

Efecto de dietas proteicas a base de harina de lombríz roja (*Eisenia* spp.) en el comportamiento del hámster dorado (*Mesocricetus auratus* L.). II. Morfometría de órganos e intestino

Effect of protein diets based on red worm (*Eisenia* spp.) meal in the behavior of golden hamster (*Mesocricetus auratus* L.). II. Morphometry of organs and intestine

D.E. García¹, L.J. Cova², J.V. Scorza D.², M.E. González³, P. Pizzani⁴,
M. G. Medina¹, F. Perea¹ y D. González¹

¹Departamento de Ciencias Agrarias, Núcleo Universitario "Rafael Rangel" (NURR), Universidad de Los Andes (ULA), estado Trujillo, Venezuela.

²Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba", ULA, estado Trujillo, Venezuela.

³Departamento de Biología y Química, Núcleo Universitario NURR, ULA, estado Trujillo, Venezuela.

⁴Área Agronomía, Universidad Nacional Experimental "Rómulo Gallegos", estado Guárico, Venezuela.

Resumen

Se evaluó el peso y volumen del corazón (C), riñones (R), hígado (H) e intestino (I), y la longitud del intestino (LI) en Hamsters Dorados (*Mesocricetus auratus* L.) alimentados con dietas elaboradas con 21% (D₁; PB=13,5%), 24% (D₂; PB=15,4%), 27% (D₃; PB=17,6%) y 30% (D₄; PB=19,6%) de harina de Lombriz Roja (HL; *Eisenia* spp.) o con dos alimentos convencionales, Conejarina® (D₀; PB=11,4%) y Ratarina® (D₅; PB=21,1%). La investigación se efectuó en el Vivario del Núcleo Universitario Rafael Rangel (NURR) de la Universidad de los Andes. Se empleó un diseño totalmente aleatorizado, en el cual las dietas evaluadas constituyeron los tratamientos. Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS versión 10.0 para Windows. No se observaron diferencias entre dietas en el peso del C (280-350 mg). Los animales alimentados con D₂, D₃ y D₅ exhibieron mayor peso de ambos R (445-458 mg). El peso mayor del I se observó en los animales que consumieron D₃ (12,4 g); mientras que los de D₄, excluidos del ensayo 12 días antes de finalizado debido a signos de intoxicación, tuvieron un peso de I comparable (13,2 g), al momento del sacrificio. No se observaron dife-

Recibido el 27-1-2010 ● Aceptado el 14-5-2012

Autor de correspondencia e-mail: dagamar8@hotmail.com

rencias estadísticas entre tratamientos en el volumen del C (0,35-0,40 cm³) y R (0,26-0,45 cm³). El volumen del H, I y la longitud de I de los alimentados con D₂ (H: 2,17 cm³; I: 17,33 cm³; LI: 49,27 cm) y D₃ (H: 2,30 cm³; I: 18,67 cm³; LI: 50,33 cm) fueron superiores al resto de los grupos (H: 1,50 cm³; I: 10,17 cm³; LI: 33,15 cm). La HL constituye un suplemento proteico de buena calidad para el hámster dorado cuando es incluida en la dieta en una proporción del 21%. La inclusión de porcentajes superiores de HL, como los de las dietas D₂, D₃ y D₄, pueden producir resultados contraproducentes debido probablemente al elevado contenido de aminas biogénicas.

Palabras clave: Harina de lombriz, composición nutricional, *Eisenia* spp., hámster dorado, órganos.

Abstract

It was evaluated the weight and volume of the heart (C), kidneys (R), liver (H) and intestine (I), and intestine length (LI), in 72 Golden Hamster (*Mesocricetus auratus* L.) consuming diets (D) made with red worm (*Eisenia* spp.; HL) meal and described as: D₁: PB=13.5% (HL: 21%); D₂: PB=15.4% (HL: 24%); D₃: PB=17.6% (HL: 27%); D₄: PB=19.6% (HL: 30%) and two commercial feeds (D₀: Conejarina®; PB=11.1% and D₅: Ratarina®; PB=21.1%). The study was conducted at the vivarium of the Núcleo Universitario «Rafael Rangel, Universidad de los Andes, Trujillo, Venezuela. The data were analyzed by means of the statistical program SPSS v10.0 as a completely randomized design, in which the diets were considered the treatments. No differences in C weight (280-350 mg) were observed among diets. Animals fed with D₂, D₃ y D₅ exhibit greater R weight (445-458 mg). The greater weight of the I was observed in the animals consuming D₃ (12.4 g); while those consuming D₄ had a similar weight (13,2 g) at day 9 of the experiment, time at which were removed from the study due to intoxication symptoms. No differences in C (0.35-0.40 cm³) and R (0.26-0.45 cm³) volume were observed among diets. The volume of H and I in the hamsters fed with D₂ (H:2.17 cm³; I:17.33 cm³; LI:49.27 cm) and D₃ (H:2.30 cm³; I:18.67 cm³; LI:50.33 cm) were greater than in the other experimental groups (H:1.50 cm³; I:10.17 cm³; LI:33.15 cm). Animals consuming D₂, D₃ and D₄ affected drastically the morphometry of H and I, whereas they were similar between hamster fed with D₁ and Ratarina®. The HL represent a protein supplement of excellent nutritional quality for the Golden Hamster when is included in the diet in a proportion of 21%. Inclusion of greater percentages of HL, as was done in D₂, D₃ and D₄, might produce harmful effects due to high concentrations of biogenic amines in such diets.

Key words: earthworm meal, nutritional composition, *Eisenia* spp., golden hamster, organs

Introducción

En Venezuela, como en otros países Latinoamericanos, la disponibilidad de recursos alimenticios para consumo animal constituye una de las limitantes fundamentales para el desarrollo de sistemas de producción, sin la dependencia de los insumos comprados en el exterior. Debido a ello, se han desarrollado numerosas investigaciones para caracterizar y evaluar alimentos no convencionales que ayuden a mitigar la falta de fuentes proteicas para la alimentación animal (Savón *et al.*, 2008).

Si bien es conocido que en la actualidad existen fuentes alimenticias no convencionales con las cuales se han obtenido resultados satisfactorios en los rumiantes criados en condiciones tropicales, en el caso de los no rumiantes el espectro de posibilidades es más limitado, ya que los elevados requerimientos de estos animales y algunos aspectos relacionados con el sistema de producción, hacen que aún no se logre prescindir del uso de ingredientes tales como oleaginosas y sus subproductos; así como de la harina de pescado por su rica composición energética y de aminoácidos (García *et al.*, 2009). Debido a su alto contenido proteico, en los últimos años se ha investigado la factibilidad del uso de la harina de lombriz (HL) (*Eisenia* spp.) como suplemento en la alimentación animal y humana (Morón-Fuenmayor *et al.*, 2008; Cova *et al.*, 2009). La harina de lombriz ha sido tipificada como suplemento proteico de elevado valor nutritivo. No obstante, su uso potencial ha sido sugerido para pequeños animales debido a que para obtener

Introduction

In Venezuela, as in any other Latin America country, the availability of feed resources for animal consumption constitutes one of the main limitations for the development of animal production systems, without the dependence of material bought out of the country. For this reason, numerous researches have been carried out for characterizing and evaluating non conventional food that help mitigating the lack of protein sources for the animal alimentation (Savón *et al.*, 2008).

It is well known that currently there are non conventional sources with satisfactory results in ruminants raised in tropical conditions, but in the case of non-ruminant the spectrum of possibilities is more limited, since the elevated requirements of these animals and some aspects related to the production system make still demandable the use of oil-base products and sub-products, such as fish flour, for its rich energetic composition and amino acids (García *et al.*, 2009). Due to the high protein content, in the last years has been studied the feasibility on the use of worm meal (HL) (*Eisenia* spp.) as supplement in animal and human alimentation (Morón-Fuenmayor *et al.*, 2008; Cova *et al.* 2009). Wormmeal has been typified as protein supplement with elevate nutritive value. Nevertheless, its potential use has been suggested for small animals, because, in order to obtain elevated quantities of this food is needed a continuous commercial production in median or big scale.

elevadas cantidades de este alimento, se necesita una producción comercial continua de mediana o gran escala.

Aún cuando son reconocidas mundialmente las ventajas de la harina de lombriz como suplemento alimenticio de excelente calidad, se han desarrollado pocos estudios de comportamiento animal en los cuales se hayan evaluado los niveles de inclusión en las dietas y sus efectos en la productividad, fisiología digestiva, metabolismo y morfometría de órganos (Cova *et al.*, 2006; Cova *et al.*, 2009; Cova *et al.*, 2011; García *et al.*, 2012a; García *et al.*, 2012b).

Debido a su bajo costo y fácil manejo, los animales de laboratorio pueden ser utilizados para realizar estudios de diversa índole (De Jesús y Quintero, 2008). El hámster Dorado (*Mesocricetus auratus* L.) ha mostrado ventajas para evaluar preliminarmente las potencialidades de alimentos experimentales pues responden rápidamente a cambios nutricionales en la dieta (Llewellyn *et al.*, 1985; Carr *et al.*, 1996) y exhiben un metabolismo similar a muchos de los animales no rumiantes de interés comercial (De Vries, 1996).

