

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



NIVELES DE CORTISOL Y GLUCOSA COMO
INDICADORES DE ESTRÉS EN “TRUCHAS ARCO IRIS”
(*Oncorhynchus mykiss*), UTILIZANDO ANESTÉSICOS EN
LA LAGUNA DE ARAPA

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. EDWIN URIEL HUANCA RAMOS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO-PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

NIVELES DE CORTISOL Y GLUCOSA COMO INDICADORES DE ESTRÉS EN “TRUCHAS
ARCO IRIS” (*Oncorhynchus mykiss*), UTILIZANDO ANESTÉSICOS EN LA LAGUNA DE
ARAPA

TESIS

PRESENTADO POR:

Br. EDWIN URIEL HUANCA RAMOS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 24 DE ENERO DEL 2017

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE:

Mg. DANTE JONI CHOQUEHUANCA PANCLAS

PRIMER MIEMBRO:

Dr. JUAN JOSÉ PAURO ROQUE

SEGUNDO MIEMBRO:

D.Sc. DINA PARI QUISPE

DIRECTOR:

Dr. BUENAVENTURA OPTACIANO CARPIO VASQUEZ

ÁREA: PESQUERÍA

LÍNEA: ACUICULTURA

TEMA: CULTIVO DE PECES

DEDICATORIA

A mis queridos padres Eusebio Huanca y Bacilia Ramos, por todo su apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida, por sus sabios consejos y por la motivación constante que siempre me dan.

A mis hermanos Betsy y Ángel Huanca, y mi cuñado Wilson Condori por su apoyo constante en los momentos de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A los docentes de la Universidad Nacional del Altiplano, en especial a los de la Facultad de Ciencias Biológicas, por haber contribuido en mi formación profesional.

A mi director de tesis Dr. Buenaventura Carpio Vásquez, por su asesoramiento y apoyo en la realización de este trabajo.

A mis Jurados de tesis Mg. Dante Choquehuanca Panclas, Dr. Juan José Pauro Roque y D.Sc. Dina Pari Quispe, por su dedicación en la revisión y corrección para la culminación de este trabajo de investigación.

A la empresa ARAPA S.A.C. por facilitarme las instalaciones de la empresa para la ejecución de la investigación, en especial al Sr. Buenaventuro Torres, por su apoyo durante la ejecución del trabajo.

A mis amigos, Frank Torres, Ali Mamani, Jorge Luis Quispe y Eva Fernández, por su apoyo y motivación en la ejecución del trabajo de investigación.

Al resto de mis amigos que siempre están conmigo apoyándome incondicionalmente.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	
Abstract	
I. INTRODUCCIÓN	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1 Antecedentes	14
2.2. Marco teórico	19
2.3 Marco conceptual	33
III. MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1 Ámbito de estudio	35
3.2 Tipo de estudio	35
3.3 Población y tamaño de muestra	35
3.4 Materiales	36
3.5 Metodología	36
3.5.1 Determinación de los niveles de cortisol como indicador primario de estrés en truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), usando lidocaína, benzocaína y eugenol	36
3.5.2 Determinación de los niveles de glucosa como indicador secundario de estrés en truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), usando lidocaína, benzocaína y eugenol	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
4.1 Niveles de cortisol como indicador primario de estrés en truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.	43
4.2 Niveles de glucosa como indicador secundario de estrés en truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.	48
V. CONCLUSIONES	52
VI. RECOMENDACIONES	53
VII. REFERENCIAS	54
ANEXOS	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Sistema circulatorio en peces. Tomado de (Sadava <i>et al.</i> , 2008).....	22
Figura 02. Esquema de la acción de un estímulo estresante en los vertebrados (peces) y los niveles de respuesta primaria (hormonas del estrés), secundaria y terciaria. Tomado de (Castello, 1993).....	26
Figura 03. Diagrama esquemático del tejido interrenal glándula del hipotálamo Pituitaria(HPI). Tomado de (Leatherland & Woo, 2010).....	27
Figura 04. Representación esquemática de la respuesta al estrés en los peces. Tomado de (Ostrander, 2000).....	29
Figura 05. Acción de los anestésicos sobre el potencial de membrana. Tomado de (De Ahumada <i>et al.</i> , 2002).....	31
Figura 06. Jaula flotante, Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, Provincia de Azángaro, Octubre 2016.....	35
Figura 07. Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360. Tomado de (TOSOH, 2010).	39
Figura 08. Proceso esquemático del fundamento de los métodos turbidimetría (ángulo 0°) y nefelometría (ángulo 90°). Tomado de (López <i>et al.</i> , 2012).	40
Figura 09. Diagrama esquemático de un electrodo selectivo de iones que se utiliza un cristal de sal inorgánica como membrana selectiva. Tomado de (Harris, 2007).....	41
Figura 10. Analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200. Tomado de (Mindray, 2010).....	42
Figura 11. Promedios de los tratamientos en los niveles de cortisol en suero de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Distrito de Arapa, Octubre 2016.....	44
Figura 12. Diferencias de los tratamientos en los niveles de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Distrito de Arapa, Octubre 2016.....	45
Figura 13. Promedios de los tratamientos en los niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Distrito de Arapa, Octubre 2016.....	49
Figura 14. Diferencias de los tratamientos en los niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Distrito de Arapa, Octubre	

2016.....	50
Figura 15. Ficha de resultados de la Clínica Americana de los niveles de glucosa y cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	63
Figura 16. Obtención de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) de jaulas flotantes. Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	64
Figura 17. Anestesiado de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	64
Figura 18. Obtención de la talla de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	65
Figura 19. Obtención del peso de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	65
Figura 20. Obtención de la sangre de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	66
Figura 21. Proceso de obtención del suero sanguíneo en una centrifuga. Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.	66
Figura 22. Proceso para la determinación de glucosa en un Analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200. Clínica Americana, Distrito de Juliaca, octubre 2016.....	67
Figura 23. Proceso para la determinación de cortisol Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360. Clínica Americana, Distrito de Juliaca, octubre 2016.....	67
Figura 24. Sistema circulatorio en peces (vena caudal). Tomado de http://cienunb.blogspot.pe/	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Principales causas de estrés en los peces de cultivo.	24
Tabla 02. Tamaño de muestra de la investigación	36
Tabla 03. Niveles de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	43
Tabla 04. Análisis de varianza (SC tipo III) del nivel de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	47
Tabla 05. Prueba de significancia de Tukey del nivel de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	47
Tabla 06. Niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	48
Tabla 07. Análisis de la varianza (SC tipo III) del nivel de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	51
Tabla 08. Prueba de significancia de Tukey del nivel de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	51
Tabla 09. Tiempo de inducción, recuperación y dosis de los anestésicos usados en truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	62
Tabla 10. Peso y talla de truchas “arco iris” (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) usados en la investigación.	62

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ACTH	: (Hormona adrenocorticotropa).
CRF	: (hormona liberadora de corticotropina).
DOC	: (Desoxicorticosterona).
ELISA	: (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).
FONDEPES	: (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero).
MS-222	: (tricaine methanesulfonate).
pH	: (Potencial Hidrogenionico).
ppm	: (Partes por millón).
POMC	: (Proopiomelanocortina).
rpm	: (Revoluciones minuto).
SNC	: (Sistema nervioso central).
UTM	: (Universal Transverse Mercator).
T1	: (Control)
T2	: (Lidocaína)
T3	: (Benzocaína)
T4	: (Eugenol)

Resumen

El estudio de los niveles de cortisol y glucosa como indicadores de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se realizó en la Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, Provincia de Azángaro, durante los meses septiembre a noviembre del 2016, con el objetivo de: determinar y comparar el nivel de cortisol y glucosa como indicador primario y secundario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol, las muestras de sangre se analizaron en el laboratorio de patología clínica y banco de sangre de la Clínica Americana de Juliaca. Se utilizó cuatro tratamientos: T1: (control), T2: truchas anestesiadas con lidocaína, T3: truchas anestesiadas con benzocaína y T4: truchas anestesiadas con eugenol. La metodología fue: las truchas con peso de 218,1 g y talla de 25,3 cm de promedios fueron sometidos a estrés agudo, la sangre se obtuvo de la vena caudal entre 2,5 y 3 ml, para luego centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos, para obtener el suero. El análisis de cortisol se realizó con un Analizador de Inmunoensayo Automatizado TOSOH AIA-360, mientras que el análisis de glucosa se realizó con un analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200. Los resultados fueron: respecto a cortisol en T1: como promedio 85,9 ng/ml, en T2: como promedio 41,4 ng/ml, en T3: como promedio 51,6 ng/ml y T4: como promedio 31,6 ng/ml. Obteniendo diferencias en T1 con T4, Respecto a glucosa en T1: como promedio 112,5 mg/dl, en T2: como promedio 102 mg/dl, en T3: como promedio 102 mg/dl y T4 como promedio 77,3 mg/dl. Obteniendo diferencias en T1 con T4, Por lo tanto se concluye que la manipulación de los peces sin anestésicos genera mayor estrés, debido a que presentan mayores niveles de cortisol y glucosa, mientras que la manipulación de los peces con anestésicos generan menores niveles de cortisol y glucosa, es decir hay diferencias de los T2, T3 y T4, con el grupo control.

Palabras Clave: Anestésicos, cortisol, estrés, glucosa, trucha “arco iris”.

Abstract

The study of the levels of cortisol and glucose as indicators of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), was held in the lagoon of Arapa, district of Arapa, province of Azangaro, during the months of september to november of 2016, with the objective of: to determine and compare the level of cortisol and glucose as primary and secondary indicator of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), using lidocaine, benzocaine and eugenol, blood samples were analyzed in the laboratory of clinical pathology and blood bank of the American Clinic in Juliaca. We used four treatments: T1 (control), T2: trout anesthetized with lidocaine, T3: trout anaesthetized with benzocaine and T4: trout anaesthetized with eugenol. The methodology was: the trouts with weight of 218,1 g and height of 25,3 cm of averages were subjected to acute stress, the blood was obtained from the caudal vein between 2,5 and 3 ml, then centrifuge at 3000 rpm for 10 minutes, to get the serum. The analysis of cortisol is made with an automated immunoassay analyzer TOSOH AIA-360, while the analysis of glucose was performed with an automated chemistry analyzer MINDRAY BS-200. The results were: respect to cortisol in T1: an average of 85,9 ng/ml, in T2: an average of 41,4 ng/ml, in T3: an average of 51,6 ng/ml and T4: an average of 31,6 ng/ml. Getting differences in T1 to T4, with respect to glucose in T1: average 112,5 mg/dl, in T2: average 102 mg/dl, in T3: an average of 102 mg/dl and T4 as an average of 77,3 mg/dl. Getting differences in T1 to T4, it is therefore concluded that the manipulation of fish without anesthetics generates more stress, due to higher levels of cortisol and glucose, while the handling of the fish with anesthetics generate lower levels of cortisol and glucose, there are differences in the T2, T3 and T4, with the control group.

Key words: Anesthetics, cortisol, stress, glucose, rainbow trout.

I. INTRODUCCIÓN

Los procedimientos realizados durante el cultivo intensivo y experimental de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), como las labores de manipulación (biometría, técnicas de reproducción, inducción al desove, transporte y otros) son importantes para la acuicultura, sin embargo estas prácticas habituales pueden traducirse en condiciones estresantes para los individuos si no se toman las medidas adecuadas. El estrés provocado por estas prácticas induce una serie de respuestas fisiológicas que influyen negativamente en diversos aspectos de las funciones biológicas de las truchas, incluyendo el crecimiento, la reproducción y el sistema inmune, por lo tanto se pone en riesgo la vida de las especies, y esto genera pérdidas económicas a los productores de truchas. El uso de anestésicos en las investigaciones pesqueras facilita en gran medida la manipulación de estos, ya que los peces manipulados sin anestésicos van a estar en constante movimiento fuera del agua y por ese motivo este será un factor de estrés alto, pero gracias a la aplicación de anestésicos el nivel de estrés se reducirá (Weber, 2009).

Los cambios en los niveles del cortisol, son mundialmente empleados como índices de activación de la respuesta neuroendocrina al estrés. Los valores pueden elevarse a más de 100 ng/ml en el estrés agudo, para retornar a valores próximos a los normales de 10 - 20 ng/ml después de períodos variables, aunque la causa de la elevación persista. La glucosa plasmática es un parámetro alternativo para evaluar la magnitud de la respuesta, teniendo la ventaja de la facilidad de determinación y que la faja de elevación es más estrecha que la del cortisol, incrementándose 2 veces en comparación con las 100 veces que el cortisol se puede elevar (Pottinger & Carrick, 1999).

El cortisol es una hormona esteroidea producida por la glándula suprarrenal, derivada del colesterol, la cual es segregada como respuesta ante el estrés, de esta forma aumenta la concentración de glucosa en la sangre a partir de la reserva de grasa, disminuye la utilización de la glucosa por la mayoría de las células para aumentar el aporte de la glucosa a las células cerebrales y cardíacas, utiliza las proteínas para reparar tejidos, y suprime las respuestas inmunes e inflamatorias, por lo tanto un animal estresado es más propenso a contraer enfermedades. La glucosa es la principal fuente de energía para el metabolismo celular que se obtiene fundamentalmente a través de la alimentación, y se

almacena principalmente en el hígado, encargándose del mantenimiento de los niveles de glucosa en la sangre (Agudelo *et al.*, 2012).

Por tal motivo se realizó esta investigación para determinar las diferencias que existen en los niveles de cortisol y glucosa en el suero sanguíneo de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), al momento de realizar labores de manipulación, usando diferentes tipos de anestésicos (lidocaína, benzocaína y eugenol) con el control (sin anestesia), esto nos permitirá conocer los niveles de estrés que provocan los anestésicos comparándolos con el grupo control en el que no se usó anestésicos. Por tal hecho se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Evaluar los niveles de cortisol y glucosa como indicadores de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), utilizando anestésicos en la laguna de Arapa.

Objetivos específicos

- Determinar y comparar el nivel de cortisol como indicador primario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.
- Determinar y comparar el nivel de glucosa como indicador secundario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Antecedentes

Val Gaudo *et al.* (2004), en el trabajo de investigación en España llevaron a cabo estudios en ejemplares de “trucha común” (*Salmo trutta fario*), los individuos proceden de las piscifactorías de El Soto (Celadilla del Río, Palencia), Vegas del Condado (León), Quintanar de la Sierra (Burgos), de los ríos Carrión, Arlanzón, Órbigo y Porma, en un total de 56 especímenes. Se les extrajo el suero sanguíneo para la determinación de Cortisol mediante un inmunoanálisis de polarización de la fluorescencia (FPIA). Los resultados obtenidos fueron: Los niveles séricos de cortisol en las truchas del río Órbigo son normales (valor medio: 9,6 µg/dl; intervalo de referencia: 4,7 - 14,5 µg/dl). Sin embargo, los valores de cortisol de las truchas de Soria, Quintanar de la Sierra y Acera de la Vega resultan discretamente altos (entre 16 y 18 µg/dl). Es preciso destacar los bajos valores de cortisol en las truchas del río Arlanzón, tanto en San Medel como en Ibeas de Juarros.

