

.....

## EFFECTO DE LOS GRADOS DÍA DE AYUNO Y DEL HACINAMIENTO PREVIOS AL SACRIFICIO SOBRE EL CONTENIDO ESTOMACAL Y RESPUESTA DE ESTRÉS EN TRUCHA ARCOÍRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Bermejo-Poza<sup>1\*</sup>, R., De la Fuente<sup>1</sup>, J., Pérez<sup>2</sup>, C., Lauzurica<sup>1</sup>, S., González de Chavarri<sup>1</sup>, E., Díaz<sup>3</sup>, M.T., Torrent<sup>4</sup>, F. y Villarroel<sup>5</sup>, M.

<sup>1</sup>UCM, Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040. Madrid. <sup>2</sup>UCM, Fac. Vet. Dpto. Fisiología (Fisiología Animal), Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040. Madrid. <sup>3</sup>INIA, Dpto. Tec. Alimentos, Ctra. De la Coruña, km 7.5, 28040. Madrid. <sup>4</sup>UPM, ETSI de Montes Dpto. Ingeniería Forestal, Ciudad Universitaria s/n, 28040. Madrid. <sup>5</sup>UPM, ETSIA Dpto. Prod. Animal, Avenida Puerta de Hierro 2, 28040. Madrid. [\\*rbermejop89@gmail.com](mailto:rbermejop89@gmail.com)

### INTRODUCCIÓN

El ayuno pre-sacrificio es una práctica rutinaria en acuicultura que se lleva a cabo para vaciar el aparato digestivo disminuyendo la cantidad de heces y previniendo una contaminación de la canal (Robb, 2008). Sin embargo, el ayuno puede también incrementar los niveles de estrés de los peces y si estos son lo suficientemente altos afectan a la calidad de la canal (Poli *et al.*, 2005). Recientemente, algunos autores han analizado el efecto de un ayuno de corta duración (hasta tres días) sobre los indicadores plasmáticos de estrés en la trucha arcoíris (Hoseini *et al.*, 2013), incluyendo el efecto de la temperatura del agua mediante los grados día (López-Luna *et al.*, 2013) y su efecto sobre la calidad de la canal (López-Luna *et al.*, 2014), encontrando todos que la trucha es capaz de adaptarse a un ayuno de ese tipo con valores similares de cortisol, lactato y glucosa en peces ayunados y no ayunados. Por otro lado, hay estudios que han demostrado que hay prácticas de manejo previas al sacrificio como la captura y el hacinamiento que provocan distintos grados de respuesta de estrés en los peces, incrementando los niveles de cortisol (Poli *et al.*, 2005). En este trabajo se ha tratado de valorar el impacto del ayuno (158,2 °C día) y del hacinamiento pre-sacrificio en trucha arcoíris, así como el efecto conjunto de los dos, en el peso y distintos indicadores sanguíneos de bienestar como el cortisol, lactato, glucosa, triglicéridos y creatin fosfoquinasa (CPK).

### MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la Piscifactoría de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes (UPM, Madrid). Se dispuso de 4 tanques paralelos de 5,16 m<sup>3</sup> de capacidad que disponían de agua proveniente de pozo, proporcionando un flujo de agua constante. Se usaron 144 truchas arcoíris procedentes de la granja Cien Fuentes (Cifuentes, Guadalajara). Cuando las truchas llegaron a las instalaciones, se dividieron de forma aleatoria entre los cuatro tanques (n=36). Los animales fueron alimentados dos veces al día con un pienso comercial (42% PB, 23% grasa, 4,1% cenizas y 2% FB, 30 ppm astaxantina; 1% tasa de alimentación). Para calcular los grados día (°C d), se midió la temperatura del agua cada 5 minutos utilizando sensores de temperatura sumergibles en agua (Hobo®-U11). Los cuatro grupos formados tuvieron distintos tiempos de ayuno y hacinamiento previos al sacrificio. Dos grupos fueron sometidos a 7 días de ayuno antes del sacrificio (158,2 °C d) y los otros dos no fueron ayunados. Un grupo de cada tipo de tiempo de ayuno fue ejercitado 20 minutos antes del sacrificio persiguiendo a los peces con salabardos y utilizando una red de separación para agrupar a los peces en un espacio más pequeño. Como resultado, los peces quedaron divididos en cuatro grupos: NANH (ni ayuno ni hacinamiento), NAH (no ayuno, sí hacinamiento), ANH (sí ayuno, no hacinamiento) y AH (ayuno y hacinamiento). Se sacrificaron los peces, previo aturdimiento eléctrico, mediante decapitación. Inmediatamente tras el sacrificio, se tomaron las muestras sanguíneas de la vena caudal de 18 truchas de cada grupo dividiéndolas en dos eppendorf, uno con fluoruro de sodio (glucosa, lactato) y otro con EDTA (cortisol, triglicéridos y CPK). Ambos tubos se centrifugaron a 6.000 rpm durante 10 min para separar el plasma y se almacenaron a 4 °C hasta su análisis. Para la determinación de la glucosa y el ión lactato se utilizaron métodos enzimáticos-espectrofotométricos (Spinreact, S.A., Sant Esteve de Bas, España), el cortisol mediante enzimoimmunoanálisis con un kit comercial Cortisol (Radim Ibérica S.A., Barcelona, España), los triglicéridos con un método enzimático mediante un kit comercial (Boehringer Mannheim, Barcelona, España) y la CPK con un analizador químico Roche/Hitachi 717

.....

