



# Cuantificación de glucosa y cortisol como indicador de estrés en el pez *Brycon amazonicus* (Yamú) luego de la utilización de choque térmico y anestesia

*Glucose and cortisol quantification as an indicator of Stress in the fish *Brycon amazonicus* (Yamú) after Use of thermal shock and anesthesia*

Sandra L Martínez <sup>a</sup>; German G León<sup>a</sup> ; Diana Agudelo Castro<sup>b</sup>, Emily A-Lugo; Natali Riveros<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Corporación Educativa Nacional, Grupo de Nutrición y Producción Animal, Colombia

<sup>b</sup> Estudiantes auxiliar en clínica veterinaria; Corporación Educativa Nacional Grupo de Nutrición y Producción Animal, Colombia

Correspondencia: s.martínez @cen.edu.co

Recibido: Abril 12, 2023. Aceptado: Julio 29, 2023. Publicado: Septiembre 24, 2022

## Resumen

Este estudio se enfocó en la mejora del manejo de peces *Brycon amazonicus* durante su captura y manipulación, centrándose en la evaluación de los niveles de glucosa y cortisol generados en respuesta a diferentes técnicas. Para llevar a cabo este análisis, se seleccionó una población total de 24 peces procedentes de un cultivo. Estos peces fueron divididos equitativamente en tres grupos, cada uno compuesto por 8 individuos.

Cada grupo fue sometido a un tratamiento específico para observar las respuestas fisiológicas. En primer lugar, el grupo 1 experimentó un choque térmico al reducir la temperatura del agua de 25 a 7 °C. En el caso del grupo 2, se aplicó anestesia utilizando MS-222 a una dosis de 2 gramos por cada 20 litros de agua. Por último, el grupo 3 fue anestesiado utilizando benzocaína disuelta en etanol, aplicando una dosis de 2.5 gramos por cada 2 litros de agua. La elección de estos tratamientos permitió comparar y contrastar las respuestas fisiológicas de los peces ante diferentes técnicas de manejo. Los niveles de glucosa y cortisol fueron monitoreados en el momento de la captura y manipulación. Los resultados de este estudio ofrecerán información valiosa para mejorar las prácticas de manejo de peces *Brycon amazonicus*, contribuyendo así a la conservación y bienestar de esta especie en entornos de cultivo y estudio.

## Abstract

This study focused on improving the management of *Brycon amazonicus* fish during their capture and handling, focusing on the evaluation of glucose and cortisol levels generated in response to different techniques. To carry out this analysis, a total population of 24 fish from one culture was selected. These fish were equally divided into three groups, each consisting of 8 individuals.

Each group underwent a specific treatment to observe the physiological responses. First, group 1 experienced a thermal shock by reducing the water temperature from 25 to 7 °C. In the case of group 2, anesthesia was applied using MS-222 at a dose of 2 grams per 20 liters of water. Finally, group 3 was anesthetized using benzocaine dissolved in ethanol, applying a dose of 2.5 grams per 2 liters of water. The choice of these treatments allowed comparing and contrasting the physiological responses of the fish to different management techniques. Glucose and cortisol levels were monitored at the time of capture and handling. The results of this study will offer valuable information to improve management practices for *Brycon amazonicus* fish, thus contributing to the conservation and well-being of this species in culture and study environments.

**Keywords:** Stress, Handling, *Brycon amazonicus*.

**Palabras clave:** Estrés, Manipulación, *Brycon amazonicus*.

## 1. Introducción

Los estudios hematológicos en peces nativos de Colombia son escasos y puntuales [13]. De gran importancia para el tratamiento médico, la evaluación zootécnica, la realización diagnóstica de posibles patologías generadas por contaminaciones como, por ejemplo, por nitratos y estrés por amonio [5] y determinar el estado general del pez para una adecuada comprensión de su fisiología, han generado un creciente interés investigativo con las especies propias de Colombia, sobre todo en las que se

consideran promisorias para el cultivo y consumo humano [6]. El *Brycon amazonicus* (Yamú), es una especie nativa de los Llanos Orientales, que fue incorporada con gran expectativa a los sistemas de producción piscícola y en la actualidad es ampliamente usada. Esta especie tiene gran importancia económica al ser su carne muy apetecida, de alta demanda, obteniéndolo de manera artesanal o deportiva y actualmente en cultivo [8].

En los sistemas de cultivo la manipulación de los peces es frecuente en las actividades básicas del manejo como son el

pesaje para control de peso, toma de muestras y registros sanitarios. Por tal motivo, se espera que producto de dicha interacción, los animales presenten indicadores de estrés, lo cual puede estar asociado a una baja en los indicadores productivos, reproductivos o, incluso, de calidad de la carne. por esto la importancia del uso de anestesia y sedación para dichos manejos [9].