Trenzado (2004), en el ensayo 1 en España, utilizó truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), con un peso medio de 34 g, los tratamientos usados fueron: LR (baja respuesta), HR (alta respuesta) y C un grupo control no seleccionados. Las especies fueron mantenidas durante cuatro semanas a dos densidades diferentes: una considerada estresante (100 g/l) y otra asociada a condiciones normales (20 g/l). Tomaron muestras de sangre para la determinación de glucosa plasmática. La toma de muestras se realizó de individuos previamente anestesiados en una solución de etilenglicol menofenil éter, los resultados obtenidos fueron en (mg/dl): densidad (100 g/l) LR: 73,25 mg/dl; HR: 90,27 mg/dl y C: 77,96 mg/dl y densidad (20 g/l) LR: 71,86 mg/dl; HR: 80,98 mg/dl y C: 80,63 mg/dl. Los resultados indican que los niveles de glucosa plasmática muestran que a alta densidad (HR) se produce un incremento significativo de glucosa.

Trenzado (2004), en el ensayo 2 en España, utilizó truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), con un peso medio de 50 g, las cuales fueron alimentadas con cinco tipos de dietas experimentales que fueron formuladas en función de su contenido en vitaminas E, C y de UFAs. Los individuos fueron mantenidos a dos densidades de peces diferentes,

baja (20 g/l) y alta (100 g/l). A los 21 y 42 días se tomaron muestras de sangre para el análisis de cortisol y glucosa, obteniendo lo siguiente: Los resultados indican que la glucosa en condiciones de alta densidad presentó un aumento generalizado de sus niveles a los 42 días, que es significativo en los animales alimentados con dietas carentes de vitamina E, a baja densidad este aumento se observa solo de manera significativa en los grupos (Dieta 3): +E-HUFA, (Dieta 4): +E+HUFA. En cuanto al cortisol nos muestran una influencia clara de la densidad sobre los niveles plasmáticos del cortisol.

Rojas (2005), realizó una investigación en la instalación del INRA (Donzacq, Landes, Francia), elaboró cuatro dietas con diferentes perfiles de aminoácidos y cuatro dietas experimentales con sustituciones de proteína animal del 0, 50, 75 y 100 % por proteína vegetal para la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Posteriormente analizaron los niveles plasmáticos de glucosa a las seis horas y 24 horas de la ingesta del alimento. Los resultados nos indican los valores de glucosa en plasma de los peces alimentados con las diferentes dietas estuvieron comprendidos entre $96,7 \pm 2,4$ y $113,3 \pm 6,0$ mg/dl a las 6 horas y de $70,0 \pm 5,1$ a $74,7 \pm 2,7$ mg/dl a las 24 horas de la ingesta. Mientras que en los animales alimentados con las dietas con un alto contenido de proteína vegetal, los niveles de glucosa (24 h) presentaron valores de $87,9 \pm 4,7$ a $100,7 \pm 4,7$ mg/dl. A las 6 horas de la ingestión del alimento, la glucosa en plasma tampoco mostró diferencias significativas entre dietas (valores entre $100,3 \pm 4,7$ y $110,4 \pm 6,6$ mg/dl).

Conde *et al.* (2009), en el trabajo de investigación en España utilizaron truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) de 157 g en un primer experimento permanecieron en la solución anestésica (MS-222) sin suministrar aireación adicional. En un segundo experimento, favoreciendo la oxigenación. Los resultados obtenidos en glucosa en ng/ml fueron: 1: sin aireación ($4,1 \pm 0,3$ en 5 min), ($4,9 \pm 0,3$ en 15 min), ($7,2 \pm 0,6$ en 30 min) 2: con aireación ($3,9 \pm 0,2$ en 5 min), ($4,5 \pm 0,3$ en 15 min), ($5,7 \pm 0,3$ en 30 min). Los resultados obtenidos en cortisol en ng/ml fueron: 1: sin aireación (44 ± 6 en 5 min), (90 ± 7 en 15 min), (135 ± 18 en 30 min) 2: con aireación (11 ± 3 en 5 min), (107 ± 9 en 15 min), (215 ± 14 en 30 min). Tanto en el grupo de peces sometidos a anestesia sin oxigenación como en los que se aportaron aireación externa, se produjo un incremento del nivel de glucosa con el tiempo de exposición al anestésico.

Fregeneda & Aller (2009), en el trabajo de investigación en España realizaron estudios en poblaciones naturales, así como en reproductores de “trucha común” (*Salmo trutta fario*), (entre 3 - 5 años de edad) de una piscifactoría, todas las truchas fueron anestesiadas con MS 222 (50 mg/ml) para facilitar su manejo y reducir el estrés. En total obtuvieron 190 muestras de sangre, 123 de reproductores de la piscifactoría ($34,9 \pm 4,9$ cm de longitud y $478,7 \pm 233,4$ g de peso) y 67 de truchas de río ($32,1 \pm 7,7$ cm de longitud y $422,1 \pm 279,8$ g de peso), de las cuales 108 procedían de truchas infectadas con *Saprolegnia* (63 de reproductores y 45 de truchas de río) las muestras de sangre se dejaron coagular y el suero se obtuvo por centrifugación ($\times 1,000$ g, 45 min.). Obteniendo los siguientes resultados: Los niveles séricos de cortisol fueron más altos en las truchas infectadas con *Saprolegnia* $339,0 \pm 155,7$ ng/ml que en las truchas sin saprolegniosis $172,9 \pm 129,9$ ng/ml. 1 ng/ml = 0.001 ppm.

Laiz *et al.* (2009), realizaron una investigación en España, donde probaron diferentes condiciones experimentales de alimentación en ejemplares inmaduros de “bocinegro” (*Pagrus pagrus*). Los ejemplares fueron distribuidos aleatoriamente en 4 tanques, a los cuales se les asignó los siguientes tratamientos: T1: alimentados en baja densidad (BD-A); T2: sin alimentación en baja densidad (BD-NA); T3: alimentados en alta densidad (AD-A) y T4: sin alimentación en alta densidad (AD-NA). Sacrificaron 10 ejemplares de cada tratamiento a los 14 y 21 días y se conservaron muestras de plasma para su posterior análisis de cortisol. Obteniendo los siguientes resultados en ng/ml T1: ($27,7 \pm 4,3$ a los 14 días), ($24,2 \pm 3,2$ ng/ml a los 21 días) T2: ($23,9 \pm 3,9$ a los 14 días), ($22,0 \pm 2,5$ a los 21 días); T3: ($35,1 \pm 4,7$ a los 14 días), ($54,9 \pm 2,9$ a los 21 días) y T4: ($35,4 \pm 3,7$ a los 14 días), ($38,3 \pm 3,2$ a los 21 días). Se apreció un claro aumento del cortisol por efecto del confinamiento durante el experimento, siendo más patente a los 21 días.

Monroig *et al.* (2009), en el trabajo de investigación en España establecieron juveniles de “bocinegro” (*Pagrus pagrus*) ($95,38 \pm 4,34$ g) en cuatro grupos de 10 individuos, Grupo I: alimentado en bajo confinamiento (4 kg m^3); Grupo II: alimentado en alto confinamiento (50 kg m^3); Grupo III: no alimentado en bajo confinamiento; Grupo IV: no alimentado en alto confinamiento. Tras 21 días de experimentación, se recogieron muestras de plasma para la determinación de cortisol. Los resultados obtenidos en ng/ml fueron: Grupo I: $24,2 \pm 3,2$; Grupo II: $55,0 \pm 2,9$; Grupo III: $22,0 \pm 2,5$; Grupo IV: $38,3 \pm 3,2$. Los niveles plasmáticos de cortisol muestran un aumento por efecto del

confinamiento (Grupos II y IV) con respecto a tratamientos con bajo confinamiento, además los animales alimentados y mantenidos en alto confinamiento (Grupo II) presentaron los niveles de cortisol más elevados, indicando un marcado efecto aditivo derivado de la interacción entre los dos factores.

Weber (2009), realizó una investigación en España, donde utilizó juveniles de “lenguado” (*Solea senegalensis*). En las cuales utilizó los siguientes anestésicos: 2-fenoxietanol, aceite de clavo, MS - 222 y metomidato. Se extrajo la sangre para la obtención del plasma y realizar los análisis de cortisol y glucosa. Las muestras se tomaron en los tiempos de: 5 min (control), 10 min, 20 min, 30 min y 30 min (24h). Los resultados promedios fueron: para glucosa (mg/dl) en 2-fenoxietanol: 57,43; aceite de clavo: 66,84; MS-222: 51,09 y metomidato: 44,21; Para cortisol (ng/ml) en 2-fenoxietanol: 76,6; aceite de clavo: 114,8; MS-222: 150,8 y metomidato: 13,8; estos resultados indican que la exposición prolongada al 2-fenoxietanol, aceite de clavo, MS-222 y al metomidato provocó una serie de respuestas primarias y secundarias de estrés, con una clara tendencia a la recuperación de los valores basales a las 24 horas.

Agudelo *et al.* (2012), en el trabajo de investigación evaluaron los niveles de glucosa y cortisol, generados en el momento de captura y manipulación en la especie (*Brycon siebenthalae*) “Yamú”. Contaron con un total de 24 peces, del cultivo en el municipio de Cumaral Meta, Colombia. Dividieron en grupos de 8 peces, utilizaron tres tratamientos a T1: choque térmico, T2: Anestesia MS-222 y T3: Anestesia benzocaína, la toma de muestras sanguíneas se realizara por punción de la vena caudal. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: T1: glucosa (mg/dl) = 71,17; cortisol (nmol/l) = 1409, T2: glucosa (mg/dl) = 87,00; Cortisol (nmol/l) = 1298 y T3: glucosa (mg/dl) = 104,67; cortisol (nmol/l) = 1150. En T1 y T2 la glucosa se encuentra por debajo de la media, pero se encuentran dentro del rango normal. El cortisol se encuentra por encima de la media y fuera del rango normal, resaltando que el T3 tuvo un incremento menor con respecto a T1 y T2.

López & Villarroel (2013), llevaron a cabo un estudio en España, utilizaron truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), lo dividieron en tres secciones, a cada sección se le asignó una hora de sacrificio (08 horas, 14 horas y 20 horas) y se ayunaron durante 1, 2 o 3 días dependiendo del día en el que se sacrificaran. En el otro (controles), las truchas

fueron sacrificadas a las mismas horas pero no ayunadas. Después de 1, 2 o 3 días de ayuno, capturaron 10 animales ayunados y 10 controles de cada sección de forma alternativa, lo anestesiaron con aceite de clavo para tomar muestras de sangre. Determinaron los valores de cortisol (ELISA), glucosa (GOD/PAP). Los resultados indican que el nivel de cortisol en plasma fue menor en las truchas sacrificadas a las 20 horas (172 ng/ml), en comparación con aquellos sacrificados a las 08 horas (247 ng/ml) y a las 14 horas (208 ng/ml), Sin embargo, la glucosa resultó menor en las truchas ayunadas 2 y 3 días en comparación con los controles.

Herrera *et al.* (2013), en el estudio de investigación en España usaron 28 “doradas” (*Sparus aurata*) de 416 g (media), un lote de 14 ejemplares las cuales sometieron a estrés agudo, 3 min de exposición al aire obteniendo las muestras tras media hora post-estrés. Para el estrés crónico sometieron a un cultivo a alta densidad (15 kg/m³) durante 85 días, procedieron de igual forma con un tanque control 5 kg/m³. Las muestras lo tomaron de la sangre y las heces para realizar los respectivos análisis de cortisol y glucosa. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: en el control: cortisol plasma (ng/ml): 25,07; cortisol fecal (ng/g): 6,36 y glucosa (mg/dl): 78,53; sometidos a estrés (densidad): cortisol plasma (ng/ml): 22,99; cortisol fecal (ng/g): 4,51 y glucosa (mg/dl): 79,01.

Bermejo *et al* (2015), en el estudio en España usaron 144 truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), 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). Sacrificaron los peces y tomaron las muestras sanguíneas. Los resultados en cortisol (ng/ml) fueron: NANH: 15,56; NAH: 25,37; ANH: 10,12 y AH: 23,38. Mientras que en glucosa (mg/dl) fueron: NANH: 78,79; NAH: 112,83; ANH: 71,89 y AH: 115,11. Las cuales nos indican que el cortisol fue mayor en las truchas no ayunadas, y en las sometidas al hacinamiento, debido a una mayor respuesta de estrés. 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.

2.2. Marco teórico

2.2.1 Trucha “arco iris”

a) Taxonomía

La ubicación taxonómica de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792), es la siguiente:

DOMINIO: Eukarya

REYNO: Animalia

PHYLLUM: Chordata

SUB PHYLLUM: Vertebrata

GRUPO: Gnatostomata

SUPER CLASE: Pisces

CLASE: Osteichthyes

SUB CLASE: Actinopterygii

SUPER ORDEN: Clupeomorpha

ORDEN: Salmoniformes

SUB ORDEN: Salmonoidei

FAMILIA: Salmonidae

GENERO: *Oncorhynchus*

ESPECIE: *mykiss*

NOMBRE COMUN: Trucha “arco iris”

Fuente: Adaptado por Smith, Gerald R. y Stearley Ralph F. de la Sociedad Americana de Ictiólogos y Herpetólogos a través del comité de nombres científicos de peces.

b) Descripción

Las primeras experiencias de la trucha en el Perú, se remontan del año 1927 en donde fueron traídas las primeras ovas embrionadas desde los Estados Unidos, por una familia Arequipeña. Por los años 30 algunos obreros de la entonces empresa Cerro de Pasco Cooper Corporation importaron ovas, las incubaron y sembraron los alevinos en el río Mantaro, en 1934. En Puno en el año de 1940 se construyó e instaló la Estación Pesquera de Chucuito – Puno (Mantilla, 2004).

La actividad de la Truchicultura en el departamento de Puno, se remonta al año de

1935, en el cual el Ing. Cesar A. Gilard, sugiere al entonces parlamentario por Puno Ing. Enrique Torres Belon la necesidad de poblar con truchas la cuenca hidrográfica del Lago Titicaca (Mantilla, 2004). En la actualidad, el cultivo en jaulas se ha extendido a países de Europa, Asia, África y América, no solo para aguas continentales, sino también para el medio marino. Con excepción de pocas zonas, la madera y el bambú han sido sustituidas por materiales nuevos, como mallas de nylon, plástico, polietileno y acero, que aunque resultan mucho más costosos tienen mayor duración y permiten un mejor flujo del agua (FONDEPES, 2007).

c) Características generales

Esta especie se caracteriza por tener el cuerpo cubierto con finas escamas y de forma fusiforme, ligeramente aplanada lateralmente. Posee una banda lateral rosada iridiscente que se hace más vistosa en la época de reproducción. La denominación de trucha arco iris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades, con predominio de una franja rojiza sobre la línea lateral en ambos lados del cuerpo. Se distingue de otras especies por presentar una aleta adiposa en la parte posterior del torso (FONDEPES, 2007).

La trucha “arco iris” es un pez carnívoro por excelencia, de tendencia insectívora, cuando está en su ambiente natural lagos, lagunas y ríos es migratorio, recorre grandes distancias en busca de animales vivos, tales como los insectos de agua o tierra, crustáceos y moluscos de agua dulce y aun peces de tallas menores especialmente nativas a las cuales las depreda, es pues una especie voraz (Godoy, 2002). La alimentación de la trucha varía con el tamaño del pez, siendo en estadios de juveniles zooplanctofagos, tienen preferencia por anhipodos, anélidos y larvas de chironomidos, siendo adultos son predadores de especies nativas, principalmente del “ispi” (IMARPE, 2011).

