

2

I JORNADAS
DE
ICTIOPATOLOGIA
Y
ACUICULTURA

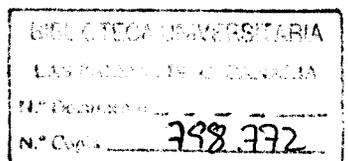
R.10.050
x

**I JORNADAS
DE
ICTIOPATOLOGIA
Y
ACUICULTURA**

Las Palmas de Gran Canaria, 9 a 12 de Abril de 1.992.

**Departamento de Patología Animal, Producción Animal y
Ciencia y Tecnología de los Alimentos. ULPGC**

**Fernando Real Valcárcel
Begoña Acosta Hernández
Rafael Ginés Ruiz**



INDICE

Acuicultura en las Islas Canarias: desarrollo y perspectivas de futuro. Carmen María Hernández Cruz	1
Nutrición en Acuicultura. Requerimientos nutritivos de la dorada. José Manuel Vergara Martín	13
Importancia patológica de los moxosporidios (<u>Protozoa</u> y <u>Mixozoa</u>) en la acuicultura marina. Pilar Alvarez Pellitero	21
Métodos de control de enfermedades en Acuicultura. José Luis Múzquiz Moracho. Carmelo Ortega Rodríguez	35
Principales grupos bacterianos patógenos de peces marinos en cultivo. Alicia Estévez-Toranzo	55
Avances en la virología de organismos marinos. Juan Luis Barja Pérez	79
Bases moleculares de la inmunidad frente a los rhabdovirus. Julio Coll Morales	93
Principales micosis de las especies marinas. José Miguel Aller Gancedo	119
Principales problemas ictiopatológicos en la piscicultura europea. Claudio Ghittino. Marino Prearo	137
Control de la reproducción de teleósteos en acuicultura. María Soledad Izquierdo López	153

**ACUICULTURA EN LAS ISLAS
CANARIAS: DESARROLLO Y
PRESPECTIVAS DE FUTURO**

Carmen María Hernández Cruz

**Centro de Tecnología Pesquera de Taliarte
Cabildo Insular de Gran Canaria**

El archipiélago canario presenta unas condiciones ambientales idóneas para el desarrollo de diversos cultivos marinos. Sus aguas son limpias y están bien oxigenadas, con temperaturas (17 a 25 °C) y salinidades (36,5 a 37 g/l) óptimas para el crecimiento de numerosas especies marinas que, en las costas europeas -más frías-, lo hacen con mayor lentitud. Otros factores favorables son la elevada tasa de radiación solar (3000 h/año) y la constancia de los vientos alisios que permiten disponer de energía renovable barata, de aplicación en granjas marinas.

Por el contrario, también existen factores limitantes: la escasez y carestía de terrenos, la práctica ausencia de ensenadas naturales y la carencia de lagunas costeras. Estos inconvenientes pueden ser evitados de dos maneras: mediante el engorde en jaulas flotantes especialmente diseñadas para resistir el oleaje y los temporales (hoy en día hay unas 20 empresas europeas, en su mayoría noruegas y escocesas, que fabrican este tipo de jaulas), o bien mediante el engorde en plantas de cultivo intensivo que sólo requiere superficies muy reducidas. Otro inconveniente deriva, sin embargo, del carácter oligotrófico de las aguas canarias que implica bajas productividades primarias, lo que hacen prácticamente inviables los cultivos de moluscos filtradores (Mejillón, Ostra, etc.).

1992 ← Actualmente, la Acuicultura marina se presenta como una actividad industrial alternativa al inversor del sector turístico que busca la diversificación, así como una solución complementaria a los problemas del sector pesquero.

Podemos considerar como pioneros de los cultivos marinos en Canarias al Centro de Tecnología Pesquera del Cabildo Insular de Gran Canaria y el Centro Oceanográfico de Canarias del Instituto Español de Oceanografía que, a finales de la década de los 70, iniciaron las primeras investigaciones en este campo.

Este interés por la Acuicultura en Canarias quedó refrendado con la celebración en Lanzarote del I Congreso Nacional sobre Cultivos Marinos (CONCUMAR), en marzo de 1980, organizado por la Subsecretaría de Pesca y Marina Mercante en el marco de la Ley de Pesca para Canarias. Las conclusiones de este evento pusieron de relieve la idoneidad del archipiélago canario para el desarrollo de la Acuicultura, recomendándose el cultivo de las especies siguientes: Oreja de mar (Haliotis sp.) y cefalópodos (entre los moluscos), langostinos (Penaeus kerathurus y P. japonicus) (entre los crustáceos) y Lubina (Dicentrarchus labrax), salmón (Salmo salar), Anguila (Anquilla anquilla) y rodaballo (Psetta maxima) (entre los peces).

En 1981 aparece el primer Plan Estratégico Nacional de Acuicultura que igualmente fomenta el desarrollo de los cultivos marinos en Canarias, en base a las características oceanográficas de sus aguas, recomendando, además de las especies ya citadas, el

ensayo del cultivo de las especies siguientes: Camarón de charco (Palaemon serratus) y Artemia (crustáceos), Lenguado (Solea vulgaris) y otras especies de peces locales.

A partir de ese momento, la entonces Junta de Canaria toma la iniciativa de financiar, con fondos de la Ley de Pesca para Canarias, el proyecto "Plan de investigación para el establecimiento de Cultivos Marinos en el archipiélago canario", con la finalidad principal de estudiar las posibilidades de cultivo de diversas especies marinas. Los objetivos de dicho proyecto incluían:

- la adaptación y mantenimiento de reproductores en tanques para la obtención de huevos viables,
- la puesta a punto de las técnicas de producción de los cultivos complementarios (fitoplancton, rotíferos y Artemia) para asegurar la alimentación larvaria inicial y, por último,
- la evaluación de las zonas costeras idóneas para la instalación de cultivos marinos.

La ejecución de tales estudios fue encomendada a los dos Centros de investigación marina ya citados. El Centro de Taliarte se dedicó al cultivo de Vieja (Sparisoma cretense), Bocinegro (Pagrus pagrus), Dorada (Sparus aurata), Baila (Dicentrarchus punctatus) y langostinos. El Centro de Tenerife se ocupó del cultivo de Vieja, Salema (Sarpa salpa), Sargo blanco (Diplodus sargus), Dorada, Lubina y Rodaballo.

Algunos de los problemas iniciales que se presentaron en esta etapa fueron: la falta de especialistas en diseño de instalaciones (p.ej., los defectos en las tomas de agua ocasionaron algunas enfermedades en las larvas por saturación de gases en el agua) y la obtención de reproductores. En algunos casos fue necesario trasladar los reproductores desde la Península, siendo el transporte en barcos cisterna el método que dio mejor resultado. Otras veces se trajeron huevos de Dorada y Lubina, debiendo ser gradualmente adaptados al nivel de salinidad local. Más adelante se procedió a capturar reproductores del medio natural. La adaptación de estos ejemplares salvajes a los tanques de estabulación ocasionó algunos problemas en el caso de especies profundas: en ocasiones hubo que pinchar la vejiga natatoria para desinflarla, en otras fue preciso reducir la iluminación de los tanques.

Otro tipo de problema fue el de las especies que reabsorbían sus gónadas maduras, teniendo que recurrir a la inducción de la puesta mediante inyección hormonal, aunque con el paso del tiempo los peces se adaptan a los tanques y la puesta puede llegar a ser espontánea. Contrariamente, hemos obtenido puestas naturales de Sama (Dentex gibbosus) transcurridas dos semanas desde la captura de los reproductores.

Otros inconvenientes fueron la agresividad durante la época de reproducción (caso de los machos de Vieja), que se solucionó creando refugios artificiales en el interior de los tanques. Algunas especies se mostraron remisas a la alimentación inerte con pienso seco.

En conclusión, se obtuvieron resultados satisfactorios en la reproducción en cautividad de Vieja, Bocinegro, Sargo blanco y langostinos, en la alimentación larvaria inicial de Dorada, Bocinegro, Sargo y langostinos, en la adaptación del Sargo al alimento inerte y, finalmente, en el engorde de Dorada. En el caso concreto de esta última especie, la Dorada, su período de

engorde en Canarias es de tan sólo 10 a 12 meses, frente a los 15-20 en el Mediterráneo. Sin embargo, en el caso de la Vieja los resultados de alimentación inicial fueron desalentadores, al no encontrarse el alimento adecuado al relativamente pequeño tamaño de la boca de la larva.

Conocido el éxito de las primeras experiencias en cultivos marinos y dada la disponibilidad de tecnología, a partir de 1984 la iniciativa privada comenzó a interesarse en los cultivos industriales a gran escala. Tras algunas experiencias empresariales, los langostinos (por la gran extensión de terreno que requiere su cultivo) y el rodaballo (por su tendencia a enfermedades en aguas cálidas) fueron descartadas en Canarias.

Situación actual

Pero, ¿cuál es la situación actual de la Acuicultura en Canarias? Hoy en día hay varias empresas que se dedican a este tipo de actividades, con el apoyo científico y tecnológico del Centro de Taliarte-Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, el Instituto Español de Oceanografía y el equipo de Fisiología Animal de la Universidad de La Laguna.

El Centro de Tecnología Pesquera, en Taliarte (Telde), dependiente del Cabildo Insular de Gran Canaria, cuenta con una Sección de Cultivos Marinos que opera, por un lado, en una planta experimental de acuicultura, que alberga las unidades siguientes:

- unidad de cultivo de fitoplancton (1800 l algales de capacidad y 500 l de producción máxima diaria),
- unidad de cultivo de zooplancton (21800 l de rotíferos y Artemia),
- unidad de incubación y cultivo de larvas y juveniles (18000 l de capacidad) y
- unidad de reproductores (48000 l de agua de mar de capacidad),
- además de laboratorios seco y húmedo, otras instalaciones complementarias y jaulas flotantes en el puerto de Taliarte.

En el mismo Centro de Taliarte, se dispone de un Laboratorio de Nutrición Animal, dotado de tecnología moderna para el análisis completo de la calidad nutritiva de las dietas ensayadas. La Sección de Cultivos Marinos recibe el apoyo del Laboratorio de Bacteriología para abordar los problemas de patología.

Sin embargo, a la vista de los proyectos de investigación en ejecución y de los estudios a realizar, el personal asignado a dicha Sección de Cultivos Marinos es a todas luces insuficiente y se resume en 1 biólogo y 2 oficiales de laboratorio en plantilla, y 1 biólogo en régimen de becario discontinuo.

Por otro lado, la Facultad de Ciencias del Mar imparte actualmente programas de Doctorado en Acuicultura Animal y Vegetal, ofertándose un Programa de Master en Acuicultura para el próximo curso. En el puerto de Taliarte, dispone de un Laboratorio de Algología Aplicada que investiga sobre cultivos de algas macroscópicas. El personal dedicado a la acuicultura animal está constituido por 2 profesores, 1 técnico, 4 becarios y varios alumnos internos. En virtud del Convenio de colaboración entre la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y el Cabildo Insular de Gran Canaria, desde 1989 este colectivo investigador y el

personal de cultivos marinos del Centro de Taliarte forman un equipo común que realiza sus tareas en este último Centro.

En la actualidad, el equipo de acuicultura animal Taliarte-Ciencias del Mar investiga fundamentalmente en el campo de la nutrición animal, siendo los temas abordados los siguientes:

- efecto de distintas dietas en la reproducción de Dorada,
- técnicas de cultivo larvario de Dorada basadas en el enriquecimiento de rotíferos y Artemia,
- requerimiento de ácidos grasos de las larvas de Dorada,
- desarrollo de microdietas para larvas de peces marinos,
- sustitución de harina de pescado por otras fuentes proteicas alternativas,
- requerimiento de ácidos grasos de los alevines de Dorada,
- adaptación a los sistemas de cultivo de dos especies nuevas para la acuicultura: Sama y Bocinegro,
- requerimiento vitamínico de las larvas de Dorada, Sama y Bocinegro, y
- estudios histofisiológicos de peces marinos cultivables sometidos experimentalmente a carencias nutricionales específicas.

Además, actualmente dicho equipo de investigación realiza un servicio de control de calidad de piensos y productos comerciales, incluyendo la oferta de hasta diez tipos de análisis bioquímicos.

Para desarrollar estas líneas de investigación se dispone de la financiación correspondiente, merced a la concesión de 1 proyecto de la Comisión de las Comunidades Europeas (CCE), 1 de la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y 2 del Gobierno de Canarias.

Por su parte, el Centro Oceanográfico de Canarias posee una planta experimental de cultivos marinos, con unidades de "hatchery", "nursery", preengorde y engorde. Actualmente operan en ella 2 biólogos, 2 técnicos de laboratorio y 3 mozos, investigando en alimentación práctica en el cultivo larvario de Dorada, alimentación de reproductores de Dorada y puesta a punto para el cultivo de Sargo blanco.

El Departamento de Biología Animal de la Universidad de La Laguna dispone de laboratorios de Fisiología Animal, dedicado fundamentalmente a la nutrición y donde trabaja un equipo formado por 1 profesor y 3 becarios.

Finalmente, el Gobierno de Canarias dispone de una nueva planta de cultivos marinos, en fase de construcción desde 1986, en el puerto de Taliarte.

Actualmente existen en Canarias varias empresas de acuicultura marina, agrupadas desde 1984 en la Asociación Canaria de Empresas de Acuicultura (ACEA). Algunas de estas empresas son: GRAMACAN, en el puerto de Arguineguín (Gran Canaria). Dedicada al engorde de Dorada y Lubina en jaulas flotantes. El capital invertido es canario.

CULTIVOS MARINOS TEIDE, en el interior del puerto de Los Cristianos (Tenerife). Se dedica, de forma casi artesanal, al engorde de Dorada y Lubina en jaulas flotantes. Actualmente se está ampliando mediante la adquisición de jaulas oceánicas, que serán instaladas en una ensenada fuera del puerto. El capital invertido es canario.

DORADA FISH, en Castillo del Romeral (Gran Canaria). Dedicada al engorde intensivo de Dorada y Lubina en tanques en

tierra, estando la "hatchery" en fase de construcción. El capital invertido procede del norte de Europa.

CANAMAR, en Jandía (Fuerteventura). Dedicada al engorde intensivo de Dorada y Lubina en tanques en tierra. El capital invertido es canario.

CULTIVOS MARINOS NEPTUNO, en la bahía de Igueste de San Andrés (Tenerife). Actualmente está comenzando el desarrollo del proyecto de instalación de jaulas flotantes oceánicas para engorde de Dorada y Lubina. El capital invertido es canario.

La empresa AGRAMAR, en Arrecife (Lanzarote), produce harina de pescado y está interesada en la fabricación de piensos para acuicultura.

Otras Empresas de acuicultura se hallan actualmente tramitando sus correspondientes permisos administrativos para dedicarse a engorde de peces en jaulas y en tierra.

Entre todas las empresas del sector, se prevee que en los próximos cuatro años se alcance una producción anual de 2 500 Tm de Dorada.

Finalmente, cabe destacar que también existen en Canarias varios Gabinetes Consultores en acuicultura marina.

Problemática y perspectivas de futuro

Pero, ¿cuáles son los problemas que, en un futuro, afrontará la Acuicultura marina en Canarias y cuáles son, en definitiva, las perspectivas o expectativas futuras?

Uno de los principales problemas que se presenta para el desarrollo futuro de la Acuicultura marina en Canarias es la falta de previsión en la reserva efectiva de terrenos costeros. Existen algunos terrenos bajos en las costas de Fuerteventura, Lanzarote y Gran Canaria que son idóneos para la realización de este tipo de actividades, sin embargo no existe ninguna regulación o reserva para que estos terrenos sean aprovechados en la acuicultura, siendo su precio muy elevado en la mayoría de los casos. Por esta razón, muchos acuicultores han optado por el cultivo en jaulas oceánicas.

Siendo conscientes de las múltiples dificultades de tipo biotécnico, socioeconómico y ambientales que aún han de ser resueltas, las Empresas canarias de acuicultura (ACEA) persiguen la coordinación entre las mismas y los Centros de investigación mediante la reciente puesta en marcha de un Convenio marco de colaboración con la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, el cual tiene como objetivos principales la constitución de grupos de trabajo e investigación conjuntos para la realización de proyectos técnicos y científicos concretos, así como la formación de especialistas.

Dicho Convenio de colaboración ya ha comenzado a dar sus frutos y, en 1991, la producción excedente de Dorada en la planta experimental de Taliarte fue cedida a la ACEA, consistiendo en 15 000 alevines de 10 g de peso unitario y un valor total de unos 2 millones de Pts. Como contrapartida, en un futuro próximo la planta de Taliarte podrá ir reponiendo su stock de reproductores suministrándose a partir de las Empresas ahora beneficiadas.

Un tercer problema es la necesidad de "hatcheries", ya que las empresas operativas se dedican solamente al engorde a partir del alevín, hasta que se alcanza la talla comercial de 350 g. Por ello, una de las principales dependencias exteriores del sector

la constituye la importación de alevines. En la actualidad existe un proyecto de la empresa ADSA (Alevines y Doradas, S.A.) para construir un criadero capaz de producir 5 millones de alevines/año.

Otra de las dependencias exteriores del sector es la disponibilidad de piensos. En Canarias existe un buen nivel de producción de harina de pescado, componente principal de los piensos para peces, por lo que sería factible la fabricación de piensos en las Islas para abastecer el mercado local. En la actualidad, nuestro equipo investigador realiza experiencias conjuntas con una fábrica de harinas de pescado para la formulación de dichos piensos.

Un problema a más largo plazo será la saturación de mercados con Dorada. Por lo que es necesaria la diversificación de las especies en cultivo, la cual, como ya se ha comentado, se ha iniciado mediante la introducción de Sama, Bocinegro y Sargo.

Por último, resulta difícil la obtención de créditos y seguros para estas actividades, dada la falta de especialización de bancos y aseguradoras en este campo.

Finalmente, en cuanto a las expectativas de futuro, diremos que, si se resuelven los problemas y carencias citados, Canarias ofrece, por su clima y calidad de aguas, excelentes posibilidades para la instalación y desarrollo de cultivos marinos. El abastecimiento insuficiente de pescado fresco en el mercado local ha elevado los precios, no llegando a cubrir sino un porcentaje mínimo de la demanda insular. Por otra parte, el mercado europeo ha dado muestras de ser enormemente receptivo a nuestros productos, prefiriendo la Dorada canaria a la peninsular, recibándose ofertas de compra en condiciones económicas muy favorables.

Bibliografía relacionada con el tema

- BRAVO DE LAGUNA, J. y col., 1983. Instalación de cultivos marinos artificiales en el litoral canario. Dirección General de Pesca Gobierno de Canarias (ed.), Las Palmas de Gran Canaria: 231 pp.
- FALCON, J.C., 1985. Primeras experiencias de cultivo de la dorada en Canarias. Memoria de Licenciatura, Fac. Biología, Univ. La Laguna: 105 pp.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., 1979. Inducción a la puesta y estudio del desarrollo embrionario y prelarvario de la "vieja" (*Sparisoma cretense*, Linné 1758). Mem. Licenciatura, Fac. Ciencias Univ. La Laguna: 98 pp.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H. y E. MORENO, 1980. Descripción y desarrollo embrionario y larvario de la vieja, *Sparisoma cretense* L. (Scaridae). *Vieraea*, 10: 31-38.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., E. MORENO y C.M. HERNANDEZ, 1980. Introducción a los cultivos marinos. *Boletín Informativo Aquayro*, 119: 11-13.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., E. MORENO, J.C. FALCON, J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, C.M. HERNANDEZ, Y. DE LA PORTILLA, R. RAMIREZ, D. SACRISTAN, J.M. VERGARA, L. O'SHANAHAN, A. MEDINA y C. SANTANA, 1983. Plan de investigación para el establecimiento de cultivos marinos en el Archipiélago Canario. Tomos I y II. Dirección General de Pesca del Gobierno de Canarias (ed.), Las Palmas de Gran Canaria: 294 pp.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., C.M. HERNANDEZ CRUZ y J.M. VERGARA

- MARTIN, 1987. Primeras experiencias de hatchery de lubina (Dicentrarchus labrax L.) en Gran Canaria. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 8: 41-52.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., C.M. HERNANDEZ CRUZ y J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, 1989. Influencia de la dieta, carga inicial y hora de ingesta sobre el engorde de dorada, Sparus aurata, en las Islas Canarias. En: Acuicultura Intermareal, M. Yúfera (ed.), Instituto Ciencias Marinas Andalucía, Cádiz: 287-296.
- FERNANDEZ-PALACIOS, H., C.M. HERNANDEZ, J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, J.M. VERGARA y L. ROBAINA, 1990. Influencia de distintas proporciones hembra: macho en la puesta de dorada (Sparus aurata L.). En: Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura, A. Landín y A. Cerviño (eds.), Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta de Galicia, Santiago de Compostela: 27-31.
- FERNANDEZ-PALACIOS, J.E. y H. FERNANDEZ-PALACIOS, 1987. Valor nutritivo de metanauplios de Artemia alimentados con dietas inertes: efecto en la supervivencia y crecimiento de larvas de dorada. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 12: 591-596.
- FERNANDEZ-PALACIOS, J.E., H. FERNANDEZ-PALACIOS, C.M. HERNANDEZ-CRUZ, L. ROBAINA y J.M. VERGARA, 1990. Compensación de Artemia deficitaria de ácidos grasos esenciales mediante alternancia con una cepa autóctona: efecto en la supervivencia, crecimiento y destete en dorada. En: Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura, A. Landín y A. Cerviño (eds.), Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta Galicia, Santiago de Compostela: 45-49.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M., 1985. Mantenimiento y cultivo masivo de una cepa Bs de Brachionus plicatilis O.F. Müller, 1.786 (Rotifera: Brachionidae), en Canarias. Memoria de Licenciatura, Fac. Biología, Univ. La Laguna: 104 pp.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M. e H. FERNANDEZ-PALACIOS, 1989. Supervivencia de larvas de Sparus aurata en fase crítica alimentadas con Brachionus plicatilis cepas Bs y S-1. Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr., 78: 9 pp.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M. y J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, 1987. Efecto de dietas enriquecidas sobre la supervivencia y crecimiento de larvas de lubina, Dicentrarchus labrax. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 12: 51-54.
- HERNANDEZ, C.M., Y. DE LA PORTILLA, H. FERNANDEZ-PALACIOS y J.A. GONZALEZ, 1986. Mantenimiento y cultivo masivo de una cepa Bs del rotífero Brachionus plicatilis O.F. Müller, 1786, en Canarias. Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr., 46: 49 pp.
- HERNANDEZ, C.M., H. FERNANDEZ-PALACIOS y J.A. GONZALEZ, 1988a. La planta experimental de cultivos marinos del Centro de Tecnología Pesquera de Gran Canaria (Islas Canarias)". Inf. Técn. Inv. Pesq., 144: 19 pp.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M., H. FERNANDEZ-PALACIOS y J.A. GONZALEZ PEREZ, 1988b. Cultivos marinos en Gran Canaria: objetivos y nivel tecnológico actual. Canarias Agraria y Pesquera, 5: 44-46.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M., H. FERNANDEZ-PALACIOS y J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, 1989. Efecto de dietas enriquecidas sobre la supervivencia y crecimiento larvarios de Sparus aurata alimentada con Brachionus plicatilis. En: Acuicultura Intermareal, M. Yúfera (ed.), Instituto Ciencias Marinas Andalucía, Cádiz: 243-247.
- HERNANDEZ-CRUZ, C.M., H. FERNANDEZ-PALACIOS y J.E. FERNANDEZ-

- PALACIOS, 1990a. Estudio preliminar del desarrollo embrionario y larvario del bocinegro, Pagrus pagrus (Pisces, Sparidae), en cultivo. Vieraea, 19: 215-224.
- HERNANDEZ CRUZ, C.M., J.M. VERGARA MARTIN, L. ROBAINA, J.E. FERNANDEZ-PALACIOS e H. FERNANDEZ-PALACIOS, 1990b. Resultados preliminares del cultivo larvario de dorada, Sparus aurata, bajo diferentes condiciones técnicas. En: Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura, A. Landín y A. Cerviño (eds.), Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta de Galicia, Santiago de Compostela: 33-38.
- IZQUIERDO LOPEZ, M.S., 1988. Estudio de los requerimientos de ácidos grasos esenciales en larvas de peces marinos. Modificación de la composición lipídica de las presas. Tesis Doctoral, Fac. Biología, Univ. La Laguna: 205 pp.
- MORENO, E., H. FERNANDEZ-PALACIOS y C.M. HERNANDEZ, 1980. Cultivo experimental del camarón y otros crustáceos. Boletín Informativo Aquayro, 123: 9-11.
- OJEDA, A. y A. AFONSO, 1986. Estudio comparativo del crecimiento y composición química de tres especies fitoplanctónicas, utilizando cuatro fuentes de nitrógeno. Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr., 45: 13 pp.
- OJEDA, A. y Y. DE LA PORTILLA, 1985. Especies fitoplanctónicas utilizadas en cultivos marinos. Informe Técnico del Centro de Tecnología Pesquera de Gran Canaria: 35 pp.
- OJEDA, A., A. AFONSO y D. SACRISTAN, 1985. Efecto de la salinidad, luz y temperatura en el crecimiento del alga fitoplanctónica Chlorella sp.. Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr., 29: 10 pp.
- RAMIREZ, R., J.E. FERNANDEZ-PALACIOS, A. VALENCIA, J.C. FALCON y ACUIGRUP, 1987. Engorde de dorada (Sparus aurata L.) en Canarias. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 9: 335.
- RIVAS, M.A., 1987. Descripción de la estación de investigación en piscicultura del Centro Costero de Canarias del Instituto Español de Oceanografía. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 12: 759-764.
- ROBAINA, L., H. FERNANDEZ-PALACIOS, C.M. HERNANDEZ CRUZ, J.E. FERNANDEZ-PALACIOS y J.M. VERGARA MARTIN, 1990. Estudio de parámetros biométricos en el cultivo de larvas de dorada (Sparus aurata L.) en las Islas Canarias". En: Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura, A. Landín y A. Cerviño (eds.), Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta de Galicia, Santiago de Compostela: 51-56.
- SACRISTAN, M.D., 1982. Primeras experiencias de cultivo de langostinos Penaeus kerathurus en las Islas Canarias. Resúmenes de Comunicaciones al Simposio Nacional sobre Acuicultura de Esteros, Cádiz: 28.
- SACRISTAN, M.D., 1987. El cultivo del langostino. Canarias Agraria y Pesquera, 3: 27-28.
- SACRISTAN, M.D., Y. DE LA PORTILLA, A. MEDINA y ACUIGRUP, 1987. Experiencias en la alimentación y patología de los langostinos Penaeus kerathurus y Penaeus japonicus. Cuad. Marisq. Publ. Téc., 8: 257-267.
- SUBSECRETARIA PESCA Y MARINA MERCANTE, 1980. Memoria I Convención Nacional de Cultivos Marinos. CONCUMAR 1. Lanzarote, 3-8 marzo 1980: 304 pp.
- , 1981a. Primer avance sobre el Plan Estratégico Nacional de Acuicultura. Tomo I, Madrid: s/pag.
- , 1981b. Primer avance sobre el Plan Estratégico Nacional de

Acuicultura. Tomo II (Anexo IV: Estudio de mercados y producción de la pesca española. Conclusiones sobre la comercialización y producción de Acuicultura), Madrid: 382 pp.

VERGARA MARTIN, J.M., L.E. ROBAINA ROBAINA, C.M. HERNANDEZ CRUZ, H. FERNANDEZ-PALACIOS, J.E. FERNANDEZ-PALACIOS y M.S. IZQUIERDO, 1990. Estudios sobre el valor nutricional de una dieta microencapsulada para larvas de dorada (Sparus aurata, Linné)". En: Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura, A. Landín y A. Cerviño (eds.), Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, Xunta de Galicia, Santiago de Compostela: 39-44.

**NUTRICION EN ACUICULTURA.
REQUERIMIENTOS NUTRITIVOS DE LA
DORADA**

José Manuel Vergara Martín

**Departamento de Biología
Facultad de Ciencias del Mar
Universidad de Las Palmas de G.C.**

RESUMEN

Se realiza una breve introducción a las características y problemas relacionados con el estudio en el área de nutrición en acuicultura, con especial énfasis en peces. La dorada (*Sparus aurata* L.), es una especie marina que está viendo un importante desarrollo de su cultivo comercial, especialmente en el área Mediterránea. Ello ha motivado un creciente interés en el estudio de sus requerimientos nutritivos, dando lugar a líneas de investigación que cubren las distintas fases de su cultivo. Se discuten los avances realizados en este caso, los problemas que aún quedan por resolver, así como una exposición de los trabajos que se llevan a cabo en esta Universidad.

NUTRICION EN ACUICULTURA.PECES.

La acuicultura ha experimentado su más significativo desarrollo durante los últimos 30 años. Se están cultivando nuevas especies, se han introducido nuevas tecnologías, se han ido consolidando numerosos equipos de investigación, y se están dirigiendo cada vez más recursos financieros hacia esta actividad. Tal es así, que con el tiempo, la acuicultura provee cada vez un porcentaje mayor de productos acuáticos al mercado tradicional de la pesquerías (1989: 14 millones de Tm.) Aprox. 20% de las extracciones totales por pesquerías).

El principal objetivo del cultivo de peces es incrementar su peso en el tiempo más corto posible, y en condiciones económicamente rentables. Una condición necesaria para ello es la satisfacción óptima de todos los requerimientos metabólico-fisiológicos de los organismos, como se trata de conseguir, por ejemplo, ofreciendo al animal condiciones ambientales óptimas y alimentándolo con dietas específicamente formuladas.

Conforme las tecnologías de cultivos han ido evolucionando, se aprecia una tendencia hacia producciones mayores y crecimientos más rápidos. Esto ha conducido bien a incrementar el alimento natural disponible mediante fertilización (sistemas extensivos), bien al uso de materiales húmedos o secos como suplementación del alimento natural (sistemas semi-intensivos), o bien a suministrar todos los nutrientes al pez en forma de dieta preparada (sistemas intensivos). Conforme el pez se hace más dependiente de estas dietas artificiales, es crítica la necesidad de alimentos completos desde el punto de vista nutricional; en otras palabras, que cubra los requerimientos nutritivos de la especie para la que está destinado.

La investigación en nutrición de peces también ha evolucionado significativamente durante los últimos 30 años, aunque sin embargo, la nutrición de animales terrestres ha sido estudiada desde mucho más tiempo atrás. La mayoría de los trabajos de investigación pioneros en este campo se llevaron a cabo con salmónidos y más recientemente se ha comenzado a prestar también atención a otras especies importantes cultivadas en diferentes zonas del mundo, así como a nuevas especies con potencial para la acuicultura.

La calidad nutritiva de la dieta es uno de los pilares del cultivo de peces, pudiendo determinar en gran medida el éxito o fracaso de la operación. La nutrición influye en el comportamiento, integridad estructural, salud general, reproducción, impacto ambiental y crecimiento de los peces. Por lo tanto, se hace necesario establecer lo más precisamente posible los requerimientos nutritivos de los peces en condiciones de cultivo, de tal forma que se puedan formular dietas que maximicen el crecimiento y mantengan al pez saludable.

Con la excepción de agua y energía, los requerimientos de nutrientes dietarios de todas las especies animales cultivadas pueden considerarse bajo cinco diferentes grupos: proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas y minerales. La Ciencia de la Nutrición estudiará, pues, el ofrecer estos nutrientes a los animales cultivados de la manera más equilibrada posible, de acuerdo con sus requerimientos específicos.

Generalmente, los peces son convertidores de alimentos en peso corporal más eficaces que los animales terrestres, alcanzando índices de conversión alimentaria dentro de un rango comprendido entre 1:1 y 2:1, comparados con 2.2:1 para pollos, 3:1 para cerdos y 7:1 para vacuno y oveja. Si estos factores de conversión los basamos en producción de carne comestible por alimento ingerido, los valores son aún más favorables para los peces (alrededor de 2:1, comparados con 5:1 para pollos y 20:1 para vacuno).

Una desventaja apuntada tradicionalmente desde el punto de vista nutricional de peces, el alto requerimiento de proteína (expresada como % de la dieta), ha sido regularmente esgrimida, toda vez que el componente proteínico es el más caro de los ingredientes de la dieta. Sin embargo, cuando estos requerimientos en proteína se expresan en términos de índice de ingesta de proteína (gramos de proteína por Kg. de peso corporal por día), y la ganancia de peso obtenida por peso de proteína ingerida (gramos de proteína por Kg. de peso ganado), los requerimientos de proteína de los peces aparecen entonces similares a los de los animales terrestres criados en granjas.

En contraste con los vertebrados homeotermos, los peces son piquilotermos, no teniendo que dedicar energía al mantenimiento de la temperatura corporal. Además, el amonio, producto final primario del metabolismo del nitrógeno, es excretado rápidamente por difusión pasiva a través de las branquias y, consecuentemente, los peces emplean menos energía en catabolizar proteínas que los animales terrestres, que deben convertir el amonio en sustancias no tóxicas como la urea o el ácido úrico. Estas dos importantes diferencias metabólicas, incluyendo el menor gasto energético de los animales acuáticos en mantener su posición en un medio líquido, contribuyen a que los peces tengan unos requerimientos de energía mucho menores que los animales homeotermos terrestres. De este modo, la diferencia absoluta en requerimientos de estos dos grupos de animales residiría en los requerimientos de energía, no en proteína.

Si se considera que hasta el presente se han cultivado más de 300 especies diferentes de peces, todas ellas con diferentes requerimientos nutritivos, se hace evidente la ingente tarea de investigación que queda por delante para obtener un conocimiento básico de su nutrición.

LA DORADA (*Sparus aurata* L.)

Es un pez marino de aguas cálidas cuyo hábitat son los fondos rocosos y arenosos de aguas costeras y deltas de ríos, donde forma grupos de individuos de la misma edad. Abundante en el Mediterráneo, se encuentra también en el Mar Negro y costas del Atlántico-Este, desde Gran Bretaña hasta Senegal. Considerada como especie carnívora, su dieta natural se compone principalmente de crustáceos, moluscos, poliquetos, equinodermos y teleosteos.

El hecho de que esta especie, de alto valor comercial, y que viene siendo cultivada a escala comercial desde finales de los 70, no haya sido objeto de un interés en investigación similar a especies de salmónidos (trucha, salmón) cultivados inicialmente en los países occidentales más desarrollados, puede entenderse, al menos parcialmente, ya que la mayoría de los países Mediterráneos sufren deficiencias en el desarrollo de investigación básica y aplicada, especialmente en Acuicultura. Más recientemente, sin embargo, se están dedicando mayores niveles de recursos a la investigación en Acuicultura en algunos de estos países Mediterráneos, cada vez más gente se está viendo involucrada en los problemas de la nutrición en Acuicultura.

Debido a las características que, al igual que otras especies de peces marinos, tiene la dorada en cuanto a las fases de su cultivo, podemos también considerarla desde el punto de vista nutricional dos fases claramente diferenciadas:

- Fases larvarias (Principalmente a base de alimento vivo, y su potencial de sustitución por dietas inertes).

- Fases de engorde, correspondientes a los estadios de alevín, juvenil y adulto (A base de dietas secas inertes).

Como consecuencia se han desarrollado numerosas líneas de investigación en cada una de estas fases.

Hablar del amplio campo del estudio de requerimientos nutritivos de larvas de dorada sobrepasa el tiempo disponible en esta charla, y no voy a referirme a él en absoluto. Además, colegas de mi Departamento y de la Sección de Cultivos Marinos del CTP trabajan en él desde hace tiempo y serían ellos los más adecuados para comentar este amplísimo tema.

Respecto a las fases de nutrición de la dorada en que ésta acepta alimentación inerte, los trabajos iniciales se llevaron a cabo principalmente en Francia e Israel. Desde entonces se ha ido incrementando la cantidad de trabajos, cubriendo varios aspectos referentes a los requerimientos nutritivos de esta especie.

El único trabajo publicado hasta la fecha sobre requerimientos cuantitativos de proteína de la dorada indicaba un nivel mínimo de 40% para producir crecimiento óptimo en peces de 3g de peso medio inicial (Sabaut y Luquet, 1973). Los autores emplearon 4 dietas semi-sintéticas conteniendo un rango de proteína entre 11 y 60%. La fuente de proteína consistió en caseína suplementada con una mezcla de aminoácidos sintéticos. Los niveles de lípidos se mantuvieron en 8% en todas las dietas a base de una mezcla de aceite de soja (5.7%) y aceite de hígado de bacalao (2.3%). Los diferentes niveles de proteína se consiguieron sustituyendo la mezcla nitrogenada con almidón de maíz en peso.

Respecto a los requerimientos óptimos de lípidos, que constituyen la fuente de ácidos grasos esenciales y son además un nutriente vital como fuente de energía, Marais y Kissil (1979) publicaron que dietas conteniendo bajos niveles de éstos (9%) dieron mejores resultados en crecimiento en juveniles de dorada de 40g que altos niveles (16%), utilizando aceite de soja como fuente principal de grasa en las dietas.

Kissil y Gropp (1984), usando aceite de capellán como fuente de lípidos y una mezcla de varias harinas (pescado, subproducto de pollería, soja), obtuvieron como niveles óptimos de proteína/lípidos: 40/5 para doradas de 45g y 44/10 para individuos de 3g de peso inicial.

Por otro lado, Pereira et al.(1987), publicaron que dietas altas en proteína y altas en energía (51/14=prot/lip) dieron mejores resultados en doradas de 1-6g que dietas conteniendo 41/14=prot/lip). Fuente de proteína: Harina de pescado. Fuente de lípidos: aceite de hígado de bacalao.

Asimismo, Takeuchi et al.(1991), con dorada japonesa, encontraron que la combinación óptima de proteína y lípidos en las dietas de peces de 2 a 7g fue 52% y 15%, respectivamente, siendo harina de pescado y aceite de hígado de bacalao las fuentes de proteína y lípidos, respectivamente.

Así pues, parece haber cierta cantidad de contradicción entre algunos de estos resultados, especialmente cuando se emplearon similares fuentes de nutrientes en distintos trabajos.

