

RESUMEN DE TESIS DOCTORAL**Efectos de las dietas de doble sustitución y las condiciones de cultivo sobre la capacidad digestiva y absorbiva de dorada y lubina****Irene García Meilán**Directora:Dra. M^a Ángeles Gallardo Romero

Defendida el 30 de octubre de 2015 en la Universidad de Barcelona

Realizada en la Facultad de Biología de la Universidad de Barcelona

Mención *cum laude***Resumen**

Tradicionalmente se han utilizado harinas y aceites de pescado en la elaboración de piensos para peces; pero actualmente debido a sus elevados costes y su calidad variable, es necesario buscar fuentes alternativas. Las harinas y aceites vegetales son buenos candidatos por su elevada disponibilidad y bajo coste, pero no debemos olvidar considerar la presencia de factores antinutricionales en los mismos, que repercutirían en última instancia en el crecimiento. En esta tesis se estudian los efectos de la inclusión en la dieta de ingredientes vegetales, sobre los procesos digestivos y absorbivos de dorada y lubina. Se analiza la actividad de las enzimas digestivas (pepsina, proteasa alcalina, amilasa y lipasa), así como la caracterización de la actividad tripsina/quimotripsina, la actividad de enzimas presentes en la membrana intestinal (peptidasas) y la capacidad de absorción de aminoácidos, esenciales y no esenciales, y D-Glc en las diferentes regiones del tracto intestinal (ciegos pilóricos, intestino proximal e intestino distal) en condiciones tanto post-prandiales como a 24h post-ingesta. Ambos procesos son clave para que el aprovechamiento de la dieta sea óptimo; y un mejor conocimiento de su regulación ayudaría a la formulación de dietas de elevada calidad para obtener crecimientos óptimos y buenas eficiencias alimentarias; minimizando la pérdida de alimento y contribuyendo al desarrollo sostenible de la industria acuícola.

En el capítulo I, se estudia la inclusión de almidón de trigo en dietas isoproteicas e isolipídicas y sustituyendo el lípido o la proteína de la dieta por almidón. Los animales alimentados con un 5 o un 14% de almidón *versus* los alimentados con un 22% presentaron menor actividad proteasa y modularon al alza la amilasa, la lipasa y la capacidad de absorción de L-Ala y D-Glc. Cuando se reemplazó el lípido por almidón, no se detectaron cambios en la proteasa, amilasa y lipasa, pero sí en la actividad de los enzimas de membrana y en la capacidad de absorción. Además, una disminución de la proteína dietaria provocó una bajada de la actividad digestiva y de la capacidad de absorción de D-Glc y un incremento de la actividad fosfatasa alcalina. Como conclusión, cuando el almidón de trigo se incorpora a dietas isoproteicas e isolipídicas o el lípido de la dieta se sustituye por almidón, los mecanismos compensatorios observados como cambios del pH intestinal, en enzimas digestivas pancreáticas e intestinales y en la capacidad de absorción, permite a los animales mantener la ingesta total, el FCR y el crecimiento; sugiriendo que los peces son capaces de modular sus procesos digestivos y absorbivos cuando los requerimientos proteicos están cubiertos. Por el contrario, cuando la proteína de la dieta se sustituye por almidón, los mecanismos compensatorios a nivel digestivo y absorbivo no son suficientes y se detecta un incremento significativo del FCR y una disminución de la ingesta voluntaria y del SGR.

El capítulo II estudia el efecto de la relación proteína/lípido en alevines de lubina. En un primer experimento, los animales se alimentaron con dietas isoenergéticas de distinto nivel proteico (40 a 59%), realizado en primavera. Los peces sintetizaron menos enzimas digestivas cuando se alimentaron con dietas de menor contenido proteico y con la alimentación con las dietas extremas incrementaron su actividad digestiva anticipatoria proteasa y amilasa. Además, a menor ingestión de proteína, inferior absorción de L-Lys y D-Glc. Considerando los resultados obtenidos, se formularon dietas isoproteicas (52%) de distinto contenido lipídico (12 a 20%), realizado en otoño-invierno. Los animales alimentados con dietas de menor

contenido energético regularon al alza la actividad digestiva y los alimentados con mayor contenido de lípidos incrementaron la capacidad de absorción de D-Glc y L-Met. Finalmente, se compararon las actividades digestivas y absorptivas de 2 dietas con composición similar pero que diferían en la época de cultivo, P50 en primavera y L18 en otoño-invierno. En éste caso, en otoño-invierno, se detectó una menor síntesis de proteasas y un incremento significativo de la actividad anticipatoria de éstas y de alfa-amilasa, presentando además un menor crecimiento. No se detectaron cambios en la capacidad de absorción. Como conclusión, para alevines de lubina, el estudio sugiere que la relación proteína/lípidos 52:16 es la mejor ya que los animales activan menos mecanismos compensatorios a nivel digestivo y absorptivo. Tanto el elevado contenido de proteína como de lípidos hacen que el proceso digestivo se extienda hacia regiones más distales y además los lípidos interfieren en la actividad proteolítica digestiva. Por el contrario, bajos contenidos de proteína afectan negativamente al crecimiento y junto a bajos contenidos de lípidos activan toda una serie de mecanismos compensatorios a nivel digestivo y absorptivo. Los cambios detectados en el estudio de estacionalidad ponen de manifiesto la existencia de un reloj biológico ya que las condiciones de cultivo fueron exactamente las mismas en ambos casos.

