

Respuestas fisiológicas de *Piaractus brachypomus* suplementado con ácido ascórbico y sometido a estrés por hipoxia

Adriana Soliris Corredor Castillo¹ / Miguel Ángel Landines Parra²

Resumen

Juveniles de *Piaractus brachypomus* ($30 \pm 4,76g$) fueron alimentados *ad libitum* durante 30 d con una dieta de 32 % de proteína, suplementada con seis cantidades diferentes de ácido ascórbico (AA): T1 = 0 mg/kg; T2 = 100 mg/kg; T3 = 200 mg/kg; T4 = 400 mg/kg; T5 = 800 mg/kg; T6 = 1600 mg/kg. Finalizada la fase de alimentación, los animales estuvieron en exposición aérea durante 60 s y luego se devolvieron al agua. Se colectó sangre mediante punción en la vena caudal de tres individuos por tratamiento a los 5; 30; 60 y 360 min después de haber sido devueltos al agua. Con estas muestras se determinaron en plasma las concentraciones de cortisol, glucosa, lactato y proteínas totales. En suero, se midió la concentración de los iones Cl^- y Na^+ . Finalmente se calculó la sobrevivencia. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza ANAVA, y cuando se encontraron diferencias, las medias se compararon mediante prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$). El cortisol presentó el pico más alto en los ejemplares alimentados con la dieta libre de AA. Las concentraciones de glucosa fueron menores en los peces suplementados con 400 mg/kg a los 5, 30 y 60 min. Las concentraciones de los dos iones se mantuvieron estables a través del tiempo en los ejemplares suplementados con 200 mg/kg. La supervivencia fue de 100 % en todos los tratamientos. La suplementación con concentraciones entre 100 y 400 mg/kg AA mejoró la respuesta de los animales ante el estrés por hipoxia.

Palabras clave: cortisol, estrés, fisiología, hipoxia, peces, vitamina C.

- 1 Zootecnista, MSc. PhD. Grupo de Investigación en Fisiología de Peces, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Docente del programa de Zootecnia, Universidad Libre de Colombia, sede Socorro, Santander, Colombia.
✉ adrianas.corredorc@unilibre.edu.co
- 2 Zootecnista, MSc. PhD. Grupo de Investigación en Fisiología de Peces. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Bogotá, Colombia.

Cómo citar este artículo: Corredor Castillo AS, Landines Parra MA. Respuestas fisiológicas de *Piaractus brachypomus* suplementado con ácido ascórbico y sometido a estrés por hipoxia. Rev Med Vet. 2019; (38):29-40. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss38.3>

Physiological responses of *Piaractus brachypomus* supplemented with ascorbic acid and subjected to hypoxia stress

Abstract

Juveniles of *Piaractus brachypomus* ($30 \pm 4.76 g$) were fed *ad libitum* for 30 days with a diet of 32% protein, supplemented with six different amounts of ascorbic acid (AA): t1 = 0 mg/kg; t2 = 100 mg/kg; t3 = 200 mg/kg; t4 = 400 mg/kg; t5 = 800 mg/kg; t6 = 1600 mg/kg. After the feeding phase, the animals had air exposure for 60 seconds and then returned to the water. Blood was collected by puncture of the caudal vein from three individuals per treatment at 5, 30, 60, and 360 minutes after being returned to the water. With these samples, concentrations of cortisol, glucose, lactate, and total proteins were determined in plasma. In serum, the concentration of Cl^- and Na^+ ions was measured. Finally, survival was calculated. Data were subjected to ANOVA variance analysis, and when differences were found, the means were compared using Tukey's test ($\alpha = 0.05$). Cortisol presented the highest peak in specimens fed with AA-free diet. Glucose concentrations were lower in fish supplemented with 400 mg/kg at 5, 30, and 60 minutes. Concentrations of the two ions remained stable over time in the specimens

supplemented with 200 mg/kg. Survival was 100% in all treatments. Supplementation with AA concentrations between 100 and 400 mg/kg improved the response of animals to hypoxia stress.

Keywords: cortisol, stress, physiology, hypoxia, fish, vitamin c.

Respostas fisiológicas de *Piaractus brachypomus* suplementado com ácido ascórbico e submetido a estresse por hipoxia

Resumo

Juvenis de *Piaractus brachypomus* ($30 \pm 4,76$ g) foram alimentados *ad libitum* por 30 dias com dieta de 32% proteína, suplementada com seis quantidades diferentes de ácido ascórbico (AA): T1 = 0 mg/kg; T2 = 100 mg/kg; T3 = 200 mg/kg; T4 = 400 mg/kg; T5 = 800 mg/kg; T6 = 1600 mg/kg. Após a fase de alimentação, os animais estiveram em exposição aérea por 60 segundos e em seguida retornaram a água. Sangue foi coletado mediante punção na veia caudal de três indivíduos por tratamento a 5, 30, 60 e 360 minutos após retornar à água. Com essas amostras determinaram-se em plasma as concentrações de cortisol, glucose, lactato e proteínas totais. Em soro, a concentração de íons Cl^- e Na^+ for medida. Por fim, a sobrevivência foi calculada. Os dados foram submetidos à análise de variância ANAVA e, quando diferenças foram encontradas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). O cortisol mostrou o pico mais alto nos exemplares alimentados com a dieta livre de AA. As concentrações de glucose foram menores nos peixes suplementados com 400 mg/kg a 5, 30 e 60 minutos. As concentrações dos dois íons permaneceram estáveis ao longo do tempo nos exemplares suplementados com 200 mg/kg. A sobrevivência foi de 100% em todos os tratamentos. A suplementação com concentrações entre 100 e 400 mg/kg AA melhorou a resposta dos animais perante estresse por hipoxia.