El planteamiento de nuestro trabajo consistió en revisar los requerimientos cuantitativos de proteína de dorada, empleando harina de sardina como fuente de proteína, y aceite de sardina como fuente de lípidos. Los experimentos se realizaron con dos tallas de peces: alevines (0.8g) Y juveniles (60g).

Los resultados de estos experimentos se explican apoyándose en tablas y figuras comentadas. Las hipótesis siguientes son sugeridas como explicación parcial de las diferencias encontradas con los resultados publicados por otros autores.

Hoy en día se reconoce ampliamente que proteínas purificadas tales como la caseína, son deficientes en ciertos EAA, y cuando éstos AA se incluyen en las dietas en su forma sintética (cristalina), la absorción de éstos tiene lugar en el intestino en tiempos diferentes, dando lugar a pobres crecimientos y eficiencias de conversión alimentaria. Esto se debe a que la síntesis óptima de proteína requiere que todos los AA sean presentados simultáneamente al tejido, de lo contrario comienzan procesos de catabolismo con la consiguiente disminución de crecimiento y eficiencias alimentarias.

Asimismo, el aceite de soja, y en general, aceites vegetales, son considerados como pobres fuentes de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), que son esenciales en las dietas de especies de peces carnívoros marinos.

Diferentes técnicas de procesamiento estadístico de los resultados son sugeridos también como fuente de dificultad a la hora de comparar resultados procedentes de diferentes autores.

A continuación se realizaron dos experimentos con alevines (5.6g) y adultos (90g) para determinar las proporciones óptimas de proteína y lípidos en las dietas, tomando los niveles óptimos de proteína encontrados en los experimentos anteriores como referencia para establecer los rangos de este nutriente en las dietas experimentales.

Finalmente, se realizaron dos experimentos con juveniles (41.9 y 46.4g) en los que se estudió: 1°) El efecto de diferentes fuentes de hidratos de carbono sobre la digestibilidad de nutrientes de las dietas, el crecimiento y el uso energético de estas dietas;

2°) El efecto de diferentes niveles de lípidos sobre la digestibilidad de nutrientes, el crecimiento y el uso energético de las dietas.

CONCLUSIONES

- 1** Los requerimientos de proteína para alevines (0.8g) y juveniles (60g) fueron de 55% y 42%, respectivamente.
- 2** Los requerimientos de proteína para alevines (5.6g) y adultos (90g) fueron de 52% y 54%, respectivamente, y el nivel de proteína pudo reducirse a 45% al incrementar los lípidos en las dietas de 9% a 15% en alevines.
- 3** Los resultados sugieren que los niveles de proteína también podrían reducirse en alevines de 0.8g, de 55% a 50%, si los lípidos se incrementaran de 9% a 15-17%.
- 4** Los lípidos en exceso o de reserva se almacenan tanto en tejidos viscerales como no-viscerales, y esta deposición aumentó al incrementarse los lípidos en las dietas, pero los niveles nunca fueron superiores a los publicados para animales salvajes de la misma especie.
- 5** Los niveles óptimos de proteína encontrados para adultos (90g) fueron más altos que los esperados (52% en lugar de 42%). Una posible explicación podría ser una mayor demanda de proteína debida a la maduración sexual para el desarrollo de las gonadas en individuos de esta edad.
- 6** Los niveles máximos de fibra e hidratos de carbono recomendados en dietas para esta especie son 6% y 20%, respectivamente.
- 7** Las proteínas y los lípidos fueron bien digeridos, subrayándose su importancia como nutrientes "fuente de tejidos" y de energía.
- 8** El almidón de maíz fue la fuente de hidratos de carbono más efectiva como proveedora de energía, aunque el salvado de trigo apareció como una fuente de hidratos de carbono idónea para dietas prácticas.
- 9** El incremento de lípidos en las dietas produjeron las mejores utilidades de proteína y energía, subrayando la importancia de este nutriente como fuente de energía para la dorada.
- 10** Se sugieren los siguientes niveles de nutrientes en dietas prácticas para dorada (FIGURA).
- 11** Se requiere mucho más esfuerzo investigador para proporcionar un conocimiento completo de los requerimientos nutritivos de la dorada, y poder ofrecer así un sólido apoyo al cultivo comercial de esta especie.

**IMPORTANCIA PATOLOGICA DE LOS
MIXOSPORIDIOS (Protozoa Y
Mixozoa) EN LA ACUICULTURA
MARINA**

Pilar Alvarez Pellitero

**Instituto de Acuicultura Torre de la Sal
Castellón**

1. MIXOSPORIDIOS. Introducción.

1.1. Definición.

Protozoos endoparásitos, que, junto con los Actinosporea, constituyen el filum Myxozoa. Son raramente intracelulares y afectan mayoritariamente a peces marinos o dulceacuícolas, más raramente a otros vertebrados poiquiloterms acuáticos.

La taxonomía del grupo está basada esencialmente en la espora, fase de dispersión y a la vez de resistencia del parásito, mientras que un trofozoito pluricelular es el principal estadio de proliferación.

La espora es un estadio pluricelular que consta de unas valvas (2-6 según los géneros) unidas por líneas de sutura, que encierran en su interior 2-6 cápsulas polares (que contienen un filamento enrollado en espiral), y 1 a 2 esporoplasmas, que constituyen el estadio infectante.

1.2 Ciclo vital y transmisión.

Los datos sobre ambos aspectos son escasos para la mayoría de los mixosporidios.

Hasta hace poco tiempo, se aceptaba que el ciclo de los mixosporidios es directo. El pez se infectaría al ingerir esporas maduras o depredar otros peces infectados. En el tracto digestivo, los filamentos, una vez desenvainados, servirían para el anclaje de la espora en las paredes. Tras la apertura de las valvas, el esporoplasma liberado podría emigrar por el conducto biliar, y alcanzar la vesícula, o bien atravesar el epitelio, y pasar el torrente sanguíneo, que lo conduciría a los órganos diana. Una vez allí, y tras la fusión de las dos núcleos, la célula diploide sufriría un proceso de división, que culminaría en la esporagénesis y formación de las correspondiente esporas.

Sin embargo, los hallazgos de Wolf y Markiw en 1983, confirmados por sus propias observaciones posteriores y las de otros autores (ver bibliografía), demostraron la participación de un hospedador intermediario en el ciclo vital de *Myxobolus cerebralis* de los salmónidos, *M. cotti* de *Cottus gobio* y *M. arcticus* del salmon sockeye. Ese hospedador intermediario es un oligoqueto que alberga un estadio del ciclo, el Triactinomyxon (clasificado en el grupo de los Actinosporidios), que sería el verdadero agente infectante para el pez hospedador.

Este tipo de ciclo sólo se ha demostrado hasta el momento para estas tres *Myxobolus* spp., pero llama la atención el hecho de que los intentos de infección experimental de distintos mixosporidios, a partir de esporas, han resultado infructuosos.

1.3. Localización en el hospedador y efecto patógeno.

Según su localización, los mixosporidios pueden ser celozoicos (ubicados en cavidades, como la vesícula biliar o la vejiga urinaria) o histozoicos (localizados en los tejidos). Generalmente, se consideran más patógenos los mixosporidios histozoicos, pero existen una serie de factores que influyen sobre la patogenicidad de las distintas especies, aparte de su localización.

En la mayoría de los casos se produce una alteración del órgano infectado, que puede manifestarse de distintos modos:

a/ Provocando cambios notables en la forma y tamaño del órgano, asociados a hiperplasia o hipertrofia, y que pueden incluso manifestarse externamente. Es frecuente la existencia de una reacción inflamatoria, a veces acompañada de formación de granulomas, con o sin reacción fibrótica.

b/ Alterando la función del órgano parasitado, sobre todo cuando la intensidad de infección es elevada y se llega a producir la situación anterior, o bien necrosis o destrucción de extensas zonas del tejido.

Evidentemente, los efectos patógenos varían también según la naturaleza del órgano afectado, puesto que si se trata de órganos vitales, la repercusión de la infección es mucho mayor.

Algunos mixosporidios tienen una localización muy específica en su hospedador, mientras que otros afectan a distintos órganos y tejidos. En otros casos, existe una localización preferente en infecciones moderadas, pero si la parasitación es masiva, el mixosporidio se dispersa y la infección se convierte en generalizada.

2. Mixosporidiosis de peces marinos de interés en Acuicultura.

Según la morfología de la espora, los Mixosporidios se clasifican en dos órdenes: Bivalvulida (esporas con dos valvas) y Multivalvulida (esporas con 3-6 valvas).

Todas las especies de Multivalvulida descritas hasta ahora son parásitos de peces marinos, pero también se encuentran en estos hospedadores distintas especies de Bivalvulida.

Aunque el número de mixosporidios descritos en peces, y concretamente en peces marinos, es muy elevado, son más limitados los casos en que se han señalado enfermedades por estos protozoos. Sin embargo, este hecho puede ser debido, en parte, a la falta de suficientes datos, tanto epidemiológicos como patológicos. Si bien es cierto que

la presencia de mixosporidios a veces no va acompañada de signos clínicos exteriores, en muchos casos están produciendo enfermedades crónicas, y sus efectos patógenos resultan claros cuando se hacen estudios histopatológicos o se comparan datos de índices de condición, con los de peces no afectados.

Es indudable que, incluso en ausencia de signos externos de enfermedad, las infecciones por mixosporidios influyen sobre el estado general de los peces y los índices de conversión de alimento, y, por tanto, sobre el proceso productivo en el caso de los cultivos.

Los datos sobre la repercusión de los mixosporidios en acuicultura marina eran muy escasos hasta hace poco tiempo, pero al irse extendiendo este tipo de cultivos se han ido detectando nuevos procesos.

Vamos a referirnos aquí a las mixosporidiosis más importantes detectados hasta ahora en peces marinos cultivados, con especial énfasis en los de ámbito mediterráneo. No vamos a incluir la conocida enfermedad del torneo, producida por *Myxobolus cerebralis*, ni tampoco la enfermedad proliferativa del riñón (PKD) puesto que, aunque son propias de distintos salmónidos, incluidos los anadromos, se manifiestan normalmente en agua dulce.

En la tabla adjunta se resumen los datos conocidos sobre mixosporidios descritos en peces marinos cultivados, incluyendo los datos patológicos, cuando se conocen.

La vía de transmisión y/o el estadio infectante no se conocen en ninguno de los casos, puesto que no se ha completado el ciclo vital. Es evidente que la posibilidad de transmisión directa facilitaría extraordinariamente la dispersión del parásito en los sistemas de cultivo cerrados, mientras que en los sistemas en jaulas, incluso en el caso de ciclo heteroxeno, la transmisión podría producirse si los hospedadores intermediarios existieran en el habitat.

Myxosporidios		Hospedador/es	Localización	Enfermedad y signos clínicos	Distribuc. geográfica
Orden	Especie				
Bi-valvulida-	<i>Ceratomyxa shasta</i>	Salmonidos <i>Oncorhynchus spp.</i> Silvestres y cultivados	intestino (invasión generalizada en infecciones nten-sas)	Ceratonixosis. Pérdida de apetito, inflamación abdominal, ascitis, hemorragias, perforación intestinal; masas tumorales en distintos órganos. Mortandad en peces jóvenes.	Occidente de Norte América
	<i>Ceratomyxa spp.</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	vesícula biliar (páncreas, intestino)	Sin signos externos. Histopat.: vacuolización, deformación, necrosis del epitelio de la vesícula biliar. Alteración o destrucción de células pancreáticas.	Zona Mediterránea (España, Francia)
	<i>Sphaerospora testicularis</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	testículo (invasión generalizada en infecciones masivas)	Esferosporosis testicular. Distintos grados de castración parasitaria.	Zona Mediterránea (España)
	<i>Sphaerospora dicentrarchi</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Sistémica	Sin signos externos. Histopat.: destrucción de zonas extensas de los tejidos afectados, sobre todo páncrea y gónada.	Zona Mediterránea (España, Francia).
	<i>Sphaerospora sp.</i>	<i>Sparus aurata</i> <i>Liza aurata</i>	riñón posterior dermis	Úlceras dérmicas. Riñón: destrucción de los glomérulos; reacción inflamatoria.	Zona Sudatlántica y Delta del Ebro.
	<i>Zachokella sp.</i>	(<i>Liza aurata</i> <i>Mugil capito</i> <i>Mugil cephalus</i>)	Vesícula biliar	Puede contribuir a mortandades en larvas. Histo : alte. o destrucción del epitelio de la vesícula biliar.	Zona Mediterránea (Delta del Ebro)

Myxosporidios		Hospeda- dor/es	Localiza- ción	Enfermedad y signos clínicos	Distrib. geográfica
Or- den	Especie				
Multi val- vuli- da	<i>Kudoa thyrsi- tes</i>	<i>Cory- phaena hippu-rus</i> <i>Onco- rhynchus sp.</i> <i>Salmo salar</i>	Muscu- latura dorsal, higado, pericar- dio músculo cardíaco	Infeción multifocal intracelular, con reacción inflamatoria. Destrucción de las miofibrillas, histiolisis, miolicuefacción Necrosis hepato- celular Corazón con con- sistencia blanda	Albany, Australia occidental (cultivos en jaulas) British Columbia (Canadá) (Criaderos y granjas) Whasing, USA (cultivos en jaulas)
	<i>Kudoa spp.</i>	<i>Sparus aurata</i> (Preva- lencia muy ba- ja.	glomé- rulos renales serosa	Obstrucción luz capilar, cierta degeneración o necrosis celular	Zona Mediterránea (Francia, Israel).
	<i>Kudoa spp.</i>	<i>Seriola quinquen- radiata</i> <i>Pagrus major</i> <i>Oplegna- tus punc- tatus.</i> <i>Takifugu rubripes</i>	Musculatu- ra dor- sal, a veces pericar- dio	Similares a <i>Kudoa thyrsites</i>	Distintas zonas de la costa japonesa (cultivos en jaulas)

3. Diagnóstico de las mixosporidiosis

En la mayoría de los casos, el único método de diagnóstico posible de las mixosporidiosis, lo mismo que de otras parasitosis de peces, es el directo, basado en la visualización de los parásitos en improntas frescas o mediante técnicas histológicas.

Este método presenta inconvenientes y limitaciones, no sólo porque para lograr una fiabilidad aceptable se requiere tiempo y personal especializado, sino también porque según la localización del parásito, puede exigir el sacrificio del pez.

Cuando el mixosporidio ocupa determinadas localizaciones, de las que no es fácil obtener una muestra para su examen directo en fresco, -como en el caso de *Myxobolus cerebralis* localizado en el cartílago de la región ótica,- se ha tratado de estandarizar una técnica de diagnóstico.

Consiste en aislar la parte de tejido u órgano que se sospecha parasitada, macerarla y tras una digestión con pepsina, combinar centrifugaciones y sedimentaciones con formación de gradientes, si es necesario, y examinar al microscopio la fracción adecuada, para la búsqueda de las esporas. También se puede aplicar una centrifuga de plancton.

Por lo que respecta a los métodos de inmunodiagnóstico, no existe ningún antisuero comercial para el diagnóstico de mixosporidios. Únicamente en el caso de *Myxobolus cerebralis*, se ha obtenido un antisuero en conejo para la detección del parásito por inmunofluorescencia, pero su empleo no está comercializado. También se ha intentado obtener antisueros monoclonales y policlonales, en el caso de *Ceratomyxa shasta*, sin que hasta el momento se hayan conseguido resultados definitivos.

4. Tratamiento y control de las mixosporidiosis.

No se conocen tratamientos efectivos contra las mixosporidiosis, por lo que el control se ha basado fundamentalmente en la aplicación de medidas preventivas, y, sobre todo, en impedir el acceso de los estadios infectantes, mediante un control estricto de la calidad del agua y de los stocks de peces.

Si una mixosporidiosis se introduce y extiende en una explotación piscícola, el único medio existente hasta ahora para eliminar la infección es el vaciado de los tanques y su tratamiento con agentes químicos, como la cianamida cálcica o el hipoclorito cálcico.

Sin embargo, en los últimos años se han realizado estudios sobre la quimioterapia de la mixosporidiosis, con algunos resultados prometedores.

Los fármacos ensayados incluyen el Proguanil y el Clamoxiquin, el Toltrazusil, el verde malaquita y, sobre todo, la Fumagilina.

La Fumagilina es un antibiótico aislado del cultivo de una cepa de *Aspergillus fumigatus*. Su derivado Fumidil-B o Fumidil-DCH (sal biciclohexil amino del ácido de la fumagilina), se ha utilizado experimentalmente con cierto éxito contra distintas mixosporidiosis, incluyendo *Myxobolus cerebralis* y PKX de los salmónidos, *Sphaerospora renicola* de la carpa ó *Myxidium giardi* de la anguila.

Nosotros hemos realizado ensayos preliminares de tratamiento de la esferosporosis testicular con Fumidil-B, que parecen indicar su efectividad para impedir la progresión de infecciones tempranas.

En ausencia de un método de tratamiento eficaz, los datos sobre ciclo vital, epidemiología y relaciones parásito/hospedador de las mixosporidiosis, son de gran importancia para articular medidas de prevención y control.

REFERENCIAS DE INTERES EN RELACION CON EL TEMA

- ALDERMAN, D.J. (1985). Malachite green : a review. J. Fish Dis., 8: 289-298.
- ALDERMAN, D.J. (1985). Whirling disease chemotherapy. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 6: 38-40.
- ALDERMAN, D.J. (1988). Fisheries chemotherapy : A Review. En : Recent Advances in Aquaculture, Vol, 3. J.E. Muir y R.J. Roberts, Eds. Cambridge Univ. Press. pp: 1-61.
- ALVAREZ-PELLITERO, P. (1988) Enfermedades producidas por parásitos en peces. En : "Patología en Acuicultura". J. Espinosa de los Monteros y V. Labarta (Eds.) CAICYT. Madrid. pp: 215-326.
- ALVAREZ-PELLITERO, P. y SITJA-BOBADILLA, A. (1990). Protozoan parasites of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) VII. Int. Congr. Parasitol., Paris. Bull. Soc. Franc. Parasitol., 8 (Suppl.): 871.
- AMOS, K.H. (1985). Procedures for the Detection and Identification of certain Fish Pathogens. 3rd Ed. Fish Health Section, Am. Fish Soc. Corvallis, Oregon.
- BARTHOLOMEW, J.L., ROHOVEC, J.S. and FRYER, J.L. (1989). Development, characterization and use of monoclonal and polyclonal antibodies against the myxosporean *Ceratomyxa shasta*. J. Protozool., 36 : 397-401.
- CLIFTON-HADLEY, R.S. and ALDERMAN, D.J. (1987). The effects of malachite green upon proliferate kidney disease J., Fish Dis., 10 : 101-107.
- CORDERO DEL CAMPILLO, M., ESCUDERO DIEZ, A., ALVAREZ-PELLITERO, P., ROJO VAZQUEZ, F.A. (1974). Torneo de la trucha (Myxosomosis). Revisión. Bol. Col. Vet. España, 18.XI.74: 5-28.
- EGUSA, S. and NAKAJIMA, K. (1978). Kudoasis of cultured yellowtail. Fish Pathology, 13 : 1-7.
- EGUSA, S. and SHIOMITSU, J. (1983). Two new species of the genus *kudoa* (Myxosporea : Multivalvulida) from marine cultured fishes in Japan. Fish.Pathology, 18: 163-171.
- EL-MATBOULI, M. and HOFFMANN, R.W. (1989). Experimental transmission of two *Myxobolus* spp. developing bisporogeny via tubificid worms. Parasitol., Res., 75: 461-464.

- EL-MATBOULI, M. and HOFFMANN, R.W. (1991). Prevention of experimentally induced whirling diseases in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* by fumagillin. *Dis. Aquar. Org.*, 10: 109-113.
- ELLIS, A.E. (Ed.) 1988. Fish vaccination. Academic Press. London.
- HEDRICK, R.P., GROFF, J.M., FOLEY, P. & McDOWELL, T. (1988). Oral administration of fumagillin -DCH protects chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytsche*) from experimentally induced proliferative kidney disease. *Dis. Aquat. Org.*, 4 : 165-168.
- KABATA, Z. and WHITAKER, D.J. (1989).. *Kudoa thyrsites* (Gilchrist, 1924) (Myxozoa) in the cardiac muscle of Pacific salmon (*Oncorhynchus* spp.) and steelhead trout (*Salmo gairneri*). *Can. J. Zool.*, 67 : 341-342.
- LANDGON, J.S. (1991). Myoliquefaction post-mortem ("milky flash") due to *Kudoa thyrsites* (Gilchrist) (Myxosporea: Multivalvulida) in machi machi, *Coryphaena hippurus* L. *J. Fish Dis.*, 14 : 45-54.
- LOM, J. (1984). Diseases caused by protistans. En : "Diseases of Marine Animals". O. Kinne (Ed.) Biol. Anstalt Helgol. Vol. IV, Part I, pp : 114-168.
- LOM, J. (1987). Myxosporea : a new look at long-known parasites of fish. *Parasitol. Today*, 3 : 327-352.
- LOM, J. and ARTHUR, J.R. (1989). A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea. *J. Fish Dis.*, 12 : 151-156.
- LOM, J. and NOBLE, E.R. (1984). Revised classification of the class Myxosporea Bütschli, 1881. *Folia Parasitologica (Praha)*, 31 : 193-205.
- MARKIW, M.E. (1989), Salmonid whirling disease : myxosporean and actinosporean stages cross-react in direct fluorescent antibody test. *J. Fish Dis.*, 12 : 137-141.
- MARKIW, M.E. and WOLF K. (1978). *Myxosoma cerebralis* : Fluorescent antibody techniques for antigen recognition. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35 : 828-832.
- MARKIW, M.E. and WOLF, K. (1983). *Myxosoma cerebralis* (Myxozoa:Myxosporea) etiologia agent of salmonid whirling diseases requires tubificid worm (Annelida: oligochaeta) in its life cycle. *J. Protozool.*, 30 : 561-564.

- MITCHELL, L.G. (1977) Myxosporida. En : Kreier, E.P. (Ed.). Parasitic Protozoa. Vol. IV. Academic Press. New York, pp : 115-154.
- MOLNAR, K., BASKA, F. & SZEKELY, C. (1987) Fumagillin, an efficacious drug against renal shpaerosporosis of the common carp *Cyprinus carpio* Dis. Aquat. Org., 2 : 187-190.
- O'GRODMICK, J.J. (1975). Whirling disease *Myxosporea cerebralis* : spore concentration using the continous plankton centrifuga. J. Wildl. Dis., 11 : 54-57.
- PAPERNA, I. (1987). Review of diseases affecting cultured *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. En : "L'Aquaculture du Bar et des Sparides". G, Barnabé y R. Billard (Eds.) INRA Publ. Paris. pp : 465-482.
- PAPERNA, I. and OVERSTREET, R.M. (1981). Parasites and diseases of mullets (Mugilidae). En : O.H. Oren (Ed.) Aquatulture of Grey Mulletts. Int. Biol. Progr., 26, Cambridge Univ. Press. pp : 441-493
- ROHDE, K. (1982). Ecology of marine parsites. Univ. Quesland Press. St. Lucia, Queensland.
- SANDERS, J.E., FRYDER, J.L. LEITH, D.A. and MOORE, K.D. (1972). Control infections protozoan *Ceratomyxa shasta* by treating hatchery water supplies. Prog. Fish Cult., 34 : 13-16.
- SCHAFFER, W.C. (1968). Studies on the epizootiology of the myxosporidian *Ceratomyxa shasta* Noble. Calif. Fish & Game, 54 : 90-99.
- SCHMAHO, G., MEHLHORN, H. and TARASCHEWSKI, H. (1989) Treatment of fish parasites. 7. Effects of sym. Triazone (Toltrazuril) on developmental stages of *Myxobolus* sp. Bútsihli, 1882 (*Myxosporea* : *Myxozoa*): a light and electron microscopic study. Europ. J. Protistol., 25: 26-32.
- SHULMAN, S.S. (1966). Myxosporidia of the USSR. Nauke Publ., Moscow-Leningrad. Traducción al inglés para U.S. Dept. Interior & Nat. Sci. Found, Washington D.C. for Amerind Publ. Co. Put. Ltd., New Dehli, 1988.
- SINDERMAN, C.J. (1976) Principal diseases of marine fish and shellfish. Academic Press. LONDON.
- SINDERMAN, C.J. and LIGHTNER, D.V (Eds.)1988. Disease diagnosis and control in North America marine aquaculture. Elsevier Sc. Publ. Amsterdam.

- SITJA-BOBADILLA, A. y ALVAREZ-PELLITERO, P. (1990). *Sphaerospora testicularis* sp. nov. (Myxosporea : Sphaerosporidae) in wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.) from the Spanish Mediterranean area. J. Fish Dis., 13 : 193-203.
- SITJA-BOBADILLA, A. y ALVAREZ-PELLITERO, P. (1992). Light and electron microscopic description of *Sphaerospora dicentrarchi* n. sp. (Myxosporea : Sphaerosporidae) from wild and cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. J. Protozool. (en prensa)
- WOLF, K., MARKIW, M.E. and HILTUNEN, J.K. (1986). Salmonid whirling disease : *Tubifex tubifex* (Müller) identified as the essential oligochaete in the protozoan life cycle. J. Fish Dis., 9 : 83-85.

**METODOS DE CONTROL DE
ENFERMEDADES EN ACUICULTURA**

**José Luis Múzquiz Moracho
Carmelo Ortega Rodríguez**

**Departamento de Patología Animal
Facultad de Veterinaria
Universidad de Zaragoza**

Paralelamente al desarrollo de la acuicultura y a su intensificación en el cultivo industrial, se ha observado la aparición de diversas enfermedades de los peces, algunas ya conocidas desde antaño, otras de reciente descripción asociadas a esta intensificación en la producción de especies que hasta entonces se encontraban en formas de vida salvaje.

Las enfermedades más conocidas y estudiadas son, sin lugar a duda las causadas por agentes patógenos, razón por la que algunas de estas se encuentran incluidas en la lista B del Código Zoonosario Internacional de la Oficina Internacional de Epizootias (O. I. E.), donde se recomienda su erradicación y el establecimiento de medidas de control para evitar su difusión.

Al igual que está sucediendo en otras especies animales más estudiadas, en acuicultura también se puede comprobar como la acción de factores tanto bióticos como abióticos que condicionan la enfermedad desde su aparición hasta su evolución y distribución en el tiempo y el espacio, lo que en la actualidad denominamos ecopatología.

FACTORES ECOPATOLOGICOS

Los principales factores estudiados en la "ecopatología" acuícola pueden dividirse en: Animal hospedador (el pez enfermo), el agente etiológico (bacterias, virus, hongos o parásitos), el medio ambiente (que fundamentalmente lo constituye el agua), el manejo (producción industrial), la alimentación y la intervención del hombre.

El pez, desempeña un papel importante en el desarrollo de los procesos infecciosos, puesto que factores como la especie, la variedad, el sexo, la edad, el peso o el estado fisiológico, hacen al pez más susceptible a determinados agentes, o bien intervienen de forma directa en la elaboración de una respuesta inmune adecuada por parte del mismo.

Igualmente importante resulta el propio agente etiológico (bacteria, virus, hongo o parásito), y que va a presentar mayor predisposición para infectar a unos individuos que a otros, afectando por tanto de forma diferente a los diversos hospedadores. Como agentes etiológicos de enfermedad deben ser considerados tanto los agentes primarios (patógenos "per se"), como los secundarios, ya sean comensales o saprofitos (y que pueden ser causa de enfermedad bajo determinadas condiciones, generalmente alteraciones en el medio ambiente o en el hospedador).

También hay que resaltar el papel que desempeña el medio ambiente en el que viven los animales, fundamentalmente el agua, puesto que factores tales como temperatura, pH, niveles de O₂ disuelto, CO₂, amoníaco, nitritos y nitratos, turbidez, entre otros, predisponen en ocasiones al asentamiento de infecciones o son capaces de inhibirlas en

otras, por lo que su intervención en el desarrollo de las enfermedades infecciosas y parasitarias parece evidente. Pero además de aumentar la susceptibilidad a una infección, el propio medio acuático, bien através del agua o por el material en suspensión allí existente, actúa como vehículo de transmisión de agentes etiológicos (infecciosos y parasitarios) entre diferentes estanques e incluso entre piscifactorías a través del agua.

Junto a estos factores propios del agua hay que considerar otros, que constituyendo el medio ambiente, no dependen del agua, es el caso de los ciclos de luz, que dan lugar a modificaciones de tipo hormonal y por consiguiente a situaciones de stress que pueden favorecer la proliferación de agentes patógenos.

Otro elemento fundamental en el desarrollo de procesos patológicos en acuicultura es la alimentación, tanto desde el punto de vista cuantitativo (volumen de las dietas), como desde el cualitativo (equilibrio de las dietas, calidad de los componentes utilizados, y calidad microbiológica de los mismos), puesto que cualquier desequilibrio alimenticio lleva consigo situaciones de stress, que redundan en una mayor susceptibilidad a los procesos infecciosos fundamentalmente.

El manejo adecuado o inadecuado de los animales en el ciclo de producción industrial, constituye otro elemento que puede llevar asociada la aparición de problemas de tipo patológico. El diseño y construcción de la piscifactoría, los procesos de clasificación y densidad de población en los estanques o los sistemas de limpieza y desinfección, juegan un importante papel en la aparición de enfermedad, especialmente a partir de portadores asintomáticos que mantiene latente la infección en los estanques de las piscifactorías.

En este mismo sentido las transacciones comerciales sin control sanitario entre diferentes países, desempeñan un papel fundamental en el desencadenamiento de las enfermedades, con el consiguiente riesgo de aparición de graves procesos epidemiológicos allí donde estas enfermedades no existían.

Finalmente hay que hacer referencia al hombre, ya que desgraciadamente en muchas ocasiones juega un papel preponderante en la presentación de procesos epidemiológicos del pez, por la existencia de concentraciones humanas próximas a las piscifactorías, que vierten sus desechos al río (frecuentes en alta montaña con poblaciones que se desplazan en estaciones del año para la práctica de deportes etc) y que puede ser una fuente importante de patógenos secundarios que en algunas ocasiones pueden causar enfermedad.

El nivel profesional del personal que trabaja en las explotaciones hace que aumente o disminuya el riesgo de que se produzcan infecciones, o favorecer la transmisión de las mismas entre diversos estanques. En este sentido es importante el buen uso y limpieza del material de trabajo en las

piscifactorías, y el control ejercido por el hombre sobre peces que pueden entrar en la piscifactoría, las aves ictiófagas (garza, gaviota) o algunos mamíferos (visón), que pueden actuar como portadores asintomáticos de enfermedades infecciosas causadas por agentes primarios.

TERAPEUTICA EN LOS PECES

La terapéutica es el modo de actuación que se utiliza con mayor frecuencia y levanta, en la práctica, menos reticencias incluso, aunque las condiciones operativas no permitan una eficacia satisfactoria. Para los veterinarios, la terapéutica es una tradición y una vocación. Para los criadores, constituye un método fácil de evitar o, de descuidar las precauciones higiénicas y sanitarias.

Vamos a pasar revista a las distintas terapéuticas, que están constituidas, en su mayor parte, por agentes antibacterianos y antiparasitarios.

En patología de peces prevalece la patología de la colectividad, es decir, la enfermedad está provocada o favorecida por el elevado número de sujetos presentes, típico de la cría intensiva. Además el pez, viviendo en el agua, se halla en un ambiente de difícil valoración y por lo tanto a veces los problemas patológicos se deben a un desconocimiento de la ecopatología.

Una terapia individual, o sea, dirigida a un único pez enfermo en un grupo sano, es impensable en los cultivos industriales. El tratamiento según los objetivos que deseemos obtener, podrá ser:

- Tratamiento preventivo: Administración de un medicamento a un grupo de animales no enfermos cuando se considera que la enfermedad está en período de incubación.

- Tratamiento del grupo: Tras la confirmación de la presencia de un proceso, todo el grupo de peces es tratado, suministrándole el medicamento en el agua o en el alimento. La posología para cada animal es incierta; es más, ni siquiera se puede saber si todos los animales son tratados, ya que generalmente los peces enfermos, no comen, o comen poco.

ASPECTOS GENERALES DE LA TERAPIA Y PROFILAXIS EN ICTIOPATOLOGIA.

1-Características del medicamento; No todos los medicamentos pueden ser utilizados en los tratamientos de grupo por los siguientes motivos:

- Farmacocinética en relación al modo de administración: en efecto, no es posible tratar una infección generalizada suministrando un medicamento

en el agua o en los alimentos, si éste no es absorbido por el individuo al que va destinado.

- Posibilidad de administración en el agua (hidrosolubilidad), o en alimentos sólidos (posibilidad de mezcla).

- Sabor, no todos los fármacos son aceptados por los peces en los alimentos (furazolidona).

- Posibilidad de asociación con otros medicamentos o productos químicos esenciales para el crecimiento (vitaminas, oligoelementos, etc.).

2- Características de los grupos de animales. Deben tomarse en consideración los siguientes elementos:

- Uniformidad de los animales en relación a la posología del medicamento y de la alimentación.

- En los animales enfermos se dan modificaciones de la farmacocinética; por ejemplo, la epidermis con lesiones absorbe mayores cantidades de medicamento; en la enteritis existe una mayor velocidad de paso de los alimentos y de los medicamentos.

3- Características de las tecnologías de producción. Existen limitaciones respecto a los siguientes factores:

- Momento en que es posible tratar a los animales.

- Modalidades de administración en relación a la alimentación y al ambiente.

- Perjuicios económicos causados por la ausencia de transformación durante el período de tratamiento.

Las ventajas están relacionadas con la facilidad de ejecución.

4- Características en relación a la higiene. Los tratamientos de los grupos de animales deberían respetar las normas de higiene.

- Los residuos de los medicamentos y sus metabolitos en las carnes.

- La selección de las bacterias resistentes a los antibióticos y a los quimioterápicos.

Para elaborar una estrategia eficaz frente a una enfermedad en un tipo de cultivo, es necesario conocer y tener en cuenta:

- El nivel cultural del personal que trabaja en la piscifactoría.

- El nivel higiénico

- La situación tecnológica y ambiental.

- La alimentación.

Al mismo tiempo hay que establecer, la etiología de la enfermedad y, en caso de una infección o enfermedad parasitaria su ecopatología. En cualquier caso hay que seguir la norma <más higiene y menos fármacos.> .

A veces es más conveniente matar y eliminar a los animales enfermos que curarlos.

A. INDICACIONES Y METODOLOGIA GENERAL DE LA TERAPEUTICA.

1. La terapéutica antibacteriana

a. Tratamiento antiseptico y desinfectante.

Antisépticos y desinfectantes son sustancias utilizadas respectivamente para disminuir y eliminar el número de agentes patógenos en el medio. La diferencia entre los dos grupos está en función de la concentración de uso. por ello, el mecanismo de acción es a menudo el mismo. La característica fundamental de esas sustancias es que desarrollan su acción desinfectante en todas las células vivientes con las que están en contacto, ya sean bacterias, parásitos o pertenecientes a organismos superiores como los peces.

Los mecanismos fundamentales de acción con los que desarrollan su actividad antisépticos y desinfectantes pueden ser reducidos a tres: liberación de oxígeno, alteraciones celulares y alteraciones del equilibrio osmótico,

Los peces marinos viven en un ambiente con una concentración de sales superior a la de su propio organismo y en consecuencia los líquidos celulares tienden a salir, y, para evitar la deshidratación, se produce el continuo bombeo de agua en las células. La consecuencia de la ruptura del mecanismo de osmoregulación es pues la deshidratación celular. Al contrario, los peces de agua dulce, viven en un ambiente con una concentración de sales inferior a la de su propio organismo, y así el movimiento natural de los líquidos va del exterior al interior de las células. La sustancia más conocida que presenta este mecanismo de acción es el formol, que se utiliza en acuicultura, más como antiparasitario que como desinfectante.

Algunos agentes químicos, indicados para los tratamientos curativos o preventivos de la parasitosis, muestran propiedades antisépticas notables y su uso tiene cierto efecto frente a bacterias externas. Este es el caso del permanganato de potasio, del sulfato de cobre y de la cloramina T. Sin embargo, dos grupos de desinfectantes son especialmente aconsejables en la lucha antibacteriana: los yodoforos, que se reservan para la desinfección de huevos, eliminando el riesgo de transmisión que conlleva la contaminación externa de los huevos y los amonios cuaternarios, administrados en baño cuando las condiciones lo permiten, que se muestran eficaces contra las afecciones cutáneas y branquiales, sobre todo cuando éstas están producidas por mixobacterias

b. La antibioterapia

Todo tratamiento con antibióticos deberá recurrir, en principio, a una sustancia elegida según sea el resultado del antibiograma, administrado a dosis convenientes y durante un tiempo determinado, a fin de asegurar la eliminación de la población bacteriana.

Es útil recordar que todos los antibióticos no tienen la misma eficacia y que la desaparición de las manifestaciones clínicas, tratando una infección, no implica forzosamente la desaparición definitiva del germen responsable.

El último punto a destacar es el de los residuos de antibióticos que pueden contaminar a los animales destinados al consumo, problema íntimamente ligado a la velocidad de eliminación tisular de las drogas. Es de gran utilidad conocer estos datos para no dar a consumir los peces antes de que haya desaparecido cualquier huella medicamentosa. También, en ese caso, se podrán dar disposiciones legales, e imponer los plazos exactos de espera en algunos países.

2. La terapéutica antiparasitaria.

En el grupo de los antiparasitarios se incluyen genéricamente aquellas sustancias que provocan la muerte del parásito sin determinar graves lesiones en los organismos superiores.

Antiprotozoarios

Hay dos tipos de fármacos antiprotozoarios:

a) **Alcaloides:** han sido utilizados, sobre todo en el pasado, en particular en aguas marinas para la normalización de los filtros biológicos y en la terapia de la oodiniasis. Actualmente han caído en desuso.

b) **Compuestos metálicos:** la mayor parte de estas sustancias presenta una elevada actividad antiprotozoaria, escasa actividad antibacteriológica, pero también una elevada toxicidad en dosis poco superiores a las prescritas. La mayoría de los antiprotozoarios comercializados a base de compuestos metálicos son sales u óxidos de arsénico, cobre, plata, mercurio y otros. Se pueden suministrar a través de los alimentos (protozoos intestinales y sistémicos) o mediante un baño (ectoparásitos, mohos, bacterias etc.).

