

Variaciones fisiológicas atribuibles al crecimiento, alimentación y temperatura ambiental en sangre de *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802)*

Coppo, J.A.; Mussart, N.B.; Fioranelli, S.A.; Barboza, N.N.; Koza, G.A.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 03783-425753, E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

Resumen

Coppo, J.A.; Mussart, N.B.; Fioranelli, S.A.; Barboza, N.N.; Koza, G.A.: *Variaciones fisiológicas atribuibles al crecimiento, alimentación y temperatura ambiental en sangre de Rana catesbeiana (Shaw, 1802)*. *Rev. vet.* 16: 2, 74-83, 2005. El objetivo de la investigación fue verificar cambios hemáticos atribuibles al crecimiento, tipo de alimentación y temperatura ambiental en ejemplares de *Rana catesbeiana* mantenidos en criaderos del nordeste argentino. Durante 3 años fueron estudiados 323 animales clínicamente sanos (9 a 21 meses de edad, 50% de cada sexo), asignados a 5 diferentes sistemas de alimentación en establecimientos exentos de calefacción. Los anfibios fueron sometidos a pesajes y extracciones de sangre, a partir de la cual se obtuvieron valores del proteinograma, lipidograma, ionograma, eritrograma, leucograma, enzimograma, glucosa y nitrógeno no proteico. Bajo un diseño completamente aleatorizado se calcularon estadísticas descriptivas y se realizaron análisis de variancia y comparaciones de medias. El avance de la edad se caracterizó por significativas disminuciones de glucosa, triglicéridos, colesterol total, C-HDL, lipoproteína alfa, ácido úrico, calcio, fósforo inorgánico, fosfatasa alcalina, leucocitos totales y linfocitos, así como por aumentos significativos de proteínas totales, albúminas, beta y gamma globulinas, C-LDL, lipoproteína beta, urea, creatinina, potasio, colinesterasa, creatinfosfoquinasa, hematocrito, eritrocitos, hemoglobina y neutrófilos. El tipo de alimento influyó significativamente sobre los indicadores nutricionales y metabólicos; ningún alimento artificial pudo superar los resultados obtenidos con alimentación natural en laguna. El frío ambiental causó significativos aumentos de urea y de numerosas actividades enzimáticas, así como disminuciones significativas de proteínas totales, albúminas, potasio, calcio, fósforo inorgánico, magnesio, hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, leucocitos totales, linfocitos, triglicéridos, colesterol total y glucosa, que se atribuyen al cese de la alimentación durante el letargo invernal. El conocimiento de tales variaciones fisiológicas podría ser útil al momento de establecer el estado nutricional, metabólico y sanitario de estos anfibios, aportando elementos de juicio capaces de optimizar la producción de carne de rana.

Palabras clave: *Rana catesbeiana*, variaciones hemáticas fisiológicas, crecimiento, alimentación, temperatura ambiental.

Abstract

Coppo, J.A.; Mussart, N.B.; Fioranelli, S.A.; Barboza, N.N.; Koza, G.A.: *Physiological variations caused by growing, feeding, and environmental temperature in blood from Rana catesbeiana (Shaw, 1802)*. *Rev. vet.* 16: 2, 74-83, 2005. The aim of this research was to verify hematic changes attributable to growing, feeding, and environmental temperature in *Rana catesbeiana* specimens maintained in hatcheries from northeastern Argentina. During 3 years, 323 clinically healthy animals (9-21 months old, 50% each sex) were studied. They were assigned to 5 different feeding systems, in farms without heating system. Amphibians were submitted to weighing and blood extractions. By conventional laboratory procedures, values from proteinogram, lipidogram, ionogram, erythrogram, leukogram, enzymogram, glucose and non protein nitrogen, were obtained. Using a complete randomized design, descriptive statistics, analysis of variance, and mean comparisons were calculated. Advance of age was characterized by significant decreases of glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL-C, alpha lipoprotein, uric acid, calcium, inorganic phosphorous, alkaline phosphatase, total leukocytes and lymphocytes, as well as significant increases of total protein, albumin, beta and gamma globulin, LDL-C, beta lipoprotein, urea, creatinine, potassium, cholinesterase, creatinophosphokinase, hematocrit, erythrocytes, hemoglobin and neutrophils. Food type

* Proyecto SGCYT-UNNE (PI 01/2003, 17/B-083). Trabajo presentado a la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la UNNE, Corrientes, Argentina, 18 al 21 de octubre de 2005. Recibido: 5 julio 2005 / Aceptado: 4 noviembre 2005

significantly influenced on nutritional and metabolic indicators; no artificial foods could improve the results obtained with natural feeding in a lagoon. Environmental cold caused significant increases of urea and numerous enzymatic activities, as well as significant decreases of total protein, albumin, potassium, calcium, inorganic phosphorous, magnesium, hematocrit, erythrocytes, hemoglobin, total leukocytes, lymphocytes, triglycerides, total cholesterol and glucose, which are attributed to the ceasing of feeding during winter lethargy. Knowledge of such physiological variations could be useful to establish nutritional, metabolic, and sanitary states for these amphibians, contributing with useful data to optimize frog's meat production.

Key words: *Rana catesbeiana*, blood physiological variations, growing, feeding, environmental temperature.

INTRODUCCIÓN

Rana catesbeiana (Anfibia: Ranidae) es un anuro de gran tamaño y rápido desarrollo, originario de Canadá, cuya carne comestible es apreciada por su escaso contenido de grasa y colesterol²². En Argentina su explotación comercial se inició a finales de la década de 1980. La zona nordeste del país es apropiada para la cría de ranas y aventaja a las restantes áreas geográficas por su clima cálido, inviernos moderados y gran disponibilidad de agua dulce, dado que *R. catesbeiana* es una especie eminentemente acuática^{15,17}.

En vida natural este anfibio alcanza la madurez a los 12 meses, con pesos de hasta 300 g; en los criaderos se sacrifica a los 6–7 meses de vida, con pesos medios de 170 g. Se trata de un animal adaptable a la vida en cautiverio, que posee singulares condiciones de rusticidad, precocidad y prolificidad; los reproductores tienen una vida útil de alrededor de 10 años, produciendo de 2.000 a 20.000 huevos por desove²².

En los criaderos la “rana toro” se alimenta con pellets balanceados flotantes en agua, en cuya composición las proteínas fluctúan entre 38 y 45 %, con 3–4 % de grasa, 4–5 % de fibra, 60–70 % de nutrientes digeribles totales y EM = 2100–2200 kcal/kg, a veces suplementados con lombrices y larvas de mosca. *R. catesbeiana* exhibe un crecimiento inicial acelerado hasta los 30 g de peso, etapa donde el consumo diario de alimento es habitualmente del 10 % del peso vivo. En “fase de terminación” (80 g de peso) el consumo disminuye al 3–5 % del peso corporal por día; en adultos, la conversión fluctúa entre índices de 2:1 a 3:1 (3 kg de alimento para producir 1 kg de carne)^{6,22}. Llama la atención la ausencia de información técnica sobre los verdaderos requerimientos nutricionales de este anfibio, cuyo sistema de alimentación se transpoló a partir del utilizado en peces. En los criaderos frecuentemente se registran estados carenciales y canibalismo^{18,22}.

Las ranas son animales ectotermos, cuya temperatura corporal es controlada primordialmente por una fuente externa de calor, en tanto que la capacidad para generar calor metabólico es prácticamente nula por su bajo metabolismo oxidativo. Además, la vida acuática conspira en contra de la reserva de calor, porque el agua posee una gran capacidad para absorber y conducir el calor, que se pierde por conducción⁷. Los anfibios man-

tienen su temperatura corporal aproximadamente 1°C por arriba de la ambiental³⁰. Durante el invierno las ranas sitúan su tasa metabólica en “fase de ahorro” y caen en letargia (“hibernación”), suspendiendo el ingreso de alimentos y utilizando reservas para obtener energía. Algunos anfibios, como *Rana esculenta*, hibernan sumergidas y el intercambio de gases respiratorios se efectúa a través de la piel; *R. catesbeiana* tendría poco desarrollado este mecanismo y no sobreviviría mucho tiempo sumergida¹⁷.