Unos de los parámetros mayormente evaluados son el cortisol como respuesta primaria y la glucosa como respuesta secundaria [12].

La glucosa es el principal sustrato para algunos órganos como retina, cerebro, medula adrenal, células rojas sanguíneas, como fuente de energía. Además, se puede sintetizar fácilmente desde fuentes que no son carbohidratos [1] Por otro lado, el cortisol es la principal hormona que el organismo segrega en respuesta al estrés, en los peces un aumento puede afectarse el sistema inmune [10].

El objetivo de esta investigación fue cuantificar la glucosa y cortisol como indicadores de estrés en la manipulación de peces bajo anestesia y choque térmico.

## 2. Metodología

Para el desarrollo del trabajo, se tomó una muestra representativa del 10% animales de un cultivo de 240 peces con un peso entre 200g y 300 g ubicado en Cumaral Meta, trasladados dos días antes del experimento a la ciudad de Villavicencio a la estación piscícola la Terraza, los cuales fueron dejados en piletas para su mejor manejo. Se evalúan los niveles de glucosa y cortisol generados por estrés en pez *Brycon amazonicus* (Yamú), utilizando como métodos de extracción la anestesia y el choque térmico.

Para la anestesia: Se prepararon dos recipientes cada uno con 2 litros de agua a temperatura ambiente, en el primer montaje se agregó anestésico MS222 (Tricaina metanol-sulfato) con una dosis de 2gr por cada 20 litros, y en el segundo Benzocaína (Etil aminobenzoato) disuelto en etanol con una dosis de 2.5 gr por cada 2 litros, seguidamente se utiliza un grupo de 8 peces para cada anestésico.

Para el choque térmico: Se preparó un recipiente con 2 litros de agua a temperatura de 25°C en la cual se adiciono hielo, bajando su temperatura hasta los 7°C. Se introdujeron los peces 1.5 minutos tiempo que se demoraron los animales en quedar en estado de adormecimiento por baja en el metabolismo producido por la hipotermia. Para las muestras se tomaron 3 ml de sangre de cada pez en cada uno de los montajes a partir de punción en la vena caudal, de los cuales 1.5 ml se utilizaron para analizar hematocrito, proteínas y glucosa, para la determinación de hematocrito, con anticoagulante, el cual se llenó hasta el 75% de su volumen total. Se selló uno de los extremos en una placa de cera y se colocó en una centrifuga por 5 minutos a 10.000 rpm. la lectura de los resultados se realiza manualmente con el ábaco establecido para peces. Se enrasa el capilar a nivel 0 con el límite y con una línea recta se coloca al 100 con el final de la muestra y se lee dónde termina la capa eritrocitaria.

El volumen restante fue centrifugado, obteniendo a partir de este procedimiento el suero de la sangre (sobrenadante), y se realiza su posterior almacenamiento a una temperatura de 4° centígrados

en hielo, para evitar su alteración en el transporte hacia el laboratorio clínico de pequeños animales de la Universidad Nacional sede Bogotá, donde se llevó a cabo el análisis del suero sanguíneo para el análisis del cortisol.

Durante el proceso se mantuvo la observación a las respuestas fisiológicas del pez teniendo en cuenta los Criterios para la evaluación de los estados de inducción a la anestesia. Estas respuestas se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Estados anestésicos; tomado de Gonzales mantilla jf. asociación de veterinarios de vida silvestre (vvs) issn 2011 9348

Estado anestésico	Plano	Categoría	Respuesta fisiológica o actividad del pez
0	Normal		Nado activo, respuesta a estímulos externos, equilibrio normal. tono muscular normal
I	2	Narcosis ligera	Fase de excitación puede preceder a un incremento en la tasa respiratoria, pérdida de equilibrio, esfuerzo por recuperar el eje de nado, tono muscular disminuido.
II	2	Narcosis profunda	Cesa la respuesta a los cambios en posición inducidos, descenso en frecuencia respiratoria, pérdida total de equilibrio, alguna reacción ante estímulos fáciles fuertes. Apropiado para muestreos externos y biopsias de branquias y aletas.
III	1	Anestesia ligera	Pérdida total del tono muscular, respuestas a estímulo fuerte de presión, descenso adicional en frecuencia respiratoria, apropiado para cirugía menor.
III	2	Anestesia quirúrgica	Pérdida total de reacción a estímulos, frecuencias respiratorias y cardíacas muy bajas.
IV	Colapso medular		Pérdida total de movimientos branquiales seguidos de paro cardíaco.