Antihelmínticos

Entre los antihelmínticos contamos aquellas sustancias que presentan una actividad significativa sobre los vermes (trematodos y cestodos). Esa actividad puede ser vermífuga si se limita a disminuir la actividad motora del parásito que es también eliminado por movimientos peristálticos del intestino, o también vermífuga si provoca la muerte del parásito.

Las técnicas para la administración de tratamientos.

Métodos de administración.

Los conceptos fundamentales de posología derivados de la medicina humana y veterinaria son aplicables también en ictiopatología. Aún así hay que considerar algunos factores diferenciales:

- a) El ambiente de cría es un líquido y no un gas, por lo que muchos fármacos deben suministrarse en solución
- b) La terapia es casi siempre de grupo (todos los sujetos de una misma piscina o de un mismo criadero), tanto si el medicamento ha de suministrarse en el agua como si debe hacerse a través del pienso.
- c) La cantidad de fármaco suministrado es siempre aproximada: en la terapia por vía oral, con el alimento, los peces enfermos no comen o comen poco, por lo que obtendrán menos beneficios que los sanos. En la terapia en solución, en el agua-ambiente, debe ser conocido el volumen exacto de la piscina y/o del agua a cargar, cosa no siempre fácilmente realizable.
- d) Algunos fármacos se modifican perdiendo eficacia o volviéndose tóxicos, cuando se introducen en una solución acuosa, en función de numerosos factores, entre los cuales los principales son el material orgánico en solución, la dureza, la salinidad y la temperatura.

3-Administración

A pesar de los citados inconvenientes, se han elaborado diversas técnicas de administración de los fármacos en función de las características del criadero. Estas técnicas se describen detalladamente a continuación.

Existen cuatro sistemas para administrar los productos terapéuticos y las vacunas: incorporándolos al alimento, baños terapéuticos, pulverización e inoculación.

***La incorporación al alimento.**

Es la técnica menos molesta para los peces y para el criador. Puede utilizarse en tratamientos antibacterianos, antihelmínticos, en vacunación y, evidentemente, en la distribución de todos los suplementos vitaminados.

*La incorporación se realiza bien en el momento de fabricación del alimento (alimento medicado), bien extemporáneamente por el usuario.

***La mezcla del medicamento con el agua: baños terapéuticos.**

Soluciones en el agua.

La administración de los fármacos directamente en el agua es un método de los más usados en la terapia en ictiopatología. Los productos utilizados son los diversos desinfectantes y antiparasitarios, como también los antibióticos que, sin embargo, se aplican en los estanques sólo en casos especiales, a causa de la especificidad de ese tipo de tratamiento. Por otra parte hay que tener presente que los componentes físico-químicos (temperatura salinidad, dureza, pH) del agua pueden influir notoriamente

en la eficacia de algunos fármacos suministrados en solución. Muchos productos son en cambio, muy estables en el agua y, por tanto, un uso excesivo de ellos puede provocar toxicidad y contaminación.

En función de las distintas características de cría o del efecto que se quiere obtener, las soluciones en el agua se pueden dividir en: inmersión, suministro de continuo, baño breve o baño permanente y baño hiperosmótico.

-Inmersión

Este método se utiliza cuando se deben tratar pocos sujetos o cuando el producto tienen mayor eficacia en concentraciones elevadas de breve duración. Permite poner en contacto al pez con una concentración de fármaco elevada durante pocos segundos. Se considera inmersión un tratamiento que dure menos de cinco minutos.

-Suministro en continuo

Es un método que no se utiliza muy a menudo, salvo cuando no es posible, o sería dificultoso, parar el flujo de agua (ríos, torrentes, algunos criaderos de truchas). Para utilizar éste método con buenos resultados hay que conocer exactamente el flujo de agua, poseer contenedores con grifo dosificador en su base, finalmente tener la posibilidad de disponer de más contenedores en la línea del flujo.

-Baño breve

Es el método más usado en acuicultura, ya sea de peces de agua cálida o de agua fría, en todos los estadios de la cría. Consiste en cubrir el estanque, y suministrar el producto en la concentración deseada, cerrar la entrada de agua durante el tiempo deseado, y tras un vaciado parcial, abrir de nuevo la entrada de agua.

-Baño permanente

También éste método es muy usado en estanques de grandes dimensiones o donde la renovación es extremadamente lenta, (lagos, valles de pesca, estanques). Se basa en el suministro de una cantidad de producto tal que no repercuta en el pez, incluso si es mantenido indefinidamente.

-Baño hiperosmótico

Se trata de producir en el animal un desequilibrio osmótico que le haga absorber el tratamiento. Consiste en introducirlos en una solución hipertónica durante unos segundos, lo que hace que el pez pierda agua, e inmediatamente introducirlo en una solución hipotónica con el antibiótico de forma que este sea absorbido.

***La pulverización**

Esta técnica se ha usado hasta ahora para la vacunación y especialmente para la vacunación anti-vibriosis en Estados Unidos. Consiste en vaporizar mediante presión la suspensión vacunal sobre peces fuera del agua, o que circulan por una cinta transportadora.

***La inoculación**

La inoculación intraperitoneal de antibióticos fué preconizada ya en los años 50 para combatir y prevenir los efectos del síndrome "hidropesía infecciosa de la Carpa" en los países de la Europa del Este.

De hecho la inoculación constituye el mejor medio para estar seguro de que la sustancia que se quiere administrar ha penetrado bien en el organismo animal, pero es difícilmente concebible para tratamientos masivos, a menos que el costo de la mano de obra sea poco importante o en caso de que los peces posean un gran valor económico.

PROFILAXIS

Debido a la dificultad en encontrar quimioterápicos eficaces así como a la no existencia de vacunas activas en muchas ocasiones, la lucha frente a los procesos infecciosos se centra actualmente en un exhaustivo control sanitario que evite la aparición de las enfermedades en las piscifactorias.

La profilaxis sanitaria constituye el único método de prevención de las enfermedades infecciosas y sobre todo teniendo en cuenta que actualmente el comercio y los medios de transporte rápidos permiten la diseminación intercontinental de los agentes patógenos.

La aplicación de estas medidas incluye dos aspectos; una intervención puntual, cada piscicultor individualmente en su piscifactoría, y una intervención coordinada a escala nacional e internecional, con el fin de cortar la transmisión de enfermedades debidas a bioagresores, destruyendo por un lado la fuente de infección (destrucción de materiales y animales contaminados, desinfección de los lugares de producción y del resto del material) y por otro lado con la repoblación de las explotaciones afectadas y ya saneadas con animales indemnes.

La aplicación de estas medidas exige medios de diagnóstico que permitan determinar las zonas indemnes y medios de vigilancia y de protección de las mismas. Dado que el mecanismo lo constituyen los peces como fuente de agentes infecciosos, la intervención debe estar coordinada en el plano nacional e internacional y tener en cuenta las posibilidades de contaminación de las aguas por los peces en las repoblaciones.

POLICIA SANITARIA

El primer punto a considerar en un sistema de profilaxis frente a una enfermedad (especialmente en etiología vírica), consiste en aislar los peces sanos de aquellas zonas que constituyen un posible foco de contaminación. En caso necesario sacrificar todos los peces. o bien dedicarlos al consumo humano, ya que no existen zoonosis conocidas. 'La piscifactoria vacía, se desinfectará mediante el encalado de los estanques, permaneciendo vacía aproximadamente 3 meses.

Como profilaxis a nivel nacional, un buen modelo es el que se realizó en Dinamarca, que consistió en llevar un registro sanitario de las explotaciones piscícolas, de forma que los traslados de peces, podían hacerse sólo entre las explotaciones registradas de la misma categoría sanitaria.

En general, las medidas profilácticas a tomar en cada país estaran en función de las características de la explotación.

LEGISLACION O.I.E., C.E.E. Y ESPAÑA

En 1977, la FAO y la OIE aunaron sus esfuerzos en una nueva consulta gubernamental, a consecuencia de la cual se refundieron los párrafos y anexos al Código referidos a las enfermedades de los peces. El código zoonosanitario de la OIE constituye, en materia de enfermedades animales, una guía para la actuación de los servicios veterinarios.

Las enfermedades inscritas en éste Código son la SHV, NHI, NPI, VPC, BKD, Forunculosis y la mixobolosis. La metodología indicada para los controles permite certificar un estado sanitario, teniendo en cuenta el origen del agua.

Se trata de un certificado de origen, presentándose dos tipos de situaciones que se corresponden con la emisión de dos modelos diferentes de certificados según, los animales provengan o no de una explotación sometida a un control sanitario oficial, de acuerdo con las normas del Código zoonosanitario. Los huevos y los gametos se asimilan a los peces y están amparados por las mismas definiciones. Las dos grandes categorías sanitarias son entonces las siguientes:

1. La de los animales que proceden de una explotación que estan sometidos a un control conforme a las recomendaciones del Código y que están cubiertas por un primer modelo de certificado.

En esta primera categoría pueden contemplarse tres estados sanitarios.

#Animales considerados exentos de organismos patógenos de las enfermedades inscritas en el Código, y en los que el agua no se vió contaminada en la parte alta del rio (agua de pozo o de fuente que no contiene vida animal), permaneciendo negativos los controles de peces despues de dos años:

Animales indemnes a las enfermedades de peces inscritas y precisadas en el Código. Las otras enfermedades precisadas no han sido diagnosticadas desde hace al menos dos años, pero la explotación está alimentada por un agua que no contiene peces salvajes.

Animales que proceden de lugares que no responden a las normas preescritas, pero que están sometidos a los controles y que no presentan signos clínicos de las enfermedades consideradas.

2. La segunda categoría, es la de los animales que proceden de lugares que no están sometidos a ningún control oficial permanente, incluyendo naturalmente a los peces salvajes. Si estos animales son objeto de un traslado, deberán ir acompañados por un segundo modelo de certificado distinto al primero, y que atestigüe solamente la ausencia de cualquier signo clínico (de enfermedades del Código u otras).

La puesta en práctica de las medidas aconsejadas corresponde a las autoridades competentes de cada país en materia de sanidad animal. Corresponde pues a cada país dar a conocer los detalles de su profilaxis sanitaria con respecto a las enfermedades de los peces, así como precisar si se aplican con exactitud las instrucciones del Código. Cada país se compromete a recibir a los expertos eventualmente enviados por otro, que desea conocer como se aplican los controles. Así mismo, corresponde a cualquier país importador dar a conocer el nivel sanitario de los peces que quiere comprar.

Límites y perspectivas de la codificación actual.

La insuficiencia de conocimientos y de efectivos personales competentes constituye un primer límite para la creación o el funcionamiento de los sistemas de profilaxis nacional. El segundo obstáculo procede de la oposición de numerosos miembros de la profesión piscícola, exepcto si la profilaxis está ampliamente subvencionada por los Estados.

Si bien en la actualidad no existe un medio de vencer las dos primeras dificultades, es necesario modificar la codificación actual, no solamente para tener en cuenta otras enfermedades diferentes que otros querrían incluir en el Código, sino sobre todo para preconizar medidas profilácticas a nivel continental.

En caso de que no se adopten las anteriores medidas, el Código debería recomendar que se limitasen los intercambios intercontinentales de peces a los de productos para el consumo humano.

En la actualidad, la Comisión Veterinaria de la CEE está elaborando un borrador sobre la normativa sanitaria para acuicultura en la Europa comunitaria. Este borrador establece tres categorías de enfermedades. La categoría primera, incluye enfermedades epidémicas con el propósito de una erradicación inmediata e incluye la Necrosis Hematopoyética Infecciosa. La categoría segunda incluye enfermedades enzoóticas y de gran importancia para la CEE., e incluye en su lista a la Septicemia Hemorrágica Viral. En la tercera categoría se incluyen enfermedades de importancia económica solo para las áreas afectadas, e incluye, la Necrosis Pancreática Infecciosa o la Viremia Primavera de la Carpa etc.

La legislación española, la Orden de 24 de Enero de 1.974, del Ministerio de Agricultura (Ordenación zootécnico-sanitaria de los centros de piscicultura

en aguas continentales), incluye la SHV, IPN, Hidropesia infecciosa(HI), Necrosis ulcerosa dermica (NUD) y Torneo dentro de las enfermedades de declaración obligatoria.

Los pilares que sostienen el sistema de profilaxis sanitaria de las enfermedades de los peces son:

1- Determinación del grado de contaminación de la piscifactoría mediante controles efectuados por organismos que se apoyen en laboratorios de referencia. La no detección de una enfermedad al cabo de un cierto tiempo (4 años) confiere a la piscifactoría y a su producción la cualidad de indemne de esa enfermedad.

2- La elaboración de un contrato entre el organismo oficial de control y el piscicultor, en el que se comprometa a no introducir peces de procedencia sanitaria desconocida, entre las distintas visitas de la inspección sanitaria.

3- La prevención del nivel sanitario de una piscifactoría sana o saneada, por la aplicación de textos oficiales que sólo le permitan intercambios de peces con piscifactorías de un nivel sanitario al menos igual al suyo, y que las repoblaciones del curso de agua que alimenta la piscifactoría sólo se hagan con animales de un nivel sanitario superior o igual al suyo.

4- Redacción de certificados de garantía del nivel sanitario que posee la piscifactoría basándose en diagnósticos laboratoriales y reconocidos por los países interesados.

5- La realización de controles sanitarios basados en inspecciones frecuentes acompañados de diagnósticos específicos en caso de enfermedad o de toma de muestras a nivel de control sin ninguna observación de enfermedad clínica susceptible de aparecer.

6- La perspectiva de una armonización con las legislaciones de los países vecinos con el fin de determinar las medidas a tomar en las salidas de las piscifactorías para proteger de enfermedades a nivel insular y continental.

Medidas de tipo general.

El material así como el personal que trabaja en la piscifactoría, debe de pasar una desinfección previa a las manipulaciones que se realicen en las distintas partes de la explotación.

El material del estanque antes y después de cada manipulación, así como los vehículos, serán desinfectados una vez realizado el transporte.

La eficacia de las medidas sanitarias, están basadas en su aplicación constante. Existen dos razones por las que se piensa en su inutilidad, la primera por el sentimiento por parte del piscicultor de inutilidad y complejidad, y en segundo lugar, la falta de información técnica a los piscicultores y empleados.

PROFILAXIS GENETICA

Respecto a la mejora genética hay que señalar que por sí misma constituye su propio cuerpo de doctrina y es hoy en día una de las líneas de trabajo más importante, ya que el concepto de los últimos años ha cambiado, de la producción de animales con altos rendimientos pero con fragil condición sanitaria, hemos pasado a comprender que es más útil la producción de animales seleccionados en función de la resistencia a las enfermedades, lo que a la larga produce mejores rendimientos.

Se han seleccionado cepas de Salmon (*S. salar*) resistentes a la Vibriosis en Noruega. Con diferentes sensibilidades a la infección frente a *Vibrios* y *Aeromonas*, basadas en que poseen genotipos diferentes en la transferrina y que son capaces de competir con el *Vibrio anguillarum* en la captación de oxígeno

VACUNACION

La ausencia de tratamientos efectivos para eliminar los virus o para atenuar las enfermedades en los peces infectados, han llevado a pensar que la vacunación pueda ser la única forma de lucha directa en el futuro contra la enfermedad.

Los primeros ensayos de vacunación de Salmonidos frente a una enfermedad bacteriana, se efectuaron en 1942 frente a Forunculosis utilizando una vacuna de *A. salmonicida* inactivada con formól y que se administraba por vía oral con el alimento.

Con la aparición de las sulfamidas y los antibióticos la vacunación de los Salmonidae se abandonó hasta los años 50.

La vacunación frente a la Vibriosis se ha desarrollado en los años 70, en América del norte y Europa, como consecuencia del desarrollo de la salmonicultura intensiva en aguas saladas aunque las primeras experiencias se realizaron en Japón en Anguilas.

En los últimos años numerosos ensayos se han realizado en diversas especies de peces en las condiciones más variadas y con diversos tipos de vacuna, métodos de administración y control.

Durante los últimos veinte años varios laboratorios europeos han estudiado la posibilidad de inmunizar peces frente a la SHV. Estos experimentos se han llevado a cabo, principalmente, en Francia y Dinamarca. Los primeros experimentos se encaminaron a la búsqueda de vacunas muertas e inactivadas con β -propiolactona, con β -propiolactona más formol, o con rayos ultravioletas. Con estas vacunas se obtuvieron buenos resultados al aplicarlas experimentalmente por vía intraperitoneal, pero fallaron cuando la administración era realizada por infiltración hiperosmótica o por inmersión.

Posteriormente se han utilizado a nivel experimental vacunas vivas atenuadas mediante dos sistemas, la adaptación de los germenés a temperaturas más elevadas a las óptimas para su crecimiento, o mediante sucesivos pases en cultivos celulares. Estas vacunas eran altamente inmunogénas, pero podían recuperar su poder patógeno ante determinadas situaciones, lo que complicaba su utilización en el campo. Hoy en día, se está trabajando en la realización de vacunas con fragmentos inmunogénos de los agentes, evitando así la vacunación con el agente completo lo que elimina la actividad patógena del mismo.

Vista la importancia de la ictiopatología, hacemos nuestras las conclusiones de la COMISION INTERMINISTERIAL REGIONAL DE LA OIE para Asia, Extremo Oriente y Oceanía, que reunida en Colombo en Julio de 1985 juzgó necesario:

- Que los Servicios Veterinarios de cada país actúen para acordar las competencias en los terrenos de diagnóstico de las enfermedades, acción sanitaria y de sistemas de apoyo técnico a la acuicultura.

- Que cada país miembro actúe para conseguir una infraestructura y una legislación apropiada a las diversas formas de acuicultura practicadas.

- Que cada país miembro ponga en marcha un sistema de cuarentena destinado a todas y cada una de las especies de peces cultivadas, con el fin de proteger la salud de los mismos.

- Que los veterinarios, en vistas a mejorar su formación, participen y coordinen los trabajos de investigación sobre los múltiples aspectos de las enfermedades de los peces.

Recomienda:

1. Poner especial interés en la formación de veterinarios en acuicultura, en la identificación de las enfermedades así como en la acción sanitaria.

2. Fomentar la participación de los veterinarios en la lucha contra las enfermedades de los peces

3. Incluir las enfermedades de los peces en los programas de estudios de veterinaria

4. Organizar reuniones regionales regularmente para conocer el estado de los conocimientos relativos a las enfermedades

5. El Director General de la O.I.E. buscare una financiación para realizar los programas regionales de formación, y evaluar los progresos realizados.

6. Dar prioridad a los estudios sobre:

.Técnicas de diagnóstico,

.La aplicación de la genética en la resistencia a las enfermedades.

. La epidemiología de las enfermedades,

. La posibilidad de emplear técnicas de lucha biológica contra los agentes causantes de enfermedades en los peces,

. orientar las investigaciones hacia mejorar los conocimientos sobre la estructura, el papel y la biología de los agentes patógenos de peces; la reacción de los peces frente a los agentes patógenos y su poder patógeno (este punto es esencial para mejorar las técnicas diagnósticas).

.Instaurar una cooperación más estrecha entre los veterinarios y otros especialistas sobre el medio ambiente y la genética de los peces, que trabajan en las universidades y en los centros de investigación.

PROFILAXIS

SANITARIA

GENETICA

MEDICA

ANIMAL

AGENTE

MEDIO

ALIMENTACION

HOMBRE

MANEJO

Cuarentena

Desinfección

Diagnostico

Fisicos

Cualitativo

Higiene

Densidad

Destrucion
cadaveres

Quimicos

Cualitativo

Formación

Manipulación

Sttamping-Out

Biologicos

EVITA
RESERVORIOS

EVITA
MEC. TRANS

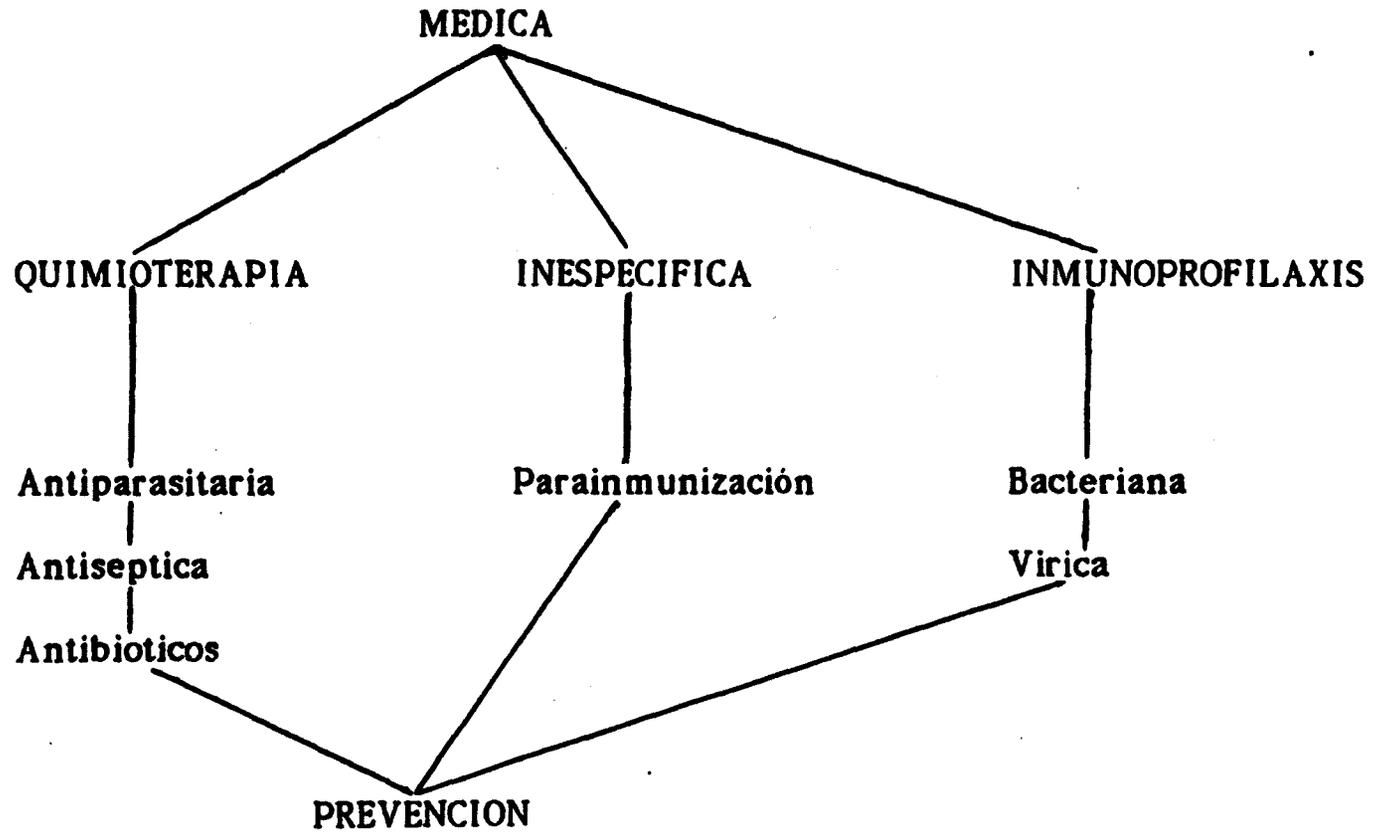
DETECTA
PORTADORES

EVITA
STRESS

EVITA
STRESS

EVITA
MEC. TRANS

EVITA
STRESS



ENFERMEDADES DE PECES INCLUIDAS EN LA LISTA "B" DEL CODIGO ZOOSANITARIO INTERNACIONAL DE LA O.I.E

Lista "B"; dice de la lista de enfermedades transmisibles que se consideran importantes desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario para las economías nacionales y cuyos efectos para el comercio internacional de animales y productos animales no son desdeñables. Estas enfermedades por lo general son objeto de un informe anual, aunque en algunos casos, en función de la periodicidad prevista pueden ser objeto de informes más frecuentes

Enfermedades:

- **Septicemia Hemorrágica viral (VHS)**
- **Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN)**
- **Viremia Primavera de la Carpa (SVC)**
- **Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHN)**
- **Herpesvirosis de los Salmonidos**
- **Herpesvirosis de los Ictaluridae**
- **Rhabdovirosis**
- **Branquionefritis**
- **Yersiniosis (RM)**
- **Renibacteriosis (BKD)**
- **Pseudomonosis**
- **Mixobolosis**

**PRINCIPALES GRUPOS BACTERIANOS
PATOGENOS DE PECES MARINOS EN
CULTIVO: DIAGNOSTICO Y CONTROL**

Alicia Estévez-Toranzo

**Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Biología
Universidad de Santiago de Compostela**

PRINCIPALES INFECCIONES BACTERIANAS (Tabla 1)

La vibriosis es la enfermedad bacteriana que limita más la producción industrial de peces cultivados en agua de mar en todo el mundo (TORANZO & BARJA, 1990). *Vibrio anguillarum* es el principal agente causal de la "clásica" o "típica" vibriosis. Esta especie causa importantes epizootias con graves pérdidas económicas en una gran variedad de peces tales como: rodaballo (*Scophthalmus maximus*), salmón del Pacífico (*Oncorhynchus kisutch*), Salmón del Atlántico (*Salmo salar*), trucha arcoiris (*O. mykiss*), lubina Europea (*Dicentrarchus labrax*), lubina Americana (*Morone saxatilis*), bacalao (*Gadus morhua*), anguilla Japonesa y Europea (*Anguilla japonica* y *A. anguilla*), Seriola (*Seriola quinqueradiata*), besugo (*Pagrus major*) y Ayu (*Plecoglossus altivelis*). Aunque existen un total de 10 serotipos de esta especie, prácticamente todos los aislados de *V. anguillarum* implicados en mortalidades pertenecen a los serotipos O1 y O2, y en menor proporción al serotipo O3 (SØRENSEN & LARSEN, 1986; MUROGA & EGUSA, 1988; TORANZO *et al.*, 1987a, 1989; WIİK *et al.*, 1989; TORANZO & BARJA, 1990). El resto de los serotipos (del O4 al O10) fueron considerados como cepas ambientales (SØRENSEN & LARSEN, 1986).

Sin embargo, en los últimos años otros vibrios muy relacionados con *V. anguillarum* están también implicados en mortalidades de rodaballo y salmón (juveniles y adultos) cultivados en la costa Atlántica, ya sea como únicos agentes causales o en asociación con infecciones virales (LUPIANI *et al.*, 1989). Estos vibrios, que corresponden a diferentes biotipos de *V. splendidus* y *V. pelagius*, se pueden englobar bajo el término general de *V. anguillarum* atípicos o "*V. anguillarum* -like" (BRYANT *et al.*, 1986; FOUZ *et al.*, 1990). Los estudios serológicos que hemos llevado a cabo recientemente (PAZOS *et al.*, 1992), demostraron que algunos de estos vibrios correspondían realmente a los serotipos O4 y O5 de *V. anguillarum*.

Asimismo, hemos comprobado que algunas mortalidades en rodaballo y dorada cultivados respectivamente en Galicia y en el Mediterraneo fueron ocasionadas por otros vibrios relacionados con *V. anguillarum* y que pertenecían a la especie *V. damsela* (FOUZ *et al.*, 1991 y 1992; VERA *et al.*, 1991) que está descrita también como patógeno de animales homeotermos incluyendo el hombre.

Es interesante mencionar que en muchas ocasiones, especialmente en rodaballo, una de las manifestaciones externas de estas vibriosis atípicas (*V. anguillarum*-like y *V. damsela*), son septicemias centradas en la zona de la cabeza y boca, lo que da lugar a un cuadro clínico parecido (aunque sin relación alguna) al de la "Boca roja" de salmónidos causado por *Yersinia ruckeri*.

La vibriosis causada por *V. vulnificus* biotipo 2 fue descrita recientemente en anguila Europea cultivada en el Mediterraneo y representa el primer aislamiento de esta especie en España y Europa (BIOSCA *et al.*, 1991). Hasta ahora sólo se había aislado a partir de la anguila japonesa (MUROGA *et al.*, 1976). Hemos demostrado que los aislados Españoles son bioquímicamente y serológicamente similares a los japoneses (AMARO *et al.*, 1992).

Otros vibrios como *V. fischeri*, *V. harveyi*, y *V. carchariae* se aíslan en general sólo en casos esporádicos y asociados generalmente con síndromes patológicos complejos (infecciones mixtas con parásitos o virus, procesos tumorales etc.) (DEVESA *et al.*, 1989; LAMAS *et al.*, 1990).

Aunque hasta ahora en España no existen problemas con *Vibrio salmonicida* (agente causal de la enfermedad Hitra), este patógeno es desde 1979 una de las causas más importantes de vibriosis en Salmón Atlántico cultivado en Noruega y Escocia (EGIDIUS *et al.*, 1986). Esta bacteria crece muy lentamente en el laboratorio, requiere la adición de sangre al medio de cultivo y una temperatura de incubación inferior a 15°C.

La Pasteurelisis (conocida también como "pseudotuberculosis") producida por *Pasteurella piscicida* es una septicemia que ocasiona junto con la vibriosis las mayores pérdidas económicas en los cultivos marinos de seriola, ayu, y mero en Japón. Aunque hasta 1990 no se había detectado dicha enfermedad en Europa, este mismo año se ha producido el primer brote de Pasteurelisis en Dorada (*Sparus aurata*) cultivada en Galicia (TORANZO *et al.*, 1991a) así como en Francia e Italia en lubina y dorada ocasionando en todos los casos elevadas mortalidades. Actualmente esta enfermedad continua siendo un problema en España principalmente en el área Mediterránea. Hemos

demostrado que, independientemente del País de origen y pez hospedador, todas las cepas de *P. piscicida* son similares desde el punto de vista tanto bioquímico como serológico y genético (MAGARIÑOS *et al.*, 1992).

Hay que tener precaución con la identificación de *P. piscicida* ya que presenta algunas características comunes con *A. salmonicida* y *V. anguillarum*. Sin embargo, el diagnóstico confirmativo de la enfermedad mediante métodos serológicos es eficaz debido a que no existe reacciones cruzadas entre estas tres bacterias patógenos.

Las infecciones por *Aeromonas hydrophila* y *A. sobria* (*Aeromonas* móviles) representan en España un problema tanto en el cultivo de trucha en agua dulce como de ánguila cultivada en agua salobre, ocasionando generalmente mortalidades bajas pero contínuas en asociación con otros patógenos oportunistas (TORANZO *et al.*, 1985; SANTOS *et al.*, 1988).

La enfermedad conocida como "Boca Roja" (ERM) causada por la enterobacteria *Yersinia ruckeri*, ocasiona importantes pérdidas económicas en todo el mundo principalmente en trucha cultivada en agua dulce. Aunque en los países nórdicos *Y. ruckeri* ha sido aislada de salmónidos y de no salmónidos cultivados en agua de mar (BAUDIN-LAURENCIN & TIXERANT, 1985, ver revisión de ROMALDE, 1992) hasta el momento no representa un problema para la Acuicultura marina. Han sido descritos 2 biotipos y seis serotipos, siendo los predominantes en todo el mundo el O1, O2 y O3 (DALY *et al.*, 1986; ROMALDE *et al.*, 1990).

Aunque en general otras Enterobacterias no están causando importantes problemas patológicos en peces cultivados, cabe mencionar algunos casos esporádicos en salmónidos y lubina , producidos por especies de los géneros, *Citrobacter*, *Serratia* y *Edwardsiella* (BAYA *et al.*, 1990 a, b y 1992; BLANCH *et al.*, 1990). Sin embargo, la implicación que estas bacterias pueden representar para el futuro en Acuicultura es desconocida.

Entre las enfermedades de importancia tanto en Acuicultura marina como continental destacan la forunculosis causada por *Aeromonas salmonicida* y la enfermedad Bacteriana del Riñón (BKD) causada por *Renibacterium salmoninarum*.

La bacteria *A. salmonicida* comprende tres subespecies. Las cepas típicas son pigmentadas y corresponden a la subespecie *salmonicida*. Esta forunculosis típica es una septicemia hemorrágica, generalmente restringida a peces salmónidos cultivados en agua dulce y salada, la cual ocasiona una gran licuefacción de los tejidos del huésped. Las cepas atípicas de *A. salmonicida* (subespecie *achromogenes*) causan enfermedades ulcerativas en una gran variedad de peces tales como carpa, carpines, anguilas y salmónidos. La tercera subespecie (*masoucida*) ha sido aislada de peces salmónidos en Japón.

La incidencia de la forunculosis es muy elevada en todo el mundo. Todas las cepas aisladas en España corresponden hasta el momento a *A. salmonicida* spp. *salmonicida*. Además las aisladas Españolas son muy similares desde el punto de vista bioquímico, serológico y genético a las cepas procedentes de otros países como Gran Bretaña, Canadá, USA y Japón (TORANZO *et al.*, 1987 a,b y 1991b), lo que hace muy difícil la búsqueda del origen de la forunculosis en un área geográfica determinada. Las cepas de esta especie adquieren rápidamente resistencia a los antibióticos haciendo muy difícil su tratamiento (O'GRADY *et al.*, 1986; TSOUMAS *et al.*, 1989). Además, los peces supervivientes se hacen fácilmente portadores con enfermedad subclínica constituyendo el principal reservorio del patógeno, lo que hace muy difícil la erradicación de la forunculosis. Hasta el momento las vacunas para prevenir la forunculosis no han resultado muy eficaces dando lugar a resultados variables.

Por el contrario la incidencia en España de la enfermedad bacteriana del riñón (BKD) es baja. Sin embargo en Escocia y en la Costa de Pacífico de Canadá *R. salmoninarum* ocasiona importantes pérdidas económicas en salmón (FRYER & SANDERS, 1981). Debido a la dificultad de aislar el patógeno en cultivo puro, en muchos casos el diagnóstico de la enfermedad se lleva a cabo mediante inmunofluorescencia. Es una enfermedad difícil de erradicar debido a la transmisión de la bacteria a través de los huevos (transmisión vertical) (EVELYN *et al.*, 1986) y a su capacidad para sobrevivir dentro de los fagocitos del pez (BRUNO, 1986; BANDIN *et al.*, 1992). Esta supervivencia intracelular hace que la mayoría de los quimioterápicos sean inefectivos (AUSTIN, 1985; SAKAI *et al.*, 1986; BANDIN *et al.*, 1990, 1991).

Dentro de las bacterias deslizantes o "Mixobacterias" pertenecientes a los géneros *Cytophaga* y *Flexibacter*, hay dos especies de significancia en acuicultura marina: *Cytophaga psychrophila* (antes *Flexibacter psychrophilus*) y *F. maritimus*.

Cytophaga psychrophila causa una infección conocida como "enfermedad de agua fría" o "enfermedad del pedúnculo". Aunque hasta 1988 esta enfermedad estaba restringida a salmónidos cultivados en USA y Canadá, a partir de este año la bacteria se ha aislado en Europa afectando también a anguilas (BERNARDET *et al.*, 1988; LEHMANN *et al.*, 1991). *Flexibacter maritimus* es el agente causal de un síndrome ulcerativo que produjo importantes mortalidades en Japón en peces marinos tales como besugo (WAKABAYASHI *et al.*, 1986). Sin embargo, esta enfermedad también ocurre en Europa y concretamente en España afectando principalmente a platija (*Paralichthys olivaceus*), lenguado (*Solea solea*) (CAMPBELL & BUSWELL, 1982; BERNARDET *et al.*, 1990) y rodaballo (DEVESA *et al.*, 1989). Esta mixobacteriosis típica de agua salada se describió en peces planos como "enfermedad de puntos negros". *F. maritimus* es difícil de aislar en el laboratorio y precisa un estricto requerimiento de agua de mar (no crece con la adición de sólo ClNa al medio de cultivo).

Hay que destacar que en los últimos años se están aislando miembros no identificados del grupo *Flexibacter-Cytophaga* que están ocasionando problemas en bacalao ("peste amarilla") (HILGER *et al.*, 1991) y rodaballo (MUDARRIS & AUSTIN, 1989). En general todas las myxobacteriosis afectan principalmente a las branquias y piel siendo pocas veces infecciones sistémicas. Además estas enfermedades están muy influenciadas por condiciones de stress como temperatura, contaminación orgánica, salinidad etc.

Pseudomonas spp., y *Flavobacterium* spp, se han aislado esporádicamente a partir de bránquias, piel y órganos internos (en el caso de *Pseudomonas*) tanto de salmónidos como de no salmónidos cultivados en agua dulce y salada (TORANZO *et al.*, 1989). Aunque la especie *Pseudomonas anguilliseptica* ha sido aislada como el agente responsable de importantes mortalidades en cultivos de ayu y anguila en Japón, Taiwan y Escocia (WAKABAYASHI & EGUSA, 1972; STEWART *et al.*, 1983), este microorganismo no se ha detectado todavía en España.

Hasta el momento, tanto las Myxobacterias como *Flavobacterium* y *Pseudomonas* no representan en nuestro país un problema patológico significativo en los cultivos marinos ya que suelen aislarse como patógenos secundarios en infecciones por otras bacterias como *Vibrio*, *A. hydrophila* o *A. salmonicida*, o bien por protozoos parásitos.

En los últimos años, se ha observado un incremento de las infecciones por Cocos gram positivos (*Staphylococcus* y *Streptococcus*) y por *Moraxella-Acinetobacter* los cuales han sido aislados generalmente como invasores secundarios. Es interesante destacar que cepas pertenecientes a estos grupos han estado implicadas en mortalidades de salmón Atlántico en Noruega (ROAL & HÅSTEIN, 1980), lubina Americana en USA (BAYA *et al.*, 1990 b y c) y son un problema en el cultivo de diferentes especies de peces en Japón (NAKATSUGAWA, 1983; KUSUDA & SUGIYAMA, 1981). Recientemente, se ha demostrado que los streptococos reponsables de mortalidades de peces marinos en Japón pertenecen a la nueva especie *Enterococcus seriolicida* (KUSUDA *et al.*, 1991).

TABLA 1.- Principales Infecciones bacterianas y virales que afectan a los peces cultivados en el medio marino en Europa.

