

Diagnóstico del Estrés en Peces

Ana Auro de Ocampo*
Luis Ocampo Camberos**

Abstract

This study describes the types of environmental stress observed in fish. Some of these types include social stress due to high density of population in intensive aquaculture, physical stress caused by changes in temperature, oxygen and pH, chemical stress due to exogenous and endogenous contaminants, physical stress due to trauma, and nutritional stress caused by deficiencies or excess of some nutrients in the diet. It also describes the latest methods to diagnose them. Among these methods one can include molecular and biochemical indicators which measure DNA adductors, measurement of steroid hormone receptors, measurement of metallothionein and lipid peroxidation. A review of the hormonal biochemistry that registers and measures the secondary endocrine responses to stress like catecholamines, plasmatic cortisol, propiomelanocortine and plasmatic glucose is also described. Other methods to measure the heat-induced stress is by means of the heat-shock proteins and reproductive parameters. There is also a computerized non-invasive method to measure stress in fish. Finally, the histopathological methodology based on the observation of rodlet cells, and the modifications on size and form of some cells is another measuring method.

KEY WORDS: STRESS, FISH, MEASURING METHODS.

Resumen

Se presenta una revisión del estrés ambiental y sus diferentes tipos, observados en los peces; por ejemplo el estrés social debido a las altas densidades de población que se manejan en acuicultura intensiva; estrés físico, causado por cambios en la temperatura, oxígeno y pH del agua; estrés químico, debido a contaminantes endógenos y exógenos; estrés físico, debido a traumatismos; y estrés nutricional, por deficiencias o excesos de algún nutrimento en la dieta. También se describen los métodos actuales para diagnosticarlos, entre ellos: indicadores moleculares y bioquímicos como la medición de aductores estables de ADN, medición de receptores de hormonas esteroides, medición de metalotioneínas y medición de la peroxidación lipídica. La metodología bioquímica hormonal mide las respuestas endocrinas secundarias al estrés, como la hipersecreción de catecolaminas o niveles de cortisol plasmático, propiomelanocortina y concentración de glucosa plasmática. Para el estrés por calor se cuenta con métodos de medición de las proteínas del choque de calor. Algunos parámetros reproductivos se utilizan para medir también el estrés. Se describe un método computarizado no invasivo, así como la metodología histopatológica que se basa en la observación de células de rodlet y las modificaciones en tamaño y forma de algunas células.

PALABRAS CLAVE: ESTRÉS, PECES, METODOS DE MEDICION.

Recibido el 12 de marzo de 1999 y aceptado el 17 de agosto de 1999

*Departamento de Especies Productivas no Tradicionales: Peces, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.

**Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

Introducción

La acuicultura industrial que maneja grandes poblaciones de organismos en espacios limitados, ha traído consigo la necesidad de estudiar el efecto que estas densidades provoca en los peces, ya que las tasas de crecimiento, los índices de fertilidad y, más aún, la incidencia y frecuencia de enfermedades, están determinadas por la respuesta de los organismos al síndrome general de adaptación (estrés). Este último se define como la suma de todas las respuestas fisiológicas que ocurren cuando los organismos intentan establecer o mantener la homeostasis.¹

El estrés agudo o letal ocurre rápidamente como respuesta a perturbaciones a corto plazo, tales como derrames de sustancias químicas o cambios radicales en los factores ambientales, como oxígeno disuelto y temperatura. Los efectos incluyen sólo parte del ciclo vital del organismo.

El estrés crónico o subletal es más común, porque los efectos adversos se manifiestan primero a nivel suborganismo y resulta de exposiciones continuas o periódicas a bajos niveles de agentes causantes de estrés en periodos de semanas o aun años. Los efectos que producen, a largo plazo incluyen el ciclo de vida completo del organismo.²

El estrés crónico puede subdividirse en componentes directos e indirectos, los efectos directos de un agente causal de estrés en un organismo son metabólicos y afectan los componentes funcionales de las células, tales como las enzimas y las membranas o modifican funciones como la respiración, circulación, respuesta inmune, osmorregulación y regulación hormonal.³

Los efectos indirectos de agente causal de estrés, pueden considerarse como modificaciones de actividades conductuales tales como la alimentación, reproducción y la capacidad de competencia.⁴

Desde un enfoque etológico los peces sujetos a estrés pueden presentar conductas anormales, como un aumento en la agresividad; sobre todo en peces territorialistas, con las consecuentes mutilaciones y canibalismo.^{5,6} Desde el punto de vista fisiológico, la adaptación representa un gasto energético menor, en virtud de que el pez no se tiene que desplazar mucho para encontrar su alimento, que es suministrado por el hombre, y porque los estanques o los acuarios son de tamaño limitado.⁷

Los peces en cautiverio están sujetos a largos periodos de estrés debido al manejo, los cambios en la calidad del agua y el hacinamiento. Una causa común de muerte en peces cautivos es el desequilibrio osmótico (choque osmótico) que ocurre como resultado de un aumento en el flujo sanguíneo a través de las lamelas secundarias y el aumento de la permeabilidad de las lamelas al agua y a iones.⁸