Con el propósito de evaluar la utilidad de la harina lombriz en la alimentación del hámster Dorado, se estableció como objetivo de esta investigación estudiar el efecto de diferentes dietas a base de harina deshidratada de *Eisenia* spp., y de otras fuentes de alimentos convencionales, sobre el peso y volumen de algunos órganos tales como el corazón, riñones, hígado e intestino y la longitud del intestino en *M. auratus*.

Though are worldwide known the advantages of worm's flour as high quality food supplement, few researches have been carried out of animal behavior where have been evaluated the inclusion levels in the diets and their effects in the productivity, digestive physiology, metabolism and morphometry of organs (Cova *et al.*, 2006; Cova *et al.*, 2009; Cova *et al.*, 2011; García *et al.*, 2012a; García *et al.*, 2012b).

Due to its low cost and easy handle, laboratory animals can be used for carrying out such researches (De Jesús and Quintero, 2008). Golden Hamster (*Mesocricetus auratus* L.) has showed advantages to evaluate preliminary the experimental food potentialities because respond easily to nutritional changes in the diet (Llewellyn *et al.*, 1985; Carr *et al.*, 1996) and exhibit a similar metabolisms to many of the non ruminant animals with commercial interest (De Vries, 1996).

With the aim of evaluating the use of worm flour in the alimentation of Golden Hamster, was established as main objective to study the effect of different diets base on dehydrated flour of *Eisenia* spp., and other sources of conventional food on the weight and volume of some organs such as heart, kidneys, liver and intestine and the intestine longitude in *M. auratus*.

Materials and methods

Location of the essay

The research was carried out at the Vivarium of the University Campus "Rafael Rangel" (NURR) at

Materiales y métodos

Localización del ensayo

El estudio se desarrolló en el Vivario del Núcleo Universitario «Rafael Rangel» (NURR) de la Universidad de los Andes (ULA), en el Sector Carmona de la ciudad de Trujillo, estado Trujillo, Venezuela; localizado a una altitud de 800 msnm, y con una temperatura media anual y humedad relativa de 25,2°C y 69% respectivamente.

Condiciones de experimentación

Se utilizaron 72 hámsters hembras con un peso promedio de 81,45 ± 8,54 g provenientes del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la ULA, estado Mérida, Venezuela; los cuales fueron divididos en 12 grupos de seis animales y distribuidos de forma aleatoria en jaulas de acero inoxidable (45,5 cm de largo; 40,0 cm de ancho y 22 cm de altura), con bandejas metálicas intercambiables en la parte inferior. Durante todas las etapas del ensayo los animales fueron sometidos a ciclos de luz-oscuridad de 12 h, suministro de agua a voluntad y oferta diaria constante de alimento (NRC, 1995).

Para la adaptación a las condiciones de experimentación los animales fueron confinados una semana antes en las condiciones anteriormente descritas. En dicho periodo se les suministró diariamente a cada animal el equivalente a 20 g de una dieta peletizada (11,4% de Proteína bruta, PB; 1,2% de Grasas; 44,0% de Fibra detergente neutro, FDN; 64,4% de Extracto libre de nitrógeno; 8,6% de Ceniza) y agua *ad libitum*. Luego de finalizado el periodo pre-experimental,

Universidad de los Andes (ULA), in Carmona, Trujillo city, Trujillo state, Venezuela. This location is at an altitude of 800 masl and has an annual mean temperature and relative humidity of 25.2°C and 69% respectively.

Experiment conditions

72 female hamsters were used with average weight of 81.45±8.54 g from the Vivarium of the Science School of the ULA. Mérida state, Venezuela, which were divided into 12 groups of six animals and distributed randomly in stainless steel cages (45.5 cm of length; 40.0 cm of width and 22 cm of height), with interchangeable metallic trays in the inferior side. During all phases of the study, the animals were submitted to light-dark cycles of 12 h, *ad libitum* water supply and daily constant provision of food (NRC. 1995).

For the adaptation to the experimentation conditions, the animals were confined from a previous week in the above described conditions. In that period, each animal was daily provided with the equivalent to 20 g of a pelleted diet (11.4% of raw protein, PB; 1.2% of fats; 44.0% of neutral detergent fiber, FDN; 64.4% of extract free of nitrogen; 8.6% of ash) and *ad libitum* water. After finished the pre-experimental period, for 21 days and at 7:00, the animals were fed with the corresponding diet on each cage, removing the residual food and the excrements of the previous day.

Ingredients, formula of diets and treatments

To formulate the food rations for each treatment, the following ingredients were used: star grass

durante 21 días a las 7:00 am se les ofertó a cada grupo la dieta respectiva en el comedero de cada jaula, retirando antes el alimento remanente y las excretas del día anterior.

Ingredientes, formulación de dietas y tratamientos

Para formular las raciones de cada tratamiento, se usaron los siguientes ingredientes: pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*), gelatina tratada (Pandock, Distribuidora Valera, Trujillo, Venezuela), cal comercial y melaza. Los ingredientes, la formulación y composición química de cada dieta incluida en el estudio se muestran en el cuadro 1.

Reestructuración del alimento y obtención de los pellet

Considerando que la Ratarina® y la Conejarina® comercial presentan

(*Cynodon nlemfluensis*), treated gelatin (Pandock, Valera distributor, Trujillo, Venezuela), commercial lime and molasses. The ingredients, formula and chemical composition of each diet included in this study are shown in table 1.

Restructuring of the food and obtaining of pellet

Considering that commercial Ratarina® and Conejarina® have different sizes of pellet, both feed were restructure with the aim of making them similar and avoiding the influence on the size and consistency of pellets. For this, was used a crown-type mill (14/249, Royal Triumph) and later, a 8-knife pelleting with an electronic velocity variator and 3 HP motor. Pellets were dried for 48 hours in a stove with forced ventilation (YRH

Cuadro 1. Composición porcentual y química de los ingredientes utilizados en las dietas del estudio.

Table 1. Percentage and chemical composition of the ingredients used in the diets of the research.

Variable	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
Conejarina	100	-	-	-	-	-
Harina de lombriz	-	21	24	27	30	-
Pasto estrella	-	24,90	25,00	23,00	22,62	-
Gelatina	-	38,5	34,48	26,68	20,58	-
Carbonato de calcio	-	0,10	0,12	0,02	-	-
Fosfato monocalcico	-	0,50	0,40	0,40	0,40	-
Maíz	-	10,00	11,00	17,90	22,00	-
Melaza	-	5,00	5,00	5,00	5,00	-
Ratarina	-	-	-	-	-	100
Proteína bruta (g/kg)	114,2	135,0	154,0	176,0	196,0	210,9
Energía metabólica (Cal/kgMS)	1254	1359	1465	1746	1944	2003
Fibra detergente neutra (g/kg)	440,6	450,8	437,2	412,4	400,2	420,3
Calcio (g/kg)	2,6	3,0	3,0	3,0	3,1	3,1
Fosforo (g/kg)	1,8	2,0	1,9	2,0	2,1	2,0

diferentes tamaños de pellets, ambos alimentos fueron reestructurados con el fin de hacerlos similares y así evitar la influencia del tamaño y consistencia de los pellets. Para ello se utilizó un molino tipo corona (14/249, marca Royal Triumph) y posteriormente una pelletizadora de 8 cuchillas de corte con variador electrónico de velocidad y motor de 3HP. Los pellet fueron secados durante 48 horas en una estufa con ventilación forzada (YRH 02-3, marca Kaltein) y después de enfriarse se almacenaron a temperatura ambiente. Las características físicas de los pellet elaborados para las dietas del estudio se muestran en el cuadro 2.

Manejo y mediciones en los animales

El manejo, cuidado y mantenimiento de los hamsters se realizó siguiendo las normas vigentes para el cuidado de animales de laboratorio (Home Office, 1989). Al final el experimento, que se extendió por 21 días, todos los animales fueron anestesiados en ayuno con éter etílico (BDH), y posteriormente sacrificados mediante punción cardiaca. Luego del desangrado exhaustivo se extrajo mediante un procedimiento quirúrgico de rutina los siguientes órganos abdominales: hígado, riñones, corazón e intestino delgado (duodeno, yeyuno e ileon) y grueso (ciego, colon y recto). Cada órgano fue lavado con agua destilada de forma individual, secado con papel adsorbente y pesado en una balanza analítica (Advance Lab-Venezuela, modelo MY). Para evitar sobreestimaciones por la presencia de contenido intestinal, antes de realizar el pesaje y luego de fraccionar el intestino en cuatro segmentos de aproximadamente 12 cm, esta

02-3, Kaltein brand) and later were let cold and stored at environmental temperature. The physical characteristics of the elaborated pellets for the diets are shown in table 2.

