

II. Crecimiento y reproducción de ratas cuyo nutrimento proteínico procede únicamente de levaduras

La levadura seca administrada como alimento actúa de dos maneras muy importantes: (a) Suministra todos los componentes del complejo vitamínico B y (b) es una fuente de proteína cuando se utiliza en proporciones adecuadas.

Queremos en este artículo estudiar las propiedades de la levadura en su acción sobre el crecimiento corporal y las funciones de reproducción de las ratas. La literatura científica sobre este tema, además de exigua, es algo contradictoria, por lo cual hemos creído conveniente revisarla de nuevo.

En el año 1919, Osborne y Mendel⁹ alimentaron ratas con levadura de cerveza, constituyendo ésta la única fuente de suministro de proteínas, en proporción de 30 a 40 por ciento del total de alimentos consumidos. Administróse dicha dieta a los animales durante más de un año, sin que se notase en ellos anormalidad alguna de importancia. Los que consumieron 40 por ciento del total crecieron a un ritmo normal; en las ratas que consumieron 30 por ciento, el crecimiento no fué tan regular. En 1923 Nelson, Heller y Fulmer¹⁰ utilizaron dietas enriquecidas con 25-30 por ciento de levadura de cerveza y observaron que el crecimiento y las funciones de reproducción se produjeron normalmente en los animales que consumieron 45 por ciento de levadura. Alimentáronse con éstas dietas tres generaciones sucesivas de ratas, pero el crecimiento de los vástagos fué algo inferior a lo normal. Cuando la levadura ingerida era 50 por ciento, la curva de crecimiento descendía después de tres meses. Mangold, Columbus y Hock¹¹ observaron resultados semejantes en el año 1939 administrando levadura *Torula utilis* crecida en productos residuales de la manufactura de papel (método del sulfito).

Ultimamente (1946) Sure¹² utilizó como alimentación experimental levadura de cerveza, suministrándola en la ración a una concentración de 30 y 40 por ciento, o sea, 14 y 18 por ciento, respectivamente, de proteína. Observó entonces el crecimiento, las funciones de reproducción y la lactancia en tres generaciones consecutivas de

9. T. B. Osborne and L. B. Mendel, The nutritive value of yeast protein. *J.Biol.Chem.*, **38**:223-227, 1919.

10. V. E. Nelson, V. G. Heller, and E. I. Fulmer, Studies on yeast. VII. The dietary properties of yeast. *J.Biol.Chem.*, **57**:415-424, 1923.

11. E. Mangold, A. Columbus, and H. Hock, Long-time feeding of rats with yeast grown on the sulphite waste from cellulose manufacture. *Biedermanns Zentr.B.Tierernähr*, **11**:357-369 1939.

12. B. Sure, Biological value of food yeast proteins and their role as supplements to the proteins of the cereal grains. *J.Am.Dietet.*, **22**:114-116, 1946.

ratas. Dichas funciones se cumplieron de manera más o menos semejante a cuando la alimentación suministrada contenía 15 por ciento de caseína purificada.

La levadura incorporada en la ración alimenticia usada por Sure no sólo suministraba proteínas sino también vitamina B, fósforo, potasio, magnesio y otros elementos nutritivos. Las raciones estaban también enriquecidas, con abundancia de todas las vitaminas liposolubles. Asegura Sure que las cepas de levaduras estudiadas por él, "además de suministrar todos los componentes del complejo vitamínico B, constituyen un excelente material para la constitución tisular cuando figuran en la alimentación como única fuente de proteínas, de las cuales dependen el crecimiento, las funciones reproductivas y la lactancia."

Este mismo investigador, sin embargo, no pudo obtener que otro lote de ratas, estudiadas algún tiempo después, llegasen siquiera a su crecimiento normal cuando les administró otro tipo de levadura.¹³ Otras comunicaciones sobre experimentos de esta clase parecen indicar que ciertas levaduras no sirven para que los animales crezcan ni se reproduzcan normalmente, cuando se las administra como única fuente de proteínas en la ración alimenticia.