La trucha “arco iris” como todo los peces, no tiene capacidad propia para regular su temperatura corporal, pues esta depende totalmente del medio acuático en que viva. La trucha en condiciones naturales es un pez que puede vivir en aguas comprendidas entre 0° y 25°. Sin embargo, tenemos que decir que los límites entre los cuales su crecimiento y desarrollo son correctos, corresponden a 9° C como límite inferior y a

17°C como límite superior. La temperatura más adecuada para la trucha “arco iris”, en la que sus funciones fisiológicas se realizan de forma óptima, es de 15°C (Blanco, 1984). En cuanto al oxígeno la trucha es exigente, deberá encontrarse del rango adecuado, que es entre 7 a 9 ppm. Mientras que en el pH la trucha vive satisfactoriamente en un pH de 7 a 9 (FONDEPES, 2007).

d) Sistema Circulatorio en peces

El sistema circulatorio en los peces es sencillo, el corazón que se encuentra en posición ventral, impulsa la sangre desde las branquias, donde se oxigena, hacia los tejidos. Tiene una sola aurícula y un ventrículo (Campos *et al.*, 2002). La aurícula que recibe sangre del cuerpo y la bombea hacia una cámara muscular (ventrículo). El ventrículo bombea sangre hacia las branquias donde se intercambian los gases, la sangre que sale de las branquias se colecta en una gran arteria dorsal, la aorta que la distribuye hacia arterias menores llevándola a todos los órganos y tejidos del cuerpo. En los tejidos la sangre fluye a través de lecho capilar, se recolecta en vénulas y finalmente vuelve al atrio del corazón (Sadava *et al.*, 2008)

Presenta el sistema circulatorio cerrado, constituido por un corazón con cuatro cámaras organizadas en continuidad y un sistema vascular (arterial y venoso), con particularidades adaptativas en la circulación menor (hematosis u oxigenación de la sangre) y mayor (mantener constancia del medio interno). Son animales con hematíes nucleados (Alvarez *et al.*, 2009).

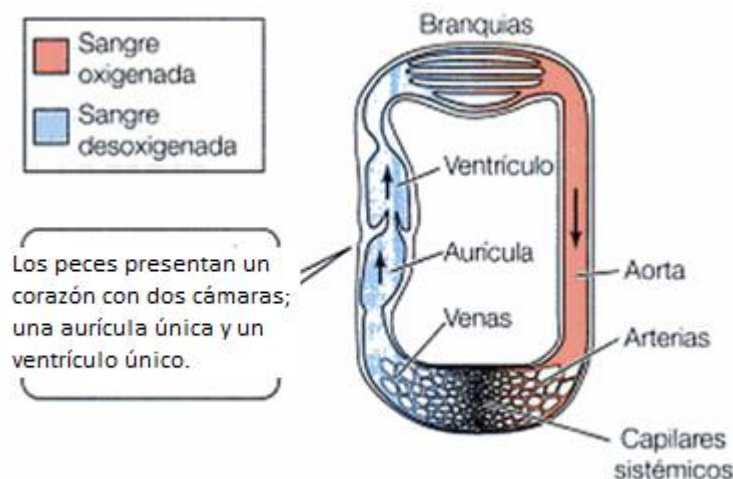


Figura 01. Sistema circulatorio en peces.

Tomado de (Sadava *et al.*, 2008).

e) Componentes de la sangre en peces

Los componentes celulares de la sangre son similares a la de los mamíferos, a excepción de los glóbulos rojos, que presentan núcleo y mantienen un metabolismo celular productor de trifosfato de adenosina (ATP), a través de la fosforilación oxidativa. El volumen sanguíneo en los teleósteos es pequeño en comparación con el de los restantes vertebrados y representa aproximadamente el 5% del peso corporal (Alvarez *et al.*, 2009).

f) Cultivo en jaulas flotantes

Una jaula flotante es una estructura compuesta por estructuras rígidas, sobre la que se apoya un sistema de flotación, que a su vez sostiene una bolsa o vivero, confeccionado de redes y que tiene como objetivo confinar a una población de peces que se cría en un ambiente controlado y que cae hacia el fondo cerrando por los lados. Todo el sistema se encuentra anclado al fondo con templadores y lastres. En algunos casos lleva un “techo” para protección contra predadores, así como también tratar de evitar la fuga por parte de los peces en cultivo (FONDEPES, 2007).

Sin embargo también existe peligro de fallos o daños si las jaulas no se fijan adecuadamente en una posición apropiada. El gran inconveniente de este sistema es cuando se tienen una producción sostenida de muchos años se tiende a la eutrofización, es decir se induce a la muerte lenta del cuerpo de agua a causa de la

contaminación de los desechos metabólicos y desperdicios de alimentos que llegan al fondo del cuerpo de agua. Por ello es necesario tener cuidado en este aspecto y darle siempre un descanso prudencial para una buena recuperación del lago o laguna (Godoy, 2002).

g) Alimentación en jaulas flotantes

Se usa un alimento balanceado, que es elaborado con la combinación de distintos ingredientes o insumos de origen animal como harina de pescado, harina de huesos, aceite de pescado entre otros y de origen vegetal como harina de maíz, harina de soya, sub producto de trigo, entre otros. Este alimento está elaborado con una formulación determinada en función a los requerimientos nutritivos de la trucha (CIRNMA, 2004). El alimento es hoy por hoy el factor económico de mayor incidencia en los costes de producción de las empresas, no solo por el costo que representa el propio pienso sino también por el generado por los sistemas empleados en su distribución. Además, la optimización de las tasas de crecimiento, la reducción del impacto medioambiental de la acuicultura y el bienestar animal son en buena medida dependientes del tipo de alimento empleado y de cómo éste se suministre a los peces (Sanz, 2009).

El beneficio económico de la acuicultura intensiva y semi-intensiva se encuentra íntimamente relacionado con el suministro y el costo del alimento proteico, debido a que los cultivos intensivos de la trucha “arco iris” requieren alimentos con niveles elevados de proteína y el costo de la fuente proteica es el que determina las unidades de producción (Sánchez, 2004). Es esencial mantener buenos registros para mantener si los peces están siendo bien alimentados o no. Esto implica tomar datos de pesos de un grupo de peces para calcular la tasa de crecimiento desde la última pesada (Brown, 2000).

2.2.2 Estrés en peces

a) Estrés

El estrés constituye una manifestación homeostática del organismo, se trata de una respuesta universal en los seres vivos y presenta una importancia biológica considerable, pues afecta tanto al individuo como a la población y al ecosistema

(Castello, 1993). Es una respuesta fisiológica normal del organismo para hacer frente a una demanda del entorno. Esta respuesta es imprescindible para la vida y extremadamente eficaz para la supervivencia y la reproducción (Torres & Bailles, 2015). Se sabe que las condiciones de estrés pueden tener una gran influencia en la salud de los peces, de manera que suponen un gran riesgo en la aparición y el desarrollo de un elevado número de enfermedades infecciosas. Los peces que se mantienen en cultivo intensivo están sujetos a varios factores estresantes, como la manipulación, el transporte, el confinamiento, los bajos niveles de oxígeno en el agua, los tratamientos, etc., los cuales provocan cambios fisiológicos en los individuos que desembocan en la inducción de una inmunosupresión y un incremento de la susceptibilidad a la infección (Arranz, 2008).

Tabla 01. Principales causas de estrés en los peces de cultivo.

Ambiente	Alimentación	Manejo
- Cambios de temperatura, salinidad y oxígeno.	- Tamaño de la ración. - Calidad proteica y lipídica.	- Captura. - Anestesia.
- Productos nitrogenados.	- Nivel y equilibrio de minerales.	- Clasificación.
- Niveles extremos de pH.	- Vitaminas y factores anti nutricionales.	- Carga.
- Presencia de contaminantes.	- Sistema de administración	- Administración de tratamientos.
- Velocidad del agua.		

Fuente: (Mancini, 2002).

b) Respuesta al estrés

La respuesta al estrés se incluye dentro de lo que se considera el “síndrome general de adaptación”, definido inicialmente para la fisiología humana, puede considerarse como una ampliación de la “respuesta de emergencia” y atribuida exclusivamente al sistema nervioso simpático. El estímulo que provoca el estrés es todo cambio del ambiente que tenga suficiente entidad para producir una alteración del funcionalismo del organismo; por ello se denominan agentes o estímulos estresantes. Así pues estos agentes pueden ser naturales o pueden ser originados por el hombre, con lo cual se amplía enormemente su diversificación y posibilidades de generarlos en aquellos medios, como el cultivo de peces donde la incidencia de la actividad humana puede ser especialmente importante (Castello, 1993).

La definición aceptada de la naturaleza y la finalidad de la respuesta al estrés en los animales y los seres humanos es la que caracteriza la respuesta como una serie de eventos neuroendocrinos que se activa por una amenaza percibida y cuya finalidad es proteger o restablecer la homeostasis, dentro de una población existe una serie de estrategias de afrontamiento individuales que abarcan la variación en el neuroendocrino, fisiológicas y de comportamiento de la exposición. Estos colectivamente pueden ser considerados bajo el término “alostasis” mantenimiento activo de la estabilidad a través del cambio (Branson, 2008). La respuesta general al estrés en los peces está caracterizada por la rápida liberación de hormonas del estrés, como el cortisol y las catecolaminas, y la posterior movilización de las reservas de energía, como la glucosa, en un intento de restablecer la homeostasis (Arranz, 2008).

2.2.3 Indicadores de Estrés

Llamamos indicadores o respuestas de estrés a los parámetros que nos permiten determinar que este existe, habitualmente distinguimos los indicadores neuroendocrinos. Ante estímulos que parezcan amenazantes, queda dicho que el organismo reacciona activando diferentes sistemas neuroendocrinos para prepararse a luchar o huir de la amenaza. Esta reacción es en principio natural y simplemente adaptativo, pero puede tener consecuencias tremendamente negativas para la salud si se presenta con demasiada frecuencia y dura demasiado (Acosta, 2008).

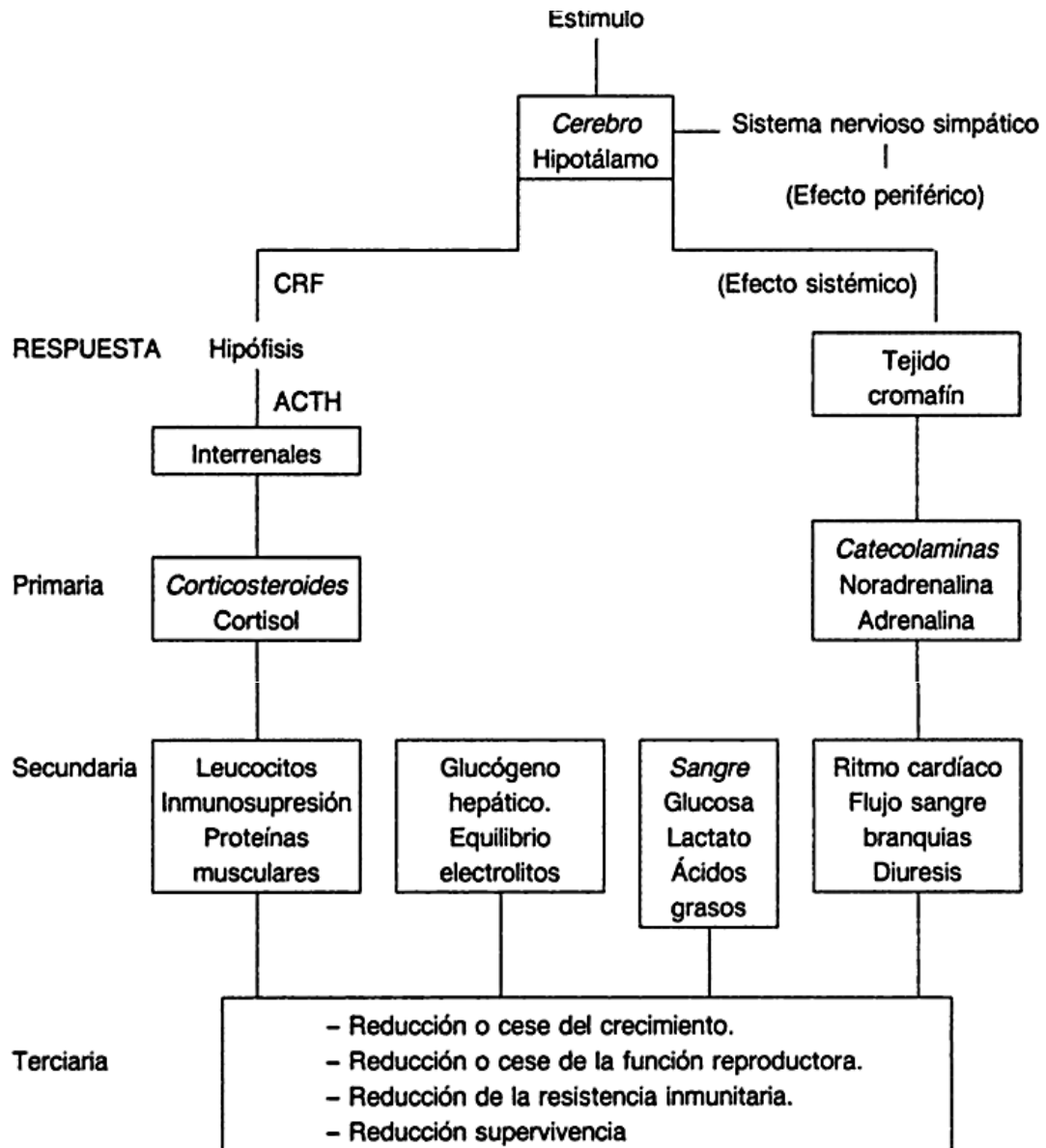


Figura 02. Esquema de la acción de un estímulo estresante en los vertebrados (peces) y los niveles de respuesta primaria (hormonas del estrés), secundaria y terciaria. Tomado de (Castello, 1993).

a) Indicadores primarios

Las respuestas primarias se dan después de la percepción de un estímulo estresante por el sistema nervioso central, las hormonas del estrés, el cortisol y la epinefrina son sintetizadas y liberados en el torrente sanguíneo (Devashish, 2016). Así mismo en la que se producen una serie de cambios endocrinos, como consecuencia de la actuación de los centros cerebrales, que culminara en la liberación masiva de catecolaminas y corticoides, hormonas asociadas a la respuesta de estrés (Wedemeyer, 1996).

El Cortisol

El cortisol es la principal hormona de corticosteroides (> 80%) que circula en los teleósteos, con corticosterona, desoxicorticosterona y aldosterona presentes en cantidades menores. El cortisol se secreta principalmente en respuesta a ACTH, a diferencia de los mamíferos, el cortisol realiza funciones tanto de glucocorticoides y mineralocorticoides en teleósteos. Los tejidos diana primarios para el cortisol son las branquias, el hígado y el epitelio intestinal. Por lo tanto, las funciones principales de cortisol implican el metabolismo energético, la regulación de iones y la respuesta al estrés (Ostrander, 2000).