Handling and measurement in the animals

Handle, care and maintenance of hamster were done following the norms for laboratory animals' care (Home Office, 1989). At the end of the experiment, which extended for 21 days, all animals were anesthetized with ethylic ether (BDH) after 24 h of fasting and later slaughtered by cardiac puncture. After the exhaustive bleeding, the following abdominal organs were removed by a routine chirurgical procedure: liver, kidneys, heart and small intestine (duodenum, jejunum and ileum), large intestine (cecum, colon and rectum). Each individual organ was washed with distilled water individually, dried with absorbent paper and weight on an analytical balance (Advance Lab-Venezuela, MY model). To avoid overestimations by the presence of intestinal content, before weighting and after fractioning the intestine into four segments of 12 cm each approximately, this part of the gastrointestinal tract was washed exhaustively with distilled water until the total evacuation of the content.

The volume of each organ was estimated after the individual weighting using the difference in the volume before and after totally submerging each organ in graded cylinders of variable capacity (15, 25 and 50 mL). Prior fractioning of parts, the longitude of the intestine was measured extending the intestinal

Cuadro 2. Características físicas de los pellets reestructurados para alimentar a *M. auratus* durante el periodo experimental*.

Table 2. Physical characteristics of the restructured pellets to feed *M. auratus* during the experimental phase*.

Variable	D ₀	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
Peso/pellet (g)	1,32±0,12	1,39±0,10	1,43±0,24	1,39±0,19	1,42±0,15	1,43±0,10
Largo de pellet (cm)	1,82±0,06	1,78±0,09	1,83±0,10	1,87±0,21	1,79±0,12	1,89±0,22
Diámetro del pellet (cm)	0,96±0,08	1,01±0,06	1,10±0,10	0,97±0,07	1,07±0,04	1,05±0,03
Parámetros de dureza (fracturabilidad)						
AA15 (%)	67,65±2,42	64,74±2,29	66,65±3,73	62,65±4,59	66,38±2,98	69,74±3,69
Fuerza (Kgf)	5,43±0,06	5,64±0,07	5,84±0,08	5,36±0,07	5,63±0,06	5,82±0,05
Distancia (mm)	0,34±0,03	0,32±0,06	0,36±0,06	0,35±0,05	0,33±0,04	0,37±0,07
Tiempo (s)	0,08±0,02	0,06±0,01	0,07±0,02	0,07±0,02	0,08±0,02	0,09±0,02

*Media de 560 pellet/tratamiento ± desviación estándar, AA15: absorción de agua a los 15 minutos

parte del tracto gastrointestinal fue lavada exhaustivamente con agua descalcificada hasta la evacuación total de su contenido.

El volumen de cada órgano se estimó después del pesaje individual mediante la diferencia en el volumen antes y después de sumergir totalmente cada órgano en cilindros graduados de capacidad variable (15, 25 y 50 mL). Previo fraccionamiento en partes, la longitud del intestino se midió estirando totalmente el tracto intestinal sobre una regla graduada de 60 cm.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se empleó un diseño totalmente aleatorizado, en el cual las dietas evaluadas constituyeron los tratamientos (D_0 , D_1 , D_2 , D_3 , D_4 y D_5). Cada jaula fue considerada como una unidad experimental mientras que cada animal se consideró una unidad de observación. La información fue procesada mediante el paquete estadístico SPSS versión 10.0 para Windows® (Visauta, 1998). Para comparar los tratamientos en función de las variables medidas se empleó la prueba de comparación de SNK (Student-Newman-Keuls) para un 5% de probabilidad.

Resultados y discusión

Al culminar el experimento los hámster tuvieron un pesos final que varió en función de cada dieta (D_0 : $99,0 \pm 4,5$; D_1 : $113 \pm 6,7$; D_2 : $95 \pm 4,4$; D_3 : $77 \pm 2,8$; D_5 : $122 \pm 4,3$ g) (García *et al.*, 2012a). Los animales alimentados con la dieta 4 (D_4) se excluyeron del ensayo a los 9 días de su inicio, debido a que exhibieron signos de intoxicación; razón por la cual presentaron un peso

tracto on a graded ruler of 60 cm.

Experimental design and statistical analysis

A completely randomized design was employed, in which the evaluated diets constituted the treatments (D_0 , D_1 , D_2 , D_3 , D_4 and D_5). Each cage was considered as an experimental unit while each animal was considered as an observation unit. The information was processed using the statistical package SPSS 10.0 for Windows® (Visauta, 1998). To compare the treatments according to the variables measured, was employed the SNK comparison test with a 5% of probability was used.

Results and discussion

At the end of the experiment hamsters had a final weight that varied in function of each diet (D_0 : 99.0 ± 4.5 ; D_1 : 113 ± 6.7 ; D_2 : 95 ± 4.4 ; D_3 : 77 ± 2.8 ; D_5 : 122 ± 4.3 g) (García *et al.*, 2012a). Animals fed with diet 4 (D_4) were excluded from the essay at day 9, since they presented detoxification signs, reason for which presented a considerable inferior weight than the rest of the experimental groups (64 ± 0.8 g).

Significant differences were observed in the weight of both kidneys in hamsters fed D_2 , D_3 and D_5 compared to D_0 and D_1 ($P < 0.05$), while the heart's weight did not vary among treatments ($P > 0.05$). In figure 1 is shown the heart and kidneys weight at the end of the essay according to the diet.

Animals of group D_4 , which were slaughtered on day nine of the experiment, had a heart's weight of 100.32 ± 3.5 mg; while the right and left

considerablemente inferior al resto de los grupos experimentales ($64 \pm 0,8$ g).

Se observaron diferencias significativas en el peso de ambos riñones en los hámsters alimentados con D_2 , D_3 y D_5 , comparados con D_0 y D_1 ($P < 0,05$). Mientras que el peso del corazón no varió entre tratamientos ($P > 0,05$). En la figura 1 se muestra el peso del corazón y de los riñones al finalizar el ensayo de acuerdo a la dieta.

Los animales del grupo D_4 , que fueron sacrificados el día 9 del experimento, tuvieron un peso del corazón de $100,32 \pm 3,5$ mg; mientras que los riñones derecho e izquierdo pesaron $315,24 \pm 22,2$ y $309,29 \pm 17,6$ mg respectivamente. Los pesos de los riñones en este grupo fueron comparables con los que tuvieron los animales alimentados

kidneys weighted 315.24 ± 22.2 and 309.29 ± 17.6 mg respectively. The kidney weights in D_4 animals were compared to those from the other experimental diets. Kidneys of animals submitted to D_4 were inflamed, with a porous texture and dark-yellow color. This looked different than the kidneys from the other treatments, which had a pale-yellow color, typical of the healthy organs of this specie.

Weight percentages (rank) for right and left kidneys respect to the alive weight of animals were the following: D_0 : 3.33-3.54; D_1 : 3.36-3.38; D_2 : 4.74-4.84; D_3 : 5.78-5.84 and D_5 : 3.69-3.75%; while for D_4 was of 4.83-4.93%, 12 days before the experiment finishes. As seen on figure 2, there were significant differences in the

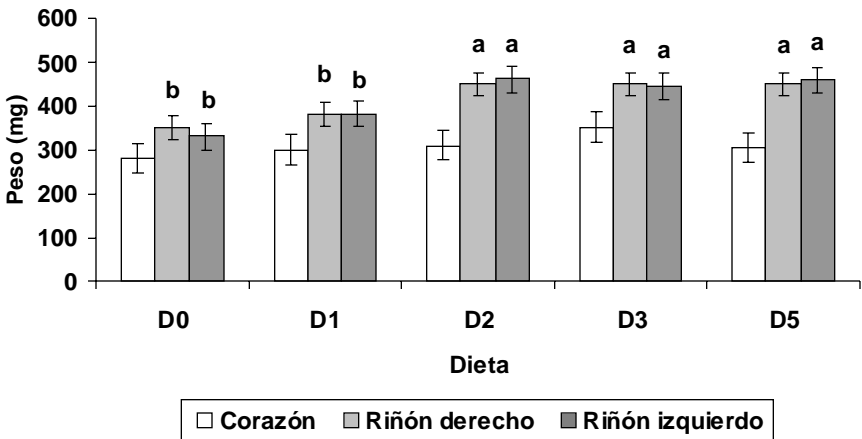


Figura 1. Peso final del corazón y riñones de hámster alimentados con dietas a base de harina de *Eisenia* spp. y fuentes convencionales. Medias con diferentes letras (a,b) indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Figure 1. Final weight of the heart and kidneys of hamsters fed with diets based on *Eisenia* spp. flour and conventional sources. Means with different letters (a, b) indicate significant differences ($P < 0,05$).

con las demás dietas experimentales. Los riñones de los animales sometidos a D₄ se encontraban inflamados, tenían una textura porosa y un color amarillo oscuro diferente a la tonalidad observada en los riñones examinados de otros tratamientos, los cuales presentaron coloración amarillo pálido, típica de este órgano en la especie.