Los cambios de los analitos sanguíneos producidos por el crecimiento, el tipo de alimentación y la temperatura ambiental no han sido aún suficientemente estudiados en las ranas productoras de carne mantenidas en criaderos del nordeste argentino. En anfibios, la concentración de los componentes de la sangre sería poderosamente influenciada por sus peculiares características fisiológicas, tales como ectotermia, ayuno durante el targo invernal, cambios metabólicos y conductuales relacionados a la temperatura exterior, intercambio de agua y solutos a través de la piel, capacidad para modificar la permeabilidad de la vejiga urinaria al agua y gran habilidad para soportar hemodilución y hemoconcentración^{2,5,15,28,38}.

El propósito del estudio fue elucidar los cambios ontogénicos de los analitos sanguíneos de ejemplares de *R. catesbeiana* mantenidos en criaderos del nordeste argentino, así como las variaciones fisiológicas de algunos indicadores nutricionales y metabólicos atribuibles a distintos sistemas de alimentación y épocas del año, en el convencimiento que tales datos aportarán elementos de juicio capaces de optimizar la producción de carne de rana.

MATERIAL Y MÉTODOS

A lo largo de 3 años de estudios, se utilizaron en total 323 ejemplares de *R. catesbeiana* clínicamente sanos (9 a 21 meses de edad, 50 % de cada sexo), provenientes de 4 criaderos de las provincias de Corrientes, Misiones y Formosa. El 40 % de las muestras se tomó en invierno y el 60 % en las restantes estaciones del año. En ningún criadero se utilizó calefacción durante el invierno.

Para el estudio de los indicadores nutricionales se seleccionaron datos de 235 animales adultos (alrededor de 1 año de edad, 50 % de cada sexo) cuya alimenta-

ción había sido homogénea en cada uno de los establecimientos de cría encuestados. Se compararon 5 tipos de alimentación, a saber: dieta 1: pellets balanceados (45% proteínas) + lombrices, 2: alimentación natural (laguna), 3: bofe (16% proteínas), 4: balanceado (45% proteínas) + bofe, 5: balanceado (38% proteínas) + larvas. Estos alimentos se administraron a razón del 4% (\bar{X}) del peso vivo/día.

La sangre se extrajo por punción cardíaca, en horario matutino (7–8 AM) y con el animal bajo ayuno de 24 horas, para eliminar interferencias por ritmo circadiano^{38, 39} y efecto postprandial³. Usando técnicas convencionales^{4, 16, 26} y reactivos Wiener Lab, mediante espectrofotometría, fotometría de llama, electroforesis, densitometría, refractometría y microscopía, se obtuvieron valores del proteinograma, lipidograma, ionograma, eritrograma, leucograma, enzimograma, glucosa y nitrógeno no proteico. El peso vivo se obtuvo utilizando una balanza electrónica.

Se empleó un diseño completamente aleatorizado. La normalidad distributiva fue verificada mediante el test de Wilk–Shapiro y las estadísticas paramétricas incluyeron media aritmética y desvío estándar. El análisis de la variancia (ANOVA) se efectuó por modelo lineal a una vía, previa constatación de la homogeneidad de la variancia mediante test de Bartlett. La comparación de medias se realizó con el test de Tukey. Los cálculos estadísticos se llevaron a cabo con el auxilio de un programa informático (*Statistix 1996*). Para todas las inferencias se estipuló un $\alpha = 5\%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Variaciones atribuibles al crecimiento.

En la Tabla 1 se expone la media aritmética obtenida para cada edad, así como la significación estadística de las diferencias registradas para cada parámetro estudiado. La concentración plasmática de glucosa decreció paulatina pero significativamente en forma inversamente proporcional al avance de la edad, en oposición a los cambios que se registran en seres humanos y animales carnívoros, en los cuales la glucemia aumenta al progresar la edad, alcanzando sus más altos valores en la senescencia⁵.

En el lipidograma, tanto triglicéridos como colesterol total disminuyeron significativamente ante el incremento de la edad, modificaciones ontogénicamente inversas a las del ser humano²⁶ y algunos animales domésticos^{4, 5, 21}. Efectuando las sumatorias del colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (C–HDL) y baja densidad (C–LDL) para cada edad, surge que los valores resultantes también tienden a descender a medida que aumenta la edad, acompañando la declinación del colesterol total. En efecto, tal sumatoria fue de 0,52 g/l para las edades comprendidas entre 9 y 14 meses, descendiendo a 0,38 g/l para las edades entre 15 y 21 meses. Cabe destacar que la sumatoria de C–HDL + C–LDL

nunca es exactamente igual al colesterol total, debido a que parte del colesterol es transportado por quilomicrones y otras lipoproteínas^{20, 26}, que por su escasa magnitud no aparecen en la corrida electroforética sobre gel de agarosa. En consonancia con la declinación de colesterol total, el avance del crecimiento se tradujo en significativas disminuciones de C–HDL, tanto en valores absolutos (9–14 meses = 0,055 g/l versus 15–21 meses = 0,033 g/l) como relativos (9–14 meses = 10,8% versus 15–21 meses = 8,8%). Tales cambios correlacionaron con el descenso de la fracción transportadora de C–HDL (lipoproteína alfa), que fue de 8,3% entre las edades de 9 a 14 meses, y de 6,3% entre los 15 y 21 meses. En términos absolutos (concentración), C–LDL también descendió acompañando la declinación de colesterol total (9–14 meses = 0,465 g/l versus 15–21 meses = 0,345 g/l); pero en términos relativos aumentó desde 89% (9–14 meses) hasta 91% (15–21 meses), concordantemente con el aumento de su proteína transportadora (lipoproteína beta), cuya tasa fue de 91,7% entre las edades de 9 a 14 meses, incrementándose a 93,7% entre las edades de 15 a 21 meses. Análogamente, durante el crecimiento de terneros también se registraría disminución de lipoproteínas alfa e incremento de lipoproteínas beta en el plasma⁵.

En el proteinograma se registraron significativas elevaciones de proteínas totales, paralelas al progreso de la edad. Dado que las globulinas alfa–1 y alfa–2 registraron oscilaciones pequeñas e irregulares, el aumento de la proteinemia necesariamente debe atribuirse al incremento de albúminas y globulinas beta y gamma (diferencias significativas). En el caso de las dos últimas los aumentos quizás respondan a la adquisición de anticuerpos a medida que avanzó la maduración del sistema inmunológico, tal como ocurriría en otras especies^{5, 16}. En el caso de las albúminas, el aumento podría atribuirse a razones ontogénicas, pues está descrito que en etapa de renacuajo, el plasma de los anfibios poseería globulinas pero poca o ninguna albúmina^{15, 30}. Después de la metamorfosis se produciría aumento de proteínas totales y aparición de las albúminas; este fenómeno guardaría relación con la evolución filogénica, pues el pasaje de la vida acuática a la terrestre originó el problema de retener líquido dentro de los vasos. En tal sentido, se ha reportado que en los anfibios las albúminas llegarían a representar el 50% de la proteinemia¹⁷, lo cual implicaría una relación albúmina/globulinas (RAG) cercana a la unidad. En el presente estudio, el crecimiento no alteró significativamente la RAG, cuya media se estableció en tasas de 0,50–0,60, indicando que las albúminas constituyen solo el 35% y las globulinas el 65% de las proteínas del plasma de *R. catesbeiana*.