En el año 1928, Still y Koch¹⁴ emprenden un riguroso estudio sobre este mismo problema, utilizando levadura de pan como única fuente de proteínas, en proporción al 30 por ciento de la ración alimenticia, y aseguran que el crecimiento de las ratas fué inferior a lo normal, pues la proteína de esta levadura no era utilizada eficientemente por los animales de experimentación. En 1931, Kon y Markuze¹⁵ dicen haber observado que el ritmo normal de crecimiento con la levadura de cerveza podía mejorar si se sustituía parte de la levadura por harina de trigo. Utilizando una dieta que contenía 9.3 por ciento de proteína cruda, en la que la sexta parte del contenido total proteínico procedía de una mezcla de cebada y trigo, observó Hock¹⁶ (1942) que, si a la ración alimenticia se añadía levadura de cerveza o de *Torula*, el crecimiento de las ratas era sólo el 50 por ciento de lo que crecían cuando el resto de la proteína consistía de harina de pescado. El crecimiento normal se obtuvo, no

13. Información suministrada a J.A.G.

14. E. U. Still and F. C. Koch, The biological value of yeast proteins for the rat. *Am.J. Physiol.*, **87**:225-248, 1928.

15. S. K. Kon and Z. Markuze, The biological values of the proteins of breads baked from rye and wheat flours alone or combined with yeast or soya bean flour. *Biochem.J.*, **25**:1476-1484, 1931.

16. A. Hock, Über den biologischen Ergänzungswert verschiedener Nahrungsproteine; der Ersatz von Tierischem Eiweiss durch Hefeesweiss. *Biochem.Ztschr.*, **311**:385-401, 1942.

obstante, cuando el 50 por ciento de la harina de pescado se substituyó con levadura.

EXPERIMENTACIÓN

Hemos estudiado dos clases de levadura: una levadura de cerveza¹⁷ y una *Torula*¹⁸ crecida en un medio de melaza, en la Planta Piloto (experimental) de la Compañía de Fomento Industrial del Gobierno de Puerto Rico. La levadura de *Torula* se obtuvo de una cepa número 3 de *Torula utilis*, procedente de la Universidad de Wisconsin.

Como animales de experimentación utilizamos ratas albinas (*Wistar*) criadas en nuestra granja de animales, alimentadas con la ración ordinaria y separadas de las madres a los veintiocho días de nacidas. Se les tomó el peso semanalmente y, una vez llegadas a su madurez, se comenzaron los experimentos de apareamiento. Las jaulas en que encerramos a los animales estaban provistas de fondo desmontable.

La composición de las dietas alimenticias aparecen en la tabla 3. Las proteínas alimenticias se calcularon a base del contenido proteínico crudo (N total (Kjeldahl) x 6.25).

TABLA 3
Composición de las distintas dietas suministradas a las ratas

Dieta	Porcentaje de los ingredientes										
	1	2	3	4	5	6	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a
Levadura desecada de cerveza	20	30	40		30	40		18			
Levadura desecada de <i>Torula</i>				30					17		
Caseína							10				38
Habichuelas rojas (cocidas y secas)										20	
Habichuelas soya (cocidas y secas)											38
Almidón de maíz	56	46	36	46	46	36	66	58	59	56	
Grasas de mantequilla de leche							10	10	10	10	10
Aceite de soya ^b	9	9	9	9							
Aceite de maíz (mazola)					9	9					
Aceite de hígado de bacalao	1	1	1	1	1	1					
Sucrosa	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Mezcla salina ^c	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Celulosa en polvo (<i>Cellu flour</i>) ^d	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

^a Complementos: 2 mg. de tiamina, 2 mg. de piridoxina y 8 mg. de riboflavina por kilo.

^b El aceite de soya no contenía casi ninguna vitamina E.

^c Mezcla salina modificada de Osborne y Mendel (Hawk and Oser, Science, 74:369, 1931).

^d Procedente de *Chicago Dietetics Products Co.*

17. Fleischmann, tipo 2019.

18. Cortesía del Sr.R. Fernández García, Vice-presidente de la Compañía de Fomento Industrial, a cargo de los trabajos de investigación.

