

C. Bienestar Animal I y II

Evaluación de la respuesta de estrés producida por el ayuno estacional en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo diversas condiciones de grados-día

Andrea Martínez Villalba¹, Álvaro De la Llave-Propín^{1,2}, Jesús De la Fuente¹, Concepción Pérez³,
Elisabet González de Chavarri¹, María Teresa Díaz¹, Almudena Cabezas¹, Roberto González-Garoz¹,
Morris Villarroel², Rubén Bermejo-Poza¹

¹ Dpto. Producción Animal, Veterinaria. UCM, Avenida Puerta de Hierro S/N, 28040 Madrid, España

² CEIGRAM-ETSIAAB. UPM, Avenida Complutense 3, 28040 Madrid, España

³ Dpto. Fisiología Animal, Veterinaria. UCM, Avenida Puerta de Hierro S/N, 28040 Madrid, España

Abstract (Resumen)

El ayuno es una práctica habitual en la acuicultura para reducir la respuesta al estrés durante el manejo. Estudios sugieren que un ayuno de alrededor de 55-58 grados día (°C d) minimiza el impacto sobre la respuesta de estrés. Sin embargo, las variaciones en las temperaturas estacionales provocan ayunos más cortos en verano y más prolongados en invierno. Se utilizaron 495 truchas, sometidas a ayunos pre-sacrificio de aproximadamente 0°C d, 50 °C d y 100 °C d en verano y en invierno (22 y 8°C temperatura media, respectivamente). En verano, no se observaron diferencias significativas en el cortisol plasmático ni en el color de hígado y piel entre los grupos de ayuno. En cambio, en invierno el grupo 50°C d mostró una mayor concentración de cortisol, piel con menor luminosidad e hígado con mayor croma. El glucógeno hepático fue menor en todos los grupos ayunados en verano respecto a invierno, excepto en el grupo 100°C d. La expresión del gen que codifica la proteína de shock térmico (HSP70) fue más baja en el grupo 50°C d que 0°C d en verano y más baja que 50°C d en invierno. En conclusión, se observaron diferencias significativas entre los grupos de ayuno en invierno, con una respuesta de estrés mayor en 50 °C d, pero no durante el verano. Estos resultados sugieren una posible aclimatación al estrés por temperaturas altas, resultando en variaciones limitadas frente otros factores estresantes.

Palabras clave

Trucha arcoíris, respuesta de estrés, ayuno pre-sacrificio, estación.

Material y Métodos

Se emplearon 495 truchas arcoíris en 9 jaulas (1m x 1m x 0,85m, n = 55). La temperatura media del agua fue 22.0 ± 0.06 °C en verano y 8.8 ± 1.79 °C en invierno. Tras dos semanas de aclimatación y alimentación diaria, los peces se sometieron a distintos periodos de ayuno pre-sacrificio: 0D: sin ayuno; 50D: 3 días- 65.49 ± 0.22 °C d (verano), 6 días- 58.7 ± 2.21 °C d (invierno); 100D: 6 días- 131.34 ± 0.07 °C d (verano), 13 días- 114.5 ± 1.86 °C d (verano). Posteriormente, se sacrificaron 10 peces por grupo mediante el método ikejime. Se extrajo sangre para el análisis del cortisol plasmático y se tomaron muestras de hígado para evaluar la concentración de glucógeno y la expresión génica. Además, se midió el color del hígado y de la piel mediante el sistema CIELAB.