Los porcentajes (rango) del peso para los riñones derecho e izquierdo respecto al peso vivo de los animales fueron los siguientes: D₀: 3,33-3,54; D₁: 3,36-3,38; D₂: 4,74-4,84; D₃: 5,78-5,84 y D₅: 3,69-3,75%; mientras que para D₄ fue de 4,83-4,93%, 12 días antes de finalizado el experimento.

Como se aprecia en la figura 2, se encontraron diferencias significativas en el peso del hígado y del intestino delgado + intestino grueso entre los

weight of the liver and small intestine + large intestine between the animals fed with different diets.

Animals treated with D₁ and D₅ had a weightier liver ($P < 0.05$) than those correspondent to D₀, D₂ and D₃ which livers had a statistical similar weight. Hamsters fed with D₄ had a liver with 7.18 ± 1.2 g when slaughtered, weight which was considered superior to the one observed in the rest of the animals at the end of the experiment (average: 3.34 ± 0.4 g). In animals fed with D₄, this organ was inflamed, rigid and had an abnormal dark coloring, compare to the classic color (dark yellow) exhibited in the liver of animals with the rest of the treatments. Even when livers of hamsters submitted to D₁ and D₅ had a bigger size, coloring was similar to

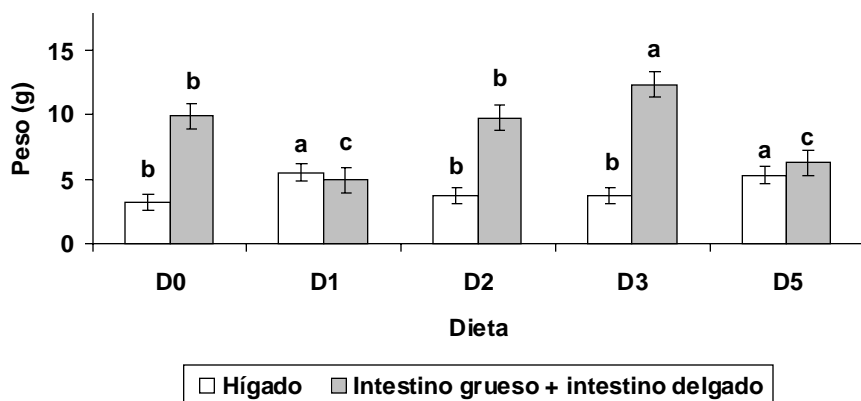


Figura 2. Peso final del hígado e intestino de hámsters alimentados con dietas a base de harina de *Eisenia* spp. y fuentes convencionales. Medias con diferentes letras (a,b,c) indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Figure 2. Final weight of the liver and intestine of hamsters fed with diets based on *Eisenia* spp. Flour and conventional sources. Means with different letters (a, b, c) indicate significant differences ($P < 0.05$).

animales alimentados con las diferentes dietas. Los animales tratados con D_1 y D_5 tuvieron un hígado más pesado ($P < 0,05$) que los correspondientes a D_0 , D_2 y D_3 , cuyos hígados tuvieron un peso estadísticamente similar. Los hámsters alimentados con D_4 presentaron $7,18 \pm 1,2$ g como peso del hígado al momento del sacrificio, peso que fue considerablemente superior al observado en el resto de los animales al final del experimento (promedio: $3,34 \pm 0,4$ g). En los animales alimentados con D_4 , este órgano estaba inflamado, endurecido y exhibía una coloración anormalmente oscura, comparado con el color clásico (amarillo opaco) que exhibió el hígado en los animales de los demás tratamientos. Aún cuando los hígados de los hámsters sometidos a D_1 y D_5 fueron de mayor tamaño, la coloración fue similar a los obtenidos de los animales alimentados con D_0 , D_2 y D_3 . La relación porcentual entre el hígado y el peso corporal fue similar entre tratamientos (D_0 : $3,23 \pm 0,1$; D_1 : $4,51 \pm 0,2$; D_2 : $3,89 \pm 0,1$; D_3 : $4,87 \pm 0,3$; D_5 : $4,42 \pm 0,1\%$), con la excepción de la dieta D_4 , cuyo valor fue considerablemente superior al resto de los grupos experimentales.

Los hámsters alimentados con D_3 exhibieron un peso mayor del intestino vacío ($P < 0,05$), mientras que los que consumieron D_1 y D_5 tuvieron el peso menor; los animales alimentados con D_0 y D_2 exhibieron valores intermedios. Los hámsters del tratamiento D_4 , que fueron retirados antes de finalizado el ensayo como se indicó anteriormente, exhibieron un peso del intestino de $13,25 \pm 1,1$ g, valor similar al peso promedio de D_2 y D_3 ($11,1$ g) al término del ensayo. Este órgano se encontraba in-

those obtained in animals fed with D_0 , D_2 and D_3 . The percentage relation between the liver and the corporal weight was similar between treatments (D_0 : 3.23 ± 0.1 ; D_1 : 4.51 ± 0.2 ; D_2 : 3.89 ± 0.1 ; D_3 : 4.87 ± 0.3 ; D_5 : $4.42 \pm 0.1\%$), excepting the diet D_4 , which value was considerable superior to the rest of the experimental groups.

Hamsters fed with D_3 exhibited a higher weight of the empty intestine ($P < 0.05$), while those that consumed D_1 and D_5 had the lowest weight; animals fed with D_0 and D_2 exhibited intermediate values. Hamsters of treatment D_4 which were retired before ending the essay, as previously indicated, exhibited an intestine weight of 13.25 ± 1.1 g, similar value of the average weight of D_2 and D_3 (11.1 g) at the end of the essay. This organ was inflamed, necrose and abnormally turgid to the tack, product to the irritation. Regarding the percentage of the intestine according to the alive weight, was observed an increment of values at the time that increased the inclusion of HL in the diet (D_1 : 4.42 ± 0.2 ; D_2 : 10.31 ± 0.2 ; D_3 : 16.10 ± 0.1 ; D_4 : $20.63 \pm 0.3\%$), while in D_5 the values were inferior ($5.16 \pm 0.1\%$) and in D_0 intermediate ($10.00 \pm 0.3\%$). None significant differences were observed in the volume of the heart and in both kidneys of animals fed with experimental diets (figure 3).

Hamsters submitted to D_2 , D_3 and D_5 had a higher volume of the liver, while those fed with D_1 presented an intermediate value and significantly lower to D_0 . Slaughtered animals 12 days before ending the research exhibited a volume of the heart, left and right kidney and liver of 0.25 ± 0.03 ;

flamado, necrosado y anormalmente turgente al tacto, producto de la irritación. En cuanto al porcentaje del intestino según el peso vivo, se observó un aumento de los valores conforme se incrementó la inclusión de HL en la dieta (D_1 : 4,42±0,2; D_2 : 10,31±0,2; D_3 : 16,10±0,1; D_4 : 20,63±0,3%), mientras que en D_5 los valores fueron inferiores (5,16±0,1%) y en D_0 intermedios (10,00±0,3%). No se observaron diferencias significativas en el volumen del corazón y de ambos riñones en los animales alimentados con las dietas experimentales (figura 3).

Los hámsters sometidos a D_2 , D_3 y D_5 tuvieron un mayor volumen del hígado, mientras que los alimentados con D_1 presentaron un valor interme-

0.23±0.02; 0.25±0.03 and 2.17±0.2 cm³, respectively. Likewise, the liver's volume was superior and the kidneys' volume was similar to the rest of the animals that had finished the test (right kidney: 0.30±0.02; left kidney: 0.31±0.02 and liver: 1.79±0.3 cm³).

In relation to the volume and longitude of the intestine, were observed significant differences in favor of animals that consumed D_2 and D_3 (figure 4). The consumption of the diet D_0 determined the lowest intestinal longitude, while the animals fed with D_0 , D_1 and D_5 showed a statistical similar variable.

Animals slaughtered 9 days after initiated the research (D_4) presented a volume and intestinal longitude of

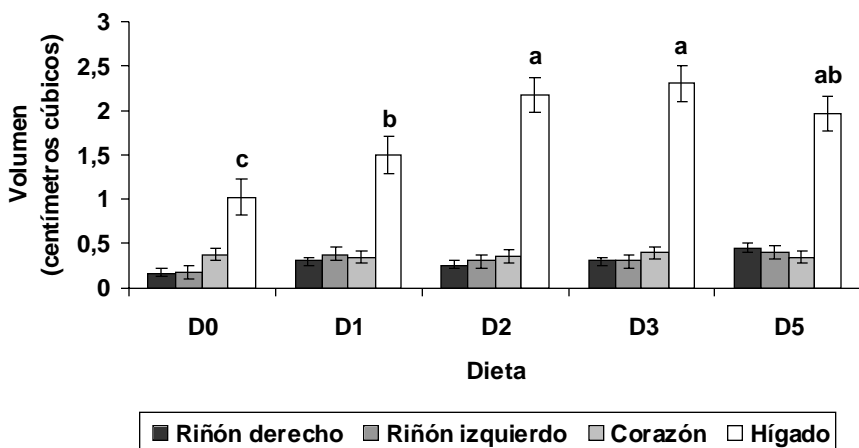


Figura 3. Volumen final de órganos de hámsters alimentados con dietas a base de harina de *Eisenia* spp. y fuentes convencionales. Medias con diferentes letras (a,b,c) indican diferencias significativas a ($P < 0,05$).

