

L'estrès en els peixos: tipus, efectes i paràmetres de mesura

Lluís Tort,¹ Pere Torres,¹ Ferran Gonzàlez¹ i Rosa Flos.²

1. Departament de Biologia Cel·lular i Fisiologia. Facultat de Ciències. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra (Barcelona).

2. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Comte d'Urgell, 187. 08036 Barcelona.

Keywords: corticosteroids, crowding, dogfish, hauling, hematology, metabolism, parasite infection, respiration, sorting, trout.

Abstract. *Stress on fish: types, effects and measuring parameters.* The relevance of stressing procedures and their measurement is emphasized. Types of and responses to stress are presented. After several experiments regarding stressing procedures as grading and hauling, crowding and parasite infection, changes are detected at the levels of primary responses (increase of plasma cortisol), secondary (respiratory, hematological and metabolic alterations) and tertiary responses (decrease of activity and growth).

Resum. Es destaca la importància de l'estrès en els peixos i el seu mesurament. Després d'indicar les modalitats d'estrès, es descriuen els tipus de respostes. En diferents experiments on s'estudiaven procediments estressants com la classificació i el transport, l'apinyament o la infecció parasitària, es detecten respostes primàries (augment del cortisol plasmàtic), secundàries (alteracions respiratòries, hematològiques i metabòliques) i terciàries (disminució de l'activitat i el creixement).

Introducció

L'expansió de la utilització dels peixos com a animals d'investigació i, especialment, la seva creixent importància en el camp de la producció alimentària comporten un interès en augment per les seves respostes davant l'estrès que aquestes situacions poden originar.

Les causes o fonts d'estrès poden ser diverses. En la natura, les més usuals són la hipòxia, el xoc tèrmic o la presència de contaminants. En els peixos migratoris, els canvis de salinitat o temperatura de l'aigua també poden ocasionar estrès. En canvi, al laboratori o a les piscifactories, les condicions estressants habituals són degudes a la intervenció humana.

Donaldson (1981) va classificar les causes d'estrès en cultius en tres grups:

1. Causes relacionades amb el medi artificial (els valors o les variacions de temperatura, salinitat, pH, composició de l'aigua, etc.).

2. Causes relacionades amb la dieta artificial (ració, composició i qualitat dels diferents components, contaminants, etc.).

3. Causes relacionades amb la manipulació (tècniques de control, classificació, transport, etc.).

Les situacions estressants generen unes respostes en l'organisme. Algunes respostes són específiques, és a dir, tendeixen a contrarestar els efectes particulars de l'agent estressant aplicat. Les que tenen més interès fisiològic, però, són les respostes generals, és a dir, aquelles que es produeixen davant una situació d'estrès, independentment de la seva font. Aquestes respostes generals són les que estan implicades de forma més directa en el manteniment de l'homeòstasi i suposen la participació simultània o successiva de diversos sistemes funcionals.

El seguiment dels paràmetres indicatius del grau d'estrès a què es troba sotmès un animal té un interès indubtable per al manteniment dels peixos en condicions òptimes. Els paràmetres fisiològics que mostren variació per causa de l'estrès són molts. S'han classificat en 3 grups:

1. Respostes primàries. Són les modificacions dels sistemes nervios i endocrí.

2. Respostes secundàries. Afecten els sistemes fisiològics regulats pels sistemes nervios i endocrí i, per tant, resulten de les respostes primàries.

3. Respostes terciàries. Inclouen les alteracions que es produeixen a nivell de l'organisme sencer (conducta, creixement, etc).

La Taula 1 presenta les principals variables d'interès de cadascun d'aquests graus de resposta.

Taula 1. Respostes d'estrès i paràmetres de mesurament.

Primàries	Increment del nivell d'ACTH Increment del nivell de catecolamines Increment del nivell de corticosteroides
Secundàries	Alteracions hematològiques Alteracions dels gasos sanguinis Alteració de la glucèmia Alteració dels nivells de metabòlits plasmàtics Alteració de la diuresi Canvis immunitaris
Terciàries	Creixement lent o defectuós Major sensibilitat a malalties Natació alterada Comportament atípic Inapetència i inactivitat Canvis en el comportament migratori Reducció del creixement de la població Alteració de la diversitat d'espècies

Els treballs de recerca que ha fet el nostre equip amb diferents espècies i diferents dissenys experimentals mostren algunes d'aquestes respostes i la seva interrelació. L'objectiu d'aquest treball és integrar els diversos resultats obtinguts en una presentació única que en permeti l'anàlisi des de la perspectiva de l'estrès com a factor primordial.