CRECIMIENTO DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON LEVADURAS DE CERVEZA Y DE *Torula* COMO ÚNICA FUENTE DE PROTEÍNA

Emprendimos tres ensayos con la levadura de cerveza, utilizándola en proporción de 20, 30 y 40 por ciento de la dieta experimental. Como disponíamos de poca cantidad de levadura de *Torula* sólo pudimos realizar con ella un ensayo. La utilizamos en proporción de 30 por ciento, porque en experimentaciones anteriores con levadura de cerveza habíamos obtenido rendimiento máximo con esta proporción. En cada ensayo sometimos seis ratas (tres machos y tres hembras), de un peso inicial medio de 39.3 g, a cada una de dichas dietas, o sea, a un total de 24 animales. El ensayo experimental duró diez semanas, durante las cuales los animales se alimentaron y bebieron agua *ad libitum*.

Otro lote de 92 ratas alimentadas con la dieta ordinaria del laboratorio, se le tuvo bajo observación en calidad de testigo,¹⁹ pues el crecimiento de estos animales y sus funciones reproductivas nos habían de servir para establecer las debidas comparaciones. El crecimiento fué siempre superior al de las ratas a las que se administraron levaduras alimenticias, excepto en la primera generación de animales alimentados con la dieta número 2 (con 30 por ciento de levadura de cerveza).

En la tabla 4 aparecen los pesos corporales de animales machos y hembras que pertenecen a la primera, segunda, tercera y cuarta generación de animales que fueron alimentados con dietas que contenían distintas proporciones de levaduras de cerveza y *Torula*.

El crecimiento y reproducción en los que ingirieron 30 por ciento de *Torula* resultaron algo inferiores a los de los animales que ingirieron levadura de cerveza en la misma proporción. La tabla 4 muestra también el crecimiento de la primera generación de animales alimentados con la dieta ordinaria del laboratorio; demuéstrese en ella que las funciones reproductivas se cumplieron perfectamente en las sucesivas generaciones y el crecimiento se mantuvo dentro de un ritmo uniforme.

19. M. Goettsch, Growth and reproduction in the rat on diets of rice and beans. Puerto Rico J. Pub. Health & Trop. Med., 21:239-255, 1946.

TABLA 4

Peso corporal de la primera, segunda, tercera y cuarta generación de ratas, machos y hembras, alimentadas con diferentes dietas durante un período de diez semanas

Generación	Sexo	Peso corporal al terminar el período experimental				
		Alimentación con la dieta ordinaria G.	Alimentación con levadura de cerveza			Alimentación con levadura Torula G.
			20 por ciento ^a (Dieta 1) G.	30 por ciento ^a (Dieta 2) G.	40 por ciento ^a (Dieta 3) G.	
1 ra.	Machos	240	114	238	196	146
	Hembras	170	89	172	130	138
2da.	Machos	240	No se obtuvo 2da. generación	120 (2) ^b	108 (2)	No se obtuvo 2da. generación
	Hembras	170		88 (3)	95 (4)	
3ra.	Machos	240		No se obtuvo 3ra. generación	163 (6)	
	Hembras	170			117 (14)	
4ta.	Machos	240			103 (13)	
	Hembras	170			90 (13)	

^aA la dieta de estos animales se le agregó una cantidad adecuada de vitamina E.

^bLas cifras en paréntesis indican el número de animales utilizados de las distintas generaciones en los ensayos experimentales de crecimiento.

A dos lotes de animales de la cuarta generación (tabla 5) se les crió con la dieta número 3 (40 por ciento de levadura de cerveza), comenzando a administrarle después del destete a uno de dichos lotes la dieta antedicha adicionada de 0.1 por ciento de metionina, y al otro, la dieta regular del laboratorio. El primer lote al que se le administró metionina creció mejor que los animales que se alimentaron con la dieta 3 no enriquecida (tabla 4), y su salud general mejoró también.

Mientras los animales sometidos a la alimentación con la dieta 3 dieron un 38 por ciento de mortalidad en las primeras diez semanas del experimento, en los que se alimentaron con la dieta adicionada con metionina no hubo mortalidad alguna en ese período. Los efectos producidos por la alimentación con la ración ordinaria del laboratorio, en animales de la cuarta generación, fueron aún más espectaculares: su crecimiento se realizó en forma semejante a las de los animales de cuatro generaciones sucesivas que habían recibido la dieta corriente del laboratorio: supervivencia de 100 por ciento. En el grabado 1 puede verse el aspecto de las ratas de cada lote después de cuatro semanas de haber comenzado el experimento.