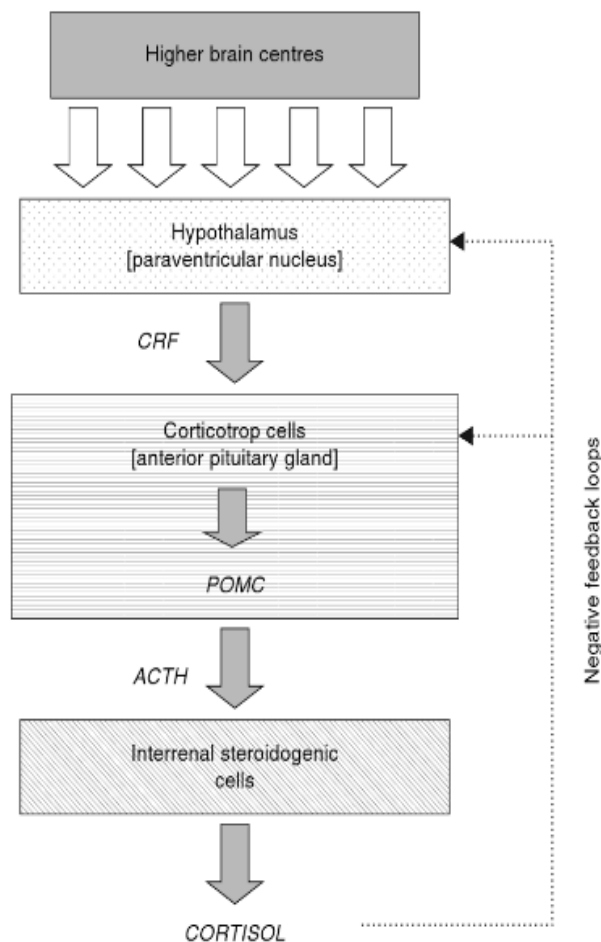


Figura 03. Diagrama esquemático del tejido interrenal glándula del hipotálamo pituitaria (HPI).

Tomado de (Leatherland & Woo, 2010).

Como tal, el cortisol es considerado el de glucocorticoides y mineralocorticoides primarios en teleósteos. Sin embargo, en la trucha “arco iris” 11-desoxicorticosterona (DOC) es un potente agonista del receptor de mineralocorticoides, y su concentración aumenta en plasma 10 a 50 veces hacia el final del ciclo reproductivo masculino, alcanzando concentraciones máximas que

son comparables a los niveles de cortisol en plasma basales (Bernier *et al.*, 2009). Por otro lado activa una serie de enzimas importantes que controlan el metabolismo intermediario en el hígado. Las acciones hiperglucémicas de cortisol se refieren a la estimulación de la glicólisis y la gluconeogénesis a partir de proteínas y lípidos, aunque los mecanismos implicados no son claros. Los niveles de cortisol también se elevan de forma transitoria durante la migración o transferencia tanto de agua dulce al agua de mar y agua de mar en agua dulce (Ostrander, 2000).

El cortisol y la respuesta al estrés

Una elevación de los niveles de cortisol en la sangre es el indicador más común de la respuesta al estrés, y el cortisol es probablemente la hormona más frecuentemente medido en peces. El cortisol se mide de forma rutinaria en el intervalo de 3-8 ng/ml., que descansan las concentraciones plasmáticas, varían desde tan bajo como 5 ng/ml, para salmónidos entre 10 y 50 ng/ml, en otros teleósteos. La variación en los niveles de reposo de cortisol en plasma son probablemente debido a las diferencias en la especificidad del ensayo y los procedimientos, la cría de peces y/o procedimiento de captura. La respuesta al estrés es rápida, con los niveles circulantes elevados de cortisol que aparecen dentro de los 10 minutos. Existe una variación considerable en los niveles de cortisol, que parece estar relacionado con el ámbito metabólico. Por lo tanto, los salmónidos muestran las mayores elevaciones en los niveles de cortisol en plasma, alcanzando 400 - 600 ng/ml, mientras que las especies menos activos generalmente tienen picos de alrededor de 50 - 200 ng/ml (Ostrander, 2000).

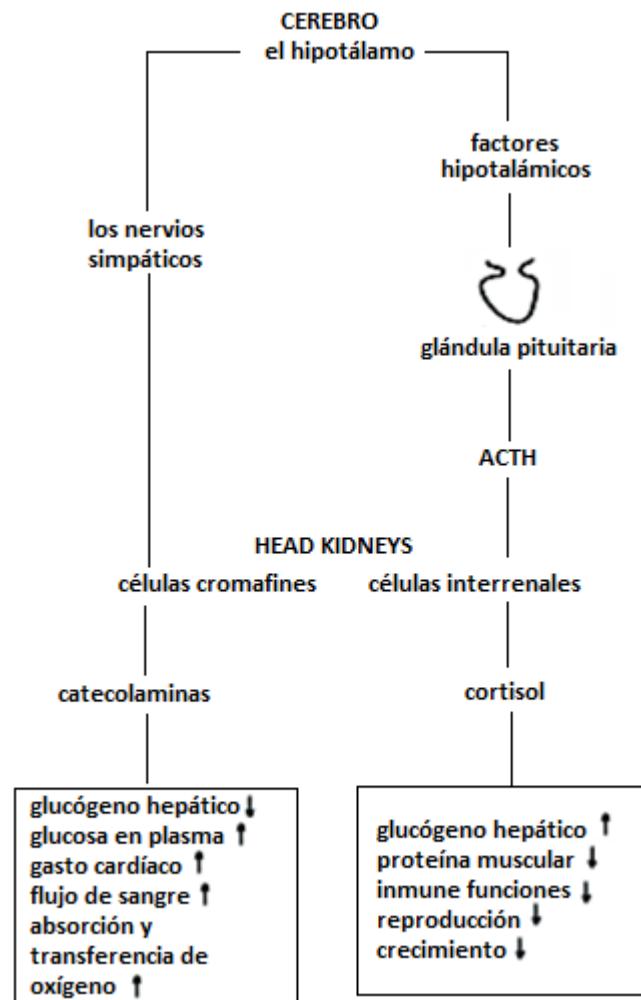


Figura 04. Representación esquemática de la respuesta al estrés en los peces.
Tomado de (Ostrander, 2000).

b) Indicadores secundarios

Las respuestas secundarias al estrés se producen principalmente en la química de la sangre, también caracterizan la severidad del estrés en los peces, la glucosa en sangre, cloro y ácido láctico se utilizan con frecuencia para la evaluación de la respuesta al estrés. La hiperglucemia de glucosa en sangre e hipocloremia para el cloruro de sangre es el efecto fisiológico de preocupación durante la respuesta al estrés (Devashish, 2016). En donde se han dado los cambios producidos como consecuencia de la liberación hormonal. Estos cambios ocurren a nivel fisiológico, metabólico y tisular, incluyendo entre otros efectos un aumento del ritmo cardíaco, una movilización de los substratos energéticos y alteraciones del equilibrio hidromineral (Wedemeyer, 1996).

El azúcar en la sangre se eleva inmediatamente después de la exposición a un

estímulo alarmante. Evidentemente, existe una relación directa entre el estrés y la concentración de glucosa en el suero. Independientemente del tipo de estímulos estresantes se presenta la hiperglucemia, los valores de la glucosa sérica se elevan a máximo después de 24 horas de exposición a cualquier tipo de factor de estrés. Sin embargo, el aumento de la concentración de glucosa se hace evidente desde el principio de la exposición de los peces a la tensión (Pandey, 2008). Los aumentos rápidos (minutos) en la glucosa plasmática están mediadas probablemente se dan por las catecolaminas en lugar de cortisol, sin embargo el cortisol es esencial para el mantenimiento a largo plazo de la hiperglucemia después que los efectos de catecolaminas han disminuido (Portz, 2007).

c) **Indicadores terciarios**

Las respuestas terciarias se manifiestan en la reducción del crecimiento, cambios en la tasa metabólica, resistencia a enfermedades, salud reproductiva y supervivencia. Estos pueden disminuir el reclutamiento a las etapas sucesivas de la vida, y como resultado se produce la disminución de la población (Devashish, 2016). Así mismo se produce como consecuencia de las dos respuestas anteriores, dando lugar a una disminución en el crecimiento y la resistencia a enfermedades, así como alteraciones en la capacidad reproductora. También se verá afectada la capacidad para hacer frente a otras situaciones estresantes adicionales (Wedemeyer, 1996).

2.2.4 **Anestésicos**

a) **Mecanismos de Acción**

El estímulo nervioso se propaga a través de las fibras nerviosas porque se produce una alteración en la concentración de los iones a ambos lados de la membrana de la fibra. El exterior es electropositivo debido a que la concentración de sodio es elevada fuera de la membrana, mientras que en el interior de la fibra existe gran cantidad de iones de potasio. El estímulo nervioso facilita la penetración de sodio y la salida de potasio. Esto produce un cambio en la polaridad de la membrana y el exterior de la misma se vuelve negativo con respecto al interior. Los anestésicos bloquean la entrada de sodio que se produce cuando llega el estímulo, con lo cual éste no puede propagarse. Los anestésicos se comportan como estabilizadores de la membrana disminuyendo la velocidad de conducción hasta producir un bloqueo

complejo de la misma (De Ahumada *et al.*, 2002)

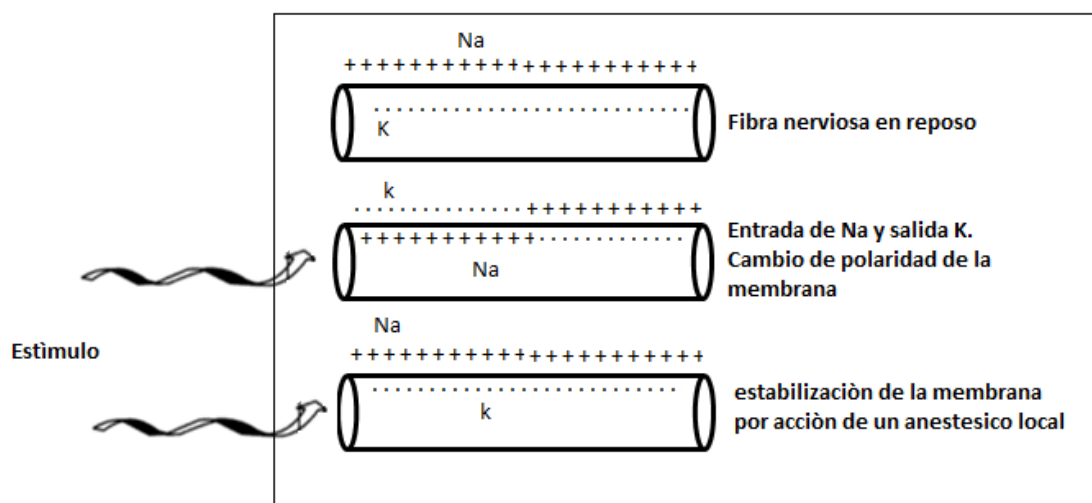


Figura 05. Acción de los anestésicos sobre el potencial de membrana.
Tomado de (De Ahumada *et al.*, 2002).

b) Anestesia general

La definición de anestesia general ha sufrido pocas modificaciones desde su descubrimiento en 1845, con las experiencias de Wells con óxido nitroso y de Morton en 1846 con éter. Clásicamente, se la ha definido como una depresión descendente y controlada de las funciones del SNC inducidas farmacológicamente. Otra forma más práctica de definir la anestesia general es en función de los objetivos que persigue, como un estado reversible de depresión del SNC, caracterizado por pérdida de la conciencia (hipnosis), de la sensibilidad (analgesia), de la actividad refleja (protección neurovegetativa) y de la motilidad (relajación muscular). Esta situación se consigue mediante los anestésicos generales, los cuales actúan sobre diferentes órganos y aparatos y más específicamente deprimiendo el SNC (Lorenzo *et al.*, 2008).

c) Anestesia local

Se denominan anestésicos locales las sustancias químicas que bloquean de manera específica, temporal y reversible la conducta nerviosa en cualquier parte del sistema nervioso donde se apliquen sin alterar las sensaciones en otras partes del cuerpo (Baños & March, 1994). Por otro lado también se ha definido como una pérdida de sensibilidad en un área circunscrita del cuerpo provocada por una depresión de la

excitación en las terminaciones nerviosas o por una inhibición del proceso de conducción en los nervios periféricos. Un rasgo clave de la anestesia local es que consigue dicha pérdida de sensibilidad sin inducir pérdida de consciencia (Malamed, 2013).

- **Lidocaína:** es un agente anestésico local con propiedades antirritmicas, tiene una duración de acción relativamente corta. La lidocaína tiene un índice terapéutico estrecho y los efectos tóxicos están generalmente relacionados con la concentración o con la dosis (Winter, 1994). En el tejido sano aceleran la velocidad de conducción y acortan la duración del potencial de acción a nivel de las fibras miocárdicas ventriculares, mientras que en el tejido isquémico producen cierto bloqueo de la conducción, mecanismos que explicarían la ausencia de prolongación del intervalo QT y el impedimento de los fenómenos de reentrada, causante de la mayoría de las arritmias ventriculares potencialmente malignas (Almeida, 2004)

- **Benzocaína:** Anestésico local derivado del Ácido 4-aminobenzoico, utilizado en muchos productos farmacéuticos, para ser eficaz, el producto debe contener al menos 5% benzocaína (Delfino, 2013).

- **Eugenol:** Es un fenol o un compuesto hidroxiaromático (Ocampo *et al.*, 2008). Tiene efectos de bloqueo neuromuscular, los mecanismos de transmisión neuromuscular son similares para todos los vertebrados. Los derivados del eugenol se deben utilizar cautelosamente como anestésicos generales en cualquier especie hasta que se pueda determinar que la exposición da lugar a la sedación o a la inconsciencia (Fish *et al.*, 2008).

2.3 Marco conceptual

Alostatics: Define una situación en la que el organismo, en lugar de mantener la constancia del medio interno, fluctúa para cumplir la demanda impuesta por factores externos de emergencia, a diferencia de los sistemas homeostáticos, la alostatics está muy influida por la historia personal de cada individuo. Comprende tanto mecanismos para desencadenar la respuesta de defensa con activación de una compleja vía adaptativa como para detener la respuesta cuando la amenaza ha desaparecido (Cardinali, 2007).

Anestesia: El termino anestesia procede del griego “*anaisthaesia*” y significa insensibilidad. Hace referencia a la pérdida total de las sensaciones corporales en un área orgánica o en su totalidad, inducida por un fármaco o una combinación de ellos que deprimen la actividad del tejido nervioso, ya sea de forma local, regional o general (Castiñeiras, 2007).

Catecolaminas: Son las aminas derivadas del aminoácido tirosina, como ejemplos incluyen la epinefrina (adrenalina), norepinefrina (noradrenalina), y dopamina que actúan como hormonas por neurotransmisores (Schwab, 2011).

Cortisol: Es una hormona importante en el cuerpo, secretada por las glándulas suprarrenales e involucrada en las siguientes funciones: metabolismo de la glucosa, regulación de la respuesta inflamatoria de la presión sanguínea, liberación de insulina para el mantenimiento del azúcar en la sangre y la función inmune (Schwab, 2011).

Eje Hipotálamo – hipófisis – suprarrenales: Es uno de los componentes del sistema de respuesta al estrés, en el que las glándulas suprarrenales desempeñan un papel fundamental. La respuesta suprarrenal al estrés está regulada por dos tipos de mecanismos: neurales y humorales (endocrinos). La regulación neural depende principalmente del sistema nervioso simpático que estimula la liberación de catecolaminas por parte de las células de la medula suprarrenal. La regulación humoral depende fundamentalmente de la ACTH hipofisaria que estimula la síntesis y liberación de glucocorticoides por parte de las células de la corteza suprarrenal (Arce *et al.*, 2006).

Estrés: Respuesta fisiológica normal del organismo para hacer frente a una demanda del entorno (Torres & Bailles, 2015).

Glucosa: Un monosacárido de seis carbonos utilizado por las células como fuente de energía y metabólico intermedio (Schwab, 2011).

Metabolismo: Se denomina metabolismo al conjunto de reacciones químicas catalizadas enzimáticamente que de forma regulada y coordinada tienen lugar en las células vivas. Se divide en catabolismo, que es la fase degradativa y en anabolismo que es la fase constructiva o biosintética (Garrido, 2001).

