

## VARIACIONES BIOQUÍMICAS EN JUVENILES DEL PEZ *COLOSSOMA MACROPOMUM* SOMETIDO A CAMBIOS DE SALINIDAD

VELÁSQUEZ SANZONETTI WILLIAM<sup>1\*</sup>, SEGURA YULIANNI<sup>1</sup>, MONTAÑO GENAIMAR<sup>1</sup>, VARGAS MILANO AMÉRICA<sup>2</sup>,  
BLANCO YVIS<sup>1</sup>, SALAZAR-LUGO RAQUEL<sup>1</sup> & ANTÓN MARÍN YANET<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, departamento de Bioanálisis

<sup>2</sup>Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, departamento de Enfermería

\*Email: wjvelasquezs@gmail.com

**RESUMEN:** Se evaluó las variaciones glucídicas, lipídicas, proteicas y de la hormona cortisol en el pez *Colossoma macropomum* sometido a cambios de salinidad. Para ello se emplearon 70 ejemplares juveniles de cachama procedentes de las lagunas de cría de la piscicultura Alma C.A. (ALMACA), estado Anzoátegui, y se trasladaron al laboratorio de Fisiología del departamento de Enfermería del núcleo de Sucre de la Universidad de Oriente, donde se aclimataron por 21 días (salinidad 0,00 ppm). Posteriormente se sometieron a cambios de salinidad, cada 48 horas, a razón de 5,00 ppm por cambio salino hasta la salinidad 20,00 ppm, cumpliendo en esta última salinidad un periodo entre 6 horas a 8 horas, dado que representó la salinidad letal. Las muestras sanguíneas se obtuvieron de la arteria caudal de cada pez, al final del periodo de aclimatación y de cada cambio salino, y luego se centrifugaron para la obtención de los respectivos sueros, donde se realizaron las determinaciones de glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta, baja densidad y muy baja densidad; proteínas totales, albúmina, globulinas y la hormona cortisol. La prueba estadística ANOVA simple mostró diferencias significativas en los parámetros glucosa, triglicéridos y cortisol en los peces sometidos a estudio, con valores promedio disminuidos de glucosa, triglicéridos, lipoproteínas de muy baja densidad e incrementados de lipoproteínas de baja densidad y cortisol durante todos los cambios salinos. Estos resultados permiten señalar que *C. macropomum* secreta cortisol y utiliza los compuestos glucosídicos y lipídicos como mecanismos de ajuste energético ante los cambios salinos.

Palabras claves: Cachama, cambios salinos, glucosa, triglicéridos, lipoproteínas

**ABSTRACT:** Glucosidic, lipidic, proteic and cortisol hormone variations were evaluated in the fish *Colossoma macropomum* when undergoing changes of salinity. For this purpose 70 juvenile samples of *cachama* were chosen to be used in the research from the *Alma, Inc.* (ALMACA), state of Anzoátegui. They were taken to the Physiology Laboratory of the Sucre Campus Infirmary department of *Universidad de Oriente* (University of the East), where they acclimated for 21 days (0.00 ppm salinity). They subsequently were subjected to gradual changes of salinity, every 48 hours, at a rate of 5.00 ppm per saline change up to 20.00 ppm salinity, being kept in this last salinity for a 6 to 8 hour period, which represented lethal salinity. Blood samples were taken from the caudal artery of each fish, at the end of the acclimation period and of each saline change, and then they were centrifugalized to obtain the respective sera, in which the following determinations were performed: glucose, cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins, low density lipoproteins, and very low density lipoproteins, total proteins, albumin, globulins and cortisol hormone. The one-way ANOVA statistical test showed significant differences in the following parameter determinations: glucose, triglycerides, low density lipoproteins, very low density lipoproteins and cortisol in fishes under study with decreased mean values of glucose, very low density lipoproteins triglycerides and increased mean values of low density lipoproteins and cortisol during all saline changes. These results suggest that *C. macropomum* secretes cortisol and uses glucosidic and lipidic compounds as energy adjustment mechanisms when salinity changes.

Key words: Cachama, salinity changes, glucose, triglycerides, lipoproteins

### INTRODUCCIÓN

Los peces son animales de sangre fría entre los cuales se encuentran especies capaces de soportar grandes variaciones en la salinidad, llamados eurihalinos como el caso del pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), la tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*) y otros que son relativamente intolerantes a los cambios de salinidad, llamados estenohalinos como *Cyprinus carpio* y la cachama negra *Colossoma macropomum* entre otros (MANCINI 2002). Esta última especie es de agua dulce,

endémica de la cuenca amazónica del grupo de los carácidos perteneciente a la familia Characidae (POLEO *et al.* 2011; TOMALA *et al.* 2014), resistente al manejo y enfermedades y a largos periodos de hipoxia. Todo esto hace a *C. macropomum* una especie favorable para el cultivo y una de las más estudiadas por los diferentes piscicultores del país (ARIDE *et al.* 2007).

En los peces de agua dulce, los líquidos interiores poseen una concentración de sales que es mayor a la del medio donde viven, por lo que la ingesta de agua

en exceso produciría estados de sobrehidratación. Todo lo contrario sucede con los peces de agua salada, ya que los líquidos intracorporales son menos salados que los del medio exterior. Es por ello que los peces de agua salada incrementan la ingesta de líquidos eliminando las sales por las branquias y el tubo digestivo (GESTO *et al.* 2014a).

La respuesta al estrés en los peces comprende la activación del eje hipotálamo-simpático-cromafín y el eje hipotálamo-hipofisario-interrenal (FLORES 2002; URBINATI & CARNEIRO 2005; BARANDICA & TORT 2008; ALAYE-RAHY *et al.* 2014). El primero consiste en la activación del tejido cromafín en el riñón cefálico por fibras oriundas del sistema nervioso simpático y la liberación de catecolaminas, adrenalina y noradrenalina mientras que el segundo estimula la cascada del hipotálamo aumentando los niveles de la hormona liberadora de corticotropina para promover la liberación de la hormona estimulante de la corteza de la glándula adrenal por la hipófisis y de cortisol por el tejido interrenal (respuesta primaria), afectando el metabolismo (respuesta secundaria) de proteínas, lípidos y carbohidratos (específicamente el glucógeno hepático y muscular), a través de mecanismos rápidos y de duración más prolongada con finalidad movilizadora de reservas y para regular funciones endócrinas y excretoras que participan en la osmoregulación, hematopoyesis, inmunidad, metabolismo endocrino y excreción (BARTON 2002; PEPELS *et al.* 2002; VALENZUELA *et al.* 2002; VELÁSQUEZ *et al.* 2011; ALAYE-RAHY *et al.* 2014).

