. (1973). Some effects of prolonged starvation on the metabolism of the red and white myotomal muscles of the plaice *Pleuronectes platessa*. *Mar. Biol.*, 19, 348-353.
- KAMRA, S.K. (1966). Effect of starvation and refeeding on some liver and blood constituents of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 23, 975-982.
- KETTELHUT, I.C.; FOSS, M.C. & MIGLIORINI, R.H. (1980). Glucose homeostasis in a carnivorous animal (cat) and in rats fed a high-protein diet. *Am. J. Physiol.*, 239, R437-444.
- LARSSON, A. & LEWANDER, K. (1973). Metabolic effects of starvation in the eel, *Anguilla anguilla* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44A, 367-374.
- LE MAHO, Y.; VAN KHA, H.V.; KOUBI, H.; DEWASMES, G.; GIRARD, J.; PERRE, P. & CAGNARD, M. (1981). Body composition, energy expenditure, and plasma metabolites in long-term fasting geese. *Am. J. Physiol.*, 241: E342-E354.
- LEECH, A.R.; GOLDSTEIN, L.; CHA, C.J. & GOLDSTEIN, J.M. (1979). Alanine biosynthesis during starvation in skeletal muscle of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. *J. Exp. Zool.*, 207, 73-80.
- LEIBSON, L. & PLISETSKAYA, E.M. (1968). Effect of insulin on blood sugar levels and glycogen content in organs of some cyclostomes and fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 11, 381-392.
- LEIBSON, L.; PLISETSKAYA, E.M. & MAZINA, T.L. (1968). The NEFA content in the blood of cyclostomata and fishes and the effect of epinephrine and insulin. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.*, 4, 121.
- LIM, A.L.L. & IP, Y.K. (1989). Effect of fasting on glycogen metabolism and activities of glycolytic and gluconeogenic enzymes in the mudskipper *Boleophthalmus boddarti*. *J. Fish. Biol.*, 34, 349-367.

- LIN, H.; ROMSOS, D.R.; TACK, P.I. & LEVEILLE, G.A. (1977). Effects of fasting and feeding various diets on hepatic lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Nutr., 107, 1477-1458.
- LOVE, R.M. (1958). Studies on the North Sea cod. III. Effects of starvation. J. Sci. Fd. Agric., 9, 617-620.
- LOVE, R.M. (1960). Water content of cod (*Gadus callarias* L.) muscle. Nature, London, 185, 692.
- LOVE, R.M. (1970). En "The chemical biology of fishes". Academic Press, London/N.Y.
- LOVE, R.M. (1980). En "The chemical biology of fishes", vol 2. Academic Press, London/N.Y.
- LOVE, R.M. (1988). En "The food fishes". Farrand Press, London.
- LOVE, M.R.; ROBERTSON, I. & STRACHAN, I. (1968). Studies on the North Sea cod. VI. Effects of starvation. 4. Sodium and Potassium. J. Sci. Fd. Agric., 19, 415-422.
- LOWRY, O.H.; ROSENBRUGH, N.J.; FARR, A.L. & RANDALL, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- LUQUET, P. & WATANABE, T. (1986). Interaction "nutrition-reproduction" in fish. Fish. Physiol. Biochem., 2, 121-129.
- MACHADO, C.R.; GAROFALO, M.A.R.; ROSELINO, J.E.S.; KETTELHUT, I.C. & MIGLIORINI, R.H. (1988). Effects of starvation, refeeding, and insulin on energy-linked metabolic processes in catfish (*Rhamdia hilarii*) adapted to a carbohydrate-rich diet. Gen. Comp. Endocrinol., 71, 429-437.
- MAKSIMOV, V.Y. (1969). The free amino acids contents of the gonads, liver and muscular tissue of silver carp after hibernation. Sb. Prudovomu Rybovodstvu, 12, 163-167.
- MATTY, J.A. & FALKMER, S. (1965). Hormonal control of carbohydrate metabolism in *Myxine glutinosa*. Gen. Comp. Endocrinol., 5, 701-711.
- MAZEAUD, F. (1973). Research on the regulation of free fatty acids in plasma and on blood sugar in fish. These Doct., Paris.