Quimioluminiscencia: El proceso por el que los compuestos químicos reaccionan para producir luz se denomina quimioluminiscencia, si se conocen las condiciones para una reacción concreta y pueden controlarse por medio de un instrumento analítico, puede usarse como método sensible y selectivo para la determinación de la concentración de los componentes de una reacción (Baird, 2001).

Suero sanguíneo: Es la porción líquida de color amarillo y acelular de la sangre, excluidos el fibrinógeno y las plaquetas (Kent, 1998).

Tejidos diana: Es el tejido seleccionado para controlar el total de residuos de un medicamento en el animal de destino. Este tejido suele ser el que presenta la velocidad más baja de depleción de los residuos (Borras & Franquet, 2007).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ámbito de estudio

Las muestras de sangre provienen de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), estabuladas en jaulas flotantes en la laguna de Arapa, Comunidad de Iscaypi del distrito de Arapa, ubicada a 3 829 msnm, con coordenadas UTM 19 L 395892 8321196 (tomado de Google Earth), de la Provincia de Azángaro. La obtención del suero sanguíneo y los análisis respectivos se realizó en el laboratorio de patología clínica y banco de sangre de la Clínica Americana, del distrito de Juliaca, ubicada a 3 824 msnm, con coordenadas UTM 8287067 379119 19L (tomado de Google Earth), de la provincia de San Román.



Figura 06. Jaula flotante, laguna de Arapa, distrito de Arapa, Provincia de Azángaro, Octubre 2016.

3.2 Tipo de estudio

El estudio es de tipo experimental, debido a que se evaluó las diferencias que existen de los tratamientos usados con el grupo control, las muestras fueron tomadas aleatoriamente.

3.3 Población y tamaño de muestra

Se utilizó truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), de jaulas flotantes cuadradas de 75 m³ de capacidad, con una población de 1500 individuos aproximadamente, con pesos promedios de 218,1 g y talla promedios de 25,3 cm.

Tabla 02. Tamaño de muestra de la investigación

Cortisol		Glucosa	
Tratamientos	Repeticiones	Tratamientos	Repeticiones
T1:	4	T1:	4
T2:	4	T2:	4
T3:	4	T3:	4
T4:	4	T4:	4
Total	16	Total	16

T1: (control).

T2: Truchas anestesiadas con Lidocaína.

T3: Truchas anestesiadas con Benzocaína.

T4: Truchas anestesiadas con Eugenol.

3.4 Materiales

Se utilizaron materiales de escritorio, de campo, de laboratorio y equipos de laboratorio.

3.5 Metodología

3.5.1 Determinación de los niveles de cortisol como indicador primario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol

3.5.1.1 Proceso de obtención de las muestras de sangre

a) Preparación de los anestésicos

Los anestésicos usados fueron: lidocaína, benzocaína y eugenol, se prepararon de la siguiente manera:

- Lidocaína: Se usó la solución “LUSA” lidocaína 2% con epinefrina 1: 200 000, presentación de 20 ml. Se preparó en un balde que contenía 5 L de agua y se añadió 1 ml del anestésico, luego se procedió con la mezcla de la solución para su posterior aplicación en las especies usadas durante el experimento.

-Benzocaína: Se usó el gel Benzotop 200 mg/g Benzocaina de 12 g, como la presentación era en gel, se mezcló previamente con alcohol, se usó 6 g del anestésico por 4 ml de alcohol. Cuando ya se obtuvo la mezcla se preparó en un

balde que contenía 5 L de agua y se añadió 4 ml de la solución preparada. Se mezcló para el posterior uso.

- **Eugenol:** Se usó la solución “MOYCO” EUGENOL U.S.P (liquido) de 15 ml. Se preparó en un balde de agua que contenía 5 L de agua y se añadió 1 ml del anestésico, luego se mezcló y se usó en las muestras de trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

b) Obtención de las especies

Los individuos de trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se obtuvieron de jaulas flotantes cuadradas, se les capturó individualmente de forma aleatoria para lo cual se utilizó un chinguillo.

c) Anestesiado de las especies

Una vez capturado la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se procedió con el anestesiado, que consistió en introducir las especies en el balde con el anestésico preparado, se calculó el tiempo de inducción y recuperación (anexo A). Este procedimiento se realizó de forma individual en cada uno de los tratamientos: T2, T3 y T4. En el caso del T1 la especie no fue sometida a ningún anestésico.

d) Biometría de las especies

Una vez que la trucha quedo totalmente anestesiada, se procedió a realizar la biometría, es decir se calculó el peso y talla, (anexo B). Este procedimiento se realizó de forma individual con todas las especies y con cada uno de los tratamientos usados en el experimento.

e) Extracción de la sangre

Se utilizaron jeringas estériles de 3 ml con agujas 23 G x 1 ½, se procedió con la extracción de la sangre mediante punción en la región caudal, hasta llegar a tocar la espina dorsal, después se realizó un pequeño retroceso hasta llegar a la vena caudal, se hizo una ligera succión con el embolo de la jeringa hasta recolectar 3 ml de sangre. Posteriormente se procedió a trasladar la sangre a viales de 4 ml (debidamente rotuladas) y se almaceno en un cooler que contenía hielo embolsado, y se trasladó al laboratorio para la obtención del suero sanguíneo.

f) Obtención del suero sanguíneo

La obtención del suero se realizó una vez que la sangre estuvo coagulada, para lo cual se tuvo que esperar aproximadamente 1 hora después de la extracción de la sangre. El proceso se inició colocando los viales que contenían la sangre (debidamente rotuladas) a la centrifuga, la centrifugación se realizó a 3000 rpm durante 10 minutos. Una vez terminado el proceso se trasladó el suero obtenido a viales de 1 ml (debidamente rotuladas), para lo cual se utilizó una micropipeta. Posteriormente se almacenaron las muestras de suero en un ultracongelador hasta el momento de realizar los análisis de cortisol y glucosa respectivamente.

g) Análisis de cortisol**- Procedimiento**

El análisis de los niveles de cortisol del suero sanguíneo de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se realizó con un Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360, el inmunoensayo en que se basa es la Quimioluminiscencia, el procedimiento fue rápido, debido a que el equipo es de alta tecnología, se colocaron los viales que contenían el suero en 0.5 ml (muestras) al carrusel del analizador, luego se presionó el botón START, se esperó aproximadamente 20 minutos, y se obtuvieron los resultados en $\mu\text{g/dl}$, (Anexo C) sin embargo para este trabajo consideramos los resultados en ng/ml , debido a que la mayoría de los autores que se tomaron de referencia trabajaron con estas unidades.

- Quimioluminiscencia

Se basa en la determinación de la luz emitida como resultado de una reacción (Silva & García, 2004). El proceso por el que los compuestos químicos reaccionan para producir luz se denomina quimioluminiscencia (Baird, 2001). Por otro lado la quimioluminiscencia tiene lugar cuando una molécula emite un fotón como resultado de una reacción química en la cual uno de los productos intermedios o finales es llevado a un estado de singlete excitado y retorna a su estado fundamental emitiendo luz. El fenómeno de la quimioluminiscencia se produce adiabáticamente, es decir sin pérdida ni ganancia de energía en forma de calor. Se podría definir como la producción química de luz. La mayoría de las reacciones quimioluminiscentes es de tipo oxidativo, pues se necesita una gran cantidad de

energía para producir un fotón y utiliza oxígeno o peróxido de hidrógeno y un sustrato oxidable (Fuentes, *et al.*, 1998).

- **Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360** (TOSOH, 2010).

De diseño compacto y moderno, con dimensiones de 40 x 40 x 50 cm.,



Figura 07. Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360.
Tomado de (TOSOH, 2010).

3.5.2 Determinación de los niveles de glucosa como indicador secundario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol

3.5.1.1 Proceso de obtención de las muestras de sangre

Todos los procedimientos: preparación de los anestésicos, obtención, anestesiado, biometría de las especies, extracción de la sangre y la obtención del suero sanguíneo fueron los mismos que se mencionó en el objetivo anterior.

a) Análisis de glucosa

- Procedimiento

El análisis de los niveles de glucosa en el suero sanguíneo de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se realizó con un analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200. El principio de medición es por: fotometría de absorbancia, turbidimetría, tecnología de Electrodo de Ion Selectivo. El procedimiento fue rápido, se colocaron las muestras de suero (0.5 ml) al analizador, se esperó aproximadamente 10 minutos hasta obtener los resultados que fueron en mg/dl.

- **Principios de medición**

- **Fotometría de absorbancia**

La fotometría por absorción es un método de análisis de composición química basado en la medición de la atenuación de la radiación electromagnética como consecuencia de la absorción que se produce en su interacción con la solución. Por decirlo más claramente, se ilumina una solución con determinado tipo espectral de luz (blanca de 5500 K°, ultravioleta, infrarroja) y se determina su composición a partir del índice de absorción de la luz original. Debido a muchos aspectos favorables, el interés por esta técnica se halla muy extendido. Esta técnica ha sido utilizada para el análisis de muestras de aguas, extractos de suelos, materias vegetales, abonos, suero sanguíneo, orina, tejidos humanos, muestras de aceites minerales, de cenizas, de minerales, de aleaciones férricas y no férricas, y de muchos otros productos de los campos, de la agricultura, de la bioquímica, de la ciencia de los combustibles, de la geoquímica y de la metalurgia (Pickering, 1980).

- **Turbidimetría**

Consiste en el análisis automatizado de la dispersión de la luz al chocar contra complejos antígeno-anticuerpo formados al incubar suero del paciente con el reactivo. A mayor concentración de complejos (mayor “turbidez” de la suspensión), mayor la dispersión. En las determinaciones turbidimétricas se mide la cantidad de luz que atraviesa la suspensión sin ser dispersada. El detector se sitúa de manera que forme un ángulo de 0° con respecto a la dirección del rayo incidente (López *et al*, 2012).

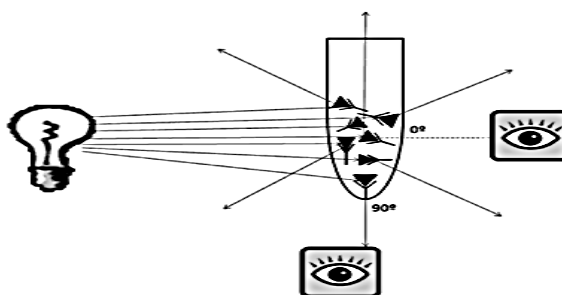


Figura 08. Proceso esquemático del fundamento de los métodos turbidimetría (ángulo 0°) y nefelometría (ángulo 90°). Tomado de (López *et al*, 2012).

- Tecnología de Electrodo de Ion Selectivo

Este sistema cubre el 70% de los ensayos que se desarrollan en el laboratorio de un hospital, sirve para medir Na, K, Cl y CO₂ total, glucosa, urea y creatinina. Los electrodos selectivos funcionan cuando los iones del anillo están en equilibrio con los centros activos del intercambiador iónico que hay en la superficie exterior de la membrana selectiva de iones. La difusión de los iones del analito hacia fuera de la membrana crea un desajuste de cargas, es decir una diferencia de potencial eléctrico a través de la interfase entre la membrana y la disolución del analito. Los cambios de concentración del ion analito en la disolución modifican la diferencia de potencial a través del límite exterior de la membrana selectiva de iones. Usando una curva de calibrado se puede relacionar la diferencia de potencial con la concentración del analito (Harris, 2007).

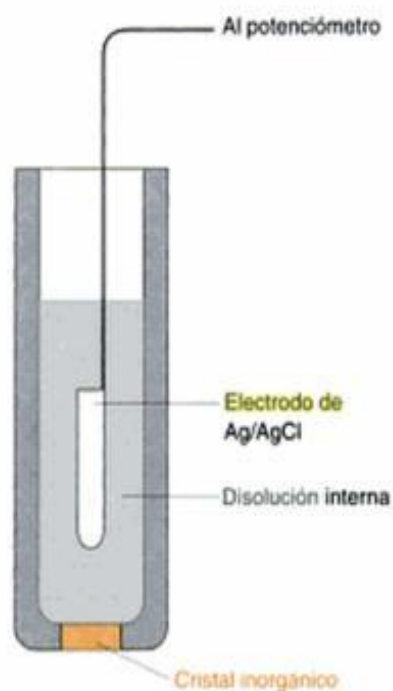


Figura 09. Diagrama esquemático de un electrodo selectivo de iones que se utiliza un cristal de sal inorgánica como membrana selectiva.
Tomado de (Harris, 2007).

- **Analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200 (Mindray, 2010)**



Figura 10. Analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200.
Tomado de (Mindray, 2010).

3.6 Diseño experimental y estadístico

Se utilizó el software estadístico InfoStat, versión libre para realizar el análisis de varianza. El nivel de significancia fue de 0.05 y para la prueba de contraste se utilizó la prueba de Tukey, para probar todas las diferencias entre medias de los tratamientos, este diseño se utilizó para los dos objetivos específicos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Niveles de cortisol como indicador primario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.Tabla 03. Niveles de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

Cortisol (ng/ml)					
Trat.	T1:	T2:	T3:	T4:	
Rep	(Control)	(lidocaína)	(benzocaína)	(eugenol)	
1	57,1	49,1	36,4	21,9	
2	81,5	17,6	45,9	25,2	
3	117,3	45,8	83,2	28,4	
4	87,7	52,9	40,8	50,8	
Promedio	85,9	41,4	51,6	31,6	
D.E	21,4	13,9	18,6	11,3	
C.V (%)	24,9	33,6	36,1	35,8	

En la Tabla 03 los niveles de cortisol obtenidos en el suero de la truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), con los tratamientos y las repeticiones realizadas respectivamente, los tratamientos T2, T3 y T4 presentan como promedios niveles de cortisol menores que los de T1. Así mismo los valores del coeficiente de variación nos indican, en el T1 es de 24,9%, es decir que la media o promedio es representativo, mientras que en los T2, T3 y T4 son mayores al 30%, es decir que la media o promedio es poco representativo, sin embargo es aceptable, ya que no superan del 40%.

Es necesario conocer los valores normales del cortisol en los peces sin ser sometidos a estrés agudo, en primer lugar Bermejo *et al.*, (2015) demostraron que las truchas “arco iris” que no fueron sometidos a estrés presentaron los niveles plasmáticos de cortisol entre 10,12 a 15,56 ng/ml. Por otro lado Trenzado (2004) menciona que las truchas “arco iris” que no fueron sometidos a ningún tipo de estrés presentan niveles de cortisol plasmático entre 22,66 y 33,26 ng/ml.

Sin embargo Herrera *et al.*, (2013) reportaron para la “dorada” (*Sparus aurata*) los

niveles de cortisol durante el estado basal de 25,07 ng/ml. Laiz *et al.*, (2009) demostraron que el “bocinegro” (*Pagrus pagrus*) presenta niveles plasmáticos de cortisol entre 22,0 y 23,9 ng/ml en los que no fueron sometidos a ningún tipo de estrés agudo.

Esta investigación comprueba con lo descrito por los autores citados debido a que en el experimento realizado se encontraron niveles de cortisol superiores a los mencionados anteriormente, se encontraron niveles desde 31,60 hasta 85,90 ng/ml como promedios, es decir se comprueba que los peces sometidos a algún tipo de estrés agudo presentan niveles de cortisol superiores que los peces que no son sometidos a ningún tipo de estrés.