Palavras-chave: cortisol, estresse, fisiologia, hipoxia, peixes, vitamina C.

INTRODUCCIÓN

En 2016, la producción acuícola global llegó a 80 millones de toneladas de peces comestibles, lo que muestra un aumento en la producción de 24,3 millones de toneladas en los últimos años, mientras que la pesca extractiva se mantuvo estable con tendencia a disminuir (1). Este notorio crecimiento ha llevado a la implementación de sistemas de producción cada vez más intensivos, en los que son frecuentes los problemas de estrés ocasionados por las prácticas rutinarias de manejo como la captura, el empaque y el transporte, entre otras, en las cuales los peces se someten a exposición aérea, he-

cho que provoca alteraciones hormonales, metabólicas y electrolíticas en ellos (2).

Estas prácticas de manejo, frecuentes dentro del sistema productivo, aumentan la incidencia de enfermedades y, en casos más críticos, la mortalidad de individuos, con el consiguiente perjuicio económico para el productor. Por tal razón, es necesario crear alternativas que garanticen el bienestar y la productividad de los animales de cultivo, disminuyendo el impacto de los agentes estresantes.

Estudios realizados en diferentes especies de peces han demostrado los efectos benéficos de la inclusión de áci-

do ascórbico (AA) sobre las respuestas al estrés, lo que ha contribuido a mejorar la resistencia a enfermedades en *Micropterus salmoides* (3), *Paralichthys olivaceus* (4), *Oreochromis niloticus* (5), *Arapaima gigas* (6), *Salmo trutta caspius* (7), *Oncorhynchus mykiss* (8). Así mismo, varios autores afirman que el AA (vitamina C) es un componente esencial para el funcionamiento normal de los animales, incluyendo los peces (9-12).

Por otro lado, la cachama blanca (*Piaractus brachyomus*) es un carácido originario de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas (13). Es una especie nativa ampliamente conocida en los países afluentes de la cuenca amazónica, como Colombia, Brasil, Venezuela y Perú. Se considera de gran importancia por la calidad de su carne. Además, presenta un alto potencial para la piscicultura suramericana por la adaptación a las condiciones de cultivo, por tener hábitos alimenticios omnívoros y por su crecimiento rápido, lo que la hace una especie muy eficiente dentro de un sistema productivo. En el caso específico de Colombia, la producción de la acuicultura nacional para 2011 fue de 82.733 t, de las cuales la especie nativa con mayor participación es la cachama, con una producción de 15.926,10 t. En este contexto, el departamento del Meta es el principal productor y distribuidor de alevinos para crecimiento y reproducción en estanques en diferentes regiones del país (14).

Con base en lo anterior, el propósito de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido ascórbico (AA) sobre las respuestas fisiológicas de juveniles de cachama blanca sometidos a estrés agudo por hipoxia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El experimento fue desarrollado en el Laboratorio de Ictiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Animales experimentales

Se utilizaron 72 juveniles de cachama blanca *Piaractus brachyomus*, con peso promedio de $30 \pm 4,76$ g, los cuales se mantuvieron en 24 acuarios de 80 L a una densidad de 1,20 g/L (3 ejemplares por acuario y 4 acuarios por tratamiento). Se alimentaron *ad libitum* (consumo aproximado: 3,86 % de la biomasa/d) durante 30 d, con una dieta de 32 % de proteína y conformada por las siguientes seis cantidades diferentes de AA, mediante la forma de L-ascorbil-2-monofosfato (Rovimix Stay-C35®): T1 = 0 mg/kg; T2 = 100 mg/kg; T3 = 200 mg/kg; T4 = 400 mg/kg; T5 = 800 mg/kg; T6 = 1600 mg/kg.

Dieta experimental

La dieta con 32 % de proteína fue formulada a través del software UFFDA®, sin adición de AA. Las materias primas seleccionadas y las dietas formuladas se sometieron a análisis proximal en el Laboratorio de Nutrición de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, de acuerdo con los métodos oficiales de análisis de la Asociación de Química Analítica (AOAC) (15). La composición proximal de la dieta experimental se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Composición proximal de la dieta experimental

MS* (%)	Proteína (%)	E. E.** (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)	ENN*** (%)
91,55 ± 0,03	32,28 ± 0,49	1,97 ± 0,37	2,27 ± 0,18	2,87 ± 0,01	55,29 ± 0,04

Nota: * = Materia seca; ** = Extracto etéreo; *** = Extracto no nitrogenado.

Fuente: elaboración propia

La mezcla formulada se dividió en seis porciones, a cada una de las cuales se le adicionó una de las seis cantidades diferentes de Rovimix Stay-C35®.