TABLA 5

Alimentación de animales de la cuarta generación con la dieta número 3 adicionada de metionina, y con la dieta ordinaria del laboratorio

Ración	Núm. de ratas	Peso inicial a los 28 días de nacidas G.	Peso al final del experimento G.	Aumento en peso (10 semanas) G.	Porcentaje de supervivencia
Dieta núm. 3, + 0.1% de metionina	6 ♂	35	132	97	100
	6 ♀	35	95	60	100
Dieta ordinaria del laboratorio (Núm. SB VIII)	5 ♂	33	261	228	100
	6 ♀	33	167	134	100

EXPERIMENTOS DE ALIMENTACIÓN EN PAREJAS DE ANIMALES

Para comparar el valor estimulante del crecimiento de las levaduras de cerveza y *Torula* con el de otros alimentos protéicos, iniciamos un experimento alimentando parejas de animales durante un período de cinco semanas, durante el cual se les administraron distintas dietas que contenían 8 por ciento de proteínas procedentes exclusivamente de los siguientes productos: levadura de cerveza, levadura de *Torula*, caseína, habichuelas soya y habichuelas rojas (Dietas núms. 7, 8, 9, 10 y 11). Estas dietas ya las habíamos utilizado anteriormente al determinar el valor biológico de cada una de las proteínas alimenticias que ahora nos proponíamos estudiar. (Estos resultados han sido objeto de una comunicación anterior.²⁰)

En estos experimentos hemos utilizado, en cada uno, 3 parejas de animales: tres machos y tres hembras. El alimento administrado se determinó a base de la cantidad consumida por el animal más inapetente. Véase en la gráf. II el peso que aumenta cada rata con las diferentes dietas adicionadas de distintas proteínas.

Los animales aumentaron de peso 33 g., los alimentados con la dieta con caseína; 29 g., con levadura de cerveza y, 22 g., con habichuelas soya. Los que consumieron levadura *Torula* y habichuelas rojas casi no aumentaron de peso durante las cinco semanas que duró el experimento. Resulta interesante que (v. tab. 6) el valor estimulante del crecimiento de las diferentes proteínas que hemos estudiado, o sea, el aumento en peso corporal en gramos, por gramo

20. J. A. Goyco and C. F. Asenjo, Estudios sobre el valor nutritivo de las levaduras comestibles y otros alimentos protéicos. *El Crisol*, 1:2-9, 1947.

de proteína consumida, puede ordenarse conforme al valor neto de proteína de los respectivos alimentos que los contienen. Esto no debe sorprendernos, pues el valor estimulante del crecimiento de una proteína, cuando se la administra como alimento básico, depende de su grado de digestibilidad tanto como de la cantidad de proteína existente por unidad de peso del alimento ingerido. Estos dos factores determinan el valor neto de proteína en un producto alimenticio determinado.

Por otra parte, el valor biológico está representado por una cifra completamente independiente del coeficiente de digestibilidad y del porcentaje de proteína existente en el producto alimenticio; o sea, representa el porcentaje de nitrógeno absorbido y asimilado por el organismo animal. En términos generales, se considera que una proteína con un elevado valor estimulante del crecimiento y un valor biológico inferior es más apta para el crecimiento que para la alimentación de sostén y viceversa. Los valores biológicos correspondientes a la levadura de cerveza, a la caseína y a la habichuela soya no son muy diferentes entre sí, y todos son mucho más elevados que los de las habichuelas coloradas y de la levadura *Torula*. Lo mismo ocurre con los valores estimulantes del crecimiento correspondientes a sus proteínas respectivas. Las habichuelas rojas parecen ser mejor utilizadas como alimentación de sostén que como factor estimulante de crecimiento en comparación con la levadura *Torula*, la cual, según parece, es más propia para el crecimiento corporal que para el sostenimiento físico. La caseína y la levadura de cerveza están aproximadamente al mismo nivel en ambas funciones, mientras que la habichuela soya parece ser algo mejor como alimento de sostén que como estimulante del crecimiento en comparación con la caseína y la levadura de cerveza.