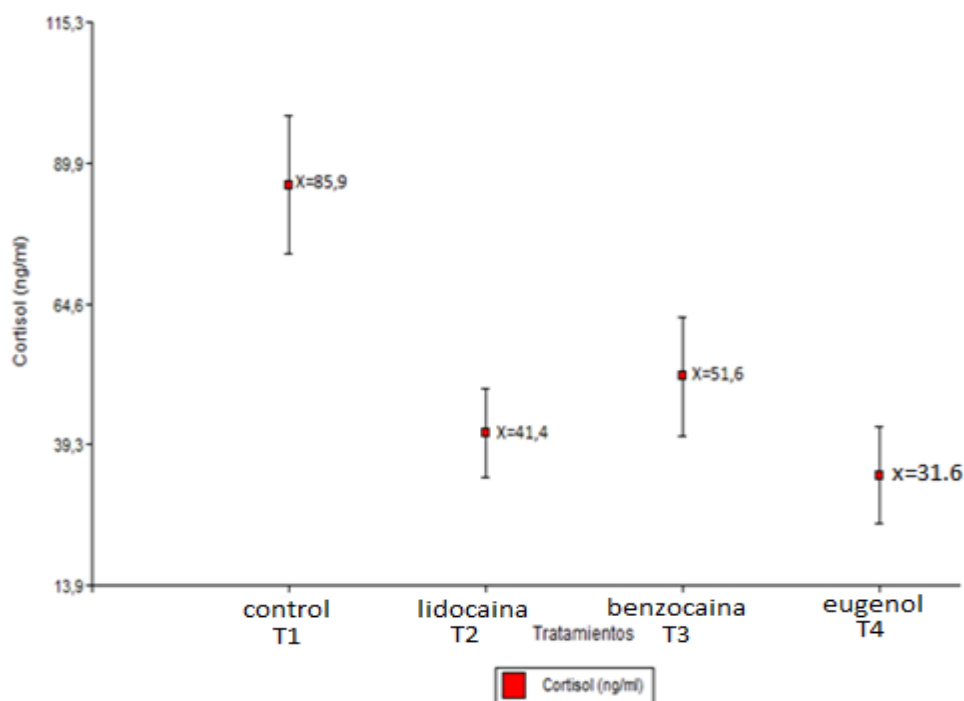


Figura 11. Promedios de los tratamientos en los niveles de cortisol en suero de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Arapa, Octubre 2016

En la Figura 11 las diferencias que existen en los promedios de niveles de cortisol, el promedio para el T1: es de 85,90 ng/ml, para el T2: es de 41,4 ng/ml, para T3: es de 51,6 ng/ml y para T4: es de 31,6 ng/ml. Estas diferencias se presentan debido a que los peces usados en este experimento fueron sometidos a estrés agudo, en el T1 se sometieron a estrés mediante la manipulación (biometría), en los T2, T3 y T4 fueron sometidos a estrés mediante los anestésicos y manipulación. Es así que Bermejo *et al.*, (2015) demostraron que las truchas “arco iris” sometidos a estrés, que consistió en el hacinamiento el nivel de cortisol en el plasma fue de 25,37 ng/ml. Por otro lado

Trenzado (2004) menciona que las truchas “arco iris” sometidos a estrés mediante la densidad y un anestésico presentan niveles de cortisol plasmático entre 37,52 y 39,53 ng/ml.

Así mismo Laiz *et al.*, (2009) indican que los niveles plasmáticos de cortisol en el “bocinegro” (*Pagrus pagrus*) sometidos a estrés mediante la alimentación en alta densidad son de 35,1 a 54,9 ng/ml. De igual manera Val Gaudó *et al.*, (2004) determinaron que los niveles séricos de cortisol en truchas de río, consideradas contaminadas presentaron valores entre 26 y 180 ng/ml. Sin embargo López & Villaroel (2013) encontraron los niveles más altos de cortisol plasmático, las cuales fueron sometidos a estrés mediante el ayuno, los valores fueron entre 172 y 247 ng/ml.

De esta forma se confirma que los peces sometidos a diferentes tipos de estrés presentan niveles de cortisol relativamente mayores a los niveles normales basales mencionados anteriormente, ya que en el experimento realizado comprobamos que los valores promedios de cortisol son desde 31,6 ng/ml, hasta 85,9 ng/ml, lo que significa que están por encima del valor normal.

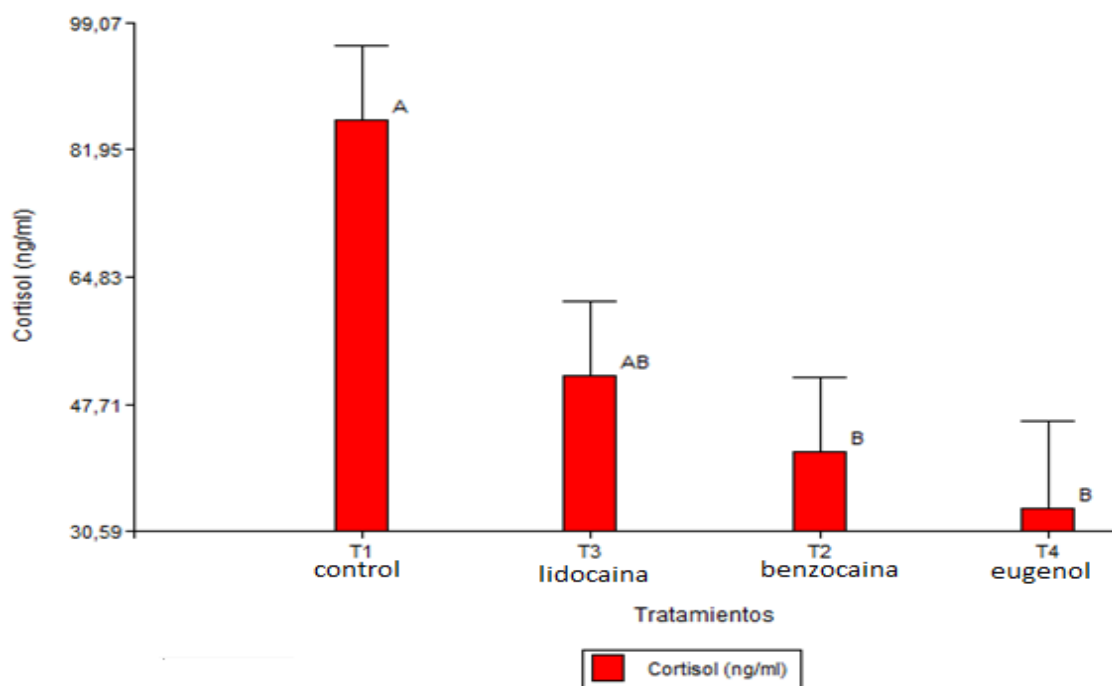


Figura 12. Diferencias de los tratamientos en los niveles de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Arapa, Octubre 2016

En la Figura 12 las diferencias que existen entre tratamientos, que fueron los agentes estresantes en la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), encontrándose diferencias

significativas entre los tratamientos T1 con T4, así mismo los tratamientos que usaron anestésicos T2: lidocaína, T3: benzocaína y T4: eugenol no presenta diferencias significativas. Con el T4: anestesia eugenol obtuvimos 31,6 ng/ml, la cual se asemeja con Weber (2009) que obtuvo un valor similar en el “lenguado” (*Solea senegalensis*) con un valor de 30 ng/ml., utilizando aceite de clavo que su principal componente activo es el eugenol.

Agudelo *et al.*, (2012) hicieron un experimento similar en el Yamú (*Brycon siebenthalae*), encontrando los niveles en choque térmico 443,1 ng/ml, MS-222 408,2 ng/ml y benzocaína 361,6 ng/ml, lo importante de estos resultados es que se obtuvo niveles mayores de cortisol en el caso donde no se usó anestésicos, es decir el choque térmico, mientras que en donde sí se usó anestésicos encontró niveles más bajos, estos resultados son similares al que obtuvimos, ya que también encontramos un nivel de cortisol mayor en el T1: que fue sin anestesia en comparación con los T2, T3 y T4 en donde sí se usó anestésicos.

Finalmente otros autores probaron diferentes anestésicos que no se usó en este experimento, sin embargo lo tomaremos como referencia. Conde *et al.*, (2009) usando MS-222 encontraron niveles de cortisol plasmático entre 11 y 44 ng/ml, la cual se asemeja en nuestro experimento con el T2: lidocaína. Por otro lado Weber (2009) menciona que usando MS-222 encontró un nivel de 18 ng/ml, pero usando 2-Fenoxietanol y metomidato encontró niveles más bajos entre 5 y 9 ng/ml respectivamente.

Tabla 04. Análisis de varianza (SC tipo III) del nivel de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

Variable	N	R	R	AJ	CV
Cortisol	(ng/ml)	16	0,60	0,50	36,85
F. V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	6714,22	3	2238,07	5,96	0,0100
Tratamientos	6714,22	3	2238,07	5,96	0,0100
Error	4407,99	12	375,67		
Total	11222,20	15			

En la Tabla 04 el análisis de la varianza del nivel de cortisol en el suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), de acuerdo a los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna es decir existen diferencias significativas en por lo menos un tratamiento, ya que el p-valor $0,0210 < 0,05$ es por ello que realizamos la prueba de Tukey para ver cuál es la diferencia de los tratamientos.

Tabla 05. Prueba de significancia de Tukey del nivel de cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Alfa = 0,05 DMS = 40,68941

Error: 375,6654 gl: 12

Tratamiento	Medias	N	E.E.	
T4	31,58	4	9,69	A
T2	41,35	4	9,69	A
T3	51,58	4	9,69	A B
T1	85,90	4	9,69	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La Tabla 05 la prueba de significancia de Tukey, donde T1 tiene diferencias significativas con T2 y T4, es decir que los niveles de cortisol en el suero de la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), con T1 (sin anestesia), es diferente con lidocaína (T2) y eugenol (T4), siendo mayor en T1. Mientras que los tratamientos T4 (eugenol), T2 (lidocaína) y T3 (benzocaína) son estadísticamente iguales.

4.2 Niveles de glucosa como indicador secundario de estrés en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), usando lidocaína, benzocaína y eugenol.

Tabla 06. Niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

glucosa (mg/dl)				
Trat.	T1:	T2:	T3:	T4:
Rep	(sin anestesia)	(lidocaína)	(benzocaína)	(eugenol)
1	143	100	98	56
2	100	96	114	97
3	103	116	89	67
4	104	96	107	89
Promedio	112,5	102	102	77,3
D.E	17,7	8,2	9,4	16,5
C.V (%)	15,7	8,04	9,2	21,4

En la Tabla 06 los niveles de glucosa obtenidos en el suero de la truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), con los tratamientos y las repeticiones realizadas respectivamente. Se puede observar que el T1 presenta un promedio mayor de glucosa en comparación a T2, T3 y T4. Los valores que se obtuvieron están desde 77,3 mg/dl a 112,5 mg/dl, así mismo el coeficiente de variación presenta en el T1 de 15,7%, es decir la media o promedio es muy representativo, mientras que en los T2 y T3 la media o promedio es altamente representativo, ya que presentan valores menores al 10%, finalmente en T4 la media o promedio es representativo, debido a que el valor es menor de 30%.

Es necesario conocer los niveles normales de glucosa en los peces, para lo cual Bermejo *et al.*, (2015) mencionan que los niveles de glucosa en la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), sin ser sometidos a estrés están entre 71,89 a 78,79 mg/dl, mientras que Trenzado (2004) señala que los valores de la glucosa plasmática en la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), es de 77,8 mg/dl, por otro lado Herrera *et al.*, (2013) reportan para la “dorada” (*Sparus aurata*) el nivel de la glucosa plasmática basal en 78,53 mg/dl.

Los niveles de glucosa obtenidos en el experimento presentan niveles mayores que los mencionados en los antecedentes, es decir están por encima de los valores normales, esto debido a que fueron sometidos a estrés.

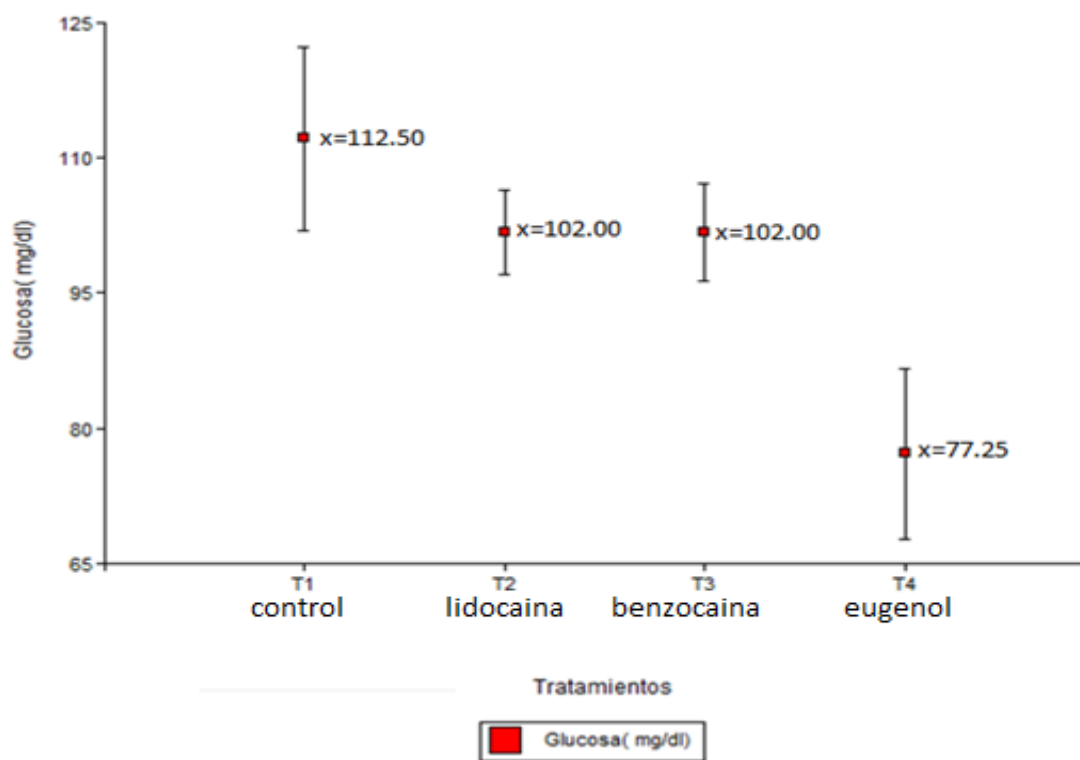


Figura 13. Promedios de los tratamientos en los niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Arapa, Octubre 2016

En la Figura 13 las diferencias que existen en los promedios de niveles de glucosa, el promedio para T1: 112,50 mg/dl, para T2: 102 mg/dl, para T3: 102 mg/dl y para T4: 77,25 mg/dl, estas diferencias se presentan debido a que los peces usados en este experimento fueron sometidos a estrés agudo, mediante los tratamientos, en el T1 se sometió a estrés mediante la manipulación (biometría), en los T2, T3 y T4 fueron sometidos a estrés mediante los anestésicos y la manipulación.

Para lo cual Trenzado (2004) en uno de sus ensayos obtuvo valores de glucosa plasmática en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), sometido a estrés mediante la densidad y la selección parental en 80.26 mg/dl, así mismo, Rojas (2005) en su experimento en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), sometidos a estrés mediante dietas con diferentes perfiles de aminoácidos obtuvo niveles de 88,67 mg/dl y 99,83 mg/dl como promedios. De la misma forma Trenzado (2004), en uno de sus ensayos obtuvo valores de glucosa en la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*),

sometidos a estrés por composición de la dieta y una densidad alta entre 90,03 y 111,18 mg/dl. Mientras que Herrera *et al.*, (2013) mencionan que en la “dorada” (*Sparus aurata*) sometidos a estrés mediante la densidad y la exposición al aire presento valores de 79,01 mg/dl.