El avance del crecimiento produjo considerables modificaciones del nitrógeno no proteico en las ranas bajo estudio. Las concentraciones plasmáticas de creatinina se elevaron significativamente al aumentar la edad, cambio que podría relacionarse al incremento de las masas musculares, como está descrito^{5, 32}. Los valores de urea también registraron significativos incrementos en

Tabla 1. Variaciones de los analitos sanguíneos según la edad de las ranas (\bar{x}).

parámetro	edad (meses)											
	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21
Glc (g/l)	0,66 ^a	0,63 ^a	0,49 ^b	0,54 ^{ab}	0,51 ^b	0,48 ^b	0,46 ^b	0,47 ^b	0,47 ^b	0,45 ^b	0,39 ^{bc}	0,41 ^{bc}
Tgl (g/l)	0,62 ^a	0,71 ^a	0,49 ^{ab}	0,55 ^{ab}	0,53 ^{ab}	0,44 ^b	0,47 ^{ab}	0,41 ^b	0,29 ^{bc}	0,36 ^b	0,20 ^{bc}	0,24 ^{bc}
Cl _t (g/l)	0,76 ^a	0,79 ^a	0,60 ^b	0,68 ^{ab}	0,55 ^{bc}	0,67 ^{ab}	0,59 ^b	0,61 ^b	0,55 ^{bc}	0,62 ^b	0,51 ^c	0,54 ^{bc}
Hdl (g/l)	0,06 ^{ab}	0,07 ^a	0,05 ^{ab}	0,06 ^{ab}	0,04 ^{ab}	0,05 ^{ab}	0,04 ^{ab}	0,04 ^{ab}	0,05 ^{ab}	0,02 ^b	0,02 ^b	0,03 ^{ab}
Ldl (g/l)	0,54 ^{ab}	0,59 ^a	0,50 ^{ab}	0,41 ^b	0,37 ^{bc}	0,38 ^b	0,40 ^b	0,32 ^c	0,38 ^b	0,34 ^{bc}	0,31 ^c	0,32 ^c
Lpa (%)	9,0 ^a	10,0 ^a	8,0 ^{ab}	9,0 ^a	8,0 ^{ab}	6,0 ^b	8,0 ^{ab}	8,0 ^{ab}	5,0 ^b	7,0 ^{ab}	5,0 ^b	5,0 ^b
Lpb (%)	91 ^a	90 ^a	92 ^{ab}	91 ^a	92 ^{ab}	94 ^b	92 ^{ab}	92 ^{ab}	95 ^b	93 ^{ab}	95 ^b	95 ^b
Prt (g/dl)	3,81 ^a	3,92 ^a	3,88 ^a	4,11 ^b	4,26 ^b	4,50 ^{bc}	4,37 ^b	4,56 ^{bc}	4,65 ^{bc}	4,83 ^c	4,72 ^{bc}	4,90 ^c
Alb (g/dl)	1,38 ^a	1,36 ^a	1,40 ^a	1,51 ^{ab}	1,49 ^{ab}	1,56 ^{ab}	1,65 ^{ab}	1,60 ^{ab}	1,79 ^b	1,73 ^b	1,81 ^b	1,80 ^b
Ga ₁ (g/dl)	0,15 ^a	0,17 ^a	0,16 ^a	0,15 ^a	0,17 ^a	0,35 ^b	0,16 ^a	0,30 ^b	0,17 ^a	0,13 ^a	0,22 ^c	0,14 ^a
Ga ₂ (g/dl)	0,45 ^a	0,47 ^a	0,45 ^a	0,44 ^a	0,47 ^a	0,56 ^a	0,46 ^a	0,54 ^a	0,47 ^a	0,59 ^a	0,51 ^a	0,57 ^a
Glb (g/dl)	0,65 ^a	0,68 ^a	0,67 ^a	0,66 ^a	0,78 ^{ab}	0,65 ^a	0,75 ^{ab}	0,70 ^{ab}	0,87 ^b	0,91 ^b	0,73 ^{ab}	0,89 ^b
Glg (g/dl)	1,17 ^a	1,24 ^a	1,20 ^a	1,35 ^{ab}	1,35 ^{ab}	1,36 ^{ab}	1,35 ^{ab}	1,40 ^b	1,35 ^{ab}	1,49 ^b	1,45 ^b	1,52 ^b
Rag (score)	0,57 ^a	0,53 ^a	0,56 ^a	0,58 ^a	0,54 ^a	0,53 ^a	0,61 ^a	0,54 ^a	0,62 ^a	0,56 ^a	0,62 ^a	0,58 ^a
Crt (mg/l)	3,12 ^a	3,49 ^a	3,08 ^a	3,55 ^a	3,60 ^a	3,93 ^a	5,48 ^b	5,62 ^b	5,57 ^b	5,80 ^b	7,18 ^c	7,71 ^c
Ure (mg/l)	65 ^a	65 ^a	72 ^a	67 ^a	78 ^a	79 ^a	76 ^a	88 ^{ab}	96 ^{ab}	108 ^b	105 ^b	113 ^b
Uri (mg/l)	19,6 ^a	20,4 ^a	18,0 ^{ab}	18,3 ^{ab}	17,2 ^{ab}	14,1 ^{bc}	12,0 ^{bc}	13,6 ^{bc}	7,5 ^c	8,6 ^c	7,4 ^c	5,3 ^d
Na (meq/l)	129 ^a	124 ^a	113 ^a	126 ^a	116 ^a	115 ^a	117 ^a	103 ^a	117 ^a	122 ^a	109 ^a	111 ^a
K (meq/l)	2,7 ^a	3,2 ^{ab}	3,1 ^{ab}	3,3 ^{ab}	3,5 ^{ab}	3,4 ^{ab}	3,9 ^{ab}	3,8 ^{ab}	3,9 ^{ab}	4,2 ^b	4,3 ^b	4,2 ^b
Ca (mg/dl)	9,7 ^a	9,0 ^a	9,1 ^a	8,2 ^b	8,5 ^b	8,4 ^b	8,2 ^b	8,1 ^b	8,2 ^b	8,0 ^b	8,1 ^b	8,0 ^b
P (mg/dl)	10,9 ^a	10,5 ^a	10,9 ^a	9,2 ^{ab}	10,3 ^a	8,8 ^b	9,5 ^{ab}	8,6 ^b	6,9 ^{bc}	7,2 ^{bc}	6,4 ^{bc}	5,8 ^c
Mg (mg/dl)	2,3 ^a	2,2 ^a	2,8 ^a	2,5 ^a	2,2 ^a	2,0 ^a	1,9 ^a	2,6 ^a	2,8 ^a	1,9 ^a	2,9 ^a	2,7 ^a
Hto (%)	26 ^a	27 ^a	26 ^a	29 ^a	28 ^a	31 ^b	29 ^a	31 ^b	33 ^b	38 ^c	37 ^c	37 ^c
Eri (T/l)	0,35 ^a	0,39 ^b	0,36 ^a	0,41 ^b	0,44 ^b	0,40 ^b	0,47 ^c	0,40 ^b	0,39 ^b	0,48 ^c	0,52 ^d	0,49 ^c
Vcm (fl)	723 ^a	672 ^a	702 ^a	713 ^a	668 ^a	755 ^a	657 ^a	745 ^a	720 ^a	761 ^a	722 ^a	745 ^a
Hgb (g/dl)	5,9 ^a	6,5 ^b	7,0 ^b	6,7 ^b	6,6 ^b	6,7 ^b	6,8 ^b	6,8 ^b	7,4 ^c	6,9 ^b	7,5 ^c	7,7 ^c
Hcm (pg)	174 ^a	181 ^a	169 ^b	163 ^b	150 ^c	167 ^b	158 ^b	166 ^b	155 ^b	144 ^c	143 ^c	148 ^c
Chem (%)	23 ^a	24 ^a	25 ^a	23 ^a	24 ^a	22 ^a	23 ^a	22 ^a	22 ^a	21 ^a	22 ^a	22 ^a
Leu (G/l)	26,4 ^{ab}	28,6 ^a	20,7 ^b	24,8 ^{ab}	20,5 ^b	21,6 ^b	21,3 ^b	18,3 ^b	19,7 ^b	14,5 ^c	16,4 ^{bc}	13,1 ^c
Neu (%)	53,7 ^a	50,0 ^a	52,1 ^a	63,0 ^{ab}	61,3 ^{ab}	63,2 ^{ab}	63,3 ^{ab}	61,0 ^{ab}	65,8 ^{bc}	66,3 ^{bc}	70,2 ^c	73,4 ^c
Lin (%)	40,0 ^a	31,7 ^b	32,4 ^b	29,5 ^b	30,0 ^b	29,0 ^b	26,5 ^{bc}	27,6 ^{bc}	21,8 ^c	24,0 ^{bc}	21,7 ^c	20,5 ^c
Mon (%)	4,2 ^a	4,3 ^a	3,4 ^a	2,2 ^a	2,7 ^a	2,9 ^a	2,3 ^a	3,0 ^a	2,3 ^a	2,9 ^a	2,8 ^a	2,1 ^a
Eos (%)	6,0 ^a	4,5 ^a	8,1 ^a	5,2 ^a	5,2 ^a	3,6 ^a	6,5 ^a	5,1 ^a	6,0 ^a	5,4 ^a	6,2 ^a	5,3 ^a
Bas (%)	3,6 ^a	2,9 ^a	2,8 ^a	3,9 ^a	2,7 ^a	2,9 ^a	3,8 ^a	2,7 ^a	2,9 ^a	3,6 ^a	3,8 ^a	2,9 ^a
Alp (UI/l)	196 ^a	191 ^a	175 ^{ab}	180 ^a	178 ^{ab}	183 ^a	159 ^b	134 ^{bc}	141 ^{bc}	123 ^c	99 ^d	102 ^d
Alt (UI/l)	12 ^a	17 ^a	16 ^a	12 ^a	13 ^a	12 ^a	14 ^a	8 ^a	9 ^a	8 ^a	8 ^a	9 ^a
Ast (UI/l)	59 ^a	65 ^a	53 ^a	75 ^a	51 ^a	59 ^a	45 ^a	52 ^a	41 ^a	27 ^a	30 ^a	39 ^a
Ggt (UI/l)	7 ^a	13 ^a	9 ^a	10 ^a	7 ^a	5 ^a	11 ^a	7 ^a	9 ^a	9 ^a	12 ^a	8 ^a
Ldh (UI/l)	138 ^a	120 ^a	160 ^a	125 ^a	150 ^a	126 ^a	129 ^a	87 ^a	107 ^a	72 ^a	70 ^a	93 ^a
Che (UI/l)	126 ^a	134 ^a	134 ^a	136 ^a	132 ^a	181 ^b	168 ^b	170 ^b	182 ^b	204 ^c	217 ^c	226 ^c
Cpk (UI/l)	280 ^a	318 ^a	302 ^a	346 ^a	335 ^a	419 ^{ab}	422 ^{ab}	458 ^b	580 ^{bc}	557 ^{bc}	618 ^c	572 ^{bc}