## 3. Resultados y Discusión

En las tablas 2, 3 y 4 se presentan los resultados obtenidos luego de la medición de los componentes hemáticos para cada tratamiento.

**Tabla 2.** Resultados obtenidos en laboratorio para choque térmico

CHOQUE TERMICO					
IDENTIFICACION	PESO gr	GLUCOSA mg/dl	HEMATOCRITO %	PROTEINA g/dl	CORTISOL nmol/L
PEZ 1	230,50	71,00	55,00	3,50	1243
PEZ 2	231,50	55,00	56,00	5,30	1590
PEZ 3	223,00	69,00	48,00	4,40	1316
PEZ 4	223,00	82,00	39,00	4,70	1020
PEZ 5	467,50	57,00	64,00	7,60	1637
PEZ 6	244,50	70,00	56,00	6,40	1547
PEZ 7	264,50	77,00	45,00	5,20	1480
PEZ 8	246,70	72,00	50,00	6,10	1454
PROMEDIO	278,20	71,17	50,33	5,73*	1409
Desviación	0,82	0,96	0,77	1,20	206
Desviación %	0,29	1,35	1,53	20,93	14,65

Nota: Resultados obtenidos para: Peso (gr), Glucosa (mg/dl), Hematocrito (%), Proteína (g/dl) y Cortisol (nmol/L) en cada una de las 8 muestras obtenidas en sangre, utilizando choque térmico.

El análisis de los resultados se realiza comparando las muestras según los niveles de glucosa, mg/dl; 70 a 110. Hematocrito %; 40 a 50. Proteína g/dl; 2 a 6 y considerados normales reportados por otros estudios [3] y cortisol por los rangos del laboratorio de la Clínica Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, en donde se realizó los análisis Cortisol nmol/L; 689.75 a 827.7. Por lo anterior se puede deducir que todos los valores, salvo el cortisol, presentaron niveles dentro de los parámetros convencionales. Dado que el cortisol es un indicador de la

respuesta primaria del estrés [11]. se puede considerar que todos los grupos experimentales presentaron esta condición en ese nivel.

**Tabla 3.** Resultados obtenidos en laboratorio para anestesia con MS222

ANESTESIA MS222					
IDENTIFICACIÓN	PESO gr	GLUCOSA mg/dl	HEMATOCRITO %	PROTEINA g/dl	CORTISOL nmol/L
PEZ9	215	89	65	4,2	1215
PEZ 10	177,7	101	61	4	1142
PEZ 11	147,4	87	65	5,9	1523
PEZ 12	293,8	74	47	5,3	1419
PEZ 13	285,7	77	45	4,4	1416
PEZ 14	195,7	79	44	4,6	1450
PEZ 15	200,2	112	61	4,9	813,9
PEZ 16	132	93	40	3,4	1168
PROMEDIO	209,13	87,00	50,33	4,75	1298
Desviación	58,54	12,88	10,45	0,78	232
Desviación %	27,99	14,81	20,76	16,44	17,89

Nota: Resultados obtenidos para: Peso (gr), Glucosa (mg/dl), Hematocrito (%) Proteína (g/dl) y Cortisol (nmol/L) en cada una de las 8 muestras obtenidas en sangre, utilizando anestesia con MS222.

**Tabla 4.** Resultados obtenidos en laboratorio para anestesia con Benzocaína

ANESTESIA BENZOCAINA					
IDENTIFICACION	PESO gr	GLUCOSA mg/dl	HEMATOCRITO %	PROTEINA g/dl	CORTISOL nmol/L
PEZ 17	229,5	91	37	3,8	1473
PEZ 18	289,4	72	45	4	1101
PEZ 19	245,3	100	48	4,7	1008
PEZ 20	268	99	49	4,7	1020
PEZ 21	260,3	127	41	4,1	1346
PEZ 22	236,3	101	46	4,1	1411
PEZ 23	269,3	86	48	4,7	1363
PEZ 24	188,5	115	46	4,1	749
PROMEDIO	244,62	104,67	46,33	4,40	1150
Desviación	31,04	16,93	4,07	0,37	253
Desviación %	12,69	16,18	8,79	8,31	21,99

Nota: Resultados obtenidos para: Peso (gr), Glucosa (mg/dl), Hematocrito (%) Proteína (g/dl) y Cortisol (nmol/L) en cada una de las 8 muestras obtenidas en sangre, utilizando anestesia con benzocaína.