TABLA 6

Valor estimulante del crecimiento, valor biológico y valor proteínico neto de los distintos alimentos protéicos suministrados en proporción de 8 por ciento de la dieta

Núm. de la dieta y procedencia de su proteína	Valor estimulante del crecimiento de la proteína	Valor biológico de la proteína	Valor proteínico neto del alimento
Dieta 7 (caseína)	1.81	71.7	57.1
Dieta 8 (levadura de cerveza)	1.76	69.3	30.1
Dieta 10 (habichuelas soya)	1.39	73.1	25.6
Dieta 9 (levadura <i>Torula</i> 3)	0.57	45.3	20.0
Dieta 11 (habichuelas rojas)	0.11	57.1	9.3

VITAMINA E EXISTENTE EN LA LEVADURA

Cuando las ratas, machos y hembras, que habían sido criadas exclusivamente con las dietas 1, 2, 3 y 4 desde el momento del destete, llegaron a la madurez sexual, se las puso a aparear con machos y hembras escogidos entre los animales de nuestro laboratorio, de fertilidad comprobada. Determinóse el momento propicio para el apareamiento después de observar cuidadosamente el ciclo estrogénico por medio del procedimiento de Long y Evans,²¹ que consiste en poner sobre un portaobjeto una pequeña cantidad de exudado vaginal, con una espatulilla mojada en solución salina normal. Para esta operación se coge el animal suavemente con la mano izquierda, se separan los labios de la vulva y se introduce la espatulilla en la vagina. No es necesario extraer gran cantidad de exudado para poder establecer el diagnóstico, pues el exudado existente en los labios es tan efectivo como el que existe en el cuello uterino. Se deposita entonces el material obtenido junto con una gota de agua y se extiende sobre la laminilla de cristal, y se le examina al microscopio con objetivo de pequeño aumento. La fase del ciclo estrogénico se calcula por la clase de epitelio existente en el exudado.²² Cuando la hembra está en el período fertilizable se la pone durante una noche en una jaula aparte junto con un macho para lograr el apareamiento. Para comprobar si la inseminación se ha verificado se examina la hembra a la mañana siguiente, determinando si existe coágulo vaginal y espermatozoos en el exudado.

En casi todos los casos se comprobó, a los catorce días después del apareamiento, la existencia del signo de implantación en las hembras inseminadas por machos en estado normal procedentes de nuestra colonia de animales. En muy pocas ocasiones las hembras preñadas llegaron a parir. Pesando las hembras grávidas se podía comprobar si se había verificado la reabsorción del feto. Sacrificamos dos hembras dos o tres días antes de la fecha probable del parto, y en ambos casos comprobamos el sitio en que se había verificado la reabsorción. Decidimos entonces administrar a estas ratas 11 mg. de alfa-tocoferol (vitamina E) el día después del apareamiento, con objeto de que la preñez llegase a término. Utilizamos para esta prueba hembras que anteriormente no habían parido por haberse reabsorbido el óvulo fecundado, y en todas las ocasiones parieron sus crías en la fecha debida. Los resultados de los experimentos con animales de primera

21. J. A. Long and H. M. Evans, The estrus cycle in the rat and its associated phenomena. Experimental studies in the physiological anatomy of reproduction. Memoirs U. California, Berkeley, Vol. 6, 1922.

22. *Ibid.*

TABLA 7
Carencia de vitamina E en las dietas de levaduras alimenticias

Rata núm.	Dieta núm.	Complementada con	Coágulo san- guíneo	Peso de la rata hembra			Núm. de crías en cada pari- ción	Peso medio		Porcentaje de mortalidad antes de los 28 días de nacido	Anotaciones
				Al aparea- miento G.	Al apare- cer el coágulo G.	A los 20 días des- pués del aparea- miento G.		De todas las crías G.	De cada cría G.		
20 ♀	1	Nada	+	157	176	164	No hubo pari- ción				Reabsorción; autopsia de- muestra cuatro sitios de implantación ovular Reabsorción
21 ♀	1	Nada	+	146	160	158	No hubo pari- ción	31	4.4	100	Crías sobrevivieron 3 días solamente Reabsorción
21 ♀	1	11 mg. de alfatocferol el día después del apa- reamiento	+	156	162	178	No hubo pari- ción				Crías natimuertas; parición difícil
31 ♀	2	Nada	+	214	225	219	No se anotó el núm. de crías nacidas			100	Reabsorción
31 ♀	2	11 mg. de alfatocferol el día después del apa- reamiento	+	200	221	230	No hubo pari- ción				Reabsorción; autopsia de- muestra cinco huellas de implantaciones en la trompa derecha y siete en la iz- quierda Reabsorción
41 ♀	3	Nada	+	172	188	173	No hubo pari- ción				Crías muertas por la madre
37 ♀	4	Nada	+	152	160	158	No hubo pari- ción	31	4.4	100	
37 ♀	4	11 mg. de alfatocferol el día después del apa- reamiento	+	140	157	187	7				

generación, a los que se administró diferentes dietas carentes de vitamina E, aparecen tabulados en la tabla siguiente.

