

C. Bienestar animal I, II,

MARCADORES DE ESTRÉS: NIVELES DE CORTISOL EN ESCAMAS Y ALETAS DE PECES CULTIVABLES

Leal E¹, Sánchez E¹, Cerdá-Reverter JM¹

¹ Fish NeuroBehaviour Lab, Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, IATS, CSIC, Castellò, España.

Resumen

Nuestros estudios preliminares muestran una presencia significativa de cortisol en escamas y aletas de diferentes especies de elevado interés en acuicultura como la lubina, dorada, corvina y serviola, e incluso se ha determinado, en la mayoría de éstas, que los niveles basales de cortisol analizados, son más elevados en las aletas (pectoral y caudal) que en las escamas (donde no se ha observado una zonación de cortisol predispuesta). Los resultados presentados en este trabajo muestran que, tras la inducción de un estrés mecánico tanto en dorada como en corvina, los niveles de cortisol se incrementan significativamente en suero, aleta pectoral y aleta caudal, sin embargo, no existen diferencias significativas en el cortisol presente en las escamas. Dicha aproximación incrementa la posibilidad de utilizar las aletas para determinar los niveles de la hormona y así introducir un nuevo método semi-invasivo capaz de cuantificar el estrés crónico conllevado por los peces a lo largo de su ciclo de vida. Consiguiendo en un futuro formar parte de un indicativo de calidad del pescado, reflejando el bienestar del animal.

Introducción

Uno de los principales problemas de la acuicultura es la respuesta de los animales a situaciones de estrés asociadas a las condiciones de cría. El estrés puede ser definido como un estado de amenaza a la homeostasis de un organismo, que trata de restablecerse activando un complejo repertorio de procesos conductuales y fisiológicos que se integran en su respuesta adaptativa. Esta respuesta incluye la síntesis y secreción de glucocorticoides suprarrenales. En los peces, el principal glucocorticoide es el cortisol y su aumento es una de las respuestas al estrés más conservadas (Sadoul y Greffoy, 2019). Por esta razón, la determinación de sus niveles en el plasma es un indicador del grado de estrés experimentado por el organismo. Sin embargo, los niveles plasmáticos no reflejan necesariamente estados de estrés crónico, ya que la exposición prolongada a factores estresantes induce la desensibilización del eje HPI al factor estresante como resultado de la sobrecarga alostática (Aguilleiro et al., 2013; Aerts et al., 2015). Estudios recientes han demostrado que el cortisol se acumula en estructuras externas como el pelo, las plumas o las escamas en vertebrados. Por tanto, medir el cortisol en las escamas podría ser un buen indicador de estrés crónico, pudiendo obtener un historial de acontecimientos estresantes no específicos (Aerts et al. 2015).

Material y Métodos

Animales: Doradas (*S. aurata*) y corvinas (*A. regius*) de 200gr, se mantuvieron en tanques de 500l a 18°C con un fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad y se alimentaron con un pienso comercial. Antes de su manipulación, los peces fueron anestesiados con tricafina, y se eutanasiaron mediante una sobredosis del mismo anestésico.

Efecto del estrés en los niveles de cortisol en dorada y corvina: Los peces de ambas especies fueron divididos en dos grupos (control y estresados). A los estresados se les aplicó 3 veces por semana un estrés inducido por el descenso del agua del tanque y 1min de exposición al aire. Los controles no fueron sometidos a ningún agente estresante. Finalmente, se extrajo sangre, escamas, aleta pectoral y aleta caudal de 12 animales por grupo para determinar los niveles de cortisol en cada muestra.

Niveles de cortisol en suero, escamas y aletas: Para la determinación de los niveles de cortisol plasmáticos, en escamas y en aletas, se empleó la técnica ELISA. El ensayo se llevó a cabo mediante un kit comercial (Cayman), según las instrucciones del comerciante. Previamente a la determinación, se realizó una extracción con metanol a las escamas y aletas, que constó en 3 lavados con tampón fosfato salino y una incubación en agitación toda la noche con metanol, que posteriormente fue evaporado. Las muestras se diluyeron en tampón acetato y se purificaron en columnas cromatográficas (Superclean L-18 SPE, Sigma).