Respostes primàries

Un paràmetre clàssic que varia en condicions estressants és la concentració plasmàtica de corticosteroides; específicament, de cortisol en els teleostis i d'hidrocorticosterona en els elasmobranquis (Idler & Truscott 1972). Els corticosteroides són alliberats pel teixit interrenal per acció de la corticotropina o ACTH, una hormona segregada per la hipòfisi en resposta a l'estrès.

En un estudi efectuat pel nostre grup en *Oncorhynchus mykiss* de piscifactoria (Fios et al. 1988), es mesuraren els nivells de cortisol en exemplars sotmesos a tres tipus de manipulacions usuals en la planta i potencialment estressants: a) el transport d'una bassa a una altra; b) la classificació per mides mitjançant uns sedassos; i c) totes dues manipulacions successivament.

Els resultats obtinguts es mostren en la Figura 1, en la qual es pot comprovar com el grup de peixos sotmesos a totes dues manipulacions presenta l'elevació de cortisol més alta en les determinacions fetes al cap d'una hora de l'estrès. A les 3 hores, aquesta elevació ha sofert una remissió significativa ($P < 0.05$). A les 24 hores s'han recuperat els nivells basals. Les manipulacions per separat també incrementen els nivells de cortisol però de forma més moderada i amb recuperació més ràpida (a les 3 h els seus valors ja no són significativament diferents dels controls).

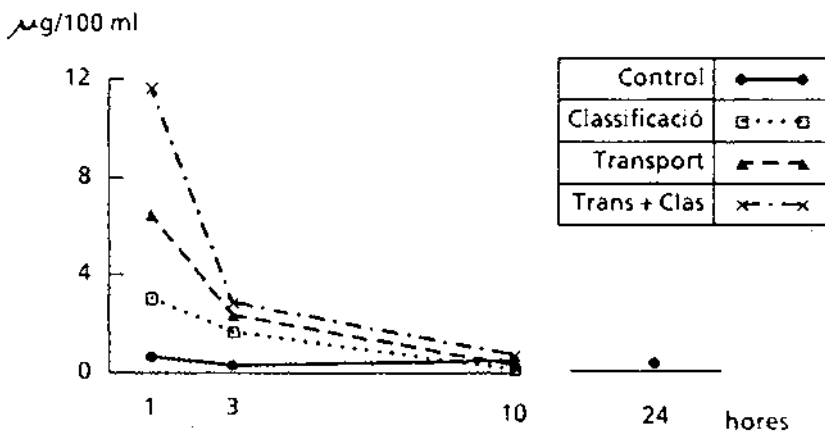


Figura 1. Nivells de cortisol plasmàtic en truites sotmeses a estrès per transport, classificació i transport + classificació al llarg del període de recuperació.

Respostes secundàries

Els efectes secundaris de l'estrès es produeixen per l'acció dels sistemes endocrí i nerviós. Això fa que les respostes secundàries siguin nombroses. Ara bé, alguns dels paràmetres semblen més útils com a índexs d'alteracions. Per exemple, els valors hematològics o els nivells de gasos en sang mostren l'efecte sobre la capacitat de transport d'oxigen fins als teixits (Soivio & Nikinmaa 1981). A més, sovint la hipòxia acompanya les situacions d'estrès (Hughes 1973). Altres paràmetres emprats estudien la població de leucòcits com a indicador general de l'estat del sistema immunitari, sabent que l'estrès n'indueix la depressió (Ellis 1981). També mereixen atenció els nivells plasmàtics o tissulars de metabòlits per tal de saber l'estatus energètic del peix (Wieser et al. 1986).