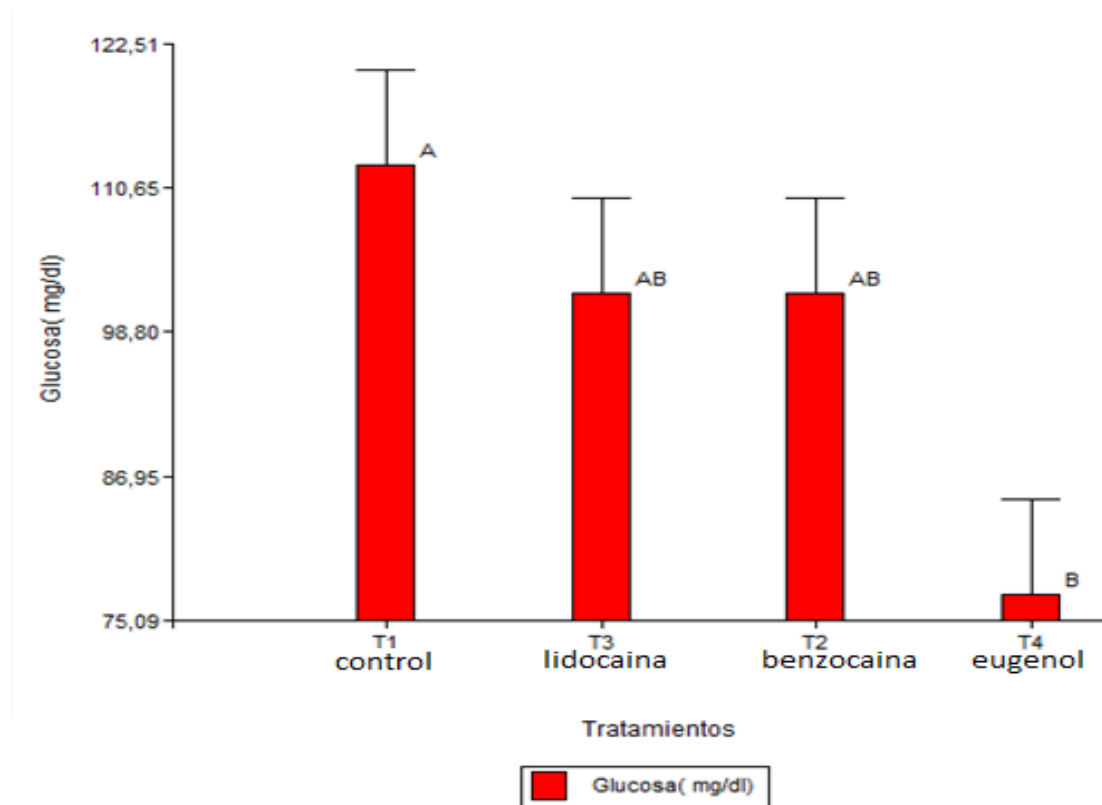


Figura 14. Diferencias de los tratamientos en los niveles de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Arapa, Octubre 2016

En la Figura 14 las diferencias de los niveles de glucosa que existen entre tratamientos, en la trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), se encontró diferencias significativas solo en los tratamientos T1 con T4, así mismo los tratamientos en que se usaron anestésicos T2: lidocaína, T3: benzocaína y T4: eugenol no presenta diferencias significativas.

En el experimento usando el T4: eugenol se obtuvo 77,3 mg/dl como promedio, la cual se asemeja con Weber (2009) quien obtuvo 66,9 mg/dl como promedio usando aceite de clavo en “lenguado” (*Solea senegalensis*). Así mismo Conde *et al.*, (2009) usando MS-222 en la trucha “arco iris” obtuvieron niveles de glucosa plasmática entre 70,2 y 73,8 mg/dl. Finalmente Weber (2009) utilizo otros anestésicos en el lenguado obteniendo niveles plasmáticos de glucosa de: en 2-Fenoxietanol 57,43 mg/dl, MS-222 51,10 mg/dl y Metomidato 44,21 mg/dl.

Tabla 07. Análisis de la varianza (SC tipo III) del nivel de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

Variable	N	R	R	AJ	CV
Cortisol (mg/dl)	16	0,48	0,34	15,95	
F. V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	2688,19	3	896,06	3,63	0,0450
Tratamientos	2688,19	3	896,06	3,63	0,0450
Error	2959,75	12	246,65		
Total	5647,94	15			

En la Tabla 07 el análisis de la varianza del nivel de cortisol en el suero de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), de acuerdo a los resultados obtenidos se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna es decir existen diferencias significativas en por lo menos un tratamiento, ya que el p-valor $0,0450 < 0,05$ es por ello que realizamos la prueba de Tukey para ver cuál es la diferencia de los tratamientos.

Tabla 08. Prueba de significancia de Tukey del nivel de glucosa en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Alfa = 0,05 DMS = 32,96990

Error: 246,6458 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T4	77,25	4	7,85	A
T3	102,00	4	7,85	A B
T2	102,00	4	7,85	A B
T1	112,50	4	7,85	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La Tabla 08 la prueba de significancia de Tukey, la única diferencia significativa es entre los tratamientos T1 y T4, es decir que los niveles de cortisol en el suero de la trucha “arco iris” con T1 (sin anestesia), Solo obtuvo diferencias con T4 (eugenol), mientras que los tratamientos T2 (lidocaína), T3 (benzocaína) y T4 (eugenol) son estadísticamente iguales.

V. CONCLUSIONES

- Los niveles promedios de cortisol en el suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) fueron: T1 (control): 85,9 ng/ml; T2 (lidocaína): 41,4 ng/ml; T3 (benzocaína): 51,6 ng/ml y T4 (eugenol): 31,6 ng/ml; es decir los agentes estresantes usados en el trabajo (manipulación y anestésicos) influyen en la variación de estos niveles. Además los tratamientos T2, T3, y T4 presentan diferencias con el grupo control T1.
- Los niveles de glucosa en el suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) fueron: T1 (control): 112,5 mg/dl; T2 (lidocaína): 102 mg/dl; T3 (benzocaína): 102 mg/dl y T4 (eugenol): 77,3 mg/dl; es decir los agentes estresantes usados en el trabajo (manipulación y anestésicos) influyen en la variación de estos niveles. Encontrando diferencias entre el tratamiento T4 con el grupo control T1.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones sobre los indicadores primarios y secundarios del estrés cuando los peces en cultivo son sometidos a estrés agudo como: el manejo en la alimentación, la densidad de siembra, los factores fisicoquímicos del agua, presencia de contaminantes, etc.
- Realizar investigaciones sobre los agentes estresantes agudos o crónicos en indicadores de estrés como: catecolaminas, noradrenalina, adrenalina, leucocitos, lactato y ácidos grasos.
- Investigar la cantidad de sangre que presentan las truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*), y ver lo que sucede con los individuos después de que se les extrae la sangre.

VII. REFERENCIAS

- ACOSTA J. 2008. Gestión del estrés, cómo entenderlo, cómo controlarlo y cómo sacarle provecho. Bresca Editorial. S.L. Barcelona - España. 155 p.
- AGUDELO D., LUGO E. & RIVEROS N. 2012. Cuantificación de glucosa y cortisol como indicador de estrés en la especie (*Brycon siebenthalae*) “yamu” mediante la utilización de tranquilización y anestesia en el municipio de Cumaral meta. Universidad Nacional de Colombia. Corporación educativa nacional C.E.N. 47 p.
- ALMEIDA D. 2004. Manual de Arritmias cardiacas. Consejo de desarrollo científico y humanístico. Universidad Central de Venezuela. Caracas - Venezuela. 535 p.
- ÁLVAREZ A., PÉREZ H., DE LA CRUZ T., QUINCOSA J. & SÁNCHEZ A. 2009. Fisiología animal aplicada. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 382 p.
- ARCE V., CATALINA P. & MALLO F. 2006. Endocrinología. Imprenta Universitaria Campus Universitario sur. Santiago de Compostela. Universidad de Vigo. 421 p.
- ARRANZ J. 2008. Inmunobiología de la escuticociliatosis del “rodaballo” (*Psetta máxima*) en cultivo. Instituto de investigaciones y análisis alimentarios. Laboratorio de patología. Universidad de Santiago de Compostela – España. 264 p.
- BAIRD C. 2001. Química Ambiental. Editorial Reverte S.A. Barcelona - España. 625 p.
- BAÑOS J. & MARCH M. 1994. Farmacología Ocular. Edicions UPC. Ediciones de la Universidad Politécnica de Catalunya, SL. 217 p.
- BERMEJO R., DE LA FUENTE J., PÉREZ C., LAUZURICA S., GONZÁLEZ DE CHAVARRI E., DÍAZ M. TORRENT F. & VILLARROEL M. 2015. Efecto de los grados día de ayuno y del hacinamiento previos al sacrificio sobre el

contenido estomacal y respuesta de estrés en trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal, Avda. Puerta de Hierro – Madrid. XVI Jornadas sobre Producción Animal, Tomo II, 588 - 590 p.

BERNIER N., DER KRAAK G., FARRELL A. & BRAUNER C. 2009. Fish Neuroendocrinology. First edition. Elsevier inc. Amsterdam, The Netherlands. 537 p.

BLANCO M. 1984. La Trucha Cría Industrial. Madrid - España. Ediciones Mundo Prensa. 224 p.

BORRAS C. & FRANQUET J. 2007. Cultivo intensivo de la anguila europea. Cataluña – España. 555 p.

BRANSON E. 2008. Fish Welfare. Blackwell Publishing editorial offices. Monmouthshire, United Kingdom. 299 p.

BROWN L. 2000. Acuicultura para Veterinarios. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza – España. 445 p.

CAMPOS P., SANMARTI N., TORRES D., MINGO B., FERNÁNDEZ M., BOIXADERAS N., DE LA RUBIA E., RODRÍGUEZ R., PINTO R. & LÓPEZ J. 2002. Biología 2. Ediciones Vicens vieves S.A. Barcelona - España. 233 p.

CARDINALI D. 2007. Neurociencia aplicada: sus fundamentos. Editorial medica panamericana. Buenos Aires – Argentina. 458 p.

CASTIÑEIRAS E. 2007. Anestesia epidural en los bovinos mediante agonistas alfa dos adrenérgicos y Opiáceos. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Veterinaria. España. 209 p.

CASTELLO F. 1993. Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Entidad editora, Universidad de Barcelona - España. 747 p.

- CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE (CIRNMA). 2004. Manual de crianza de truchas en jaulas flotantes. Puno - Perú. Editorial Bartolomé. 115 p.
- CONDE M., LÓPEZ M., MUÑOZ J., AGUILAR A., SOENGAS J. & MÍGUEZ J. 2009. Efecto del anestésico MS - 222 en parámetros sanguíneos indicadores de estrés en trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) y su atenuación mediante oxigenación intensa del medio. Departamento de Biología Funcional Universidad de Vigo. (Pontevedra). Libro de resúmenes. XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid – España. 538 - 539 p.
- CORTÉS A., RODRÍGUEZ M., BUSTAMANTE J., RENTERÍA M. & GUARDIOLA K. 2015. Uso de mentol, esencia de clavo y benzocaína como anestésicos en la manipulación de crías de trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. XII Encuentro: participación de la mujer en la ciencia. 5 p.
- CORTEZ A & RODRÍGUEZ M. 2015. Benzocaína y mentol como anestésicos en machos de trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. Distrito Federal. México. Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente. Vol. 2 (9): 43 - 49 p.
- DE AHUMADA J., SANTANA M. & SERRANO J. S. 2002. Farmacología Práctica: para las diplomaturas en ciencias de la salud. Ediciones Díaz de Santos, S. A. Madrid - España. 519 p.
- DELFINO A. 2013. Dizionario Odontoiatrico. Antonio Delfino Editore. Medicina - scienze. Roma - Italia. 948 p.
- DEVASHISH K. 2016. Epizootic Ulcerative Fish Disease Syndrome. Elsevier Inc. Departament of life Science Assam (central) University Silchar, India. 294 p.

- FISH R. BROWN M. DANNEMAN P. & KARAS A. 2008. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. Second edition. Elsevier Inc. USA. 655 p.
- FREGENEDA J. & ALLER J. 2009. Niveles séricos de cortisol y testosterona en “trucha común” (*Salmo trutta*) en relación con la saprolegniosis. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Libro de resúmenes. XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid – España. 286 - 287 p.
- FLORES C. 2002. Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE). Universidad Nacional del Nordeste. Rev. Ictiol. 10 (1/2): 57 - 78 p.
- FONDO NACIONAL DE DESARROLLO PESQUERO (FONDEPES) 2007. Manual De Cultivo de Trucha Arcoíris en Jaulas Flotantes. Tercera Edición. Lima - Perú. 117 p.
- FUENTES X., CASTIÑEIRAS M. & QUERALTO J. 1998. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Volumen I. Segunda edición. Editorial Reverte S.A. Barcelona - España. 583 p.
- GARRIDO A. 2001. Bioquímica metabólica. Editorial Tebar de casa Editorial Mares, SL. Albacete – España. 339 p.
- GODOY M. 2002. Truchicultura. Editorial Producción Gama, Ayacucho - Perú. 247 p.
- GUÉNETTE S., UHLAND F., HÉLIE P., BEAUDRY F. & VACHON P. 2007. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Université de Montreal, Faculté de Médecine Veterinaire, Canadá, Aquaculture 266 (2007) 262 - 265 p.
- HARRIS D. 2007. Análisis químico cuantitativo. Tercera edición (sexta edición original). Editorial Reverte S.A. Barcelona - España. 579 p.

- HERRERA M., LOPEZ J., HERVES A., & CORDERO M.L. 2013. Eficacia de un método de determinación de cortisol fecal para la evaluación del estrés en la “dorada” (*Sparus aurata*) cultivada. IFAPA centro agua del pino. Cartaya (Huelva). Libro de Resúmenes. XIV Congreso Nacional Acuicultura, Acuicultura Naturalmente. Universidad Nacional de Gijón. Gijón – España. 245 – 247 p.
- INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ (IMARPE) 2011. Sinopsis Biológica Pesquera, Biomasa de las Principales Especies Ícticas y Limnología en el Lago Titicaca. Puno - Perú. Primera Edición. 27 p.
- KENT M. 1998. Diccionario Oxford de Medicina y Ciencias del Deporte. Editorial Paidotribo. Barcelona – España. 835 p.
- LAIZ R., ROSA I., RUIZ I., CEJAS J., JEREZ S., MARTOS J., ALMANSA E. & MANCERA J. 2009. Influencia del estrés por confinamiento y por ayuno sobre el metabolismo intermediario en el “bocinegro” (*Pagrus pagrus* L.) Instituto Español de Oceanografía. Centro Oceanográfico de Canarias. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. Libro de resúmenes. XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid – España. 492 - 493 p.
- LEATHERLAND J. & WOO P. 2010. Fish Diseases and Disorders. Volume 2. Second edition. CAB International. 416 p.
- LÓPEZ J. & VILLARROEL M. 2013. Efecto del ayuno pre-sacrificio en la respuesta al estrés y la calidad instrumental de la carne de trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Departamento de Producción Animal, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y ciencias Hortícolas. 6 p.
- LÓPEZ J., URBANO A., CARDENAS M., OSUNA A. & LENDINEZ A. 2012. Manual de laboratorio en las enfermedades autoinmunes sistémicas. Omnia Science (Omnia Publisher S.L.). 74 p.