Figure 3. Final volume of organs of hamsters fed with diets based on *Eisenia* spp. flour and conventional sources. Means with different letters (a, b, c) indicate significant differences ($P < 0.05$).

dio y significativamente menor a D₀. Los animales sacrificados 12 días antes de terminarse el ensayo exhibieron un volumen de corazón, riñón izquierdo y derecho e hígado de 0,25±0,03; 0,23±0,02; 0,25±0,03 y 2,17±0,2 cm³, respectivamente. Asimismo, el volumen de hígado fue superior y el de los riñones similar al del resto de los animales que finalizaron la prueba (riñón derecho: 0,30±0,02; riñón izquierdo: 0,31±0,02 e hígado: 1,79±0,3 cm³).

En relación al volumen y longitud del intestino se observaron diferencias significativas a favor de los animales que consumieron D₂ y D₃ (figura 4). El consumo de la dieta D₀ determinó la menor longitud intestinal; mientras que en los animales alimen-

14.5±0.2cm³ and 49.0±0.3 cm respectively. These values were superior to the average observed for D₀, D₁ and D₅ (volume: 13.3±0.4cm³ and length: 39.81±0.2cm) at the end of the essay.

The fact that the heart's weight did not vary among treatments is explained because this organ is not directly influenced by the nutrition of animals, by being part of other organic system. In relation to these, the substantial increments of the heart were only obtained by significant increments of the corporal condition in animals with higher metabolic weight (De Vries, 1996), considering that the hamster is small, the changes related to positive corporal responses are

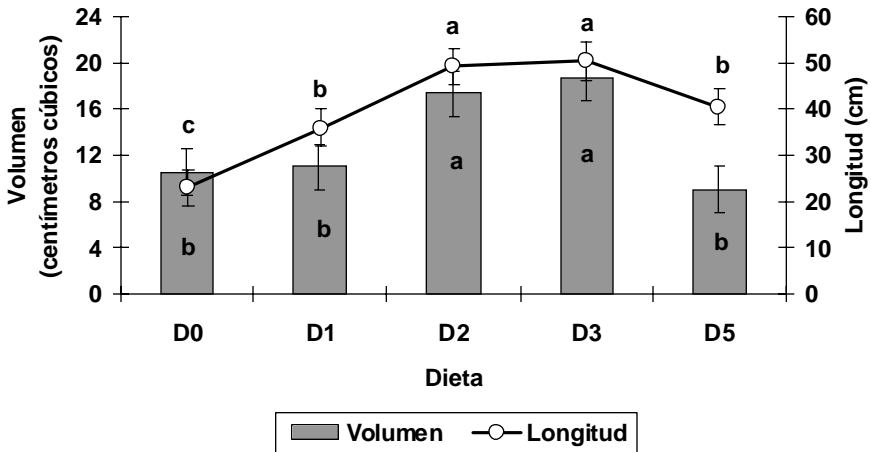


Figura 4. Volumen y longitud final del intestino de hámsters alimentados con dietas a base de harina de *Eisenia* spp. y fuentes convencionales. Medias con diferentes letras (a,b,c) indican diferencias significativas (P<0,05).

Figure 4. Volume and final longitude of the intestine of hamsters fed with diets based on *Eisenia* spp. flour and conventional sources. Means with different letters (a, b, c) indicate significant differences (P<0.05).

tados con D_0 , D_1 y D_5 esta variable fue estadísticamente similar.

Los animales sacrificados a los 9 días de iniciarse el estudio (D_4) presentaron un volumen y una longitud intestinal de $14,5 \pm 0,2$ cm³ y $49,0 \pm 0,3$ cm respectivamente. Estos valores fueron superiores al promedio observado para D_0 , D_1 y D_5 (volumen: $13,3 \pm 0,4$ cm³ y largo: $39,81 \pm 0,2$ cm) al final del ensayo.

El hecho de que el peso del corazón no haya variado entre tratamientos se explica porque este órgano no está influenciado directamente por la nutrición de los animales, por formar parte de otro sistema orgánico. En relación a esto, los aumentos sustanciales del corazón sólo se obtienen por incrementos significativos de la condición corporal en animales de mayor peso metabólico (De Vries, 1996); considerando que el hámster es pequeño, los cambios asociados a respuestas corporales positivas son discretos, comparado con otras especies de mayor tamaño, en las cuales las variaciones de la condición corporal influyen significativamente en el porcentaje relativo de algunos órganos importantes. Sin embargo, el peso mayor de los riñones en hamsters alimentados con las dietas en las que se incorporó la HL, con la excepción de D_1 , indica la posibilidad de un mayor esfuerzo fisiológico del órgano para excretar los metabolitos liberados durante la degradación de las proteínas dietéticas, de acuerdo a la proporción de HL en la ración. Alteraciones morfo y citoestructurales similares se han informado en otros animales que fueron alimentados con dietas que contenían aminas biogénicas (Buxbaum

discrete, compared to other species of higher size, where the variations of the corporal condition significantly influence in the relative percentage of some important organs. However, the highest weight of kidneys in hamsters fed with diets where was used HL, excepting D_1 , indicates the possibility of a higher physiological effort of the organ to excrete the liberated metabolites during the degradation of dietetic proteins, according to the proportion of HL in the ration. Similar morpho-cyto structural alterations have been reported in other animals that were fed with diets with biogenic amines (Buxbaum *et al.*, 1973; Hellström and Koslow, 1975; Fusi *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2009).

Animals fed with D_5 , diet that did not have HL, presented a similar renal weight than animals submitted to D_2 and D_3 . This is explained by the fact that the hamsters that ate Ratarina® presented a corporal condition that was significantly superior to the rest of the groups, while the lower weight of kidneys in animals fed with D_0 might be associated to the discrete nutritional value of Conejarina®, consequently, to a lower corporal development of the animal. On this matter, it is well known that the quality on the alimentation drastically influences in the corporal condition, and the increment in the weight of these organs occurs at the same time to the corporal development of the animal (Robinson and Wilber, 1961; 2005 García *et al.*, 2005; Cova *et al.*, 2006).

The kidney is the organ in charge of purifying the blood, eliminating the metabolic wastes and the excess of water. The wastes in the blood are

et al., 1973; Hellström y Koslow, 1975; Fusi *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2009).

Los animales alimentados con D₅, dieta que no contenía HL, exhibieron un peso renal similar al de los animales sometidos a D₂ y D₃. Esto se explica por el hecho de que los hámsters que consumieron Ratarina® presentaron una condición corporal significativamente superior al resto de los grupos; mientras que el peso menor de los riñones en los animales alimentados con D₀ quizás se encuentre asociado al discreto valor nutricional de la Conejarina®, y consecuentemente a un menor desarrollo corporal del animal. Al respecto, es conocido que la calidad de la alimentación influye drásticamente en la condición corporal, y el aumento de peso de estos órganos ocurre de forma paralela al desarrollo corporal del animal (Robinson y Wilber, 1961; 2005 García *et al.*, 2005; Cova *et al.*, 2006).

El riñón es el órgano encargado de purificar la sangre mediante la eliminación de desechos metabólicos y del exceso de agua. Los desechos en la sangre se forman por la descomposición normal de los tejidos activos y de los alimentos consumidos; por tal razón cuando las dietas son más complejas y abundantes en componentes, este órgano realiza un mayor esfuerzo fisiológico. En este proceso se produce un complicado intercambio de sustancias químicas a medida que los desechos y el agua salen de la sangre y entran al sistema urinario. Al principio, los túbulos reciben una mezcla de moléculas de desecho y sustancias de degradación intermedia que el organismo todavía puede usar. Los riñones

formados por la normal descomposición de los tejidos activos y de los alimentos consumidos; por tal razón, cuando las dietas son más complejas y abundantes en componentes; este órgano realiza un mayor esfuerzo fisiológico. En este proceso, se produce un complicado intercambio de sustancias químicas a medida que los desechos y el agua salen de la sangre y entran al sistema urinario. Al principio, los túbulos reciben una mezcla de moléculas de desecho y sustancias de degradación intermedia que los organismos pueden utilizar. Los riñones miden la viabilidad de reciclaje de estos compuestos, y en función de la compatibilidad de los sustratos utilizables y de las rutas metabólicas de recirculación, puede ocurrir deficiencia renal e incremento del peso del órgano por retención de líquidos y metabolitos no deseados, aspectos que fueron corroborados por la apariencia y *post mortem* consistencia de este órgano en animales alimentados con dietas que contenían HL, especialmente con D₄ donde el efecto fue más evidente.