### 3.1 ANOVA

Los resultados de las comparaciones entre medias se obtuvieron gracias al software SPSS® y se muestran en la tabla 5. Se puede observar que, a un  $\alpha$  de 0.05, solamente la glucosa presentó diferencia estadística significativa. Al analizar las pruebas post hoc, en este caso Tukey, se concluye que el tratamiento 1 fue diferente del 2 y 3, aunque entre ellos no se encontró diferencias estadísticas significativas. En todos los demás resultados no se presentaron diferencias estadísticas significativas.

### 3.2 Estrés en peces y alteraciones

Las alteraciones del estrés en peces se pueden evidenciar y diagnosticar desde diferentes espectros, como lo son las mediciones de bioquímica molecular, alteraciones en parámetros reproductivos, técnicas histopatológicas y de bioquímica hormonal [2]. Es en estas últimas donde el presente estudio se centra. Las alteraciones secundarias del estrés se presentan en una amplia gama. Dentro de ellas se espera, por ejemplo, hiperglicemia, hiperlactatemia, por la disminución del glicógeno hepático y el catabolismo de la proteína muscular, entre otros. Toda vez que el estímulo generador del estrés desaparece, estos cambios permanecen solo un par de días. Caso contrario, las afectaciones se evidenciarán en efectos terciarios, como lo

pueden ser las alteraciones de los parámetros productivos y reproductivos, reducción del crecimiento y mayor presentación de enfermedades debido a que se baja la resistencia del pez a las mismas. [7]

**Tabla 5.** Resultados obtenidos del análisis de varianza ANOVA

	Anova				
	Peso	Glucosa	Hematocrito	Proteína	Cortisol
Tratamiento					
1	266.4 ± 82.4 <sup>a</sup>	69.1 ± 9.1 <sup>b</sup>	51.6 ± 7.7 <sup>a</sup>	5.4 ± 1.2 <sup>a</sup>	1410.8 ± 206.4 <sup>a</sup>
2	205.94 ± 58.5 <sup>a</sup>	89 ± 12.8 <sup>a</sup>	53.5 ± 10.4 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.7 <sup>a</sup>	1268.3 ± 232.3 <sup>a</sup>
3	248.33 ± 31 <sup>a</sup>	98.8 ± 16.9 <sup>a</sup>	45 ± 4 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	1183.8 ± 252.7 <sup>a</sup>

Tabla 5. Valores promedio y diferencias entre grupos. <sup>a</sup> Letras distintas entre columnas representan diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ).

Esta idea es resaltada por quienes categorizan las tres respuestas posibles del estrés, desde la aparición de cortisol hasta la afectación a la población. [5] Además, es de esperarse que, como respuesta al estrés, los niveles de glucosa en sangre se incrementen, básicamente para generar una liberación energética inmediata. Los niveles altos de glucosa, como respuesta al estrés, han sido reportados sin presentar diferencias en el rendimiento zootécnico final de los animales [14]. los resultados elevados de glucosa tampoco presentaron alteraciones en los índices o indicadores, sometiendo a peces a diferentes densidades de cultivo, que podrían generar estrés crónico. [11]

Adicional a esto, los niveles de glucosa en sangre pueden estar relacionados con los niveles de glucógeno, relacionados con los niveles en hipotálamo, cerebro y plasma [1]. [14] La relación entre los niveles de hiperglicemia en peces y los niveles de glucosa en el cerebro, presentan incremento en estas condiciones. El cerebro usa mayor cantidad de glucosa por unidad de peso, respecto a los demás tejidos analizados en ese estudio [4].

### 4. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos se concluye que el tratamiento más adecuado para la extracción de los peces es la Benzocaína (acetil-benzoato) teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las pruebas experimentales, para las condiciones ambientales que se presentaron. Además, en la referenciación se encuentra correspondencia en sus compuestos activos y sus propiedades como anestésico. Adicionalmente se compara los precios entre anestésicos, lo cual se deduce que MS222 además de producir estrés, la adquisición por parte de pequeños productores de alevinos es muy limitada. Se sugiere, en consecuencia, de lo presentado anteriormente, el uso de Benzocaína (acetil-benzoato) para la manipulación; únicamente en las condiciones ambientales de esta zona, y exclusivamente para esta especie de pez *Brycon amazonicus* (Yamú). Los niveles de glucosa después de la administración de los tratamientos, aunque no generan pérdidas económicas posteriores, debido a la relación que tiene este nutriente con la energía disponible, podría generar un nivel de recuperación más rápido o lento en el pez. Es decir, al encontrarse en niveles de hiperglicemia, los peces están mejor preparados para reactivar sus cuerpos y vías metabólicas posterior a la desaparición del

estímulo estresante. Además, si los niveles de glucosa en cerebro se incrementan posterior a la hiperglicemia, es de esperarse que las funciones vitales como la secreción de compuestos en el organismo. Esto sugeriría que los peces con niveles de hiperglicemia, después de una situación estresante aguda, no crónica, podrían tener un proceso de recuperación un tanto mejor, dado que cuentan con un mayor nivel de glucosa plasmática, con respecto a los animales con el tratamiento por choque térmico. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que validen esta hipótesis.