Enfermedad/ Agente	Especie Hospedadora	Incidencia	Observaciones
VIBRIOSIS (<i>V. anguillarum</i>)	Rodaballo Trucha arcoiris Lubina	Elevada Moderada Moderada	Predominio en alevines
VIBRIOSIS (<i>V. splendidus</i> <i>V. pelagius</i> <i>V. damsela</i>)	Rodaballo Salmónidos Dorada	Moderada Moderada Moderada	En ocasiones con infecciones mixtas (síndrome de Boca roja)
VIBRIOSIS (<i>V. fisheri</i> <i>V. harveyi</i> <i>V. alginolyticus</i>)	Rodaballo Salmónidos Dorada Anguila	Baja Baja Baja Baja	Casos esporádicos en ocasiones con infecciones mixtas
VIBRIOSIS (<i>V. vulnificus</i>)	Anguila	Moderada	Mortalidades continuas
PASTEURELOSIS (<i>P. piscicida</i>)	Dorada Lubina	Baja Baja	Pocos brotes pero elevada mortalidad
FORUNCULOSIS (<i>A. salmonicida</i> <i>subsp. salmonicida</i>)	Salmónidos	Elevada	Difícil de combatir con antibióticos y vacunas.
<i>A. hydrophila</i> y <i>A. sobria</i>	Salmónidos Anguila	Baja Baja	
<i>Pseudomonas</i> spp.	Salmónidos Anguila	Baja Moderada	Casos esporádicos generalmente en asociación <i>Vibrio</i> o <i>Aeromonas</i>

Tabla 1 (Cont).

Enfermedad/ Agente	Especie Hospedadora	Incidencia	Observaciones
ERM <i>(Y. ruckeri)</i>	Salmónidos	Baja	Predominio en Países Nórdicos
OTRAS ENTERO- BACTERIAS <i>(Citrobacter spp.</i> <i>Serratia spp</i> <i>Edwardsiella-spp)</i>	Salmónidos Lubina	Muy baja Muy baja	
BKD <i>(R. salmoninarum)</i>	Salmónidos	Baja	Brotos esporádicos
MIXOBACTERIOSIS <i>(Cytophaga- Flexibacter)</i>	Salmónidos Rodaballo	Moderada Baja	Generalmente asociación con vibriosis, furunculosis o parásitos
COCOS Gram+ <i>Moraxella- Acinetobacter</i>	Salmónidos Rodaballo	Baja Baja	Normalmente en infecciones bacterianas mixtas

DIAGNOSTICO E IDENTIFICACION DE PATOGENOS BACTERIANOS

Para el diagnóstico de las enfermedades e identificación del agente causal se pueden emplear tanto técnicas no serológicas como serológicas. Para llevar a cabo estas últimas se necesita disponer de un número adecuado de antisueros específicos para la detección de patógenos de peces. Aunque existen laboratorios estatales así como algunas empresas privadas que pueden proveer un número limitado de antisueros, todavía existen muchos sueros y reactivos que han de ser elaborados por cada laboratorio particular. Asimismo estas empresas disponen comercialmente también de Kits de diagnóstico de determinadas enfermedades basados en algunas de las técnicas que se describirán a continuación.

I) METODOS EN LOS QUE SE REQUIERE EL AISLAMIENTO DEL PATOGENO

1.- Empleo de Medios convencionales en tubo y en placa. - Esto incluye tanto los medios para el aislamiento del patógeno como para la posterior identificación.

Para el aislamiento primario se ahorra bastante tiempo si se emplean simultáneamente medios no selectivos y selectivos para determinados patógenos como son el TCBS para *Vibriosis*, el Shotts-Waltman para *Y. ruckeri*, el Charcoal-Agar, KDM-2 o el Mueller-Hinton con Cisteína para *R. salmoninarum*, y el Ordal para Myxobacterias (ver revisión de BARJA & TORANZO, 1988). El único inconveniente es que la mayoría de los medios selectivos (con excepción del TCBS) no existen comercialmente.

La identificación empleando medios convencionales es lenta y laboriosa, pero se considera la adecuada para una correcta caracterización bioquímica del patógeno. Por ello se utiliza como referencia para comparar la eficacia y especificidad de otros métodos más rápidos.

2.- Uso de Métodos Miniaturizados para una identificación rápida de patógenos bacterianos. Hasta ahora, la mayoría están diseñados para utilizar en clínica humana, lo que hace necesario conocer que modificaciones hay que realizar en su empleo y que reacciones pueden fallar con cada uno de los patógenos de peces. Por tanto

hay que interpretar los resultados con precaución y no siempre se pueden emplear los códigos comerciales de identificación.

Estos métodos van desde los más simplificados como son los sistema API (el más utilizado es el API-20E de Biomerieux), hasta los más complejos que están automatizados o semiautomatizados . La ventaja de estos últimos es que además de identificar al agente, nos dan la sensibilidad de las bacterias a distintos antibióticos. El factor limitante de su uso es principalmente el económico ya que el Equipo necesario es muy caro. Otro inconveniente es que los quimioterápicos empleados no coinciden con los de más uso en Acuicultura. Entre los más recientes están el PASCO (Difco), AUTOBAC (Organon Teknika), VITEK (Vitek System) y el BIOLOG (Biolog, Inc.).

Uno de los sistemas automatizados más diferente es el MIDI (Microbial Identification System) que se basa en el análisis de ácidos grasos de los patógenos bacterianos mediante cromatografía de gases.

3.-Técnicas de Aglutinación.- Los procedimientos de aglutinación son los métodos serológicos clásicos para la diagnóstico confirmativo rápido de la mayoría de patógenos bacterianos que no den reacciones cruzadas o autoaglutinación. Aunque no son tan sensibles como otras técnicas serológicas , tienen la ventaja de su rapidez y sencillez (no requieren aparatos especiales) lo que permite su empleo fuera del laboratorio (trabajo de campo).

Estos métodos proporcionan además valiosa información de relaciones serológicas no solo entre especies de un mismo género, sino también entre cepas de una misma especie, por lo que se espera que su uso en Acuicultura continúe.

Algunas variaciones desarrolladas para aumenta la especificidad de estas técnicas y evitar los problemas de las cepas autoaglutinantes (como es el caso de muchos aislados de A. salmonicida), son:

- Agglutinación con partículas de Látex.
- Co-aglutinación .-Se utilizan anticuerpos sensibilizados con la protefna A de una cepa de *Staphylococcus aureus*.

II.- METODOS QUE SE PUEDEN LLEVAR A CABO CON Y SIN AISLAMIENTO DEL PATOGENO.

Estos procedimientos de diagnóstico se basan en el empleo de técnicas serológicas que permiten detectar no solo antígenos bacterianos, virales o parasitarios, sino también la presencia de anticuerpos frente a esos patógenos en el suero de los peces o en el mucus. Las técnicas más utilizadas en la actualidad son:

1.- Immunofluorescencia.- Se basa en el uso de un anticuerpo marcado con un colorante fluorescente (Isocianato de fluoresceína) que emite color verde amarillento cuando se excita con luz UV. La principal ventaja de esta técnica es la rapidez con que se obtienen los resultados (1-2 h). El inconveniente es que se necesita el uso de microscopio de fluorescencia y las preparaciones duran poco tiempo. La principal desventaja es que, en algunos casos, tiene poca especificidad lo que da lugar a resultados positivos falsos. Existen dos versiones:

Immunofluorescencia Directa (DFAT)- Las muestras una vez fijadas se recubren directamente con el antisuero marcado con isocianato.

Immunofluorescencia Indirecta (IFAT)- Se basa en el uso de dos antisueros: uno no marcado que reacciona con la muestra, y un segundo antisuero marcado con isocianato que ha sido producido contra las IgG de la especie en la cual fue obtenido el primer antisuero. Tiene la ventaja de que si todos los antisueros se preparan en conejo, con un solo antisuero de carnero anti-IgG de conejo marcado con isocianato, podemos identificar cualquier agente. Además este antisuero existe comercialmente. Por el contrario, en la *Immunofluorescencia directa* tendríamos que marcar individualmente cada antisuero.

Otra ventaja es que la IFAT es más sensible debido a la mayor masa de reactivos (un antígeno y dos anticuerpos).

2.- Ensayo de Inmunoabsorción Enzimática (EIA/ELISA).- En este sistema, las reacciones inmunológicas tienen lugar en un soporte sólido que suele ser placas multipocillos de poliestireno o polivinilo. La unión del antígeno o anticuerpo a la placa es por fuerzas electrostáticas. Los anticuerpos pueden marcarse con varias enzimas: fosfatasa alcalina, b-galactosidasa o peroxidasa. Una vez que tienen lugar las reacciones

apropiadas, se produce un cambio de color que puede apreciarse a simple vista. lo que tiene la ventaja de poder ser utilizado en trabajo de campo. Análogamente a la Inmunofluorescencia, la técnica Indirecta de ELISA (uso de dos antisueros) es preferible que la Directa por su mayor sensibilidad y por la necesidad de marcar sólo un antisuero que existe ya comercialmente.

Para el diagnóstico de laboratorio ese método puede hacerse más sensible y cuantitativo empleando determinaciones espectrofotométricas. El sistema ELISA es rápido, y fácil de automatizar para el análisis de un gran número de muestras. Los reactivos no son excesivamente caros, pero tienen el inconveniente de su corta duración.

El límite de sensibilidad de esta técnica es discutible. Mientras es útil para detectar antígenos en el caso de epizootias, no siempre los detecta en caso de peces portadores.

En el caso de utilizar como enzima la peroxidasa, tiene el inconveniente de la posible interferencia con peroxidasa endógenas de los tejidos. Aunque este problema puede ser eliminado tratando previamente las muestras con agentes que inactiven las peroxidasa, no se ha evaluado si dicho tratamiento puede dañar o alterar al antígeno que se pretende detectar.

La sensibilidad del ELISA así como de otras técnicas serológicas, puede incrementarse en gran medida mediante el marcaje de anticuerpos con un complejo BIOTINA -AVIDINA.

3.- Ensayo de "Dot Blot" (DBA).-- Es una variante de la técnica de Elisa en la cual las muestras se depositan en forma de pequeños puntos sobre papel de nitrocelulosa. Como enzima para marcar los anticuerpos se utiliza la peroxidasa. Una ventaja adicional a las mencionadas para el ELISA, es que no necesita aparatos especiales por lo que resulta más económica. Este método es de utilidad para trabajos epidemiológicos en los que es necesario analizar un gran volumen de muestras con el fin de detectar antígenos o anticuerpos contra determinados patógenos.

4.- Radio-Inmuno-Ensayo (RIA).- Es una variante del método ELISA en el cual uno de los anticuerpos está marcado radioactivamente (I^{125}). Aunque posee una gran sensibilidad, presenta las desventajas de que los reactivos son caros, de corta duración y se necesita un equipamiento especial. Además se precisa personal especializado en el uso de

material radiactivo, y condiciones apropiadas para eliminar los residuos radiactivos. Por todo ello, esta técnica tiene actualmente un uso muy limitado en Acuicultura.

5.- Sondas de DNA.- Mediante este método, se necesita clonar previamente fragmentos pequeños de DNA (50-2000 pares de bases) y marcarlos ya sea radiactivamente o no radiactivamente (Biotina-Avidina) para producir sondas capaces de hibridar (y por tanto detectar) patógenos homólogos del que se obtuvo la sonda. Tiene la ventaja de que las muestras pueden ser depositadas directamente sobre papel de nitrocelulosa por el propio piscicultor, y una vez secas son estables indefinidamente lo que permite fácilmente su envío a un laboratorio en donde se lleva a cabo la hibridación con las sondas de DNA adecuadas.

MEDIDAS DE PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES

A) Medidas generales:

- I) Adecuada manipulación y mantenimiento de las Instalaciones
- II) Formulación de Dietas Adecuadas
- III) Control de movimientos de peces y huevos.
- IV) Conocimiento de los factores ambientales que pueden influir en la supervivencia de los patógenos.
- V) Control adecuado de los Stocks de peces y de la calidad del agua y sedimentos de las zonas de cultivo.

B) Vacunación

Es una de las medidas de prevención más importantes. Hay una serie de factores que afectan el desarrollo de la respuesta inmunitaria de los peces y por tanto la eficacia de la vacunación (ELLIS, 1988 ; AUSTIN & AUSTIN, 1987):

- A) Factores inherentes al pez : Edad y estado de salud de los peces.
- B) Factores de manipulación y ambientales: Stress, Dieta, Temperatura, Contaminación y Antibióticos.
- C) Factores relacionados con la Vacuna: Naturaleza del Antígeno (Bacterinas, toxoides, Lisados celulares, Lipopolisacaridos); Ruta de Administración (inyección, baño, oral) y presencia y tipo de Adjuvantes.

La investigación actual en el desarrollo de nuevas vacunas se centra en:

* Vacunas vivas atenuadas.. Todavía su uso está restringido debido al posible riesgo de una reversión a las formas virulentas.

* Vacunas obtenidas por métodos de Recombinación genética.- Son necesarias para el caso de patógenos que crecen muy lentamente y con dificultad en laboratorio (como es el caso de *R. salmoninarum*) lo que dificulta la obtención rápida de grandes cantidades de vacuna.

Independientemente de la naturaleza del antígeno, las vacunas pueden ser **MONOVALENTES** (una sólo cepa del microorganismo) o **POLIVALENTES** (varias cepas).

* **Otros estudios que hay que llevar a cabo en un programa de vacunación son:**

- **Determinar la duración de la Protección.**- Es decir, conocer cuando disminuye la respuesta inmune de los peces de tal forma que es necesario llevar a cabo una revacunación.

- **Evaluar el grado de especificidad de las vacunas.**- Se refiere a conocer si los peces adquieren también protección contra cepas diferentes de las que está compuesta la vacuna.

- **Estudios Epidemiológicos.**- Determinar la evolución de las cepas y/o serotipos de cada patógeno en las distintas zonas geográficas con el fin de utilizar cepas autoctonas y de conocer si es necesario modificar la composición de las vacunas.

CONTROL DE ENFERMEDASES : TRATAMIENTO

Los agentes quimioterápicos administrados a peces cultivados para controlar la mayoría de infecciones bacterianas son oxitetraciclina, quinolonas (principalmente ácido oxolínico y flumequina), sulfamidas potenciadas (Tribisen y Romet) y nitrofuranos.

El uso de Cloranfenicol está prohibido en la legislación de la mayoría de los países debido a problemas para la salud pública. Asimismo la Eritromicina está permitida solamente para el control de la BKD producida por *R. salmoninarum*.

Los Métodos empleados para la aplicación de estos compuestos son:

* Ruta oral (mezclado con el alimento).- Para ello los antibióticos no deben modificar el sabor del alimento para que los peces no rechazen la comida.

* A través del agua.- Ya sea por baño (varias horas) o por inmersión (varios segundos). El compuesto debe ser soluble o dispersarse fácilmente en el agua. Tiene el inconveniente de contaminación ambiental si no se dispone de algún sistema de eliminar el compuesto.

* Inyección.- factible para peces de gran tamaño y valor (reproductores) o peces de acuario. Es un método lento y puede requerir la anestesia de los peces.

* Aplicación tópica.- Sólo de utilidad para el tratamiento de úlceras en peces de gran valor (stock de reproductores o peces ornamentales).

Las concentraciones utilizadas en cada método y el período de tratamiento depende de cada agente quimioterápico y en algunos casos las dosis son diferentes si la enfermedad cursa en agua dulce o de mar (ver revisiones de HERWIG, 1979 y SARTI & GIORGETTI, 1988).

Los Procedimientos utilizados habitualmente en el laboratorio para determinar los antibióticos que se deben emplear para combatir las enfermedades son:

* **Antibiograma de discos**.- tiene la ventaja de su rapidez . El inconveniente es que las concentraciones de los discos no son necesariamente las adecuadas para patógenos de peces ya que están diseñados para clínica humana.

* **Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)**.- Es más laborioso y entóxico. La ventaja es que nos permite evaluar con más precisión el compuesto y la dosis adecuada para combatir la enfermedad.

En el campo de la Quimioterapia en Acuicultura, especialmente marina, se necesita todavía llevar a cabo:

- **Estudios farmacocinéticos** que nos indiquen la dinámica de absorción y eliminación de los quimioterápicos en los peces para que los resultados sean totalmente extrapolables "in vivo".

- Desde el punto de vista de la salud humana, se precisan **estudios de acumulación de residuos** de antibióticos en los tejidos del pez con el fin de determinar el tiempo necesario entre la administración del compuesto y la comercialización de los peces.

Un problema conocido del uso indiscriminado de antibióticos en los sistemas de cultivo es el desarrollo de bacterias resistentes a dichos agentes lo que hace en muchos casos difícil el control de las enfermedades. Un ejemplo de esto, es el rápido incremento de resistencias a ácido oxolínico y flumequina observado en las cepas de *A. salmonicida* aisladas en los últimos años en Galicia, Escocia e Irlanda tanto a partir de casos de forunculosis en agua dulce como de mar (O'GRADY *et al.*, 1987; TSOUMAS *et al.*, 1989, BANDIN *et al.*, 1990; TORANZO *et al.*, 1991b). Aunque en nuestra área no hemos detectado apenas resistencias a tetraciclinas y nitrofuranos, en otros países principalmente Japón (debido al uso incontrolado de quimioterápicos desde hace muchos años) la frecuencia de aparición de resistencias a estos antibióticos es muy elevada.

Desde el punto de vista ecológico hay que tener en cuenta que ha sido demostrado que algunos antibióticos sobre todo las tetraciclinas y el ácido oxolínico permanecen activas durante períodos muy prolongados en los sedimentos próximos a las piscifactorías (JACOBSEN & BERGLIN, 1988; BJORKLUND *et al.*, 1990) y se acumulan en las poblaciones salvajes de peces y moluscos (SAMUELSEN *et al.*, 1992) lo que constituye un futuro riesgo de aparición de resistencias a estos antibióticos en la flora bacteriana del medio acuático. Este es uno de los ejemplos del impacto de la Acuicultura intensiva en el medio ambiente, y constituye uno de los temas de preocupación de investigadores y gobiernos en los países nórdicos.

REFERENCIAS

- AMARO, C., ESTEVE, C., BIOSCA, E.G., FOUZ, B., & TORANZO, A.E. (1992). *Dis. Aquat. Org.* 12(2).
- AUSTIN, B. 1985. *J. Fish Dis.*, 8: 209-220.
- AUSTIN, B. & AUSTIN, D.A. 1987 (eds). In "*Bacterial Fish Pathogens. Diseases in farmed and wild fish*". Chap. 16 (pp: 331-353). Ellis Horwood Ltd. England.
- BANDIN, I., MONTOYA, R., SANTOS, Y., ROMALDE J.L., & TORANZO, A.E. 1990. *Abstr. IV Intern. Colloq. Pathol. Marine Aquacult. (PAMAQ)*. Vigo, Spain.
- BANDIN, I., SANTOS, Y., BARJA, J.L. & TORANZO, A.E. 1991. *Ant. Agents Chemother.*, 35: 1121-1123.
- BANDIN, I., ELLIS, A.E., BARJA, J.L. & SECOMBES, C.J. 1992. *Fish & Shellfish Immunol.*, 2 (In press)
- BARJA, J.L. & TORANZO, A.E. 1988. En "*Patología en Acuicultura*". J. Espinosa de los Monteros & U. Labarta (Eds). Mundi-Prensa, S.A., Madrid. pp: 475-550.
- BAUDIN-LAURENCIN, F. & TIXERANT, G. 1985. *Rec. Méd. Vét.* 161: 735-746.
- BAYA, A.M., LUPIANI, B., HETRICK, F.M., & TORANZO, A.E. 1990a. *AFSIFHS News Lett.* 18:4.
- BAYA, A.M., TORANZO, A.E., NUÑEZ, S., BARJA, J.L. & HETRICK, F.M. 1990b. In "*Pathology in Marine Science*". Perkins, F.O. & Cheng, T.C. (eds), *Academic Press*, NY. pp:91-99.
- BAYA, A.M., LUPIANI, B., HETRICK, F.M., ROBERSON, B.S., LUKAVOVIC, R., MAY, E. & POUKISH, C. 1990c. *J.Fish Dis.* 13: 251-253.
- BAYA, A., TORANZO, A.E., LUPIANI, B., SANTOS, Y. & F.M. HETRICK. 1992. *J. Fish Dis.* 15: 15-26
- BERNARDET, J.F., BAUDIN-LAURENCIN, F., & G. TIXERANT. 1988. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 8:104-105.
- BERNARDET, J.F., CAMPBELL, A.C. & J.A. BUSWELL. 1990. *Dis. Aquat. Org.*, 8: 233-237.
- BIOSCA, E.G., AMARO, C., ESTEVE, C., ALCAIDE, E. & GARAY, E. 1991. *J. Fish Dis.* 14: 103-109.
- BJORKLUND, H., BONDESTAM, J. & BYLUND, G. 1990. *Aquaculture*, 86: 350-365.
- BLANCH, A., PINTO, R.M. & JOFRE, J. 1990. *Aquaculture* 82: 812-822.
- BRUNO, D.W. 1986. *J. Fish Dis.* 9: 528-537.
- BRUNO, D.W. & MUNRO, A.L.S. 1989. *Aquaculture*, 81: 205-211.

- BRYANT, T.N., LEE, J.V., WEST, P.A. & COLWELL, R.R. 1986. *J. Appl. Bacteriol.*, 61: 437-496.
- BUCHANAN, J.S., RICHARDS, R.H., SOMMERVILLE, C. & MADELEY, C. 1978. *Vet. Rec.* 102: 527-528.
- CAMPBELL, A.C. & J.A. BUSWELL. 1982. *J. Fish Dis.* 5: 495-508.
- DALY, J.G., LINDVIK, B. & STEVENSON, R.M.W. 1986. *Dis. Aquat. Org.* 1:151-153.
- DEVESA, S., BARJA, J.L. & TORANZO, A.E., 1989. *J. Fish Dis.*, 12: 323-333.
- EGIDIUS, E., WIİK, R., ANDERSEN, K., HOFF, A. & HJELTNESS, B. 1986. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36: 518-520.
- ELLIS, A.E. (ed). 1988. " *Fish Vaccination* ". Academic Press, London. 255 pp.
- EVELYN, T.P.T., PROSPERI-PORTA, L., & KETCHESON, J. E. 1986. *Dis. Aquat. Org.* 1: 197-202.
- FOUZ, B., CONCHAS, R.F., BOLINCHES, J., ROMALDE, J.L., BARJA, J.L., & TORANZO, A.E. 1990. In " *Pathology in Marine Science* " Perkins, F.O. & Cheng, T.C. (eds). *Academic Press*, NY, pp: 77-89.
- FOUZ, B., LARSEN, J.L., & TORANZO, A.E. 1991. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 11: 80-81.
- FOUZ, B., LARSEN, J.L., NIELSEN, B., BARJA, J.L. & TORANZO, A.E. 1992. *Dis. Aquat. Org.* 12 (2)
- FRYER, J.L. & SANDERS, J.E. 1981. *Annu. Rev. Microbiol.*, 35: 273-298.
- HERWIG, N. 1979. *Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases: A manual of fish Pharmacology and Material Medica*. Charles C. Thomas Publ., Springfield, Illinois, USA.
- HILGER, I., ULLRICH, S., & K. ANDERS. *Dis. Aquat. Org.* 11: 19-29.
- JACOBSEN, P. & BERGLIND, L. 1988. *Aquaculture*, 70: 365-370
- KUSUDA, R. & SUGIYAMA, A. 1981. *Fish Pathol.*, 16: 15-24.
- KUSUDA, R., KAWAI, K., SALATI, F., BANNER, C.R. & J.L. FRYER. 1991. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41: 406-409
- LAMAS, J., ANADON, R., DEVESA, S. & TORANZO, A.E. 1990. *Dis. Aquat. Org.* 8: 179-187.
- LEHMANN, J., MOCK, D., STURENBERG, F.J., & J.F. BERNARDET. 1991. *Dis. Aquat. Org.* 10: 217-220.
- LUPIANI, B., DOPAZO, C., LEDO, A., FOUZ, B., BARJA, J.L., TORANZO, A.E. 1989. *J. Aquat. An. Health* 10: 21-23.
- MAGARIÑOS, B., ROMALDE, J.L., BANDIN, I., FOUZ, B., TORANZO, A.E. 1992. *Appl. Environ. Microbiol.* (In press).
- MUDARRIS, M. & AUSTIN, B. 1989. *Dis. Aquat. Org.* 6: 161-166.

- MUROGA, K. & EGUSA, S. 1988. *J. Fac. Appl. Biol. Sci., Hiroshima Univ.* 27: 1-17.
- MUROGA, K., JO, Y. & NISHIBUCHI, M. 1976. *Fish Pathol.*, 11: 141-145.
- NAKAI, T., HANADA, H. & K. MUROGA. 1985. *Fish Pathol.*, 20: 481-484.
- NAKATSUGAWA, T. 1983. *Fish Pathol.*, 17: 281-285.
- O'GRADY, P., PALMER, R., HICKEUR, C. & SMITH, P. 1986. *J. Fish Dis.* 4: 397-404.
- PAZOS, F., SANTOS, Y., MAGARIÑOS, B., & TORANZO, A.E. 1992. Abstr. V Intern. Conf. on Pathology in Marine Aquaculture (PAMAQ V). Montpellier, Francia.
- ROAL, S.O. & HÅSTEIN, T. 1980. In "Fish Diseases". Ahne, W. (ed). Third COPRAQ-Sesion, Springer-Verlag, Berlín. pp: 154-156.
- ROMALDE, J. 1992. *Yersinia ruckeri*: Estudio epidemiológico y del mecanismo de virulencia. Tesis Doctoral Univ. Santiago.
- ROMALDE, J., LEMOS, M.L., CONCHAS, R.F. & TORANZO, A.E. 1990. In "Pathology in Marine Science". Perkins, F.O. & Cheng, T.C. (eds). Academic Press, NY. pp: 123-139.
- SAKAI, D.K., NAGATA, M., IWAMI, T., KIODE, N., TAMIYA, Y., ITO, Y. & ATODA, M. 1986. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 52: 1141-1147.
- SAMUELSEN, O.B., LUNESTAD, B.T., HUSEVAG, B., HØLLELAND, T., ERVIK, A. 1992. *Dis. Aquat. Org.* 12: 111-119.
- SANTOS, Y., TORANZO, A.E., NIETO, T.P., BARJA, J.L. & VILLA, T.G. 1988. *Infect Immun.* 56: 3285-3293.
- SARTI, M. & GIORGETTI, G. 1988. Terapia y Profilaxis en Ictiopatología. En "Patología en Acuicultura". Espinosa de los Monteros, J. & Labarta, U. (eds). Mundi-Prensa, S.A. Madrid.
- SØRENSEN, U.B.S. & LARSEN, J. L. 1986. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51: 593-597.
- STEWART, D.J., WOLDEMARIAM, K., DEAR, G. & F. MOCHABA. 1983. *J. Fish Dis.*, 6: 75-76.
- TORANZO, A.E., COMBARRO, P., CONDE, Y., & BARJA, J.L. 1985. In "Fish & Shellfish Pathology" Ellis, A.E. (ed.). Academic Press, London, pp:141-152.
- TORANZO, A.E., SANTOS, Y., LEMOS, M.L., LEDO, A. & BOLINCHES, J. 1987a. *Aquaculture*, 67: 41-52.
- TORANZO, A.E., BAYA, A.M., ROBERSON, B.S., BARJA, J.L., GRIMES, D.J. & HETRICK, F.M. 1987b. *Aquaculture*, 61: 81-97.
- TORANZO, A.E., LEDO, A., SANTOS, Y., ROMALDE J.L., BANDIN, I., FOUZ, B. & BARJA, J.L. 1989. *E.A.S. Spec. Publ.* 10: 247-248.
- TORANZO, A.E. & BARJA, J.L. 1990. *Dis. Aquat. Org.* 9 : 73-82.

- TORANZO, A.E., BARREIRO, S., CASAL, J.F., MAGARIÑOS, B., FIGUERAS, A. & BARJA, J.L. 1991a. *Aquaculture*, 99:1-15.
- TORANZO, A.E., SANTOS, Y., NUÑEZ, S. BARJA, J.L. 1991b. *Fish Pathol.* 26: 55-60.
- TSOUMAS, A., ALDERMAN, D.J. & RODGERS, C.J. 1989. *J. Fish Dis.* 12: 493-507.
- VERA, P., NAVAS, A. & FOUZ, B. 1991. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 11: 112-113.
- WAKABAYASHI, H., & S. EGUSA. 1972. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38: 577-587.
- WAKABAYASHI, H., HIKIDA, H., MASUMURA, K. 1986. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 36: 396-398.
- WIJK, R., HOFF, K.A., ANDERSEN, K. & DAAE, F.L. 1989. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 829-831.
- WOLF, K. (1988). *Fish viruses and fish viral Diseases*. Cornell Univ. Press, NY.

**AVANCES EN LA VIROLOGIA DE
ORGANISMOS MARINOS**

Juan Luis Barja Pérez

**Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Biología
Universidad de Santiago de Compostela**

De todas las enfermedades de origen microbiológico que tienen lugar en las piscifactorías, las infecciones virales revisten una gran trascendencia debido a la ausencia de un tratamiento eficaz y a que los supervivientes se convierten generalmente en portadores asintomáticos de los virus, eliminándolos a través de las heces, orina y productos sexuales durante largos períodos de tiempo.

Entre los virus que representan una amenaza mas o menos directa para la Acuicultura por las enfermedades que producen en especies cultivadas, podemos destacar a miembros de las familias *Birnaviridae*, *Herpesviridae*, *Iridoviridae*, *Reoviridae* y *Rhabdoviridae*.

Dentro de los Birnavirus destacan el Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV) y otros virus semejantes al IPN ("IPN-like") aislados tanto a partir de peces como moluscos y crustáceos (HILL *et al.*, 1982; AHNE, 1985). Estos virus representan un grupo muy conocido por afectar a salmónidos en agua dulce pero también importante debido a su amplio rango de huéspedes y distribución geográfica. Actualmente se han descrito 10 serotipos de IPNV, pero los más abundantes son tres: Sp, Ab (clásicos serotipos europeos) y VR-299 (clásico serotipo americano).

Aunque uno de estos clásicos serotipos de IPNV (serotipo Ab) ha sido aislado en casos esporádicos en platija americana (*Paralichthys lethostigma*) (McALLISTER *et al.*, 1983), en alevines de lubina (BONAMI *et al.*, 1983) y en rodaballo (CASTRIC *et al.*, 1987), los Birnavirus no se han considerado hasta ahora como un serio problema para el cultivo de especies marinas. Por otra parte el estudio de las epizootias estacionales del menhaden (una especie de *Alosa*) en la costa atlántica americana (Chesapeake Bay) permitió poner de manifiesto que un birnavirus (serotipo Sp) estaba presente en el cerebro de esos peces y podría ser el causante de las mortalidades en conjunción con factores ambientales.

Recientemente ha sido aislado en Noruega un nuevo serotipo de IPNV, denominado N1 (para algunos autores sería un Sp), que produjo elevadas mortalidades en salmón atlántico (CHRISTIE *et al.*, 1988 y 1990) así como en alevines de rodaballo y de halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) (MORTENSEN *et al.*, 1990) quizás como consecuencia de la proximidad entre las piscifactorías y seguramente del efecto de las

corrientes marinas. En los peces afectados se observó enrojecimiento de la zona del cerebro, necrosis de las células acinares del páncreas, necrosis focal del hígado y del tejido hematopoyético del riñón . Además este serotipo se ha aislado también a partir del hepatopáncreas de vieiras (*Pecten maximus*), tanto en semilla como en adultos que sufrían elevadas mortalidades, y eran cultivadas en zonas próximas a las piscifactorías (MORTENSEN *et al.*, 1990) . En Japón, SORIMACHI y HARA, 1985, aislaron un birnavirus de alevines de seriola que sufrían lo que denominaron hepato-pancreato necrosis vírica. Los peces sufrían anemia, hemorragias en hígado, petequias en los ciegos pilóricos y acumulación de líquido ascítico.

La incidencia de IPNV en los cultivos de peces en agua dulce es muy elevada en España (LEDO *et al.*, 1990; PALACIOS-FONTCUBERTA *et al.*, 1990, sin embargo la incidencia de esta enfermedad en salmón y rodaballo cultivados en el medio marino en el área gallega ha sido hasta 1990 prácticamente nula. Recientemente hemos aislado de rodaballo, durante análisis rutinarios, diversas cepas de Birnavirus cuyas características y relaciones con los serotipos conocidos de IPNV se están estudiando (NOVOA *et al.*, 1991). Resultados preliminares indican que independientemente del origen de los peces (Noruega, Francia...) pertenecen a los serotipos tanto Ab, como Vr-299 y Sp.

De manera similar a lo realizado en salmónidos, será necesario analizar mediante procedimientos no destructivos como es por ejemplo la búsqueda del virus en los linfocitos aislados de la sangre (MANGUNWIRYO y AGIUS,1988; RODRÍGUEZ SAINT-JEAN *et al.* 1991) con el fin de conocer si existe en esos peces un estado de portador asintomático.

Otra de las cuestiones interesantes que surgen de lo anteriormente expuesto es el conocer el origen de esos virus. Es necesario prestar atención a las diferentes fases del cultivo del pez, analizando no solo a los progenitores sino también a los cultivos de *Artemia* y del rotífero *Brachionus* utilizados como presa viva para las larvas de peces marinos. COMPS *et al.*, 1991, detectaron un birnavirus asociado a la mortalidad masiva del rotífero, aunque no hicieron estudios de la patogenidad del aislado para peces.

El estudio del posible papel de los invertebrados marinos y en particular los bivalvos marinos (por su régimen alimentario filtrador) como acumuladores y/6

vectores de estos virus será de gran interés en los años venideros. Así, hemos aislado birnavirus en moluscos y sedimentos alrededor de algunas granjas de salmón y rodaballo pero también, aunque en menor frecuencia, en moluscos alejados de estas zonas RIVAS *et al.* 1992). Hasta el momento no podemos afirmar si estos virus provienen de los peces en cultivo o si los invertebrados marinos son sus hospedadores naturales, dado que no se produjeron mortalidades achacables a virus en esas instalaciones. En algunos casos incluso nunca se había detectado su presencia durante los muestreos rutinarios realizados.

El IPNV es el virus con una mayor resistencia en ambientes naturales, tanto en agua dulce como marina (BARJA *et al.* 1983)

Hay que destacar que recientemente se han descubierto otro grupo de virus RNA de pequeño tamaño (aprox. 28 nm. Ø, no envueltos, icosaédricos) presuntamente asignados a la familia *Picornaviridae* tanto en aguas continentales (salmónidos en USA, HEDRICK *et al.*, 1991; eperlano (*Osmerus eperlanus*) en Alemania, AHNE *et al.*, 1990), como en peces marinos: rodaballo en los países nórdicos (BLOCH *et al.*, 1991), lubinas (*Dicentrarchus labrax* y *Latex calcarifer*) en Francia y Australia (BREUIL *et al.*, 1991; GLAZEBROOK *et al.*, 1990) y mero (*Epinephelus akaara*) en Japón (MORI *et al.*, 1991). No han sido aislados y solo se estudiaron mediante microscopía electrónica. La enfermedad que producen se caracteriza por afectar al sistema nervioso central. Tiene lugar durante las etapas larvarias (en el primer o segundo mes) y las mortalidades que ocasiona alcanzan el 80-90 % de la población. Los peces afectados se comportan anormalmente, nadan apáticamente en la superficie, con repentinos giros sobre su eje longitudinal (similar al de la enfermedad del torneo en trucha) y se hunden en el fondo donde mueren. Los virus no se ha logrado cultivarlos en las EPC y FHM. Causan encefalitis por degeneración lítica y necrosis de las neuronas del cerebro. Se replican en el citoplasma y otros órganos como hígado, riñón, páncreas, bazo, no muestran síntomas o lesiones.

Entre los Herpesvirus de peces podemos señalar el virus de los siluros (CCV) (FIJAN *et al.*, 1968), el *Herpesvirus salmonis* (HS) aislado del salmón Atlántico (WOLF *et al.*, 1978) y los herpesvirus de los salmones del Pacífico como el OMV y Nevta (KIMURA *et al.*, 1981). Sin embargo, hasta el momento, este grupo viral no

representa en Europa y concretamente en España un problema en la Acuicultura continental y marina. En Japón, se le atribuye a un herpes visualizado por ME (190-250 nm.) las mortalidades masivas de larvas y juveniles de platija japonesa (*Paralichthys olivaceus*) cultivada a 18-20°C (IIDA *et al.*, 1989).

Los Iridovirus han sido detectados en más de 100 especies diferentes de peces teleósteos. Se han aislado en cultivos celulares ocho Iridovirus, y tres han sido solo observados por microscopía electrónica. Este grupo viral causa un gran espectro de síndromes que van desde enfermedades sistémicas mortales hasta benignas e infecciones inaparentes.

Dentro de este grupo, los que presentan una distribución mundial más amplia, son el virus de la linfocistis que ocasiona hipertrofia celular de los tegumentos de peces tanto de agua dulce como marina, y el virus de la Necrosis Eritrocítica (ENV) (EVELYN & TRAXLER, 1978) que afecta fundamentalmente a especies marinas.

En la costa mediterranea española, la linfocistis ha sido detectada en numerosas ocasiones en dorada (*Sparus aurata*) aunque apenas se le ha prestado atención, existiendo unicamente un report (BASURCO *et al.*, 1990). Los japoneses lo han descrito en lubina, seriola, besugo y platija. La enfermedad ocurre con mayor incidencia durante el verano y aunque no causa mortalidades, y en casos es reversible, las pérdidas que acarrea derivan de la imposibilidad de vender los ejemplares dado el aspecto externo que presentan, sea en las aletas, sea en la superficie del cuerpo. El virus presenta perfil hexagonal o pentagonal y a veces se ve en organización cristalina en el citoplasma de las células.

Con relación al VEN, este síndrome muestra una elevada incidencia en lubinas cultivadas y salvajes pero todavía no se ha podido aislar en cultivos celulares. Se ha demostrado que los peces afectados de VEN son más susceptibles a infecciones por *V. anguillarum* (PINTO *et al.*, 1990).

