



Colección Publicaciones Digitales



Manual de procedimiento básico para la cría de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio



Benítez, Jésica
Ficella, Milagros
Mastrángelo, Martina
Palacio, Mauro
Somma, Agustín
Tripoli, Luis

Compiladora: Ferrari Lucrecia

Ferrari, Lucrecia

Manual de procedimiento básico para la cría de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio / Lucrecia Ferrari. - 1a ed. - Luján : EdUnLu, 2017.

Libro digital, PDF - (Publicaciones digitales)

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-3941-20-7

1. Piscicultura. 2. Animales de Laboratorio. 3. Investigación Experimental. I. Título.

CDD 639.8072

*Manual de procedimiento básico para la cría de
Cnesterodon decemmaculatus en laboratorio*

Autores por orden alfabético

Benítez, Jésica

Ficella, Milagros

Mastrángelo, Martina

Somma, Agustín

Palacio, Mauro

Tripoli, Luis

Compiladora: Ferrari Lucrecia.



ÍNDICE

PREFACIO.....	7
OBJETIVO	8
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	8
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	8
DISTRIBUCIÓN.....	8
ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE SU BIOLOGÍA	9
INSTALACIONES Y MANTENIMIENTO	11
NECESIDADES DE PRODUCCIÓN	11
CULTIVOS <i>OUTDOOR</i>	11
CULTIVOS <i>INDOOR</i>	12
ACTIVIDADES DE CAMPO.....	14
RECOLECCIÓN DE ANIMALES SILVESTRES	14
RECOLECCIÓN DE PLANTAS SILVESTRES.....	15
ACTIVIDADES DENTRO DEL LABORATORIO	16
PRIMER MANEJO EN LABORATORIO: ACLIMATACIÓN	16
DISEÑO DEL PLANTEL DE PRODUCCIÓN Y CRÍA.....	20
REPRODUCCIÓN.....	20
ELECCIÓN DE HEMBRAS PREÑADAS.....	21
OBTENCIÓN DE CRÍAS	21
ALIMENTACIÓN.....	23
TIPOS DE ALIMENTOS.....	23
RUTINAS DE TRABAJO	26
RUTINAS DE MANTENIMIENTO DIARIAS:	26

RUTINAS DE MANTENIMIENTO SEMANALES:	26
ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DENTRO DEL LABORATORIO	27
PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS (POEs).....	27
ANEXO 1: PLANTAS SILVESTRES	32
ANEXO 2: SALUD DE LOS PECES	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
AGRADECIMIENTOS	48

*Dedicado al Dr. Sergio E. Gómez, ictiólogo de alma,
que siempre generosa y desinteresadamente ofreció sus
conocimientos a quien lo requiriera.*

PREFACIO

En primer término, debe considerarse que el uso de organismos vivos para experimentación conlleva la obligación de cumplir con las normas de bioética. Una segunda consideración muy valiosa, y que es esencial, es que los organismos de ensayo que se utilicen sean saludables, que su provisión, interna o comercial, esté cubierta a lo largo del año de manera de asegurar su disponibilidad y que su identificación taxonómica no ofrezca dudas. Estas precauciones tienen la finalidad de disminuir la incertidumbre y facilitar la reproducibilidad de los resultados experimentales que se obtengan.

Este manual brinda al lector información necesaria básica para la cría de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio.

Cnesterodon decemmaculatus es un pequeño pez de aguas continentales y distribución neotropical, que se usa frecuentemente en bioensayos tanto de laboratorio como de campo. Es una de las especies recomendadas para la realización de bioensayos de toxicidad por IRAM (2008). En los últimos años se ha incrementado el número de grupos de trabajo que la utilizan en sus investigaciones y frecuentemente se propone como organismo útil para biomonitoreo.

Este manual es una segunda edición del publicado en 2011, en la que se incorpora nueva información y algunas modificaciones resultantes de la experiencia de los últimos 5 años en la cría de esta especie y pretende aportar información de utilidad para facilitar la obtención de los organismos de ensayo a quienes se inician en la experimentación con esta especie y contribuir a normar el cultivo y la producción de *C. decemmaculatus*, con la convicción de que esto ayudará a disminuir la variabilidad de respuestas intra e inter laboratorios.

OBJETIVO

El objetivo de este manual es normar la cría y producción de madrecitas (*Cnesterodon decemmaculatus*) en condiciones estandarizadas de laboratorio para ser utilizadas con fines experimentales.

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Osteichthyes

Clase: Actinopterygii

Orden: Cyprinodontiformes

Familia: Poeciliidae

Genero: *Cnesterodon*

Especie: *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842)

Nombre vulgar: Madrecita de agua

DISTRIBUCIÓN

La distribución de la especie coincide casi en su totalidad con la región Pampeana, la cual se extiende ocupando Argentina, parte de Brasil y Uruguay (Lucinda, 2005). Se encuentra en climas subtropicales con un rango de preferencia térmica de 17 a 21 °C. Es una especie bentopelágica, de agua dulce a salobre (rango de pH: 7,5-8,2; dureza: 0,5-3,9 mmol CaCO₃/L), tolerante a variaciones de salinidad y temperatura (Gómez, 1996) y conductividades entre 55 y 1110 µS/cm.

Tiene una amplia distribución tanto en ríos y arroyos como en ambientes lénticos de la Argentina. Su presencia se ha registrado, entre otros sitios, en el tramo medio e inferior del Río Uruguay y Río Paraná, cuenca alta y media del Río Reconquista y Río Luján, Río de la Plata, Río Salado y Río Limay, Río Suquía, y en los arroyos y lagunas de la provincia de Buenos Aires (Almirón y col 1992; Baigún y col 2002).

Se considera especie no amenazada ya que no se encuentra en la lista roja de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, www.iucn.org, 2016).

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE SU BIOLOGÍA

Se trata de un pez pequeño, vivíparo, con marcada diferenciación sexual. Presenta cuerpo comprimido, boca oblicua, dorso recto o aplanado, ojos grandes, pedúnculo caudal alto y comprimido lateralmente. Los machos presentan una aleta anal modificada en órgano intromitente o gonopodio. Posee gran éxito en su estrategia reproductiva, son de rápido crecimiento y corta vida generacional (Molero y Pisano, 1987). Es una especie microomnívora (Ringuelet y col., 1967).

Los especímenes silvestres poseen coloraciones más oscuras que los de acuario, siempre en tonos plateados, presentan manchas laterales oscuras a lo largo de la línea lateral.

Generalmente, después de una semana en cautiverio muestran una notable transparencia en la zona caudal. Las hembras se caracterizan por un color plateado más brillante que el de los machos. En la figura 1 se observa el aspecto general de tres ejemplares de madrecitas: macho, hembra y juvenil.



Figura 1: Vista lateral de macho y hembra. Juvenil en vista dorsal. Ejemplares provenientes del cultivo de laboratorio.

El rango de tamaño y peso promedio de los adultos criados es de 1.8 a 3.7 cm y 50.1 a 524.1 mg para las hembras y de 1.64 a 2.13 cm y 23.1 a 49.9 mg para los machos^{1 2}. Se puede observar una diferencia en cuanto al número

1 Los errores de medición son ± 0.1 cm y ± 0.1 mg.

2 Datos obtenidos experimentalmente en condiciones controladas de laboratorio sobre un total de 20 hembras y 20 machos.

promedio de crías por parición: en hembras criadas en cautiverio es de 7 individuos y en estado silvestre es de 19. Eventualmente pueden registrarse pariciones extraordinarias de más de cuarenta crías/hembra³.

En la figura 2 se indican las principales estructuras de la anatomía externa de adultos de ambos sexos.

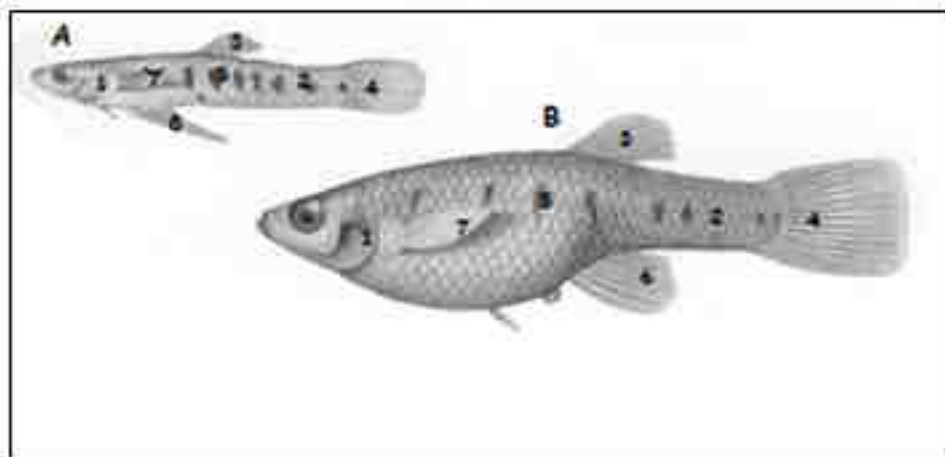


Figura 2: Macho (A) y hembra preñada (B). (1) Opérculo, (2) Línea lateral, (3) Aleta dorsal, (4) Aleta caudal, (5) Fotóforos, (6) Aletas pélvicas, (7) Aletas pectorales, (8) Gonopodio Tomado y modificado del Sistema de información de Biodiversidad (<http://www.sib.gov.ar>)

³ Datos obtenidos experimentalmente en condiciones controladas de laboratorio sobre un total de 120 hembras (16 provenientes de cultivo *indoor* y 114 provenientes de cultivo *outdoor*).