Los machos de primera generación, alimentados con las dietas 1, 2, 3 y 4, al aparearlos con hembras fértiles de la colonia de animales, resultaron también estériles después de repetidos apareamientos. Al sacrificar estos animales se comprobó, por medio del examen del exudado tomado del *vas deferens* (frotis en portaobjetos, en solución Locke), que sólo uno de los machos albergaba espermatozoos móviles en los testículos. En todos los demás existía aspermia o los espermatozoos carecían de movilidad caudal. Los testículos pesaban, por término medio, 0.5 g; en cambio, en los machos normales de la misma edad, procedentes de la colonia de animales, el peso testicular fué 1.15 g. El examen anatomopatológico demostró entonces que todos los machos alimentados con las dietas de levaduras, incluso todos aquellos con espermatozoos móviles, presentaban alteraciones degenerativas más o menos avanzadas del epitelio germinal.

La esterilidad de las ratas a las que se administra levaduras alimenticias como única fuente de proteínas, es un fenómeno ya observado por Funk y Douglas,²³ en el año 1913, y por Drummond²⁴ en 1918. Debe advertirse que por esas fechas todavía no se conocían las funciones que desempeñaba la vitamina E en la nutrición, y sobre todo se ignoraba su papel como factor específico en las funciones reproductivas en las ratas. La carencia de este factor en la levadura fué probablemente lo que contribuyó a la identificación de la vitamina E, pues en esa época la levadura era el producto que se utilizaba generalmente para suministrar vitamina B a las dietas sintéticas. Si la levadura hubiera contenido cantidades apreciables de vitamina E, hubiera sido imposible preparar dietas carentes de este factor. Las levaduras *Torula* y de cerveza, que hemos utilizado en estos experimentos, carecían casi absolutamente del factor vitamínico E, a juzgar por los resultados obtenidos.

FERTILIDAD, REPRODUCCIÓN Y LACTANCIA EN LOS ANIMALES ALIMENTADOS CON DIETAS SINTÉTICAS ENRIQUECIDAS CON VITAMINA E Y CON PROPORCIONES DISTINTAS DE LEVADURAS, COMO FUENTE ÚNICA DE PROTEÍNAS

Con objeto de esclarecer un tanto la influencia que la cantidad de proteínas de la alimentación puede ejercer sobre la fertilidad, fecun-

23. C. Funk and M. Douglas, Studies on beri-beri. VIII. The relationship of beri-beri to glands of internal secretion. *J. Physiol.*, London, 47:475-478, 1914.

24. J. C. Drummond, I. A study of the water-soluble accessory growth-promoting substance. II. Its influence upon the nutrition and nitrogen metabolism of the rat. *Biochem. J.*, 12:25-41, 1918.

didad y lactancia en la rata, escogimos varios lotes de estos animales y les administramos raciones alimenticias que contenían distintas proporciones de levadura como fuente exclusiva de proteína.

El lote de ratas al que se administró la dieta 8 (v. tab. 8) se componía de diez hembras llegadas a su madurez normal, procedentes de nuestra colonia de animales. A la mitad se administró la dieta experimental un mes antes de aparearlas con los machos, y a las otras cinco ratas se les dió la misma dieta, pero a partir del día siguiente al apareamiento. Como los animales de ambos lotes respondieron en la misma forma, sus resultados aparecen combinados en un solo grupo. La dieta 8 contenía 18 por ciento de levadura de cerveza, o sea, 9 por ciento de proteína. A todos los animales se les administró semanalmente 7.6 mg. de tocoferol.