\bar{x} : media aritmética. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$). No hay datos para los 17 meses de edad. Las abreviaturas significan: Glc (glucosa), Tgl (triglicéridos), Cl_t (colesterol total), Hdl (colesterol de HDL), Ldl (colesterol de LDL), Lpa (lipoproteína alfa), Lpb (lipoproteína beta), Prt (proteínas totales), Alb (albúmina), Ga₁ (globulina alfa-1), Ga₂ (globulina alfa-2), Glb (globulina beta), Glg (globulina gamma), Rag (relación albúmina/globulinas), Crt (creatinina), Ure (urea), Uri (ácido úrico), Na (sodio), K (potasio), Ca (calcio), P (fósforo inorgánico), Mg (magnesio), Hto (hematocrito), Eri (eritrocitos), Vcm (volumen corpuscular medio), Hgb (hemoglobina), Hcm (hemoglobina corpuscular media), Chem (concentración de Hcm), Leu (leucocitos totales), Neu (neutrófilos), Lin (linfocitos), Mon (monocitos), Eos (eosinófilos), Bas (basófilos), Alp (fosfatasa alcalina), Alt (alanin aminotransferasa), Ast (aspartato aminotransferasa), Ggt (gammaglutamil transferasa), Ldh (lactato dehidrogenasa), Che (butiril colinesterasa) y Cpk (creatin fosfoquinasa).

tre los 9 y 21 meses de edad de las ranas, quizás debido al pasaje gradual del estadio juvenil (patrón amoniotélico) al estadio adulto (patrón ureotélico) ^{7, 10, 30}. Algunas especies de ranas, como excepción, poseerían un patrón

uricotélico de excreción nitrogenada ¹⁷. En el presente estudio, los valores de ácido úrico decrecieron significativamente al avanzar la edad, indicando que en su madurez, *R. catesbeiana* sería eminentemente ureotélica.

En el ionograma sérico también ocurrieron variaciones atribuibles a la ontogenia. El test de comparación de medias fue significativo para las concentraciones de potasio, calcio y fósforo inorgánico ($p < 0,05$), y no significativo para las diferencias de sodio y magnesio. Mientras que el potasio reveló una tendencia incrementativa directamente proporcional al avance de la edad, calcio y fósforo inorgánico registraron un comportamiento opuesto, decreciendo significativamente ante el progreso del crecimiento. De punta a punta, la relación Ca/P aumentó desde 0,8 (9 meses) hasta 1,3 (21 meses). Las disminuciones de calcio y fósforo inorgánico son habituales en los mamíferos en crecimiento^{4, 5, 20, 21}.

En el eritrograma el aumento de la edad se tradujo en significativos aumentos de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina. La hemoglobina corpuscular media (HCM), por el contrario, disminuyó significativamente al avanzar el crecimiento, en tanto que la concentración de HCM (CHCM) y volumen corpuscular medio (VCM) registraron variaciones no significativas. Estos cambios parecerían ser opuestos a los verificados en mamíferos en crecimiento, donde la ontogenia provocaría disminución de la concentración de eritrocitos y aumento del VCM⁵. En el leucograma, el ANOVA declaró diferencias significativas para leucocitos totales, neutrófilos y linfocitos. Interpretando los resultados del test de comparación de medias, surge que la concentración de glóbulos blancos y la proporción de linfocitos tendieron a disminuir con el avance de la edad, en tanto que el porcentaje de neutrófilos mostró una propensión incrementativa. Este comportamiento no resultaría distinto al observado en varias especies de mamíferos en crecimiento, incluyendo al ser humano^{4, 5, 26}.

El enzimograma reveló que las actividades de fosfatasa alcalina (ALP), butiril colinesterasa (CHE) y creatin fosfoquinasa (CPK) registraron variaciones significativas al avanzar la edad. Las enzimas CHE y CPK revelaron una clara tendencia incrementativa, en tanto que la evolución de ALP fue declinante. Las diferencias para alanin aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y lactato dehidrogenasa (LDH) fueron no significativas, no obstante lo cual registraron tendencia decreciente inversamente proporcional al desarrollo. La actividad gammaglutamil transferasa (GGT) mostró escasas oscilaciones, de irregular evolución. Los aumentos de CPK podrían ser relacionados al incremento de la masa muscular producida por el desarrollo, tal como ocurre en otras especies⁵, dado que el origen de esta actividad enzimática es predominantemente muscular^{4, 20, 26}. Teniendo en cuenta que ALP es abundante en los huesos de los anfibios¹², los decrementos registrados para esta enzima quizás deban ser atribuidos a la disminución de la isoenzima ósea de ALP, tal como ocurre en otras especies cuando avanza el desarrollo óseo^{4, 5, 20, 21}. Durante el crecimiento del niño, la actividad ALP puede ser hasta cuatro veces mayor que la del ser humano adulto^{5, 26}.

2. Variaciones atribuibles al tipo de alimentación.

La Tabla 2 expone que, desde el punto de vista de la significación estadística, se registraron 3 categorías de pesos. Los más elevados correspondieron a las ranas criadas en semicautiverio (laguna cerrada, las cuales pudieron seleccionar alimentos “naturales”) y a los animales que consumieron la dieta 1 (la de mayor contenido proteico), suministrada sobre piso seco. Los pesos más bajos se registraron en anfibios mantenidos con pulmón bovino molido (bofe), con y sin adición de pellets balanceados (alimento flotante en el agua de las piletas).

Las necropsias permitieron verificar que el tubo digestivo de las ranas criadas en laguna contenía pequeños peces, otras ranas y renacuajos, cangrejos, miriápodos, coleópteros y hemípteros acuáticos, así como abundante pasto. Si bien el consumo de alimentos “naturales” se traduciría en mayores ganancias de peso, *R. catesbeiana* es considerada como *huésped indeseable* en las lagunas, porque su voraz apetito no tardaría en aniquilar a la fauna acuática original; el canibalismo no resultaría inusual en esta especie²². En vida libre, los anfibios se alimentarían con insectos, anélidos, crustáceos, moluscos y pequeños vertebrados^{10, 17}. En el nordeste argentino, la dieta natural de *Bufo sp.* estaría principalmente constituida por coleópteros e himenópteros⁹.