- MIGLIORINI, R.H.; LINDER, C.; MOURA, J.L. & VEIGA, J.A.S. (1973). Gluconeogenesis in a carnivorous bird. *Am. J. Physiol.*, 225, 1389-1392.
- MISLIN, H. (1941). Citado en Gas (1972). *Revue Suisse de zoologie*, 48, suppl. 1-181.
- MOMMSEN, T.P. & MOON, T.W. (1987). The metabolic potential of hepatocytes and kidney tissue in the little skate, *Raja erinacea*. *J. Exp. Zool.*, 244, 1-8.
- MOMMSEN, T.P.; FRENCH, C.J. & HOCHACHKA, P.W. (1980). Sites and pattern of protein and amino acid utilization during the spawning migration of salmon. *Can. J. Zool.*, 58, 1785-1799.
- MOON, T.W. (1983a). Metabolic reserves and enzyme activities with food deprivation in immature American eels, *Anguilla rostrata*. *Can. J. Zool.*, 61 (4), 802-811.
- MOON, T.W. (1983b). Changes in tissue ion contents and ultrastructure of food deprived immature American eels, *Anguilla rostrata*. *Can. J. Zool.*, 61 (4), 812-821.
- MOON, T.W. (1988). Adaptation, constraint, and the function of the gluconeogenesis pathway. *Can. J. Zool.*, 66, 1059-1068.
- MOON, T.W. & JOHNSTON, I.A. (1980). Starvation and the activities of glycolytic and gluconeogenic enzymes in skeletal muscles and liver of the plaice, *Pleuronectes platessa*. *J. Comp. Physiol.*, 136, 31-38.
- MOON, T.W.; FOSTER, G.D. & PLISETSKAYA, E.M. (1989). Changes in peptide hormones and liver enzymes in the rainbow trout deprived of food for 6 weeks. *Can. J. Zool.*, 67, 2189-2193.
- MORATA, P.; VARGAS, A.M.; SANCHEZ-MEDINA, F.; GARCIA, M.; CARNETTE, G. & ZAMORA, S. (1982). Evolution of gluconeogenic enzyme activities during starvation in liver and kidney of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 74B, 65-70.
- MOROZ, I.Y. (1971). Dynamics of metabolism in the carp (*Cyprinus carpio* L.) during overwintering. *J. Ichthyol.*, 11, 592-596.
- MORRISON, M. & BAYSE, G.S. (1970). *Biochemistry*, 9, 2995-3000.

- MURAT, J.C. (1976a). Recherches sur la mobilisation des glucides tissulaires chez la carpe. These Doct. Etat, Toulouse.
- MURAT, J.C. (1976b). Studies on glycogenolysis in carp liver: Evidence for an amylase pathway for glycogen breakdown. *Comp. Biochem. Physiol.*, 55B, 461-465.
- MURAT, J.C.; CASTILLA, C. & PARIS, H. (1978). Inhibition of gluconeogenesis and glucagon-induced hyperglycemia in carp (*Cyprinus carpio* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 34, 243-246.
- MURAT, J.C.; PLISETSKAYA, E.M. & WOO, N.Y.S. (1981). Endocrine control of nutrition in cyclostomes and fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 68A, 149-158.
- N.R.C. (1977). Nutrient requirements of domestic animals. En "Finfish Nutrition and Fishfeed Technology", vol. I-II. Ed. Halver, J.E. & Tiews, K. Heenemann, Berlin. (1979).
- NAGAI, M. & IKEDA, S. (1971). Carbohydrate metabolism in fish. I. Effects of starvation and dietary composition on the blood glucose level and the hepatopancreatic glycogen and lipid contents in carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 37, 404-410.
- NAGAI, M. & IKEDA, S. (1972). Carbohydrate metabolism in fish. III. Effects of dietary composition on metabolism of glucose-U-¹⁴C and glutamate-U-¹⁴C in carp. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, 38, 137-143.
- NAGAI, M. & IKEDA, S. (1973). Carbohydrate metabolism in fish. IV. Effect of dietary composition on metabolism of acetate-U-¹⁴C and L-alanine-U-¹⁴C in carp. *Bull. Jap. Soc. scient. Fish.*, 39, 633-643.
- NARASIMHAN, P.V. & SUNDARAJ, B.I. (1971). Effects of stress on carbohydrate metabolism in the teleost *Notopterus notopterus*. *J. Fish. Biol.*, 3, 441-451.
- NEWSHOLME, E.A. & LEECH, A.R. (1983). Integration of metabolism during starvation, refeeding, and injury. En "Biochemistry for the medical sciences". Ed. Wiley, J. & Sons. pag. 537-547.
- NOLL, F. (1974). En "Methoden der Enzymatischen Analyse", vol II. Ed. Verlag, chemie Weinheim (H.U. Bergmeyer), pag. 1521.