### Reconocimientos

A los laboratorios de la de la estación piscícola la Terraza y a el laboratorio clínico de pequeños animales de la Universidad Nacional sede Bogotá por la gestión en la realización de pruebas. A todos los y las estudiantes que participaron en el proceso de experimentación y a todas las y los docentes de la Corporación Educativa Nacional, cuerpo administrativo y directivos.

### Referencias

- [1] A. J. J. Aguilar, «Efecto del tratamiento con leptina sobre la actividad del sistema glucosensor y la expresión de neuropéptidos implicados en la regulación de la ingesta de alimento en trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*)», Encuentro, n.º 93, pp. 78–100, dic.
- [2] A. de Ocampo Ana & Ocampo Camberos Luis, “Diagnóstico del Estrés en Peces”, Veterinaria México, 30, vol. 4, pp. 337-344., 1999.
- [3] Arias Castellanos, Jose ,Benavides Bustos, M,Hernández Arévalo, G,Eslava Mocha, P.R, “Valoracion hemtologica y sanguinea del yamu Brycon siebenthale”, Revista Orinoquia, 2003.
- [4] B. S. Washburn, M. L. Bruss, E. H. Avery, y R. A. Freedland, “Effects of estrogen on whole animal and tissue glucose use in female and male rainbow trout”, Am. J. Physiol., vol. 263, núm. 6 Pt 2, pp. R1241-7, 1992.
- [5] C. P. Alarcos, “Estrés en acuicultura: una visión actualizada para mejorar el bienestar animal en especies de interés comercial”, Universidad de Cádiz, España, 2020.
- [6] F. N. Zuluaga Tobon, “La piscicultura, una industria promisoría”, Rev. colomb. cienc. pecu., vol. 19, no. 2, pp. 123–124, Jul. 2016.
- [7] I. Jerez Cepa, I. Ruiz-Jarabo, y J. M. Mancera, “Animal welfare in fish aquaculture: Stress attenuation through the diet and the use of anesthetics during transport”, Derecho Anim. Forum Anim. Law Stud., vol. 10, núm. 4, p. 85, 2019.
- [8] J. Arias, El cultivo del Yamú. Villavicencio: Unillanos-Aill-lioc, 2001.
- [9] J. F. G. Mantilla, “Farmacología,terapeutica y anestesia en peces”, asociacion de veterinarios d evida silvestre, vol. 6, núm. 1, pp. 50–62, 2010
- [10] J. I. Briones García, “Evaluación del efecto del cortisol provocado por hipoxia sobre algunos parámetros inmunológicos de tilapias de comercialización de la ciudad de Sucúa – Ecuador”, ConcienciaDigital, vol. 4, n.º 1.2, pp. 446–456, marzo de 2021. <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v4i1.2.1611>
- [11] L E. Soberón-minchán, F W. Chu-koo y f. Alcantara-bocanegra, “parámetros hematológicos, crecimiento y composición corporal de juveniles de gamitana colossoma macropomum {cuvier, 1818) cultivados en tres densidades”, Folia Amazónica, vol. 16, n.º 1-2, p. 35, diciembre de 2007. Accedido el 11 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.24841/fa.v16i1-2.286>
- [12] Lilian M. Barandica C.\* & Luis Tort B, “kasidskdkoeje,” Revista Academia Colombiana Ciencias, pp. 337-344., 1999.
- [13] P. Eslava, C.Hernández, “Hematología básica de la cachama blanca, Piaractus Brachypomus”, Rev. M.V. Z. Univ. Llanos. Villavicencio, vol. 1, n.º 1, pp. 3–5, 1995.
- [14] Rodrigo Roubach, Edsandra Chagas, Alzira Miranda de Oliveira y Congress of the Biology of fish., en Aquaculture tampaqui its vitamin c requirement., Manaus, Brazil, 3 de agosto de 2002.
- [15] T. J. McCormack y W. R. Driedzic, “The impact of hypoxia on in vivo glucose uptake in a hypoglycemic fish, *Myoxocephalus scorpius*”, Amer. J. Physiology-Regulatory, Integrative Comparative Physiol., vol. 292, n.º 2, pp. R1033—R1042, febrero de 2007. Accedido el 11 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00308.2006>