En el ionograma, los valores significativamente más bajos de electrolitos fueron registrados en las ranas mantenidas con bofe como único alimento (dieta 3). El contenido mineral del plasma también fue bajo en los animales alimentados con bofe + pellets balanceados (dieta 4). Los más altos niveles de calcio, magnesio, sodio y potasio correspondieron a los anfibios criados en laguna (dieta 2) y la concentración más alta de fósforo inorgánico se obtuvo en ranas alimentadas con balanceado + lombrices (dieta 1). Estos resultados confirman que en anfibios, el tipo de alimento condiciona el nivel de los electrolitos plasmáticos, tal como ocurre en mamíferos^{5, 32}, y sugieren que las ranas obtienen mejores niveles de minerales plasmáticos eligiendo sus nutrientes naturales, antes que siendo mantenidas con alimentos balanceados, cuya formulación quizás no responda a sus necesidades. En efecto, la mayoría de los pellets balanceados utilizados en anfibios son formulaciones concebidas para peces, como las truchas; los verdaderos requerimientos nutricionales de *R. catesbeiana* no se conocen en profundidad²². Es primordial controlar la calidad del agua del criadero, cuyo pH debería situarse entre 6,5–7,0, poseyendo abundante oxígeno, escaso NH_3 y no más de 20 mg/l de calcio⁶.

El eritrograma mostró elevados valores de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina en animales alimentados con las dietas 1 y 2, donde también se registraron los más altos valores para el VCM de los glóbulos rojos. Los más bajos valores eritrocitarios correspondieron a la dieta 3. Estos datos revisten singular importancia porque los parámetros de la serie roja son considerados

Tabla 2. Variaciones de los analitos sanguíneos según la alimentación (\bar{x}).

parámetro	tipo de dieta				
	1	2	3	4	5
peso (g)	228,6 ^a	231,7 ^a	131,6 ^c	138,1 ^c	183,5 ^b
sodio (meq/l)	128 ^a	130 ^a	108 ^b	112 ^b	120 ^{ab}
potasio (meq/l)	3,83 ^a	3,92 ^a	3,03 ^b	3,19 ^b	3,85 ^a
calcio (mg/dl)	8,73 ^a	9,25 ^a	7,24 ^c	8,16 ^b	8,50 ^{ab}
fósforo inorgánico (mg/dl)	10,4 ^a	9,75 ^a	6,82 ^b	7,14 ^b	9,73 ^a
magnesio (mg/dl)	2,51 ^a	2,68 ^a	2,02 ^b	2,39 ^a	2,44 ^a
hematocrito (%)	33,8 ^a	34,5 ^a	26,8 ^b	29,3 ^c	29,2 ^c
eritrocitos (T/l)	0,43 ^a	0,45 ^b	0,38 ^c	0,41 ^c	0,42 ^a
VCM (fl)	769 ^a	751 ^a	703 ^b	692 ^b	688 ^b
hemoglobina (g/dl)	7,3 ^a	7,5 ^a	6,2 ^b	6,4 ^b	6,3 ^b
HCM (pg)	159 ^a	162 ^a	166 ^a	154 ^c	151 ^a
CHCM (%)	22 ^a	22 ^a	23 ^a	21 ^c	22 ^a
leucocitos totales (G/l)	20,3 ^a	21,4 ^a	22,0 ^a	18,7 ^a	20,2 ^a
neutrófilos (%)	62,4 ^a	58,7 ^a	62,5 ^a	60,1 ^a	59,2 ^a
linfocitos (%)	29,1 ^a	28,0 ^a	23,2 ^a	24,1 ^a	27,6 ^a
monocitos (%)	2,3 ^a	3,5 ^a	2,8 ^a	3,2 ^a	2,8 ^a
eosinófilos (%)	6,5 ^a	6,7 ^a	3,3 ^b	5,7 ^a	5,9 ^a
basófilos (%)	3,8 ^a	3,6 ^a	2,9 ^a	3,8 ^a	3,2 ^a
creatinina (mg/l)	5,25 ^a	5,66 ^a	4,42 ^a	4,51 ^a	4,60 ^a
urea (mg/l)	80,1 ^b	105 ^a	63,8 ^b	75,4 ^b	97,6 ^{ab}
ácido úrico (mg/l)	12,7 ^a	14,8 ^a	12,1 ^a	12,6 ^a	14,2 ^a
fosfatasa alcalina (UI/l)	151 ^a	135 ^b	168 ^a	177 ^a	165 ^a
alanin aminotransferasa (UI/l)	12,0 ^a	10,4 ^a	13,1 ^a	15,1 ^a	12,2 ^a
aspartato aminotransferasa (UI/l)	47,5 ^a	40,8 ^b	57,2 ^c	48,3 ^a	47,4 ^a
gammaglutamil transferasa (UI/l)	9,1 ^a	7,4 ^a	11,7 ^b	9,2 ^a	7,5 ^a
lactato dehidrogenasa (UI/l)	104 ^a	95 ^a	139 ^b	126 ^{ab}	119 ^{ab}
butiril colinesterasa (UI/l)	166 ^a	182 ^a	201 ^a	153 ^a	148 ^a
creatin fosfoquinasa (UI/l)	474 ^a	427 ^a	438 ^a	376 ^a	454 ^a
glucosa (g/l)	0,53 ^a	0,56 ^a	0,38 ^b	0,47 ^{ab}	0,50 ^{ab}
triglicéridos (g/l)	0,51 ^a	0,57 ^a	0,26 ^b	0,28 ^b	0,49 ^a
colesterol total (g/l)	0,65 ^a	0,71 ^a	0,52 ^b	0,57 ^b	0,67 ^a
colesterol ligado a HDL (g/l)	0,04 ^a	0,05 ^a	0,03 ^a	0,04 ^a	0,04 ^a
colesterol ligado a LDL (g/l)	0,45 ^a	0,46 ^a	0,29 ^b	0,33 ^b	0,43 ^a
lipoproteína alfa (%)	9,6 ^a	8,7 ^a	5,8 ^a	6,6 ^a	7,1 ^a
lipoproteína beta (%)	90,3 ^a	91,5 ^a	94,1 ^a	93,2 ^a	93,0 ^a
proteínas totales (g/dl)	4,41 ^{ab}	4,84 ^a	4,07 ^b	4,22 ^{ab}	4,31 ^{ab}
albúmina (g/dl)	1,52 ^{ab}	1,80 ^a	1,43 ^b	1,45 ^b	1,64 ^{ab}
globulinas alfa-1 (g/dl)	0,24 ^a	0,25 ^a	0,22 ^a	0,28 ^a	0,17 ^a
globulinas alfa-2 (g/dl)	0,52 ^a	0,57 ^a	0,52 ^a	0,51 ^a	0,41 ^a
globulinas beta (g/dl)	0,73 ^a	0,79 ^a	0,65 ^b	0,71 ^a	0,76 ^a
globulinas gamma (g/dl)	1,40 ^a	1,43 ^a	1,25 ^b	1,27 ^b	1,37 ^{ab}
relación albúmina/globulinas	0,53 ^a	0,59 ^a	0,54 ^a	0,52 ^a	0,59 ^a

\bar{x} : media aritmética. Dieta 1: balanceado + lombrices, 2: natural (laguna), 3: bofe, 4: balanceado + bofe, 5: balanceado + larvas. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$).

como eficaces indicadores nutricionales⁵, especialmente la hemoglobina³². En los mamíferos el eritrograma integra el panel nutricional, afectándose ante el insuficiente aporte alimentario de proteínas, vitaminas B₁₂, E, niacina y folato²¹. La adecuada eritropoyesis requeriría el continuo y equilibrado aporte de elementos como hierro, cobre, cobalto y selenio; sus carencias causarían decrementos de hematocrito y hemoglobina¹⁹. En unos pocos ejemplares (n=12) fueron determi-

nados los metabolitos terminales de la hemoglobina, resultando de 0,70 mg/l para bilirrubina total y de 0,50 mg/l para la fracción directa, sensiblemente inferiores a las concentraciones habituales halladas en mamíferos^{4, 16, 20, 21}. Este hecho quizás se deba a que en los anfibios el pigmento de excreción del hem sea predominantemente biliverdina en lugar de bilirrubina⁵.

En el leucograma no se detectaron grandes diferencias atribuibles al tipo de alimentación, salvo el caso de los eosinófilos, significativamente más bajos en la dieta 3. Para dicha dieta también se verificaron los valores más altos de leucocitos totales y neutrófilos, así como las proporciones más bajas de linfocitos, aunque sin significación estadística. Examinadas bajo la óptica de los mamíferos, estas variaciones se compadecerían con un *leucograma de estrés*^{5, 19}.