Por otro lado, el ambiente artificial, si bien es menos peligroso ya que se eliminan predadores y algunos otros riesgos físicos, como rocas y contaminantes exógenos, puede resultar contraproducente; tal es el caso bien fundamentado de la exoftalmia en el *Betta splendens* por

colocársele en peceras esféricas,^{8,9} o bien la presentación de epizootias importantes con enorme morbilidad y mortalidad por el alto grado de contacto directo entre los peces, cuando éstos se encuentran hacinados.¹⁰⁻¹²

En peces de ornato se ha escrito mucho sobre las lesiones que son una respuesta lógica al cautiverio. Los peces mantenidos en acuarios y sometidos a condiciones adversas, reaccionan manifestando desequilibrios endocrinos, hiperplasia celular e involución linfoide,¹¹ las lesiones traumáticas y las infecciosas constituyen una patología especial de estos organismos, en los que tiene como causalidad la calidad del agua y la introducción de nuevos peces en un ambiente cerrado.⁹ Si este estrés repercute sobre las reacciones inmunitarias de defensa del animal, aumentará, por tanto, la susceptibilidad a las infecciones. Este hecho se presenta en los teleosteos y ha sido comprobado por Wedemeyer.¹³ En mamíferos acuáticos y en elasmobranchios de exhibición, sobre todo en ballenas, delfines y tiburones, se considera como patología del cautiverio a las lesiones traumáticas y los hallazgos patológicos incidentales en organismos en confinamiento, aunque la etiología se radique cronológicamente como anterior al mismo.¹⁴⁻²¹

Entre los tipos de estrés ambiental causantes de lesiones en peces se consideran: a) Estrés social, debido a altas densidades de carga; b) estrés físico, por cambios en la temperatura, O₂ y pH; c) estrés químico, por contaminación exógena o endógena; d) estrés traumático; e) estrés nutricional.^{10, 14, 22-25}

Considerando estas causas, es probable que las infecciones microgénicas o las parasitarias, así como la mortalidad se puedan atribuir al estrés.^{9,10,12,26}

Desarrollo

Estrés social

Es indiscutible que el tamaño de la población, así como la jerarquía de los peces en una población son causa de competencia, tanto de espacio como de alimento y consecuentemente de estrés; en sentido estricto, los tipos de estrés físico, traumático y nutricional, pueden considerarse como estrés social. Sin embargo, es conveniente su diferenciación con objetivos prácticos en este trabajo, dado que existe el factor "manejo humano", que causa también ese tipo de estrés, además de otros, y que no está relacionado con la calidad ni la cantidad de la población íctica. La aparente sobrepoblación, que puede presentarse en explotaciones intensivas de peces, es un factor de estrés que se elimina fácilmente si se alimenta a los peces artificialmente, ya que la competencia por alimento no se presenta si todos y cada uno de los organismos recibe su ración; asimismo, se evita la agresividad. Sin embargo, algunos peces como la tilapia son muy agresivos y territorialistas, esto no es una respuesta a la sobrepoblación, sino una característica innata de los cíclidos, especie a la que pertenece la tilapia.⁵

En otros casos, algunos investigadores han encontrado que bajo condiciones de cautiverio, las anguilas desarrollan patrones de comportamiento agresivo; Peters *et al.*²⁵ llevaron a cabo un bioensayo confinando a esa especie durante 10 días y encontraron que se establece una jerarquía, donde los peces dominantes muestran menos cambios en la cuenta total de leucocitos, el cortisol plasmático, el tamaño y estructura del tejido interrenal (corteza adrenal), así como en la imagen del epitelio lamelar, en comparación con los peces subordinados.^{27,28}

En anguilas y salmones también se han encontrado varios cambios degenerativos en los tejidos del tracto gastrointestinal, así como vejigas natatorias anormalmente grandes, cuando fueron mantenidos artificialmente en altas densidades.^{29,30}

Estrés físico

Mucho se ha investigado respecto del efecto de temperaturas por arriba o abajo del rango de seguridad en los peces, aunque es probable que el efecto observado se deba a la disminución del oxígeno disuelto en el agua, cuando la temperatura se eleva. El epitelio lamelar de las branquias se presenta encogido y las células pilares colapsadas cuando se expuso a la tilapia, a algunos cyprinodóntidos, a la perca y a la trucha Arcoiris, a temperaturas entre 30°C y 45°C. Bajo estas condiciones, se observó en el hígado una esteatosis y en páncreas cambios autolíticos, además en las células tubulares renales hubo cambios degenerativos.³¹⁻³⁴ El estrés por frío también ha sido estudiado en tilapias (*Oreochromis mossambicus*), exponiéndolas a temperaturas hasta de 5°C y se ha detectado también contracción del epitelio lamelar.³⁵

La acidez del agua, producida por disminución de oxígeno y aumento de bióxido de carbono o por la presencia de alta cantidad de material orgánico, es también causa importante de estrés en los peces. Golis *et al.*³⁶ realizaron experimentos en trucha para comprobar el efecto de la acidez y midieron la cantidad de ácidos grasos y de fosfolípidos en las membranas branquiales, observando cambios histológicos en la estructura lamelar.³⁷⁻³⁹

Estrés químico.