Un estudi del nostre grup mesurava alguns d'aquests paràmetres després de la manipulació quirúrgica (consistent en la canulació de l'aorta dorsal) de l'elasmobranqui *Scyliorhinus canicula* (Duthie & Tort 1985, Torres et al. 1986a). Els resultats, resumits en la Taula 2, mostraven una important alteració gasomètrica en la mostra de sang presa immediatament després de l'operació. Els valors tendien a recuperar-se a les 3 hores i es normalitzaven abans de 24 hores. Els paràmetres hematològics mostraven el mateix patró de resposta, encara que algunes variables evolucionaven més lentament. De fet, es va comprovar posteriorment que en mostres extretes de peixos que duïen canulats 48 hores encara hi havia alteracions del recompte eritrocític (González-Arch 1986).

La resposta dels glòbuls blancs, mesurada per mitjà del leucòcrit, consistia en un increment immediat en relació al moment d'aplicació de l'estrès, que es reduïa progressivament. El leucòcrit, però, dona resultats diferents en funció del tipus d'estrès aplicat (Taula 3). La causa probable és que aquest paràmetre considera globalment les diverses poblacions de cèl·lules blanques i la resposta de cadascuna d'elles pot ser diferent segons el model d'estrès.

Un segon estudi en aquesta línia considerava els efectes del MS-222 (Sandoz), anestèsic àmpliament utilitzat de peixos, sobre diversos paràmetres sanguinis. L'única diferència significativa entre els controls i els exemplars exposats a l'anestèsic (150 mg/L) s'observava en el recompte de leucòcits, tot i que també es detectaven canvis indicatius ($P < 0.1$) en altres paràmetres hematològics, com ara l'hemoglobina corpuscular mitjana (Flos et al. 1986).

En diversos treballs s'ha descrit hiperglucèmia com a resposta secundària a l'estrès (Taula 4). Així, es produeix hiperglucèmia en *Oncorhynchus mykiss* després del seu transport i classificació i en *Scyliorhinus canicula* per transport i apinyament. La hiperglucèmia constitueix un signe clàssic d'estrès. Excepte en el cas que també es doni la presència de contaminants -que actuen a més llarg termini-, la glucèmia retorna a la normalitat dins de les hores següents a l'alteració, sempre que hagi desaparegut la font d'estrès.

Taula 2. Paràmetres respiratoris, hematològics i metabòlics en *Scyliorhinus canicula* al cap de 0, 3 i 24 hores d'una operació quirúrgica amb canulació aòrtica.

	0 h	3 h	24 h
consum d'oxigen (mL O ₂ /kg h)	31 ± 4	24 ± 2	20 ± 3
Vf (batecs/min)	72 ± 3	73 ± 3	67 ± 4
PaO ₂ (mm Hg)	43.6 ± 11.1	94.8 ± 7.7	92.9 ± 5.8
PaCO ₂ (mm Hg)	9.4 ± 2.3	2.2 ± 0.4	1.3 ± 0.2
CaO ₂ (vol %)	2.0 ± 0.4	3.6 ± 0.4	3.1 ± 0.3
CaCO ₂ (mM)	9.8 ± 1.8	4.0 ± 0.4	3.2 ± 0.5
[bicarbonat] (mEq/L)	7.6 ± 1.4	3.4 ± 0.3	2.7 ± 0.5
pHa	7.19 ± 0.04	7.48 ± 0.04	7.59 ± 0.03
[lactat] (mM)	9.0 ± 1.5	9.1 ± 1.9	5.6 ± 0.8
MCV (µm ³)	1758 ± 136	1313 ± 136	1240 ± 133
MCHC (%)	76.7 ± 4.3	59.9 ± 7.7	61.6 ± 5.7
Hb (g/100 mL)	13.1 ± 0.9	8.2 ± 1.6	7.3 ± 0.8
RBCC (milers/mm ³)	107 ± 8	116 ± 18	103 ± 11
leucòcrit (%)	2.4 ± 0.2	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.2
hematòcrit (%)	17 ± 1	13 ± 1	12 ± 1

Taula 3. Percentatge de variació del leucòcrit respecte del control (100 %) després de diferents tipus d'estrès en *Scyliorhinus canicula*.

Tipus d'estrès	Canvi de leucòcrit (%)
Confinament	-50
Confinament + contaminació amb zinc	-23
Canulació (immediatament)	+33
Canulació (al cap de 3 h)	+17
Canulació (al cap de 24 h)	+9

Taula 4. Percentatge de variació de la concentració plasmàtica de glucosa respecte del control (100 %) després de diferents tipus d'estrès.