Los otros animales utilizados en el experimento fueron ratas de 28 días de nacidas, a las que se administró la dieta experimental desde la época del destete. Al llegar a la madurez se las puso a aparear con machos de fecundidad comprobada. En esa época cada una de las hembras alimentadas con las dietas 1, 2 y 4 ingerían al mismo tiempo 11 mg. de tocoferol, pues esas dietas, al igual que la número 8, no contenían cantidad suficiente de vitamina E. A 12 animales sometidos a la dieta 6 (40 por ciento de levadura de cerveza) no se les dió tocoferol, pues esta dieta contenía 9 por ciento de aceite de maíz (mazola), rico en dicha vitamina.

Los datos observados demuestran que la fertilidad, fecundidad y lactancia sufrieron la influencia de la alimentación experimental, siendo más notable cuando la proporción de proteína de levadura era menos de 18 por ciento. El único lote de animales, en que las funciones reproductivas y la fertilidad fueron casi normales, fué el sometido a alimentación con la dieta 6, cuyo porcentaje de levadura de cerveza equivalía a 18 por ciento de proteína. Aunque a los animales sometidos a esta dieta se les destetó a los 28 días, su peso medio en ese momento fué siempre inferior al de los otros animales de esa misma edad criados en la colonia con la alimentación acostumbrada. No obstante, la segunda generación de hembras fueron de fertilidad normal y concibieron y criaron una tercera generación de animales.

En algunas hembras alimentadas con las dietas 1, 2 y 6 se comprobó cierto grado de infección del oviducto, la cual generalmente aparecía después de parir más de una cría, desde cuyo momento quedaban infecundas, sin que se comprobase el signo rojo estrogénico. En cada uno de estos casos la autopsia demostró la existencia de una infección aguda en una o ambas trompas.

TABLA 8
 Funciones reproductivas en ratas alimentadas con la dieta usual en la colonia de animales (SB VIII) y
 en ratas con dietas sintéticas conteniendo vitaminas como fuente exclusiva de proteína

Observaciones	SB VIII	Dieta 8	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 6	Dieta 4
	De 28 días de nacidas	Ratas en madurez sexual	De 28 días de nacidas			
1. Edad de los animales al ponerles a dieta especial						
2. Núm. de hembras en el lote	12.0	10.0	2.0	5.0	12.0	3.0
3. Núm. de apareamientos comprobados	15.0	35.0	7.0	5.0	30.0	4.0
4. Núm. de crías nacidas	15.0	10.0	3.0	4.0	26.0	2.0
5. Porcentaje de fertilidad ⁽⁴⁾ ₍₃₎	100.0	28.6	42.9	80.0	86.7	50.0
6. Cifra media de crías por parición	9.1	3.8	4.7	4.1	7.6	4.5
7. Cifra total de crías destetadas a los 28 días de nacidas	120.0	5.0		1.0	1.78	
8. Porcentaje de crías destetadas $\frac{7}{(4 \times 6)}$	87.5	13.2		6.1	89.9	
9. Peso medio de los animales de 28 días de nacidos	58.0	15.0		18.3	33.7	
10. Núm. de casos con infección comprobada del oviducto			2.0	1.0	3.0	

RESUMEN

Hemos estudiado cómo se cumplen el crecimiento, las funciones de reproducción y la lactancia en lotes de ratas sometidas a alimentación con levaduras de cerveza y *Torula*, como única fuente proveedora de proteínas. Hemos comparado el cumplimiento de estas funciones biológicas entre los animales alimentados con levaduras, con los que ingerían la ración corriente que se acostumbra a administrar a nuestros animales de laboratorio. Las dietas de levaduras resultaron todas inferiores a esta última, como puede comprobarse en los datos que van a continuación:

1. El crecimiento de las ratas en estado normal de salud, alimentadas desde los veintiocho días de nacidas con diferentes raciones experimentales de levadura, fué menor que el de los animales criados en la colonia de animales, durante todo el tiempo que duró el experimento, ingiriendo la ración ordinaria, excepción hecha de la primera generación a la que se administró la dieta número 2 (30 por ciento de levadura de cerveza), en que el crecimiento fué igual al de los animales existentes en la colonia.