Los estudios de parámetros químicos sanguíneos en peces como glucosa, proteínas, triglicéridos, colesterol y urea son de mucho interés ya que estos son indicadores rápidos de cualquier perturbación fisiológica como cambios de salinidad que pueda afectar la homeostasis de peces entre los que se encuentra *C. macropomum*, sin embargo, la información referida a los efectos de la salinidad sobre su fisiología es muy limitada, pero si son abundantes los estudios relacionados con la exposición de estos organismos a metales pesados y otros factores ambientales, dado que estos peces constituyen modelos para estudiar organismos expuestos a metales como mercurio, cadmio y altas temperaturas (DAVIDOV *et al.* 2002; BITTENCOURT *et al.* 2003; ATENCIO *et al.* 2007; SILVA *et al.* 2007; BICUDO *et al.* 2009; SALAZAR-LUGO *et al.* 2011; VARGAS-CHACOFF *et al.* 2011; VELÁSQUEZ *et al.* 2011; BARBIERL *et al.* 2019).

Este estudio pretende mostrar los cambios o alteraciones bioquímicas que ocurren en el pez *C.*

*macropomum* cuando es expuesto a adversidades salinas y los posibles ajustes bioquímicos y fisiológicos que realiza esta especie para sobrevivir, dada su condición de pez estenohalino.

## METODOLOGÍA

### Muestra poblacional

En el desarrollo de esta investigación se emplearon 70 ejemplares juveniles de la especie *C. macropomum* con un tamaño promedio de  $13,00 \pm 2,00$  cm y un peso de  $26,00 \pm 2,00$  g, provenientes de las lagunas de crías de la piscicultura Alma C.A. (ALMACA), localizada en la población de Anaco en el estado Anzoátegui, Venezuela ( $9^{\circ}11'47.5''$  N;  $64^{\circ}4'12.02''$  W), con una salinidad de 0,00. La captura de los peces se realizó utilizando el arte de pesca de la atarraya con una malla circular de 0,50 cm de diámetro y de 2,50 m de longitud. Posterior a la captura, los organismos fueron trasladados en bolsas plásticas negras aireadas y cerradas hasta el laboratorio de Fisiología de Peces de la Universidad de Oriente, ubicado en el edificio de la antigua escuela de enfermería, en Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

En el laboratorio, los peces se colocaron en acuarios de 60,00 litros de capacidad y llenados con 40,00 litros de agua deionada, con aireación suministrada por una bomba marca JAD, modelo ACQ-001 para el proceso de aclimatación por 21 días en agua dulce (salinidad 0,00 ppm, medida empleando un refractómetro marca Atago modelo Atc-S/Mill-E). El proceso limpieza de los acuarios se realizó diariamente recambiando el 75,00% del contenido de agua, limpiando las paredes y el fondo eliminando de esta forma los restos de alimentos y excrementos. La temperatura ambiente diaria del laboratorio fue medida empleando un termómetro marca Labcraft, obteniéndose un valor promedio de  $27,80 \pm 1,84$  °C y la temperatura del agua de los acuarios fue de  $27,20 \pm 1,37$  °C. La alimentación se realizó una vez al día (*ad libitum*), durante todos los días del estudio, empleando el alimento purina comercial Puricachama 30, que contiene 30,00% de proteínas, 5,00% de fibras y 3,00% de lípidos. Todos los acuarios se mantuvieron tapados para proteger a los peces de la exposición a la luz y con ello disminuir el estrés por este factor ambiental.

### Diseño experimental

Al término del periodo de aclimatación, los 70 peces fueron distribuidos en cinco acuarios con salinidad de 0,00 ppm, a razón de 14 peces por cada uno de ellos,

por 48 horas, siguiendo los procedimientos planteados por VELÁSQUEZ *et al.* (2011) y URBANO *et al.* (2016). Cumplidas las 48 horas en la salinidad 0,00 ppm, se procedió a tomar muestras sanguíneas de los peces del acuario 1 y a determinar las concentraciones de los parámetros glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad, proteínas totales, albúmina, globulinas y la hormona cortisol. Este acuario permaneció con la salinidad 0,00 ppm durante todo el ensayo y allí permanecieron los peces que sobrevivieron a la toma de muestra. Seguidamente, y por un periodo de 48 horas, a los cuatro acuarios restantes (2, 3, 4 y 5) se les incrementó la salinidad hasta 5,00 ppm, colocando en un solo momento la cantidad de agua necesaria para el incremento de la salinidad antes señalada y empleando agua de mar proveniente de la Estación Hidrobiológica de Turpialito del Instituto de Oceanográfico de Venezuela (10° 26' 53" N; 64° 01' 53" W). Una vez transcurridas las 48 horas en esta salinidad, se tomaron muestras sanguíneas de los peces del acuario 2 para tener registro de los parámetros antes señalados en la condición salina 5,00 ppm, al igual que el acuario 1, el acuario 2, permaneció con la salinidad 5,00 ppm y con los peces que superaron el estrés de la manipulación y la toma de muestra. Este proceso de cambio salino se repitió en los tres acuarios restantes (3, 4 y 5) hasta 10,00 ppm, por 48 horas. Cumplido este lapso de tiempo, se les tomaron muestras de sangre a los organismos del acuario 3, para registrar los parámetros bioquímicos en los peces de la salinidad 10,00 ppm. Al igual que en los casos anteriores, el acuario 3 se mantuvo con la salinidad 10,00 ppm y con los peces sobrevivientes. Luego, a los acuarios 4 y 5 se les realizó el cambio de salinidad a 15,00 ppm y los peces de estos acuarios permanecieron en esta salinidad por 48 horas y al final de este tiempo se le tomo muestras de sangre a los ejemplares de *C. macropomum* del acuario 4 para tener valores de las concentraciones de los parámetros bioquímicos evaluados en los organismos de la salinidad 15,00 ppm. El acuario 4 permaneció con la salinidad 15,00 ppm y los organismos que superaron las condiciones de estrés antes mencionadas. Una vez realizado este proceso, se procedió a incrementar la salinidad del acuario 5 hasta 20,00 ppm y a observar exhaustivamente el comportamiento de los peces desde el inicio del cambio de salinidad. No obstante, la supervisión detallada permitió observar, a las 6 horas de exposición de los peces a la salinidad 20,00 ppm, el comienzo de las anomalías osmorregulatorias y proceder a tomar las muestras de sangre, antes de la muerte de estos peces.

Las condiciones de temperatura, el recambio de agua y la alimentación fueron realizadas de la misma forma durante el proceso de aclimatación y en todos los cambios salinos.

El presente estudio respetó las normas internacionales que rigen el cuidado, la manipulación y la experimentación en animales (EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. DIRECTRICES LEGALES Y ÉTICAS CONTEMPORÁNEAS, 2005).