Es de destacar que recientemente han sido descritos otros tipos virales no caracterizados totalmente que causan también inclusiones en eritrocitos de salmón atlántico cultivado y se conocen como EIBSV (síndrome viral de los cuerpos de inclusion intraeritrocíticos) (LUNDER *et al.*, 1990).

Los Rhabdovirus que ocasionan las pérdidas económicas más importantes en la Acuicultura continental son el virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (IHNV) (NICHOLSON, 1982) y el virus de la Septicemia Hemorrágica Viral (VHS) (de KINKELIN, 1982). El IHNV afecta fundamentalmente a alevines y se consideraba hasta hace unos años endémico de salmónidos de la costa Oeste de USA. Sin embargo, en 1987, se describió el primer caso de IHNV en Italia (BOVO *et al.*, 1987) y en 1989 en Francia (HATTENBERGER-BAUDORY *et al.*, 1989). Se le achaca su origen a la importación desde USA de huevos contaminados, y ya se considera difícil el que se pueda erradicar de Europa.

Por el contrario, aunque hasta hace poco el VHS se había detectado exclusivamente en Europa incluida España (JIMENEZ de la FUENTE *et al.*, 1988) afectando sólo a especies de agua dulce a partir de 1989 se aislaron cepas de este virus en América del Norte en salmones *Oncorhynchus* que regresaban del mar a realizar las puestas en ríos (WINTON *et al.*, 1989; STEWART *et al.*, 1990).

La incidencia actual de VHS en nuestro país se puede considerar casi nula y únicamente la falta de control de las importaciones permite que surgan nuevos casos, dado que las temperaturas a que se exponen durante los meses junio-septiembre, no favorece la supervivencia prolongada. Un caso reciente de infección por VHS en rodaballo, tuvo lugar en Alemania atribuido a la descarga de los efluentes de una piscifactoría de trucha que sufría la enfermedad a las aguas poco salinas y de escasa profundidad del mar Báltico (SCHLOTFELDT *et al.*, 1991) condiciones estas que son muy diferentes a las que tienen lugar, por ejemplo, en Galicia. En Japón, se aisló en 1984 un nuevo rhabdovirus durante una epizootia en platija y en alevines de ayu cultivados. Este virus tiene un rango de hospedadores muy amplio y se ha demostrado como patógeno para muchas especies diferentes incluidas la trucha. Hasta el momento no se conoce su similitud con los otros rhabdovirus (KIMURA *et al.*, 1986).

La familia *Reoviridae* está adquiriendo una gran importancia en Acuicultura debido al creciente número de aislamientos de miembros de este grupo tanto en peces de agua dulce y marina como de moluscos y crustáceos. Recientemente han sido aislados por nuestro equipo varios reovirus a partir de distintas especies: el reovirus del rodaballo (TRV) (LUPIANI *et al.*, 1989) a partir de ejemplares cultivados en Galicia, así como el reovirus de la lubina americana (SBR) (BAYA *et al.*, 1990b) y el reovirus

del salmón Atlántico (ASR) (dato no publicado) en la costa atlántica de USA. En Japón, WINTON *et al.*(1981), aislaron un reovirus de salmon chum al que se le atribuye causar elevadas mortalidades en los alevines; sin embargo, en las inoculaciones experimentales no causó bajas significativas.

El estudio de las características estructurales, fisico-químicas y moleculares de estos virus demostró que pertenecen al género *Rotavirus*. La implicación en Acuicultura de estos nuevos rotavirus y sus posibles reservorios está todavía por clarificar. De todas maneras, no han causado grandes pérdidas en las especies en las que fueron aisladas.

Estudios preliminares llevados a cabo con el rotavirus del rodaballo (TRV) indican que este virus permanece estable en agua de mar por períodos de tiempo muy prolongados, lo que demuestra que el medio marino puede ser un vehículo importante de transmisión del TRV entre las poblaciones de peces (NOVOA *et al.*, 1990).

Un tanto alejados de la Acuicultura, aunque de interés veterinario podemos considerar a las mortalidades causadas en mamíferos marinos como focas y delfines y que se le han atribuido a unos Morbillivirus (Paramixovirus) similares (serológica y molecularmente) al del moquillo de los perros. En ambos casos parece que si bien la causa última de las mortalidades es el virus, el origen primario estaría en afecciones diversas causadas por la contaminación del Mar del Norte y del Mediterráneo.

Finalmente, consideramos importante el estudio de la influencia de los moluscos bivalvos en la epizootiología de las enfermedades virales de peces ya que, como demostró MEYERS (1984), dichos moluscos pueden almacenar virus patógenos de salmónidos.

El control de la expansión de las enfermedades causadas por virus, no tiene otra vía que la estricta vigilancia del movimiento de los stocks de peces o huevos sea entre países sea entre áreas de un mismo país. Los certificados sanitarios son una buena manera, aunque no la única para tratar de impedir esa expansión.

El análisis puntual de una población no es garantía suficiente para tener la seguridad de que esa esté libre de virus, sino que es necesario el control de las instalaciones a lo largo de varios años. Para el acuicultor que adquiere un stock nuevo

de alevines o huevos embrionados, existe la posibilidad de comprobar el estado sanitario real de ese stock sin necesidad de una estación de cuarentena grande y costosa, (imposible de mantener), mediante la utilización de un procedimiento desarrollado para tal fin en un espacio reducido y en pequeños acuarios (Ledo *et al.* 1992) en los que se puede regular la Tª y otros parámetros ambientales.

El posible uso de vacunas con virus vivos atenuados o modificados comprometería los análisis para certificaciones basados en el cultivo celular, a no ser que lleven un marcador identificable.

Principales Infecciones virales que afectan a los peces cultivados en el medio marino

Enfermedad/ Agente	Especie Hospedadora	Incidencia	Observaciones
BIRNAVIRUS			
IPNV	Salmónidos	Moderada	En alevines y adultos
	Rodaballo	Baja	
	Seriola	Baja	
	Lubina	Baja	
	Rotíferos (<i>Brachionus</i>)	Muy baja	Caso puntual
PICORNAVIRUS			
	Rodaballo	Muy baja	En Países Nórdicos
	Mero	Ocasional	En el Pacífico
	Lubina	Ocasional	En Francia
REOVIRUS/ROTA VIRUS			
	Rodaballo	Muy baja	
	Salmón	Muy baja	
IRIDOVIRUS			
VEN y EIBSV	Lubina	Elevada	No mortalidades directas pero predispone a otras infecciones
	Salmón	?	
Linfocistis			
	Dorada	Muy Baja	Casos esporádicos con frecuencia reversible
	Lubina	"	
	Besugo	"	
	Seriola	"	
HERPESVIRUS			
OMV NeVTA	Salmón		Problema principal en Japón
	Salmón		
RHABDOVIRUS			
IHN	Salmón	Baja	Casos esporádicos en USA
HRV	Platija	Baja	Problema en Japón

REFERENCIAS

- AHNE, W., ANDERS, K., HALDER, M. & YOSHIMIZU, M. 1990. *J. Fish Dis.* 13: 167-168
- BASURCO, B., MARCOTEGUI, M.A., RUEDA, A., TIANA, A., CASTELLANOS, A., TARAZONA, J.V., MUÑOZ, M.J. & COLL, J.M. 1990. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10: 71-73.
- BARJA, J., TORANZO, A.E., LEMOS, M. & HETRICK, F. 1983 *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 3: 47-50.
- BAYA, A.M., TORANZO, A.E., NUÑEZ, S., BARJA, J.L. & HETRICK, F.M. 1990. In *"Pathology in Marine Science"*. Perkins, F.O. & Cheng, T.C. (eds), Academic Press, NY. pp:91-99.
- BLOCH, B., GRAVNINGEN, K. & LARSEN, J.L. 1991. *Dis. Aquat. Org.* 10: 65-70.
- BONAMI, J.R., COUSSERANS, F., WEPPE, M. & HILL, B. 1983 *Bull Eur. Assoc. Fish Pathol.* 3: 41.
- BOVO, G., GIORGETTI, G., JORGENSEN, V. & OLESEN, N.J. 1987. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 7: 124.
- BREUIL, G., BONAMI, J.R., PEPIN, J.F., & PICHOT, Y. 1991. *Aquaculture*, 97: 109-116.
- CASTRIC, J., BAUDIN-LAURENCIN, F., CONSTANS, M.F. & AUFFRET, M. 1987. *Aquaculture*, 67: 117-126.
- CHRISTIE, K.E., HÅVARSTEIN, L.S., DJUPVIK, H.O., NESS, S. & ENDERSEN, C. 1988. *Arch. Virol.*, 103: 167-177.
- CHRISTIE, K.E., NESS, K.E. & DJUPVIK, H.O. 1990. *Aquaculture*, 13: 323-327
- COMPS, M., MENU, B., BREUIL, G., & BONAMI, J.R. 1991. *Aquaculture*, 93: 1-7.
- EVELYN, T.P.T. & TRAXLER, G.S. 1978. *J. Fish Res. Board Can.*, 35: 903-907
- FUJAN, N. 1968. *Bull. Off. Intern. Epizoot.* 69: 1167-1168.
- GLAZEBROOK, J.S., HEASMAN, M.P., & de BEER, S. 1990. *J. Fish Dis.*, 13: 245-249.
- HATTENBERGER-BAUDOY, A.M., DANTON, M., MERLE, G., TORCHY, C. & KINKELIN, P. de 1989. *J. Aquat. An. Health* 1: 148-153.
- HEDRICK, R.P., YUN, S. & WINGFIELD. 1991. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 99-104.
- HILL, B. WAY, K & ALDERMAN, D.J. 1982. *Invert. Pathol. Microb. Control* 273-274.
- IIDA, Y., MASUMURA, K., NAKAI, T., SORIMACHI, M. & MATSUDA, H. 1989. *J. Aquat. Anim. Health* 1:7-12.

- JIMENEZ de la FUENTE, J., MARCOTEGUI, M.A., SAN JUAN, M.L. & BASURCO, B. 1988. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 8: 1-2.
- KIMURA, T., YOSHIMIZU, M., TANAKA, M. & SANOHE, H. 1981. *Fish Pathol.*, 15: 143-147.
- KIMURA, T., YOSHIMIZU, M. & GORIE, S. 1986. *Dis. Aquat. Org.* 1: 209-217.
- LEDO, A., LUPIANI, B., DOPAZO, C.P., TORANZO, A.E. & BARJA, J.L. 1990. *Microbiología* 6: 21-29.
- LEDO, A., BARJA, J.L. & A.E. TORANZO. 1992. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 12 (In press).
- LUNDER, T., THORUD, K., POPPE, T.T., HOLT, R.A. & ROHOVEC, J.S. 1990. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10: 21-23
- LUPIANI, B., DOPAZO, C., LEDO, A., FOUZ, B., BARJA, J.L. & TORANZO, A.E. 1989. *J. Aquat. An. Health.* 1: 297-204.
- McALLISTER, P.E., NEWMAN, M.W., SAUBER, H. & OWENS, W.J. 1983. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 3:37-38.
- MEYERS, T.R. 1984. *Mar. Fish. Rev.* 46: 14-17.
- MORI, K., NAKAI, T., NAGAHARA, M., MUROGA, K., MEKUCHI, T., & KANNO, T. 1991. *Gyobyo Kenkyo* 26: 209-210.
- MORTENSEN, S.H., HJELTNES, B., RØDSETH, O., KROGSRUD, J. & CHRISTIE, K.E. 1990. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 10: 42-43.
- NOVOA, B., LEDO, A., DOPAZO, C.P. & BARJA, J.L. 1990. *Abstr. IV Intern Conf. of Pathology in Marine Aquaculture (PAMAQ)*. Vigo, Spain.
- NOVOA, B., FIGUERAS, A., LEDO, A., BARJA, J.L. & TORANZO, A.E. 1991. *AFS/FHS News Lett.* 19:2-3.
- PALACIOS-FONTCUBERTA, M.A., BENAYAS, E., PEREZ-PRIETO, S.I., RODRIGUEZ SAINT-JEAN, S. & VILAS, P. (1990) *Actas III Congr. Nacional. Acuicult.*, 785-790.
- PINTO, R.M., ALVAREZ-PELLITERO, P., BOSCH, A. & JOFRE, J. 1989. *J. Fish Dis.*, 12: 185-191.
- RIVAS, C., CEPEDA, C., VILA, C., DOPAZO, C., & BARJA, J.L. 1992. *Abstr. V Intern. Conf. on Pathology in Marine Aquaculture (PAMAQ V)*. Montpellier, Francia.
- RODRIGUEZ SAINT-JEAN, S., VILAS, P., PALACIOS, M.A., & PEREZ-PRIETO, S. 1991. *J. Fish Dis.*, 14: 545-553.
- SCHLOTTFELDT, H.J., AHNE, W., VESTERGARD-JORGENSEN, P.E. & GLENDE, W. 1991. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 11: 105-107.

- SORIMACHI, M. & HARA, T. (1985). *Fish Pathol.* 19: 231-238.
- STEPHENS, E., NEWMAN, W., ZACHARY, A. & HETRICK, F. (1980) *J. Fish Dis.* 3:387-398.
- STEWART, B.C., OLSON, C. & LUTZ, S. 1990. *FHS/ AFS Newsletter* 18:2-3.
- WINTON, J.R., BATTIS, W.N., NISHIZAWA, T., & STEHR, C.M. 1989. *FHS/ AFS Newsletter* 17: 2-3.
- WOLF, K., DARLINGTON, R.W., TAYLOR, W.G., KIMBY, M.C. & NAGABAYASHI, T. 1978. *J. Virol.*, 27: 659-666.

**BASES MOLECULARES DE LA
INMUNIDAD FRENTE A LOS
RABDOVIRUS**

Julio Coll Morales

**Instituto Nacional de Investigación y Tecnología
Agraria y Alimentaria
Madrid**

Importancia de los peces y sus patologías en España y Europa.

España es uno de los primeros países del mundo consumidores de pescado, (20-40 Kg/habitante/año). La mayoría de este pescado proviene de la pesca produciéndose por Acuicultura unas 20.000 Tm de trucha/año y 200.000 Tm de mejillón/año, siendo el potencial total (incluida la Acuicultura marina) de unas 865.000 Tm/año (Coll, 1988).

El control de las patologías de los peces cultivados están ligados a las recomendaciones de la FAO/OIE (FAO report nº192,1977; OIE Int.Zoo-sanitary code 1986; ICES Coop.Res.Report nº159,1988) y a las regulaciones de la CEE (Anon.1990: 90/C84 y 91/C67) para el control de enfermedades cuya diseminación está asociada al comercio de los productos de la piscicultura entre los países comunitarios y a las importaciones de otros países. Además estos temas están relacionados con otras políticas de la CEE para el desarrollo de la industria de la acuicultura para la cual la CEE ha dedicado 60 MECUS/3 años (España 32 MECUS, Francia: 21.5 MECUS, Portugal: 13 MECUS).

El mayor impacto de estas investigaciones será importante en aquellas regiones donde el desarrollo de la acuicultura pueda tener una gran importancia en el desarrollo rural, ofreciendo un trabajo alternativo a las pesquerías (EEC report 111/121/87).

Importancia de los rabdovirus en las patologías de peces los peces cultivados y salvajes.

Entre todas las enfermedades de peces, las causadas por rabdovirus son las que producen las mayores mortalidades en adultos de varias especies (Tabla 1), por ejemplo, la septicemia hemorrágica viral (SHV), y la necrosis hematopoiética infecciosa (IHN) que afectan principalmente a los salmónidos, y la viremia primaveral de la carpa (VPC) que afecta a la carpa. No existen

vacunas ni métodos terapéuticos para ninguna de estas enfermedades.

Existen unas 1700 granjas de salmonidos en la CEE que en total producen 144000 Tm/ año. Solo en Francia la SHV causa 35% de pérdidas anuales en adultos en las áreas infectadas con una repercusión económica de alrededor de 4615 MECUS en 1986. El coste potencial de una vacuna para la SHV está estimado en unos 5 MECUS/ año(calculado en base a 7.2×10^8 dosis y un coste estimado de 7 ECUS/1000 dosis). Una repercusión similar tendría la posible vacuna contra la NHI que se está extendiendo hacia los Pirineos desde Alemania y otros países Europeos y americanos así mismo la amenaza se cierne con la VPC sobre la fauna piscícola de nuestros pantanos.

La amenaza de estos rabdovirus sobre la producción europea es tal, que se está poniendo en marcha un programa de erradicación en la CEE (Doc. 90/495/EF). Es de esperar que al abrir las fronteras con la CEE en 1993, en España aumentarán espectacularmente estas y otras enfermedades de nuestros peces.

En España la producción de salmónidos ha seguido un incremento constante desde 1964 hasta la producción actual que se sitúa entre 15.000-20.000 Tm/año. Ello supone de 50 a 70 millones de truchas y una importación de 200-400 millones de huevos. El estudio de métodos de prevención de estas enfermedades virales es necesario, ya que:

- Hay una mortalidad alta en adultos lo que implica una incidencia económica alta. Es una enfermedad que puede dar al traste con toda la producción en cualquier momento y no solo en estadios juveniles como en otras enfermedades infecciosas de salmónidos.
- La SHV es producida por un virus, al igual que otras muchas enfermedades en otros peces, sobre todo marinos. Lo que se aprenda de estos estudios podrá aplicarse a otras especies, sobre todo marinas, cuyo cultivo en España comenzará en breve a ser importante (rodaballo y lubina).

- La vacunación de peces por subunidades antigénicas es un método de prevención que se está empezando a necesitar conforme avanza la Acuicultura intensiva, sin embargo se desconocen los adjuvantes necesarios así como las influencias ambientales en la inmunización-vacunación.

Modelo de los estudios inmunológicos: SHV/trucha.

Para hacer estos estudios el modelo que se ha escogido es la septicemia hemorrágica viral de la trucha. Por una parte, ello es debido a su importancia económica en Acuicultura. Por otra parte, el sistema inmunológico de la trucha es primitivo (Tabla 2). Por ejemplo, los salmónidos solo tienen inmunoglobulinas IgM tetraméricas, no se les ha demostrado linfocitos B/T, y no se conocen diferentes grupos de histocompatibilidad. Nuestros estudios se centran en la estructura de las inmunoglobulinas (disección antigénica con anticuerpos monoclonales), cultivo in vitro de linfocitos (estudio de mitógenos policlonales, análisis clonal y FACS de poblaciones celulares), inmunización/adjuvantes a través de las branquias e identificación de las dianas celulares de los rhabdovirus (Fig. 1, 2 y 3). El estudio de la inmunidad frente a virus en un modelo tan primitivo puede ayudar a definir nuevas ideas y estrategias de cara a desarrollar otras vacunas por subunidades.

El virus de la septicemia hemorrágica viral.

El virus de la septicemia hemorrágica viral (SHV) es un rhabdovirus endémico en Europa causante de mortalidades agudas en los salmónidos (Kinkelin, 1972). En España, el INIA ha aislado e identificado 7 brotes de este virus (Basurco y Coll, 1989; Jimenez et al, 1988). El virus de la SHV es similar al virus de la rabia de mamíferos cuya biología molecular se conoce ampliamente y al de la necrosis hematopoiética infecciosa (NHI) de los salmónidos extendido en Norteamérica y extendiéndose actualmente en Europa

(Hill, 1975). Aunque muy similares (McAllister y Wagner, 1975) los virus del SHV y de la NHI no tienen reacciones cruzadas de seroneutralización (MacAllister et al, 1974).

El virus se transmite horizontalmente a través del agua por los peces infectados y por los portadores persistentemente infectados por el virus (Neukirch, 1986) y verticalmente a través de la superficie de huevos infectados como sucede con el NHI (Mulcahy y Pasho, 1985). El virus de la SHV se caracteriza por su morfología en forma de bala (Kinkelin, 1972), sus tres (quizá 4) variantes antigénicas (Jorgensen, 1972; Lenoir y Kinkelin, 1975; McAllister y Owens, 1987; Hill et al, 1975), su membrana lipídica (Kinkelin, 1972) y sus proyecciones de glicoproteínas (Lenoir y Kinkelin, 1975). Sus células diana parecen ser los linfocitos (Estepa y Coll, 1989; Chilmonczyk y Oui, 1988). Su genoma es de unas 11.000 bases de RNA de polaridad negativa (Robin and Rodriguez, 1977), codificando 4 proteínas virales: la polimerasa L (190 KDa), la glicoproteína G (65 KDa), las proteínas de la matriz M₂ y M₁ (25 y 19 KDa, respectivamente) y la nucleocapsida N fosforilada (40 KDa) (Lenoir y Kinkelin, 1975; McAllister y Owens, 1987; Hill et al, 1975; Basurco y Coll, 1988; Deuter and Enzmann, 1986; McAllister and Wagner, 1975). Estas proteínas se han mapeado en el genoma del virus de la NHI en el orden: 5'L-G-M₂-M₁-N3'(Kurath and Leong, 1985); además se ha descrito una proteína no presente en los viriones, que mapea ente L y G (Kurath and Leong, 1985).

Estudios recientes en los rabdovirus de la rabia (Dietzschold et al, 1987 a,b) y de la SHV (Estepa et al, 1991) han demostrado la participación de la proteína N de la nucleocapsida además de la glicoproteína G en la protección contra la infección (Dietzschold et al, 1987 a,b) tanto in vivo, como in vitro (Fig. 4). La glicoproteína G de NHI parece ser el único antígeno capaz de inducir una respuesta de anticuerpos neutralizadora in vitro contra el virus (Gilmore, 1988). Tanto el virus SHV inactivado (Kinkelin and Le Berre, 1977;

Jorgensen, 1981), como las glicoproteínas purificadas de NHI y de SHV son capaces de inducir una respuesta en salmónidos que les protege de una exposición a dosis letales de virus (Gilmore, 1988; Bernard et al, 1983). Los anticuerpos monoclonales neutralizantes contra NHI (Winton et al, 1988) reconocen epitopos localizados en la glicoproteína. En el caso de SHV todavía se han encontrado pocos anticuerpos monoclonales neutralizantes, atribuyéndose esto a que los protocolos de inmunización utilizados han sido demasiado cortos (Sanz et al, 1991; Lorenzen et al, 1988). Otros experimentos han demostrado que el virus SHV atenuado por pases en cultivo a alta temperatura pierde virulencia (Bernard et al, 1983; Kinkelin et al, 1980) y puede proteger a las truchas contra la infección (Kinkelin y Bearzoti, 1981). Por otra parte, en el rabdovirus NHI se ha clonado y secuenciado la proteína G (Koener, 1987) y recientemente se ha demostrado que la inmunización de truchas con un lisado de E.coli expresando una región no glicosilada compuesta por 104 aminoácidos de la proteína G, es capaz de proteger contra la infección de NHI (Gilmore, 1988). Se piensa que el lipopolisacarido de E.coli actúa de adjuvante.

Actualmente no hay una vacuna para controlar los brotes de rabdovirus, lo que ocasiona importantes pérdidas para la Acuicultura (Coll, 1988a). Además los métodos de detección actuales del virus, se basan en procedimientos trabajosos (Jimenez et al, 1988) o no suficientemente sensibles (Dixon and Hill, 1984; Lossarini-Dunier, 1985; Coll, 1988b).

Experiencias preliminares, han permitido avanzar algunos aspectos del problema. Se dispone actualmente, de cantidades pequeñas de varias proteínas del VHSV clonadas y expresadas en E.coli, levadura y yersinia (N y G) obtenidas en colaboración con Eurogentec (Universidad de Liege), de algunos adjuvantes desarrollados en nuestro laboratorio (pendiente de Patente) y de epitopos peptídicos con formulación vacunal desarrollada en nuestro laboratorio

(pendiente de Patente).

El desarrollo de ensayos "in vitro" de la respuesta inmune a los antígenos virales e inmunomoduladores es una estrategia preliminar antes de efectuar pruebas "in vivo". Ello implica un menor número de peces, tiempo mas corto por ensayo, el que no influyen las condiciones ambientales y la necesidad de establecer una correlación entre las pruebas "in vivo" e "in vitro". Por otra parte, la obtención de vacunas virales por subunidades obtenidas por ingeniería genética ha estado basada principalmente en la capacidad de las proteínas de superficie virales para estimular la inmunidad. Pero además, algunas proteínas virales internas y algunas de las no estructurales son también posibles inductoras de inmunidad en ausencia de anticuerpos neutralizantes. Las proteínas no estructurales se expresan en la superficie celular en etapas tempranas del ciclo de replicación y por ello su reconocimiento por el sistema inmune puede hacer de ellas disparadores de los primeros mecanismos citotóxicos de destrucción. Por todo ello, estos estudios deben responder a 2 preguntas. De una parte, ¿cuales de las funciones inmunológicas in vitro/in vivo deben ser optimizadas?: Las defensas no específicas (células adherentes, granulocitos polimorfonucleares), las específicas (linfocitos), o ambas?, y, por otra parte, ¿que antígenos virales e inmunomoduladores regulan esa inmunología?. Una vez seleccionados los antígenos y adjuvantes necesarios para inducir inmunidad a través de los ensayos in vitro, se pasa a efectuar los ensayos in vivo en los que ya influyen las condiciones ambientales y en los que se estudian los efectos de concentraciones tóxicas subletales de compuestos químicos concretos.

Hemos demostrado que el VSHV en trucha (*Onchorynchus mykiss*, grupo de histocompatibilidad reproducible) tiene 2 proteínas relevantes en la protección: la glicoproteína G y la nucleoproteína N/Nx (Figs. 4, 5). Los trabajos en curso tratan de correlacionar la estructura antigénica y la física

de estas proteínas (Fig. 6), estudiando: a) el reconocimiento por anticuerpos monoclonales (y por anticuerpos obtenidos en truchas resistentes al virus) de fragmentos peptídicos de la glicoproteína y la nucleoproteína generados por su digestión con proteasas, b) el reconocimiento por linfocitos educados (tanto cooperadores, como citotóxicos) de proteínas virales recombinantes obtenidas en *E. coli*, *Yersinia* (patógeno de salmónidos), levaduras y baculovirus (en colaboración con M. Thiry, Liege, Bélgica), c) la localización de epítopos por scanning peptídico analizando la unión de anticuerpos monoclonales, y la proliferación/lisis de células diana por linfocitos educados y, d) los péptidos virales presentados por las moléculas de histocompatibilidad de poblaciones celulares procesadoras y presentadoras de antígeno purificadas e infectadas in vitro (en un futuro se utilizarán células procedentes de truchas singénicas) para inducir respuestas cooperadoras y/o citotóxicas. Los resultados se están correlacionando con pruebas de protección a la infección in vivo en poblaciones de truchas (Fig. 7). Estos estudios han permitido localizar hasta ahora epítipo(s) cooperadores conformacionales en la proteína G y un epítipo aparentemente citotóxico de 7 aminoácidos en la proteína N. Estudios similares se están comenzando con el VNHI en colaboración con J. Leong (Oregón, USA).

Conclusion.

Aunque los desafíos planteados por la problemática concreta de la vacunación contra las enfermedades virales de estos animales tan primitivos como son los peces, son todavía formidables, es de esperar que entre los resultados de estos estudios se encuentren nuevos conceptos, nuevos adelantos, nuevas ideas que nos permitan en un futuro cercano, no solo intentar resolver estos problemas de la Acuicultura, sino también lanzar un rayo de luz sobre otros oscuros problemas tan actuales como los que se

refieren a los métodos de la lucha contra las enfermedades virales humanas.

TABLA 1.- IMPORTANCIA DE LOS RABDOVIRUS DE PECES.

Virus	España	afecta a	Pérdidas anuales.
SHV	aislados en 1986-89.	Salmónidos, lubina, rodaballo	30/50% en Europa
IHN	exótica (?)	Salmónidos	> 50% en U.S.A.
VPC	aislados en 1991.	Carpa, lucio	10% en Europa

La IHN se introdujo en Europa en 1987 (Alemania) y se detectó en los Pirineos en 1991.

TABLA 2.- TIPO DE RESPUESTA DEFINIDA EN UN ENSAYO IN VITRO CON POSIBLE APLICACION A LOS ESTUDIOS DE INMUNIDAD VIRAL.

Características	Respuesta	Efectores	Ensayos in vitro
	• Fagocitosis	• Células	• Fagocitosis con virus infectadas
	• Citolisis		• Liberación Cr
Reconocimiento	• Proliferación	• Mitógeno	• Incorporación ³ HT
		policlonal.	• Formación colonias
		• Células otros individuos.	• Reacción cruzada de leucocitos.
	• Síntesis Ig	• Antígenos virales.	• Células formadoras de placas.
		• Anti-Ig.	• Células sig+(FACS)

Las características principales de las células defensivas (inmunológicas) son: reconocimiento específico de estructuras moleculares y mecanismos de destrucción no específicos. Las células que poseen estas funciones han sido las mas estudiadas en carpa (Cyprinus carpio Linneo) y pez gato (Ictalurus punctatus) como representantes de los teleosteos de agua caliente y en trucha (Onchorynchus mykiss) como representante de los teleosteos de agua fria.

Figura 1. Morfología de las células de riñón de trucha.

L, linfocitos; LN, células de núcleo grande, blastos; MN, células multinucleadas. La barra señala 10 μ .

Figura 2. Morfología de las colonias de riñón de trucha inducidas con PHA en coágulos de fibrina en contraste de fase.

Figura 3. Morfología de las colonias de células de riñón de trucha inducidas con fitohemaglutinina (PHA) en coágulos de fibrina.

Las células de pronefros de trucha arco iris se incubaron con 2 μ g/ml de PHA durante 1 semana a 20 $^{\circ}$ C en coágulos formados con fibrinógeno y trombina. Las colonias una vez fijadas se tiñeron con azul de toluidina (Coll, 1990). La barra señala 500 μ . L, linfocitos; LN, células de núcleo grande (blastos); EN, células de núcleo eccentrico; MN, células multinucleadas.

Figura 4. Células adherentes (Ad) estimuladas por la adición de proteínas virales aisladas del VHSV.

Las células de pronefros de trucha arco iris se incubaron a 240,000 células por ml en coágulos de fibrina a 20 $^{\circ}$ C en presencia de las proteínas virales del SHV aisladas por electroforesis preparativa y electroelución. Se usaron truchas control y truchas inmunizadas. Las truchas habían sido inmunizadas previamente con SHV purificado por varias inyecciones y usadas 10-12 meses después de la inmunización. Resultados similares se obtuvieron utilizando truchas resistentes a la enfermedad después de 2 infecciones de SHV. O, control; G, 3 μ g/ml de la glicoproteína G de SHV; N, 1 μ g/ml de la nucleoproteína N/Nx de SHV; M₁, 2 μ g/ml de la proteína M₁ de SHV; M₂, 1 μ g/ml de la proteína M₂ de SHV. Barras rayadas, incorporación de timidina tritilada

en cuentas por minuto (CPM) después de 7 días de incubación a 20 °C. Barras negras, número de células adherentes después de 14 días (otros 7 días de incubación a 14 °C). Barras blancas, número de células adherentes después de 14 días (otros 7 días de incubación a 14 °C en presencia de 10⁶ PFU de VHSV por ml). Las medias y las desviaciones standard de 4 cultivos se ha representado en la figura.

Figura 5. Tipos morfológicos de células de riñón de trucha control (TC) o de trucha resistente a SHV (TV) estimulados con extractos proteicos de E coli y de levaduras recombinantes productoras de glicoproteínas y nucleoproteínas de SHV.

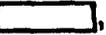
Las células de riñón (24,000/pocillo en 100 µl) se incubaron a 20 °C por 10 días en presencia de 50 µg/ml de extractos proteicos recombinantes. En la figura se representan las medias de 3 truchas diferentes después de restar el número de células presentes en los controles. N₂, nucleoproteína de SHV expresada en E. coli; N₃, nucleoproteína de SHV expresada en levadura; G7, glicoproteína de SHGV expresada en E. coli; G3, glicoproteína de SHV expresada en levadura; G4, glicoproteína de SHV sin peptido señal y sin dominio transmembranal expresada en levadura. , células de núcleo eccentrico; , células de núcleo grande; , células multinucleadas; , linfocitos; , células adherentes (Ad).

Figura 6. Mapas hidrofílicos de la glicoproteína G y de la nucleoproteína N de VHSV a partir de los datos de las secuencias de sus mensajeros.

En ordenadas se dá la escala relativa de hidrofiliicidad (0 a 2) y de hidrofobicidad (0 a -2). En abcisas el número de aminoácidos desde el amino terminal (-NH₂) hasta el carboxilo terminal (-COOH). La presencia de una metionina en posición 13 de la G es posible que indique el verdadero comienzo

de la proteína G. ●, posiciones de las cisteínas. ○, posiciones de los grupos con alta probabilidad de fosfosilación; △, posiciones de los grupos con alta probabilidad de glicosilación; ■, posiciones de los grupos con alta probabilidad de ser epítopos T (seleccionados con el programa TSITES). G4, G6 y Gt, fragmentos de la proteína G expresados en bacterias y levaduras.

Figura 7. Porcentaje relativo de supervivencia de truchas inmunizadas con proteínas recombinantes de SHV después de la contraprueba con VHSV.

Treinta y seis truchas de 0.5-2 g de peso se vacunaron por inmersión en una solución de G ó N en la presencia de PHA. ●—●, truchas vacunadas con 0.1 µg/ml de extracto de levaduras expresando G4 (80% de las proteínas) y 1 µg/ml de PHA (media de 2 experimentos). ■—■, truchas vacunadas con 0.1 µg/ml de extracto de levaduras expresando N. (5% de las proteínas) y 1 µg/ml de PHA. *----*, truchas control media de 2 experimentos con 1 µg/ml de PHA o con 0.1 µg/ml de extracto de levaduras control y 1 µg/ml de PHA.

Publicaciones recientes, Ictiopatología infecciosa (INIA, Sanidad Animal):

- J. Coll (1988). Obtención de inmunidad mediante vacunas constituidas por subcomponentes antigénicos de microorganismos. *Inmunología*, 7: 38-48.
- J. Coll (1988). La Acuicultura en España. *TECNOLOGIA XXI*, 7: 2-5.
- J. Coll (1988). Cultivo controlado de cangrejos de río. *Rev. Lat. Acuic.* 35: 26-30.
- Rueda, A. and Coll, J.M. (1988). Cloning myelomas and hybridomas in fibrin-clots. *J. Immunol. Methods*, 114: 213-217.
- Sanchez, C. y Coll, J.M. (1989). La estructura de las inmunoglobulinas de los peces. *Inmunología*, 8: 47-55.
- Sanchez, C., Dominguez, J. and Coll, J.M. (1989). Immunoglobulin heterogeneity in the trout salmo gairdneri (Richardson) . *J. Fish Diseases*, 12: 459-465.
- Basurco, B., Sanz, F., Estepa, A., Barrera, J. y Coll, J.M. (1989). La septicemia hemorrágica viral de la trucha: modelo para estudios de vacunación por subunidades. *Biotecnología*, 5: 8-11.
- Sobrino, F., Escribano, J.M. y Coll, J.M. (1989). Diagnóstico de virus por amplificación específica y detección no radioactiva. *Biotecnología*, 5, 8-10.
- Bassurco, B. y Coll, J.M. (1989). Variabilidad del virus de la septicemia hemorrágica viral de la trucha en España. *Med. Vet.* 6: 425-430.
- Basurco, B y Coll, J.M. (1989). Spanish isolates and reference strains of viral haemorrhagic septicaemia virus shown similar protein size patterns. *Bull Eur. Ass. Fish Pathol.*, 9: 92-95.
- Basurco, B., Marcotegui, M.A., Rueda, A., Tiana, A., Castellanos, A., Tarazona, J.V., Muñoz, M.J. and Coll, J.M. (1990). First report on lymphocystis disease in *Sparus aurata* (Linnaeus) in Spain. *Bull Eur. Ass. Fish Dis.* 10: 71-73.

- Sanz, F. and Coll, J.M. (1990). Mayor eficacia y sensibilidad en el diagnóstico de rhabdovirus. *Biotechnología*, 6: 7-9.
- Coll, J.M. (1990). Estimulación de células de riñón de trucha con mitógenos en cultivos de fibrina. *Immunología*. 9:140-145.
- Estepa, A. and Coll, J. M. (1991). Infection of mitogen stimulated colonies from trout kidney cell cultures with salmonid viruses. *J. Fish Dis.* 14, 555-562.
- Sanchez, C., Coll, J.M. and Dominguez, J. (1991). One step purification of rainbow trout immunoglobulin. *Vet. Immunol. Immunop.* 27,383-392.
- Estepa, A., Basurco, B., Sanz, F. and Coll, J.M. (1991). Stimulation of adherent cells by the addition of purified proteins of viral haemorrhagic septicaemia virus to trout kidney cell cultures. *Viral Immunol.* 4,43-52.
- Estepa, A. and Coll, J.M (1991). In vitro leucocyte assays to study viral immunity of teleost. *Ann. Rev. Fish Dis.* (enviado).
- Basurco, B., Sanz, F., Marcotegui, M.A. and Coll, J.M. (1991). The free nucleocapsids of the viral haemorrhagic septicaemia virus contain two antigenically related nucleoproteins. *Arch. Virol.*119,153-163.
- Sanz, F., Basurco, B., Babin, M. Dominguez, J. and Coll, J.M. (1991). Viral haemorrhagic septicaemia virus isolates studied with monoclonal antibodies against its structural proteins. *J.Fish Dis.*(enviado).
- Sanz, F. and Coll, J.M. (1991). Diagnóstico de la septicemia hemorrágica viral. *Veterinaria in Praxis.*6,25-32.
- Sanz, F. and Coll, J.M. (1991). Techniques for the diagnosis of the viral diseases of salmonids. *Dis.Aquat.Organism.* (enviado).
- Sanz, F. and Coll, J.M. (1991). Detection of viral haemorrhagic septicaemia virus by ELISA using two non-competitive monoclonal antibodies to the early nucleoproteins at high salt concentration. *Am. J. Vet. Res.* (en prensa).

- Coll, J.M. (1991). Las enfermedades producidas por virus. Hojas de divulgación. Servicio de Extensión Agraria. 13/90 HO 16 pag.