Los xenobióticos constituyen una amplia gama de contaminantes exógenos que se han estudiado exhaustivamente como causantes de estrés, a pesar de que estos estudios se refieren a organismos de embalses naturales que se pueden contaminar por los efluvios industriales, la acuicultura intensiva no queda exenta de peligro, dado el origen del agua que alimenta a los estanques ya que los contaminantes químicos producen cambios bioquímicos y estructurales que constituyen una patología muy especial.^{24,36,37,40,41}

El efecto de contaminantes endógenos como el amonio está muy bien documentado como tóxico para los peces;

en este sentido, muchos investigadores han demostrado que la toxicidad está determinada por la cantidad de amonio no ionizado (NH₃, NH₄OH) en solución en el agua, más que por la forma ionizada (NH₄), y que el grado de disociación está controlado primeramente por el pH y la temperatura del agua. Son constantes la hiperplasia del epitelio branquial, así como cambios degenerativos y hemorragia en hígado cuando se expone a los peces a estrés crónico por amonio.^{7,10,42}

Estrés nutricional

En sistemas de cultivo intensivos, son comunes los problemas de degradación o pérdida de nutrimentos o de vitaminas en el alimento como consecuencia de su mal manejo, que conduce a una patología muy específica: la enfermedad nutricional de las branquias, asociada con alimentos de iniciación,⁴³ o la pansteatitis de la trucha asociada a la formulación de alimentos con ácidos grasos no saturados, de origen íctico o deficiencia de vitamina E,²⁸ así como lesiones hepáticas en las anguilas, asociadas a estrés nutricional,^{22,44} o la miopatía nutricional en salmón del Atlántico⁴⁵ y otras especies.⁴⁶⁻⁴⁸

Estrés traumático

Son abundantes las referencias con relación a lesiones traumáticas en organismos acuáticos por canibalismo o por elementos físicos peligrosos dentro del estanque o del acuario. Las lesiones son fácilmente observables macroscópicamente, muchas constituyen la vía de entrada a infecciones bacterianas, virales o micóticas que son causa de pérdidas en la economía acuícola. Este tipo de lesiones son mejor estudiadas en mamíferos acuáticos que en peces.^{15,16,17,18,19,20} sin embargo, es de primera importancia estudiar aquellas cuya causa predisponente son heridas, ya que es uno de los efectos de la convivencia en grandes densidades o de la metodología de cultivo en jaulas o corrales y de la utilización de las artes de pesca.^{9,12,14,42,47,49-54}

Los medios más comunes de identificar o medir los efectos directos del estrés en el pez son los métodos bioquímicos moleculares, los bioquímicos hormonales, los métodos fisiológicos computarizados no invasivos y los histopatológicos.²

Diagnóstico del estrés en peces

Metodología bioquímica molecular

MEDICION DE ADUCTORES ESTABLES DE ADN CON METABOLITOS DE BENZO(A)PIRENO (BaP) Y OTROS XENOBIOTICOS.

Una amplia variedad de xenobióticos sufren biotransformación en el pez. La BaP, que es un hidrocarburo aromático

policíclico, se oxida debido al sistema citocromo P-450 monooxigenasa para producir epóxidos, que se recomponen espontáneamente como fenoles y que se metabolizan posteriormente como consecuencia de epóxido-hidrasas que los convierten en transdihidrodiolos, algunos de los cuales son carcinógenos.⁵⁵ Pequeñas porciones de BaP transdihidrodiolos se unen al ADN y a otras macromoléculas en la célula para formar aductores, por medio de los cuales ejercen presumiblemente su efecto carcinógeno. En este contexto, la detección de mínimas cantidades de aductores de ADN pueden proveer una información valiosa. Además, éstos pueden dañar al ADN causando rupturas de la banda simple en éste y en sitios apurínicos álcali-sensibles, estas rupturas pueden detectarse por medio de diversos métodos.⁵⁶

MEDICION DE RECEPTORES DE HORMONAS ESTEROIDES.

Los xenobióticos también se pueden unir a proteínas en sitios tales como receptores de hormonas esteroideas que pueden iniciar o promover la transcripción de genes. Muchos compuestos como pesticidas, tienen acciones estrogénicas o antiestrogénicas que interfieren con las acciones moleculares de los estrógenos en los peces teleosteos; por ejemplo, el clomifeno es capaz de desplazar a los estrógenos de su receptor. En este sentido, los estudios de competencia con receptores de estrógenos pueden ser útiles para medir posibles actividades estrogénicas y antiestrogénicas e indirectamente estrés.⁵⁷

MEDICION DE METALOTHIONEINAS

La exposición de los peces a metales pesados como zinc, cobre, cadmio y ocasionalmente mercurio inducen la síntesis de metalothioneínas en los tejidos hepático, renal y branquial.⁵⁸ Estas son proteínas de bajo peso molecular, ricas en cisteína, que se unen a los metales pesados.

También se sabe que tienen una función protectora al secuestrar la mayor parte de los iones metálicos libres dentro de la célula, previniendo su unión a grupos sulfhidrilos de otras proteínas funcionalmente importantes, que tienen efectos tóxicos. La medición de metalothioneínas se realiza mediante cromatografía de gel permeación a pH de 7.4, que muestra un cromatograma de las fracciones citosólicas del hígado que ha sido expuesto a metales pesados. Por esta razón las metalothioneínas se proponen como un indicador biológico específico de la contaminación por metales pesados en sistemas acuáticos, en virtud de que constituye la causa primordial de estrés.⁵⁹

Otros factores bióticos y abióticos pueden influenciar los niveles de metalothioneínas en el pez, como la estación reproductiva,⁶⁰ el tratamiento con estradiol,⁶¹ las hormonas corticosteroides y varios otros agentes químicos causantes de estrés.⁶² y el sistema inmune están suprimidos.^{53, 69}

MEDICION DE LA PEROXIDACION LIPIDICA .