#### Obtención y procesamiento de la muestra

Las tomas de muestras sanguíneas realizadas en los ejemplares de *C. macropomum*, se llevaron a cabo extrayéndoles sangre de la vena caudal por punción, empleando jeringas estériles y colocando el contenido de sangre en tubos de ensayo sin anticoagulante, que luego se dejaron en reposo para centrifugarlos y obtener los respectivos sueros, de los cuales se tomaron alícuotas de 25,00 µl que fueron colocadas en el portamuestra del equipo marca BioSystems modelo A25 para realizar las determinaciones de los parámetros glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, globulinas, lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad. El procedimiento para la cuantificación de la hormona cortisol consistió en utilizar 100,00 µl de suero que fueron colocados en la cubeta del equipo lector de Elisa marca Rayto. Los fundamentos de las técnicas empleadas en cada caso, se detallan a continuación.

Determinación de la concentración sérica de la hormona insulina

La concentración de esta hormona se realizó por el método inmuno\_ensayo de electro quimioluminiscencia, el cual se fundamenta en un test competitivo que emplea un anticuerpo monoclonal específico anti-insulina marcado con quelato de rutenio, formando un complejo con la insulina de la muestra. La biotina del complejo se une a la estreptavidina de la fase sólida produciendo la reacción quimioluminiscente. Los resultados se obtienen a partir de una curva de calibración realizada en el sistema mediante una calibración a dos puntos y una curva master incluida en el código de barras del reactivo (OGIHARA *et al.* 1977).

Determinación de la concentración sérica de glucosa

Este parámetro se cuantificó por el método de la glucosa oxidasa, el cual se basa en la oxidación de la glucosa a peróxido de hidrógeno y ácido glucónico, catalizada por la actividad de la enzima glucosa oxidasa y en la reacción de color Trinder modificada,

en presencia de la peroxidasa. Esta enzima cataliza la oxidación del cromógeno 4-aminoantipirina (4-AAP) e hidroxibenzoato, por el peróxido de hidrógeno para producir una coloración roja de quinoneimina. La intensidad de color de la reacción, medida a 520 nm, es directamente proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra sanguínea (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de colesterol

La cuantificación de este compuesto se realizó a través del método de la enzima colesterol esterasa cuyo principio consiste en la hidrólisis del colesterol esterificado, por acción de la enzima antes señalada, para producir colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre es oxidado por la enzima colesterol oxidasa con producción de peróxido de hidrógeno en presencia de la 4-aminoantipirina/fenol (4-AAP/fenol), para producir una coloración roja cuya intensidad, medida a 520 nm, es proporcional a la concentración de colesterol total presente en la muestra (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de triglicéridos

El principio de este método consiste en que los triglicéridos son hidrolizados por acción de la lipasa microbial en glicerol y ácidos grasos libres. En presencia de la enzima glicerol quinasa, el glicerol es fosforilado por adenosina-5-trifosfato (ATP) en glicerol-3-fosfato. Este último se oxida a fosfato dihidroxiacetona en una reacción catalizada por la enzima glicerol fosfato oxidasa. En la reacción se produce peróxido de hidrógeno, el cual oxida al cromógeno, compuesto de sal sódica de *n*-etilo-*n*-sulfohidroxipropilo-*n*-toluidina y 4-aminoantipirina, en presencia de la enzima peroxidada. El resultado es la producción del compuesto quinoneimina, cuya coloración roja, medida a 540 nm, es proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de proteínas totales

El fundamento de esta prueba consiste en la reacción que experimentan las proteínas, por sus uniones peptídicas, con los iones cúpricos del reactivo de Biuret en medio alcalino; cada ion cobre se une a la cadena polipeptídica por 4 enlaces de coordinación aportados por pares electrónicos libres de los átomos de nitrógeno para dar lugar a la formación de un complejo color violeta con un máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de albúmina

Para la cuantificación de la concentración de albúmina se aplicó el método del verde de bromocresol, cuyo principio consiste en la reacción que experimenta la albúmina cuando se une al indicador verde de bromocresol a un pH adecuado, para formar un complejo coloreado, cuya intensidad, medida a 540 nm, es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de globulinas

La concentración de la fracción proteica globulinas se calculó luego de obtener los valores de proteínas totales y albúmina, empleando la siguiente fórmula. Globulinas = Proteínas totales – albúmina (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de lipoproteínas de alta densidad

Este parámetro se determinó empleando un método de precipitación, en el cual las lipoproteínas de baja densidad y las lipoproteínas de muy baja densidad son precipitadas selectivamente del suero sanguíneo a un pH de 5,70 por adición del reactivo fosfotungstato amortiguado, dejando a las lipoproteínas de alta densidad en el sobrenadante, el cual se analizó por el método enzimático de la enzima colesterol esterasa (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de las lipoproteínas de muy baja densidad

Las concentraciones de las lipoproteínas de muy baja densidad (LPMBD) se obtuvieron por la siguiente relación: LPMBD = Triglicéridos/5 (HENRY 2007).

#### Determinación de la concentración sérica de lipoproteínas de baja densidad (LPBD)

LPBD = Colesterol total - triglicéridos/5 – lipoproteínas de alta densidad (HENRY 2007).

#### Análisis estadístico

Los datos obtenidos en este estudio cumplieron con los criterios de homogeneidad, (prueba de Levene) y normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov Lilliefors) lo que permitió aplicarles la prueba estadística análisis de varianza (ANOVA) simple, con la finalidad de observar las posibles diferencias significativas en las concentraciones de los parámetros bioquímicos glucosa,

colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, lipoproteínas de muy baja densidad, proteínas totales, albúmina, globulinas y la hormona cortisol, presentes en el pez *C. macropomum* sometido a cambios graduales de salinidad. En los casos en los cuales se observaron diferencias significativas, se aplicó la prueba estadística *a posteriori* del test de la diferencia mínima significativa (DMS). La toma de decisiones se realizó a un nivel de confiabilidad del 95,00% (SOKAL & ROHLF 1980). Todas estas pruebas estadísticas fueron realizadas empleando el programa estadístico IBM SPSS statistics 20.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores promedio de las concentraciones sanguíneas de la hormona cortisol y los parámetros bioquímicos glucosa, colesterol y triglicéridos medidos en peces de la especie *C. macropomum* sometidos a cambios de salinidad. El análisis estadístico ANOVA pone en evidencia diferencias significativas en los parámetros cortisol ( $F_s = 49,74$   $p < 0,05$ ), glucosa ( $F_s = 34,01$   $p < 0,05$ ) y triglicéridos ( $F_s = 12,81$   $p < 0,05$ ).