INSTALACIONES Y MANTENIMIENTO

El diseño de las instalaciones para cría y mantenimiento de animales experimentales debe tomar en cuenta las necesidades de los animales utilizados y los requerimientos de los científicos y del personal técnico. Los bioterios deben permitir la ejecución de varias funciones separadas y a veces incluir áreas altamente especializadas (Clough, 1986). Es siempre recomendable que los estanques de alojamiento de los animales estén separados de las salas donde se realizan las experiencias.

NECESIDADES DE PRODUCCIÓN

Según las necesidades de los ensayos se opta por un sistema de producción extensivo, semintensivo o intensivo, que se diferencian en la exigencia de producción hacia el cultivo. En los cultivos para explotación extensiva, en general sólo se controla una parte del ciclo de vida. A menudo se depende de las crías salvajes para la reproducción y el mantenimiento de las del stock. Gracias al mayor nivel tecnológico y de gestión, los sistemas intensivos tienen el mejor rendimiento por unidad productiva o de explotación. Los peces son criados desde su nacimiento hasta el estado adulto en densidades elevadas en estanques. Comúnmente, las densidades elevadas exigen un tratamiento profiláctico con productos químicos para mantener el estado sanitario de los peces. Los alimentos balanceados de origen industrial en forma de escamas son, en general, la base de la alimentación. La calidad del agua debe ser cuidadosamente controlada a través del empleo de filtros, purificadores, bombas y aireadores.

Las madrecitas se crían según dos modalidades: cultivos *outdoor* (en estanques de cría a la intemperie) y cultivos *indoor* (dentro del laboratorio con condiciones controladas). Como se verá más adelante, ambos cultivos coexisten y se vinculan.

CULTIVOS *OUTDOOR*

Se trata de estanques de dimensiones aproximadas de 2 m x 1.25 m x 0.37 m y un volumen aproximado de agua no clorada de 550 litros (Figura 6). Los contenedores pueden ser piletas de lona o recipientes de otros materiales, con la condición de que sean inertes, fáciles de limpiar y resistentes. Se trata de un sistema asimilable a un mesocosmos, que intenta recrear una situación natural. Tiene muy bajo requerimiento, en el cual se controla de manera rutinaria la calidad del agua y se la renueva parcialmente en función de la tasa de evaporación.

Estos cultivos se arman a la intemperie, evitando la insolación directa.

CULTIVOS *INDOOR*

El espacio físico seleccionado para realizar la cría debe contar con provisión de agua libre de cloro y con temperatura y fotoperiodo controlados. Es aconsejable una temperatura de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad. En cuanto a la iluminación, se recomienda la utilización de tubos fluorescentes en proporción de un watt por litro, lo que permitirá el crecimiento de las plantas en el acuario.

Es preferible que los estanques o cubas de cría sean rectangulares y de polietileno de alta densidad, de una pieza y sin costuras, ya que permiten una mejor limpieza, una mayor maniobrabilidad y ofrecen un nivel de estrés menor para los peces que los espacios circulares. La superficie disponible será limitante de la cantidad de peces que se criarán. Lo recomendado para la elección de los estanques es priorizar la superficie de nado y no la altura, ya que la altura no modifica la tasa de crecimiento (Figura 3, Figura 7 y Tabla 1).

En la Figura 3 se muestran los compartimentos de cría necesarios para un sistema de producción *indoor*.

ANIMALES DE 45 DÍAS EN ADELANTE: ESTANQUE DE ENGORDE (75-100 L)			
Hembras Preñadas (50L) <i>Indoor</i>			Hembras Preñada (50 L) <i>Outdoor</i>
Crías de 0 a 10 días (5L)	Juveniles de 10 a 20 días (5L)	Juveniles de 20 a 45 días (5L)	Animales en Cuarentena (50L)

Figura 3: esquema representativo de las diferentes categorías de compartimentos de cría. Cabe aclarar, que el estanque de cuarentena sólo estará presente en caso de manifestarse alguna anomalía en algún estanque, Este pasará al estado de cuarentena.

Todos los estanques tienen una capacidad de carga, que es preciso respetar, dada por el requerimiento de oxígeno. La densidad de peces en el estanque depende del tipo y tamaño de los peces en relación con la superficie disponible. Como guía, se recomienda considerar la información dada en la Tabla 1 (Emmens, 1993). Si bien la aireación permite duplicar la capacidad de carga, no es recomendable hacerlo, ya que no resulta completamente confiable.

Tabla 1: muestra la relación que existe entre cantidad de peces y la superficie requerida.
(Emmens, 1993)

Longitud del cuerpo (cm)	Nro. de peces por 900 cm ² de superficie	Área/pez (cm ²)
2,5	60	15
3,0	55	16

Es decir que, suponiendo un acuario sin aireación artificial, para un pez de 2,5 cm de longitud se necesitará una superficie de nado de 15 cm² y en un estanque de 900 cm² de superficie se podrán colocar hasta 60 peces (Emmens 1993). No obstante, es aconsejable proveer a cada cuba aireación.

Ambos tipos de cultivo, *indoor* y *outdoor*, se inician y habitualmente se enriquecen con animales silvestres que se colectan en sitios de referencia.

ACTIVIDADES DE CAMPO

RECOLECCIÓN DE ANIMALES SILVESTRES

C. decemmaculatus es un pez fácil de encontrar, fácil de producir y económico en cuanto a los cuidados que requiere. Se encuentran durante todo el año (en primavera y verano con mayor abundancia), distribuidos en la zona subsuperficial, preferentemente cerca de orillas con presencia de macrófitas.

Para la colecta se seleccionan ambientes libres de contaminación industrial y orgánica. Es preferible utilizar copo de pescar o red de trama pequeña (diámetro de poro no menor a 1 mm). Pasar la red por la superficie del agua (la mayoría de los cardúmenes se encuentran dentro de los primeros 10 cm), particularmente en zonas cercanas a la ribera. Para lograr recorrer mayor superficie sobre el lugar de colecta, se deben utilizar *waders* (de uso comercial, se consiguen en casas de pesca, se los utiliza en pesca deportiva tipo *fly cash*).

Una vez retirada la red transferir los peces capturados al recipiente de colecta y transporte (baldes de plástico de capacidad aproximada de 10 L) con agua del sitio de recolección. Llenarlos hasta la mitad de su capacidad, de manera que quede aproximadamente el mismo volumen de aire que de agua. Sumergir la red sin golpearla ni sacudirla ya que esto daña a los peces. Además, se debe evitar la introducción de sedimento y otros organismos como caracoles, plantas, etc., pero particularmente la introducción de otros peces que pueden ser agresivos, procurando devolverlos inmediatamente al sitio de donde fueron capturados. No manipular los peces con la mano ya que por la abrasión de las mismas pierden el *mucus* y las escamas, principales barreras contra posibles enfermedades.

Si la temperatura ambiente supera los 23°C, colocar refrigerantes en el balde. Cerrar el recipiente y sellarlo para evitar posibles derrames (por ejemplo, con papel film). Tener en consideración que, en caso de tratarse de un muestreo que requiera una larga distancia de transporte o en un ambiente con temperatura muy elevada, se recomienda el uso de envases de gel refrigerante (inmersos en el agua) y cilindro con gas oxígeno (o aireador portátil), para mantener la temperatura y oxigenación del agua, respectivamente.

RECOLECCIÓN DE PLANTAS SILVESTRES

Materiales

- Bolsas de polietileno de aproximadamente 15 cm x 40 cm
- Tijera
- Estanque para la desinfección de las plantas de 10 a 15 L de capacidad
- Cepillo o pincel

PROCEDIMIENTO

Cortar las plantas con tijera y lavarlas dentro del arroyo, sacudiéndolas para deshacerse de los organismos indeseados y del sedimento remanente. Guardarlas en baldes con agua del mismo lugar de muestreo o bolsas de polietileno, para evitar que se escape la humedad. Una vez en el laboratorio, cepillarlas con suavidad y lavarlas con agua no clorada de forma tal que no se rompan y no pierdan las hojas (Ver Anexo 1: Plantas silvestres).

Ya sean plantas compradas o recolectadas de su ambiente natural, siempre se las debe someter a una desinfección con antibacterial.⁴

⁴ Es recomendable utilizar una medicación a base extractos vegetales, de efectiva acción contra un amplio rango de bacterias y hongos.