- NOSE, T. (1972). Changes in patterns of free plasma amino acids in rainbow trout after feeding. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., 22, 137-144.
- OTTOLENGHI, C.; PUVIANI, A.C. & BRIGHENTI, L. (1981). Glycogen in liver and other organs of catfish (*Ictalurus melas*): seasonal changes and fasting effects. Comp. Biochem. Physiol., 68A, 313-321.
- OTTOLENGHI, C.; PUVIANI, A.C.; BARUFFALDI, A. & BRIGHENTI, L. (1982). *In vivo* effects of insulin on carbohydrate metabolism of catfish (*Ictalurus melas*). Comp. Biochem. Physiol., 72A, 35-41.
- OWEN, O.E.; MORGAN, A.P. & KEMP, H.G. (1967). Brain metabolism during fasting. J. Clin. Invest., 46, 1589.
- PALOU, A.; REMESAR, X.; AROLA, LL. & ALEMANY, M. (1980). Changes in alanine aminotransferase activity in several organs of the rat induced by a 24 hr. fast. Horm. Metab. Res., 12, 505-508.
- PATENT, G.J. (1970). Comparison of some hormonal effects on carbohydrate metabolism in an elasmobranch (*Squalus acanthias*) and a holocephalon (*Hydrolagus colliei*). Gen. Comp. Endocrinol., 14, 215-242.
- PÁTENT, G.J. & FOÀ, P.P. (1971). Radioimmunoassay of insulin in fishes, experiments *in vivo* and *in vitro*. Gen. Comp. Endocrinol., 16, 41-46.
- PATTERSON, S. & GOLDSPIK, G. (1973). Oxidation of pyruvate and octonate by red and white myotomal muscles of the crucian carp (*Carassius carassius*). Experientia, 29, 629-630.
- PATTERSON, S.; JOHNSTON, I.A. & GOLDSPIK, G. (1974). The effect of starvation on the chemical composition of red and white muscles in the plaice (*Pleuronectes platessa*). Experientia, 30, 892-894.
- PEREZ, J.; GUTIERREZ, J.; ZANUY, S. & CARRILLO, M. (1988). Effects of bovine glucagon on sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Proceeding of 14th Conference of European Comparative Endocrinologists, Salzburg, pag. 201.

- PHILLIPS, A.M.; LOVELACE, F.E.; BROCKWAY, D.R. & BALZER, G.C. (1953). Effect of long periods of starvation upon brook and rainbow trout. *Fish. Res. Bull. NY*, 16, 46.
- PHILLIPS, A.M.; LIVINGSTON, D.L. & DUMAS, R.F. (1960). Effect of starvation and feeding on the chemical composition of brook trout. *Prog. Fish-Cult.*, 22, 147-154.
- PHILLIPS, A.M.; LIVINGSTON, D.L. & POSTON, H.A. (1966). The effect of changes in protein quality, calorie sources and calorie levels upon the growth and chemical composition of brook trout. *Fish. Res. Bull. NY*, 29, 6-14.
- PICUKANS, I. & UMMINGER, B.L. (1979). Comparative activities of glycogen phosphorylase and α -amylase in liver of carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 62B, 455-457.
- PLAKAS, S.M.; KATAYAMA, T.; TANAKA, Y. & DESHIMARU, O. (1980). Changes in the levels of circulating plasma free amino acids of carp (*Cyprinus carpio*) after feeding a protein and an amino acid diet of similar composition. *Aquaculture*, 21, 307-322.
- PLISETSKAYA, E.M. (1968). Brain and heart glycogen content in some vertebrates and effect of insulin. *Endocrinologia Experimentales*, 2, 251-262.
- PLISETSKAYA, E.M. (1972). The effect of glucagon on the blood sugar and liver glycogen in the scorpion fish. *J. Evol. Biochem. Physiol.*, 8, 396-398.
- PLISETSKAYA, E.M. (1975). Hormonal regulation of carbohydrate metabolism of lower vertebrates. *Izdatelstvo Nauka, Leningradskoe otdelenie, Leningrado.*
- PLISETSKAYA, E.M.; LEIBUSH, B.N. & BONDAREVA, V. (1976). The secretion of insulin and its role in cyclostomes and fishes. En "The evolution of pancreatic islets". Ed. Grillo, A.; Leibson, L. & Epple, A. Pergamon, Oxford.
- PLISETSKAYA, E.M.; BTATTUCHRYA, S.; DICKHOFF, W.W. GORBMAN, A. (1984). The effect of insulin on amino acid metabolism and glycogen content in isolated liver cells of juvenile coho salmon, *Oncorhynchus Kisutch*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78A, 773.
- PLISETSKAYA, E.M.; DICKHOFF, W.W.; PAQUETTE, T.L. & GORBMAN, A. (1986). The assay of salmon insulin homologous radio-immunoassay. *Fish. Physiol. Biochem.*, 1, 37-43.