El nitrógeno no proteico fue influenciado por el tipo de alimentación. Los animales criados en laguna revelaron altos niveles plasmáticos de urea (significativos) y de creatinina y ácido úrico (no significativos), en contraposición a los bajos valores verificados en ranas alimentadas con bofe. Desde el punto de vista nutricional la urea es un indicador de ingesta proteica y desde el punto de vista metabólico marca la activa biosíntesis hepática, en tanto que la creatinina (al relacionarse con la talla (mamíferos), es un indicador de la magnitud de las masas musculares³². Es llamativo que los valores más bajos de urea se hayan registrado en los criaderos con mayor superficie de piletas cubierta de agua, lo cual implicaría mayor actividad natatoria de las ranas. Esta hipótesis podría ser congruente teniendo en cuenta que, en otras especies, la urea disminuye

ante el alto consumo de energía, y que este metabolito parece ser necesario para la normal contractilidad muscular de los anfibios¹⁵.

El enzimograma mostró altas actividades de ALP, ALT, AST, GGT y LDH en anfibios alimentados con bofe. Dado que se trata de enzimas preponderantemente hepáticas, no se descarta que este alimento pueda haber ocasionado una sobrecarga del hepatopáncreas de las ranas, tal como ocurre en otras especies^{4, 5, 16, 26}.

Apoya esta hipótesis el hecho que la alimentación natural en laguna se correspondió con los valores significativamente más bajos de dichas enzimas.

La concentración plasmática de glucosa fue baja en las ranas alimentadas con bofe (como único alimento o combinado con balanceado) y alta en los ejemplares criados en laguna. Dado que la glucemia es un indicador nutricional (energético) que varía según la ingesta⁵, tales cambios deberían relacionarse a la cantidad y calidad de los nutrientes ingeridos; se afirma que el desarrollo de *R. catesbeiana* está fuertemente condicionado a la disponibilidad de alimento²². La glucemia también está condicionada a la temperatura ambiental².

Similar argumentación cabría para interpretar los cambios del lipidograma, donde los más bajos valores de triglicéridos, colesterol total y C-HDL se registraron en las dietas 3 y 4, en tanto que los más altos ocurrieron cuando las ranas consumieron alimento natural (laguna) y balanceado con alta proporción de grasa (4%). En mamíferos, estos parámetros lipídicos también varían según la índole de la dieta^{16, 21}. En renacuajos de *R. catesbeiana*, dietas con 38,6% de proteína y niveles crecientes de energía digestible produjeron aumentos de los lípidos de depósito directamente proporcionales al contenido de energía del alimento¹.

El proteinograma reveló altos niveles plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas beta y gamma (significativos), así como de globulinas alfa-2 (no significativos), en las ranas que eligieron su alimento "natural" en la laguna. Los valores significativamente más bajos se registraron nuevamente en los ejemplares mantenidos con vísceras (16% proteínas), seguidos de cerca por los alimentados con vísceras + pellets balanceados, siendo intermedios los restantes. La cantidad y calidad de proteínas de la dieta son factores decisivos para la ganancia de peso de las anfibios. En ranas con peso vivo inicial de 12 g, el coeficiente de conversión alimentaria fue de alrededor de 3,8 luego de 70 días de control, pero los ejemplares que consumieron alimento con 35% de proteínas alcanzaron pesos de solamente 76,3 g, en tanto que otro grupo donde el alimento contenía 48% de proteínas obtuvo pesos de 119,1 g²². Las variaciones del peso y proteínas plasmáticas podrían constituir referentes idóneos para valorar distintas composiciones de alimentos balanceados, en búsqueda de los verdaderos requerimientos nutricionales de este animal. Sería primordial comprobar el efecto de diferentes tamaños de pellets balanceados, dado que ejemplares juveniles de *R. catesbeiana* revelaron ganancias de peso inversamente proporcionales al tamaño de las partículas del alimento²⁴. La calidad de la proteína alimentaria sería fundamental, pues el crecimiento es más rápido con proteína de alta calidad (origen animal) y más lento con proteína vegetal¹³.

3. Variaciones atribuibles a la temperatura ambiental.

Las diferencias registradas entre estaciones frías y cálidas-templadas son expuestas en Tabla 3. Excepto la

Tabla 3. Variaciones de los analitos sanguíneos según temperatura ambiental (\bar{x}).

parámetro	temporada	
	invierno	resto del año
fosfatasa alcalina (UI/l)	171 ^a	144 ^b
alanin aminotransferasa (UI/l)	14,2 ^a	11,4 ^a
aspartato aminotransferasa (UI/l)	58,6 ^a	39,3 ^b
gammaglutamil transferasa (UI/l)	8,4 ^a	11,1 ^a
lactato dehidrogenasa (UI/l)	138 ^a	94 ^b
butiril colinesterasa (UI/l)	177 ^a	156 ^b
creatin fosfoquinasa (UI/l)	447 ^a	419 ^b
proteínas totales (g/dl)	3,93 ^a	4,71 ^b
albúminas (g/dl)	1,30 ^a	1,78 ^b
globulinas alfa-1 (g/dl)	0,21 ^a	0,24 ^a
globulinas alfa-2 (g/dl)	0,49 ^a	0,52 ^a
globulinas beta (g/dl)	0,69 ^a	0,75 ^a
globulinas gamma (g/dl)	1,32 ^a	1,75 ^a
relación albúmina/globulinas	0,52 ^a	0,55 ^a
creatinina (mg/l)	4,87 ^a	4,79 ^a
urea (mg/l)	90,1 ^b	79,5 ^a
ácido úrico (mg/l)	14,4 ^a	12,6 ^a
sodio (meq/l)	117,3 ^a	120,5 ^a
potasio (meq/l)	3,21 ^a	4,02 ^b
calcio (mg/dl)	7,63 ^a	9,22 ^b
fósforo inorgánico (mg/dl)	7,83 ^a	9,65 ^b
magnesio (mg/dl)	1,92 ^a	3,03 ^b
hematocrito (%)	27,2 ^a	32,9 ^b
eritrocitos (T/l)	0,38 ^a	0,46 ^b
VCM (fl)	707 ^a	711 ^a
hemoglobina (g/dl)	5,92 ^a	7,48 ^b
HCM (pg)	154 ^a	159 ^a
CHCM (%)	22,5 ^a	23,7 ^a
leucocitos totales (G/l)	19,8 ^a	21,3 ^b
neutrófilos (%)	60,2 ^a	61,5 ^a
linfocitos (%)	24,7 ^a	29,1 ^b
monocitos (%)	2,8 ^a	3,1 ^a
eosinófilos (%)	5,7 ^a	6,0 ^a
basófilos (%)	3,1 ^a	3,8 ^a
triglicéridos (g/l)	0,25 ^a	0,59 ^b
colesterol total (g/l)	0,59 ^a	0,66 ^b
colesterol ligado a HDL (g/l)	0,04 ^a	0,04 ^a
colesterol ligado a LDL (g/l)	0,37 ^a	0,42 ^a
lipoproteína alfa (%)	7,1 ^a	7,5 ^a
lipoproteína beta (%)	92,8 ^a	92,5 ^a
glucosa (g/l)	0,39 ^a	0,61 ^b

En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

actividad GGT, las restantes enzimas plasmáticas fueron más altas durante el invierno, significativamente para ALP, AST, LDH, CHE y CPK. La mayor actividad enzimática registrada en las ranas durante el invierno coincide con investigaciones que afirman que los anfibios, como mecanismo de adaptación al frío, son capaces de aumentar sus actividades enzimáticas cuando la temperatura ambiental decrece³⁴. Tales cambios obedecen a controles neurales y hormonales; el metabolismo de *R. catesbeiana* es regulado conforme a la temperatu-

ra ambiental^{7, 10, 15, 17, 30}, principalmente a través de hormonas³⁹. Algunas hormonas aumentan su liberación por debajo de 37°C y viceversa¹⁴.

Todos los parámetros del proteinograma fueron más bajos durante el invierno que en el resto de las estaciones del año, significativamente para proteínas totales y albúminas. Teniendo en cuenta que las albúminas son eficaces y sensibles indicadores de ingesta proteica^{5, 32} y que las ranas en letargia invernal no se alimentan^{7, 17, 30}, es dable inferir que las disminuciones de albúminas se debieron al estado hiponutricional que caracteriza al período de hibernación, durante el cual los anfibios sobreviven obteniendo energía a partir de panículos adiposos periováricos²². Además, los cambios estacionales provocan profundas respuestas de acomodación en los anfibios². El bajo nivel metabólico imperante durante la hibernación^{2, 11, 25, 28} podría ser responsable del resto de los cambios proteicos, al minimizar la actividad del sistema inmunológico (gamma globulinas) y la biosíntesis hepática (proteínas totales)^{5, 21}.