Resultados y Discusión

En invierno, el cortisol plasmático en 50D fue mayor que en 0D, posiblemente debido a la privación de alimentos repentina dando lugar a una respuesta de estrés (Bermejo-Poza *et al.*, 2019). Los niveles similares entre 100D y 0D en ambas estaciones podría ser debido a una adaptación, reduciendo la tasa metabólica y la respuesta de estrés (Hultmann *et al.*, 2012), o a un agotamiento del eje hipotalámico-pituitario-interrenal (Bermejo-Poza *et al.*, 2019). Además, se observaron niveles mayores en 50D invierno que 50D verano, posiblemente por una aclimatación al estrés por temperaturas más altas, dando lugar a variaciones limitadas cuando se exponen a otro factor estresante. El glucógeno hepático fue más bajo en verano que en invierno, donde se observó un descenso a medida que aumentó la duración del ayuno, mostrando 100D valores similares a 0D verano. Esto podría estar relacionado con la glucogenólisis para mantener los niveles de glucemia como fuente de energía. El cortisol suprime los niveles de proteínas de choque térmico inducidos especialmente el estrés por calor, explicando por qué la expresión de HSP70 en verano fue más baja en cada grupo de ayuno, siendo significativamente menor en 50D en comparación con 0D, donde se produjo una mayor respuesta de estrés. Además, la correlación inversa entre los niveles de HSP70 y la temperatura puede deberse a la adaptación génica a las condiciones climáticas cálidas u otros factores estresantes (Beg *et al.*, 2009). El patrón de color observado durante verano no mostró variación entre los grupos de ayuno, sugiriendo una posible aclimatación a temperaturas elevadas. Además, se observó un croma mayor en

verano que en invierno, alcanzando niveles similares en 100D de ambas estaciones, lo que podría estar relacionado con la respuesta de estrés (Erikson y Misimi, 2008), validando así la hipótesis anterior. Además, 100D invierno presentó una luminosidad (L*) menor, posiblemente como consecuencia del efecto dispersante de la ACTH sobre los cromatóforos (Erikson y Misimi, 2008). Siguiendo el mismo patrón que la piel, los peces durante el verano no mostraron diferencias en el color del hígado. La luminosidad (L*) y el índice de rojo (a*) no parecieron verse afectados por el ayuno, pero sí estuvieron influenciados por la estacionalidad, mientras que C* y h* fueron mayores en invierno. Estas alteraciones suelen deberse a respuestas metabólicas, movilizandolas reservas hepáticas y variando la composición lipídica hepática (Villalba *et al.*, 2023). En base a los resultados obtenidos, en condiciones donde el ayuno parece ser el principal estresor, se observa una inicial respuesta de estrés aguda al enfrentarse de manera abrupta al ayuno, seguida de una adaptación progresiva de la tasa metabólica, lo que reduce la respuesta de estrés. Sin embargo, durante el verano estas diferencias se atenúan, posiblemente debido a una aclimatación al estrés causado por temperaturas elevadas, lo que resulta en variaciones limitadas frente a otros estresores.

Tabla 1. Medias (\pm EEM¹) de cortisol plasmático, glucógeno hepático (Gluc), expresión génica proteína shock térmico (HSP70) y color (luminosidad (L*), croma (C*), índice rojo (a*), índice amarillo (b*), tono h* (°)) de hígado y piel.