En relación a los resultados de la hormona cortisol, se puede señalar que la prueba *a posteriori* DMS empleada mostró la formación de cuatro grupos, el primero conformado por las concentraciones de cortisol en los peces expuestos a las salinidades 5,00 ppm ( $8,45 \pm 1,91$ ) y 0,00 ppm ( $12,20 \pm 0,44$ ), el segundo constituido por las concentraciones de cortisol en los peces de la salinidad 10,00 ppm ( $16,04 \pm 4,51$ ), el tercero formado por las concentraciones de cortisol en los peces sometidos a la salinidad 15,00 ppm ( $23,65 \pm 1,05$ ) y el cuarto integrado por las concentraciones de cortisol en los peces de la salinidad 20,00 ppm ( $48,55 \pm 7,55$ ), constituyendo este el grupo con la mayor concentración

de cortisol que experimentaron estos peces durante toda la transferencia salina a la que fueron sometidos. Para el parámetro glucosa en sangre, medido en los peces sometidos a cambios salinos, se encontraron diferencias significativas y la formación de tres grupos, el primero conformado por las concentraciones de glucosa en los peces de salinidades 10,00 ppm ( $65,00 \pm 9,40$ ) y 15,00 ppm ( $65,75 \pm 6,13$ ), el segundo por las concentraciones de glucosa en los peces de salinidad 0,00 ( $81,00 \pm 12,12$ ) y los de la salinidad 5,00 ppm ( $84,25 \pm 8,30$ ) y el tercero, en el que se encontraron las mayores concentraciones de glucosa, representado por los niveles de glucosa en los peces de la salinidad 20,00 ppm ( $132,67 \pm 5,51$ ). En cuanto a las concentraciones promedio de colesterol en *C. macropomum* sometido a diferentes salinidades, se debe señalar que este compuesto no mostró diferencias significativas; sin embargo, se observaron aumentos no significativos en la concentración de colesterol en los peces de las salinidades 5,00 ppm ( $77,00 \pm 7,39$ ), 10,00 ppm ( $84,50 \pm 10,79$ ), 15,00 ppm ( $83,75 \pm 6,65$ ) y 20,00 ppm ( $82,33 \pm 7,03$ ) en relación a las concentraciones de colesterol de la salinidad 0,00 ( $49,00 \pm 15,87$ ). El parámetro triglicéridos, muestra diferencias significativas y la formación de tres grupos. El primero estructurado por las concentraciones de triglicéridos en los organismos de las salinidades 10,00 ppm ( $149,50 \pm 24,53$ ), 15,00 ppm ( $131,00 \pm 29,04$ ) y 20,00 ppm ( $100,67 \pm 10,21$ ); el segundo establecido por las concentraciones de triglicéridos en los peces de las salinidades 5,00 ppm ( $178,25 \pm 39,53$ ), 10,00 ppm ( $149,50 \pm 24,53$ ) y 15,00 ppm ( $131,00 \pm 29,04$ ) y el tercero por las concentraciones de triglicéridos en los peces de la salinidad 0,00, ( $266,00 \pm 40,34$ ), condición salina que representa la de mayor concentración de triglicéridos en los peces de la especie *C. macropomum* sometidos a cambios de salinidad.

Tabla 1. Valores promedio de los parámetros séricos hormona cortisol (CORT), glucosa (GLU), colesterol (COL) y triglicéridos (TRIG) medidos en el pez *Colossoma macropomum* sometido a cambios de salinidad.

Parámetro	Salinidades				
	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00
CORT ( $\mu\text{g/dl}$ ) (*)	$12,12 \pm 0,44^a$	$8,45 \pm 1,91^a$	$16,04 \pm 4,51^b$	$23,65 \pm 1,05^c$	$48,55 \pm 7,57^d$
GLU ( $\text{mg/dl}$ ) (*)	$81,00 \pm 12,12^b$	$84,25 \pm 8,30^b$	$65,50 \pm 9,40^a$	$65,75 \pm 6,13^a$	$132,67 \pm 5,51^c$
COL ( $\text{mg/dl}$ ) (ns)	$99,00 \pm 15,87$	$77,0 \pm 7,39$	$84,50 \pm 10,79$	$85,75 \pm 6,65$	$82,33 \pm 7,09$
TRIG ( $\text{mg/dl}$ ) (*)	$266,00 \pm 40,34^c$	$178,25 \pm 39,53^b$	$149,50 \pm 24,57^a$	$131,00 \pm 29,04^a$	$100,67 \pm 10,21^a$

Datos expresados en valores promedio  $\pm$  desviación estándar; ns: diferencias no significativas ( $p > 0,05$ ); \*: diferencias significativas \*\*\*( $p < 0,05$ ).

Los resultados obtenidos, en relación a los aumentos de las concentraciones de cortisol, ponen de manifiesto que en cachama, el estrés probablemente activa el eje hipotalámico-hipofisiario-interrenal, el cual secreta neurotransmisores como serotonina, dopamina o noradrenalina, y también hormonas hipofisarias como la hormona liberadora de corticotropina, que actúa sobre la hipófisis anterior estimulando la secreción de la hormona adrenocorticotropina, la cual actúa sobre el tejido interrenal, para favorecer la liberación de la hormona cortisol al torrente sanguíneo de los peces, durante toda la transferencia al agua salada (GESTO *et al.* 2014a).

Resultados similares a los encontrados en este estudio fueron reportados por MIAN Y SIDDIQUI, (2015), quienes reportaron concentraciones de cortisol aumentadas en todos los cambios salinos al estudiar al pez *Oreochromis mossambicus*.

Las concentraciones de glucosa en sangre, medidas en *C. macropomum* sometido a los cambios salinos, ponen en evidencia el posible empleo de la glucosa como principal fuente energética en los peces sometidos a las salinidades 5,00 ppm a 15,00 ppm, denotando un incremento en el proceso de glicólisis, lo que permite señalar que las reservas hepáticas de carbohidratos almacenadas en forma de glucógeno, son utilizadas por este pez en el rango salino antes señalado (VELÁSQUEZ *et al.* 2011; ALAYE-RAHY *et al.* 2014; SILVA-BRITO *et al.* 2019). Sin embargo, el aumento significativo de esta fuente de energía, observado en los peces de la salinidad 20,00 ppm ( $132,67 \pm 5,51$ ) denota una menor utilización de glucosa y un posible incremento en la activación de los ejes simpático cromafín e hipofisiario interrenal que producen aumentos en las secreciones de cortisol, estimulando los procesos de glucogenólisis y gluconeogénesis. Otra posible explicación a estos aumentos de glucosa en *C. macropomum* pueden estar relacionados con disminuciones de la secreción de insulina por los islotes de Langerhans del páncreas de estos peces, en esta situación de alarma fisiológica, impide la entrada de glucosa a las células y en consecuencia se produce su aumentos en sangre (CHANG *et al.* 2007). Resultados similares a los mostrados en esta investigación se observan en el estudio realizado por GESTO *et al.* (2014b), los cuales hallaron, en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), aumentos séricos de glucosa bajo condiciones de estrés, probablemente, vinculadas con la hormona cortisol. No obstante, estos

resultados difieren de los publicados por LUZ *et al.* (2008) y VELÁSQUEZ *et al.* (2011), quienes encontraron concentraciones disminuidas de glucosa, entre las salinidades 0,00 ppm y 20,00 ppm cuando sometieron al pez *Oreochromis mossambicus* a cambios de salinidad.