2. Tanto la levadura de cerveza como la *Torula* resultaron casi completamente desprovistas de vitamina E.

3. Las funciones de reproducción en las ratas sometidas a la alimentación con levadura de cerveza enriquecida con vitamina E cumplieron en grado inferior a la de las ratas de nuestra colonia de animales. Solamente los lotes de animales que se alimentaron con las dietas 2 (30 por ciento de levadura de cerveza), 3 y 6 (40 por ciento de la misma levadura) dieron de sí una segunda generación. Los que ingirieron las dietas 3 y 6 originaron tercera y cuarta generaciones. Sólo 6.1 por ciento de la segunda generación de animales procedentes de madres, alimentadas con la dieta 2, llegaron a los 28 días de vida. Por otra parte, las segunda, tercera y cuarta generaciones alimentadas con las dietas 3 y 6, se reprodujeron normalmente, pero la lactancia fué muy pobre: los animales de 28 días de nacidos pesaron casi la mitad que los vástagos de madres de la misma edad criados en la colonia con la dieta usual.

4. La levadura *Torula* suministrada en la alimentación, en proporción de 30 por ciento, no es capaz de proveer la proteína necesaria para el crecimiento físico, las funciones de reproducción ni la lactancia de las crías.

5. Hemos realizado experimentos para comparar, en parejas de animales, el valor estimulante del crecimiento que poseen distintas clases de productos alimenticios: caseína, levadura de cerveza, habichuelas soya, levadura *Torula* y habichuelas rojas. La caseína,

la levadura de cerveza y las habichuelas soya poseen valores estimulantes mucho mayores; la levadura *Torula* es, aproximadamente, la tercera parte, y las habichuelas rojas ocupan el último lugar a este respecto.

III. Efectos del calentamiento sobre el valor nutritivo de las levaduras alimenticias

La proteína de la levadura alimenticia (*Torula utilis*) posee valor biológico y una capacidad estimulante del crecimiento inferiores a la mayoría de las levaduras de cerveza²⁵ que hemos utilizado en este laboratorio en experimentos sobre nutrición.²⁶ Tratando de mejorar el valor nutritivo de esta fuente tan importante de proteína alimenticia, decidimos someter varias muestras de esta levadura a diferentes formas de calentamiento. Empezamos nuestra investigación en cooperación con los laboratorios de experimentación (*Pilot Plant*) de la Compañía de Fomento Industrial del Gobierno de Puerto Rico, labor que realizamos en la Escuela de Medicina Tropical como parte de los estudios que iniciamos en el año 1944.

Es cosa conocida desde hace tiempo que el valor nutritivo de una proteína puede modificarse sometiéndola a distintas formas de calentamiento, que en unos casos aumenta,²⁷ en otros la empobrece²⁸ y en ocasiones, no la afecta en absoluto.²⁹ La temperatura, la presión, el tiempo de exposición y la clase de calor utilizado son factores que influyen sobre la proteína y modifican materialmente su naturaleza en mayor ó menor grado. Esta modificación puede consistir en eleva-

25. Fleischman, Tipo 2019.

26. J. A. Goyco and C. F. Asenjo, The net protein value of food yeast. *J.Nutrition*, **33**:593-600, 1947.

27. C. O. Johns and A. J. Finks, Studies in nutrition. II. The role of cystine in nutrition as exemplified by nutrition experiments with the proteins of the Navy bean, *Phaseolus vulgaris*. *J.Biol.Chem.*, **41**:379, 1920.

J. W. Hayward, H. Steenbock, and G. Bohnstedt, The effect of heat as used in the extraction of soybean oil upon the nutritive value of the protein of soybean meal. *J.Nutrition*, **11**:219-234, 1936.

28. A. F. Morgan and G. E. Kern, The effect of heat upon the biological value of meat protein. *J.Nutrition*, **7**:367-379, 1933.

H. A. Waisman and C. A. Elvehjem, The effect of autoclaving on the nutritive value of edestin. *J.Nutrition*, **16**:103-114, 1938.

29. A. Scheunert and C. Venus, Über den Nährwert reiner FleischKost hergestellt aus rohem, gekochtem and autocklaiviertem Muskelfleisch bei Ratten. *Biochem.Ztschr.*, Bd. 219, S.186, 1932.

N. Jarussowa, Der Einfluss des Kocheus auf den Nährwert der Nahrung. *Biochem. Ztschr.*, Bd.209, S.395, 1929.