Muestréos

Finalizada la fase de alimentación, los peces fueron sometidos a hipoxia aguda, consistente en una exposición aérea durante 60 s y de inmediato se devolvieron al agua. Previa anestesia con metasulfonato de tricáina (75 ppm), se colectó sangre mediante punción en la vena caudal de tres individuos por tratamiento a los 5; 30; 60 y 360 min después de haber sido devueltos al agua. La sangre fue almacenada en viales con y sin EDTA (anticoagulante), según las recomendaciones para cada prueba que se iba a realizar. Las muestras de sangre extraídas se sometieron a centrifuga refrigerada (4 °C) a 3000 r. p. m. para obtener el plasma o suero. Todos los procedimientos mencionados fueron avalados por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

Análisis bioquímicos

En el plasma obtenido se determinó la concentración de cortisol mediante prueba de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), utilizando el kit comercial (Accu Bind Elisa Microwells Cortisol 3625-300 Monobind Inc®). La lectura se realizó usando los equipos Stat Fax® 303 y Microstrip Reader Awareness Technology Inc®. También se midió por colorimetría, utilizando el espectrofotómetro Stat Fax 3300®, para las concentraciones de glucosa se usó el kit comercial Trinder (GOD-POD Spinreact®); para el lactato, se empleó el kit comercial enzimático (LO-POD Spinreact®), y la proteína total se midió con el kit comercial colorimétrico (Biuret Spinreact®). En suero se midieron los iones Cl⁻ y Na⁺, mediante espectrofotometría de luz ultravioleta.

Análisis estadístico

El experimento tuvo un diseño completamente al azar con arreglo de parcelas divididas en el tiempo. Para verificar la existencia de diferencias significativas entre los

tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANAVA), y en los casos que se encontraron diferencias significativas, las medias se compararon con la prueba de Tukey (5%). Los análisis se realizaron con el software SAS System V9.0®.

RESULTADOS

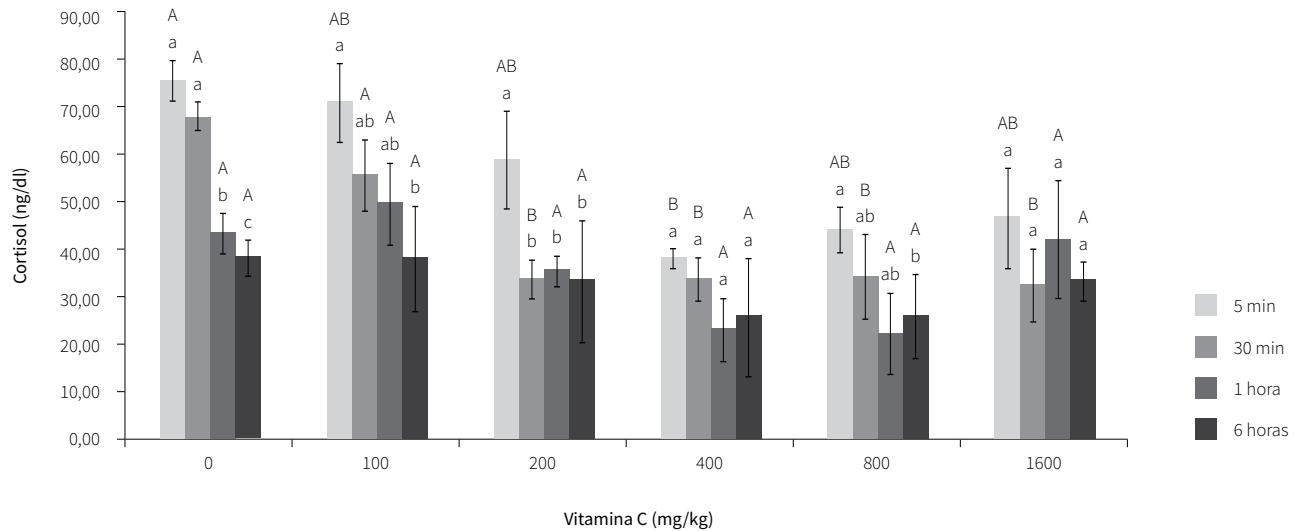
Cortisol

Los resultados obtenidos para esta variable se muestran en la figura 1. A los 30 min poshipoxia, los peces suplementados con concentraciones superiores a 200 mg/kg de vitamina C tuvieron menores cantidades de cortisol que los no suplementados y los suplementados con 100 mg/kg. Esto permite comprobar que la suplementación con AA podría mejorar la respuesta primaria de *Piaractus brachyomus* en condiciones de estrés agudo. Además de esto, se pudo observar que las cantidades de suplementación de 400 mg/kg son las más recomendables para mejorar dicho parámetro en la especie, pues los ejemplares suplementados con esta cantidad presentaron un grado significativamente menor tanto a los 5 como a los 30 min después de haber sido expuestos a hipoxia. Así mismo, fue evidente que los peces alimentados con la dieta sin AA presentaron el pico más alto de producción de la hormona.

Glucosa

En la figura 2 se observan diferencias significativas a los 5, 30 y 60 min después de la exposición aérea. La mejor respuesta fue la de los peces suplementados con vitamina C, en especial con 400 mg/kg. Para el último tiempo de muestreo (360 min posestrés) no se observaron diferencias entre tratamientos. Fue posible observar que los animales suplementados con cantidades de 100, 200 y 400 mg/kg mostraron un proceso de recuperación (disminución) de las concentraciones de glucosa a través del tiempo (letras minúsculas).