El capítulo III estudia el efecto de la relación proteína/energía en juveniles de dorada utilizando dietas isoenergéticas de diferente contenido proteico (35 a 53%). Los animales alimentados con dietas de menor contenido proteico mostraron una disminución de la actividad proteasa, cambios en el ratio tripsina/quimotripsina en P35 y P38 y un aumento de la capacidad de absorción de L-Lys. Las doradas alimentadas con piensos de mayor contenido de proteína, P50 y P53, mostraron una disminución de la actividad proteasa, cambios en el ratio tripsina/quimotripsina, una tendencia al incremento en la actividad amilasa, y mayor capacidad de absorción de L-Phe, L-Ala, L-Glu y D-Glc, posiblemente debida al bajo contenido de carbohidratos de la dieta. En lo que respecta al SGR fue superior en aquellas dietas de mayor contenido proteico, sin diferencias para las dietas intermedias, y significativamente inferior para P41, P38 y P35, lo que se traduce en un mayor FCR. A modo de resumen, cuando cambia la composición de la dieta, la actividad enzimática digestiva y la capacidad de absorción de nutrientes pueden modularse para mantener un buen crecimiento; de hecho, son las doradas P44 y P47 las que muestran activos en menor número de mecanismos compensatorios. Pueden activarse además otros mecanismos, como el aumento significativo de la ingesta voluntaria, como ocurre en P35 y la tendencia al incremento de la longitud intestinal relativa intentando aprovechar al máximo el alimento ingerido.

El capítulo IV intenta establecer si es mejor administrar por la mañana (M) o por la tarde (A) una dieta con un 40% de carbohidratos digeribles (CH). Se establecieron tres regímenes dietarios: dieta comercial (C), CH-M y CH-A, administrando un 1,6% del peso corporal en la ración matutina y un 1% en la de la tarde. La actividad proteasa ácida anticipatoria fue superior cuando la siguiente comida presentaba mayor contenido proteico. La menor ración administrada por la tarde llevó a una menor secreción pancreática de proteasas y amilasas y una regulación al alza de la capacidad de captación de L-Ala y D-Glc en la situación control (C). La administración de la dieta CH-M hizo incrementar la capacidad de captación de L-Lys, D-Glc y L-Ala tras la alimentación matutina, y una mayor secreción de proteasa alcalina y alpha-amilasa tras la alimentación de la tarde. Por el contrario, cuando los carbohidratos se administran por la tarde (CH-A), sólo se observa una regulación al alza significativa de la capacidad de captación de L-Lys. Los animales CH-M mostraron mecanismos compensatorios en la absorción de nutrientes tras la ración matinal y de actividad enzimática digestiva tras la ración de la tarde, presentando un crecimiento similar a los animales C; en cambio los peces CH-A mostraron un menor crecimiento.

Finalmente, en el capítulo V se estudió, en doradas alimentadas con dietas donde los lípidos provenían del aceite de pescado (FO) o en un 75% tenía un origen vegetal (VO), el efecto de la edad y/o del cambio de una dieta por la otra. Los animales FO de menor tamaño presentaron mayor actividad lipasa y los VO proteasa, amilasa y una tendencia a incrementar la capacidad de absorción de nutrientes. Los cambios de dieta a corto plazo mostraron que independientemente del cambio, cuando éste se realizaba a 92g afectaba negativamente a la actividad proteolítica y amilolítica, así como la capacidad de absorción de L-Lys, L-Ala y D-Glc; mientras que a 147g y 233g la actividad proteolítica mostraba un incremento; la amilolítica aumentaba a los 147g y disminuía a los 233g. Respecto al cambio de dieta a los 147g sólo se ve afectada la capacidad de absorción de L-Lys y a los 233g se detectan un incremento de la captación de L-Trp tras el paso de FO a VO y una disminución en el caso contrario. A largo plazo los peces que acabaron su crecimiento con VO presentaron más mecanismos de compensación que los que lo acabaron con FO. Como conclusiones, en dorada: 1) el pH intestinal, la actividad proteasa, alpha-amilasa, lipasa y la capacidad de absorción de nutrientes disminuyen a medida que el animal crece; 2) los procesos digestivo y absorptivo pueden modularse por el perfil lipídico de la fuente de lípidos de la dieta; 3) los animales pequeños no son capaces de adaptar su actividad enzimática digestiva y/o capacidad de absorción de nutrientes a la nueva condición alimentaria tras un cambio de dieta a largo plazo, mientras que los peces de mayor tamaño normalmente se adaptan; y 4) tras un cambio de dieta a largo plazo, los animales son capaces de adaptar su capacidad digestiva y absorptiva a la nueva condición alimentaria, y el peso final no se ve afectado por el tratamiento dietario.

Palabras clave: enzimas digestivas, enzimas de membrana, capacidad de absorción, dietas de sustitución

Publicaciones de la Tesis

Enlace al documento completo: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/68646>

García-Meilán I., Valentín J.M., Fontanillas, R., Gallardo M.A. (2013). Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. *Aquaculture* 412-413, 1-7.

García-Meilán I., Ordoñez-Grande B., Gallardo M.A. (2014). Meal timing affects protein-sparing effect by carbohydrates in sea bream: Effects on digestive and absorptive processes. *Aquaculture* 434, 121-128.

García-Meilán I., Ordoñez-Grande, B., Valentín, J.M., Hernández, M.D., García, B., Fontanillas, R., Gallardo M.A. (2016). Modulation of digestive and absorptive processes with age and/or after a dietary change in gilthead sea bream. *Aquaculture* 459, 54-64.

García-Meilán I., Ordoñez-Grande, B., Machahua, C., Buenestado, S., Fontanillas, R., Gallardo M.A. (2016). Effects of dietary protein-to-lipid ratio on digestive and absorptive processes in sea bass fingerlings. *Aquaculture* 463, 163-173.