- PLISETSKAYA, E.M.; DONALDSON, E.M. & DYE, H.M. (1987). Plasma insulin levels during the spawning migration of the pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*. J. Fish. Biol., 31, 21-26.
- RENAUD, J.M. & MOON, T.W. (1980a). Characterization of gluconeogenesis in hepatocytes isolated from the American eel, *Anguilla rostrata* LeSueur. J. Comp. Physiol., 135, 115-125.
- RENAUD, J.M. & MOON, T.W. (1980b). Starvation and the metabolism of hepatocytes isolated from the American eel, *Anguilla rostrata* LeSueur. J. Comp. Physiol., 135, 127-137.
- ROBINSON, A.M. & WILLIAMSON, D.H. (1980). Physiological roles of Ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. Physiol. Rev., 60, 143-187.
- ROSS, D.A. (1978). Lipid metabolism of the cod, *Gadus morhua*. Ph. D. Thesis, University of Aberdeen.
- ROSS, D.A. & LOVE, R.M. (1979). Decrease in the cold store flavour developed by frozen fillets of starved cod (*Gadus morhua* L.). J. Food Technol., 14, 115-122.
- ROVAINEN, C.M. (1979). Metabolism of Lamprey brain and meninges. Physiol. Rev., 59 (4), 1077.
- ROVAINEN, C.M.; LOWRY, O.H. & PASSONEAU, J.V.(1969). Levels of metabolites and production of glucose in the lamprey brain. J. Neurochem., 16, 1451-458.
- RUDERMAN, N.B. (1975). Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis. Ann. Rev. Med., 26, 245-258.
- RUDERMAN, N.B.; AOKI, T.T. & CAHILL, G.F. (1976). Gluconeogenesis and its disorders in man. En "Gluconeogenesis; its regulation in mammalian species". Ed. Hanson, R.W. & Mehlman, M.A. John Wiley, London/N.Y., pag. 515-532.
- SÁEZ, L.; ZUVIC, T.; AMTHAUER, R.; RODRIGUEZ, E. & KRAUSKOPF, M.L. (1984). Fish liver protein synthesis during cold acclimatization: Seasonal changes of the ultrastructure of the carp hepatocyte. J. Exp. Zool., 230, 175-186.
- SCHIMMEL, R.J. & KNOBIL, E. (1970). Am. J. Physiol., 217, 1803.