Espècie	Tipus d'estrès	Canvi de glucèmia
<i>Salmo gairdneri</i>	transport	+ 24.8
	classificació	+ 54.6
<i>Scyliorhinus canicula</i>	transport + classificació	+ 50.8
	confinament	+230.0
	canulació	+342.3

Respostes terciàries

Les respostes terciàries es produeixen tant a curt com a llarg termini. A curt, es manifesten canvis conductuals fàcilment detectables: moviments anòmals, natació alterada, inapetència i inactivitat. A llarg, els canvis abasten el creixement, la fecunditat i, en darrer terme, la densitat de població. Per tant, les seves conseqüències només poden valorar-se al cap d'un temps.

En un treball realitzat en *Oncorhynchus mykiss* i en *Esox lucius*, s'estudiaven aquests tipus de respostes entre d'altres (Tort et al. 1987). La primera indicació d'anormalitat es detectà en poc temps: els peixos afectats mantenien una patent inactivitat i descendí la seva capacitat natatòria. A llarg terme es registrava un creixement més lent.

Després d'algunes comprovacions, es procedí a una anàlisi detallada dels peixos afectats i s'identificà un paràsit trematode allotjat a la cavitat pericardiaca. Experimentalment, es determinà que l'eficàcia bombadora d'aquests cors «in vitro» i la velocitat natatòria de l'animal «in vivo» registren disminucions significatives respecte dels controls. En la Figura 2 es mostra la potència cardíaca dels peixos infectats en relació amb els controls. En la Figura 3 es veu com els peixos van restringint el seu ritme cardíac a mesura que avança la infecció.

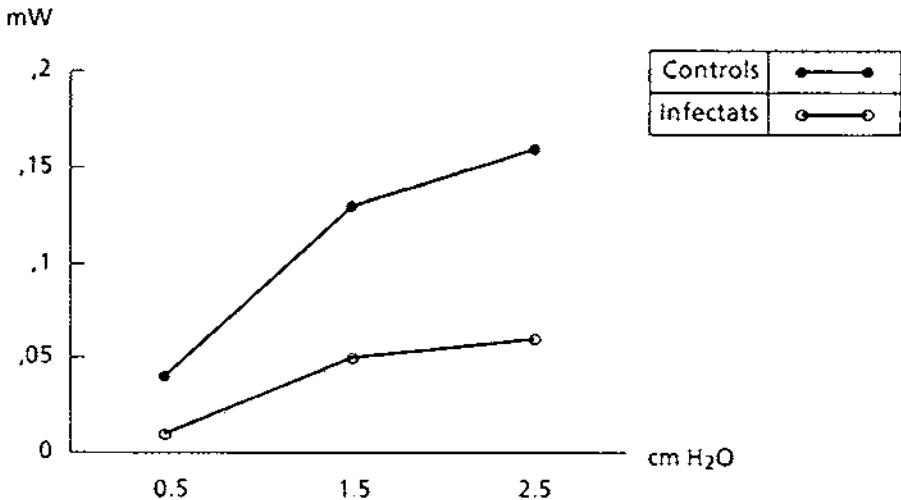


Figura 2. Potència cardíaca en cors de truita sans i infectats a pressions creixents de càrrega venosa.