ACTIVIDADES DENTRO DEL LABORATORIO

PRIMER MANEJO EN LABORATORIO: ACLIMATACIÓN

La etapa de aclimatación es muy importante y proceder de manera adecuada aumenta notablemente la supervivencia de los peces colectados. Se debe considerar que los peces recién colectados poseen, como todos los seres vivos, ritmos circadianos (sensibilidad a la luz y oscuridad), por lo que es preciso adecuar el método a la época del año en que se realiza la recolección. Tanto en verano como en invierno, se debe alargar el día a 16 horas de luz, fotoperiodo estandarizado para bioensayos (IRAM, 2008; Mastrángelo Ferrari, 2013), a razón de una hora por día, y se debe llevar la temperatura del agua a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (temperatura en la se observó la mayor cantidad de pariciones).

Una vez en el laboratorio, los peces colectados se mantendrán con oxigenación en el agua de colecta, la que paulatinamente se debe llevar a temperatura de cultivo ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). Se deben extraer del agua ejemplares muertos y elementos no deseables. Es recomendable que esta etapa no se extienda por más de 18 horas. Sólo se puede alimentar a los animales transcurridas las 48 h en laboratorio.

Concluida esta primera etapa de aclimatación, se sugieren dos opciones de procedimientos que se detallan a continuación:

Opción A:

Incorporar al recipiente con los peces, agua nueva no clorada por goteo hasta reemplazar el total del agua de muestreo.

El sistema de aclimatación ilustrado en la Figura 4, involucra el pasaje de agua de un estanque a otro por sifón, regulado por el regulador de aire o canilla.

Armar el sistema, utilizando la manguera para provisión de agua. Incorporar el regulador de flujo/ canilla reguladora en el extremo que tiene contacto con los peces. Quitar la mitad del agua del recipiente que contiene a los peces, sin dejar de oxigenar. El agua nueva pasará por goteo. Colocar el extremo de la manguera libre dentro del estanque, fijarla a la pared del estanque con la ventosa. Por efecto sifón, el agua pasará de un estanque a otro lentamente. Para controlar el goteo mover el robinete de la canilla reguladora para que las gotas caigan en el estanque que contiene los peces.

Materiales necesarios:

- Dos metros de manguera para aireación y provisión de agua
- Dos ventosas para ajustar las mangueras a las paredes de los estanques
- Un regulador de aire



Figura 4: sistema de aclimatación mediante efecto sifón.

Opción B:

Si se dispone de agua de red no clorada de buena calidad, es posible armar un sistema de flujo unidireccional (Figura 5), como alternativa al primer método descripto. El método utilizado involucra el pasaje de agua por goteo regulado mediante una canilla, hasta reemplazar casi la totalidad del agua original al igual que en el caso anterior. Los peces provenientes del muestreo, se colocarán en la pecera de vidrio con el agua de colecta de manera paulatina, evitando los movimientos bruscos y la formación de turbulencia dentro de la pecera. Posteriormente, se colocará en la misma una manguera que goteará agua corriente (no clorada) de manera continua hasta que se reemplace casi la totalidad del agua de muestreo.

Se necesitarán los siguientes materiales:

- Dos metros de manguera
- Redes de mano
- Pecera de vidrio con canilla de desagüe

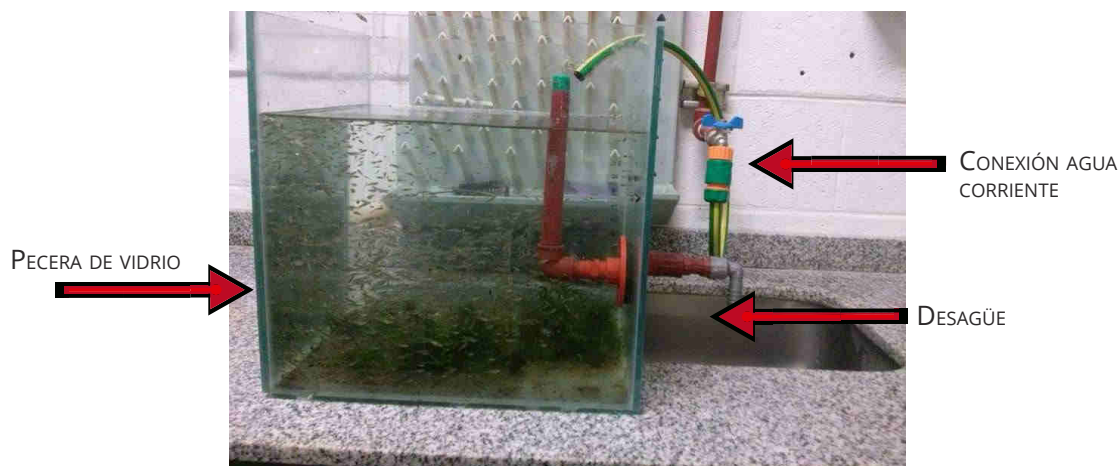


Figura 5: sistema de aclimatación mediante sistema de flujo abierto lento.

En ambos métodos, la velocidad del goteo de agua depende de la cantidad de peces y del tamaño de los mismos. Una vez incorporada casi la totalidad del agua en la pecera donde se encuentran los peces habrá pasado el tiempo necesario para la aclimatación (aproximadamente 8 horas). Una vez cerrado el flujo, es recomendable dejar con aireación hasta el día siguiente y luego incorporar los peces al estanque definitivo utilizando redes para tal fin, nunca incorporarlos de una sola vez. Tanto el agua de los estanques de cultivo como el agua utilizada en la aclimatación proviene de la misma fuente.

El tamaño del estanque dependerá de la cantidad de individuos (ver Tabla 1). Para pasar los peces nuevamente a otros estanques no será necesaria la aclimatación. Una vez que el recipiente esté lleno en sus 3/4 partes, transferir los peces al estanque mediante una red y descartar el agua del recipiente anterior. No olvidar controlar que la temperatura se encuentre dentro del rango adecuado. Es importante verificar siempre que el agua de red y de los recipientes se encuentre a la misma temperatura.

Una vez en los estanques definitivos, se realizará un tratamiento con antibacterial, siguiendo las especificaciones de la marca comercial utilizada. No podrá renovarse el agua, hasta dos días posteriores a la finalización del tratamiento.

Los animales en buen estado de salud, permanecerán en los estanques hasta que se decida el destino de los mismos.

La tarea de aclimatar en el laboratorio se realiza siempre después de la llegada de los peces, independientemente del lugar de procedencia. Cabe destacar que la segunda forma de trabajo descrita es la que obtuvo mejores resultados de adaptación al laboratorio, ya que disminuye la mortalidad y el estrés por traslado.

Cuando los peces provengan de los cultivos *outdoor*, será necesaria una nueva aclimatación previo al ingreso de los mismos al cultivo *indoor*.



Figura 6: Cultivo *outdoor*



Figura 7: Cultivo *indoor*

DISEÑO DEL PLANTEL DE PRODUCCIÓN Y CRÍA

Para un sistema de producción se requiere:

- Estanques debidamente rotulados (ver Figura 3 y 7)
- Manguera para aire
- Aireadores
- Difusores de aire (una para cada recipiente)
- Termocalefactores
- Reguladores de aire o reguladores de flujo
- Cajas parideras
- Redes rectangulares de mano

Reemplazar todas las mangueras de aireación una vez por año como mínimo. Reemplazar difusores, canillas y ventosas en la medida que se deteriore su funcionamiento.

REPRODUCCIÓN

La caja paridera se utiliza para peces vivíparos y se consigue en acuarios. Tiene la función de separar a las crías de los adultos y permite observar y controlar a las hembras que no han parido y retirar a las que ya lo han hecho. Además permite contabilizar el número de crías por caja. En la siguiente foto se observa una caja paridera de venta comercial (Figura 8).



Figura 8: cajas parideras. Medidas: 15*20*10 cm;
Tomado <http://www.drpez.net>

ELECCIÓN DE HEMBRAS PREÑADAS

Es preciso acondicionar un estanque para parición, calibrando el termocalefactor y verificando la correcta provisión de aire. Una vez detectadas las hembras preñadas (ver Figura 9), separarlas del estanque de engorde y colocarlas en las cajas parideras (no más de dos hembras por caja). Alimentarlas diariamente cuidando que no se acumulen desechos dentro de la caja paridera.



Figura 9: vista dorsal de hembra preñada, se observa el vientre abultado.

OBTENCIÓN DE CRÍAS

Este sistema de producción permite colectar crías luego de cada parición. En el día de colecta también es conveniente revisar el estado de las hembras y reemplazar aquellas que ya han parido por nuevas hembras preñadas.

Las crías se separan del estanque de parición (con cuidado de no dejarlas expuestas fuera del agua ni maltratarlas durante el traspaso, ya que son extremadamente frágiles) y se colocan en un estanque de unos 5 litros. Este tendrá un termocalefactor, cuya temperatura será igual a la de los estanques que contienen a las parideras (Figura 10).

La producción de crías depende de los requerimientos de los ensayos planificados. Si se precisa una cantidad y un tamaño de cría determinados por el tipo de ensayo, es conveniente separar las crías por lotes semanales. Para esto es recomendable contar con estanques de 0 a 10, de 10 a 20 y de 20 a 45 días, rotulados con cantidad de individuos, semana de nacimiento y los datos que sean necesarios.