	0D		50D		100D		Significación (p)		
	V	I	V	I	V	I	T	A	T x A
Cortisol (µg/dl)	1.51 ± 1.39	0.71 ± 0.51	1.30 ± 1.03	3.22 ± 2.37	2.37 ± 1.41	1.43 ± 1.14	0.80	<0.001	<0.001
Gluc (mg/g)	55.50 ± 30.34 ^c	186.97 ± 76.53 ^a	28.74 ± 17.33 ^c	114.17 ± 52.49 ^b	29.33 ± 12.81 ^c	59.83 ± 25.96 ^c	<0.001	<0.001	<0.001
HSP70	26.56 ± 0.80	27.38 ± 0.62	25.53 ± 0.40	27.96 ± 0.60	26.42 ± 0.49	26.89 ± 0.75	<0.001	0.33	<0.001
L* piel	41.02 ± 7.27 ^a	41.60 ± 9.00 ^a	41.91 ± 1.07 ^a	42.04 ± 7.83 ^a	41.96 ± 0.96 ^a	36.06 ± 5.45 ^b	0.14	0.10	0.045
a* piel	3.63 ± 1.26 ^a	1.70 ± 1.93 ^b	3.42 ± 1.14 ^a	2.37 ± 1.57 ^a	2.68 ± 1.47 ^a	2.94 ± 1.99 ^a	<0.001	0.76	0.002
b* piel	7.40 ± 2.74 ^a	3.76 ± 3.07 ^b	7.28 ± 3.27 ^a	2.48 ± 2.46 ^b	6.91 ± 3.03 ^a	5.38 ± 2.92 ^a	<0.001	0.07	0.011
C* piel	9.05 ± 2.01 ^a	5.26 ± 2.36 ^{bc}	8.54 ± 2.14 ^a	4.42 ± 1.45 ^c	7.42 ± 2.09 ^a	6.70 ± 2.53 ^{ab}	<0.001	0.21	<0.001
h* (°) piel	64.48 ± 17.10	66.13 ± 13.60	59.97 ± 18.17	48.70 ± 21.43	63.13 ± 18.26	59.94 ± 19.15	0.12	0.005	0.16
L* hígado	26.79 ± 2.04	38.04 ± 7.52	25.19 ± 2.04	37.45 ± 7.72	26.02 ± 2.10	36.27 ± 1.80	<0.001	0.31	0.54
a* hígado	9.91 ± 1.96	8.33 ± 2.37	10.12 ± 2.19	9.50 ± 3.48	10.22 ± 1.85	8.81 ± 1.92	0.001	0.29	0.51
b* hígado	3.82 ± 1.65 ^d	5.96 ± 2.15 ^c	3.48 ± 1.50 ^d	7.45 ± 1.99 ^b	4.54 ± 1.58 ^d	9.24 ± 2.16 ^a	<0.001	<0.001	<0.001
C* hígado	10.98 ± 2.12 ^{ab}	10.25 ± 3.06 ^b	10.83 ± 2.59 ^{ab}	12.41 ± 3.08 ^a	11.48 ± 1.84 ^{ab}	12.83 ± 2.71 ^a	0.06	0.006	0.034
h* (°) hígado	22.75 ± 8.00 ^c	37.68 ± 9.70 ^b	18.36 ± 5.72 ^c	40.80 ± 14.25 ^b	22.89 ± 7.68 ^c	46.25 ± 4.10 ^a	<0.001	0.004	0.021

^{a, b, c, d} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos (p < 0,05). ¹EEM: error estándar de la media. 0D: sin ayuno; 50D: 65.49 ± 0.22 °C d de ayuno en verano (3 días) y 58.7 ± 2.21 °C d en invierno (6 días); 100D: 131.34 °C ± 0.07 °C d en verano (6 días) y 114.5 °C ± 1.86 °C d en invierno (13 días); V: verano; I: invierno; T: temporada; A: ayuno.

Bibliografía

Hultmann, L., T.M. Phu, T. Tobiassen, Ø. Aas-Hansen, T. Rustad. 2012. Effects of pre-slaughter stress on proteolytic enzyme activities and muscle quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Food Chem* 134:1399-1408. Bermejo-Poza, R., M. Fernández-Muela, J. De la Fuente, C. Pérez, E. González, M.T. Díaz, F. Torrent, M. Villarrol. 2019. Physio-metabolic response of rainbow trout during prolonged food deprivation before slaughter. *Fish Physiol Biochem* 45:253-265. Beg, M.U., S. Al-Subiai, K.R. Beg, S.A. Butt, N. Al-Jandal, E. Al-Hasan, M. Al-Hussaini. 2010. Seasonal effect on heat shock proteins in fish from Kuwait bay. *Bull Environ Contam Toxicol* 84:91-95. Erikson, U., E. Misimi. 2008. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis and ice storage. *J Food Sci* 73(2):50-59. Villalba, A.M., Á. De la Llave-Propín, J. De la Fuente, C. Pérez, E. González de Chávarri, M.T. Díaz, A. Cabezas, R. González-Garoz, F. Torrent, M. Villarrol, R. Bermejo-Poza. 2023. Using underwater currents as an occupational enrichment method to improve the stress status in rainbow trout. *Fish Physiol Biochem* 1-13.

Agradecimientos

Proyecto financiado por el MAPA (PNAC/21).

Correo del Autor: amvillalba@ucm.es