La peroxidación lipídica es un proceso químico resultante del deterioro oxidativo de lípidos polinsaturados en membranas biológicas. Se presume que es uno de los mecanismos primarios de lesión a la célula por xenobióticos.⁶³ Resulta de la ruptura de la membrana celular y la pérdida de actividad de las enzimas unidas a la membrana. La producción de malondialdehído, que es un producto de la hidrólisis de endoperóxidos lípidos, se mide colorimétricamente como índice de peroxidación lipídica.⁶⁴ También se cuenta con sistemas de incubación in vitro para investigar la peroxidación lipídica en los tejidos de los peces.⁶⁵

La mayor ventaja de los indicadores bioquímicos específicos consiste en que determinan la naturaleza del agente causal. Una de las limitantes de esta metodología es su elevado costo de montaje.⁶⁶

Metodología bioquímica hormonal

Ésta se basa en la medición de respuestas endocrinas secundarias al estrés, como la hipersecreción de catecolaminas o niveles de cortisol plasmático, propiomelanocortina y concentración de glucosa plasmática.

Las catecolaminas son rápidamente secretadas por las células cromafines, en respuesta a estímulos nocivos. La hipersecreción de catecolaminas provoca una enorme gama de alteraciones fisiológicas y bioquímicas llamados efectos secundarios como hiperglicemia, hiperlactecemia, depleción de las reservas glicogénicas tisulares, catabolismo de la proteína muscular, colesterol y ácidos grasos libres. Típicamente, estos cambios persisten pocos días después de que se expuso al pez al estímulo adverso, mientras que si la exposición es crónica se puede inducir a cambios como reducción de crecimiento, reducción de la resistencia a enfermedades, reducción de la tolerancia a manipulaciones y reducción del éxito reproductivo, fenómenos todos ellos considerados como efectos terciarios.¹

La secreción de cortisol se estimula en respuesta a muchos factores de estrés, debido a que la corticotropina viaja, vía circulación periférica, al tejido interrenal. Este efecto primario inicia las respuestas secundarias que son, en primer lugar, disminución de los niveles de proteína muscular (catabolismo) y de glicógeno hepático (gluconeogénesis),⁶⁷ manteniendo la hiperglicemia, para poder distribuir la energía; aumento de los niveles sanguíneos de glucosa y de lactatos, así como aumento de la tasa cardíaca y del flujo sanguíneo a las branquias y alteración de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres; además de alteración del balance hidromineral en sangre y tejidos, produciéndose perturbaciones iónicas y osmóticas, así como un incremento en la osmolaridad del plasma en medios hipertónicos o decremento en medios hipotónicos.⁶⁸ Se produce diuresis y aumento del consumo de agua (quizá por el aumento del flujo sanguíneo a las branquias), además los melanocitos y el

Los niveles de cortisol plasmático se pueden medir por radioinmunoensayo; sin embargo, un problema de estas mediciones constituye su rápida inducción durante el manejo, ya que los niveles se elevan en promedio de 4 minutos y no representan fielmente la respuesta a estrés crónico.^{66,68,70}

La reproducción en los peces es especialmente sensible a los agentes físicos y químicos, por lo que la medición plasmática de hormonas, tales como estradiol y 11 cetotesterona, pueden ser útiles. Un buen ejemplo de que estas hormonas son indicadoras de procesos de estrés es el efecto crónico de la administración oral de plomo, BaP y la mezcla de bifenilpoliclorinados que afectan notablemente los niveles de estradiol-17 β y de la testosterona; sin embargo, es necesario medir un amplio rango de variables endocrinas con el propósito de determinar el principal sitio de acción del agente de estrés en el eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal.⁶⁶

Para el estrés por calor, la medición de las proteínas del choque de calor es una metodología común. Todos los organismos, incluyendo teleosteos, responden a la alta temperatura sintetizando un grupo de proteínas altamente conservadas, llamadas proteínas del choque de calor.⁷¹ La inducción de su síntesis es rápida e incrementa la termotolerancia del organismo a subsecuentes exposiciones al calor. Estas proteínas forman asociaciones con los receptores de las hormonas esteroides y con una ATPasa de membrana, lo que sugiere que esta proteína puede tener una función reguladora de transporte dentro de la célula.^{32,66}

Medición de parámetros reproductivos

En el caso de acuicultura industrial (intensiva e hiperintensiva), los organismos que mayor tiempo pasan en confinamiento son los reproductores; en este sentido, los estudios sobre el efecto del estrés por cautiverio se abocan a medir los parámetros reproductivos, como número y viabilidad de huevos, alevines y crías, así como calidad de la progenie, estos parámetros marcan la pauta para la metodología de la reproducción de estas especies.^{72,73}