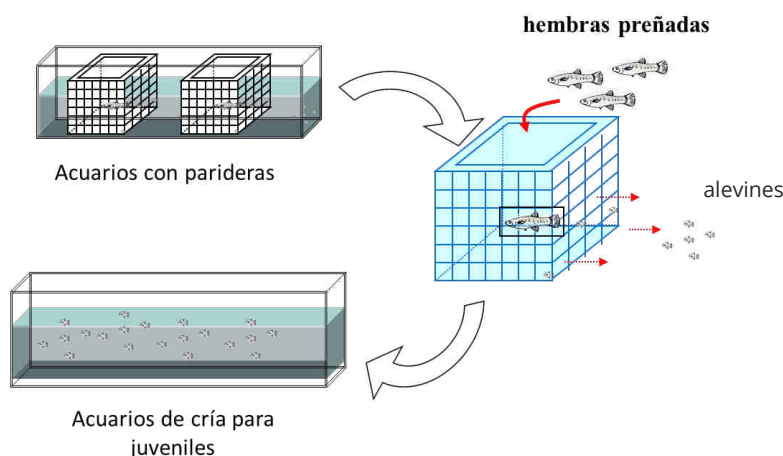


Figura 10: Manejo de crías hasta juveniles para su uso en bioensayos.

Esta etapa es fundamental para disponer de juveniles en buenas condiciones de salud para utilizar en los ensayos. Ante todo se debe considerar una densidad de organismos óptima por estanque. En muchas ocasiones se observa que en una cohorte de crías, a pesar de contar con la misma alimentación y ambiente similar, muestran un desarrollo desigual. Esto está relacionado a diversos factores, entre los que la carga genética es crucial.

Mediante determinaciones experimentales, se pudo estimar que, en laboratorio, la madurez sexual se alcanza aproximadamente luego de 9 semanas de vida.

A modo de resumen, en la Figura 11 se esquematiza el ciclo de trabajo para cultivo dentro del laboratorio:

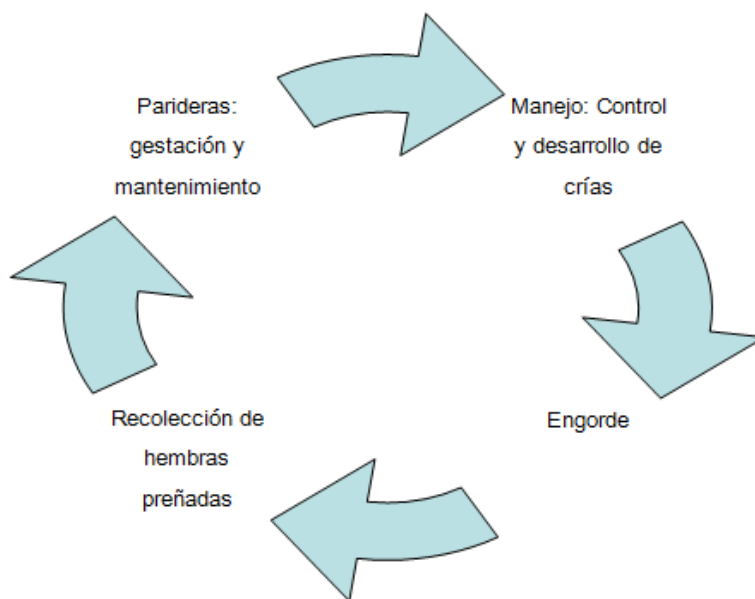


Figura 11: esquema de circuito de trabajo (los espacios no son proporcionales al tiempo de trabajo).

ALIMENTACIÓN

A continuación se presenta una lista de pautas útiles para evaluar la aceptación y ración del alimento. Se aplica a todos los estadíos:

- Alimento ingerido: observar si el alimento es aceptado por los peces o queda en el fondo del estanque.
- Nivel de actividad: observar si hay peces nadando activamente en búsqueda del alimento.
- Fecas: si el alimento es aceptado hay un aumento visible en la cantidad de heces en el fondo de los estanques.
- Crecimiento y reproducción: si el alimento es nutricionalmente adecuado es esperable que se observe un aumento en la cantidad de hembras preñadas, además de aumento del tamaño.

La ración de alimento depende de la cantidad y el tamaño de los peces. Se debe proporcionar una ración tal que los peces la consuman en un lapso de 2 a 3 minutos. Si en el transcurso de los dos primeros minutos el alimento se terminó y los peces aún buscan alimento activamente, la ración fue insuficiente. Si después de este tiempo existen residuos de comida en la pecera, la ración es excesiva. Un efecto secundario del exceso de alimento es el remanente de residuos en el fondo del estanque cuya descomposición provoca problemas en la calidad de agua (Marty, 1997). Lo ideal es alimentarlos dos veces al día (a la mañana y a la noche) o proveer un alimentador automático, siendo esta última una posibilidad para seguir la alimentación durante los días en los que el laboratorio no cuenta con personal. En caso de haber salteado una ración, no duplicar la siguiente ya que provoca constipación (Ver anexo 2, sección Nutrición).

TIPOS DE ALIMENTOS

ALIMENTOS SECOS

Hay una gran variedad de alimentos en los comercios de venta de peces. Lo importante es poder encontrar una marca que se adapte a los requerimientos del cultivo. Se precisa un alimento nutricionalmente completo, en escamas (para peces de agua fría ornamentales), de fácil conservación y una composición de 40% de proteínas. Sin embargo es sabido que la provisión de alimentos vivos es nutricionalmente provechosa.

ALIMENTOS VIVOS

Artemia persimilis

Son microcrustáceos y constituyen un excelente alimento vivo (Marty, 1997) que se utiliza para alimentar a las crías durante las dos primeras semanas de vida (Figura 12).

Se venden en acuarios como huevos de resistencia. Una vez puestos en agua salina se hidratan y el embrión se activa. Luego de aproximadamente 24 horas la membrana externa de los quistes se rompe ("*breaking*") y aparece el embrión rodeado por la membrana de eclosión. Durante las horas siguientes, el embrión abandona completamente la cáscara del quiste. Dentro de la membrana de eclosión se completa el desarrollo de la larva nauplio, sus apéndices comienzan a moverse y en un breve período de tiempo la membrana de eclosión se rasga ("*hatching*") y emerge el nauplio (1° estado larval de los crustáceos) que nada libremente (Sorgeloos et al. 1986). Este alimento es particularmente importante durante los primeros estadios de vida.



Figura 12: artemia salina (tomada de <http://www.tienda.aquatic.es>).

Para su obtención se requiere contar con:

- Artemieros de uso comercial (Figura 13)
- Huevos de Artemia
- Sal gruesa
- Agua de clorada
- Aireador
- Termocalefactor, opcional según la calidad y la tecnología del artemiero



Figura 13: artemiero sumergible (Foto izquierda, tomado de http://acuariofiliatotal.com/articulos/artemia_salina.html) y artemiero con vaso colector (Foto derecha, tomado de <http://lasinrival.com.ar/tienda/artemieros-y-artemia/84-artemiero-plastico.html>).

Procedimiento:

Disolver 35 g de sal (de mesa o gruesa, en lo posible sin yodo) en 1 litro de agua de clorada. Llenar los artemieros (se consiguen en el mercado, de 500 cm³), colocar el aireador sin difusor dentro del recipiente y regular la salida de aire con una canilla. Colocar 4 g de huevos en la solución (una cucharada de café) y por último llevar el pH del agua a un valor entre 8,3 y 8,5. Con una temperatura del medio de 24° C, al cabo de entre 24 y 48 h se observarán los nauplios recién nacidos. Ya que son fotopositivos, una buena manera de colectarlos es ubicar el vaso colector con agua de red invertido sobre la tapa. Si el artemiero no posee vaso colector, se puede sifonear y filtrar los nauplios cerca de una fuente de luz. Luego de la colecta, suministrarlos como alimento a los peces recién nacidos.

Una fuente de alimento vivo en los cultivos es provisto por plantas acuáticas (ver Anexo 1) y el perifiton adicionado sobre el que los peces ramonean. También muestran preferencia por la ingesta de cladóceros y larvas de mosquito (Quintans, 2009).

RUTINAS DE TRABAJO

RUTINAS DE MANTENIMIENTO DIARIAS:

- Alimentación de todos los estanques.
- Control de los materiales utilizados: flujo de aireadores, calentadores, temperatura del acuario.
- Recolección de peces enfermos y diagnóstico de las enfermedades (Anexo 2).
- Redistribución de los peces: separación de hembras preñadas del recipiente de engorde y traslado a parideras, traslado de alevines y juveniles a estanques correspondientes, etc. (*)
- Incorporación del agua faltante por la evaporación.
- Llenado de las planillas necesarias: control diario de alimentación, de limpieza de estanques, pariciones, etc.

(*) Rotación de hembras preñadas y crías:

- Verificar cuántas hembras han parido y retornarlas al estanque de engorde mediante el uso de una red.
- Retirar las crías del estanque de parición mediante el uso de una red, y pasar al estanque de 0 a 7 días.⁵
- Redistribuir el total de las crías en función del tamaño luego de la renovación del agua (ver Figura 4).
- Recuento de las crías por estanque. Si son demasiadas estimar un número.
- Llenar las planillas requeridas por el laboratorio.