(Roche Diagnostics, S.L., Sant Cugat del Valles, España). Tras la extracción de las muestras sanguíneas, los peces se midieron, pesaron y evisceraron. Se calculó el coeficiente de condición o CC ( $CC = \text{Peso sacrificio (g)} / \text{Longitud corporal}^3 \text{ (cm)}$ ). Se pesó el contenido estomacal para calcular el peso vivo vacío. El contenido estomacal se expresó como % relativo al peso del estómago. Se midieron también los pesos del aparato digestivo (de estómago a ano, incluyendo la grasa visceral) e hígado, expresándose como % relativo al peso vivo vacío (DSI: índice somático del digestivo, HSI: índice somático del hígado). El rendimiento a la canal se calculó como el cociente entre el peso al sacrificio y el peso canal, expresándose como porcentaje también. Los datos fueron analizados estadísticamente usando el procedimiento GLM del programa SAS 9.1. Para la comparación de medias se utilizó el test de Bonferroni con un 5% como nivel de significación ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El coeficiente de condición estuvo afectado por el tiempo de ayuno ( $p = 0,002$ ), siendo mayor en las truchas no ayunadas ( $1,11 \pm 0,01$ ) que en las sometidas a ayuno ( $1,06 \pm 0,01$ ). Pottinger *et al.* (2003) observaron que a los 7 días de ayuno disminuye el CC en la trucha arcoíris. El contenido estomacal, DSI, HSI y rendimiento canal presentaron diferencias significativas respecto al tiempo de ayuno pero no por el hacinamiento (*Tabla 1*). El contenido estomacal y DSI fueron mayores en los peces no ayunados debido a la mayor cantidad de alimento en el tracto digestivo en el momento del sacrificio, lo que a su vez dio lugar a un menor rendimiento canal en las truchas no ayunadas. Estos resultados coinciden Lines y Spence (2012), quienes observaron que la duración del ayuno necesaria para vaciar el estómago varía de 1 a 5 días, dependiendo de la temperatura del agua. Las truchas no ayunadas presentaron un mayor HSI que las sometidas a ayuno, posiblemente debido a una reducción de los niveles de glucógeno hepático y triglicéridos (Davis y Gaylord, 2011). Los resultados de los parámetros hematológicos se presentan en la *Tabla 2*. El cortisol fue mayor en las truchas no ayunadas, como observaron con anterioridad en trucha arcoíris Sumpter *et al.* (1991), y en las sometidas al hacinamiento, debido a una mayor respuesta de estrés (Poli *et al.*, 2005). El lactato siguió el mismo esquema que el cortisol, siendo mayor en las truchas no ayunadas y en las sometidas al hacinamiento. Debido a un mayor movimiento previo al sacrificio en las truchas con hacinamiento, se incrementó el metabolismo anaeróbico de las fibras musculares aumentando los niveles de lactato plasmático (Merkin *et al.*, 2010). La disminución debida al ayuno pudo ser por un incremento de la utilización del lactato como sustrato en la gluconeogénesis hepática (Polakof *et al.*, 2006). La concentración plasmática de glucosa fue mayor en las truchas sometidas al hacinamiento que en las que no fueron hacinadas, debido a un incremento de la gluconeogénesis para mantener la homeostasis (López-Patiño *et al.*, 2014). Los triglicéridos presentaron un valor más alto en las truchas sometidas a ayuno que en las no ayunadas, indicando que las reservas grasas disminuyeron (Costas *et al.*, 2011). Hubo una interacción significativa entre los dos factores en la CPK, con el valor más pequeño en el grupo ANH. Esto pudo ser atribuido a que los peces ayunados sufren una disminución de la síntesis enzimática debido a su menor demanda metabólica (Echevarria *et al.*, 1997). Concluyendo, independientemente del tiempo de ayuno, parece esencial disminuir todo lo posible el tiempo de hacinamiento pre-sacrificio para preservar el bienestar de la trucha arcoíris.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Costas, B. *et al.* 2011. *Fish Physiol. Biochem.* 37: 495-504.
- Davis, K.B. y Gaylord, T.G. 2011. *Comp. Biochem. Physiol. A* 158: 30-36.
- Echevarria, G. *et al.* 1997. *Comp. Biochem. Physiol. A* 118: 111-123.
- Hoseini, S.M. *et al.* 2013. *J. Appl. Ichthyol.* 30: 569-573.
- Lines, J.A. y Spence, J. 2012. *Fish Physiol. Biochem.* 38: 153-162.
- López-Luna, J. *et al.* 2013. *Aquaculture* 400: 142-147.
- López-Luna, J. *et al.* 2014. *Aquaculture* 420-421: 63-70.
- López-Patiño, M.A. *et al.* 2014. *Comp. Biochem. Physiol. A* 168: 40-49.
- Merkin, G.V. *et al.* 2010. *Aquaculture* 309: 231-235.
- Polakof, S. *et al.* 2006. *J. Comp. Physiol. B* 176: 441-452.
- Poli, B.M. *et al.* 2005. *Aquacult. Int.* 13: 29-49.
- Pottinger, T.G. *et al.* 2003. *Comp. Biochem. Physiol. B* 136: 403-417.
- Robb, D.H.F. 2008. *Fish Welfare*: pp. 217-242.
- Sumpter, J.P. *et al.* 1991. *Gen. Comp. Endocr.* 83: 94-102.