Al final del ensayo, la proporción del peso del riñón al peso corporal en casi todos los tratamientos (D₀, D₁, D₂ y D₅) fue similar a la publicada por Hasdai y Liener (1983) para esta especie (3.40%). Sin embargo, los valores obtenidos con D₃ (5.78-5.84%) al final del experimento y con D₄ (4.83-4.93%) al momento del sacrificio anticipado, fueron considerablemente más altos que los obtenidos por los autores mencionados.

Por otro lado, el mayor peso del hígado en hámsters alimentados con D₁ y D₅ podría ser

miden la factibilidad de reciclaje de estos compuestos, y en función del grado de compatibilidad de los sustratos potencialmente aprovechables y las rutas metabólicas de recirculación, puede ocurrir deficiencia renal y aumento de peso del órgano por la retención de líquidos y metabolitos indeseables; aspecto que se corroboró por la apariencia y consistencia *post mortem* de este órgano en los animales alimentados con las dietas que contenían HL, sobretodo con D₄ donde el efecto fue más evidente.

Al final del ensayo, la proporción del peso del riñón respecto al peso corporal, en casi todos los tratamientos que llegaron a término (D₀, D₁, D₂ y D₅), coincidió con lo informado por Hasdai y Liener (1983) para la especie (3,40%). Sin embargo, los valores obtenidos con D₃ (5,78-5,84%) al final del experimento, y con D₄ (4,83-4,93%) al momento del sacrificio anticipado de los animales, fueron considerablemente más altos que los obtenidos por dichos autores.

Por otra parte, el peso mayor del hígado en los hamsters sometidos a D₁ y D₅ podría atribuirse a que estos animales ganaron más peso, y como consecuencia este órgano se encontraba más desarrollado; aspecto corroborado con la proporción del peso del hígado con respecto al peso corporal, que demostró que el porcentaje del hígado para este tratamiento se encontraba dentro del rango normal (<5,0%) y acorde a la condición corporal estándar del *M. auratus* (Carr *et al.*, 1996). Por otra parte, el peso elevado del hígado y su apariencia macroscópica en los animales alimentados con D₄ indica una inflamación severa y colapso tisular, quizás asociado con problemas hepáti-

atributed to the consequence that these animals gained more weight, therefore, this organ was more developed; aspect corroborated by the proportion of the liver's weight in relation to the corporal weight, what showed that the liver's percentage for this treatment was on the normal rank (<5.0%) and according to the standard corporal condition of *M. auratus* (Carr *et al.*, 1996). On the other side, the elevate weigh of the liver and its macroscopic appearance in animals fed with D₄ shows a severe inflammation and tisular collapse, maybe related to hepatic problems due to the nature of the diet which had the highest proportion of HL (30%). These findings agree to the fact that these animals had serum concentrations high in urea, uric acid and enzymes (García *et al.*, 2012b), and consumed higher quantities of water at the time that reduced their weight at a reason of 1.5 gf/day (García *et al.*, 2012a) during the first 9 days of the experiment, moment where were removed from the essay. Likewise, hamsters fed with diets that had 24 or 27% of HL had some altered hematological values. For example, the leucocytes, platelets, neutrophils and glycemia were inferior and the lymphocytes superior in animals fed with D₂ and D₃, with a marked stress index (determined using the coefficient among the neutrophils and lymphocytes) in these animals rather than in those fed with a 21% diet of HL (D₁) or Ratarina (D₅) (Cova *et al.*, 2011).

Among other functions, the liver regulates the blood levels of most of the chemical compound and excretes the bile, which helps eliminating the

cos debido a la naturaleza de la dieta que contuvo la mayor proporción de HL (30%). Estos hallazgos concuerdan con el hecho de que estos animales tuvieron concentraciones séricas altas de urea, ácido úrico y transaminasas (García *et al.*, 2012b), y consumieron mayor cantidad de agua a la vez que disminuyeron su peso a razón de 1.5 gr/día (García *et al.*, 2012a) durante los primeros 9 días del experimento, momento en que fueron removidos del ensayo. Asimismo, los hámsters alimentados con dietas que contenían 24 o 27% de HL tuvieron algunos valores hematológicos alterados. Por ejemplo, los leucocitos, plaquetas, neutrófilos y glicemia fueron inferiores y los linfocitos superiores en los animales alimentados con D₂ y D₃, resultando un índice de estrés (determinado mediante el cociente entre los neutrófilos y los linfocitos) más acentuado en estos animales que en los que consumieron una dieta con 21% de HL (D₁) o Ratarina (D₅) (Cova *et al.*, 2011).

Entre otras funciones, el hígado regula los niveles sanguíneos de la mayoría de los compuestos químicos y excreta la bilis, que ayuda a eliminar los productos de desecho y las sustancias tóxicas biotransformadas. Toda la sangre proveniente del estómago y los intestinos pasa a través del hígado, el cual procesa y descompone los nutrientes en formas más fáciles de usar por el resto de los tejidos del cuerpo, regulando de esta manera la producción de metabolitos nitrogenados (como los aminoácidos, proteínas, amoníaco y urea), el colesterol, el exceso de glucosa, los factores de inmunidad del plasma sanguíneo y las sustancias tóxicas ingeridas en la dieta. Cuando

wastes products and bio-transformed toxic substances. All the blood coming from the stomach and intestines goes through the liver, which processes and decomposes the nutrients in an easier ways to be used for the rests of the body's tissues, thus, regulating the production of nitrogen metabolites (such as amino acids, proteins, ammonia and urea), cholesterol, excess of glucose, immune factors of the blood plasma and toxic substances consumed in the diet. When the liver releases toxic substances, the sub-products are excreted to the bile or the blood. The bile sub-products enter to the organisms and are finally eliminated through the stools, while, the blood sub-products are filtered by the kidneys and excreted by the urine (Dietschy *et al.*, 1993). For such reasons, the hepatic inflammation evidenced by the weight, the external aspect and the proportion of this organ in relation to the alive weight, might be attributed to the elevated concentration of toxics compounds derived from the metabolisms of proteins to toxic substances presented in higher quantity in D₄ and/or to the higher production of enzymes necessary to degrade an elevated quantity of nitrogen substrates (De Vries, 1996; García *et al.*, 2012b).

On this matter, the different appearance in both the kidneys and the liver in animals fed with D₃ and D₄, as well as the higher percentage of the weight in both organs in function of the alive weight; indicate the presence of a chronic toxic situation probably caused by biogenic levels (Rees and Watson, 2000; Fusi *et al.*, 2004). This pathological condition would explain

el hígado degrada sustancias nocivas, los subproductos se excretan hacia la bilis o la sangre. Los subproductos biliares entran en el intestino y finalmente se eliminan en forma de heces, mientras que los subproductos sanguíneos son filtrados por los riñones y se excretan en la orina (Dietschy *et al.*, 1993). Por tales motivos, la inflamación hepática evidenciada por el peso, el aspecto externo y la proporción de este órgano con respecto al peso vivo, quizás pueda atribuirse a la elevada concentración de compuestos nocivos derivados del metabolismo de las proteínas, a sustancias tóxicas presentes en mayor cuantía en D₄, y/o a la mayor producción de enzimas necesarias para degradar una cantidad elevada de sustratos nitrogenados (De Vries, 1996; García *et al.*, 2012b).

Al respecto, la apariencia diferente tanto de los riñones e hígado en los animales alimentados con D₃ y D₄, así como el mayor porcentaje del peso de ambos órganos en función del peso vivo, son indicativos indiscutibles de la presencia de un cuadro tóxico agudo causado probablemente por animas biogénicas (Rees y Watson, 2000; Fusi *et al.*, 2004). Esta condición patológica explicaría la reducción dramática del consumo de materia seca y del crecimiento de los animales del grupo D₄ durante los primeros 9 días del ensayo (García *et al.*, 2012a).

Estos compuestos producidos por la degradación inducida o espontánea de altos contenidos de proteínas en el alimento se reconocen como metabolitos extremadamente perjudiciales por su efecto antinutricional potencial para la alimentación animal y humana (Cova *et al.*, 2006). En ani-

the dramatic reduction of the consumption of dry matter and the growth of animals belonging to group D₄ during the first 9 days of the essay (García *et al.*, 2012a).

These compounds produced by the induced or spontaneous degradation of high protein contents in the food are known as extremely harmful metabolites by their potential anti-nutritional effect for the animal and human consumption (Cova *et al.*, 2006). In laboratory animals fed with diets that had biogenic compounds have been observed variable clinical symptoms in function to the metabolic profile, histopathological changes in organs related to the circulation and excretion, as well as other diseases (Buxbaum *et al.*, 1973; Hellström and Koslow, 1975).

These metabolites produce low-blood-pressure and high-blood-pressure, as most important symptoms (in the case of tyramine). On the other side, cadaverine and putrescine potentiate the toxic effects of histamine; also, putrescine can produce carcinogenic nitrosamines. It has been established that these four can cause intoxication if eaten in elevated quantities; from 50 to 200 mg.kg⁻¹ of alive weight it produces toxic effects, while in concentrations superior to 1 g.kg⁻¹ of PV may result mortal (Izquierdo *et al.*, 2006). The impossibility of quantifying these metabolites in the current research provokes that the abnormalities causes observed in kidneys, liver and intestines of animals fed with high contents of HL are discussed considering different points of view.