Resultados y discusión

Como se ha mencionado anteriormente, los niveles de cortisol son indicativos del grado de estrés exhibido por los peces. Para inducir el estrés se siguió un método diseñado en nuestro grupo de investigación, que produce una reducción en la ingesta, así como un incremento de los niveles de cortisol plasmáticos (Leal et al., 2011).

La figura 1 muestra que los niveles basales de cortisol en la aleta caudal en dorada son significativamente mayores que en las escamas y la aleta pectoral. El estrés inducido mecánicamente es capaz de incrementar los niveles, no sólo de cortisol plasmático, sino también, aquellos determinados en ambas aletas. De forma similar a lo obtenido en los controles, los niveles de cortisol en la aleta caudal de los peces estresados se duplican como consecuencia del estrés.

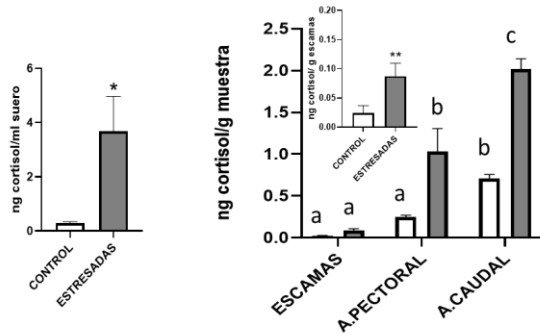


Figura 1. Niveles de cortisol en doradas controles y estresadas. Los asteriscos indican diferencias significativas entre ambos grupos tras aplicar un *T-Student* y las diferentes letras tras la realización de un ANOVA de dos vías seguido de un test Tukey.

Los resultados obtenidos en corvina (Fig.2), fueron similares a los obtenidos en dorada. Sin embargo, a pesar de existir una tendencia al alza de los niveles de la hormona en las aletas, respecto al de las escamas, no se encontraron diferencias significativas. Tras el estrés, nuevamente, se incrementan de los niveles de cortisol tanto en el suero como en ambas aletas, corroborando los resultados obtenidos en dorada.

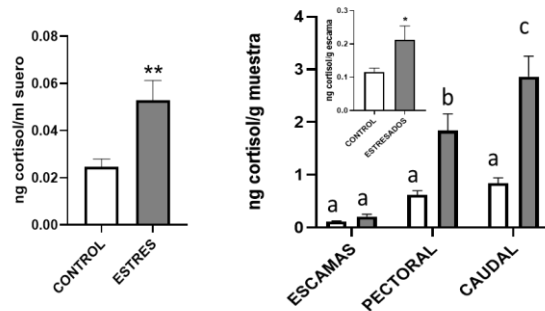


Figura 2. Niveles de cortisol en corvinas controles y estresadas. Los asteriscos revelan diferencias significativas entre ambos grupos tras aplicar un *t-Student* y las diferentes letras tras la realización de un ANOVA de dos vías seguido de un test Tukey.

Nuestros estudios demuestran un incremento de los niveles de cortisol dependientes del estrés, no solamente en el suero, sino también en las aletas. Sin embargo, son necesarios más estudios para poder corroborar la existencia de una acumulación de la hormona y poder así, obtener un historial de acontecimientos estresantes no específicos.

Palabras clave

Cortisol, estrés, dorada, corvina

Bibliografía

- Aerts J., Metz JOR., Ampe B., Decostere A., Flik G., De Saeger S. 2015. Scales tell a story on the stress history of fish. *PLoS One*; 10(4): e0123411.
- Leal E., Fernández-Durán B., Guillot R., Ríos D., Cerdá-Reverter JM. 2011. Stress-induced effects on feeding behavior and growth performance of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*): a self-feeding approach. *J Comp Physiol B* 181:1035–1044.
- Agulleiro MJ., Sánchez E., Leal E., Cortés R., Fernández-Durán B., Guillot R., Davis P., Dores RM., Gallo-Payet N., Cerdá-Reverter JM. 2013. Molecular characterization and functional regulation of melanocortin 2 receptor (MC2R) in the sea bass. A putative role in the adaptation to stress. *PLoS One*; 8(5): e65450.
- Sadoul B. y Greffoy B. 2019. Measuring cortisol, the major stress hormone in fish. *J Fish Biol.* 2019 94: 540-555.

Agradecimientos. Programa ThinkInAzul, apoyado por MCIN y financiado por la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana (THINKINAZUL/2021/025).
esther@iats.csic.es