Método fisiológico computarizado, no invasivo

Un método no invasivo para dar seguimiento a la respuesta del pez sujeto a condiciones de estrés se basa en detectar las variaciones de los signos eléctricos de un pez (individualmente), cuando éste se mantiene conectado a electrodos en una cámara. Los signos eléctricos atribuidos al movimiento ventilatorio, actividad muscular y locomoción, se amplifican y procesan en una computadora que compara estos resultados con los niveles de glucosa plasmática, aunque esta metodología únicamente es útil para medir el efecto del estrés agudo.⁷⁴

La observación de la conducta de los peces es considerada por algunos investigadores como una herramienta útil y no invasiva en el diagnóstico de estrés. Sin embargo, debe considerarse que es difícilmente medible y que numerosos aspectos en el manejo de los peces producen respuestas absolutamente normales, que pueden confundirse con signos de estrés. Por ejemplo, la segregación y aparente anorexia de un pez cuando se proporciona el alimento, es una conducta que podría tomarse como signo de estrés y que en muchas ocasiones se debe únicamente a un mal sabor del alimento. La disminución de la tasa reproductiva en los peces puede ser un signo de estrés crónico, o simplemente un mal sexado de los reproductores o un error de apreciación en la madurez de los mismos. De tal manera que es difícil separar una causa de estrés y un error de manejo, aunque debe considerarse que los errores de manejo pueden traer como consecuencia un estrés crónico si éstos se repiten continuamente.

Metodología histopatológica

Existen indicadores histopatológicos integrativos para detectar los efectos del estrés en peces. Los cambios histopatológicos permiten la identificación de los órganos, células y organelos blanco que han sido afectados en vivo. Los cambios histopatológicos son una integración de los daños moleculares.¹⁰ Los métodos más ampliamente utilizados son la cuantificación del peso de las glándulas interrenales (indirectamente, con el peso de los riñones) y la medición de las células corticales de la glándula interrenal y de los núcleos de dichas células; estos parámetros son variables cuantitativas que pueden demostrar fácilmente la diferencia entre organismos que manifiestan o no estrés. Un parámetro más, aunque no perfectamente estudiado, es la presencia de células de rodlet, aunque existen aún discrepancias respecto de su significado y función, hay estudios bien fundamentados, utilizando microdensitometría, para comparar el ADN nuclear, que demuestran que las células de rodlet corresponden al pez en el que se observan y no a parásitos,^{42,75-79} aunque la presencia o ausencia de estas células, así como la presencia o ausencia de lesiones específicas representan un parámetro cualitativo que es difícil medir con exactitud.

Las glándulas interrenales (suprarrenales) se encuentran en los teleosteos, incluidas en el parénquima renal del riñón anterior o hematopoyético, son fácilmente identificables y las células corticales se pueden medir.¹¹

Las células de rodlet son estructuras muy características que se han observado en el epitelio de las branquias, en el epitelio de los túbulos renales, en endotelios vasculares, en el epitelio del tracto gastrointestinal e incluso dentro de los vasos sanguíneos, son ligeramente PAS positivas y se han observado en varias especies de teleosteos asociadas a un efecto de estrés.⁷⁸

Las células de rodlet se observan en un principio con

inclusiones amorfas, un complejo de Golgi prominente, con ubicación supranuclear y retículo endoplásmico granular, posteriormente los bordes de la célula se observan fibrosos, con microvellosidades apicales, el retículo endoplásmico se distiende, presenta vesículas y las mitocondrias se localizan en la región apical, en forma de sacos o de palo de golf con centros electrodensos, orientados hacia el ápice abierto de la célula.^{80,81}

Discusión

El estrés puede ser evaluado por el aumento o la disminución en algunas variables bioquímicas en la sangre y los tejidos, así como por modificaciones en las respuestas fisiológicas y por la imagen de las células y los tejidos. Los cambios en todos estos niveles de la organización biológica pueden indicar: a) Lesiones de la célula, b) pérdida de la homeostasis, c) mostrar una respuesta compensatoria debido a la excitación, miedo o dolor, d) demostrar un aumento en la síntesis de proteínas específicas de efecto detoxicante, o e) indicar una función inmune alterada o deprimida; en este sentido, el conocimiento de los métodos de evaluación de estas variables son de primera importancia, sobre todo al relacionar los resultados con efectos clínicos o con efectos reproductivos.

Desde el punto de vista del productor, cualquier causa de estrés sobre los peces incide indiscutiblemente en su economía. Desde un enfoque científico, las respuestas del pez sujeto a investigación se modifican significativamente cuando existe uno o varios factores de estrés. Las técnicas de medición antes mencionadas proveen de una herramienta útil para demostrar la presencia de factores causantes de estrés y con ello su posible prevención. La investigación en este campo es actualmente muy amplia y concluyente, mas no concluida. Muchas otras variables bioquímicas, fisiológicas y reproductivas pueden aún coadyuvar más en este campo.