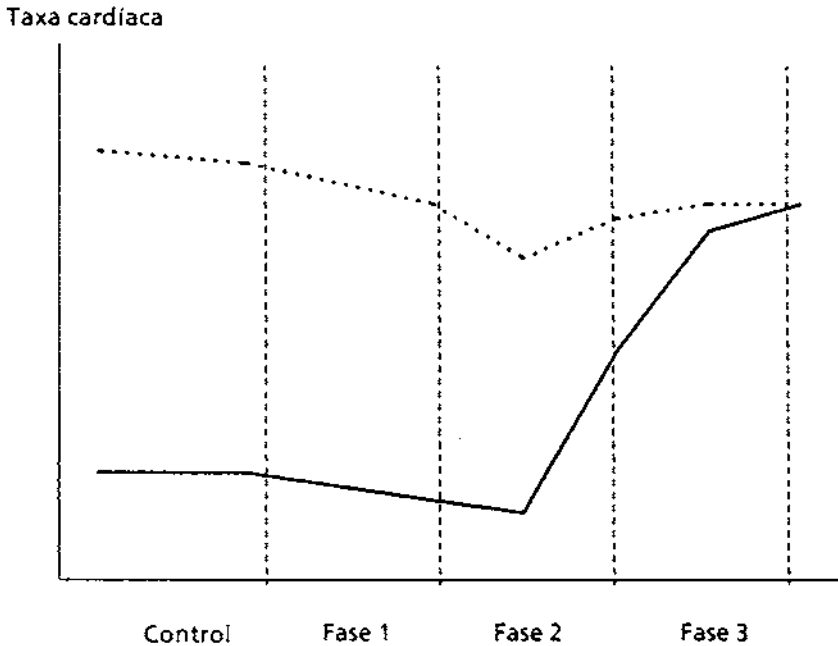


Figura 3. Ritme cardíac en repòs i en exercici en truites control i en truites en diferents fases d'infecció. Fase I: presència de paràsits aïllats. Fase II: formació d'adherències en el miocardi. Fase III: danys en el miocardi.

Conclusions

Les conclusions d'aquesta sèrie de treballs amb factors estressants i les respostes del peixos indiquen, en primer lloc, la importància de tenir en compte l'estrès i mesurar-lo en les activitats que comporten la manipulació de peixos. En segon lloc, que les manipulacions a les piscifactories o al laboratori suposen uns canvis fisiològics que representen una alteració, en principi temporal, de l'homeòstasi de l'animal. El cessament de l'estrès sol permetre la recuperació. Un animal no recuperat, però, esdevé altament sensible a alteracions fisiològiques subsegüents o malalties, cosa que redueix la seva viabilitat.

Bibliografia

- Donaldson, E.M. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: A.D.Pickering (ed.) Stress and fish. Academic Press. London. pp. 11-48.
- Duthie, G.G. & Tort, L. 1985. Effects of dorsal aortic cannulation on the respiration and haematology of Mediterranean living *Scyliorhinus canicula* L. Comp. Biochem. Physiol. 81A: 879-883.

- Ellis, A.E. 1981. Stress and modulation of deference mechanisms in fish. *In*: A.D. Pickering (ed.) *Stress and fish*. Academic Press. London. pp. 147-170.
- Flos, R., Tort, L. & Balasch, J. 1986. Effects of zinc sulphate on haematological parameters in the dogfish *Scyliorhinus canicula* and influences of MS222. *Mar. Environ. Res.* 21: 289-298.
- Flos, R., Reig, L., Torres, P. & Tort, L. 1988. Primary and secondary stress responses to grading and hauling in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture* 71: 99-106.
- González-Arch, F. 1986. Volum de sang i efectes de la canulació de l'aorta dorsal en l'hematologia del peix gat de mar, *Scyliorhinus canicula*. Tesina de llicenciatura. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Hughes, G.M. 1973. Respiratory responses to hypoxia in fish. *Amer. Zool.* 13: 475-489.
- Idler, D.R. & Truscot, B. 1972. Corticosteroids in fish. *In*: *Steroids in non-mammalian vertebrates*. D.R. Idler (ed.) Academic Press. New York. pp. 56-137.
- Soivio, A. & Nikinmaa, M. 1981. The swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *In*: *Stress and fish*. A.D. Pickering (ed.). Academic Press. London. pp. 103-120.
- Torres, P., Duthie, G.G. & Tort, L. 1986a. Statistical relations of some blood parameters along recovery from imposed stress in dogfish. *Rev. Esp. Fisiol.* 42: 7-14.
- Torres, P., Tort, L., Planas, J. & Flos, R. 1986b. Effects of confinement stress and additional zinc treatment on some blood parameters in the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Comp. Biochem. Physiol.* 83C: 89-92.
- Tort, L., Watson, J.J. & Priede, I.G. 1987. Changes in *in vitro* heart performance in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, infected with *Apatemon gracilis* (Digenea). *J. Fish Biol.* 30: 341-347.
- Wieser, W., Koch, F., Drexel, E. & Platzer, U. 1986. Stress reaction in teleosts: effects of temperature on activity and anaerobic energy production in roach *Rutilus rutilus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 83A: 41-45.

Manuscript rebut el gener de 1989.