It is well known that during the obtaining process of HL occur

males de laboratorio alimentados con dietas que contenían aminas biogénicas se han observado síntomas clínicos variables en función del perfil metabólico, cambios histopatológicos en órganos relacionados con la circulación y la excreción, así como enfermedades coadyuvantes (Buxbaum *et al.*, 1973; Hellström y Koslow, 1975).

Estos metabolitos provocan hipotensión e hipertensión como síntomas más importantes (en el caso de la tiramina). Por su parte, la cadaverina y la putrescina potencian los efectos tóxicos de la histamina, y además, la putrescina puede producir nitrosaminas carcinogénicas. Se ha establecido que estas cuatro aminas pueden causar intoxicación si se ingieren en cantidades elevadas; entre 50 y 200 mg.kg⁻¹ de peso vivo produce efectos tóxicos, mientras que a concentraciones superiores a 1 g.kg⁻¹ de PV pueden resultar mortales (Izquierdo *et al.*, 2006). La imposibilidad de cuantificar estos metabolitos en la presente investigación hace que las causas de las anomalías observadas en los riñones, hígado e intestino de los animales alimentados con altos contenidos de HL sean discutidas considerando diferentes puntos de vista.

Es conocido que durante el proceso de obtención de la HL ocurren procesos de degradación que pueden afectar el valor nutricional de esta fuente alimenticia (Cova *et al.*, 2009). Eso quizás se deba a la elevada carga bacteriana que tiene la HL cuando no es sometida a un tratamiento previo; o debido a reacciones ocurridas a partir de compuestos presentes en el anélido desde el momento de su sacrificio. Además, se han obtenido resultados

degradación procesos que might affect the nutritional value of this food source (Cova *et al.*, 2009). This might be due to the high bacteria number that HL has when is submitted to a previous treatment, or maybe to reactions occurred after compounds present in the annelid from their sacrifice. Also, there are favorable results in other non ruminant species where was used HL as partial substitutes of diets (Díaz *et al.*, 2009), which could be related to the particularities of the digestive specie of each species, the detoxification mechanisms and the obtaining and storing way of HL. This aspect constitutes an element to be considered in future researches, where should be evaluated the profile of biogenic substances in HL and their direct influence in animals.

The few volume fluctuations of the heart and kidneys are justified by the reduced size of these organs and their low proportion to the corporal weight of these animals. Nevertheless, maybe the highest volume of the liver in hamsters fed with D₅ is related to the best corporal condition that these animals presented, that gained more weight than the rest of the treatments.

In relation to the intestine, it is well known that the size (weight and volume) of this organ in rodents might vary in function to the chemical and physical composition of the diets (Nowak *et al.*, 1990). Occasionally, the bad quality of food, in terms of essential nutriments, is related to intestinal hypotrophy conditioned by an inefficient absorption of nutriments and low multiplication of intestinal cells; aspect statistically proved by the

favorables en otras especies no rumiantes en las que se utilizó la HL como sustituto parcial de las dietas (Díaz *et al.*, 2009), lo cual pudiera relacionarse con las particularidades del sistema digestivo de cada especie, los mecanismos de detoxificación y la forma de obtención y almacenamiento de la HL. Este aspecto constituye un elemento a considerar en investigaciones futuras en la cual se debe evaluar el perfil de las aminos biogénicas en la HL y su influencia directa en los animales.

Las pocas fluctuaciones del volumen del corazón y los riñones se justifican por el tamaño reducido de estos órganos y su baja proporción con el peso corporal de los animales. No obstante, quizás el volumen mayor del hígado de los hamsters alimentados con D_5 esté relacionado con la mejor condición corporal que presentaron estos animales, que ganaron más peso que en el resto de los tratamientos.

Con relación al intestino, es conocido que la talla (peso y volumen) de este órgano en los roedores puede variar en función de la composición química y física de las dietas (Nowak *et al.*, 1990). En ocasiones, la mala calidad de los alimentos, en términos de nutrientes esenciales, se asocia con hipotrofias intestinales condicionadas por una ineficiente absorción de nutrientes y baja multiplicación de células intestinales; aspecto quizás relacionado con la menor longitud del intestino en los animales alimentados con D_0 . Asimismo, se ha demostrado en roedores que algunas dietas con un elevado contenido de fibra provocan mayor viscosidad del contenido gastrointestinal, que trae como consecuencia una proliferación acelerada de tejido intestinal con cambios en el

lowed longitude of the intestine in animals fed with D_0 . Likewise, it has been proved in rodents that some diets with an elevated fiber content cause higher viscosity of the gastro-intestinal content, consequently, causing an accelerate proliferation of the intestinal tissue with growth changes of specific parts (Carr *et al.*, 1996).

In non-rodent animals fed with conventional diets, the effects of some components of the food portion were related to the increment of the gastrointestinal tract and/or some specific sections of it (Savón *et al.*, 2008). However, in function of the components of the diets and the type of the animal, the response can vary depending on the inclusion's level of the major component and its pro-nutritional and pro-toxic characteristics (De Vries; 1996), also, influence the physical properties of the portions such as the retention capacity of water, the size of the particles and the bulk-stool viscosity (Savón *et al.*, 2008).

The weight variation and intestine volume have been related to two important factors, first, where occurs the highest transformation of the major compound of the diet, and secondly, which fermentation products are produced.

Even when there were not found findings on the HL incidences in the morphometry of the intestine, the findings of this research indicate a negative effect on these rodents, when HL is supplied in elevated proportions, making it evident by the its toxic effect by the volume increment of the liver and volume and longitude of the intestine, as well as by its macroscopic morphological appearance.

In the case of the diets that had a

crecimiento de partes específicas del mismo (Carr *et al.*, 1996).

En animales no rumiantes alimentados con dietas convencionales el efecto de algunos componentes de la ración alimenticia se asociaron con el aumento del tracto gastrointestinal y/o de algunas secciones específicas del mismo (Savón *et al.*, 2008). Sin embargo, en función de los componentes de las dietas y del tipo de animal de prueba, la respuesta puede ser muy variable dependiendo del nivel de inclusión del componente mayoritario y de sus características pronutricionales y protóxicas (De Vries, 1996); también influyen las propiedades físicas de la ración tales como la capacidad de retención de agua, el tamaño de las partículas y la viscosidad del bolo fecal (Savón *et al.*, 2008).

La variación del peso y el volumen del intestino se ha asociado a dos factores importantes; en primer lugar en qué parte del mismo ocurre la mayor transformación del componente mayoritario de la dieta, y en segundo término que productos de la fermentación se producen.

Aun cuando no se encontraron antecedentes sobre la influencia de la HL en la morfometría del intestino, los hallazgos de esta investigación indican un efecto negativo en estos roedores, cuando la HL se suministra en proporciones elevadas, haciéndose evidente su efecto nocivo por el aumento del volumen del hígado y del volumen y la longitud del intestino, así como también por su apariencia morfológica macroscópica.

En el caso de las dietas que contuvieron una proporción creciente de HL, se observó una relación lineal entre el

growing proportion of HL, was observed a lineal relation between the inclusion percentage of it and the volume and longitude increment of the gastrointestinal track, as well as the intestine percentage in function of the alive weight. This indicates a particularly sensitive effect of HL in these organs, if are considered the asseverations done by De Vries (1996) and Rees and Watson (2000), who informed that even 10% of the intestinal weight, in relation to the alive weight, and a longitude from 10 to 12 cm of the intestine, represent the values accepted as normal for these animals.

Conclusion

From the experimental diets that included HL, D₁ produced the best results in corporal terms, which were similar to the obtained with Ratarina[®]. The 21% inclusion of HL in the diet as supplementary protein source was adequate for these animals and did not cause abnormal variations in the weight of the studied organs, as well as in the volume and appearance of the heart, kidneys, liver and intestine.

The increment of the absolute and relative weight of the intestine, the liver and intestine volumeas well as the intestine longitude showed an apparent relation to the proportion of HL included on the diets. Nevertheless, the increment of the liver's weight was related to the increment of the corporal condition; while, the increment in kidneys was associated by both the corporal condition and the inclusion of HL.

It is suggested to carry out histopathological researches in the affected organs and characterizing the

porcentaje de inclusión de la misma y el incremento del volumen y longitud del tracto gastrointestinal, así como del porcentaje del intestino, en función del peso vivo. Esto indica un efecto particularmente sensible de la HL en estos órganos, si se consideran las aseveraciones realizadas por De Vries (1996) y Rees y Watson (2000) quienes informaron que hasta 10% de peso intestinal, en relación al peso vivo, y una longitud entre 10 y 12 cm del intestino, representan los valores aceptados como normales para estos animales.