Referencias

1. Wedemeyer GA, McLeay DJ. Methods for determining the tolerance of fish to environmental stresses. In: Pickering PD, editor. *Stress and fish*. New York: Academic Press, 1981:247-275.
2. Adams MS. Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. *Proceedings of the American Fisheries Symposium* 8; 1990 February 23-24; Bethesda, (Ma). Bethesda (Ma): American Fisheries Society, 1992:1-8.
3. Larsson A, Haux C, Sjobeck M. Fish physiology and metal pollution: results and experiences from laboratory and field studies. *Ecotoxicol Environm Safety* 1985;9:250-281.
4. Reynolds WW, Casterlin ME. The role of behavior in biomonitoring of fishes: laboratory studies. In: Hocutt CH, Stauffer JR, editors. *Biological monitoring of fish*. Lexington (Ma): Lexington Books, 1980.
5. Arredondo FJL, Lozano-Gracia S. El cultivo de la tilapia en México. *Memorias del Primer Curso Internacional de Producción de Tilapia*; 1996 junio 20-22; México DF. México (DF): Division de Educación Continua, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1996:7-18.
6. Bardach JE, Ryther JH, McLaren WO. *Acuicultura. Crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce*. Mexico (DF): AGT editor, 1990.
7. Córdova MS, Auró OA, de Buén AN. Lesiones histopatológicas producidas en la tilapia (*Oreochromis sp*) por el confinamiento experimental en acuario. *Vet Méx* 1996;27:143-148.
8. Gratzek JB, Matthews JR. *Aquariology. The science of health management*. Morris Plains (NJ): Tetra Press, 1992.
9. Herkner H. Captivity injuries and their causes in aquarium fish. *Prakt Tierärz* 1977;58:64-65.
10. Hinton DE, Laurén DJ. Integrative histopathological approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. In: Adams SM, editor. *Biological indicators of stress in fish*. Bethesda (Ma): American Fisheries Society, 1992:51-66.
11. Roberts RJ. *Patología de los peces*. Madrid, España: Mundi-Prensa, 1981.
12. Stteger TM, Grizzle JM, Weathers K, Newman M. Bacterial diseases and mortality of angler caught Largemouth Bass releases after tournaments on Walter F. George Reservoir, Alabama-Georgia. *North Am J Fisheries Mgmt* 1994;14:435-441.
13. Wedemeyer G. The role of stress in the disease resistance of fishes. In: Snieszko SF, editor. *Disease of fishes and shellfishes special publication*. Bethesda (Ma): American Fisheries Society, 1970;5:30-36.
14. Bucke D. Fish farming and disease, behavioral aspects. *Appl Anim Ethol* 1980;6:87-94.
15. Colgrove GS. Suspected transportation-associated myopathy in a dolphin. *J Am Vet Med Assoc* 1978;173:1121-1123.
16. Greenwood AG, Taylor DC. Clinical and pathological findings in dolphins in 1978. *Aquat Mamm* 1979;7:71-74.
17. Grimes DJ, Brayton P, Gruber SH, Colwell RR. *Vibrio* disease in captive sharks. In: Vivares CP, Bonami JR, Jaspers E, editors. *Pathologie en aquaculture marine*. Montpellier, France: Université Montpellier, 1986;9:231-232.
18. Lewis RJ, Berry K. Brain lesions in a Pacific White-Sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*). *J Wildl Dis* 1988;24:577-581.
19. Macneill AC, Gornall TA, Giddens WE, Boyce J. Evidence of *Nocardia sp* in a captive-born Beluga whale. *Aquat Mamm* 1978;6:50-53.
20. Migaki G, Lagios MD, Herald ES, Dempster RP: Hepatic trematodiasis in a Ganges River dolphin. *J Am Vet Med Assoc* 1979;175:926-928.
21. Morton B. Osteomyelitis (pyogenic spondylitis) of the spine in a dolphin. *J Am Vet Med Assoc* 1978;173:1119-1120.