Figura 1. Valores medios \pm D. S. de cortisol (ng/dl)

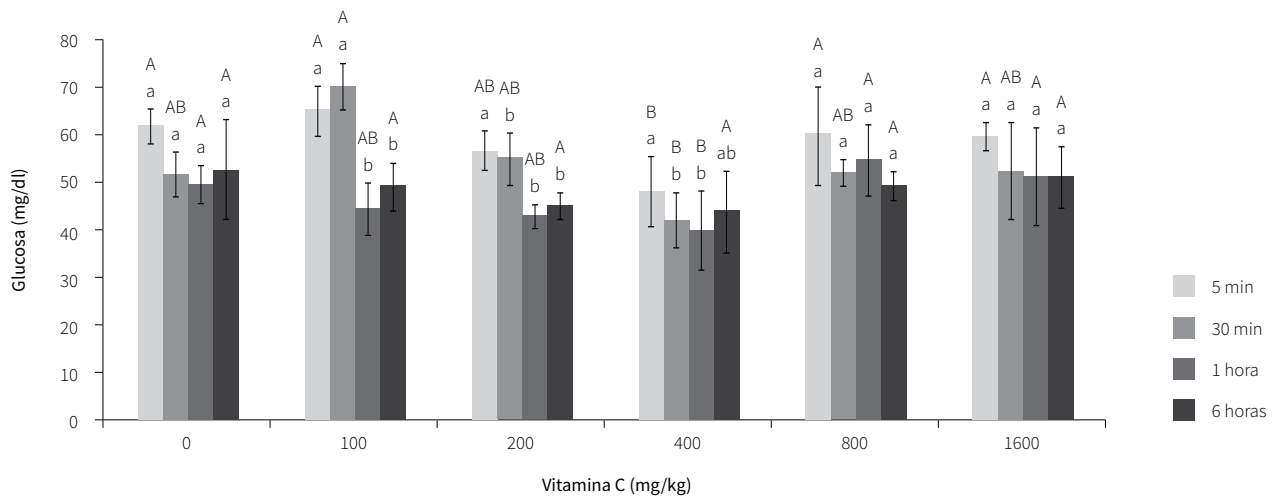


Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

Figura 2. Valores medios \pm D. S. de glucosa (mg/dl)



Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

Lactato

Se encontraron diferencias significativas para lactato entre los diferentes tratamientos (figura 3). En el minuto 30 posestrés los ejemplares suplementados con 200 mg/kg tuvieron menores concentraciones que los peces de los tratamientos con 0, 100, 400 y 800 mg/kg. También se observó que en este mismo tiempo de muestreo las concentraciones fueron menores en los suplementados con 100 mg/kg que en los no suplementados. Además, se observó que en los ejemplares de los tratamientos con 0, 100, 400 y 800 mg/kg las concentraciones de lactato disminuyeron a través del tiempo, lo que indica una recuperación del equilibrio osmótico.

Proteína total

Los resultados para esta variable se muestran en la figura 4. Se puede observar que los ejemplares suplementados presentaron valores significativamente mayores en el primer tiempo de muestreo con respecto al grupo no suplementado, siendo mayores las concentraciones de proteínas circulantes en los peces suplementados con 200 mg/kg.

Sodio

Como se puede apreciar en la figura 5, se observaron fluctuaciones en las concentraciones de sodio de los peces después de ser estresados. Los ejemplares suplementados con 200 mg/kg presentaron concentraciones más estables de este ion a través del tiempo. También se observó que los peces suplementados con 200 y 400 mg/kg presentaron valores significativamente más bajos comparados con los obtenidos en los ejemplares no suplementados y los suplementados con 100 mg/kg en el primer tiempo de muestreo. Sin embargo, en los demás tiempos no se observaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos.

Cloruro

En cuanto al cloruro, los resultados se muestran en la figura 6. Se observó que con la suplementación de

200 mg/kg de AA las concentraciones de este ion se mantuvieron estables durante los cuatro tiempos de muestreo, mientras que en los demás tratamientos aumentaron a través del tiempo. Además, se evidenció que los ejemplares suplementados con 400 mg/kg presentaron mayores valores para los primeros tres tiempos de muestreo con respecto a los demás tratamientos, seguido por el tratamiento de 800 mg/kg. Mientras tanto, los ejemplares no suplementados y los suplementados con 100 mg/kg tuvieron los menores valores durante los mismos tiempos de muestreo.

Supervivencia

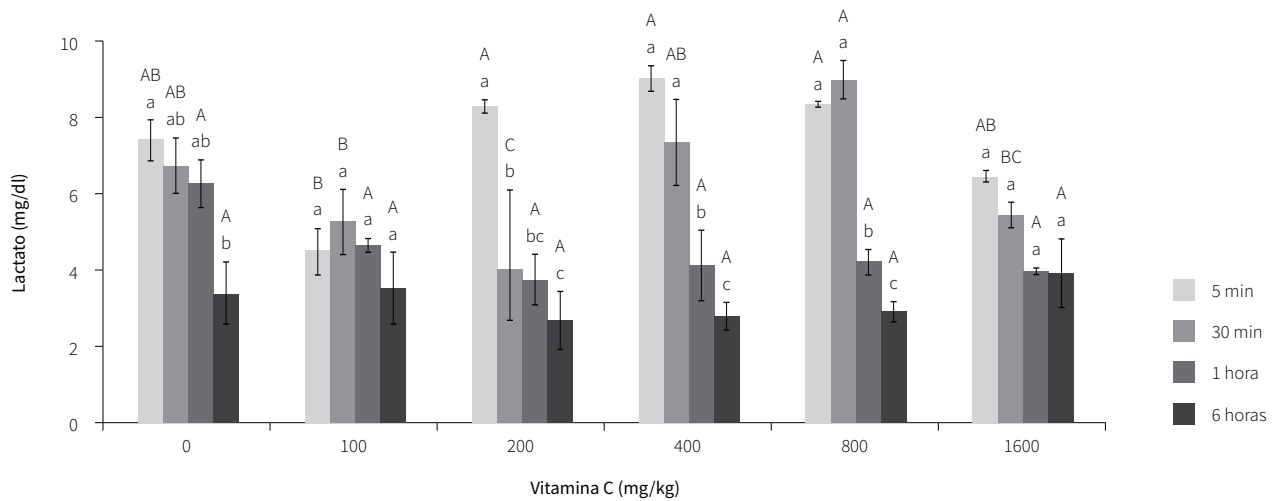
La supervivencia durante todo el experimento fue del 100% en todos los tratamientos.