Los niveles de triglicéridos hallados en *C. macropomum* en su transferencia por los cambios salinos a los que fue sometido, evidencian, probablemente, el continuo empleo de este lípido como compuesto energético y la inhibición de los mecanismos de síntesis de triglicéridos tales como la actividad de las enzimas glicerol-fosfato-acil transferasa, acil-glicerol-fosfato-acil transferasa o diacilglicerol-acil-transferasa, que participan directamente en la síntesis de triglicéridos a nivel hepático, por el estrés salino (TSENG & HWANG 2008), debido a que en *C. macropomum*, no se observa la recuperación de los niveles de triglicéridos durante los cambios salinos inducidos.

En el presente estudio se muestran resultados en las concentraciones de triglicéridos que se contraponen a los encontrados por JAHAN *et al.* (2020), los cuales reportaron valores promedio de triglicéridos en ejemplares de *Cyprinus carpio* aumentados en todos los cambios salinos a los que sometieron a estos peces.

Las disminuciones no significativas de la concentración de colesterol que se observan en *C. macropomum* pueden atribuirse al hecho de que este compuesto es empleado como precursor en la síntesis de cortisol por este pez en los diferentes cambios de salinidad a los que fue sometido (SEOK PARK *et al.* 2019), hecho que puede corroborarse con los niveles elevados de esta hormona en estos peces durante todos los cambios salinos experimentados, incluyendo el de la salinidad 20,00 ppm que resultó letal para este organismo estenohalino.

Los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los encontrados por SILVA-BRITO *et al.* (2019), quienes hallaron incrementos en los niveles de colesterol sanguíneo en los peces de la especie *Dicentrarchus labrax* analizados durante la transferencia ambientes salinos.

En la Tabla 2 se pueden observar los valores promedio de las concentraciones promedio de las lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad, cuantificadas en el pez *C. macropomum*, sometido, gradualmente, a cambios de salinidad. El análisis estadístico aplicado arroja diferencias no significativas en la evaluación de las lipoproteínas de alta densidad ( $p > 0,05$ ) y diferencias

significativas para las lipoproteínas de baja (Fs= 8,91  $p<0,05$ ) y las lipoproteínas de muy baja densidad (Fs= 13,09  $p<0,05$ ).

La prueba *a posteriori* DMS muestra la formación de dos grupos al evaluar las lipoproteínas de baja densidad, el primero integrado por las concentraciones promedio de las lipoproteínas de baja densidad en los peces de la salinidad 0,00 (26,70 ± 9,54) y los sometidos a la salinidad 5,00 ppm (28,78 ± 6,69) y el segundo conformado por las concentraciones séricas de las lipoproteínas de baja densidad en los peces de las salinidades 10,00 ppm (42,90 ± 5,47), 15,00 ppm (50,50 ± 4,90) y 20,00 ppm (44,77 ± 6,76). En este grupo se encuentra la condición salina (15,00 ppm) que presenta los peces con la mayor concentración de las lipoproteínas de baja densidad. La evaluación de las lipoproteínas de muy baja densidad, muestran la formación de tres grupos, el primero formado por las concentraciones séricas de lipoproteínas de muy baja densidad en los peces sometidos a las salinidades 10,00 ppm (29,90 ± 4,91), 15,00 ppm (26,20 ± 5,81) y 20,00 ppm (20,20 ± 1,93), el segundo constituido por las concentraciones de las lipoproteínas de muy baja densidad en los peces expuestos a las salinidades 5,00 ppm (35,65 ± 7,91) y 10,00 ppm (29,90 ± 4,91), y el tercer grupo constituido por las concentraciones séricas de lipoproteínas de muy baja densidad en los peces de la salinidad 0,00 (53,33 ± 7,85), constituyendo esto las mayores concentraciones de esta fracción lipoproteicas encontradas en estos organismos.

Las disminuciones no significativas de lipoproteínas de alta densidad que se pueden apreciar en los peces expuestos al rango de salinidad entre 5,00 ppm hasta 15,00 ppm, sugiere que, probablemente estos compuestos están siendo empleados como fuente de energía para soportar los ajustes metabólicos que se requieren ante los cambios salinos a los que se expusieron estos

peces, sin embargo, la recuperación en la concentración promedio de las lipoproteínas de alta densidad que experimenta *C. macropomum* en la salinidad 20,00 ppm, en comparación con los organismos de la salinidad 0,00 ppm, permite señalar que, probablemente, este último ambiente salino, provoca una interacción de emergencia metabólica dado su comportamiento de disminución de la ingesta alimentaria, que se apreció en estos ejemplares expuestos a partir de la salinidad 10,00 ppm (VIJAYAN *et al.* 2001; NORDGARDEN *et al.* 2002).

Resulta pertinente señalar que estos peces experimentan disminuciones en los valores promedio de las concentraciones séricas de colesterol y lipoproteínas de alta densidad, lo que permite indicar que, posiblemente, *C. macropomum* utiliza estos compuestos lipídicos como fuente energética, para mantener la osmorregulación en los diferentes ambientes salinos, proceso que demanda energía, y en estas condiciones, el pez, realiza ajustes metabólicos que implican movilización y metabolización de sustratos energéticos (VAISAR 2012).

Estos resultados se contraponen a los publicados por ANDREEVA *et al.* (2020), quienes señalan que las lipoproteínas de alta densidad se alteran en los peces de la especie *Carassius auratus* cuando se encuentran en ambientes hipersalinos participando activamente en el mantenimiento de la osmorregulación en estos organismos.

Las concentraciones aumentadas de las lipoproteínas de baja densidad que se observan en los peces expuestos a las salinidades 10,00 ppm, 15,00 ppm y 20,00 ppm pueden estar relacionadas por la función que cumplen estas lipoproteínas de transportar el colesterol hasta las células donde se requieren para ser empleados como fuente energética. Lo antes expuesto permite señalar que, a mayor concentración de colesterol, la cantidad de

Tabla 2. Valores promedio de los parámetros séricos lipoproteínas de alta densidad (LPAD), lipoproteínas de baja densidad (LPBD) y lipoproteínas de muy baja densidad (LPMBD) medidos en el pez *Colossoma macropomum* sometidos a cambio de salinidad.