RUTINAS DE MANTENIMIENTO SEMANALES:

PROTOCOLO DE RENOVACIÓN DEL AGUA:

- Desenchufar el termocalefactor.
- Retirar aproximadamente la mitad del volumen de agua de cada estanque mediante sifoneo del fondo (recolectando la suciedad del estanque) una o dos veces a la semana con una manguera flexible, verificando siempre que esté limpia y sin manchas de hongos o algas para evitar contaminaciones. El diámetro de la manguera utilizada debe ser pequeño, a modo de evitar que los peces sean succionados por la misma

5 Se sugiere que los alevines se separen por camadas de 0 a 7 días de nacidos

y se encuentren sujetos a situaciones de estrés e incluso de muerte. Es por ello que el agua extraída de los estanques debe ser colectada en baldes, previo a su descarte. En el caso de que algún pez sufra la situación descrita anteriormente, puede ser colectado mediante el uso de una red y reincorporado al estanque de origen.

- Incorporar el agua faltante descargando la misma sobre una de las caras internas del estanque a fin de evitar turbulencia excesiva. Verificar siempre que la temperatura del agua de renovación sea semejante a la del estanque.
- Es recomendable, considerando el estado del estanque, realizar una limpieza profunda con frecuencia mensual de los estanques: retirar los peces que puedan estar en el estanque, vaciar el estanque de agua, añadir unas gotas de hipoclorito de sodio al agua de lavado (para desinfectar) y limpiar la superficie con la ayuda de una esponja o cepillo (de modo de asegurar la eliminación de todo resto de materia orgánica); enjuagar varias veces con abundante agua para asegurar la completa eliminación del hipoclorito.
- Tanto los sistemas de renovación parcial del agua como los de flujo unidireccional cuentan con ventajas y desventajas, que deben ser consideradas en función de los objetivos del ensayo: según disponibilidad de espacio, costos y personal técnico, entre otros factores.
- En el caso de las parideras, la limpieza profunda se efectúa mediante el mismo procedimiento que el de estanques.

ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DENTRO DEL LABORATORIO

El mantenimiento de la higiene y las prácticas correctas de laboratorio son esenciales para asegurar la salubridad de los animales que luego se utilizarán para los distintos ensayos.

Una manera eficiente y segura de llevar a cabo todas las actividades es la implementación de los Procedimientos Operativos Estandarizados (POEs), documentos que describen, mediante un conjunto de instrucciones o pasos, las actividades realizadas y pendientes, además del diseño de planillas que sirven para ordenar, conocer o modificar las tareas que requiere esta producción.

PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS (POEs)

Para realizar un POE primero se define el objetivo propuesto (por ejemplo, producción estandarizada de peces para su utilización en los ensayos programados durante un año) y luego se describe la metodología a implementar, materiales necesarios, etc., a fin de sistematizar las tareas específicas diarias

y prevenir errores recurrentes. Es necesario poder interpretar las tareas correctamente teniendo en cuenta que los POEs estarán vigentes aún cuando el personal encargado esté ausente y las tareas sean realizadas por otro integrante del laboratorio.

Los POEs:

1. Proveen a los técnicos toda la información acerca de la seguridad, la salud, el ambiente y las operaciones necesarias para realizar el trabajo correctamente.
2. Permiten que la producción del cultivo sea conforme a las necesidades de producción, que sea ininterrumpida y completada en un tiempo preestablecido.
3. Disminuyen la ocurrencia de errores en el trabajo diario. Al seguir los pasos de seguridad sanitaria y ambiental, se evita crear un vacío en la producción por contaminación de otras comunidades.
4. Se pueden utilizar como documento de entrenamiento para las personas encargadas de enseñar el proceso para el cual el POE fue escrito.
5. Se pueden utilizar como lista de chequeo de otros técnicos para observar el desempeño de determinado trabajo.

A modo de ejemplo, a continuación, se propone una planilla que expresa los puntos a tener en cuenta para la producción de peces y organización dentro del laboratorio.

Puntos a tener en cuenta y tareas a realizar para la producción de peces en laboratorio	
Control de Materiales	
Control de estanques	Verifique el estado de los estanques. Será de utilidad para evitar cualquier contaminación dentro del cultivo, ya que habitualmente se depositan algas y otros organismos que perjudican la limpieza y deterioran el material.
Control de mangueras de aireación	En la medida que las mangueras de silicona muestren el interior opaco por depósitos de materia orgánica y pierdan flexibilidad, deben ser reemplazadas. Se recomienda al menos un recambio anual.
Control de piedras difusoras	Observar que siempre estén en funcionamiento. De modo contrario, se tapan y dejarán de cumplir su función. Se recomienda al menos un recambio anual.
Control de reguladores de flujo de aire	Estos reguladores permitirán el paso de aire en todo el circuito, en todos los estanques. Siempre verificar que estén en funcionamiento: los reguladores que no funcionen deben ser reemplazados.
Control del Agua	
Para realizar tareas de manutención del agua es indispensable conocer cómo utilizar un pHmetro, sensores de oxígeno, conductividad, termómetros y termocalefactores; y saber determinar dureza.	
Limpieza de estanques	Una vez por semana retirar el 50% del total del agua procurando remover por sifón el exceso de sedimento del fondo e inmediatamente incorporar agua nueva con las mismas características fisicoquímicas que la retirada. Cada mes retirar la totalidad del agua y cepillar las paredes para eliminar todo resto de materia orgánica, desinfectar con hipoclorito de sodio permitiendo la eliminación de hongos, esporas, bacterias y virus, enjuagar con abundante agua. Llenar con agua nueva y colocar los peces.
Control de pH	Es siempre necesario el control del pH del agua luego de cada recambio ya que su desvío de los valores normales para el agua comúnmente utilizada podría perjudicar la producción de peces.
Control de dureza y conductividad	Proceder de igual modo que para el pH
Control de temperatura	Se debe controlar la temperatura a diario, tanto del agua como del ambiente, y tanto previa como posteriormente al recambio.
Alimentación	
Esta instancia es sumamente compleja ya que se debe proceder de manera diferencial dependiendo del cultivo y edad y es crucial para el éxito de la producción	

Suministro de alimentos	Diariamente se suministra alimento a cada uno de los estanques. Desechar el alimento que esté húmedo o en mal estado.
Equipos Es importante conocer y comprender el funcionamiento de los equipos; esto permitirá actuar con prudencia y realizar los cambios necesarios para no interrumpir el monitoreo de los parámetros que se quieren controlar	
Control de termocalefactores, termómetros y aireadores	Leer los instructivos de uso, controlar diariamente que funcionen y verificar los parámetros requeridos. Un mal funcionamiento puede traer inconvenientes al cultivo e incluso la muerte masiva de peces.
Cultivos Anexos (Artemia) Tener una buena producción de alimento natural para nuestros cultivos será de gran importancia porque estos aportan calidad nutricional a los organismos	
Control de producción de artemias	Controlar específicamente la temperatura, ya que será el factor determinante de tiempo de eclosión.
Prevención de enfermedades Quitar todo material sucio o viejo que se esté utilizando, extremar las condiciones de higiene	
Control de sedimentos	Quitar semanalmente los sedimentos que se forman dentro de los cultivos. Esto evita la putrefacción del agua y ayuda a controlar las variables físicoquímicas.
Control de plagas	Siempre que se comience con la producción de peces traídos del exterior, se separarán organismos indeseables como caracoles, planarias, dafnias, hydras, ostracodos, copépodos, etc., que competirán por el alimento en detrimento de la población de peces. Por lo tanto, quitar diariamente estos organismos invasores.
Acciones a ejecutar frente a fallas de instrumentos Para no comprometer los cultivos, mantener los equipos calibrados y en buen estado de funcionamiento.	
Control de planillas Nunca dejar de llenar las planillas de producción, ya que de todas las anotaciones dependerá la corrección o la corroboración del método de producción, además de dejar constancia de las tareas realizadas a fin de entender cómo se sucede esta tarea.	

Siempre que sea posible, diseñar las fichas de planificación de ensayos con suficiente tiempo de antelación para permitir contar con cantidad suficiente de material.

PLANILLAS

Se indican a modo de ejemplo las siguientes planillas, se pueden confeccionar otras según las distintas necesidades planteadas por la producción.