- SEITZ, H.J.; MULLER, M.J.; KRONE, W. & TARNOWSKY, W. (1977). Coordinate control of intermediary metabolism in rat liver by the insulin/glucagon ratio during starvation and after glucose refeeding. Regulatory significance of long-chain acyl-coA and cyclic AMP. Arch. Biochem. Biophys., 183, 647-663.
- SHERIDAN, M.A.; FRIEDLANDER, J.K.L. & ALLEN, W.V. (1985). Chylomicra in the serum of postprandial steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Comp. Biochem. Physiol., 81B, 281-284.
- SHERIDAN, M.A. & PLISETSKAYA, E.M. (1988). Effects of nutritional state on lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon. Abstract. En Am. Zool., 28, 56.
- SHEVCHENKO, V.V. (1972). Dynamics of the content of dry fat-free residue and of lipid content in the body and organs of the North Sea haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) in the course of growth and gonad maturation. J. Ichthyol., 12, 830-837.
- SHIKAMA, H.; YAJIMA, M. & UI, M. (1980). Glycogen metabolism in rat liver during transition from the fed to fasted states. Biochim. Biophys. Acta, 631, 278.
- SHIMENO, S. (1982). En "Studies on Carbohydrate metabolism in fish". Ed. Kothekar, V.S. Balkema/Rotterdam.
- SHIMMA, Y.; ICHIMURA, H. & SHIBATA, N. (1976). Effects of starvation on body weight, lipid contents and plasma constituents of maturing rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., 42, 83-89.
- SHULMAN, G.E. (1974). En "Life Cycles of fish". Wiley, New York.
- SMALLWOOD, W. M. (1916). Twenty months of starvation in *Amia calva*. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole, 31, 453-464.
- SMITH, H.W. (1935). The metabolism of the lung-fish. I. General considerations of the fasting metabolism in active fish. J. Cell. Comp. Physiol., 6, 43-67.
- SORVACHEV, K.F. (1957). Modifications des protéines du sérum sanguin de la carpe pendant l'hivernation. Biokhimiya, 22, 872-878.

- SOWER, S.A.; PLISETSKAYA, E. & GORBMAN, A. (1985). Changes in plasma steroid and thyroid hormones and insulin during final maturation and spawning of the sea lamprey *Petromizon marinus*. Gen. Comp. Endocrinol., 58, 259-269.
- STANECK, E. (1973). Seasonal changes in the electrolyte metabolism in the alewife, *Alosa pseudoharengus*, in lake Michigan. Pr. morsk. Inst. ryb. Gdyni, 17. ser A, 7-26.
- STEFFENS, W. (1964). Die Überwinterung des Karpfens (*Cyprinus carpio* L.) als physiologisches Problem. Z. Fischerei, 12, 97-153.
- STIMPSON, J.H. (1965). Comparative aspects of the control of glycogen utilization in vertebrate liver. Comp. Biochem. Physiol., 15, 187-197.
- STIRLING, H.P. (1976). Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass *Dicentrarchus labrax*. Mar. Biol., 34, 85-91.
- SUÁREZ, R.K. & MOMMSEN, T.P. (1987). Gluconeogenesis in teleost fishes. Can. J. Zool., 65, 1869-1882.
- TAKEUCHI, T.; WATANABE, T.; SATOH, S.; IDA, T. & YAGUCHI, M. (1987). Changes in proximate and fatty acid compositions of carp fed low protein-high energy diets due to starvation during winter. Nippon Suisan Gakkaishi 53 (8), 1425-1429.
- TASHIMA, L. & CAHILL, G.F. (1965). Fat metabolism in fish. En "Handbook of Physiology". Ed. Renold, A.E. & Cahill, G.F.. Sección 5, pag. 55-58. Baltimore.
- TASHIMA, L. & CAHILL, G.F. (1968). Effects of insulin in the toadfish, *Opsanus tau*. Gen. Comp. Endocrinol., 11, 262-271.
- THEILAKER, G.H. (1978). Effect of starvation on the histological and morphological characteristic of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. U. S. Fish Wildl. Serv., Fish. Bull., 76, 403-414.
- THORPE, A. & INCE, B.W. (1974). The effect of pancreatic hormones, catecholamines and glucose loading on blood metabolites in northern pike (*Exos lucius*). Gen. Comp. Endocrinol., 23, 29-44.
- THORPE, A. & INCE, B.W. (1976). Plasma insulin levels in teleost determined by a charcoal-separation radioimmunoassay technique. Gen. Comp. Endocrinol., 30, 332-339.