DISCUSIÓN

Las variables medidas en este estudio involucraron aquellas que permiten observar los ajustes bioquímicos y metabólicos que forman parte de las respuestas más frecuentemente utilizadas para cuantificar el estrés en peces, como son la alteración en las concentraciones de cortisol, glucosa, lactato y proteínas plasmáticas y las de electrolitos (sodio y cloruro) presentes en el suero (12,16,17).

En el presente estudio, se observó un efecto benéfico significativo sobre las respuestas fisiológicas evaluadas, al utilizar AA en la dieta de los peces. Observaciones similares han sido reportadas en *Micropterus salmoides* (3), *Paralichthys olivaceus* (4), *Oreochromis niloticus* (5,18), *Arapaima gigas* (6), *Salmo trutta caspius* (7), *Rachycentron canadum* (19), *Megalobrama amblycephala* (20), *Brycon amazonicus* (21,22), *Colossoma macropomum* (23), *Oncorhynchus mykiss* (24,25), *Rhamdia quelen* (26), *Rhizoprionodon terraenovae* (27), *Sparus aurata* (28) y *Cyprinus carpio* (16,29), entre otras. No obstante, según Salinas et al. (30), no existe ningún efecto al suplementar la dieta con AA en *Polyprion oxygeneios* (30) ni en *Oreochromis niloticus* (31).

Figura 3. Valores medios \pm D. S. de lactato (mg/dl)

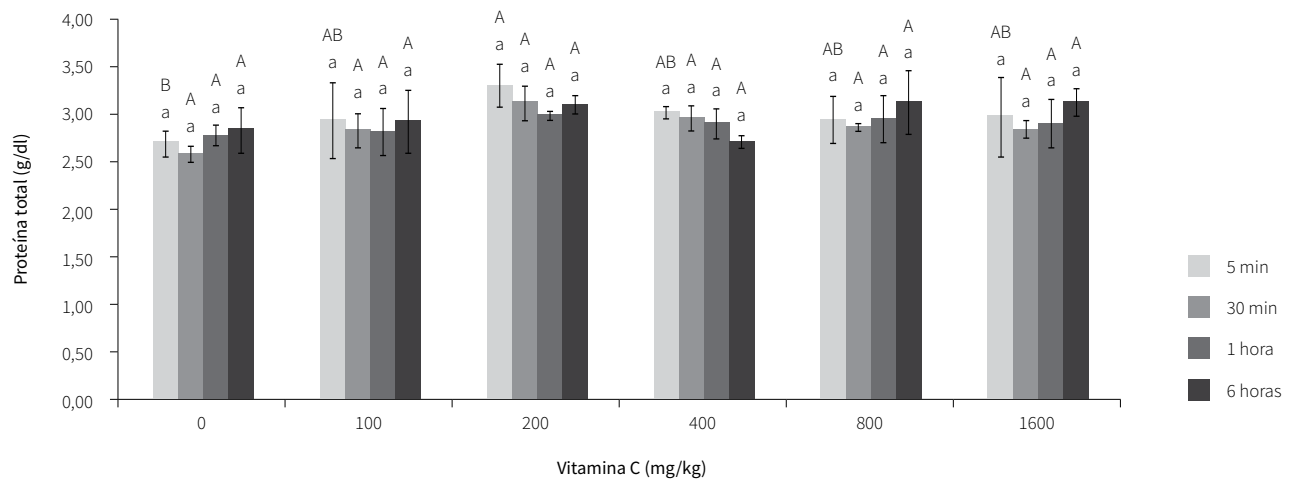


Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

Figura 4. Valores medios \pm D. S. de proteína total (g/dl)

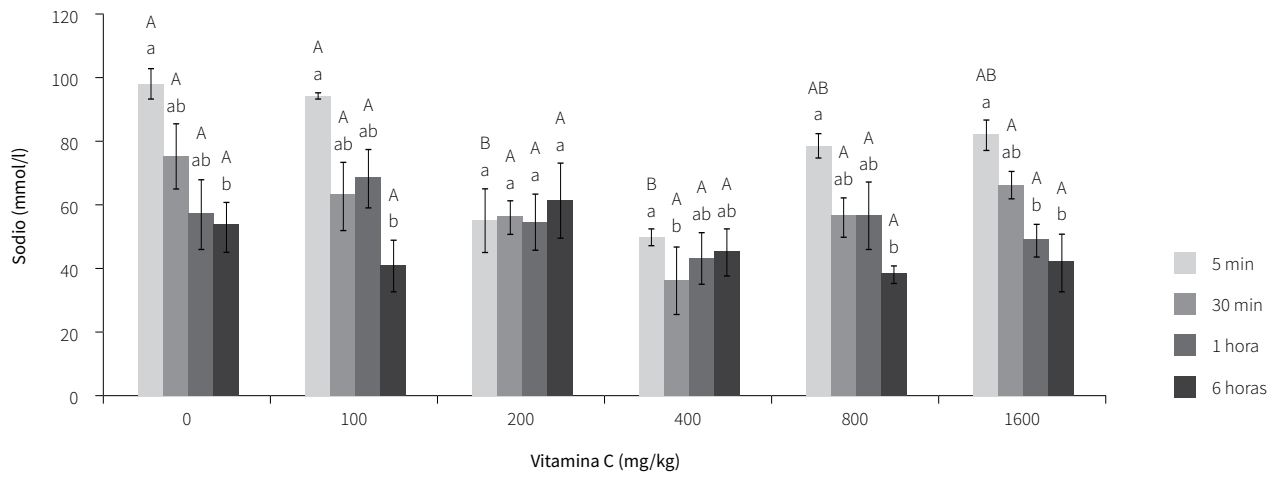


Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.

Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

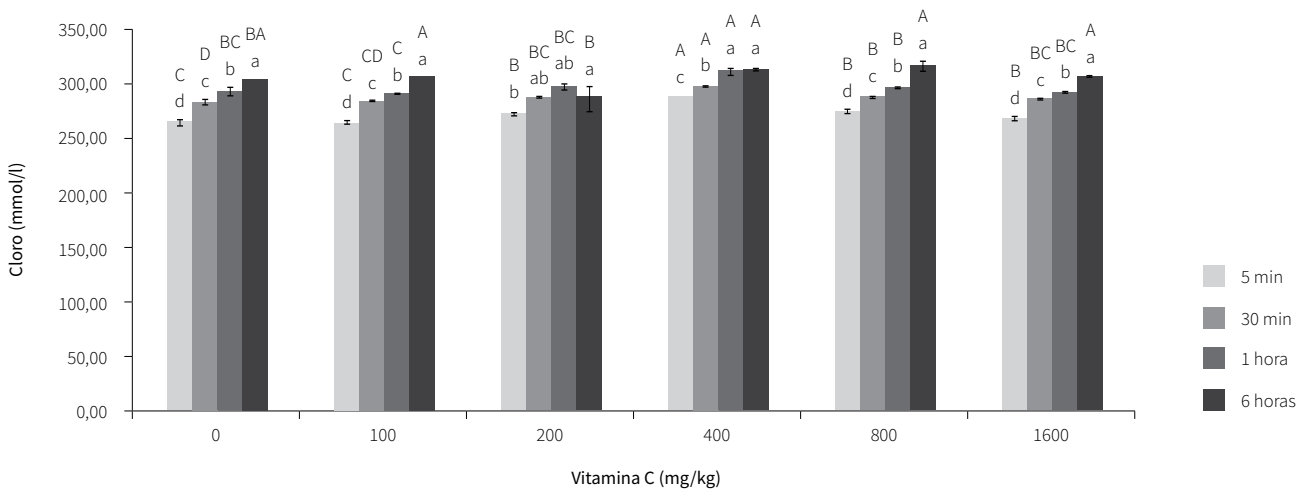
Figura 5. Valores medios \pm D. S. de sodio (mmol/l)



Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.
 Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

Figura 6. Valores medios \pm D. S. de cloruro (mmol/l)



Letras mayúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre cantidades.
 Letras minúsculas diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre tiempos.

Fuente: elaboración propia

Como se pudo observar en la figura 1, los resultados mostraron que cuando los peces son alimentados con dieta sin contenido de AA, presentan un pico de producción de cortisol más alto que los peces alimentados con dieta que contiene vitamina C. Resultados similares fueron reportados en *Arapaima gigas* (6) y *Megalobrama amblycephala* (20). Estos resultados confirman lo reportado por Caldwell y Hinshaw (32), quienes observaron que los peces alimentados con dietas deficientes en vitamina C presentan un incremento notable en las concentraciones de cortisol circulante cuando se someten a condiciones estresantes. De igual manera, en *Oncorhynchus mykiss* (24) se comprobó que las concentraciones circulantes de cortisol son significativamente mayores en peces no suplementados 30 min después de ser expuestos al aire por espacio de 30 s.

Sin embargo, en contraste con lo anterior, en el estudio realizado por Abreu y Urbinati (21) no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de cortisol de *Brycon amazonicus* alimentados con diferentes concentraciones de vitamina C y estresados por exposición aérea durante 2 min. Así mismo, en ejemplares de *Cyprinus carpio*, los autores concluyeron que los cambios en las concentraciones de cortisol cuando se aplicaba estrés no estaban relacionadas con las de vitamina C suministradas en la dieta (29).

Por otro lado, los peces alimentados con concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg mostraron un proceso de disminución de glucosa a través del tiempo, lo cual sugiere que la suplementación con estas cantidades de vitamina C contribuyó en el proceso de recuperación de los animales después de ser sometidos a estrés agudo por hipoxia. Resultados similares fueron reportados por Abreu y Urbinati (21), quienes encontraron en *Brycon amazonicus* que la glucosa sanguínea disminuye con diferentes cantidades de suplementación con AA a los 15 y 30 min posexposición aérea. Así mismo, Ming et al. (20) observaron en *Megalobrama amblycephala* que las concentraciones de glucosa sanguínea fueron menores en peces suplementados con vitamina C y expuestos a estrés calórico, comparados con un grupo de animales no suplementados. De la misma manera, Chagas y

Val (23) evaluaron diferentes concentraciones de AA de 0, 100 y 500 mg/kg en ejemplares de *Colossoma macropomum*, en los cuales observaron que aquellos alimentados con dietas que poseían las cantidades más altas de vitamina C mostraron una mayor capacidad de reducir el efecto de la hipoxia, ya que en estos no se reflejaron cambios en las concentraciones de glucosa plasmática.

Resultados obtenidos en *Piaractus mesopotamicus* alimentados con una dieta no suplementada con vitamina C mostraron un aumento en las concentraciones circulantes de glucosa poscaptura, lo que sugiere que la deficiencia de la vitamina puede intensificar, a corto plazo, las repuestas al estrés en peces (32). Esta hipótesis fue corroborada en el presente estudio para esa variable.