Parámetro	Salinidades									
	0,00		5,00		10,00		15,00		20,00	
LPAD (mg/dl) (ns)	18,97	±9,95	12,58 ±	3,97	11,70 ±	2,59	9,05 ±	4,83	17,37 ±	15,53
LPBD (mg/dl) (*)	26,70±	9,54 <sup>a</sup>	28,78±	6,69 <sup>a</sup>	42,90±	5,47 <sup>b</sup>	50,50±	4,90 <sup>b</sup>	44,77±	6,76 <sup>b</sup>
LPMBD (mg/dl) (*)	53,33	±7,85 <sup>c</sup>	35,65±	7,91 <sup>b</sup>	29,90±	4,91 <sup>a</sup>	26,20±	5,81 <sup>a</sup>	20,20±	1,93 <sup>a</sup>

Datos expresados en valores promedio ± desviación estándar; ns: diferencias no significativas ( $p>0,05$ ); \*: diferencias significativas \*\*\*( $p<0,05$ ).

lipoproteínas de baja densidad libre estará disminuida, ya que estas estarían unidas al colesterol, no obstante, al observar las disminuciones progresivas de colesterol en estos peces, en la medida que se incrementa la salinidad a la que se expusieron, resulta lógico esperar altos niveles de lipoproteínas de baja densidad en estos peces (VIJAYAN *et al.* 2001).

Además, se debe referir que el incremento de lipoproteínas de baja densidad puede representar una mayor degradación de las lipoproteínas de muy baja densidad para que de esta manera sean utilizadas como fuente de energía en la medida que aumenta la salinidad a la que se exponen los peces. Este hecho pone de manifiesto que estos organismos, en su intento por adaptarse a las condiciones crecientes de salinidad, realizan ajustes bioquímicos que incluyen una mayor utilización de los lípidos sanguíneos (VIJAYAN *et al.* 2001; NORDGARDEN *et al.* 2002).

Las disminuciones significativas en las lipoproteínas de muy baja densidad experimentadas por el pez *C. macropomum*, a lo largo de la transferencia al agua salada, sugiere un consumo continuo de triglicéridos y de esta fuente lipoproteica, agotándolos sin que se observe que el pez desarrolle mecanismos homeostáticos que permitan recuperar las concentraciones de las lipoproteínas de muy baja densidad. Esto puede deberse a que el estrés salino, al que se sometieron estos peces, inhibió la actividad de las enzimas que participan en la síntesis de triglicéridos disminuyendo sus concentraciones y por ende las de las lipoproteínas de muy baja densidad (VIJAYAN *et al.* 2001; NORDGARDEN *et al.* 2002). Además, debe señalarse que, probablemente, estos peces cursen, a lo largo de la transferencia salina, con una disminución en la secreción de la hormona colecistocinina ocasionando una menor estimulación del páncreas exocrino, conllevando a una menor actividad de enzimas como la lipasa que disminuiría la digestión de los lípidos y por ende menor producción de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (ALDMAN & HOLMGREN 1987).

VELÁSQUEZ *et al.* (2011), en su estudio realizado en el pez *O. mossambicus*, refleja valores promedio de lipoproteínas de muy baja densidad similares a los encontrados en los peces de la presente investigación sometido a la salinidad 20,00 ppm. En torno a esto, se puede señalar que la concentración de lipoproteínas de muy baja densidad experimentada por *C. macropomum* puede tener su origen, posiblemente, en una mayor

secreción de colecistocinina, que provoca la estimulación del páncreas exocrino, ocasionando una mayor liberación de sus fermentos digestivos y entre ellos la lipasa pancreática, que favorece una mayor digestión de las grasas consumidas por el alimento o provenientes de sus reservas, conduciendo a la producción de glicerol y ácidos grasos, para que luego el tejido epitelial del intestino sintetice triacilglicéridos y posteriormente los libere a la sangre en forma de lipoproteínas (AKIYOSHI *et al.* 2005; SEOK PARK *et al.* 2019).

La Tabla 3 refleja las concentraciones promedio de las proteínas totales y sus fracciones, cuantificadas en ejemplares *C. macropomum* expuestos a cambios de salinidad. La prueba estadística aplicada no arrojó diferencias significativas para los parámetros proteínas totales ( $F_s= 2,00$   $p>0,05$ ), albúmina ( $F_s= 1,82$   $p>0,05$ ) y globulinas ( $F_s= 1,84$   $p>0,05$ ). Estos resultados ponen de manifiesto que estos peces mantienen concentraciones adecuadas de proteínas en la transferencia que sufren hacia el agua salada, que lo logran estableciendo un balance ligeramente positivo entre las fracciones utilizadas y las sintetizadas, manteniendo así en equilibrio las proteínas totales en los diferentes cambios salinos (MARRERO-HERNÁNDEZ 2008). Además, debe señalarse que el descenso (no significativo) en la concentración promedio que se obtiene de proteínas totales en *C. macropomum* en la exposición a la salinidad 20,00 ppm ( $1,88 \pm 0,34$ ), puede tener su origen, posiblemente, en que en este valor de salinidad los peces no consumieron el alimento suministrado, presentando una descamación notoria y una piel flácida, hechos que sugieren un empobrecimiento de sus condiciones físicas y de comportamiento, que incrementa la pérdida proteica y en consecuencia la disminución de su concentración (BALCELLS 2001; ABDEL-RAHIM *et al.* 2019).

Los resultados de esta investigación, ponen de manifiesto que, al igual que en el caso de las proteínas totales, los individuos mantienen sus valores de albúmina para conservar la homeostasis durante la transferencia al agua salada, demostrando así que los procesos de síntesis de proteínas hepáticas se mantienen en estas condiciones para satisfacer de proteínas a estos peces durante el estrés salino al que se sometieron, desde la salinidad 0,00 hasta la salinidad 15,00 ppm ( $2,12 \pm 0,33$ ;  $2,30 \pm 0,18$ ;  $2,31 \pm 0,25$ ; y  $2,36 \pm 0,17$ ) (TSENG & HWANG 2008). Sin embargo, la disminución no significativa de la concentración promedio de la fracción proteica albúmina que experimenta *C. macropomum*, en

la salinidad 20,00 ppm ( $0,48 \pm 0,15$ ), probablemente, tenga su origen en la falta de consumo alimentario o también en una alteración en la distribución de esta fracción proteica intra y extravascular, causando deterioro en la permeabilidad vascular y teniendo como consecuencia las pérdidas proteicas extravasculares, ocasionando, probablemente, disminuciones de la presión coloidosmótica hasta valores que impidió la sobrevivencia de los peces en esta salinidad 20,00 ppm, que resultó ser letal para *C. macropomum* (EVANS 2002; UHING 2004).

Lo antes indicado coincide con lo obtenido por VELÁSQUEZ *et al.* (2011), quienes hallaron en su estudio hecho en *O. mossambicus*, concentraciones disminuidas de las proteínas totales y de sus fracciones proteicas albúmina y globulinas en las condiciones salinas de 0,00 ppm a 20,00 ppm.

Las concentraciones de la fracción proteica globulinas, encontradas en los peces de la especie *C. macropomum*, sometidos a cambios graduales de salinidad, permiten apreciar un declive de la concentración promedio de las globulinas, en los peces de la salinidad 20,00 ppm ( $1,41 \pm 0,19$ ) que, probablemente, sea debido a la disminución de la inmunidad observada en peces estresados (posible respuesta inmune inespecífica), que conlleva al descenso en la producción de gammaglobulinas, que constituye uno de los grupos de las proteínas, encargadas de la defensa inmunológica de los peces (FLORES 2002).