22. Affandi R, Biagianti S. A study of the liver of eels kept in captivity: disturbances induced in hepatocytes by artificial diets. *Aquaculture* 1987;67:226-228.
23. Bayer RC, Gallager ML, Leavitt DF. Nutrient requirement of the lobster and nutrition pathology. *Mar Fish Rev* 1978;40:44-46.
24. Klaunig JE, Lipsky MM, Trumpp BF, Hinton DE. Biochemical and ultrastructural changes in teleost liver following subacute exposure to PCB. *J Environ Pathol Toxicol* 1979;2:953-963.
25. Peters G, Delventhal H, Klinger H. Physiological and morphological effects of social stress in the eel, (*Anguilla anguilla* L.). *Arch Fischereiwiss* 1980;30:157-180.
26. Thoney DA, Hargis WJ. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Ann Rev Fish Dis* 1991;1:133-153.
27. Peters G, Hoffman R, Klinger H. Environment-induced gill disease of cultured rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 1984;38:105-126.
28. Peters G, Hong LQ. *Fish and shellfish Pathology*. London (UK): Academic Press, 1985.
29. Hopley CW, Mathews SB, Appleby AE, Rankis A, Halliday KL. Effects of river fish hatcheries. *Prog Fish Cult* 1993;55:16-28.
30. Willemse JJ, Markus-Silvis L, Ketting GH. Morphological effects of stress in cultures elvers, *Anguilla anguilla* (L). *Aquaculture* 1984;36:193-201.
31. Davis KB, Parker NC. Physiological stress in striped bass: effect of the acclimation temperature. *Aquaculture* 1990;91:349-358.
32. Hocutt CH, Tilney RL. Changes in gill morphology of *Oreochromis mossambicus* subjected to heat stress. *Environm Biol Fish* 1985;14:107-114.
33. Jacobs D, Esmond EF, Melisky EL, Hocutt CH. Morphological changes in gill epithelia of heat-stressed rainbow trout, *Salmo gairdneri*: evidence in support of a temperature-induced surface area change hypothesis. *Can J Fish Aquat Sci* 1981;38:16-22.
34. Rombough PJ, Garside ET. Hypoxial death inferred from thermally induced injuries at upper lethal temperatures, in the banded killifish, *Fundulus diaphanus* (LeSueur). *Can J Zool* 1977;55:1705-1719.
35. Tilney RL, Hocutt CH. Changes in gill epithelia of *Oreochromis mossambicus* subjected to cold shock. *Environm Biol Fish* 1987;19:35-44.
36. Golis CL, Cambria A, Fama M. Effects of acid stress on fish gills. In: Bolis L, Zadunaisky J, Gilles R, editors. *Toxins, drugs and pollutants in marine mammals*. South Carolina (CO): University of South Carolina Press, 1984:122-129.
37. Hoar WS, Randell DJ. *Fish pathology*. New York: Academic Press, 1978.
38. Jagoe CH, Haines TA. Alterations in gill epithelial morphology of yearling Sunapee trout exposed to acute acid stress. *Trans Am Fish Soc* 1983;112:689-695.
39. Linnenbach M, Marthaler R, Gebhardt T. Effects of acid water on gills and epidermis in brown trout (*Salmo trutta*) and in tadpoles of the common frog (*Rana temporaria* L.). *Symposium on Ecophysiology of Acid Stress in Aquatic Organisms*; 1987 January 12-15. Antwerp, Belgium. Hunsrueck, West Germany: Ecophysiology Association in Aquatic Organisms, 1987:365-374.
40. Cahn PH. The pathology of the liver and spleen in naturally stressed Atlantic Menhaden. In: Ribelin WE, Migaki G, editors. *The pathology of fishes*. Madison (Wis): University of Wisconsin Press, 1975:251-252.
41. Kent MI, Myers MS, Hinton DE, Eaton WD, Elston RA. Suspected toxicopathic necrosis and megalocytosis in pen-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Puget Sound, Washington, *Dis Aquat Organisms* 1988;49:91-100.
42. Smith CE, Piper RG. Lesions associated with chronic exposure to ammonia. In: Ribelin WE, Migaki G, editors. *The pathology of fishes*. Madison (Wis): University of Wisconsin Press, 1975:182-183.
43. Brunson MW, Robinette HR, Bowser PR, Wellborn TL. Nutritional gill disease associated with starter feeds for channel catfish fry. *Prog Fish Cult* 1983;45:119-120.
44. Brusle J. Pathogenesis of the eel in culture. *Proceedings of the Third International Colloquium on Pathology in Marine Aquaculture*; 1988 October 2-6; Gloucester Point (VA). San Diego (Ca): Academic Press, 1990:441-454.
45. Roberts RJ, Richards RH, Bullock AM. Pansteatitis in rainbow trout *Salmo gairdneri*-Richardson: a clinical and histopathological study. *J Fish Dis* 1979;2:85-92.
46. Lan-Phuong M. *Prawn culture in a tropical environment* (doctoral thesis). Creteil (France) France: Faculte Medicine Creteil France, 1982.
47. Plumb JA, Grizzle JM, Rogers WA. Survival of caught and released largemouth bass after containment in live wells. *Am J Fish Mgmt* 1988;8:325-328.
48. Robinson EH. Nutrition and feeding of red drum. In: Chamberlain GW, Miget RJ, Haby MG, editors. *Red Drum aquaculture. Program and Abstracts of the Symposium on the Culture of Red Drum and other Warm Water Fishes*; 1987 June 22-24; Corpus Christi (Tx). Stoneville (MS): Mississippi State University, 1990:109-112.
49. Hoffman LC, Prinsloo JF. The use of holding cages for the spawning of *Clarias gariepinus*. *Water S.A.* 1992;18:225-226.
50. Kaeriyama M. Studies on the effective promotion of artificial salmon production in the Tokachi River System-II. Escapement and catching or spawning procedures of the chum salmon in the Tokachi River system during 1976. *Sci Rep Hokkaido Salmon Hatchery* 1977;31:55-70.
51. Mesa MG. Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon. *Trans Am Fish Soc* 1994;123:786-793.