Además de lo anterior, se observó que en los ejemplares de T1, T3, T4 y T5 las concentraciones de lactato disminuyeron a través del tiempo, lo cual sugiere un proceso de recuperación, explicado probablemente por el hecho de que en el momento de ser estresado el organismo se prepara para la huida, movilizandole energía hacia sus músculos y produciendo ácido láctico (27,33). Por lo tanto, la disminución del lactato se puede interpretar como un proceso de recuperación del animal, y por tanto de desactivación de este mecanismo fisiológico de huida, con el consiguiente proceso de recuperación del organismo a su estado normal. Este tipo de respuesta sugiere que la suplementación con cantidades de 200 mg/kg de vitamina C en la dieta de cachama blanca podría disminuir el impacto de la exposición aérea sobre la concentración de lactato; se observa incluso que la utilización de 100 mg/kg también contribuye en la disminución de dicho parámetro, aunque en menor medida.

Respecto a las proteínas, de acuerdo con Falcón et al. (18), la vitamina C estimula su síntesis en peces, tal como se observó en el presente estudio, en el cual los individuos suplementados tuvieron concentraciones circulantes mayores que los que no recibieron suplemento. Resultados similares fueron encontrados por Ming et al. (20), quienes observaron que las concentraciones de proteína de los grupos suplementados con vitamina C fueron mayores que los peces de la dieta

control, tanto antes como 2 y 6 h después de ser sometidos a estrés térmico. Lo anterior permite suponer que la suplementación estimuló la producción de proteína, o evitó su movilización como fuente de energía, afrontando de manera más eficiente la situación estresante a la que fue expuesto el animal. En ambos casos, se podría afirmar que la suplementación en la dieta con 200 mg/kg de vitamina C contribuyó a disminuir el efecto del estrés en juveniles de cachama blanca sometidos a hipoxia aguda. Sin embargo, contrario a lo descrito, Abreu y Urbinati (21) no observaron diferencias significativas para esta variable en ejemplares de *Brycon amazonicus*, suplementados con vitamina C y sometidos a hipoxia por exposición aérea.

Finalmente, con respecto al efecto del estrés sobre el equilibrio osmótico, Sloman et al. (25) afirman que la liberación de catecolaminas, principalmente adrenalina, causa aumento de la permeabilidad branquial, lo que afecta la osmorregulación y promueve el aumento del intercambio iónico. Esto fue comprobado por Abreu et al. (34), quienes observaron que en ejemplares de *Brycon amazonicus*, las concentraciones de sodio y cloruro disminuyeron después de ser sometidos a estrés por transporte y que las concentraciones se mantenían bajas aún 24 h después del estrés. Resultados similares se encontraron en *Oreochromis niloticus* (18), en los que peces estresados por transporte mostraron dificultad para mantener las concentraciones de sodio y cloruro inmediatamente después del transporte; además, los peces alimentados con la dieta suplementada con vitamina C presentaron las menores concentraciones de estos iones. Los resultados de este estudio nos permiten afirmar que las concentraciones de suplementación de 200 mg/kg contribuyen a mantener estable el balance iónico de ejemplares estresados de *Piaractus brachyomus*. Estos resultados contrastan con los reportados por Abreu y Urbinati (21), quienes no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de cloruro de *Brycon amazonicus* alimentados con diferentes cantidades de vitamina C y que fueron sometidos a exposición aérea por 2 min.

CONCLUSIONES

- La suplementación con AA tuvo un efecto benéfico sobre las respuestas fisiológicas de los ejemplares de cachama blanca sometidos a exposición aérea.
- La suplementación con 400 mg/kg de AA en la dieta de juveniles de *Piaractus brachyomus* mejoró la respuesta al estrés, lo que permitió disminuir parcialmente la liberación de cortisol y glucosa, principales variables utilizadas como indicadores de respuesta al estrés.
- Las concentraciones de 200 mg/kg de AA en la dieta de cachama blanca disminuyeron el impacto del estrés agudo sobre la concentración de lactato y proteínas totales en el plasma, y les permitió a los ejemplares de cachama blanca mantener el balance iónico frente a condiciones estresantes.
- La utilización de por lo menos 200 mg/kg de AA en la dieta de cachama blanca es indispensable para el mantenimiento de la homeostasis de los animales ante situaciones de estrés.
- Se debe continuar investigando acerca de la utilización de AA en la dieta de otras especies nativas de peces para verificar su efecto protector ante situaciones de estrés.

REFERENCIAS

1. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma: autor; 2018.
2. Urbinati EC, Carneiro PCF. Prácticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. En: Cyrino JEP, Urbinati EC, Fracalossi DM, Castagnolli N, editores. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São José, SC: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática; 2005. p. 171-194.
3. Chen YJ, Yuan RM, Liu YJ, Yang HJ, Liang GY, Tian LX. Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass,