Estanque N°:				Categoría:			
Planilla de revisión diaria de actividades por estanque							
Día	Fecha	Hora	Temperatura	Alimentación	Cambio de Agua	Tratamiento antibacterial/ Cantidad adosada	Responsable



Planilla de revisión diaria de parideras									
Fecha	Hora	Día	N° Paridera	Hembra nueva	Hembra muerta	N° crías		Alimentación	Temperatura
						Vivas	Muertas		

Seguimiento de hembras preñadas					
Fecha	N° estanque	Paridera	Peso (mg)	Longitud (mm)	N° de crías

Parámetros fisicoquímicos de agua de red/estanques					
Fecha	pH	Dureza	Conductividad	NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺	OD (oxígeno disuelto)

ANEXO 1: PLANTAS SILVESTRES

Nombre	Fotografía	Descripción
<p><i>Ceratophyllum demersum</i> (cola de zorro)</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Planta resistente con una gran capacidad de adaptación (preferentemente aguas moderadamente duras a muy duras con pH neutro a ligeramente alcalino y temperatura bajas y templadas, desarrollándose bien a partir de los 20° C). • Grandes competidoras contra las algas ya que consumen nutrientes, metabolitos y nitratos eliminándolos del agua e impidiendo que sean aprovechadas por éstas. • Debido a la forma de sus hojas su forma flotante es un excelente sustrato para el mantenimiento de alevines. • Requiere de gran iluminación. • Buena oxigenadora del agua.
<p><i>Hydrocotyle ranunculoides</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Planta anfibia que funciona relativamente bien en forma sumergida. • Resiste temperaturas del rango de 5° a 25°C. • pH: 5,8 – 7,5. • Dureza: prefiere aguas blandas. KH entre 5°d y 12°d. • Es poco abundante, pero prefiere un buen sustrato y luz moderada. • DESVENTAJA: El sabor les es desagradable a los peces.

<p><i>Elodea brasileña</i> (Egeria Densa)</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Fácil de mantener. • Crece rápidamente si recibe luz suficiente. • Gran productora de oxígeno. • Sus hojas proveen de alimento a los adultos y sirven de refugio y alimento (en forma de zooplancton) para los alevines. • Soporta un amplio rango de temperaturas. • Planta económica.
<p><i>Lemna minor</i> (lenteja de agua)</p>	 <p>Tomado de http://pasionporlosacuarios.blogspot.com.ar/2014/01/3-motivos-para-no-odiar-la-lenteja-de.html</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Gran fijadora de nitratos (permite mejorar la calidad del agua), de metales y plaguicidas. • Es un aporte excelente de proteínas, antioxidantes y de fungicidas (para adultos y alevines). • Muy útil para eliminar las algas Clorofitas • Sus raíces proveen refugio para alevines. • Sus raíces si son cortas indicaran una buena calidad del agua y viceversa. • Resiste todo tipo de agua. • Temperaturas de 10- 30 °C • pH: 4,5-8,5 • DESVENTAJA: Crecimiento muy rápido. Cubre la superficie del agua, disminuyendo la llegada de luz a los peces.

<p><i>Pistia stratiotes</i> (repollito o lechuga de agua)</p>	 <p>Tomado de http://www.flordeplanta.com.ar/acuaticas/plantas-para-estanques-la-lechuga-de-agua-pistia-stratiotes/</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño fácil de dominar • Sus raíces sirven de refugio e infusorios para los alevines • Gran fijadora de nitratos. • Controla las floraciones masivas de algas. • No tolera bajas temperaturas (en verano requiere mayores a 21°C) • DESVENTAJA: Fácil propagación: existe el riesgo de que limite la oxigenación del agua.
<p>Algas (En su mayoría podemos encontrar <i>Scenedesmus</i>, <i>Spirogyra</i> y <i>Oscillatoria</i>.)</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Las formas filamentosas y plantónicas se pueden reproducir a un ritmo fenomenal, y pueden producir mortandades repentinas por agotamiento del oxígeno. • Problemas de sabor y olor en el agua potable y, algunas veces, la muerte de los peces, se asocian con floraciones excesivas de las algas. • La cubierta total puede restringir la penetración de la luz del sol y limitar la producción de oxígeno y alimentos necesarios para el crecimiento de los peces. Cuando la abundancia de las algas interfiere con el uso pretendido del estanque, se debe iniciar un procedimiento de control.

http://aquanovel.com/web_antigua/demersum.htm (*Ceratophyllum Sp.*)

<http://www.plantsnshrimps.com/plantas/hydrocotyle-verticillata/>
(*Hydrocotyle ranunculoides*)

<http://www.elacuarista.com/plantas/DE/elodea.htm> (*Egeria Densa*)

<http://comocuidarmispecies.blogspot.com.ar/2013/12/lenteja-de-agua-lemna-minor.html> (*Lemna minor*)

<http://pasionporlosacuarios.blogspot.com.ar/2014/01/3-motivos-para-no-odiar-la-lenteja-de.html> (*Lemna minor*)

<http://gambasdeacuاريو.com/razones-para-no-odiar-a-la-lenteja-de-agua/>
(*Lemna minor*)

<http://pasionporlosacuARIOS.blogspot.com.ar/2013/10/lechuga-de-agua-pistia-stratiotes-ficha.html> (Repollito de agua)

<http://www.flordeplanta.com.ar/acuaticas/plantas-para-estanques-la-lechuga-de-agua-pistia-stratiotes/> (Repollito de agua)

<https://www.lgsonic.com/es/blogs-es/problemas-con-las-algas/>
(Algas)

ANEXO 2: SALUD DE LOS PECES⁶

MANEJO SANITARIO DE PECES

Independientemente del tamaño de una operación en acuicultura, la prevención de la enfermedad es más rentable que su tratamiento. Una vez que los peces están enfermos, la identificación exacta de todos los problemas presentes puede ser difícil y, para que el tratamiento sea eficaz, generalmente se debe administrar pronto. Un programa comprensible de manejo de la salud de los peces se debe basar en los principios de la calidad del agua, la nutrición, el saneamiento y la cuarentena.

Es importante tener en cuenta que los animales de uso experimental deben estar en muy buenas condiciones de salud.

SANEAMIENTO

El saneamiento comprende un mantenimiento de entorno limpio con una acumulación mínima de detritos orgánicos, la desinfección apropiada de las redes y la desinfección de todas las unidades que contengan peces. Los esfuerzos para mantener el entorno tan limpio como sea posible dentro de las restricciones de la operación ayudarán a minimizar los brotes de enfermedades. Cuando se introduzcan peces nuevos en una instalación, éstos deben pasar una cuarentena (3 semanas aproximadamente). Los productores pueden estar limitados por las prácticas de producción. Sin embargo, la cuarentena tiene muchos beneficios que no se deben pasar por alto. Por ello resulta importante prever con anterioridad la entrada de peces a la instalación para mantener una buena producción respetando a su vez los tiempos de cuarentena.

Para la mayoría de acuicultores y propietarios de peces, el agua de poca calidad es la causa más común de enfermedad inducida por el ambiente y algunos métodos para controlar la calidad del agua son esenciales.

Los parámetros básicos de la calidad del agua se agrupan en cuatro grandes categorías:

- Gases disueltos

El oxígeno es el más importante. En los estanques, las algas constituyen la fuente principal. La mayoría de los peces se desarrollan bien cuando la concentración de oxígeno disuelto (OD) es ≥ 5 mg/L. Por debajo de este valor los peces se “estresan”. Aunque la disminución de OD es más frecuente luego

⁶ “El manual Merck de Veterinaria”. 5ta edición. Ed. Océano. (2005).

del periodo de oscuridad, puede ocurrir en cualquier momento. Junto con el descenso del OD, el nitrógeno amónico total se incrementa y el pH desciende.

- **Compuestos de Nitrógeno**

Los restos de nitrógeno entran en el sistema del acuario a partir de las heces de los peces o por la degradación de su alimento. El NH_3 es altamente tóxico y frecuentemente limita la producción de peces en los sistemas intensivos. El pH y la temperatura elevados en el agua favorecen su formación. Cuando el pH supera 8,5 cualquier presencia de NH_3 puede ser peligrosa. En general, un sistema acuático que funcione normalmente debe contener niveles no valorables del mismo, dado que tan pronto como entra en dicho sistema, debe ser eliminado por bacterias. Un valor de nitrógeno amónico total (NH_3 y NH_4^+) ≤ 1 mg/L no es de gran preocupación a un pH menor al establecido.

La sobrealimentación puede ser una de las causas frecuentes del aumento de NH_3 . De ser posible se debe cambiar el 50% del agua, lo más rápido posible. La alimentación se debe suspender o reducir significativamente hasta que el problema se haya corregido.

El segundo producto de degradación es el NO_2^- , también tóxico para los peces, pudiendo entrar en el torrente circulatorio a través del epitelio y afectar el transporte de oxígeno, a pesar del contenido de oxígeno en el agua.

- **Compuestos de carbonato**

Es importante debido a la interacción existente entre el CO_2 , pH, alcalinidad total y dureza total.

A medida que la concentración de CO_2 aumenta durante el transcurso de las horas de luz, el pH aumenta. El proceso inverso ocurre durante las horas de oscuridad.

Para la mayoría de los peces el agua debe tener de forma ideal una alcalinidad moderada, entre 100 y 260 mg CaCO_3 /L.

- **Salinidad**

En el agua dulce, la salinidad se puede incrementar hasta un cierto grado empleando sal. La sal se utiliza con frecuencia en los sistemas de agua dulce para reducir el estrés osmorregulador o para eliminar ciertos ectoparásitos del sistema.

NUTRICIÓN

El manejo nutricional de los peces es muy variable, dependiendo de las especies y del sistema. Por lo general, los peces requieren una dieta rica en proteína, con un porcentaje significativo de proteína de pescado. Los peces no sintetizan ácido ascórbico, por lo tanto, es necesaria una suplementación adecuada. Debe ser administrado como "vitamina C".