Hallazgos similares a los encontrados en esta investigación, son reportados por ABDEL-RAHIM *et al.* (2019), quienes encontraron concentraciones de proteínas totales, albúmina y globulinas sin variaciones significativas en los peces de la especie *Argyrosomus regius*, cuando estos se sometieron a rangos salinos entre 8,00 ppm y 16,00 ppm.

En relación a todos estos resultados, se debe señalar que los aumentos de cortisol encontrados en

*C. macropomum*, deben observarse como una típica respuesta primaria al estrés que puede provocar una respuesta secundaria, es decir, cambios fisiológicos, como los observados en estos peces a lo largo de la transferencia salina a la que fueron sometidos, que ayudan al pez a movilizar sus reservas para satisfacer las nuevas demandas energéticas (BARTON 2002). Esto permite deducir que el cortisol es el responsable de los ajustes fisiológicos para combatir los agentes estresantes y conduce a un amplio rango de respuestas fisiológicas secundarias en peces, incluyendo el estímulo de cambios metabólicos (VELÁSQUEZ *et al.* 2011; SEOK PARK *et al.* 2019). Además debe señalarse que, aunque este pez es estenohalino y por esa condición no soporta altos niveles de salinidad, queda demostrado que los ejemplares de *C. macropomum* juveniles soportan o pueden mantenerse vivos con homeostasis bioquímica en la salinidad 15,00 ppm, a diferencia de los alevines como quedó demostrado en el estudio de URBANO *et al.* (2016). Este hecho resulta un aspecto de suma importancia y un aporte de esta investigación que se debe tener en cuenta, en el futuro, al momento de estudiar este pez.

## CONCLUSIONES

La exposición a concentraciones crecientes de salinidad, a la que fueron sometidos los peces de la especie *C. macropomum*, en este estudio pone en evidencia, que éstos utilizan básicamente carbohidratos y lípidos como fuente energética para mantener su osmorregulación, hasta la condición de salinidad 15,00 ppm y en la salinidad 20,00 ppm se observa el consumo y empleo de los lípidos como fuente de energía durante las 6 horas aproximadamente que sobrevivieron en esta condición salina.

Las proteínas totales y fraccionadas, mantienen su concentración en *C. macropomum*, cuando es expuesto al rango salino entre 5,00 y 20,00 ppm.

Tabla 3. Valores promedio de los parámetros séricos proteínas totales (PT), albúmina (ALB) y globulinas (GLOB), medidos en el pez *Colossoma macropomum* sometido a cambios de salinidad.

Parámetro	Salinidades				
	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00
PT (g/dl) (ns)	2,12±0,33	2,30±0,18	2,31±0,25	2,36±0,17	1,88±0,34
ALB (g/dl) (ns)	0,51±0,27	0,70±0,03	0,64±0,10	0,68±0,07	0,48±0,15
GLOB (g/dl) (ns)	1,62±0,12	1,60±0,15	1,67±0,16	1,69±0,11	1,41±0,19

Datos expresados en valores promedio  $\pm$  desviación estándar; ns: diferencias no significativas ( $p > 0,05$ ).

Los elevados niveles de la hormona cortisol observados en *C. macropomum*, a lo largo de la exposición salina, son responsables de los ajustes metabólicos durante las exposiciones salinas y típicos de la respuesta primaria al estrés.

#### REFERENCIAS

- ABDEL-RAHIM, M., A. LOTFY, T.M. OUTON, H. ALY, G. SALAM, B. ABDELATY. & A. HELAL. 2019. Effects of salinity level on survival, growth, feed utilization, carcass composition, haematological and serum biochemical changes of juvenile Meagre (*Argyrosomus regius*) (Asso, 1801) grown in ground saltwater. *Aquac. Res.* 51(3): 1038-1050.
- AKIYOSHI, H., A. INOUE & M. FUJIMOTO. 2005. Comparative immunohistochemical study of Carassius RF amide localization in teleost guts in different salinity habitats. *Zool. Sci.* 22:57-63.
- ALAYE-RAHY, N., J. HERNÁNDEZ, J. MORALES & S. SABANERO. 2014. Parámetros metabólicos del suero del pescado blanco *Chirostoma estor estor* de Pátzcuaro, Michoacán, México, en cautiverio. *Cienc. Pesq.* 22(2): 29-36.
- ALDMAN, G & S. HOLMGREN. 1987. Control of gallbladder motility in the rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Fish Physiol. Biochem.* 4:143-155.
- ANDREEVA, A., I. TOROPIGYN, D. GARINA, N. LAMASH. & S. VARILIEV. 2020. The role of high-density lipoproteins in maintaining osmotic homeostasis in the Golgfish *Carassius auratus* L (Cyprinidae). *Comp. Ontog. Biochem.*, 56(2): 102-112.
- ARIDE, P., R. ROUBACH & A. VAL. 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquac. Res.* 38(6): 588-594.
- ATENCIO, V., F. LÓPEZ, D. MENDOZA & S. CARRASCO. 2007. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio (*Salminus affinis* Pisces: Characidae) del río Sinú. *Acta Biolo. Colomb.* 1227-1240.
- BALCELLS, A. 2001. *La clínica y el laboratorio*. Décima octava edición. Editorial Masson. México.
- BARANDICA C & B. TORT. 2008. Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 32(123): 267-284.
- BARBIERL, E., K. FERNÁNDEZ, J. SCHULZ. & M. BARBOSA. 2019. Metabolic and histological alterations after exposing *Deuterodon iguape* to different salinities. *Bol. Inst. Pesca.* 45(2): 1-11.
- BARTON, B. 2002. Stress in fishes: A diversity of 12. Responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.* 42: 517-525.
- BICUDO, A., R. SADO & J. CYRINO. 2009. Growth and hematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquac. Res.* 40: 486-495.
- BITTENCOURT, N., L. MOLINARI, D. SCOARIS, R. PEDROSO, C. NAKAMURA, T. UEDA-NAKAMURA, B. FILHO & B. FILHO. 2003. Hematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Sci. Biol. Sci.* 25: 385-389.
- CHANG, J., S. WU, Y. TSENG, Y. LEE, O. BABA & P. H. WANG. 2007. Regulation of glycogen metabolism in gill and liver of the euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acclimation to seawater. *J. Exp. Biol.* 210: 3494-3504.
- DAVIDOV, O., I. KUROVSKAYA, S. BALAKHNIN & P. SHEVCHUK. 2002. Physiological express methods in Diagnostic of fish diseases. *Hydrobiol. J.* 38(1): 65-76.
- EVANS, T. 2002. Albumin as a drug- biological effect of albumin unrelated to oncotic pressure. *aliment pharmacol ther. Rew. Artc.* 16: 6-11.
- EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. DIRECTRICES LEGALES Y ÉTICAS CONTEMPORÁNEAS. 2005. *Cuadernos de Bioética*, XVI(3):393-417.
- FLORES, Q. 2002. Respuestas neuroendocrinas al estrés en peces teleósteos. *Rev. Ictiol.* 10: 57-78.
- GESTO, M., C. OTERO, M. LÓPEZ, J. MÍGUEZ, J. SOENGAS & M. CONDE. 2014a. Is plasma cortisol response to stress in rainbow trout regulated by catecholamine-induced hyperglycemia. *Gen. Comp. Endocrinol.* 205: 207-217.
- GESTO, M., J. SOENGAS, A. RODRÍGUEZ, J. MÍGUEZ & M. CONDE. 2014b. El tratamiento con arginina y vasotocina induce una respuesta al estrés y ejerce un potente efecto anorexígeno en la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*. *Rev. Neuroendocrinol.* 26(2): 89-99.
- HENRY, J. 2007. *El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico*. Marbaán Librod, S.L. Madrid, España. 1504 pp.