- Micropterus salmoides. *Aquaculture*. 2015;435:431-436. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.013>
4. Gao J, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S, Mamaug RE. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. *Aquaculture*. 2014;422-423:84-90. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.11.031>
 5. Barros MM, Falcon DR, Orsi RO, Pezzato LE, Fernandes AC Jr, Guimarães IG, et al. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed b-glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish Shellfish Immunol*. 2014;39(2):188-95. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.004>
 6. De Andrade JI, Ono EA, de Menezes GC, Brasil EM, Roubach R, Urbinati EC, et al. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2007;146(4):576-80. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.03.017>
 7. Arab N, Islami HR. Effects of dietary ascorbic acid on growth performance, body composition, and some immunological parameters of caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*. *J World Aquacult Soc*. 2015;46(5):505-18. <https://doi.org/10.1111/jwas.12215>
 8. Dabrowski K, Lee K, Guz L, Verlhac V, Gabaudan J. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout. *Aquaculture*. 2004;233(1-4):383-92. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.047>
 9. Barton BA. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr Comp Biol*. 2002;42(3):517-25. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
 10. Sumpter JP. The endocrinology of stress. En: Iwama GK, Pickering AD, Sumpter JP, Schreck CB, editores. *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge University Press; 1997. p. 95-118.
 11. Wedemeyer GA. *Physiology of fish in intensive culture systems*. Nueva York: Springer Science & Business Media; 1996. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6011-1>
 12. Pickering AD. Introduction: the concept of biological stress. En: *Stress and fish*. Londres-Nueva York: Academic Press; 1981. p. 1-10.
 13. Fresneda A, Lenis G, Agudelo E, Olivera M. Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev Colomb Cienc Pec*. 2004;17:46-52.
 14. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca. *Diagnóstico del estado de la acuicultura en Colombia*. Bogotá: autor; 2013.
 15. Association of Analytical Chemists. *Official method of Analysis of the Association of Analytical Chemists*. 19a. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists; 2012.
 16. Pottinger TG. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in angler's keepnets. *J Fish Biol*. 1998;53(4):728-42. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb01828.x>
 17. Wendelaar-Bonga SE. The stress response in fish. *Physiol Rev*. 1997;77(3):591-625. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>
 18. Falcon DR, Barros M, Pezzato LE, Sampaio FG, Hisano H. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin c- and lipid-supplemented diets and submitted to low-temperature stress. *J World Aquacult Soc*. 2007;38(2):287-95. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00098.x>
 19. Zhou Q, Wang L, Wang H, Xie F, Wang T. Effect of dietary vitamin C on the growth performance and innate immunity of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Fish Shellfish Immunol*. 2012;32(6):969-75. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.024>
 20. Ming J, Xie J, Xu P, Ge X, Liu W, Ye J. Effects of emodin and vitamin C on growth performance, biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) under high temperature stress. *Fish Shellfish Immunol*. 2012;32(5):651-61. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.01.008>
 21. Abreu JS, Urbinati EC. Physiological responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*) fed different levels of vitamin C and submitted to air exposure. *Acta Amaz*. 2006;36(4):519-24. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672006000400013>

22. Urbinati EC, Abreu JS, Da Silva AC, Landinez MA. Loading and transport stress of juvenile matrinxã *Brycon cephalus* at various densities. *Aquaculture*. 2004;229(1-4):389-400. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00350-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00350-8)
23. Chagas EC, Val AL. Ascorbic acid reduces the effects of hypoxia on the Amazon fish tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *J Fish Biol*. 2006;69(2):608-12. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01094.x>
24. Valenzuela A, Alveal K, Tarifeno E. Respuestas hematológicas de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) sometidas a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana (Concepc)*. 2002;66(2):255-61. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382002000200024>
25. Sloman KA, Taylor AC, Metcalfe NB, Gilmour KM. Stress from air emersion fails to alter chloride cell numbers in the gills of rainbow trout. *J Fish Biol*. 2001;59(1):186-90. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2001.tb02351.x>
26. Barcellos LJG, Woehl VM, Wassermann GF, Quevedo RM, Ittzes I, Krieger MH. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. *Aquac Res*. 2001;32(2):121-3. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00539.x>
27. Hoffmayer ER, Parsons GR. The physiological response to capture and handling stress in the Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae*. *Fish Physiol Biochem*. 2001;25(4):277-85. <https://doi.org/10.1023/A:1023210620904>
28. Arends RJ, Mancera JM, Muñoz JL, Wendelaar-Bonga SE, Flik G. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *J Endocrinol*. 1999;163(1):149-57.
29. Dabrowska H, Dabrowski K, Meyer-Burgdorff K, Hanke W, Gunther KD. The effect of large doses of vitamin C and magnesium on stress responses in common carp *Cyprinus carpio*. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1991;99(4):681-5. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90150-B](https://doi.org/10.1016/0300-9629(91)90150-B)
30. Salinas I, Anderson SA, Wright J, Webb VL. In vivo innate immune responses of grouper (*Polyprion oxygenios*) against *Miamiensis avidus* infection and lack of protection following dietary vitamin C administration. *Fish Shellfish Immunol*. 2012;32(1):8-15. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.08.017>
31. Navarro RD, Ferreira WM, Ribeiro Filho O, Botion LM, Pereira FKS, Silva RF, Maciel TEF. Desempenho de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementada com vitamina C. *Arch Zootec*. 2010;59(228):589-96. <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v59n228/art12.pdf>
32. Caldwell CA, Hinshaw J. Physiological and haematological responses in rainbow trout subjected to supplemental dissolved oxygen in fish culture. *Aquaculture*. 1994;126(1-2):183-93. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90259-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90259-3)
33. Ai Q, Mai K, Zhang C, Xu W, Duan Q, Tan B, Liufu Z. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*. 2004;242(1-4):489-500. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.08.016>
34. Abreu JS, Sanabria-Ochoa AI, Gonçalves FD, Urbinati EC. Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in a closed system under different loading densities. *Ciênc Rural*. 2008;38(5):1413-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000500034>