- Basurco, B. and Coll, J.M. (1991). In vitro and in vivo variability of the first viral haemorrhagic septicaemia virus isolated in Spain compared to international reference serotypes. Res. Vet. Sci. (en prensa).

- Basurco, B. and Coll, J.M. (1991) Pruebas de inmunización-protección con los primeros aislados del virus de la septicemia hemorrágica viral de los peces en España. Med. Vet.8,341-348.

- Coll, J. M. (1991). Hybridization of peroxidase labelled DNA probes to microtitre solid-phase bound DNA (Hybrelisa) Technique 3,29-32.

- Estepa, A. and Coll, J.M. (1991). Infection of trout kidney cells with infectious pancreatic necrosis and viral haemorrhagic septicaemia viruses. Bull Eur. Ass. Fish Dis. 11,101-104.

- Estepa, A. and Coll, J.M. (1992). In vitro immunostimulants for optimal responses of kidney leucocytes from trout surviving viral haemorrhagic septicaemia virus disease. J.Fish and Shellfish Immunol. 2, 53-68.

- Estepa, A. and Coll, J.M. (1992). Inmunidad in vitro de teleosteos. Inmunología. (enviado).

- Estepa, A., Thiry, M. and Coll, J.M. (1992). In vitro protection against viral haemorrhagic septicaemia with recombinant G and N proteins. J.Virol (en preparación).

- Estepa, A., Thiry, M. and Coll, J.M. (1991). Inmunización y protección in vitro de los linfocitos de trucha con proteínas purificadas y recombinantes del virus de la septicemia hemorrágica viral. Inmunología (en preparación).

- Estepa, A. and Coll, J.M. (1992). Mitogen induced proliferation of trout kidney leucocytes in fibrin clots. Vet. Immunol. Immunopathol. (en prensa).

- Estepa, A., and Coll, J.M. (1992). Properties of blast colonies obtained from

head kidney trout in fibrin clots. Fish and Shellfish Immunol. (en prensa).

- Coll, J.M. (1992). Single cell cloning in fibrin clots. In Protocols in Cell and Tissue Culture. ed John Wiley & Sons L., England. (en prensa).

- Coll, J.M. (1992). Kits of enzyme immunoassays in microtitre wells to detect virus and viral antibodies. Investigación Agraria. (en prensa).

- Coll, J.M. (1992). Diagnostico de virus en salmonicultura. Peces enfermos o peces portadores. Investigaciones Agrarias (enviado).

- Marcotegui, M.A., Estepa, A. Frías D. and Coll, J.M. (1992). First report of a rhabdovirus affecting carps in Spain. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. (enviado).

- Coll, J.M. (1991). Mantenimiento de líneas celulares de animales poiquiloterms. Biotecnología. 7, 5.

- Braña, M., Estepa, A. and Coll, J.M. (1992). Detection in turbot (*Scophthalmus maximus*, L) of infectious pancreatic necrosis and viral haemorrhagic septicaemia viruses by ELISA using monoclonal antibodies. Aquaculture. (enviado).

- Sanz, F. and Coll, J.M. (1992). Neutralizing-enhancing monoclonal antibody recognizes the denatured form of the glycoprotein of the viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus of salmonids. Archv. Virol. (enviado).

- Marcotegui, M.A. and Coll, J.M. (1992). The rhabdovirus of the spring viremia of the carp isolated by the first time in Spain. Investigaciones Agrarias (enviado).

- Estepa, A. and Coll, J.M. (1992). In vitro susceptibility of trout kidney macrophages to viral haemorrhagic septicaemia virus. Fish and Shellfish Immunol. (en preparación)

- J. Coll (1983). Acuicultura Marina Animal. Tercera Edición. Edit. Mundi-Prensa. 670 Págs. Madrid (XII Premio Nacional del Libro Agrícola 1983. Lérida).

- J. Coll (1987). Cría del Cangrejo de Río. Ed. Hispano Europea. Barcelona. 164 págs.

- J. Coll (1989). Estudio comparado de instalaciones en Acuicultura.
Servicio de Extensión Agraria del MAPA. 127 págs.

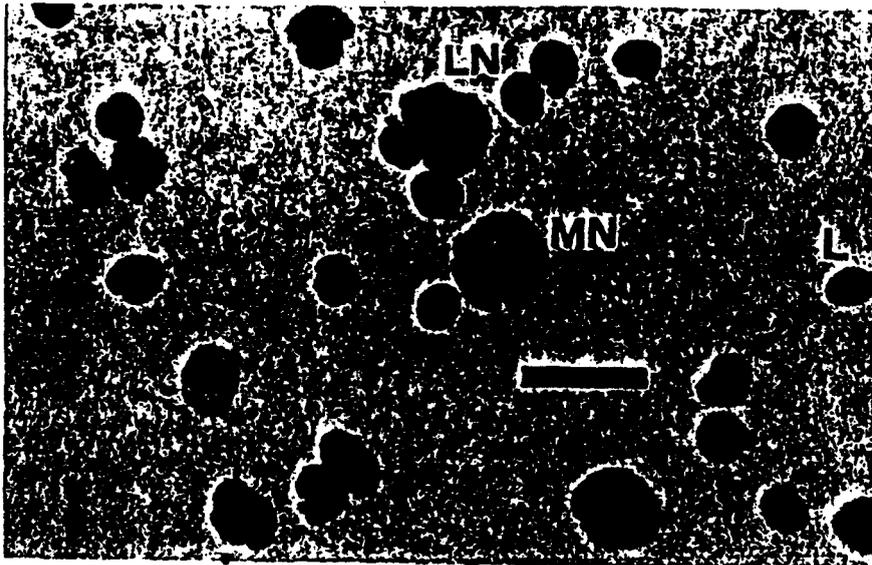


Figura 1

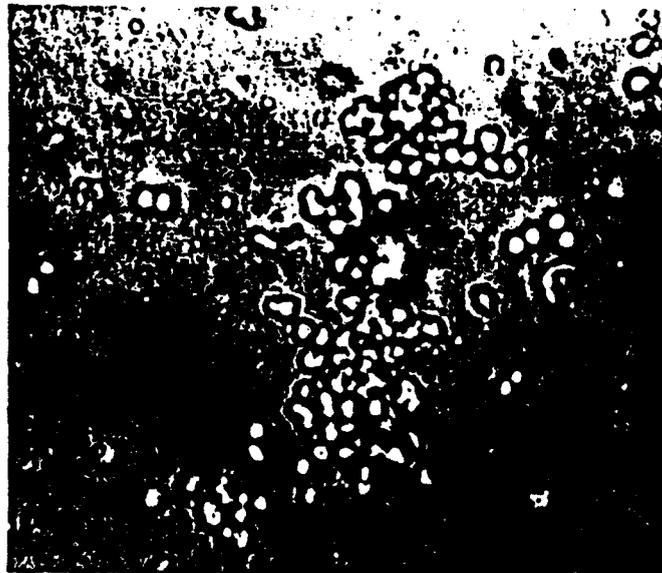


Figura 2

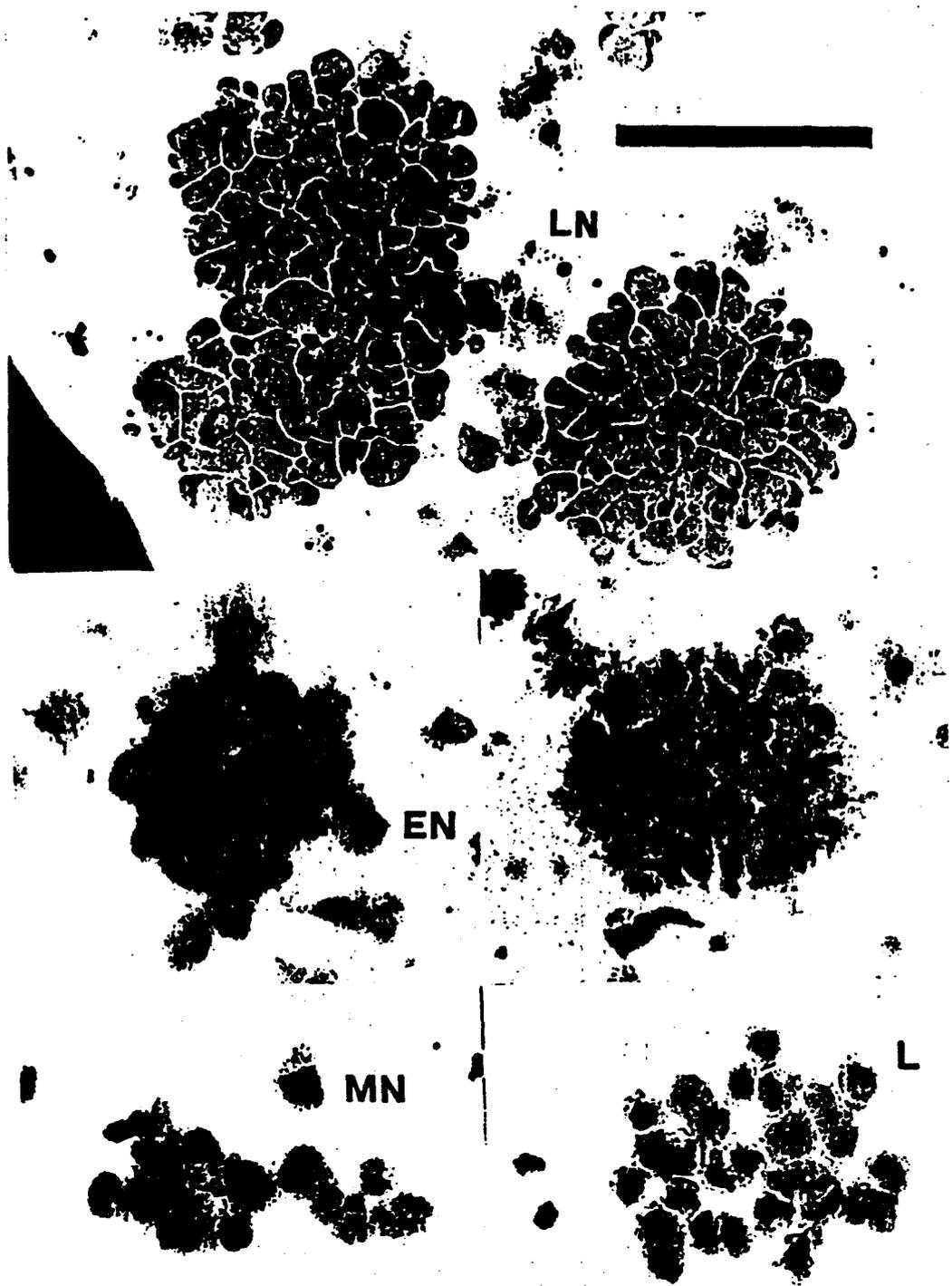


Figura 3

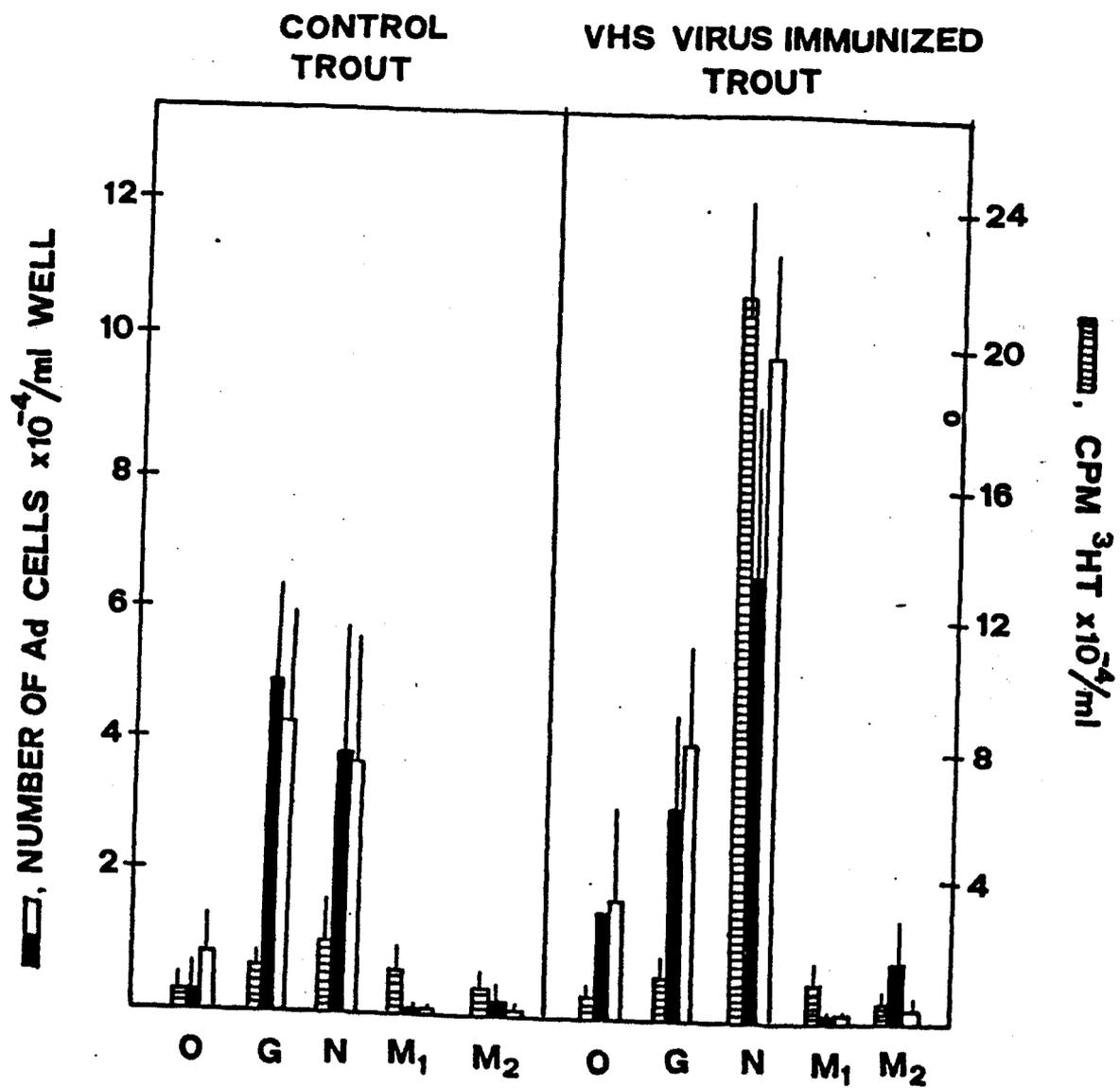


Figura 4

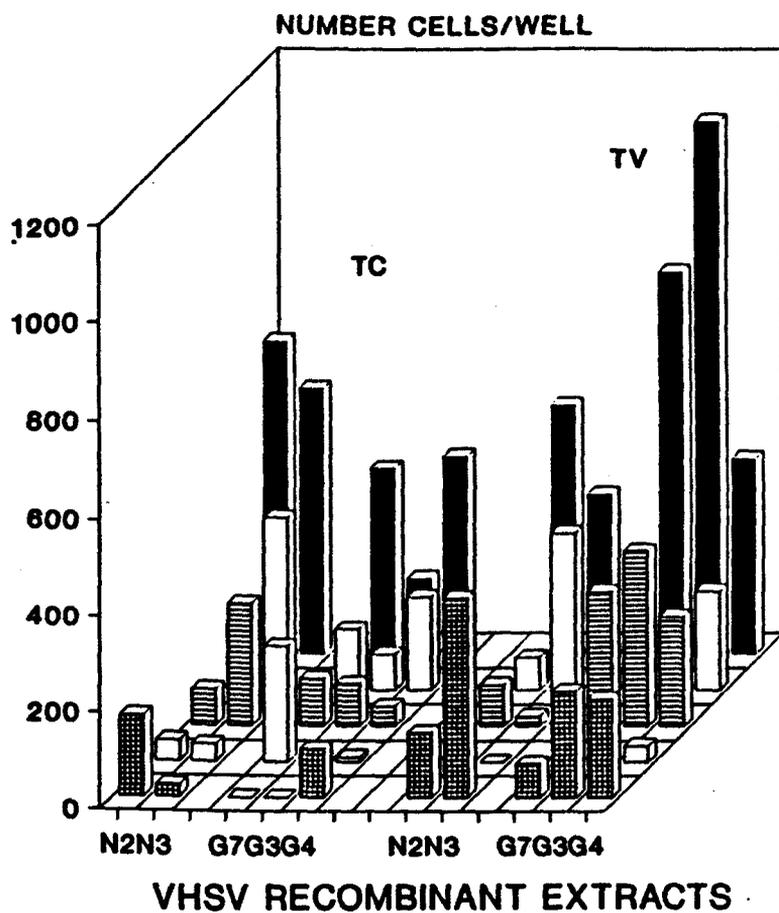


Figura 5

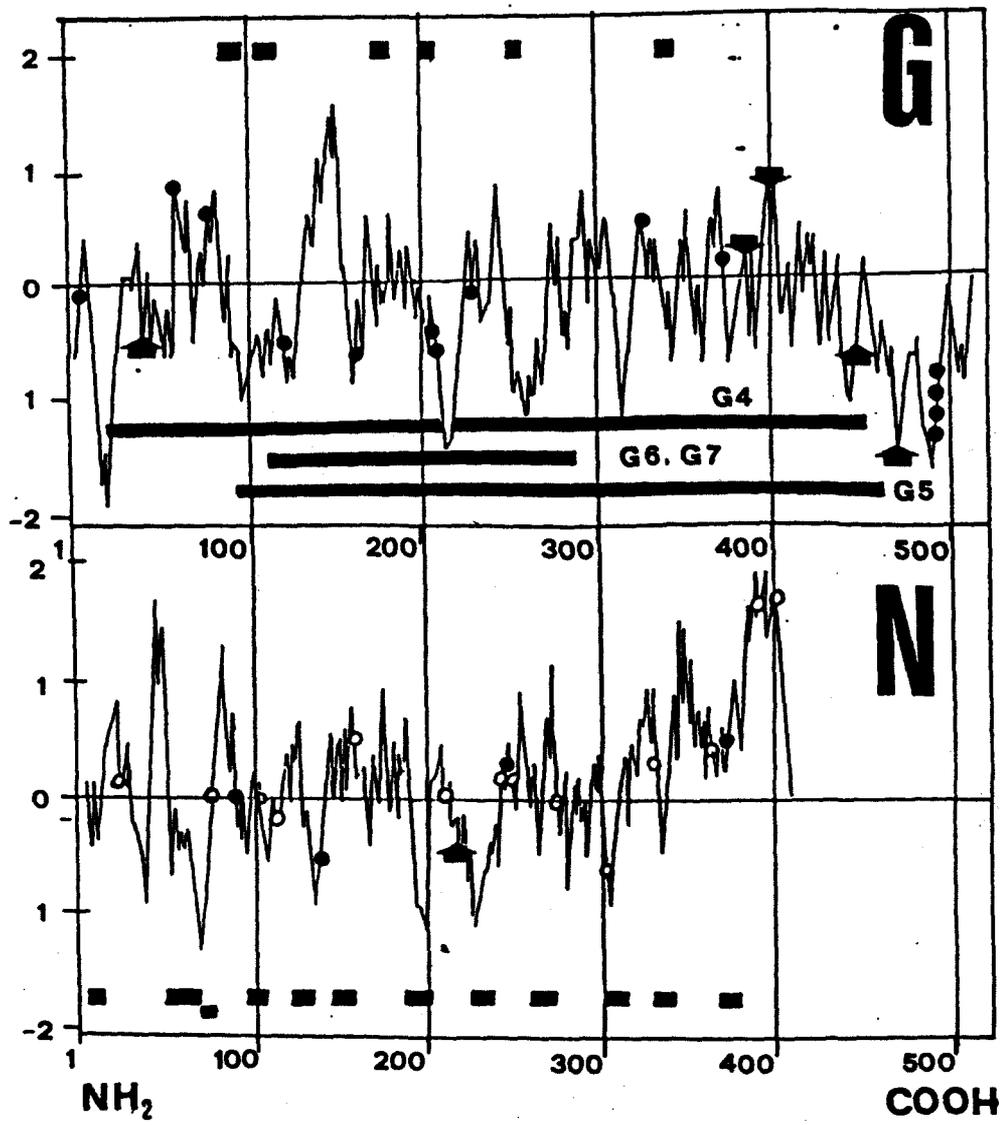


Figura 6

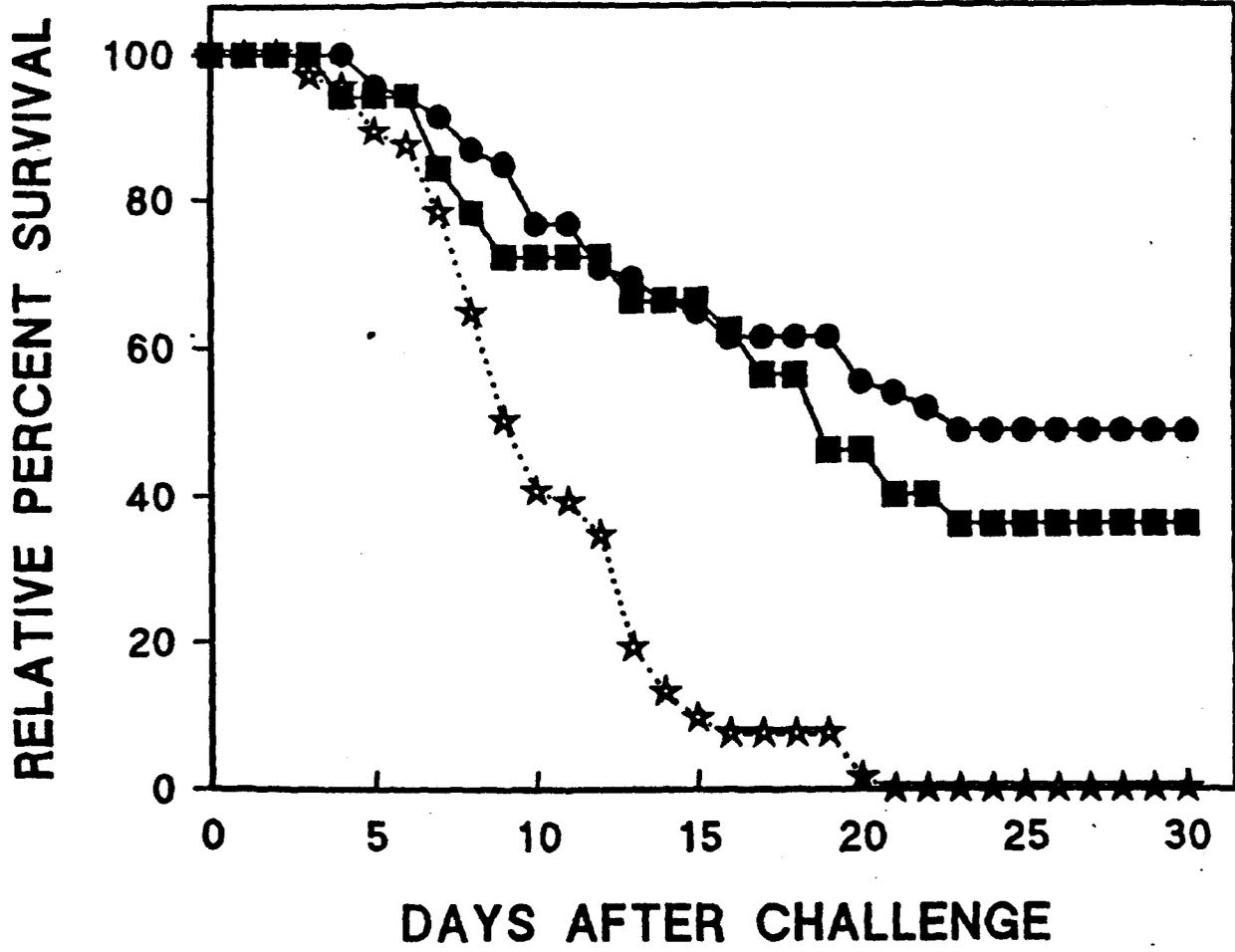


Figura 7

**PRINCIPALES MICOSIS DE LAS
ESPECIES MARINAS**

José Miguel Aller Gancedo

**Departamento de Patología Animal
Facultad de Veterinaria
Universidad de León**

Los hongos son microorganismos muy abundantes en la naturaleza, incluido el medio marino. La mayor parte pasan desapercibidos jugando un papel importante entre los seres vivos. Unos pocos han sido estudiados ampliamente, bien por su gran utilidad para el hombre, por ejemplo en la elaboración de alimentos y antibióticos, o por su acción perjudicial, como es el caso de los que provocan enfermedades.

En términos generales, se tiene bastante información sobre las micosis que afectan al hombre y animales domésticos. Por el contrario, las micosis de los peces se han estudiado poco y menos aún las que afectan a los peces marinos. En ello puede haber influido las dificultades que plantea un medio complejo y amplio como es el mar y los pocos años de tradición de la acuicultura marina.

Cuando se revisa la bibliografía sobre las micosis de los peces marinos, se llega a una conclusión. Hay una enfermedad importante que destaca sobre las demás, la ictiofonosis. El resto de la información bibliográfica recoge descripciones de procesos estudiados con mayor o menor profundidad, que con frecuencia corresponden a brotes o casos aislados descritos en una zona geográfica o pez determinado y que pocas veces se han vuelto a

describir en otros lugares; en consecuencia, suelen tener poco interés en acuicultura.

Comenzaremos la exposición con unos comentarios de tipo general sobre los agentes patógenos, epizootiología y diagnóstico de las micosis. Seguidamente hablaremos de algunas de estas enfermedades, prestando una especial atención a la ictiofonosis.

1. AGENTES PATÓGENOS. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Algunos hongos aislados de peces ubicados en aguas con baja salinidad, se incluyen, dentro del reino Fungi, en la subdivisión Mastigomycotina, clase Oomycetes. *Ichthyophonus*, que es el agente patógeno más importante, tiene un encuadramiento taxonómico dudoso, pero podría pertenecer a los Zygomycotina, clase Zygomycetes. El resto de los hongos descritos infectando a los peces marinos, pertenecen casi siempre a los Deuteromycotina, fundamentalmente la clase Hyphomycetes (Cuadro 1).

2. ASPECTOS EPIZOOTIOLÓGICOS.

Como en cualquier otro proceso infeccioso, en la aparición de la enfermedad intervienen tres factores importantes: el agente patógeno, el hospedador y el medio ambiente.

Exceptuando *Ichthyophonus*, puede decirse que los hongos descritos en las micosis de los peces marinos son microorganismos oportunistas que desarrollan su potencial patógeno cuando encuentran unas circunstancias favorables para ello. En este sentido, el empobrecimiento del medio acuático y en general todo lo que se relacione con un manejo defectuoso de las explotaciones, afectará negativamente a las defensas del pez y favorecerá el que los hongos desarrollen su potencial patógeno.

El conocimiento de la fuente de infección es importante, ya que influye en las posibles medidas de tipo preventivo o de control.

Los alimentos pueden vehicular diversos agentes patógenos. En su elaboración con frecuencia se utilizan peces o desechos de pescado que pueden proceder de animales infectados. También cabe la posibilidad de que se produzca una proliferación de hongos del medio ambiente, bien en las materias primas o en el alimento ya elaborado. Nos pueden servir de ejemplo los casos descritos de ictiofonosis por consumo de peces infectados, así como las infecciones por *Exophiala* debidas a la ingestión de alimentos colonizados por este hongo.

El medio marino, sobre todo el agua y los seres vivos que lo pueblan, puede ser la fuente de infección. La existencia de otras explotaciones marinas y la presencia de peces salvajes cerca de los estanques y jaulas flotantes, supone un riesgo de transmisión de enfermedades. En los salmónidos que pasan una fase inicial en agua dulce, cabría la posibilidad de que se infecten durante esa fase inicial fuera del medio marino, aunque generalmente suele tratarse de infecciones que desaparecen con el traslado a explotaciones con agua salada.

3. DIAGNÓSTICO.

Para llegar a un diagnóstico definitivo, es necesario valorar el conjunto de datos que proporciona la clínica, microscopía directa del material patológico, histopatología y cultivos micológicos. Las pruebas de diagnóstico inmunológico no están desarrolladas, al menos desde un punto de vista práctico.

Recogida de muestras. En lo posible deberán analizarse peces enfermos que estén vivos, sobre todo si se trata de un proceso cutáneo. Debe tenerse en cuenta que *post mortem* puede haber una rápida colonización por hongos saprofitos potencialmente patógenos, presentes en la piel o en el medio ambiente, así como por bacterias del intestino y del exterior, que podrían dificultar o confundir el diagnóstico.

Para eliminar los contaminantes externos, podría ser de utilidad la recogida de muestras de zonas profundas separadas de la piel, así como su lavado en agua destilada estéril o la desinfección en alcohol.

Síntomas y lesiones. Por sí solos no suelen ser suficientes para efectuar el diagnóstico. Las micosis de los peces marinos frecuentemente son procesos sistémicos de tipo granulomatoso, que lleva a confundirlos con otras enfermedades.

Microscopía directa del material patológico. La observación de pequeñas porciones de los tejidos infectados, aplastados entre un porta y un cubreobjetos con 1-2 gotas de KOH al 10-20 %, lactofenol o agua, nos permitirá observar las hifas o esporas del hongo.

Histopatología. Cortes histológicos teñidos por técnicas como el ácido periódico de Schiff, la metenamina-plata de Gomori-Grocott y otras, permitirán distinguir las estructuras fúngicas así como las alteraciones histológicas y celulares que se hayan producido.

Aislamiento del agente patógeno. Se han descrito diversos medios de cultivo. Desde un punto de vista práctico, la mayor parte de los hongos patógenos deberían crecer en medios comunes como el agar glucosado de Sabouraud y el agar glucosa patata, preparados con agua de mar o adicionándoles ClNa en concentraciones de 0 al 3 %, dependiendo del hongo implicado.

Deben añadirse antimicrobianos para dificultar el crecimiento de las bacterias. Frecuentemente se usa una combinación de penicilina G y estreptomicina, 50 U y 50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de medio de cultivo, pudiendo en algunos casos ser necesario realizar previamente un lavado o desinfección externa de los inóculos.

La identificación de los hongos aislados se basa invariablemente en el estudio de la morfología, sobre todo de las estructuras reproductoras.

4. PREVENCIÓN Y CONTROL.

En los peces en libertad es prácticamente imposible poder llevar a cabo cualquier tipo de acciones.

Las medidas de tipo profiláctico o de lucha sólo podrían realizarse con cierta eficacia en las piscifactorias.

Al margen de las medidas generales de un buen manejo de la explotación, deberá cuidarse la no introducción de agentes patógenos a través de la comida o de peces de nueva adquisición.

Hasta la fecha no se han descrito tratamientos curativos eficaces, ni se suelen realizar tratamientos preventivos, a diferencia de lo que ocurre frente a las micosis de los peces de agua dulce.

Ante un brote serio en una explotación, la solución probablemente no pueda ir más allá del sacrificio, desinfecciones y reposición de animales.

5. ICTIOFONOSIS.

Es un proceso granulomatoso que afecta a la piel y órganos internos de diversos peces de mar y agua dulce.

Etiología.

El agente patógeno es *Ichthyophonus hoferi*.

Tras su descubrimiento a principios de siglo, se consideró que era un protozoo (haplosporidio) por lo que fue incluido en el género *Ichthyosporidium*. Otros autores consideraron que era un

hongo al que denominaron *Ichthyophonus*. Esta duda se ha mantenido hasta nuestros días, pero predomina la teoría fúngica.

Aunque su ubicación taxonómica ofrece dudas, algunos autores lo encuadran en la clase Zygomycetes, orden Entomophthorales. Asimismo algunos consideran que existe más de una especie de *Ichthyophonus*.

No se ha clarificado totalmente el ciclo evolutivo, aunque sí hay varias proposiciones al respecto. En los tejidos infectados pueden visualizarse diversas formaciones:

- endosporas: móviles, mononucleares y pequeñas (alrededor de 10 μm de diámetro).
- esporas en reposo: esféricas, multinucleadas, con doble pared y 10-250 μm de diámetro.
- esporas germinando: se observan sobre todo *post mortem*, incluso a los pocos minutos de morir el pez.
- hifas: cenocíticas, de hasta 40 μm de diámetro.
- cuerpos esféricos hifales: situados en los extremos de las hifas y con endosporas en su interior.

Tras la muerte de un pez infectado, las esporas germinan en los tejidos en cuestión de minutos (15-30' a 20° C en la solla y eglefino) formando hifas ramificadas. El contenido citoplásmico se desplaza a los extremos de estas hifas, que se redondean y forman unos cuerpos esféricos multinucleados. Estos cuerpos esféricos de las hifas dan lugar a la formación de pequeñas endosporas que por su movilidad se les ha denominado también cuerpos ameboides o ameboblastos. Más infrecuentemente también se ha visto que hifas carentes de cuerpos esféricos pueden originar endosporas. En los tejidos del pez vivo también se han visto formaciones similares.

El ciclo evolutivo puede resumirse diciendo que las esporas multinucleadas presentes en los tejidos se subdividen en pequeñas endosporas, tras la formación o no de hifas y cuerpos esféricos hifales. Estas endosporas móviles pueden infectar un nuevo hospedador o diseminarse por el cuerpo del pez ya infectado. A su vez crecen hasta originar nuevas esporas grandes multinucleadas. Si concurren condiciones adversas, desarrollarán gruesas paredes originando las esporas en reposo.

No se ha visto reproducción sexual.

I. Hoferi puede cultivarse en medio de Hagem modificado, en agar glucosado de Sabouraud con 1 % de suero bovino, durante 7-10 días a 10° C, así como en otros medios de cultivo.

Epizootiología.

La ictiofonosis se ha diagnosticado en más de 80 especies de peces, predominando más en los marinos que en los de agua dulce. Se presenta en poblaciones naturales y en peces cultivados, así como en aguas frías y tropicales.

Su distribución geográfica es mundial. En Europa se ha detectado en varios países del Atlántico y Mediterráneo. En España se diagnosticó en 1987 en lubina cultivada y salvaje del Mediterráneo.

Hay descritos brotes epizoóticos en arenques, solla, caballa, eglefino, trucha arco iris y otros peces. Destacan por su importancia varias epizootias en aguas costeras en el noroeste del Atlántico que provocaron mortalidades masivas en arenques (*Clupea harengus*); también en Escocia mortalidades en sollas (*Pleuronectes platessa*). En ambos casos afectaron seriamente a las poblaciones naturales.

Están descritos bastantes casos en piscifactorias de trucha arco iris en agua dulce, frecuentemente asociados a la

alimentación con desechos de peces marinos. Se ha diagnosticado en salmones del Atlántico, en Escocia, cuando retornan al desove.

Los arenques afectados no son apropiados para ahumar o escabechar, ya que *Ichthyophonus* germina en los peces muertos provocando necrosis del tejido muscular. En otros peces se observa reblandecimiento de la carne, mal olor o adelgazamiento. A veces las alteraciones no se detectan en los peces frescos y sí posteriormente en el proceso de elaboración, lo que lleva al desecho de lotes de peces. Esto, unido a la mortalidad descrita, provoca pérdidas económicas importantes.

La infección se produce por vía digestiva tras ingerir peces o sus desechos, crustáceos (copépodos) u otros materiales infectados con las esporas.

Las especies de peces más resistentes, podrían actuar como reservorios del agente patógeno.

Características clínico lesionales.

El pez responde frente a la infección con una reacción celular inflamatoria alrededor del hongo (inicialmente células mononucleares y después células gigantes y fibroblastos) que llevan a la formación de una cápsula y finalmente un granuloma. Esta respuesta no tiene la misma intensidad en todos los peces. Por ejemplo, en el bacalao y eglefino se produce una reacción intensa con formación de una cápsula gruesa alrededor de las esporas, por lo que no suele haber gran invasión de los tejidos y los peces soportan mejor la enfermedad. En la solla, por el contrario, no se forman adecuadamente los granulomas, lo que lleva a una invasión de los tejidos y mortalidad elevada.

Consecuentemente, la ictiofonosis puede cursar de forma aguda a crónica dependiendo de la mayor o menor receptividad de la especie e individuo afectados, pudiendo presentarse una prevalencia y mortalidad muy altas o bajas.

La ictiofonosis es una granulomatosis sistémica que afecta a los tejidos blandos. Los granulomas, con frecuencia numerosos, se localizan principalmente en hígado, corazón, bazo, riñón, musculatura y piel, en dependencia con el tipo de pez.

En los arenques es frecuente la formación de granulomas en la piel de la zona lateroventral. Son oscuros (debido a la melanización) de aproximadamente 1 mm de diámetro, sobresalen de la piel dándole el aspecto de papel de lija y evolucionan a abscesos-úlceras. También son frecuentes los granulomas en corazón.

En diversos peces es más frecuente la formación de pequeños granulomas en órganos internos y musculatura. Son de tipo tuberculoide, blancos y sobresalen del tejido.

En las formas agudas hay una invasión masiva de los tejidos y muerte.

Cuando está afectado el sistema nervioso central puede observarse cambios en el comportamiento y curvatura de la columna vertebral.

Diagnóstico.

La presencia de granulomas en vísceras, músculos o piel, lleva a un diagnóstico de sospecha.

Preparaciones en fresco o cortes histológicos de los tejidos permitirán observar las esporas en reposo y demás formaciones fúngicas. A su vez es bastante característico el que las esporas germinen en los tejidos a los pocos minutos de morir el pez.

Puede aislarse *I. hoferi* en los medios de cultivo descritos.

Hay que hacer un diagnóstico diferencial con otros procesos granulomatosos, como por ejemplo, micobacteriosis.

Profilaxis y control.

La utilización en acuicultura de dietas alimenticias que incluyen peces crudos o desechos de pescado, supone un riesgo de transmisión de la ictiofonosis. Por ello, este tipo de alimentos deberán esterilizarse.

En las zonas con alta incidencia de la enfermedad, sería conveniente cultivar aquellas especies de peces que desarrollan bien los granulomas y que consecuentemente tienen buenas defensas frente a *I. hoferi*.