Conclusiones

De las dietas experimentales que incluyeron HL, D₁ produjo los mejores resultados en términos corporales, que fueron similares a los obtenidos con la Ratarina®. La inclusión de 21% de HL en la dieta como fuente proteica suplementaria fue adecuada para estos animales, y no causó variaciones anómalas en el peso de los órganos estudiados, así como en el volumen y la apariencia del corazón, los riñones, el hígado y el intestino.

El aumento de peso absoluto y relativo del intestino, del volumen del hígado e intestino y de la longitud intestinal mostró una relación aparente con la proporción de HL incluida en las dietas. No obstante, el aumento de peso del hígado se relacionó más con el incremento de la condición corporal; mientras que el de los riñones se asocia tanto con la condición corporal como con la inclusión de HL.

Se sugiere realizar estudios de histopatología en los órganos afectados y caracterizar el perfil de aminas biogénicas para identificar el agente

profile of biogenic substances to identifying the causal agents of the morphometric changes observed.

Acknowledgement

The authors want to express their acknowledge to the Scientific, Humanistic, Technological and Artistic Development Board of Universidad de los Andes (CDCHTA-ULA) by the financing provided for carrying out this research (CDCHT-NURR-C-355-04-03-A). Also, they thank the experimental and Agriculture Production Station "Rafael Rangel" by the support received for obtaining the worm flour used on this research. Also, they thank the Laboratory of the National Department of Agricultural Researches (CENIAP-Maracay) by their collaboration in some of the analytical determinations. The Vivarium of the University Campus "Rafael Rangel" of Trujillo, Venezuela, specially to Mr. Javier Moncayo, by his collaboration in the maintenance of the animals during the experimental period.

End of english version

causal de los cambios morfométricos observados.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de los Andes (CDCHTA-ULA) por el

financiamiento otorgado para la realización de esta investigación (CDCHT-NURR-C-355-04-03-A). A la Estación Experimental y de Producción Agrícola «Rafael Rangel» por el apoyo recibido para la obtención de la harina de lombriz utilizada en el ensayo. Al laboratorio del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP-Maracay) por su colaboración en algunas de las determinaciones analíticas. Al Vivario del Núcleo Universitario «Rafael Rangel» del estado Trujillo, Venezuela, en la persona del Sr. Javier Moncayo, por su colaboración en el mantenimiento de los animales durante el periodo experimental.

Literatura citada

- Buxbaum D.M., G. Yarbroughm. and E. Carter. 1973. Biogenic amines and narcotic effects. I. Modification of morphine-induced analgesia and motor activity after alteration of cerebral amine levels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185: 317-327.
- Carr T.P., D.D. Gallaher, C.H. Yang and C.A. Hassel. 1996. Increased intestinal contents viscosity reduces cholesterol absorption efficiency in hamsters fed hydroxypropyl methylcellulose1'2'3. *J. Nutr.* 126: 1463-1469.
- Cova L.J. y D.E. García. 2006. Evaluación de parámetros nutricionales utilizando harina de lombriz (*Eisenia* spp.) en la alimentación de hamster (*Mesocricetus auratus* L.). Jornada Técnica, Estación Experimental y de Producción Agrícola «Rafael Rangel» (EEPARR)-Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Trujillo, Venezuela 12 p.
- Cova L.J., D.E. García, J.V. Scorza D., M.G. Medina, T. Clavero, F. Perea y D. González. 2009. Efecto de la estrategia de conservación en la calidad nutritiva de la harina de la lombriz roja (*Eisenia* spp.) a mediano plazo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 26(1): 107-128.
- Cova L.J., D.E. García, S. Briceño, J.V. Scorza D., F. Montilla, M.G. Medina, P. Moratinos, F. Perea y D. González. 2011. Parámetros hematológicos y bioquímicos en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus* L.) alimentado con base en harina de lombriz roja (*Eisenia* spp.) y fuentes convencionales. *Avances en Investigación Agropecuaria* 15(1): 9-29.
- De Jesús R. y Z. Quintero. 2008. Comparación del crecimiento, parámetros reproductivos y de hematología y glicemia en hámsters (*Mesocricetus auratus*) alojados a diferentes niveles de intensidad de luz. *Zootecnia Trop.* 26(1): 19-26.
- De Vries, J. 1996. Food safety and toxicity. De Vries. J. (Ed.). London, UK. 338 pp.
- Díaz D., E. Juárez, M. Maffei, O. Morón, L. González y J. Morales. 2009. Alimentación de codornices de engorde (*Coturnix coturnix japonica*) a base de harina de lombriz en dos niveles proteicos. *Agricultura Andina* 17:3-18.
- Dietschy J.M., S.D. Turley and D.K. Spady. 1993. Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans. *Lipid Res.* 34: 1637-1659.
- Fusi E., L. Rossi, R. Rebutti, F. Cheli, A. Di Giancamillo, C. Domeneghini, L. Pinotti, V. Dell'Orto and A. Baldi. 2004. Administration of biogenic amines to Saanen kids: effects on growth performance, meat quality and gut histology. *Small Rum. Res.* 53(1): 1-7.
- García D.E., M.G. Medina, M. Soca y I.L. Montejo. 2005. Toxicidad de las leguminosas forrajeras en la alimentación de animales monogástricos. *Pastos y Forrajes* 28: 279-289.
- García D.E., L.J. Cova, A.R. Castro, M.G. Medina y J.R. Palma. 2009. Efecto del sustrato alimenticio en la composición química y el valor nutritivo de la harina de la lombriz roja (*Eisenia* spp.). *Revista Científica FCV-LUZ XIX*(1): 55-62.

- García D.E., L.J. Cova, J.V. Scorza, M.E. González, P. Pizzani, M.G. Medina, F. Perea y D. González. 2012a. Efecto de dietas proteicas a base de harina de lombriz roja (*Eisenia* spp.) en el comportamiento del hámster dorado (*Mesocricetus auratus* L.). I. Dinámica de peso y digestibilidad. *Rev. Fac. Agron. LUZ* 29: 248-272.
- García D.E., L.J. Cova, S. Briseño, J.V. Scorza, J.V., Montilla F, M.G. Medina, F. Perea y D. González. 2012b. Metabolitos nitrogenados en el hámster dorado alimentado a base de harina de lombriz (*Eisenia* spp.). *Arch. Zootec.* 61(234): 163-174.
- Hellström S. and S.H. Koslow. 1975. Biogenic amines in carotid body of adult and infant rats-a gas chromatographic-mass spectrometric assay. *Acta Physiol. Scand.* 93(4): 540-547.
- Home Office. 1989. Code of practice for the housing and care of animals used in scientific procedure. 2nd ed. HM&O. Londres. 200 pp.
- Izquierdo P., M. Allara, A. García, G. Torres, E. Rojas y M.Y. Piñero. 2006. Amino biogénas y bacterias en salchichón tipo milano: Efecto del tiempo de almacenamiento. *Rev. Cient. FCV-LUZ* XVI(2): 186-194.
- Llewellyn G.C., E.A. Floyd, G.D. Hoke, L.B. Weekley and T.D. Kimbrough. 1985. Influence of dietary aflatoxin, zinc, and copper on bone size, organ weight, and body weight in hamsters and rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 35(1): 149-156.
- Morón-Fuenmayor O.E., D. Díaz, S. Pietrosemoli, R. Barrera, N. Gallardo, J. Peña y M. Leal. 2008. Efecto de la inclusión de harina de lombriz sobre el rendimiento en canal, en cortes y calidad físico-química de la carne de codorniz (*Coturnix coturnix japonica*). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 25: 674-685.
- Nowak T.V., B. Harrington, J.P. Weisbruch and J.H. Kalbfleisch. 1990. Structural and functional characteristics of muscle from diabetic rodent small intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 258: 690-698.
- NRC. 1995. Nutrients Requirements of Laboratory Animal. Hamster. Fourth revised edition. National Academy Press. 138 p.
- Rees, N. and D. Watson. 2000. International standards for food safety. Aspen Publishers, Inc. Aspen, Colorado. USA. 256 pp.
- Robinson P.F. and C.G. Wilber. 1961. Organ: Body-weight relationships in the hamster. *Anat. Rec.* 141(1): 31-33.
- Savón L., L.M. Mora, L.E. Dihigo, V. Rodríguez, Y. Rodríguez, I. Scull; Y. Hernández y T.E. Ruiz. 2008. Efecto De la harina de follaje de *Tithonia diversifolia* en la morfometría del tracto gastrointestinal de cerdos en crecimiento-ceba. *Zootecnia Trop.* 26(3): 387-390.
- Smith M.A., J.L. Greene-Naples, M.A. Lyle, J.C. Iordanou and J.N. Felder. 2009. The effects of repeated opioid administration on locomotor activity: I. Opposing actions of mu and kappa receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 330(2): 468-475.
- Visauta B. 1998. Análisis Estadístico con SPSS para Windows. En Visauta B (Ed) *Estadística Multivariante*. Mc-Graw-Hill-Interamericana. Madrid, España. 200 pp.