- LORENZO P., MORENO A., LIZASOAIN I., LEZA., MORO M., & PORTOLES A. 2008. Velásquez Farmacología Básica y Clínica. 18° edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid. 1374 p.
- MALAMED S. F. 2013. Manual de Anestesia Local. Sexta edición. Elsevier España, S.L. Barcelona - España. 408 p.
- MANCINI M. 2012. Introducción a la biología de los peces. Cursos Introducción a la Producción Animal y Producción Animal I, cap. V, FAV UNRC. Argentina. 19 p.
- MANTILLA B. 2004. ACUICULTURA, Cultivo de truchas en jaulas flotantes. Editora Palomino E.I.R.L, Lima - Perú. 124 p.
- MINDRAY. 2010. Analizador de Química Clínica. GEMATEC. Equipamiento para medicina. Buenos Aires – Argentina. 2 p.
- MONROIG O., DÍAZ M., LAIZ R., RODRÍGUEZ D., RODRÍGUEZ C. & ALMANSA E. 2009. Cortisol y movilización de lípidos como indicadores de estrés en “bocinegros” (*Pagrus pagrus* L.) sometidos a confinamiento y ayuno. Universidad de la Laguna. Santa Cruz de Tenerife. Libro de resúmenes. XII Congreso Nacional de Acuicultura, Santa Madrid – España. 580-581 p.
- OCAMPO R., RIOS L., BETANCUR L. & OCAMPO D. 2008. Curso práctico de Química Orgánica. Editorial Universidad de Caldas. 182 p.
- OSTRANDER G. 2000. The Laboratory Fish. Academic press. Johns Hopkins University Baltimore, MD USA. 525 p.
- PANDEY B. 2008. Fish Research. A.P.H. Publishing Corporation. Balaji Offset. Dept. of Zoology. Magadh University, Bodh Gaya. 153 p.
- PICKERING W. F. 1980. Química analítica moderna. Editorial Reverte S.A. Barcelona

- España. 689 p.

PORTZ D. 2007. Fish holding associated in Sacramento River Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) at South Delta Fish salvage Operations: Effects on plasma constituents, swimming performance, and predator Avoidance. University of Colorado, Boulder. Doctor thesis. 133 p.

POTTINGER, T. & CARRICK, T. 1999. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*. 175 p.

SADAVA D., HELLER G., ORIAN G., PURVES W. & HILLIS D. 2009. VIDA: la ciencia de la biología. Octava edición. Editorial medica panamericana. Madrid – España. 1207 p.

ROJAS P. 2005. Efecto de la dieta sobre los niveles plasmáticos de insulina y glucagón en trucha “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) y “dorada” (*Sparus aurata*) y caracterización del transportador de glucosa de dorada. Tesis Doctoral. Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Barcelona – España 167 p.

SANCHEZ C. 2004. Crianza y Producción de Truchas. Ediciones Ripalme. Lima - Perú. 135 p.

SANZ F. 2009. La Nutrición y Alimentación en Piscicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. DiScript Preimpresión, S. L. Madrid – España. 803 p.

SCHWAB M. 2011. Encyclopedia of cancer. 3rd edition. Springer - Verlag Berlin Herdelberg. Germany. 3983 p.

SILVA C. & GARCÍA J. 2004. Manual del Técnico Superior de Laboratorio de Análisis Clínicos. Editorial Mad S.L. España 482 p.

TORRES X. & BAILLES E. 2015. Comprender el estrés. Editorial Amat. Barcelona-

España. 176 p.

TOSOH. 2010. Menú de Pruebas Tosoh AIA. Tosoh Bioscience Latin America 6000 Shoreline Court, Suite 101 South San Francisco, CA 94080. 2 p.

TRENZADO C. 2004. Selección parental y dieta como estrategias de atenuación del estrés crónico en la trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis Doctoral. Departamento de Biología animal y Ecología. Facultad de ciencias, Universidad de Granada. España. 350 p.

VAL GAUDO M., CORREA A., MARTÍN GIL J. & MARTÍN GIL F. 2004. Niveles séricos de hormonas esteroideas en poblaciones de “Trucha común” (*Salmo trutta*) como marcadores del grado de contaminación estrogénica de las aguas. Departamento de Ingeniería Agrícola y Forestal, Campus de la Yutera, Universidad de Valladolid, España. 19 p.

VELASCO Y. & CRUZ P. 2007. Metodología para la determinación de cortisol plasmático en peces usando la prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA). Instituto de Acuicultura, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos. Universidad de los Llanos, Villavicencio (Meta) Colombia Rev. MVZ Córdoba 12(1): 869 - 877 p.

WEBER R. 2009. Efecto del estrés y de la anestesia sobre indicadores primarios y secundarios de estrés y sobre los neurotransmisores monoaminérgicos cerebrales en el “lenguado” (*Solea senegalensis*). Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela Facultad de Biología, instituto de acuicultura. España 241 p.

WEDEMEYER G. 1996. Physiology of fish in intensive culture systems. Northwest Biological Science Center. National Biological Service. U.S. Department of the Interior. 231 p.

WINTER M. E. 1994. Farmacocinética Clínica Básica. Segunda Edición. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid - España. 459 p.

ANEXOS

Anexo A

Tabla 09. Tiempo de inducción, recuperación y dosis de los anestésicos usados en truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

Tratamiento	Dosis	Inducción	Recuperación
T1: sin anestesia	5 litros de agua	-	-
T2: lidocaína	1 ml x 5 litros de agua	3 minutos	11 minutos
T3: benzocaína	4 ml x 5 litros de agua	5 minutos	09 minutos
T4: eugenol	1 ml x 5 litros de agua	2 minutos	10 minutos

Anexo B

Tabla 10. Peso y talla de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) usados en la investigación.

N°	Peso (g)	Talla (cm)
01	220	27
02	220	25
03	230	24
04	240	27.5
05	220	22.5
06	210	23
07	220	22.5
08	150	22
09	230	26
10	210	25
11	220	26
12	250	27
13	210	23
14	230	27
15	240	29
16	190	24.5
Promedio	218.125	25.3

Anexo C

CLÍNICA AMERICANA



ANÁLISIS DE GLUCOSA EN SUERO DE SANGRE DE TRUCHAS ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Muestra	Glucosa (mg/dl)	Peso (g)	Talla (Cm)	Tratamiento	Fecha del análisis
M2	143	220	25	T1: sin anestesia	30/09/2016
M10	100	210	25	T1: sin anestesia	14/10/2016
M11	103	220	26	T1: sin anestesia	14/10/2016
M12	104	250	27	T1: sin anestesia	14/10/2016
M7	100	220	22.5	T2: Lidocaína	07/10/2016
M8	96	150	22	T2: Lidocaína	07/10/2016
M15	116	230	27	T2: Lidocaína	14/10/2016
M16	96	240	29	T2: Lidocaína	14/10/2016
M4	98	240	27.5	T3: Benzocaína	07/10/2016
M5	114	220	22.5	T3: Benzocaína	07/10/2016
M9	89	230	26	T3: Benzocaína	14/10/2016
M17	107	190	24.5	T3: Benzocaína	22/10/2016
M13	115	240	24	T3: Benzocaína	14/10/2016
M1	56	220	27	T4: Eugenol	30/09/2016
M3	97	230	24	T4: Eugenol	07/10/2016
M6	67	210	23	T4: Eugenol	22/10/2016
M14	89	210	23	T4: Eugenol	14/10/2016

ANÁLISIS DE CORTISOL EN SUERO DE SANGRE DE TRUCHAS ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

Muestra	Cortisol (µg/dl)	Peso (g)	Talla (Cm)	Tratamiento	Fecha del análisis
M2	5.71	220	25	T1: sin anestesia	30/09/2016
M10	8.15	210	25	T1: sin anestesia	14/10/2016
M11	11.73	220	26	T1: sin anestesia	14/10/2016
M12	8.77	250	27	T1: sin anestesia	14/10/2016
M7	4.91	220	22.5	T2: Lidocaína	07/10/2016
M8	1.76	150	22	T2: Lidocaína	07/10/2016
M15	4.58	230	27	T2: Lidocaína	14/10/2016
M16	5.29	240	29	T2: Lidocaína	14/10/2016
M4	3.64	240	27.5	T3: Benzocaína	07/10/2016
M5	4.59	220	22.5	T3: Benzocaína	07/10/2016
M9	8.32	230	26	T3: Benzocaína	14/10/2016
M17	4.08	190	24.5	T3: Benzocaína	22/10/2016
M13	23.45	240	24	T3: Benzocaína	14/10/2016
M1	2.19	220	27	T4: Eugenol	30/09/2016
M3	0.61	230	24	T4: Eugenol	07/10/2016
M6	2.84	210	23	T4: Eugenol	22/10/2016
M14	5.08	210	23	T4: Eugenol	14/10/2016



Jr. Loreto 315 - Juliaca - Puno - Perú - Emergencias ☎ 051-321369 / 051-323418 Telefax: 051-321001
 www.clinicaamericana.org.pe / informes@clinicaamericana.org.pe

Figura 15. Ficha de resultados de la Clínica Americana de los niveles de glucosa y cortisol en suero sanguíneo de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).

Anexo D. Panel fotográfico.



Figura 16. Obtención de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) de jaulas flotantes. Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.



Figura 17. Anestesiado de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.



Figura 18. Obtención de la talla de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.



Figura 19. Obtención del peso de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*). Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.



Figura 20. Obtención de la sangre de truchas “arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*).
Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.



Figura 21. Proceso de obtención del suero sanguíneo en una centrifuga. Laguna de Arapa, Distrito de Arapa, octubre 2016.

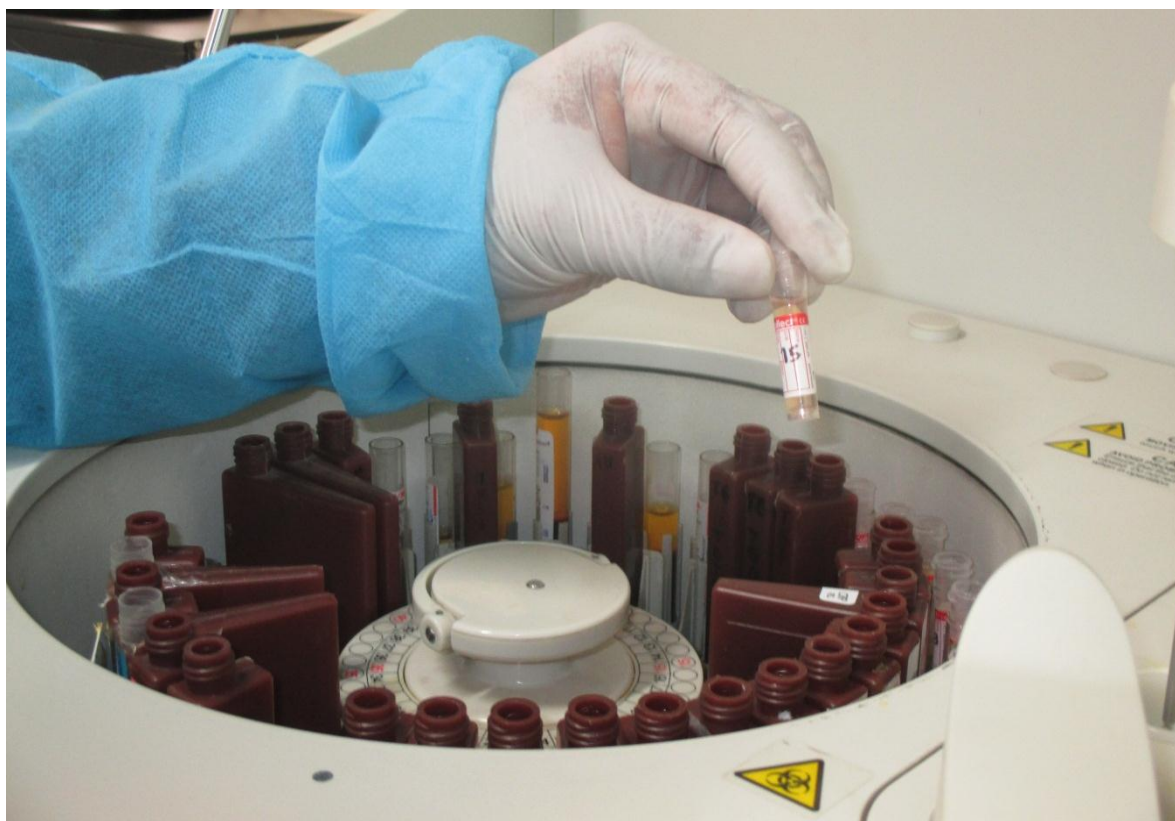


Figura 22. Proceso para la determinación de glucosa en un Analizador de bioquímica automatizado MINDRAY BS-200. Clínica Americana, Distrito de Juliaca, octubre 2016.



Figura 23. Proceso para la determinación de cortisol Analizador Automático de Inmunoensayos TOSOH - AIA 360. Clínica Americana, Distrito de Juliaca, octubre 2016.

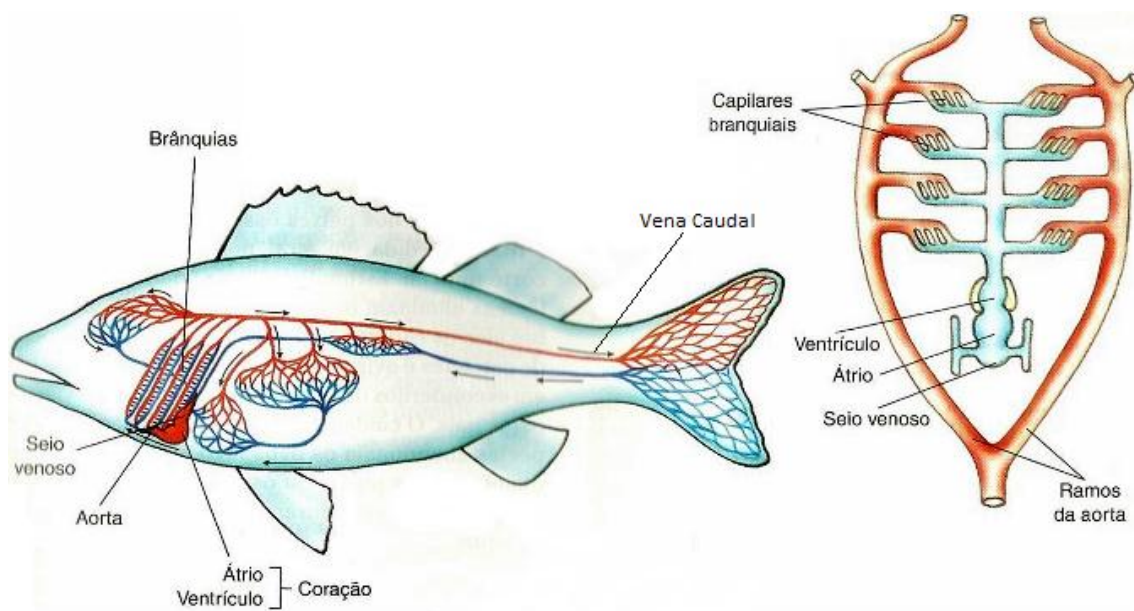


Figura 24. Sistema circulatorio en peces (vena caudal).
Tomado de <http://cienunb.blogspot.pe/>