**Agradecimientos:** Esta prueba ha sido financiada por el proyecto AGL2010-19479.

• • • • •

**Tabla 1.** Medias de contenido estomacal (CE), índices somáticos del digestivo (DSI) e hígado (HSI) y rendimiento canal (RE) expresados en porcentaje y en función del tiempo de ayuno (A) y del hacinamiento (H).

	NA		A		EEM <sup>1</sup>	Significación (p)		
	NH	H	NH	H		A	H	A x H
<b>CE</b>	44,13 <sup>a</sup>	48,15 <sup>a</sup>	9,87 <sup>b</sup>	5,11 <sup>b</sup>	1,81	<0,001	0,92	0,23
<b>DSI</b>	9,81 <sup>a</sup>	10,48 <sup>a</sup>	7,35 <sup>b</sup>	6,94 <sup>b</sup>	0,16	<0,001	0,70	0,11
<b>HSI</b>	1,56	1,52	1,42	1,50	0,02	0,04	0,58	0,11
<b>RC</b>	88,33 <sup>b</sup>	87,63 <sup>b</sup>	90,92 <sup>a</sup>	91,20 <sup>a</sup>	0,17	<0,001	0,55	0,17

<sup>1</sup> Error estándar de la media

<sup>a, b</sup> Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05)

**Tabla 2.** Medias de niveles plasmáticos de cortisol (Cort, ng/ml), lactato (Lact, mmol/l), glucosa (Gluc, mg/dl), triglicéridos (TGC, mg/dl) y creatin fosfoquinasa (CPK, U/l) en función del tiempo de ayuno (A) y del hacinamiento (H).

	NA		A		EEM <sup>1</sup>	Significación (p)		
	NH	H	NH	H		A	H	A x H
<b>Cort</b>	15,56 <sup>b</sup>	25,37 <sup>a</sup>	10,12 <sup>c</sup>	23,38 <sup>a</sup>	0,50	0,004	<0,001	0,09
<b>Lact</b>	5,87 <sup>b</sup>	7,79 <sup>a</sup>	4,30 <sup>c</sup>	6,31 <sup>b</sup>	0,17	<0,001	<0,001	0,89
<b>Gluc</b>	78,39 <sup>b</sup>	112,83 <sup>a</sup>	71,89 <sup>b</sup>	115,11 <sup>a</sup>	1,96	0,59	<0,001	0,27
<b>TGC</b>	314 <sup>a</sup>	409 <sup>a</sup>	173 <sup>b</sup>	181 <sup>b</sup>	14,17	<0,001	0,07	0,13
<b>CPK</b>	825	702	496	707	79,07	0,09	0,33	0,09

<sup>1</sup> Error estándar de la media

<sup>a, b, c</sup> Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05)

#### EFFECT OF DEGREE DAYS OF FASTING AND CROWDING BEFORE SLAUGHTER ON STOMACH CONTENT AND STRESS RESPONSE IN RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

**ABSTRACT:** In aquaculture, pre-slaughter handling includes fasting to ensure emptying of the digestive system and crowding and capturing fish from tanks or cages before slaughter. To analyse the effect of both of these potential stressors, 144 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) were fasted for 7 days (158.2 °C days) and crowded in their raceways for 20 min, and later compared to controls (neither fasted nor crowded). The stomach content, coefficient of condition, liver somatic index, plasma cortisol, lactate and triglycerides were lower in fasted trout. Conversely, crowding stress increased plasma cortisol, lactate and glucose, suggesting a decrease in their welfare level. Fasting up to 150 °C days did not seem to have a negative effect on stress but crowding was stressful and its effect on stress but crowding was stressful and its effects were independent of fasting status.

**Keywords:** fasting, crowding, animal welfare, degree-days