No se han descrito tratamientos que tengan utilidad en acuicultura. Se ha dicho que el fenoxetol es eficaz en acuarios, pero sólo en los estadios iniciales del proceso.

6. INFECCIONES POR Phoma.

El género *Phoma* pertenece a los Deuteromycotina, clase Coelomycetes. Incluye microorganismos frecuentes en el suelo así como agentes fitopatógenos. Se ha citado afectando a peces, moluscos y crustáceos.

P. herbarum. Descrito en salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*), salmón real (*O. tshawytscha*) y trucha arco iris, en piscifactorias. También hay citas en salmones en el norte del Pacífico y suroeste de Inglaterra.

La infección se inicia en la vejiga natatoria y posteriormente se extiende a otros órganos. Puede observarse el ano dilatado y hemorrágico, el abdomen hundido, petequias en costados y abdomen y aleta caudal hemorrágica.

Los peces pierden el equilibrio, ladeándose o depositándose en el fondo.

Phoma sp. Descrito en juveniles de "ayu" (*Plecoglossus altivelis*) en Japón, afectando a la vejiga natatoria y produciendo alta mortalidad.

7. INFECCIONES POR Exophiala.

Estos hongos pertenecen a los Deuteromycotina, clase Hyphomycetes. Son hongos dematiaceos, es decir, que tienen hifas y esporas oscuras.

E. salmonis. Se ha descrito un foco en esguines de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) mantenidos en jaulas marinas en Escocia. Proceso sistémico granulomatoso, cursó con dilatación del abdomen debido al engrosamiento del riñón posterior, en el que existían nódulos blanco-grisáceos. Se piensa que la infección se produjo a través del alimento que se suministraba en el que había proliferado el hongo.

También se ha descrito en varios peces de agua dulce, y se ha visto que esguines de salmón que se han infectado en agua dulce, fallecen al trasladarlos a agua salada.

Exophiala sp. En un acuario marino en Connecticut (USA) se aisló **Exophiala** sp. en 5 especies de peces que presentaron lesiones cutáneas u orgánicas. También hay citas de infecciones en salmones del Atlántico.

En gádidos (bacalao, eglefino) produce bandas negruzcas en el tejido muscular, lo que provoca el decomiso.

8. INFECCIONES POR Ochroconis (Scolecobasidium).

También son Hyphomycetes dematiaceos. Hay unos pocos casos descritos en salmónidos jóvenes.

O. tshawytschae. Citado infectando el riñón de salmón real en una piscifactoria de California.

O. humicola. Descrito en salmón plateado afectando al riñón y produciendo lesiones cutáneas.

9. INFECCIONES POR OTROS HONGOS FILAMENTOSOS.

Existen citas aisladas de infecciones por otros Hyphomycetes filamentosos:

Phialophora, en juveniles de salmón atlántico

Cladosporium, en bacalao

Aureobasidium, en una raya (*Trigon pastinacea*) mantenida en acuario.

10. INFECCIONES POR LEVADURAS.

Se han citado casos de infección por:

Candida sake. En salmón "amago" (*Oncorhynchus rhodurus*) en Japón, afectando al estómago.

Candida albicans. En lesiones cutáneas en caluga (*Mugil labeo*) en Japón.

11. INFECCIONES POR Oomicetes.

Este tipo de infecciones son raras en los peces marinos.

Recientemente se ha descrito una enfermedad ulcerativa en varias especies de peces (múgil, corvina, etc.) de la costa atlántica de USA, que se cree está producida por un oomiceto.

Existen también algunas citas aisladas de infecciones por **Aphanomyces.**

Finalmente, haremos mención a las infecciones por **Saprolegniaceae.** Estos hongos, entre los que destaca el género **Saprolegnia,** son causa frecuente de infecciones cutáneas en los peces de agua dulce, provocando serios problemas en las

piscifactorias. Son hongos acuáticos de aguas continentales y no sobreviven en el mar, pero existen algunas citas de peces infectados ubicados en aguas de baja salinidad. Se trataría de peces, por ejemplo salmón, que habiéndose infectado en los ríos han descendido a los estuarios, donde la supervivencia de estas saprolegniaceas deberá ser corta.

Es de suponer que a medida que vaya aumentando el número de explotaciones dedicadas a la acuicultura marina, irán surgiendo nuevas micosis, y quizás algunas de las que ahora se han diagnosticado a título anecdótico se conviertan en procesos más o menos frecuentes.

Cuadro 1.- Clasificación taxonómica de los principales géneros de hongo patógenos para los peces marinos.

(Reino)	(Div.)	(Subdiv.)	(Clase)	(Orden)	(Género)
Fungi	Eumycota	Mastigomycotina	Oomycetes	Saprolegniales	Saprolegnia (1) Aphanomyces (1)
		Zygomycotina	Zygomycetes	Entomophthorales	Ichthyophonus
		Ascomycotina			
		Basidiomycotina			
		Deuteromycotina	Coelomycetes	Sphaeropsidales	Phoma
		Hyphomycetes	Hyphomycetales	Exophiala Ochroconis Phialophora Cladosporium Aureobasidium Candida	

(1) En aguas poco salinas de estuarios

BIBLIOGRAFÍA

Se citan las publicaciones consultadas más relevantes.

- 1.- ALDERMAN, D.J. (1976). Fungal diseases of marine animals. En: GARETH JONES, E.B. **Recent advances in aquatic mycology**. Elek Science, London. pp. 223-260.
- 2.- ALDERMAN, D.J. (1982). Fungal diseases of aquatic animals. En: ROBERTS, R.J. **Microbial diseases of fish**. Academic Press, London. pp. 189-242.
- 3.- BOBADILLA, S. y ÁLVAREZ PELLITERO, M^a P. (1987). Datos preliminares sobre la presencia de *Ichthyophonus* sp. (Fungi: Incertae Sedis) en la lubina (*Dicentrarchus labrax*). Cuadernos Marisqueo Publicación Técnica, 12: 659-662.
- 4.- HATAI, K. (1989). Fungal pathogens-parasites of aquatic animals. En: AUSTIN, B. y AUSTIN, D.A. **Methods for the microbiological examination of fish and shellfish**. Ellis Harwood Ltd., Chichester. pp. 240-272.
- 5.- McVICAR, A.M. (1982). *Ichthyophonus* infections in fish. En: ROBERTS, R.J. **Microbial diseases of fish**. Academic Press, London. pp. 243-269.
- 6.- McVICAR, A.M. (1986). Fungal infection in marine fish and its importance in mariculture. En: VIVARES, C.P.; BONAMI, J.R. y JASPER, E. **Pathology in marine aquaculture**. European Aquaculture Society, special publication nº 9, Bredene, Belgium. pp. 189-196.
- 7.- ROBERTS, R.J. (1989). **Fish pathology**. 2nd ed. Baillière Tindall, London. pp. 320-335.
- 8.- SINDERMAN, C.J. (1990). **Principal diseases of marine fish and shellfish**. Vol. 1 y 2. Academic Press, Inc., San Diego.
- 9.- NEISH, G.A. y HUGHES, G.C. (1980). **Diseases of fish. Book 6: Fungal diseases of fishes**. T.F.M. Publications, Incl., Ltd., Neptune, N.J.

**PRINCIPALES PROBLEMAS
ICTIOPATOLOGICOS EN LA
PISCICULTURA EUROPEA**

**Claudio Ghittino
Marino Prearo**

**Centro per lo Studio delle Malattie dei Pesci
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte
Torino. Italia**

INTRODUCCION

En los últimos años la piscicultura se ha consolidado como un sector muy importante en la zootecnia de varios países europeos; en particular la salmonicultura es una actividad que produce en Europa 220.000 toneladas de salmón atlántico (*Salmo salar*) y 170.000 Tm de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) por año. Cada nación tiene su propia realidad productiva: Noruega, por ejemplo, es el país que cuenta con el mayor desarrollo en piscicultura y ha producido en 1991 150.000 Tm de salmón; pero en 1993 tendrá que reducir su producción en un tercio, para compensar la caída de precio que ha sufrido este producto a consecuencia de los excedentes. En el Reino Unido también la piscicultura está muy desarrollada, con una producción anual de 40.000 Tm de salmón y de 16.000 Tm de truchas, así como en Francia, Dinamarca y Alemania, que producen respectivamente 35.000 Tm, 30.000 Tm y 22.000 Tm de truchas por año.

En el sur europeo la piscicultura de agua dulce está muy extendida: Italia es el líder en el cultivo de truchas (35.000-40.000 Tm) y de anguila europea (*Anguilla anguilla*) (3.000 Tm), mientras que España alcanza una producción de 16.000 Tm de truchas por año. En Italia se van afianzando también otras formas de piscicultura, en especial aquellas de agua dulce caliente, como la aciplensericultura (cultivo de varias especies de esturiones); además en la ictaluricultura se está intentando reemplazar el pez gato *Ictalurus melas* (black catfish), del que se producen 1.500 Tm por año, con el *Ictalurus punctatus* (channel catfish), especie que da una mejor conversión.

En el este europeo, incluso la Comunidad de los Estados Independientes, la piscicultura se practica como policultura, o sea la cria en sistema extensivo de varias especies de ciprinidos; aunque no contamos con datos precisos, no parece que se produzcan más de 300.000 Tm por año de carpa (*Cyprinus carpio*).

Recientemente en los países mediterráneos se está desarrollando la maricultura en agua caliente y, en 1991, se han producido 7.300 Tm de especies marinas de elevado valor comercial, como lubina (*Dicentrarchus labrax*) y dorada (*Sparus aurata*).

En Italia la producción intensiva de dichos peces ha sido de aproximadamente 1.000 Tm (principalmente lubina), mientras que España ha alcanzado las 1.700 Tm (90% de dorada); además España es el líder europeo en la producción de rodaballo, con 1.000 Tm por año. De todas formas, el país de la Comunidad Europea donde más se ha desarrollado el sector de la maricultura es Grecia: por la conformación de sus costas y la temperatura téplada de sus aguas durante los meses invernales, puede ser considerada una "Noruega en el Mediterráneo" es decir un sitio ideal para instalar granjas de lubinas y doradas en jaulas flotantes; gracias a dichas

condiciones, la producción griega ha alcanzado las 2.700 Tm en 1991 (60% de lubina) y se prevé que será incrementada aún más en los próximos años.

De estos datos, se puede deducir que en Europa hay sectores de la piscicultura, practicados desde hace varios años, donde se ha alcanzado el punto máximo de producción (ej. cultivo de salmón, truchas, carpa y anguila), mientras que existen formas de piscicultura aún en pleno desarrollo, como la maricultura en agua caliente.

Un hecho a considerar es que el continuo incremento de la densidad de cultivo, que actualmente se practica para incrementar la producción, determina muchas veces fenómenos de stress en los peces, en particular si los parámetros ambientales no son los adecuados, con la consiguiente predisposición a la aparición de enfermedades. Mientras que la patología que afecta a los Salmónidos y a los Cirpinidos es bastante bien conocida, en los peces marinos quedan aún muchos capítulos por estudiar. Por lo tanto en ésta ponencia pondremos énfasis a las enfermedades de la lubina y de la dorada, tomando como referencia los procesos patológicos que afectan a las truchas, especie íctica que según nuestra opinión, representa el modelo patológico más importante a considerar.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Las enfermedades infecciosas incluyen aquellas de origen vírico, bacteriano y micótico, responsables de serios problemas en muchas de las especies ícticas cultivadas.

Las enfermedades víricas representan verdaderos factores limitantes del cultivo de trucha arco iris, debido a las elevadas tasas de morbilidad y mortalidad que producen.

Hay que considerar que, actualmente en Europa, están presentes las dos Rhabdovirus de los Salmonidos, SEPTICEMIA HEMORRAGICA VIRAL (SHV) y NECROSIS HEMATOPOYETICA INFECCIOSA (NHI). La SHV, endémica en nuestro continente, está difundida en casi todos los países donde se crían truchas, con excepción del Reino Unido e Irlanda; se calcula que en Italia esta enfermedad supone una mortalidad anual cuantificable en un 30% de la producción total de truchas. Desde 1987, ha aparecido en Europa también la NHI, originaria del Norte de América, y ahora difundida en Francia e Italia, donde está creando problemas en los centros de alevinaje.

Las lesiones provocadas por SHV y NHI son idénticas, consistiendo en una diátesis hemorrágica, y el diagnóstico etiológico de ambas enfermedades solo puede realizarse en los laboratorios de virología, por medio de la seroneutralización o la inmunofluorescencia empleando antiseros específicos.

La diferencia más importante entre SHV y NHI es la vía de transmisión del virus: mientras que la SHV no es transmisible verticalmente, parece que el Rhabdovirus de la NHI se transmite de los reproductores a los huevos; éstos son infectados solo en la superficie, a través del líquido ovárico y espermático de los reproductores portadores asintomáticos. Para dicha enfermedad se comprende que sea importante tomar medidas de profilaxis como una adecuada desinfección de los huevos con iodoforos, para impedir la propagación del virus por toda Europa.

La NECROSIS PANCREÁTICA INFECCIOSA (NPI) es una enfermedad vírica de los salmónidos con carácter cosmopolita, ligada a los alevines y a las formas juveniles. Esta causada por un Birnavirus aunque no está claro que sea el agente primario o secundario de mortalidad; en efecto, la NPI aparece muchas veces en estanques donde las concentraciones de alevines son a menudo excesivos y donde hay también otros problemas patológicos (ej. enfermedad branquial, enfermedad de la burbuja de gas). Además, resulta muy difícil, un control de esta enfermedad, teniendo en cuenta que el virus parece ser que es transmitido verticalmente a través del esperma.

En la Europa del Este, entre los ciprínidos, está difundida la VIREMIA PRIMAVERAL DE LA CARPA (VPC), una Rhabdovirus que puede causar una elevada mortalidad en las carpas; esta enfermedad, en su fase crónica, se presenta frecuentemente complicada por bacterias, como *Aeromonas hydrophila* y *Aeromonas salmonicida* atípica, que agravan la patología primaria.

Una enfermedad de carácter benigno que afecta a la anguila europea es la ESTOMATOPAPILOMATOSIS, causada, aparentemente, por un Birnavirus; es un agente infeccioso típico de las anguilas pescadas en los mares del Norte de Europa e importadas para ser cultivadas en Italia, donde se encuentra esporádicamente; está caracterizada por proliferaciones fibroepiteliales en la boca, mandíbula y nariz, que confieren a los peces un aspecto desagradable, por lo que los individuos afectados tienen que ser eliminados de la venta al público.

En los países mediterráneos donde se practica el cultivo de especies marinas, han sido señalados varios casos de LINFOCISTIS en dorada; se trata de una enfermedad con una evolución crónica, debida a un Iridovirus que provoca la aparición de nódulos cutáneos distribuidos especialmente en las aletas y en las zonas laterales del cuerpo. La Linfocistis no causa mortalidad y generalmente los nódulos degeneran con el tiempo y los peces se curan solos. Pero, si los individuos destinados a la venta están afectados, pueden existir problemas por el aspecto desagradable que presentan. Histológicamente, pueden verse en la dermis células gigantes llamadas células linfocísticas, que son fibroblastos extremadamente hipertróficos.

Una enfermedad parecida a la Linfocistis, diagnosticada en la dorada en Israel, es la EPITELIOCISTIS, cuyo agente etiológico no está todavía bien caracterizado, se cree que puede pertenecer a las Clamidias o a las Rickettsias. Normalmente tiene una evolución benigna, y solo en caso de que el epitelio branquial esté fuertemente afectado se puede manifestar una mortalidad. Histológicamente la Epiteliocistis se caracteriza por una proliferación de las células del epitelio de las branquias y de la piel.

Como las enfermedades víricas, también las enfermedades bacterianas están muy difundidas en la piscicultura intensiva, pero suscitan menos preocupaciones, siendo posible un tratamiento con piensos medicados o, en algunos casos, la vacunación.

Las truchas están afectadas por distintas formas de septicemias bacterianas, causadas principalmente por bacterias Gram negativas; las que se aíslan habitualmente son *Yersinia ruckeri*, que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, y *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, que pertenecen a la familia Vibrionaceae.

En la trucha arco iris la enfermedad bacteriana más frecuente actualmente en Europa es la causada por *Yersinia Ruckeri*, conocida como BOCA ROJA; originaria del Norte de América, llegó a Europa al principio de los años 80, probablemente mediante la importación de huevos infectados. Así en Italia, desde el 1983, en la trucha arco iris la *Y. Ruckeri* ha reemplazado al *Vibrio anguillarum* como principal enfermedad causada por Gram negativos. Contra dicha enfermedad, en algunos países, además del tratamiento con quimioterápicos y antibióticos, se utiliza la vacunación de los peces.

En la trucha común (*Salmo Trutta*) y en la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) la enfermedad bacteriana que produce más problemas en Europa es la FORUNCULOSIS, causada por *Aeromonas salmonicida*, contra la cual se está intentando elaborar una vacuna.

En estos últimos años en Noruega han aparecido elevadas mortalidades en las piscifactorias de salmón, debidas a la "COLDWATER VIBRIOSIS O HIDRA DISEASE", una septicemia bacteriana causada aparentemente, por *Vibrio salmonicida*, un tipo de *Vibrio* activo a bajas temperaturas, distinto serológicamente y bioquímicamente de *V. anguillarum* y *V. ordalii*.

Otra enfermedad bacteriana de los salmónidos, muy frecuente en los países del norte europeo, es la RENIBACTERIOSIS, causada por un Gram positivo perteneciente a la familia Corynebacteriaceae, el *Renibacterium salmoninarum*. Se trata de una enfermedad típica de las aguas frías, que generalmente evoluciona en forma crónica, y parece que puede ser transmitida verticalmente; es de difícil tratamiento terapéutico,

ya que hay pocos antibióticos eficaces, como por ejemplo eritromicina y cloramfenicol.

Si las truchas son cultivadas en aguas calientes con una alta carga orgánica, pueden ser afectadas por la ESTREPTOCOCOSIS; se han dado casos en España y este verano también en Italia, donde el agente etiológico ha sido clasificado como *Streptococcus faecalis*, un estreptococo fecal del grupo D de Lancefield. Esta enfermedad ha causado problemas también en varias especies de peces marinos cultivados en Japón, como el yellowtail (*Seriola quinqueradiata*), y debe ser considerada como un peligro potencial para la maricultura europea.

En la anguila las septicemias bacterianas determinan una enfermedad bajo el nombre de PESTE ROJA, que en Italia puede ser causada por diversos agentes etiológicos: *Aeromonas hydrophila* y *Vibrio anguillarum* principalmente, *Edwardsiella tarda* en algunas ocasiones; ésta última bacteria, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, puede crear problemas desde el punto de vista higiénico, al deteriorar organolepticamente la carne del pescado.

La septicemia bacteriana que afecta más comunmente a lubina, dorada y rodaballo es la VIBRIOSIS, causada por *Vibrio anguillarum* o *Vibrio ordalii*, dos bacterias típicas del medio marino; son responsables de una septicemia hemorrágica, particularmente agravada en los peces con stress; se trata de una típica enfermedad condicionada, que se manifiesta cuando los peces son cultivados en un medio ambiente desfavorable (ej. elevada densidad de la población en los estanques) o después de la clasificación, la limpieza o las desinfecciones. Los Vibrios pueden ser aislados sacando sangre del riñón de los peces enfermos, sembrando en un medio de cultivo de primer aislamiento (agar marino o agar nutritivo suplementado con 2% de NaCl), incubado a 20° - 25° C durante 24 horas; en segundo lugar, sembrando en un medio selectivo como el TCBS Agar. Lógicamente se tendrá que realizar lo más rápido posible un antibiograma, para establecer la sensibilidad de la bacteria a los principales quimioterápicos y antibióticos; en Italia dan buenos resultados contra la vibriosis varios productos, como los nitrofuranos, sulfamidas potenciadas, oxitetraciclina, cloramfenicol y algunas quinolonas (flumequine, enrofloxacin, ácido oxolinico). Después de un tratamiento con pienso medicado, antes de destinar los peces al consumo, se deberá respetar el tiempo de interrupción del fármaco, para evitar la presencia de residuos en las carnes.

Hay que tener presente que actualmente existe también la posibilidad de prevenir la Vibriosis con la vacunación: se utilizan vacunas inactivadas (Bacterinas), que se administran mediante inmersión, a los peces jóvenes, las cuales proporcionan una buena protección inmunitaria (12 meses).

Durante el verano de 1990 en Italia se han detectado varios focos de PASTERURELOSIS en la lubina y la dorada, patología muy bien conocida en Japón, donde provoca serios problemas en las piscifactorias de yelowtail. Es una típica enfermedad que se manifiesta en aguas calientes y que puede desarrollarse en forma aguda o, más frecuentemente, crónica; ésta última se caracteriza por la presencia de nódulos de color blanco-gris, de unos milímetros de tamaño, principalmente en el bazo y riñón; histológicamente los nódulos corresponden a granulomas del tejido hematopoyético de dichos órganos. La enfermedad esta causada por Pasteurella piscicida, una bacteria Gram negativa con coloración bipolar, que puede ser aislada en medios de cultivo como agar marino y agar sangre, incubando a 22° C durante 24-48 horas; en caso de positividad se forman colonias pequeñas (máximo 0,5-1 mm de diametro) , translucidas a gota de rocío; bioquímicamente ésta bacteria se caracteriza por la escasa reactividad, donde solo, con el sistema rápido de identificación API 20E, da lugar a respuestas positivas para la arginina dehidrolasa (ADH) y producción de ácido del glucosido.

En Italia han aparecido pocos casos de Pasteurelosis durante el verano 1991, mientras que han sido señalados focos en las piscifactorias griegas. Para controlar la enfermedad, estando todavía en estudio la vacuna, se emplean quimioterápicos y antibióticos adicionados en el pienso; se han obtenido buenos resultados con kanamicina (50 mg/kg de pez/día durante 7 días), cloranfenicol, furazolidona, oxitetraciclina (70 mg/kg de pez/día durante 7 días), ampicilina (40-80 mg/kg de pez/día durante 7 días).

Otras enfermedades bacterianas que pueden afectar los peces marinos son las causadas por bacterias acido-resistentes, o sea MICOBACTERIOSIS, y NOCARDIOSIS, que se trata de procesos crónicos caracterizados por la aparición de nódulos blancos en las vísceras, sobre todo vasos, riñón e hígado. Histológicamente los nódulos corresponden a granulomas rodeados de una cápsula conectiva; estan constituidos por células epiteliales, mientras que son escasas las células gigantes policucleadas y existe una escasa caseificación. Micobacteriosis y Nocardiosis pueden ser diagnosticadas mediante el exámen en fresco realizando una impronta de los nódulos, posteriormente se realiza una tinción con Ziehl-Neelsen y se observa al microscopio de inmersión: en caso de positividad las bacterias se teñirán de rojo.

Las infecciones bacterianas externas, conocidas como ENFERMEDAD BRANQUIAL Y ENFERMEDAD COLUMNAR, estan presentes en todas las especies de peces cultivados, sea de agua dulce o salada: se trata de patologías estrechamente condicionadas a factores ambientales y, según nuestra opinión, la presencia de mixobacterias en las lesiones es generalmente de carácter secundario, ya que estos microorganismos son ubicuitarios en el agua; despues de lesiones primarias en las branquias o en la piel causadas por distintos factores (ej. elevado nivel de amoníaco debido a la hiperdensidad, presencia de sólidos en

suspensión, infestación por ectoparásitos, exposición directa a los rayos solares, traumatismos debidos a manipulación), se instalan gérmenes invasores secundarios como *Cytophaga* sp., *Flexibacter* sp., *Flavobacterium* sp., que complican el cuadro patológico localmente y, a veces, pueden determinar una infección sistémica. La enfermedad branquial es una de las principales causas de mortalidad en el alevinaje por las lesiones proliferativas que determina a nivel del epitelio branquial y que obstaculiza el intercambio respiratorio.

Entre las enfermedades micóticas hay que citar la ICTIOFONOSIS por *Ichthyophonus hoferi*; se trata de una micosis sistémica muy frecuente en los salmónidos cuando se suministra una alimentación a base de clupeidos marinos frescos, que son portadores asintomáticos de este hongo; actualmente, con la alimentación de los peces a base de pienso, ésta patología es poco común.

Siempre perteneciente a las enfermedades micóticas recordamos la SAPROLEGNIOSIS, debida a hongos de la clase Oomycetes, familia Saprolegniaceae; más que de una enfermedad, se trata de un comensalismo en peces con superficies externas lesionadas; si se verifican heridas en la piel, cornea, aletas, branquias, debidas a traumas o enfermedades, se desarrollan en dichas zonas las saprolegnias. Por lo tanto, tratándose de una complicación secundaria, antes de intentar curar la saprolegniosis, es imprescindible descubrir cuales son las causas que han causado la lesión primaria y poner remedio.

ENFERMEDADES PARASITARIAS

La parasitología es una rama enorme de la ictiopatología y en ésta ponencia pondremos énfasis sólo a las enfermedades debidas a protozoos y metazoos que causan problemas serios en la piscicultura europea.

En casi todos los países donde se crían truchas esta presente una protozosis sistémica, la ENFERMEDAD PROLIFERATIVA RENAL, que provoca grandes mortalidades en verano, cuando la temperatura del agua supera los 15° C; el agente etiológico es un mixozoo mixosporidio todavía no clasificado, que tiene muchas analogías con género *Sphaerospora*; es responsable de una notable hiperplasia del tejido hematopoyético: por eso, el riñón aparece enormemente inflado, con superficie ondulada. Las terapias que se han empleado hasta ahora (baños de verde malaquita, pienso medicado con fumagilina) no siempre han dado resultados válidos con ésta enfermedad; la profilaxis directa por lo tanto es, en la actualidad, la mejor medida a seguir: se aconseja esperar el final del período estival antes de introducir los alevines sanos en los estanques de un piscifactoría infectada.

Otra protozoosis interna de los salmónidos, muy frecuente en toda Europa y responsable de mortalidad y retrasos en el crecimiento, es la

MIXOBOLIOSIS, provocada por un mixozoo mixosporidio, el *Myxobolus cerebralis*; esta patología es ahora muy escasa, gracias a las medidas de prevención, basadas en el hecho de criar los alevines y las los juvenes en estanques con fondo de cemento, en vez de tierra.

Las ectoparasitosis o parasitosis branquio-cutáneas son patologías frecuentes en todas las especies ícticas cultivadas en Europa y pueden ser debidas a protozoos, helmintos o crustáceos.

Las truchas y los salmones mantenidos en agua dulce pueden estar afectados principalmente por protozoos flagelados (*Ichthyobodo necator*), protozoos ciliados (*Ichthyophthirius multifiliis*) y monogéneos vivíparos (*Gyrodactylus salaris*). COSTIOSIS E ICTIOFTIRIOSIS pueden encontrarse bien a lo largo de las branquias, donde provocan una grave proliferación del epitelio con una fuerte mortalidad en los jóvenes, o bien en la superficie cutánea; la GIRODACTILOSIS a su vez se encuentra en los salmónidos solo en la piel.

En Noruega y en el Reino Unido una problemá importante en el cultivo marino del salmón es la CALIGOIDOSIS causada por *Lepeophtheirus salmonis*; se trata de un crustáceo copépodo, conocido como piojo del salmón, que provoca úlceras muy extendidas particularmente a lo largo del cráneo. La terapia es a base de baños de esteres fosfóricos (*Trichlorphon*), pero existen dificultades para realizar estos tratamientos en jaulas flotantes.

En las aguilas criadas en Italia las ectoparasitosis son debidas principalmente a protozoos ciliados (*Ichthyophthirius multifiliis* y *Trichodina* sp.) y a monogéneos ovíparos (*Dactylogyrus* sp.); éstos últimos son localizados exclusivamente en las branquias y determinan una irritación con la consiguiente aparición de una Enfermedad Branquial.

En la carpa las ectoparasitosis más típicas son protozoosis (Costiosis, Ictioftiriosis, Chilondoniosis por *Chilodonella cyprini*, Tricodiniosis), helmintosis (Girodactilosis y Dactilosirosis) crustaceosis (Ergasilosis por *Ergasilus* sp. , Lerneosis por *Lernaea cyprinacea*, Argulosis por *Argulus foliaceus*).

Las más frecuentes ectoparasitosis de los peces marinos de agua caliente son Oodinirosis, Criptocarionosis, Tricodiniosis y la Diplectanosis.

La OODINIOSIS es causada por un protozoo dinoflagelado, el *Amyloodinium ocellatum*, que parasita las branquias de dorada y lubina, determinando fuertes mortalidades tras la grave afección branquial que se instaura. Representa un problema serio en todos los países mediterraneos, desde Israel hasta España; como terapia se emplea el sulfato de cobre, en baño corto (1-2 ppm/1 h) o en baño permanente (0,25 ppm), pero hay recaídas frecuentes.

La CRIPTOCARIONOSIS, por CRYPTO-CARYON irritans, ha sido un problema particularmente importante en el cultivo de dorada en Israel; esta enfermedad no es otro que el equivalente marino de la Ictioftiosis:afecta a la piel y las branquias que presentan puntos blancos.

Criptocarionosis y Tricodiniosis pueden ser curadas mediante baños cortos de formol (150 ppm/1 h), pero a menudo es necesario insistir y repetir éstos tratamientos varias veces.

La DIPLECTANOSIS es una patología branquial de la lubina que se encuentra presente en Italia y que provoca mortalidad, en cuanto son reducidos los intercambios respiratorios ésta parasitosis, causada por Diplectanum aequans, un monogeneo dactilogirido, puede ser controlada con baños de formol o de esteres fosfóricos (Triclorphon : baño corto 5 ppm/30 minutos, baño permanente 0,30 ppm).

Un dato a considerar es que las parasitosis branquiocutaneas causan problemas cuando las densidades de cultivo son muy elevadas y cuando no se efectúan adecuados tratamientos preventivos con sulfato de cobre y formol; por lo tanto son índice de una conducción por parte del piscicultor que no es la apropiada.

ENFERMEDADES NO CONTAGIOSAS

Además de las enfermedades infecciosas y parasitarias los peces cultivados pueden presentar enfermedades no contagiosas, como son las causadas por el medio ambiente o por la alimentación.

En el primer caso se habla de Patologías ambientales y la más típica es la ENFERMEDAD DE LA BURBUJA DE GAS, eventualidad común en particular en los centros de alevinaje de salmónidos y de peces marinos, donde se utilizan aguas de pozo, o bien, aguas sometidas a presión elevada antes de ser distribuidas en los estanques. Dichas aguas están generalmente hipersaturadas en nitrógeno (N) y , según el grado de hipersaturación, provocan la aparición de la enfermedad en forma embólica o exantemática. De todas formas esta sintomatología puede prevenirse desgasificando oportunamente el agua antes de su utilización.

Entre las Patologías dietéticas hay que citar la DEGENERACION LIPOIDEA HEPATICA, enfermedad frecuente en el pasado en varios países europeos, especialmente en aquellos con clima caluroso y húmedo; en Italia ha sido diagnosticada en truchas, anguila y también peces marinos, después del suministro de alimentos conteniendo grasas enrancidas; ésta eventualidad puede verificarse utilizando piensos hechos con harina de pescado rancia o piensos que no estén suficientemente estabilizados, así como empleando pescado fresco mal conservado. Actualmente la Degeneración Lipoidea Hepática no se presenta en los países desarrollados, ya que las materias primas empleadas en los piensos comerciales para peces

son controladas en laboratorio antes de ser utilizadas. Se trata de una patología fácilmente diagnosticable, y que se caracteriza por anemia, ascitis, y, patognomónico, hígado de color amarillo-ocre. Histológicamente, mediante coloración con Sudan III, se puede observar acúmulo, dentro de los hepatocitos, de ceroides, una lipofuscina en estadio precoz de oxidación.

CONCLUSIONES

Al final de esta reseña de las principales enfermedades que se presentan en la piscicultura europea, se puede deducir que la situación sanitaria en nuestro continente no es una de las mejores. En particular hay sectores, como la truchicultura y la carpicultura, donde hay enfermedades muy peligrosas, que determinan pérdidas elevadas: es el caso de las Rhabdovirus (SHV, NHI, VPC), que están presentes en casi todos los países productores de truchas y de carpas y que se pueden difundir aun más en el ámbito de la comunidad Europea. Por lo que concierne a la maricultura Europea, la situación está sin duda mejor que la de la piscicultura continental, no existiendo en dorada, lubina y rodaballo patología vírica grave; además las enfermedades bacterianas pueden ser bastante bien controladas con quimioterápicos y antibióticos o con la vacunación, y las enfermedades parasitarias mediante baños medicados. Para que la situación sanitaria no empeore en este sector se deberá tomar estrictas medidas de profilaxis y mantener niveles de densidad idóneos en las piscifactorías, para no incrementar los riesgos patológicos.

RESUMEN

En el presente trabajo los autores analizan la situación de la piscicultura en Europa en 1991 y tratan las enfermedades que actualmente causan mayores problemas en el cultivo de los salmónidos (trucha arco iris, salmón atlántico), de los ciprinidos (carpa), de la anguila y de los peces marinos de elevado valor comercial (dorada, lubina, rodaballo).

De los datos expuestos, se puede deducir que en la truchicultura europea están presentes septicemias víricas responsables de pérdidas elevadas (SHV, NHI), septicemias bacterianas que crean dificultades terapéuticas (Renibacteriosis, Forunculosis) y parasitosis sistémicas en las cuales no hay todavía una cura eficaz (Enfermedad Proliferativa Renal).

Se observa además que las carpas producidas en el Este Europeo están afectadas por septicemias víricas graves (VPC), mientras que en las anguilas cultivadas en Italia las ectoparasitosis representan la patología más importante, junto a la Peste Roja.

En fin, los problemas ictiopatológicos que se encuentran en la maricultura de agua caliente practicada en los países mediterráneos son las septicemias bacterianas (Vibriosis, Pasteurellosis) y las ectoparasitosis (principalmente Oodinirosis).

S U M M A R Y

MAIN ICHTHYOPATHOLOGICAL PROBLEMS IN EUROPEAN FISHFARMING

In this work authors consider the status of European fishfarming during 1991 and discuss about the diseases actually causing problems in salmonids (rainbow trout, Atlantic salmon), cyprinids (carp), eel and marine fishes of considerable commercial value (gilthead sea bream, sea bass, turbot).

From the reported data, it is possible to deduce how in European troutfarming are present viral septicemias responsible of high losses (VHS, IHN), bacterial septicemias of difficult control (BKD, Furunculosis) and systemic parasitoses for which there is still no valid therapy (PKD).

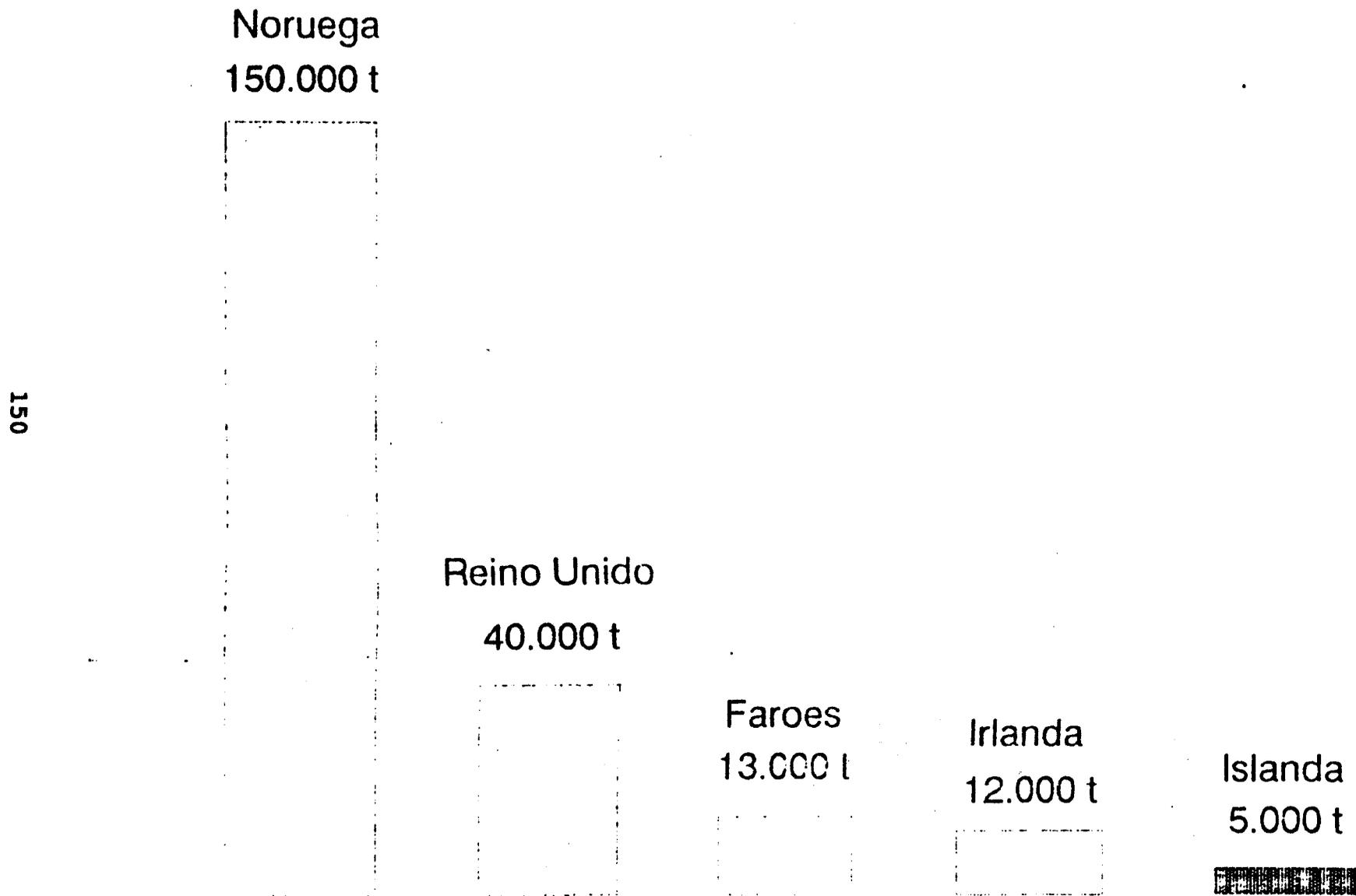
Carp reared in Eastern Europe are also affected by serious viral septicemias (SVC), whereas in eels cultivated in Italy external parasitoses represent the most important pathology, together with Red Pest.