- TIMOSHINA, L.A. & SHABALINA, A.A. (1972). Effect of starvation on the dynamics of concentration of amino acid and free fatty in rainbow trout. *Hydrobiol. J.*, 8, 36-41.
- UMMINGER, B.L. (1977). Relation of whole blood sugar concentrations in vertebrates to standard metabolic rate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 56A, 457-460.
- UNGER, R.H.; EISENTRAUT, A.M.; McCALL, M.S. & MADISON, L.L. (1961). Glucagon antibodies and an immunoassay for glucagon. *J. Clin. Invest.*, 41, 1280-1289.
- VAITUKARTIS, J.; ROBBINS, J.B.; NIESCHLAG, E. & ROSS, G.T. (1971). A method for producing specific antisera with small doses of immunogen. *J. Clin. Endocrinol.*, 33, 988-991.
- VALTONEN, T. (1974). Seasonal and sex-bound variation in the carbohydrate metabolism of the liver of the whitefish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47A, 713-727.
- VAN WAARDE, A. (1983). Aerobic and anaerobic ammonia production by fish. A review. *Comp. Biochem. Physiol.*, 74B, 675-684.
- WALTON, M.J. & COWEY, C.B. (1979). Gluconeogenesis by isolated hepatocytes from rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 62B, 75-79.
- WALTON, M.J. & COWEY, C.B. (1982). Aspects of intermediary metabolism in salmonids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B, (1), 59-79.
- WALTON, M.J. & WILSON, R.P. (1986). Postprandial changes in plasma and liver free amino acids of rainbow trout fed complete diets containing casein. *Aquaculture*, 51, 105-115.
- WEATHERLEY, A.H. & GILL, H.S. (1981). Recovery growth following periods of restricted rations and starvation in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Biol.*, 18, 195-208.
- WEATHERLEY, A.H. & GILL, H.S. (1987). En "The Biology of fish growth". Academic Press. London.
- WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. & ROGERS, S.C. (1980). The relationship between mosaic muscle fibres and size in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Biol.*, 17, 603-610.
- WEBER, J.M.; BRILL, R.W. & HOCHACHKA, P.W. (1986). Mammalian metabolite flux rates in a teleost: lactate and glucose turnover in tuna. *Am. J. Physiol.*, 250, R452-R458.

- WERNER, W.; REY, H.G. & WIELINGER, H. (1970). On the properties of a new chromogen for the determination of glucose in blood according to the GOD/POD-method. *Z. Analyt. Chem.*, 252, 224.
- WILKINS, N.P. (1967). Starvation of the herring, *Clupea harengus*; survival and some gross biochemical changes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 23, 503-518.
- WILSON, R.P.; HARDING, D.E. & GARLING, D.L. (1977). Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 107, 166-170.
- WINDELL, J.T. (1978). En "Ecology of freshwater Fish production". Ed. Gerking, S.D. Blackwell, Oxford.
- WINGFIELD, J.C. & GRIMM, A.S. (1977). Seasonal changes in plasma cortisol, testosterone and estradiol-17- β in the plaice *Pleuronectes platessa*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 31, 1-11.
- WITTENBERGER, C. & GIURGEA, R. (1973). Transaminase activities in muscle and liver of carp. *Rev. Roum. Biol.*, 18, (6), 441-444.
- YANNI, M. (1962). Effect of starvation on contents of water and lipids of tissues of *Clarias lazera*. *Z. Vergl. Physiol.*, 45, 390-395.
- ZAMMIT, V.A. & NEWSHOLME, E.A. (1979). Activities of enzymes of fat and ketone-body metabolism and effects of starvation on blood concentrations glucose and fat fuels in teleost and elasmobranch fish. *Biochem. J.*, 184, 313-322.
- ZEBIAN, M.F. & CREACH, Y. (1979). Fraction α -aminée libre et dégradation oxydative de quelques acides aminés chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.): Importance des facteurs nutritionnels. En "Finfish Nutrition and fishfeed technology". Ed. Halver, J.E. & Tiews, K. pag. 531-544. Berlin.
- ZEBIAN, M.F. & CREACH, Y. (1982). Influence du jeune sur la vitesse de dgradation de quelques acides amines chez la carpe *Cyprinus carpio*L.). *Ichthyophysiologica Acta*, 6, 10-27.



UNIVERSITAT DE BARCELONA
Divisió de Ciències Experimentals
i Matemàtiques
Facultat de Biologia