El clima frío afectó los niveles plasmáticos de nitrógeno no proteico de *R. catesbeiana*. Creatinina, ácido úrico y urea registraron valores elevados en invierno, probablemente por enlentecimiento del mecanismo de excreción nitrogenada, reflejo del estado hipometabólico provocado por el ayuno, que condiciona escasa actividad de hígado y riñones^{7, 17}. Probablemente por su gran tamaño, *R. catesbeiana* no puede hibernar sumergida, por lo cual es dable suponer que en este período el agua corporal estará en fase de ahorro. En anfibios, la concentración de urea varía acorde al estado de hidratación y la temperatura; como mecanismo defensivo contra la deshidratación, la urea es retenida cuando la producción de orina disminuye¹⁷.

En el ionograma, todos los electrolitos estudiados disminuyeron significativamente en invierno, excepto el sodio. Este hecho podría explicarse a partir de la supresión de la alimentación (ayuno invernal), pero no debe descartarse la intervención *per se* del frío, dado que la liberación de las hormonas reguladoras de la concentración iónica estará modificada por la baja temperatura ambiental^{14, 25, 28, 30, 39}. Los hallazgos aquí efectuados son coincidentes con trabajos cuyos resultados indican que el frío disminuye las concentraciones plasmáticas de electrolitos y proteínas. En efecto, cuando la temperatura cae desde 30 a 10°C, la osmolaridad total del plasma disminuye 5% en *R. catesbeiana* y 14% en *Bufo marinus*; los cambios iónicos son parte importante del mecanismo de regulación acidobase³⁶.

Los eritrogramas de las ranas cuyas muestras se tomaron en invierno revelaron niveles significativamente más bajos de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina. Los índices hematimétricos (VCM, HCM y CHCM) registraron tendencia similar, pero las diferencias fueron no significativas. Siendo que los parámetros de la serie roja también operan como indicadores nutricionales^{5, 32}, los cambios registrados deberían examinarse a la luz del sostenido ayuno invernal de los anfibios^{25, 28}. Otros autores hallaron grandes fluctuaciones de hemoglobina en

ranas hibernantes¹⁷. Los cambios climáticos estacionales afectarían marcadamente la tasa de algunos componentes de la sangre, así como el consumo de oxígeno². Estudios efectuados en *Bufo americanus* indicaron que ante bajas temperaturas la captación de oxígeno a través de la piel es menor que la efectuada por los pulmones, y viceversa; en cambio, para la excreción de anhídrido carbónico siempre es más importante la piel, a cualquier temperatura³⁰.

En el leucograma, la concentración total de glóbulos blancos y el porcentaje de linfocitos fueron significativamente más bajos en invierno que en el resto de las estaciones del año. Estas diferencias también deberían ser atribuidas al proceso de aletargamiento que las ranas sufren durante la temporada invernal, en la cual todos los procesos orgánicos se restringen con el objeto de ahorrar energía^{10, 15}. El timo, órgano que en los anfibios interviene activamente para la maduración de los linfocitos, se atrofiaría durante el invierno²⁷. En *R. catesbeiana*, la respuesta inflamatoria a cargo de los leucocitos resultaría afectada por la temperatura ambiental⁸.

El lipidograma registró valores significativamente más bajos de colesterol total y triglicéridos en invierno. También fueron más bajos los niveles de C-LDL y lipoproteína alfa, sin significación estadística. Estos hallazgos necesariamente deben relacionarse a la subnutrición propia de la hibernación^{7, 17, 22}. En mamíferos, el ayuno prolongado también provocaría disminución de la concentración plasmática de colesterol^{5, 26}. El descenso de los lípidos sanguíneos quizás en alguna medida pueda deberse al hecho que previamente a la hibernación aumentaría la síntesis de grasa de depósito¹⁷, causando depleción de los triglicéridos plasmáticos. Los resultados obtenidos son concordantes con trabajos que reportan liberación de insulina en anfibios sometidos a baja temperatura; las funciones de la insulina serían similares en anfibios y mamíferos¹⁴. En los mamíferos, la insulina transforma el exceso de glúcidos a triglicéridos, depositándolos en tejido adiposo e hígado; en ausencia de la hormona los lípidos de reserva son liberados a sangre para su uso energético, elevándose su concentración plasmática^{5, 10, 20}.

Los niveles de glucosa plasmática fueron significativamente más bajos en invierno, seguramente debido al cese de la alimentación²². Este hallazgo es coincidente con resultados obtenidos en otras investigaciones^{2, 17, 28}. Además, el descenso de la glucemia también podría responder a la liberación de insulina provocada por la baja temperatura ambiental¹⁴. El frío provoca respuestas cardiorrespiratorias en los anfibios^{2, 28}; la inhibición de la glucólisis durante la hipoxia (metabolismo anaeróbico) reduce significativamente el tiempo respiratorio en *R. catesbeiana*³⁸. A su vez, la hipoxia evoca respuestas compensatorias que incluyen la hipotermia. Algunos autores aseguran que la hipoglucemia induce hipotermia en las ranas²⁸. En vida libre, *R. catesbeiana* incrementaría sus depósitos de glucógeno previamente a la hibernación, con disminución de la glucemia y de la deposición de lípidos de reserva¹¹. Por otro lado, se comprobó que

la glucemia se eleva apenas el anfibio es sometido a baja temperatura, pero ello se acompaña por una reducción de glucógeno hepático³⁵. La disminución de la glucemia registrada en las ranas del presente ensayo quizás deba también relacionarse a la depleción invernal del glucógeno hepático. Este fenómeno es común en peces, en los cuales el ayuno consume los depósitos hepáticos de glúcidos y lípidos, produciendo hipoglucemia, hipolipemia e hipoproteinemia^{31,33}. Los concomitantes cambios enzimáticos indicarían el inicio de una activa gluconeogénesis³⁷, la cual utiliza aminoácidos para sintetizar glucosa²⁹. Tal biosíntesis consume las proteínas musculares, causando pérdida de peso y detención del crecimiento²³. Coincidentemente, *R. catesbeiana* también acusó considerables pérdidas de peso durante la hibernación en los criaderos del nordeste argentino.

4. Colofón

Se estima que el conocimiento de las variaciones fisiológicas de los analitos sanguíneos debidas al crecimiento, tipo de alimentación y temperatura ambiental podrían ser útiles al momento de establecer el estado nutricional, metabólico y sanitario de *R. catesbeiana*.

En varias ocasiones se tomaron muestras de ejemplares enfermos, excluidos de las estadísticas anteriores, cuyos resultados avalan tal aseveración. En efecto, síntomas como adinamia, debilidad, anorexia, caquexia, deshidratación y anormal coloración de la piel, se relacionaron con valores sanguíneos largamente distanciados de la media aritmética de animales sanos, para cada edad. Esta circunstancia autoriza a predecir que los valores de referencia, interpretados acorde a sus cambios ontogénicos, alimentarios y ambientales, pueden constituir valiosas herramientas diagnósticas. En los criaderos, este anfibio frecuentemente padece de malnutrición, anemia, estrés, intoxicaciones y enfermedades transmisibles; es común la deficiencia de calcio, que cursa con malformaciones óseas, así como la invasión de parásitos, bacterias y virus, provocando alteraciones que abarcan desde la piel hasta los órganos internos²².

Se concluye que los analitos sanguíneos de *R. catesbeiana* registran cambios ontogénicos caracterizados por significativas disminuciones de glucosa, triglicéridos, colesterol total, C-HDL, lipoproteína alfa, ácido úrico, calcio, fósforo inorgánico, ALP, HCM, leucocitos totales y linfocitos, así como por aumentos significativos de proteínas totales, albúminas, beta y gamma globulinas, C-LDL, lipoproteína beta, urea, creatinina, potasio, CHE, CPK, hematocrito, eritrocitos, hemoglobina y neutrófilos.