- JAHAN, I., V. TIWARI, V., A. VERMA. & A. RANHAN. 2020. Effects of salinity profile of *Cyprinus carpio* reared in inland saline water. *J. Environ.*, 41: 228-233.
- LUZ, R., R. MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, N. DE PEDRO, & M. DELGADO. 2008. Growth, food intake regulation and metabolic adaptations in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. *Aquaculture*. 276(1-4): 171-178.
- MANCINI, M. 2002. *Cursos Introducción a la Producción Animal y Producción Animal I*, FAV UNRC. Argentina.
- MARRERO-HERNÁNDEZ, M. 2008. Estrés osmótico en *Chelon labrosus* (Risso, 1827). *An. Univ. Etol.* 2: 56-61.
- MIAN, J, & P. SIDDIQUI. 2015. Effects of salinity and protein levels on haematological. And physiological changes and growth of hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*). *Iran. J. Fish. Scienc.* 19(3): 1268-1279.
- NORDGARDEN, U., G. HEMRE & T. HANSEN. 2002. Growth and body composition of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Parr and smolt fed diets varying in protein and lipid contents. *Aquac.* 207: 65-78.
- OGIHARA, T., K. MIYAI & O. NISHI. 1977. Enzyme-Jabelles immunoassay for plasma cortisol. *J. Clin. Endocrin. Metabol.* 44:91-95.
- PEPELS, P., G. PESMAN, H. KORSTEN, S. WENDELAAR & P. BALM. 2002 Corticotropin releasing hormone (CRH) in the teleost fish *Oreochromis mossambicus* (tilapia): in vitro release and brain distribution determined by a novel radioimmunoassay. *Peptides* 23: 1053-1062.
- POLEO, G., J. ARANBARRIO, L. MENDOZA & O. ROMERO. 2011. Cultivo de cachama blanca en altas densidades y en dos sistemas cerrados. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília* 46(4): 429-437.
- SALAZAR-LUGO, R., Y. BLANCO, L. CENTENO. & M. LEMUS. 2011. Variaciones en los parámetros hematológicos y en la respuesta inmune inespecífica de la cachama negra *Colossoma macropomum* expuesta a cadmio. *Saber.* 23(1): 28-35.
- SANDRE, L., H. BUZZOLLO, L. NEIRA, T. NASCIMENTO & R. JOMORI. 2017. Growth and energy metabolism of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets with different levels of carbohydrates and lipids. *Fish. Aqu. J.* 8: 225.
- SARDELLA, B & C. BRAUNER. 2008. The effect of elevated salinity on “California” Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. urolepis hornorum*) metabolism. *Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol & Pharmacol.* 148: 430-436.
- SEOK PARK, J., H. WOO. H. GIL. & J. SU OH. 2019. Changing salinity affects hematological and histological response in hybrids and hybrid Triploids between River Puffer, *Takifugu obscurus* and Tiger Puffer, *T. rubripes*. *Dev. Reprod.* 23(3): 239-253.
- SILVA, C., L. GOMES & F. BRANDAO. 2007. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages. *Aquac.* 264: 135-139.
- SILVA-BRITO, F., F. TIMÓTEO, A. ESTEVES, M. JOAO PEIXOTO. & R. OZORIO. 2019. Impact of the replacement of dietary by animal fat and environmental salinity on the metabolic response of European Seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 233: 46-59.
- SOKAL, R & F. ROHLF. 1980. *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverté, S.A. España.
- TOMALA, D., J. CHAVARRÍA & B. ESCOBAR. 2014. Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y temperatura del agua. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42(5): 971-979.
- TSENG, Y & P. HWANG. 2008. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 148 (4): 419-429.
- UHING, M. 2004. The albumin controversy. *Clin. Perinatol.* 31:475-88.
- URBANO, T., W. VELÁSQUEZ, H. GIL, Y. ANTÓN, A. VARGAS & R. SALAZAR. 2016. Respuestas hematológicas de alevines de cachama (*Colossoma macropomum*) sometidos a cambios graduales de salinidad. *Zootecnia Trop.* 34 (1): 79-86.
- URBINATI E. & P. CARNEIRO. 2005. *Prácticas de manejo de estrés se dos peixesem piscicultura*. In: *Cyrino, JEP. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. 1ª. ed. Jaboticabal: *Sociedade Brasileira de Aquicult. Biol. Aquat.* 171-194.
- VAISAR, T. 2012. Proteomics investigations of HDL: challenges and promise, *Curr. Vasc. Pharmacol.* 10:410-421.

- VALENZUELA, A., K. ALVEAL & E. TARIFENO. 2002. Res16. Puestas hematológicas de truchas (*Oncorhynchus mykiss*) sometidas a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana*. 66 (2): 255-261.
- VARGAS-CHACOFF, L., I. CALVO, F. RUIZ-JARABO, J. VILLARROEL, A. MUÑOZ, S. TINOCO, A. CARDENAS & J. MANCERA. 2011. Growth performance, osmoregulatory and metabolic modifications in red porgy fry, *Pagrus pagrus*, under different environmental salinities and stocking densities. *Aquac. Res.* 42:1269- 1278.
- VELÁSQUEZ, W., M. LEMUS, Y. BLANCO, P. CRUCES, A. VILLEGAS & L. MARCANO. 2011. Parámetros bioquímicos en *Oreochromis mossambicus* (pisces) sometido a cambios graduales de salinidad. *Bol. Inst. Oceanog. Venez.* 50 (1): 59-67.
- VIJAYAN, M., A. TAKEMURA & T. MOMMSEN. 2001. Estradiol impairment osmoregulatory capacity in the euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Am. J. Physiol. Regul.* 281(4):1161-1168.

RECIBIDO: ENERO 2020

ACEPTADO: JUNIO 2020