52. Rodger HD, Murphy TM, Drinan EM, Rice DA. Acute skeletal myopathy in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis Aquat Organisms* 1991;12:17-23.
53. Schreck CB, Solazzi MF, Johnson SL, Nickelson TE. Transportation stress affects performance of Coho salmon *Oncorhynchus kitsuch*. *Aquaculture* 1989;82:15-20.
54. Tomasso JR, Carmichael GJ. Handling and transport-induced stress in Red Drum fingerlings (*Sciaenops ocellatus*). Proceedings of a Symposium on the Culture of Red Drum and other Warm Water Fishes; 1987 January 22-24; Corpus Christi (Tx). San Marcos (Tx): Aquatic Station Southwest Texas State University, 1988:133-138.
55. Stegeman JJ, Woodin BR, Binder RL. Patterns of benzo (a) pyrene metabolism by varied species, organs and developmental stages of fish. *Nat Cancer Inst Monog* 1984;65:371-377.
56. Zahn RK, Stüber JJ, Reitz M, Emmig C, Jannek U, Kurelec B. The interplay between mixed function oxygenases and DNA alternation under PAH pollution. *Marine Environm Res* 1985;17:317-319.
57. Schreck CB, Patiño R, Pring CK, Winstein JR, Holway JE. Effects of rearing density on indices of smoltification and performance of Coho salmon, *Oncorhynchus kitsuch*. *Aquaculture* 1985;45:345-358.
58. Roch M, McCarter JA, Matheson AT, Clark MJR, Olafson RW. Hepatic metallothionein in rainbow trout, (*Salmo gairdneri*) as an indicator of metal pollution in the Campbell River System. *Can J Fish Aquatic Sci* 1982;39:1596-1601.
59. Klaverkamp JF, McDonald WA, Duncan DA, Wageman R. Metallothionein and acclimation to heavy metals in fish. A review. In: Cairns VW, Hodson PV, Niagu JO, editors. *Contaminant effects on fisheries*. New York: Wiley and Sons, 1984:99-113.
60. Olson PE, Haux C, Forlin L. Variations in hepatic metallothionein, zinc and copper levels during an annual reproductive cycle in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish Physiol Biochem* 1987;3:39-47.
61. Olson PE, Zafarullah M, Gedamu L. A role of metallothionein in zinc regulation after estradiol induction of vitellogenin synthesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Biochem J* 1989;257:555-559.
62. Overnell J, McIntosh R, Fletcher TC. The enhanced induction of metallothionein by zinc, its half-life in the marine fish *Pleuronectes platessa* and the influence of stress factors on metallothionein levels. *Experientia (Basel)* 1987;43:175-181.
63. Recknagel RO, Glende EA. Lipid peroxidation. A specific form of cell injury. In: Lee DHK, editor. *Handbook of physiology reactions to environmental agents*. Section 9. Bethesda (Ma): American Physiological Society, 1977:591-601.
64. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 1978;52:302-310.
65. Slabyj BM, Hultin HO. Microsomal lipid peroxidation system from Herring light and dark muscle. Effect of cytosolic factors. *J Food Biochem* 1983;7:107-114.
66. Thomas P. Biochemical stress responses of Red Drum to common culture procedures. Proceedings of a Symposium on the Culture of Red Drum and other Water Fishes; 1987 January 22-24; Corpus Christi (Tx). Austin (Tx): Aquatic Station Southwest Texas State University, 1988:197.
67. Leach GJ, Taylor MH. The role of cortisol in stress-induced changes in *Fundulus heteroclitus*. *Gen Comp Endocrinol* 1980;42:219-227.
68. Robertson L, Thomas P, Arnold CR. Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. *Aquaculture* 1988;68:117-129.
69. Pickering AD, Pottinger TG. Stress responses and disease resistance in salmonid fish. Effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiol Biochem* 1989;7:253-258.
70. Takahashi A, Ogasawara T, Kawachi H, Hirano T. Plasma profiles of the N-terminal peptide of proopiomelanocortin in the rainbow trout with reference to stress. *Gen Comp Endocrinol* 1990;77:98-106.
71. Lindquist S. The heat-shock response. *Ann Rev Biochem* 1986;55:1151-1191.
72. Arnold CR. Controlled year spawning of Red Drum *Sciaenops ocellatus* in captivity. Proceedings of a Symposium on the Culture of Red Drum and other Warm Water Fishes. 1987 January 22-24; Corpus Christi (Tx). Austin (Tx): Aquatic Station Southwest Texas State University, 1988:65-70.
73. Campbell PM, Pottinger TG, Sumpter JP. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture* 1994;120:151-169.
74. Shezifi Y, Kimmel E, Diamant A. Computerized non-invasive monitoring of stress in fish. Program and abstracts of the International Symposium on Aquatic Animal Health; 1993 August 12-14; Davis (Ca). Davis (Ca): University of California Press, 1994:93.
75. Barber DL, Westerman JEM. Reappraisal of nuclear DNA content of rodlet cells compared to several cell types from some freshwater teleosts, using two methods of microdensitometry. *J Fish Biol* 1985;27:817-826.
76. Ernst S. Are rodlet cells of fish body cells or Rhabdospora telohani? *Tangung der Fachgruppe "Fisckrankheiten" der DVG, Schmiedefeld, Thüringen: Tierärztliche Hochschule*, 1991;14:107-117.
77. Mayberry LF, Bristol JR, Sulimanovic D, Fijan N, Petrincek Z. Rhabdospora telohani: epidemiology of and migration into *Cyprinus carpio* bulbus arteriosus. *Fish Pathol* 1986;21:145-150.
78. Smith SA, Caceci T, Robertson JL. Rodlet cells: Origin and possible function. *J Aquatic Anim Health*, 1999;7:63-69.
79. Smith SA, Caceci T, Robertson JL. Occurrence of rodlet cells and associated lesions in the vascular system of freshwater angelfish. *J Aquat Anim Health* 1995;7:63-69.
80. Paterson WB, Desser SS. Rhabdospora thelohani Laguesse, 1906 is not a member of the Apicomplexa. *J Parasitol* 1981;67:741-744.
81. Matthey DL, Morgan M. Distribution and development of Rodlet cells in gills and pseudobranch of the bass *Dicentrarchus labrax* (L). *J Fish Biol* 1979;15:363-370.