Los métodos y las tasas de alimentación varían según las especies, la edad, el sistema y la temperatura del agua. Se considera que una dieta de mantenimiento está entre el 1 y 2% del peso corporal por día, mientras que una dieta de crecimiento puede estar entre el 3 y 5% del peso corporal por día. En muchos sistemas, el comportamiento alimentario puede ser un indicador importante de la salud del animal. Una alimentación vigorosa es deseable y una disminución repentina del apetito debe ser causa de alarma. Una alimentación más frecuente y en pequeñas cantidades es preferible a una muy copiosa, especialmente en los peces jóvenes.

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento
Constipación	El vientre se abulta notablemente. Por estar constipado, el pez no se alimenta ni defeca. Descansa sobre el sustrato muchas horas, ya que está debilitado. Puede resultar difícil distinguir esta enfermedad de la hidropesía detallada posteriormente.	En la mayoría de los casos se debe a la sobrealimentación. También puede tratarse de una dieta incompleta o inadecuada.	Agregar al agua del acuario media cucharadita de té de sulfato de magnesio cada cinco litros de agua. v

ENFERMEDADES PARASITARIAS

Todos los grupos importantes de parásitos animales se encuentran en los peces y los peces salvajes aparentemente sanos a menudo llevan cargas parasitarias densas. El conocimiento de las características morfológicas claves de los grupos parasitarios principales ayuda mucho al diagnóstico y al tratamiento del parasitismo.

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento	Otras consideraciones
Ich o Mancha blanca	<p>El cuerpo del pez se cubre de pequeñas manchas blancas y también las aletas. La cantidad de manchas aumenta rápidamente y los otros peces se contagiarán. Sin embargo, los peces pueden morir de una infección sin llegar a desarrollar las clásicas lesiones blancas.</p>	<p>Se trata de una enfermedad parasitaria causada por <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>. Los estadios inmaduros, una vez que encuentran a su huésped, penetran en el moco de la epidermis y las branquias, donde se alimentan. Al alcanzar la madurez, <i>I. multifiliis</i> abandona al huésped dejando un agujero en la piel que se infecta rápidamente. El microorganismo se hunde en el fondo formando un nuevo quiste dentro del cual se multiplica produciendo de 500 a 1200 estadios inmaduros.</p>	<p>El intervalo entre tratamientos se debe determinar en función de la temperatura del agua. A temperaturas templadas, los peces infectados se deben tratar cada 2 o 3 días; a temperaturas más bajas, el tratamiento se puede administrar sólo una vez cada 3 a 5 semanas. Debido a la necesidad de tratamientos múltiples, el sulfato de cobre es el tratamiento a elección. No se recomienda el permanganato potásico dado que es cáustico para las branquias. Considerar que <i>I. multifiliis</i> es refractario al tratamiento químico cuando éste se encuentra enquistado.</p>	<p>Se identifica fácilmente utilizando un microscopio óptico con aumentos de 40x o 100x. Es grande (de 50 µm hasta 1 mm), redondo y completamente cubierto por cilios.</p>

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento	Otras consideraciones
Quilodenaliasis "Baba en la piel"	<p>Los peces afectados pierden típicamente su buen estado físico y se pueden apreciar secreciones mucosas abundantes en las zonas donde la infestación es más grave. Si las branquias se infectan densamente pueden encontrarse visiblemente inflamadas y con mucosidad, los peces pueden mostrar signos de dificultad respiratoria. Si la piel está infectada de forma densa, puede tener una apariencia opaca, asociada con el moco excesivo y los peces pueden estar irritados, según lo demuestran los movimientos rápidos (rascado) y el apetito disminuido.</p>	<p>La principal causa es el descuido severo de las condiciones del agua.</p>	<p>Es realmente difícil tratar esta enfermedad, especialmente si avanzó demasiado. Se recomienda la eutanasia de los peces por sobredosis (5 ml en 250 cm³ de agua) de benzocaína.</p>	<p>Se identifica fácilmente en las biopsias frescas de los tejidos infectados. Ésta mide de 50 a 70 µm, tiene algo de forma de corazón con bandas paralelas de cilios y se mueve en una característica espiral lenta.</p>

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento	Otras consideraciones
Costiasis "Babaza azul"	<p>La piel afectada frecuentemente presenta una decoloración gris acero y las branquias parecen inflamados. La producción copiosa de mucosidad, a veces descrita como "babaza azul", es característica de la costiasis. Los signos comportamentales de la infestación comprenden la letargia, la anorexia, el pitido y los saltos. En los casos agudos, los peces pueden parecer hipóxicos y nadar hacia la superficie con frecuencia. En los casos crónicos, los peces presentan un aspecto débil, están delgados y no se alimentan.</p>	<p>La principal causa es el descuido severo de las condiciones del agua.</p>	<p>Se controla rápidamente con sal, formalina, sulfato de cobre o baños de permanganato potásico. Un tratamiento debe ser adecuado. Si se produce una reinfestación, se deben evaluar las prácticas higiénicas y de cuarentena.</p>	<p>Estos parásitos son pequeños ($\approx 15 \times 5 \mu\text{m}$). Tienen forma de pera aplastada y presentan dos flagelos de longitud desigual.</p>
Terciopelo	<p>El cuerpo del pez parece estar recubierto de una película aterciopelada y amarillenta, que también cubre las aletas. El pez se agita por dificultades respiratorias y frota su cuerpo contra las rocas en busca de alivio.</p>	<p>Los estadios patógenos del microorganismo son algas pigmentadas, fotosintéticas, no flageladas e inmóviles, que se adhieren e invaden la piel y las branquias.</p>	<p>La acriflavina (a 5 mg/l en un baño prolongado) se ha utilizado con algún éxito para controlar a éste patógeno en peces de acuario de agua dulce. La formalina y el permanganato potásico no son eficaces. La evolución de la enfermedad se puede retrasar reduciendo la luminosidad y bajando la temperatura y la carga orgánica.</p>	<p>Existe alguna controversia sobre el efecto de la alteración de la salinidad en estos microorganismos, dado que algunas especies parecen crecer en aguas salobres. Por lo tanto, los ajustes en salinidad (incremento para los peces de agua dulce) durante una epizootia se deben controlar cuidadosamente para detectar signos de eficacia.</p>

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento	Otras consideraciones
<p>Helmintiasis de la piel y las branquias causada por Monogeneos</p>	<p>Los peces infectados muestran hiperactividad y natación errática, saltando frecuentemente sobre la superficie del agua o frotando los flancos contra un objeto del acuario para desprender los gusanos. Los peces se tornan pálidos a medida que los colores se destiñen, respiran rápidamente y distienden el opérculo, exponiendo las branquias tumefactas y pálidas. Aparecen lesiones cutáneas localizadas con hemorragias y úlceras dispersas.</p>	<p>La principal causa es el mal procedimiento de cuarentena. Los helmintos son frecuentes tanto en los peces salvajes como en los de cultivo. Los peces de acuario y de cultivo están sujetos a un aumento rápido de parásitos por infección continua y transferencia de platelmintos a otros peces en el acuario o el estanque.</p>	<p>La formalina es con frecuencia el tratamiento de elección. Se recomiendan los tratamientos múltiples a intervalos semanales para el <i>Dactylogyrus</i>.</p>	<p>Miden entre 0,1 a 0,8 mm de longitud y se observan mejor microscópicamente. Se pueden identificar por su órgano característico para adherirse al hospedador, que está armado de ganchos grandes y pequeños.</p>
<p>Helmintiasis de la piel y las branquias causada por Digeneos</p>	<p>Los peces tienden a formar cápsulas de tejido pigmentado que enquistan a los parásitos. Dependiendo del color de los quistes en la piel, la afección se denomina enfermedad de manchas negras, blancas o amarillas. Los peces fuertemente parasitados están con frecuencia débiles, delgados, inactivos y precariamente alimentados.</p>	<p>La principal causa es el mal procedimiento de cuarentena. Los helmintos son frecuentes tanto en los peces salvajes como en los de cultivo. Los peces de acuario y de cultivo están sujetos a un aumento rápido de parásitos por infección continua y transferencia de platelmintos a otros peces en el acuario o el estanque.</p>	<p>El tratamiento en los peces infectados no ha tenido éxito; sin embargo, ha sido eficaz la prevención de la enfermedad mediante la eliminación del huésped intermediario, un caracol de agua dulce. Se puede controlar los caracoles en los estanques de peces mediante la aplicación de un tratamiento con sulfato de cobre por la noche, cuando los caracoles son activos.</p>	