El tipo de alimento influye significativamente sobre sus indicadores nutricionales y metabólicos; ningún alimento artificial pudo superar los resultados obtenidos con alimentación natural en laguna. Se impone evaluar científicamente el tipo de alimento a suministrar a las ranas productoras de carne, atendiendo tanto las ganancias de peso como los indicadores nutricionales y metabólicos del medio interno, a fin de establecer sus

verdaderas exigencias alimentarias, lo cual se traduciría en mayores ganancias económicas para los productores.

Los efectos del frío ambiental se traducen en considerables cambios hemáticos, caracterizados por significativos aumentos de urea, ALP, AST, LDH, CHE y CPK, así como por disminuciones significativas de proteínas totales, albúminas, potasio, calcio, fósforo inorgánico, magnesio, hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, leucocitos totales, linfocitos, triglicéridos, colesterol total y glucosa.

Optimizar la producción regional de carne de rana, rubro exportable que puede ser encarado como pequeña o mediana empresa, implica diversificar la explotación agropecuaria y adicionar una fuente de ingresos alternativos de singular importancia, dado que el consumo mundial de carne de rana oscila entre 30.000 y 50.000 tn/año, existiendo también demandas de su cuero (marroquinería), hígado (elaboración de paté), grasa (uso cosmético) e intestino (hilo para cirugía estética)²².

REFERENCIAS

1. **Albinati RC, Lima SL, Donzele JL.** 2001. Níveis de energia digestível na ração de girinos de rã-touro. *Rev Bras Saúde Prod An* 2: 48–52.
2. **Bicego KC, Branco LG.** 1999. Seasonal changes in the cardiorespiratory responses to hypercarbia and temperature in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp Biochem Physiol* 124: 221–229.
3. **Busk M, Jensen FB, Wang T.** 2000. Effects of feeding on metabolism, gas transport, and acid–base balance in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Am J Physiol* 278: 185–195.
4. **Coles EH.** 1989. *Veterinary Clinical Pathology*, 4th ed., Saunders, Philadelphia, 486 p.
5. **Coppo JA.** 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Dunken, Buenos Aires, 297 p.
6. **Culley DD, Sotiariadis PK.** 1983. Progress and problems associated with bullfrog tadpole diets and nutrition. *Proc Confer Nutrition Captive Wild Animals*, Chicago, p. 30.
7. **Curtis H, Barnes MS.** 1992, *Biology*, 6th ed., Freeman, New York, 1496 p.
8. **Dias JL, Catao-Dias JC.** 1989. Influence of temperature on the inflammatory cell response induced experimentally in *Rana catesbeiana* tadpoles. *Tesis, Univ. de Sao Paulo, Brasil*, 67 p.
9. **Dure MI, Kehr AI.** 1999. Explotación diferencial de los recursos tróficos en cuatro especies de bufonidos del nordeste argentino. *Actas Ciencia & Técn UNNE* 6: 17–20.
10. **Eckert R, Randall D, Augustine G.** 1992. *Fisiología Animal*, Interamericana, Madrid, 798 p.
11. **Farrar ES, Dupre RK.** 1983. The role of diet in glycogen storage by juvenile bullfrogs prior to overwintering. *Comp Biochem Physiol* 75: 255–260.
12. **Felisbino SL, Carvalho HF.** 1999. The epiphyseal cartilage and growth of long bones in *Rana catesbeiana*. *Tissue Cell* 31: 301–307.
13. **Fontanello D, Arruda SH, Mandelli JJ, Justo CL, Penteado LA, Santo BE.** 1985. Effect of protein of animal

- and vegetable origin on weight gain of tadpoles of *Rana catesbeiana*. *Bolet Instit Pesca* 12: 43–47.
14. **Francini F, Gagliardino JJ.** 1997. Efecto de la temperatura sobre la secreción de insulina *in vitro* en *Bufo arenarum*. *Anales III Congreso Argentino de Herpetología*, Corrientes, Argentina, p. 38.
 15. **Goldstein L.** 1982. *Fisiología Comparada*, Interamericana, México, 454 p.
 16. **Gómez Piquer J.** 1992. *Análisis Clínicos en Veterinaria*, Mira, Zaragoza, 445 p.
 17. **Hill RW.** 1980. *Fisiología Animal Comparada*, Reverté, Barcelona, 726 p.
 18. **Hoffmann DF, Lebouté EM, Souza SM.** 1990. Performance of bullfrogs tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw 1802) at 20°C, with or without free access to own faeces. *Rev Soc Bras Zoot* 19: 321–325.
 19. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 417 p.
 20. **Kaneko JJ.** 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed., Academic Press, San Diego, 832 p.
 21. **Kolb E.** 1987. *Fisiología Veterinaria*, 3^o ed., Acribia, Zaragoza, 1115 p.
 22. **Lima SL, Agostinho CA.** 1992. *A Tecnologia de Criação de Rãs*, Imprensa Universitaria, Vicosa, 246 p.
 23. **Machado CR, Garófalo MA, Roselino JE, Kettelhut IC, Migliorini RH.** 1988. Effects of starvation, refeeding, and insulin on energy-linked metabolic processes in catfish (*Rhamdia hilarii*). *Gen Comp Endocrinol* 71: 429–437.
 24. **Mandelli JJ, Justo CL, Penteado LA, Fontanello D, Arruda SH, Santo BE.** 1985. Effect of particle size of the feed on weight gain of intensively reared tadpoles of *Rana catesbeiana* Shaw 1802. *Bolet Instit Pesca* 12: 61–66.
 25. **Murata T, Yamauchi K.** 2005. Low-temperature arrest of the triiodothyronine-dependent transcription in *Rana catesbeiana* red blood cells. *Endocrinology* 146: 256–264.
 26. **Pesce AJ, Kaplan LA.** 1990. *Methods in Clinical Chemistry*, Mosby, Saint Louis, 1380 p.
 27. **Plytycz B.** 1995. Age-dependent changes in thymuses of *R. temporaria*. *J Experim Zool* 273: 451–460.
 28. **Rocha PL, Branco LG.** 1998. Physiological significance of behavioral hypothermia in hypoglycemic frogs (*Rana catesbeiana*). *Comp Biochem Physiol* 119: 957–961.
 29. **Sánchez Muros MJ, García Rejón L, García Salguero L, Higuera M, Lupiáñez J.** 1998. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. *Int J Biochem Cell Biol* 30: 55–63.
 30. **Schmidt-Nielsen K.** 1984. *Fisiología Animal. Adaptación y Ambiente*, Omega, Barcelona, 975 p.
 31. **Shimeno S, Kheyyali D, Takeda M.** 1990. Metabolic adaptation to prolonged starvation in carp. *Nipp Suisan Gakkaishi* 56: 35–41.
 32. **Slobodianik NH, Zago L, Pallaro AN, Feliu MS.** 1999. Biochemical parameters and nutritional status. *Acta Bioq Clin Lat* 33: 415–427.
 33. **Soengas JL, Strong EF, Andres MD.** 1998. Glucose, lactate and beta-hydroxybutyrate utilization by rainbow trout brain: changes during food deprivation. *Physiol Zool* 71: 285–293.
 34. **Somero GN, Hochachka PW.** 1971. Biochemical adaptation to the environment. *Amer Zool* 11: 159–167.
 35. **Steiner AA, Petenusci SO, Brentegani LG, Branco LG.** 2000. The importance of glucose for the freezing tolerance/intolerance of the anuran amphibians *Rana catesbeiana* and *Bufo paracnemis*. *Rev Bras Biol* 60: 321–328.
 36. **Stinner JN, Hartzler LK.** 2000. Effect of temperature on pH and electrolyte concentration in air-breathing ectotherms. *J Exp Biol* 203: 2065–2074.
 37. **Tranulis MA, Christophersen B, Blom AK, Borrebaek B.** 1991. Glucose dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and hexokinase in liver of rainbow trout. *Comp Biochem Physiol* 99: 697–691.
 38. **Winmill RE, Chen AK, Hedrick MS.** 2005. Development of the respiratory response to hypoxia in the isolated brainstem of the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J Exp Biol* 208: 213–222.
 39. **Wright ML, Guertin CJ, Duffy JL, Szatkowski MC, Visconti RF, Alves CD.** 2003. Developmental and diel profiles of plasma corticosteroids in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp Biochem Physiol* 135: 585–595.