Finally, in warm water seafarming practiced in Mediterranean countries, there may be ichthyopathological problems due to bacterial septicemias (Vibriosis, Pasteurellosis) and external parasitoses (mainly Oodiniasis).

B I B L I O G R A F I A

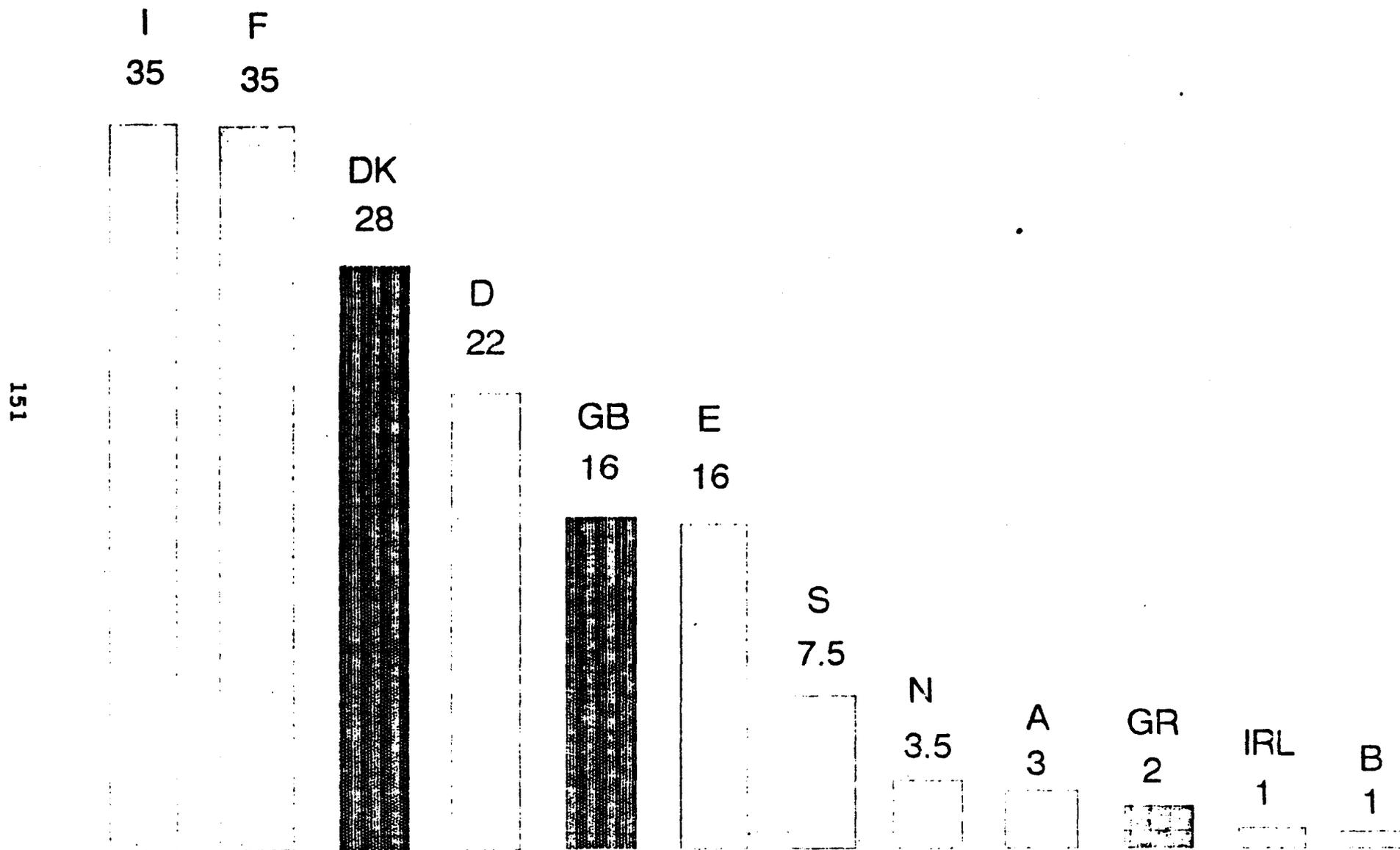
- AUSTIN B., AUSTIN D.A. (1986) -
Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish
(Ellis Horwood, Chichester).
- DE KINKELIN P., MICHEL CH., GHITTINO P. (1985) -
Precis de Pathologie des Poissons (INRA-OIE, Paris).
- GHITTINO P. (1985) -
Tecnologia e Patologia in Acquacoltura - Vol. II - Patologia
(Bono, Torino).
- GHITTINO P. (1989) -
Nutrition and fish diseases (in Halver J.E., Fish Nutrition -
Second Edition; Academic Press, San Diego: 681-713).
- ROBERTS R.J. (1989) -
Fish Pathology - Second edition (Baillière Tindall, London).

TABLA 1 :



Producción de salmón en los países del norte de Europa en 1991 (toneladas).

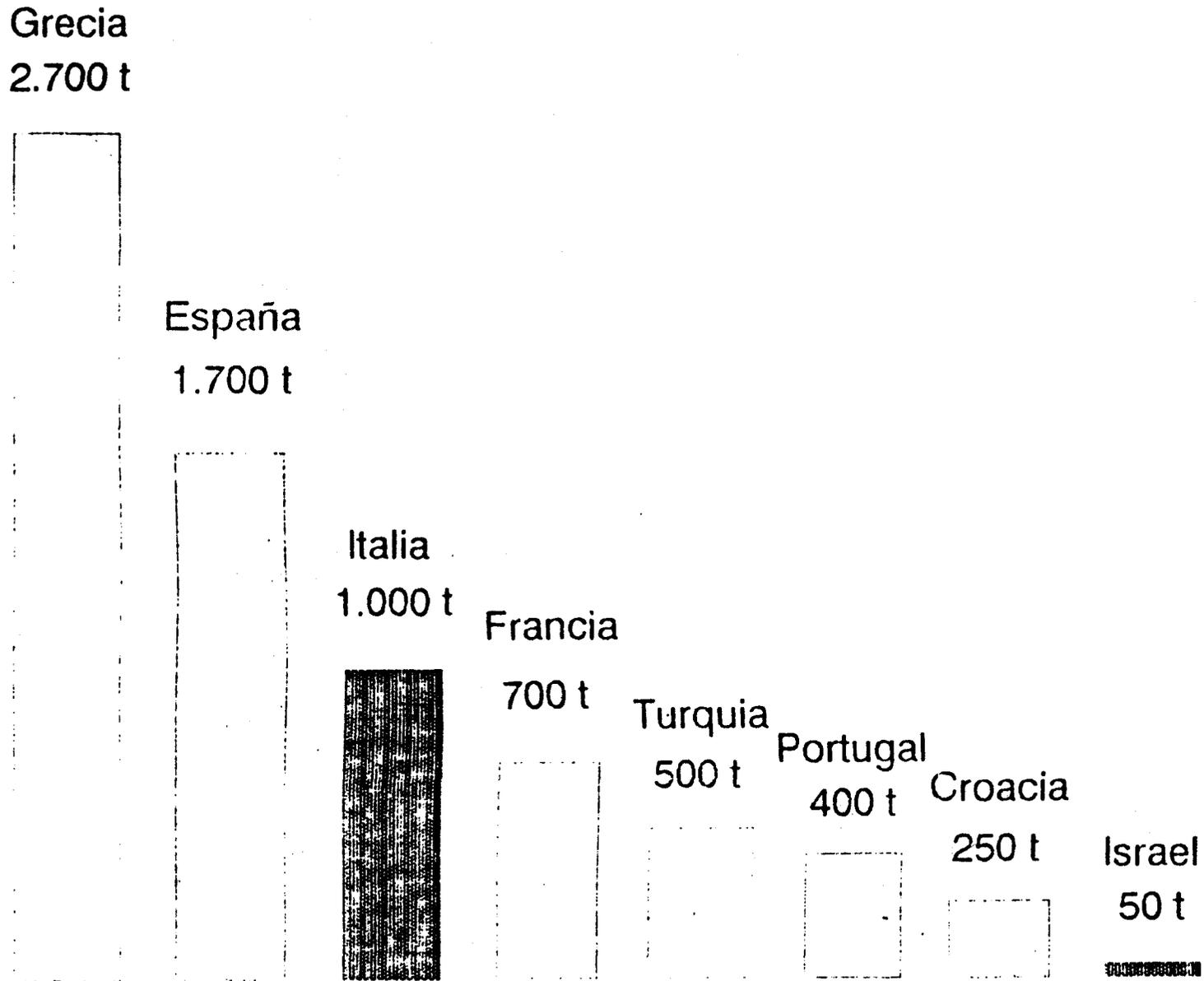
TABLA 2:



Producción de truchas en Europa en 1991 (x 1.000 toneladas).

TABLA 3 :

152



Producción en intensivo de dorada y lubina en los países mediterraneos en 1991 (toneladas).

**CONTROL DE LA REPRODUCCION DE
TELEOSTEOS EN ACUICULTURA**

María Soledad Izquierdo López

**Departamento de Biología
Facultad de Ciencias del Mar
Universidad de Las Palmas de G.C.**

1.- INTRODUCCIÓN

En Acuicultura el desarrollo de los cultivos piscícolas depende en gran medida la capacidad que tengamos para controlar diversos aspectos del ciclo reproductor en los peces. En la práctica surgen una serie de problemas relacionados con la reproducción, especialmente en lo que se refiere a los cultivos de tipo intensivo. Los problemas principales son:

1.-La ausencia de ovulación y puesta en condiciones de confinamiento. En muchas especies de peces con importancia comercial tales como la dorada (Sparus aurata), la lubina (Dicentrarchus labrax) ó el mújol (Muqil cephalus) [y otras especies de agua dulce como el pez gato Ictalurus punctatus] la oogenésis no es completada cuando el animal se mantiene en cautividad bajo ciertas condiciones ambientales. Los oocitos se desarrollan hasta los últimos estadios de la vitelogénesis y a continuación sufren una degeneración rápida (atresia). Al no madurar los oocitos no hay ovulación y por lo tanto se aborta la puesta.

2.-Espermatogénesis debilitada. En algunos peces como la lubina en los que la espermiación en cautividad es muy limitada y frecuentemente insuficiente.

3.-Puesta excesiva e indeseable. El caso contrario a los anteriores se presenta en aquellas especies que ponen sin dificultad en cautividad y en los que las óptimas condiciones del cultivo inducen una puesta excesiva. Este hecho se suele encontrar en las especies de Tilapia en las que una puesta excesivamente abundante ocasiona un retraso en el crecimiento y da lugar a una cosecha pobre de peces de talla comercial. Es también el caso de especies alóctonas introducidas por el hombre y cuya propagación incontrolada se pretende evitar. O de aquellos peces herbívoros (Grass Carp) ó carnívoros (lubinas) que son introducidos en los cultivos para controlar la proliferación indeseada de plantas ú otros organismos acuáticos.

4.-Estacionalidad de las puestas. En la mayoría de las especies cultivadas en la zona templada tienen ciclos reproductores limitados a una época del año determinada. En el caso de la lubina, salmónidos y mújolla puesta es puntual y en el de la dorada, tilapia y peces gato la puesta se limita a unos pocos días dentro de una temporada determinada, pero sería deseable disponer de huevos y larvas durante todo el año.

5.-Puesta asincrónica. Por ejemplo en salmónidos en los que se consigue la puesta espontánea cada hembra ovula de acuerdo con su biorritmo individual, pero bajo el punto de vista práctico nos interesa que la puesta sea lo más sincronizada posible.

6.-Problemas relacionados con la diferenciación sexual. En Tilapia puede ser interesante la obtención se prefiere los machos porque crecen más rápido, mientras que en salmónidos ó anguila es la hembra la que tiene una tasa de crecimiento mayor.

7.-Muerte tras la reproducción. Es típico de los salmónidos del género Oncorhynchus, si se evita la maduración de las gónadas se puede alargar el periodo de crecimiento y cosechar peces mayores, así como prevenir las migraciones anadrómas de los salmónidos con las incómodas modificaciones en las técnicas de cultivo que estas conllevan.

Comprendiendo las interrelaciones entre genoma, medio ambiente y gametogénesis se pueden desarrollar soluciones (terapias) a los problemas mencionados anteriormente. En el tema que vamos a ver a continuación revisaremos en primer lugar la relación entre el medio ambiente y la gametogénesis, los aspectos hormonales relacionados con la determinación del sexo y la diferenciación sexual y por último la regulación hormonal de la gametogénesis.

2.- REGULACIÓN FISIOLÓGICA DE LA REPRODUCCIÓN

2.1.- Glándulas neuroendocrinas que regulan la reproducción.

La glándula pineal

Señales medioambientales tales como temperatura y fotoperíodo son traducidas a cambios hormonales que a su vez regulan la gametogénesis. La glándula pineal en los peces funciona como órgano fotorreceptor y como glándula endocrina. Posee células fotorreceptoras con un pigmento fotolábil que se activa durante la obscuridad dando lugar a trenes de impulsos originados por cambios de potencial de membrana. También es secretora indolaminas tales como la serotonina y la melatonina también llamada hormona pineal.

La información fotoperiódica puede ser convertida gracias a las células fotorreceptoras de la pineal en dos clases de mensajes que tienen un patrón circadiano: 1) la información nerviosa que es remitida a los centros del cerebro y 2) los mensajes hormonales a través de la secreción de una o varias neurohormonas liberadas al torrente circulatorio y posiblemente al líquido cerebro-espinal. En conclusión el órgano pineal en peces parece ser el responsable del control del fotoperíodo en la actividad de las gónadas, mediante las variaciones en los cambios circadianos de melatonina y la regulación de los ciclos diarios de liberación de gonadotropina.

El hipotálamo.

Como sucede en otros vertebrados, en respuesta a cambios en el medio externo o interno el hipotálamo de los teleósteos secreta pequeñas hormonas de naturaleza peptídica que se denominan hormonas liberadoras o inhibidoras. Estos péptidos atraviesan la corta distancia que separa el hipotálamo de la adenohipófisis, situada en la parte ventral del cerebro, justo por encima de la boca del pez, para controlar la actividad de las células gonadotrópicas de la adenohipófisis. Así, la secreción

de gonadotropina en peces teleósteos (carpa, anguila, trucha, salmón y tilapia) es regulada por dos factores uno estimulante la GnRH y un factor inhibidor (GRIF) que seguramente es la dopamina. Recientemente se aisló del cerebro de salmón una molécula que se denomina Hormona Liberadora de Gonadotropina ó sGnRH y se identificó como undecapeptido semejante a la LHRH de mamíferos pero distinta en dos de sus aminoácidos, aunque su actividad biológica es semejante. Al parecer hay otra segunda hormona liberadora que todavía no ha sido caracterizada. Existe una gran similitud estructural entre las GnRH de varias especies de teleósteos entre ellas mujol, trucha y arenque, lo cual corrobora la poca especificidad de los factores liberadores de las gonadotropinas.

2.2.-Soporte hormonal.

Adenohipófisis. Gonadotropina.

Las células gonadotrópicas de la adenohipófisis secretan la gonadotropina, que pasa al torrente sanguíneo de los peces donde controlan los cambios hormonales y estructurales que suceden en testículos y ovarios. La gonadotropina interviene en numerables procesos de la reproducción en los peces: principalmente en la vitelogenénesis, la maduración de los ovocitos y la ovulación, producción de hormonas esteroideas. Hay algunas evidencias de que en peces existe más de una GtH.

Esteroides sexuales.

El lugar principal de síntesis de esteroides en peces son las gónadas. (Capas intersticial y granulosa y teca de los ovocitos y células de Leydig ó Sertoli en los testículos).

Hembra:

Estrógenos. El estradiol 17 β estimula la vitelogenénesis exógena, induciendo la síntesis hepática de la fosfolipoproteína vitelogenina.

Andrógenos. Testosterona tiene un efecto estimulador sobre la liberación de gonadotropina.

Progestágenos. 17 α -hidroxi 20 β -dihidroprogesterona (MIS). Induce la maduración de los ovocitos y está asociada con el comportamiento reproductor durante el cortejo en hembras.

Macho:

Andrógenos: 11 cetotestosterona importante durante la espermiación y la migración del esperma a las vías deferentes.

Progestágenos. MIS controla la composición iónica del fluido semina y está asociada con el comportamiento reproductor durante el cortejo en machos.

Conjugados esteroideos. Glucurónidos, pueden actuar como feromonas.

En general las hormonas esteroideas sexuales ejercen un efecto de feedback negativo sobre la producción de gonadotropina en los ejemplares maduros y un efecto de feedback positivo en los ejemplares inmaduros.

Prostaglandinas. Están implicadas en la ovulación en los peces, seguramente por una estimulación de las contracciones de los folículos. También están implicadas en control del comportamiento sexual e incluso actúan como feromonas en la hembra.

3.- CONTROL DE LA REPRODUCCIÓN POR PARÁMETROS MEDIOAMBIENTALES

En la mayoría de los stocks salvajes de peces la puesta se ve limitada a una determinada época del año. Los factores ambientales sitúan esta época de puesta en un periodo que ofrece las mejores condiciones para la supervivencia de larvas y alevines. En la mayoría de los peces las puestas se realizan en el medio natural en áreas ecológicas muy bien definidas. Algunos peces realizan enormes esfuerzos para llegar a esas áreas. Las características ambientales específicas de las zonas de puesta provocan la maduración final de los ovocitos, la ovulación y la puesta. Por ello el control medioambiental de la gametogénesis conlleva tanto efectos a largo plazo sobre el proceso completo de la gametogénesis como efectos concretos sobre la espermiación, ovulación y la puesta. Al mantener los reproductores en cautividad evitamos que encuentren las condiciones óptimas necesarias para la reproducción. Esta es la causa principal de la falta de ovulación y puesta en las hembras de las granjas de cultivos. Logicamente manipulando las condiciones ambientales del stock de reproductores podremos tanto inducir la ovulación y la puesta como modificar la época de puesta de una especie determinada.

3.1.-Inducción a la ovulación y la puesta.

En las especies que ponen en verano como el pez dorado, la carpa común y la tenca, la elevación de la temperatura induce la ovulación y la puesta.

En las especies que ponen en invierno como la lubina, la puesta es inducida por la elevación suave de las bajas temperaturas.

En algunas especies como los ciprínidos es el tipo de substrato el que induce la puesta, por lo que se suelen introducir plantas acuáticas ó incluso de plástico para obtener los huevos.

También la presencia de del sexo opuesto es un factor que desencadena la puesta, en aquellas especies en las que hay un cortejo previo ala misma tales como la dorada. En ausencia de machos fluyentes las hembras ovulan pero no llegan a poner. En estos casos la puesta está estimulada por dos formonas distintas liberadas al medio por la hembra.

En muchas especies tropicales y subtropicales las lluvias torrenciales sincronizan las puestas, probablemente por los cambios en la composición química del agua. Por ello se puede inducir la puesta imitando las condiciones que se producen durante la época de lluvia tales como subir el nivel de agua en los estanques, llenar estanques con agua dulce, etc., Este método dá muy buen resultado con las carpas, y los peces gato.

Otro factor que desencadena la puesta en algunas especies es la presencia de alimento adecuado.

3.2.-Control de la época de puesta.

En las zonas templadas los factores ambientales que más afectan al ciclo reproductor son temperatura y fotoperiodo.

En salmónidos y peces marinos de aguas frías como el rodaballo, el factor ambiental que más influye en el ciclo

reproductor es el fotoperiodo, mientras que la temperatura tiene un efecto limitado. Una disminución de uno o dos grados retrasa la puesta durante 3 meses en el caso de la trucha arcoiris. Pero sólo las granjas que tienen acceso a fuentes de agua fría naturales, tales como manantiales, ríos de aguas más frías, corrientes marinas frías o zonas de upwelling pueden utilizar este sistema, pues en general el enfriar el agua en las granjas es un proceso excesivamente caro. Además un descenso repentino de las temperaturas puede provocar una reabsorción de los huevos (atresia folicular?).

Más utilizado es el uso de regímenes adecuados de fotoperiodo. La época de puesta de mayoría de los salmónidos en el hemisferio norte es en otoño e invierno cuando la duración del día va disminuyendo ó los días son ya cortos. En la trucha se puede modificar la duración de un ciclo reproductor variando la tasa de cambio del fotoperiodo en periodos más largos o más cortos. Aunque los huevos de ciclos más cortos son menores y los de ciclos más largos son mayores que los de un ciclo natural, no hay efectos en la calidad de los huevos. Efectos similares se obtienen utilizando combinaciones de días cortos y largos.

En peces marinos de aguas cálidas como el mújol, la dorada ó la lubina, la puesta se realiza durante el invierno y la gametogénesis es estimulada disminuyendo la duración del día y controlando la temperatura.

En lubina la puesta se consigue retrasar manteniendo los peces en el día más largo del año durante 6 meses. En dorada la puesta se controla manteniendo el fotoperiodo en el día más largo del año para después ir disminuyéndolo, así se puede retrasar la puesta 6 meses y obtener huevos durante todo el año.

También se puede obtener un desfase con respecto a la puesta natural reproduciendo las condiciones térmicas y de fotoperiodo de los ciclos naturales en 10 meses, en lugar de 12. Una vez conseguido el desfase se mantienen los ciclos desfasados pero de 12 meses.

En el caso de la lubina también es posible retrasar manteniendo los reproductores en agua salobre y transfiriéndolos de nuevo a agua de mar cuando se va a realizar la puesta.

En peces de aguas cálidas como los ciprínidos la temperatura es el factor ambiental predominante aunque el fotoperiodo también actúa como modulador de la gametogénesis. Por ejemplo en la carpa la época de puesta se limita al periodo durante el cual la temperatura va aumentando, mientras que cuando la temperatura decrece el desarrollo del ovocito se para.

Temperatura y fotoperiodo apenas varían en las regiones tropicales. Sin embargo la mayoría de las especies tropicales presentan épocas de puesta definidas ó al menos picos de puesta. En estos casos la gametogénesis es sincronizada por factores ambientales ligados a la época de fuertes lluvias durante los monzones. Este es el caso del pez gato Africano, en el que la época de puesta coincide con el inicio de la estación lluviosa. Cuando estos peces son trasladados a zonas templadas fotoperiodo y temperaturas constantes adecuadas provocan la puesta durante todo el año.

Lógicamente una vez que la época de puesta ha sido modificada mediante el control del fotoperiodo el pez debe mantenerse en condiciones controladas de fotoperiodo o volverá a su ciclo normal en condiciones naturales. Todas estas manipulaciones del fotoperiodo se realizan en tanques cubiertos

en completa oscuridad y provistos de tubos fluorescentes que son ajustados semanalmente mediante temporizadores.

El control de la puesta a través de los parámetros ambientales es particularmente interesante para peces como el rodaballo, la lubina y la dorada, porque al presentar una alta tasa de fecundidad sólo es necesario mantener un número relativamente pequeño de reproductores. Utilizando el control del fotoperiodo es posible obtener más de una época de puesta al año, aunque la respuesta de los peces es muy variable. Estos métodos son en general baratos y fáciles de instalar y según algunos autores más efectivos y con menos efectos secundarios que las inyecciones hormonales.

Algunos autores han sugerido incluso el control de la reproducción mediante la administración de melatonina, pues como hemos visto antes es la molécula que se encarga de traducir la información acerca de la situación del fotoperiodo que recoge la glándula pineal y los cambios circadianos que se producen en los niveles en suero de esta hormona se correlacionan con los de gonadotropina.

4.- CONTROL HORMONAL DE LA REPRODUCCIÓN

4.1.-Inducción de la maduración de los oocitos, ovulación y puesta.

Como ya hemos mencionado la ausencia de maduración de los ovocitos, ovulación y puesta, así como la puesta desincronizada, caracteriza a muchas especies de importancia comercial cuando son mantenidas en cautividad. La búsqueda de señales ambientales que son las inductoras primarias de la maduración, ovulación y puesta contribuirá al control y manipulación de todos esos procesos. En la actualidad las prácticas de inducción hormonal son muy frecuentes. Varias hormonas del eje hipotálamo-epífisis-gónadas han sido utilizadas para inducir la ovulación y la puesta.

4.1.1.-Gonadotropinas

La inducción de la ovulación y la puesta mediatizada por la gonadotropina ha sido experimentada en peces por tres caminos distintos:

1.-Aplicación de extractos de pituitaria. Las pituitarias de peces sexualmente maduros, ricas en gonadotropina, han sido utilizadas para inducir la puesta en numerosas especies. Esta técnica, conocida como hipofisación, fué introducida originalmente por Houssay en 1931 y es utilizada en multitud de granjas de peces comerciales. Posteriormente la introducción de técnicas para determinar el contenido en GtH confirmaron el aumento en GtH pituitaria durante la madurez sexual y la aparición de un pico de gonadotropina en los peces inyectados con extractos de pituitaria. En la mayoría de los casos se administran dos inyecciones, una una pequeña dosis inicial y una segunda que utiliza el resto de extracto.

2.-Aplicación de gonadotropinas de peces purificadas. La purificación de gonadotropinas de peces ha permitido su utilización para inducir la ovulación y la puesta. Sin embargo, hasta la fecha las gonadotropinas en peces han sido producidas en

cantidades muy pequeñas. Sólo una preparación de gonadotropina parcialmente purificada de salmon del Pacífico, la SG-G100, ha sido producida en grandes cantidades. La SG-G100 ha sido inyectada para inducir la puesta y la maduración en salmones del Pacífico, lenguado japonés, mújol, pez gato, dorado y otras especies. En la actualidad no son utilizadas a nivel comercial debido al elevado coste de su preparación.

3.-Aplicación de gonadotropinas de mamíferos. La hormona luteinizante y la Gonadotropina coriónica humana son inductores efectivos de la maduración y ovulación de los peces. La GCH ha sido ampliamente utilizada en las granjas de peces por encontrarse con facilidad preparaciones de GCH a precios asequibles. Se administran una o dos dosis en distintas cantidades según la especie. Ej. Lubina: 800 y 1000 UI/Kg de GCH (ClNa 6/1 000) en dos inyecciones intramusculares con 6 horas de diferencia. Dorada: la inyección de HCG es efectiva en la inducción de la ovulación pero para que la puesta tenga lugar es necesario el masaje abdominal. Generalmente dos dosis de 100 a 300 UI/Kg.

La utilización de gonadotropina para inducir la puesta tiene varias ventajas. Principalmente los extractos de pituitaria y las inyecciones de CGH son fáciles de utilizar. Sin embargo han surgido algunos problemas: Las gonadotropinas de peces son de una alta especificidad específica: los extractos de pituitaria o las gonadotropinas purificadas son inactivas o muy poco eficaces en algunas especies. GCH es muy activa para algunas especies pero inefectiva en otras, en algunos casos como en la dorada y la lubina el número de hembras que reacciona positivamente es de sólo el 50 %. Además aquellas que responden positivamente al año siguiente no responden pues han producido anticuerpos contra una molécula que le es extraña: la GCH. Este fenómeno representa un obstáculo a la hora de realizar una selección genética de los reproductores. El contenido en gonadotropina del extracto de pituitaria es difícil de cuantificar, lo que complica la estandarización de las dosis que deben ser inyectadas. También, además de gonadotropina, los peces inyectados con extractos reciben una mezcla de otras hormonas hipofisarias que pueden provocar efectos secundarios indeseables en la gametogénesis u otras funciones y el empleo de gonadotropinas específicas purificadas todavía requiere unos costes elevados. Además el número de hembras que reaccionan positiva

Estudios recientes han señalado que en los peces que no ovulan y ponen espontáneamente en cautividad hay una acumulación de gonadotropina en la hipófisis, por lo que los esfuerzos se han encaminado al desarrollo de las técnicas de inducción basadas en la estimulación de la liberación de la propia gonadotropina del pez estimulado.

4.1.2.-Esteroides

Como los esteroides son los inductores naturales de la maduración de los ovocitos, han sido incluidos en los protocolos de inducción hormonal en algunas ocasiones. En salmónidos, la inyección de la progestina 17α -hydroxy, 20β -dihidroprogesterona induce la maduración y la ovulación en las hembras con oocitos que están muy cercanos a la maduración. En estadios más precoces del desarrollo la inyección de progestina sólo induce la maduración de los ovocitos. Pero una dosis anterior de extracto

de pituitaria o de gonadotropina mejora la tasa de ovulación en las hembras inyectadas con progestina. Por lo tanto parece que la 17α -hysroxi, 20β -dihidroxi progesterona puede inducir la maduración de los ovocitos y es sólo seguida por la ovulación en peces en los que los niveles de gonadotropina endógena ya han empezado a aumentar. Pero si el aumento de gonaotropina preovulatorio no ha comenzado, es necesario adminstrar una pequeña cantidad de gonadotropina exógena para que la progesterona sea efectiva en en inducir la maduración de los ovocitos seguida por la ovulación. En la practica los resultados de la inducción mediante progestina solamente no son prometedores. Pero si podría ser incluida en un protocolo de inducción hormonal para disminuir la cantidad total de gonadotropina necesaria para la inducción.

Se han utilizado otros esteroides en la regulación de la maduración de los ovocitos, pero unicamente los corticosteroides solos o en combinación con las gonadotropinas inducen la ovulación y la puesta. Además las dosis necesarias eran demasiado elevadas. La utilización de esteroides exceptuando la progestina no ha despertado mayor interés para los acuicultores.

4.1.3.-Prostaglandinas.

Las prostaglandinas pueden tener una misión importante en el desencadenamiento de la ovulación y en la regulación y sincronización del comportamiento reproductor. Su utilización como inductores de la puesta en combinación con un factor promotor de la maduración como por ejemplo las prostaglandinas o MIS puede ser importante en Acucultura aunque no ha sido investigado hasta el presente.

4.1.4.-Antiestrógenos.

Los esteroides gonadales, principalmente los estrógenos, tienen un efecto negativo en la liberación de gonadotropina en hembras sexualmente maduras. Intentando inducir la ovulación y la puesta a través de la liberación dela propia gonadotropina del pez, se ha tratado de evitar este efecto de feedback negativo mediante la administración de antiestrógenos. Los antiestrógenos que se han utilizado principalmente han sido citrato de clomifeno y tamoxifen. Estos compuestos compiten con los estrógenos por los sitios receptores de estrógenos, evitando las respuestas biológicas de los mismos. La administración de citrato de clomifeno ó tamoxifen, provocó el aumento en los niveles de gonadotropina en plasma en la carpa, y pez dorado, e indujo la ovulación en estos peces así como en pez gato, salmón y otras especies.

Si la persistencia de el efecto negativo de los estrógenos es importante en la regulación de la liberación de la gonadotropina ó es la responsable de la inhibición de la liberación de gonadotropina en los peces de cultivo son hipótesis que deben ser investigadas antes de poder aplicar a nivel de producción el uso de antiestrógenos como potenciadores de la liberación de gonadotropina.

4.1.5.-GnRH y GRIF

Como ya hemos visto la liberación de gonadotropina en peces estimula la ovulación de los ovocitos, la ovulación y la puesta. Cada vez hay más evidencias de que la ausencia de liberación de

gonadotropina es la razón por la que los peces no ovulan y ponen en cautividad.

El contenido de gonadotropina en la adenohipófisis de las hembras de *Sparus aurata* mantenidas en cultivos aumenta a medida que se acerca la época de puesta. Sin embargo los niveles de gonadotropina en plasma no sufren ninguna modificación y los ovocitos vitelogénicos sufren una atresia. La inyección de la hormona liberadora de la gonadotropina de mamíferos en las hembras de *Sparus aurata* con ovocitos en estadios finales de la vitelogénesis induce un incremento repentino en los niveles plasmáticos de GtH que es seguido de la maduración y ovulación. Es decir, en las hembras de dorada la gonadotropina se acumula en la glándula pituitaria pero no es liberada al torrente circulatorio no ser que sea inyectada con la Hormona liberadora de GtH. Este fallo en la liberación de GtH es probablemente común a todas aquellas especies que no ovulan ni ponen espontáneamente en cautividad. Incluso en aquellos que sí ponen en cautividad, la inyección de GnRH es utilizada para adelantar ó sincronizar las puestas. La utilización de Hormona liberadora de la GtH tiene varias ventajas sobre las gonadotropina a la hora de inducir las puestas:

- 1.-La GnRH y otras sustancias análogas estimulan la liberación de la gonadotropina secretada de forma natural por el propio organismo.

- 2.-Pueden ser fácilmente sintetizadas y obtenidas en forma pura.

- 3.-Presentan un grado bajo de especificidad específica. Las GnRH de mamíferos pueden ser utilizadas con éxito en peces.

- 4.-A ser pequeños péptidos no dan lugar a reacciones inmunológicas.

- 5.-En la práctica se requieren dosis pequeñas, del orden de microgramos por kilo de pez, lo cual es económicamente ventajoso.

La inducción a la puesta mediante GnRH y sus análogos se ha extendido recientemente a muchos peces de importancia comercial.

Algunas de las características más importantes de esta técnica son:

- 1.-En una gran cantidad de especies se ha logrado inducir la ovulación y la puesta con análogos de la LHRH de mamíferos. La GnRH de teleósteos (sGnRH) sólo difiere de la LHRH en dos aminoácidos. En 1984 MacKenzie et al., demostraron que la sGnRH es equipotente a la LHRH estimulando la liberación de GnH in vitro. Los mismos resultados se obtuvieron para la dorada in vitro e in vivo, de lo que se desprende que no hay diferencia en estas dos moléculas en sus afinidades por los receptores a nivel hipofisiario o en su resistencia a la degradación enzimática. Los trabajos de Peter et al., concluyen que los receptores hipofisiarios de GnRH en los peces son menos específicos que los de mamíferos. Zohar et al., demostraron que sGnRH y LHRH son degradadas con la misma rapidez por las peptidasas ligadas al citosol de la pituitaria, hígado y riñón de *Sparus aurata*. Los principales sitios de degradación eran los enlaces Tyr5-Gly6 y Pro9-Gly10NH2. La sustitución del aminoácido GLY en sGnRH y LHRH por aminoácidos dextrogiros, resultaba en una actividad biológica in vitro semejante, pero eran mucho más activas (superactivas) in vivo que sGnRH y LHRH. Esta biopotencia de los análogos de la sGnRH in vivo parece ser debida a una mayor resistencia relativa a la degradación enzimática. Concretamente el factor más importante que determina la biopotencia in vivo de estos

nanopéptidos es la sustitución del D-aminoácido 6. Pero todavía son necesarias posteriores investigaciones para determinar cuáles son los nanopéptidos análogos a la sGnRH más activos para provocar la ovulación y puesta en los peces de cultivo.

2.-Interacción entre GnRH y GRIF en el control de la ovulación.

Debido al control dual de la liberación de la GtH, la eficacia de la acción inductora a la ovulación de la GnRH puede ser dependiente de la acción inhibidora de la de la dopamina, al menos en algunas especies. En estas especies, los análogos de la GnRH aunque son capaces de provocar la liberación de la gonadotropina, no pueden inducir la ovulación. Pero los antagonistas de la dopamina, tales como el pimozide ó el domperidone potencian el efecto de los análogos de la GnRH que inducen la liberación de GtH y la ovulación. Esto sucede en los ciprínidos, pez gato africano y otros peces. Sin embargo, en peces como la lubina, la dorada, el lenguado, el salmón blanco, el mújol, ó el arenque, y en determinadas condiciones ambientales, una pequeña cantidad de GnRH es suficiente para conseguir la puesta sin necesidad de utilizar los antagonistas de los GRIF.

3.- La forma de administrar la GnRH.

Los análogos de la GnRH que son resistentes a la degradación enzimática tienen una vida media bastante prolongada en comparación con las hormonas liberadoras. Sin embargo cuando son inyectados en dosis normales para inducir la ovulación desaparecen rápidamente de la circulación de 30 min a dos horas (dorada) según la especie, provocando un aumento en los niveles de gonadotropina que dura unas 48 horas. Este periodo puede no ser suficiente en el caso de que las hebras no se encuentren ya al ser inyectadas en los estados finales de la vitelogénesis. Más aún en peces con desarrollo ovárico asincrónico, que pueden poner huevos muchas veces sucesivas, una sola inyección de GnRH puede provocar sólo una ovulación parcial como sucede en el caso de la dorada o las lubinas *Dicentrarchus labrax* y *Lates calcarifer*. Las inyecciones múltiples se descartan debido al stress que conllevan en el animal. Por ello se han utilizado ultimamente métodos de administración retardada: bien por pellets que contienen agonistas de LHRH o GnRH rodeadas por colesterol o colesterol celulosa para retardar su liberación al torrente circulatorio, o por implantes con efecto retardado.

La combinación de agonistas de la GnRH de peces que son superactivos, con la liberación retardada de los mismos ofrece la mejor opción para la inducción de la ovulación y la puesta en peces de cultivo. La continua liberación de gonadotropina estimulada por concentraciones mantenidas de GnRH en peces representa una diferencia muy marcada con los mamíferos en los que una continua administración de GnRH inhibe la secreción de gonadotropina, indicando que los peces carecen de el efecto de desensibilización en la respuesta de la adenohipófisis a la administración crónica de GnRH que está presente en mamíferos.

4.2.-Inducción de la espermiación.

En la mayoría de las especies de peces que no ponen en cautividad el fallo en la reproducción está localizado en la hembra. El desarrollo testicular generalmente es completado en cautividad y los machos ponen espontáneamente. En la dorada que es hermafrodita proterándrico, todos los individuos funcionan

primero como machos y luego como hembras. Mientras que en la fase en que son machos la espermiación y la puesta son espontáneas, una vez que se convierten en hembras no siempre ovulan espontáneamente. Pero en algunas especies de peces la espermiación en los machos se inhibe o se ve reducida en condiciones de cautividad. Cuando esto sucede se aplican tratamientos con hormonas tales como: gonadotropinas, esteroides gonadales u hormonas liberadoras de gonadotropina.

ULPGC.Biblioteca Universitaria



798772

VET 597-2 JOR jor