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento	Otras consideraciones
Helmintiasis intestinal causada por Cestodos	Peces que comen abundantemente adelgazan.	<p>La principal causa es el mal procedimiento de cuarentena. Los huéspedes intermediarios más frecuentes en los peces son los crustáceos acuáticos; por lo tanto, los peces salvajes y los cultivados en estanques pueden estar muy infectados. Los peces de acuario se pueden adquirir con infecciones fuertes de cestodos, pero tienen una exposición limitada una vez que están en el acuario (a menos que se les alimente con huéspedes intermediarios infectados).</p>	<p>El prazicuantel es el fármaco de elección para el tratamiento de los cestodos en peces. Se puede aplicar en forma de baño (10 mg/l durante 3 horas) o en comida medicada.</p>	
Gusano Lernaea	<p>El pez nada de lado a lado, frotando su cuerpo contra diferentes sustratos. Se observa inflamación en la piel y ahí hilos que parecen gusanos. Esos organismos surgen hacia arriba y son de color verde claro. Pueden causar hemorragia, anemia y destrucción tisular y proporcionar una entrada para otros microorganismos.</p>	<p>Se adhieren al huésped en forma de púas sobre la piel o branquias, donde se alimentan de sangre y líquidos tisulares.</p>	<p>Trasladar los peces infectados a un acuario de cuarentena. Utilizar una pequeña pinza para remover los gusanos evitando cortarlos ya que si su cabeza queda anclada la enfermedad continúa. En comercios especializados adquirir metrifonate y suministre 1,5 mg cada 4,5 litros de agua.</p>	
Piojos	<p>El pez frota su cuerpo contra el suelo en busca de alivio. En su piel aparecen diminutos parásitos de cuerpos aplanados y adaptados para el movimiento rápido sobre la superficie cutánea.</p>	<p>Con la ayuda de ganchos y ventosas, periódicamente se adhieren al cuerpo del pez, para alimentarse de su sangre y poner huevos, insertando la parte perforante dentro de la piel.</p>	<p>El fármaco de elección para los peces infectados es el triclorfón a 0,25 ppm en el agua del acuario.</p>	

ENFERMEDADES BACTERIANAS

Las epidemias de enfermedades bacterianas son frecuentes en las poblaciones densas de peces. La predisposición para tales brotes frecuentemente se asocia con la mala calidad del agua, la sobrecarga orgánica del medio ambiente acuático, la manipulación y el transporte de los peces, los cambios notables de la temperatura, la hipoxia y las situaciones de estrés relacionadas.

El diagnóstico se establece aislando el microorganismo en un cultivo puro tomado de tejidos infectados y por identificación del agente bacteriano.

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento
Hidropesía	El abdomen se hincha tanto que las escamas sobresalen del cuerpo en punta. La hidropesía es crónica. Aparece a la vista una vez avanzada y se desarrolla a largo plazo.	Si bien puede deberse a una dieta inadecuada, la principal causa es descuido severo de las condiciones del agua. Suele haber un elevado nivel de nitritos y cloruro de sodio. Puede que haya demasiadas bacterias. También hay disfunción de órganos del pez.	No hay cura. Se recomienda la eutanasia de los peces por sobredosis (5 ml en 250 cm ³ de agua) de benzocaína.
Exoftalmia	El pez adelgaza y sus ojos sobresalen de sus órbitas.	Esta enfermedad, distinguida por los nódulos inflamados detrás de los ojos del pez, suele ser consecuencia de septicemia bacteriana o tuberculosis.	No hay más alternativa que eliminar los peces infectados.
Enfermedad de la vejiga natatoria	El pez afectado nadará panza arriba, invertido. No se mueve con naturalidad, parece torpe y se golpea con los objetos que lo rodean.	Esta enfermedad se debe a infecciones bacterianas por descuido severo de las condiciones del agua. También puede ser un problema congénito.	Es difícil identificar con exactitud el origen de la enfermedad. Mejorar la calidad del hábitat, especialmente el agua. Trasladar al pez al acuario de cuarentena. Solicitar el químico adecuado en un comercio especializado y aplicarlo tanto en el acuario principal como en el de cuarentena.

ENFERMEDADES MICÓTICAS

Los hongos acuáticos frecuentemente se consideran invasores tisulares secundarios que siguen a las lesiones traumáticas, a los agentes infecciosos o a las agresiones ambientales como la mala calidad del agua.

Enfermedad	Síntomas	Causa	Tratamiento
Saprolegniasis	Los peces infectados muestran crecimientos blanco grisáceos de aspecto algodonoso en la piel, las branquias, ojos o aletas, que pueden invadir tejidos corporales más profundos.	Pueden aparecer posteriormente a las condiciones descriptas arriba.	Las medidas preventivas comprenden la eliminación de las causas predisponentes, incluyendo la higiene inadecuada, el tratamiento químico excesivo o la presencia de peces muertos infectados y el material orgánico en descomposición. Si el ambiente está limpio y los microorganismos de la piel se han eliminado, un único tratamiento con permanganato potásico es adecuado frecuentemente para controlar esta enfermedad.

En caso de detectar alguna de estas enfermedades, aislar los peces enfermos en un estanque de cuarentena, limpiar y desinfectar con cloro 0,1% los estanques, mangueras de aireación y difusores, evitando la contaminación cruzada.

El agua a utilizar en el acuario de cuarentena debe ser la misma del acuario principal. Si el pez está enfermo, puede que sus defensas no toleren un cambio del tipo de agua. Es importante que este acuario esté oscuro, ya que quitará energía a los parásitos.

Luego determinar qué patógeno está presente, medicar según cada caso.

Si la enfermedad persiste, sacrificar todos los peces por sobredosis de benzocaína y armar con peces nuevos los nuevos cultivos (Blanco, 2005)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almirón, A.E., S.E. Gómez & N.I. Toresani (1992) Peces de agua dulce de la provincia de Buenos Aires. 1-29 p. En: H.L. López & E.P. Toni (eds.). Situación ambiental de la provincia de Buenos Aires 2(12). Buenos Aires, Argentina.
- Baigún, C., López, G., Domanico, A. (2002) Presencia de *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842), una nueva especie brasílica en el norte de la Patagonia (río Limay) y consideraciones ecológicas relacionadas con su distribución. *Ecol. Austral.* 12 (1):.41-48. <http://www.scielo.org.ar/scielo.php/>
- Blanco, A. (2005) Enfermedades y tratamientos para peces. <http://peces-tropicales.idoneos.com/index.php/Enfermedades>
- Clough, G.(1986) The animal house: Design, equipment and environmental control. En: Poole, T.B., ed. UFAW (Universities Federation for Animal Welfare) handbook on the care and management of laboratory animals. 6th Ed. New York, NY: Churchill Livingstone Inc.: 108-158.
- Documento de Campo 10: Manual -el cultivo y uso de artemia en acuicultura, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB474S/AB474S00.htm>
- Emmens (1993) Mi Acuario paso a paso, Ed Hispano Europea.
- Gómez, S.E. (1996) Resistenza alla temperatua ea alla salinitá in pesci Della provincia di Buenos aires (Argentina,), con implicazioni zoogeo grafiche. En: Convegno Natzionale Associaziones Itaiana Ittiologia Acque Dolci, 4, Trento, Att. Istituto Agrario di S. Michele all' Aldige. 171-192
- <http://www.iucn.org>
- <http://www.sib.gov.ar>
- IRAM (Instituto Argentino de Normalización y Certificación) (2008) Calidad ambiental-Calidad del agua. Determinación de la toxicidad letal aguda de sustancias en peces de agua dulce. Método semiestático. Norma N° 29112/2008
- Lucinda, P.H.F. (2005) Systematics of the genus *Cnesterodon* Garman, 1895 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Poeciliinae). *Neotrop. Ichthyol.* 303-311.
- Mastrángelo M.M. y Ferrari L. (2013) *Cnesterodon decemmaculatus* Juveniles as Test Organisms in Toxicity Assessment: Cadmium Case. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 91(1): 49-54.

-
- Martty, H. (1997) "El Acuario de Agua Fría" , Ed Albatros.127 pp
- Molero, A.M. y Pisanó, A. (1987) Estudios de desarrollo de *Cnesterodon decemmaculatus* (Poecilidae) Rev. Brasil. Biol. 47: 115-125.
- Quintans, F. (2009) Preferencia alimenticia de *Cnesterodon decemmaculatus* y su rol como agente de control biológico de mosquitos. Tesis para optar al Título de Magíster en Ciencias Ambientales. Universidad de la República Facultad de Ciencias Maestría en Ciencias Ambientales. Montevideo, Uruguay, pp 64.
- Ringuelet, R.A.; Aramuru, R.H. y Alonso Aramburu, A. (1967) Los peces de agua dulce. *Comision de investigaciones de la Provincia de Buenos Aires*, 602 pp.
- Sorgeloos, P.; Lavens, P.; Leger, P.; Tackaert, W. y Versichele, D. (1986) Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. Programa de Cooperación Gubernamental FAO - ITALIA. Universidad del Estado de Gent, Bélgica - Facultad de Agronomía.

AGRADECIMIENTOS

Merecen agradecimiento muchos colegas que, a lo largo de los años, generosamente compartieron con nosotros su experiencia en la cría y mantenimiento de las madrecitas y otros peces; y especialmente el Lic. Martín da Silva por su desempeño responsable y continuo en campo y en laboratorio con el cuidados de los peces de nuestros cultivos.

Agradecemos también al programa de Pasantías Internas Rentadas de la UNLu, del que fueron beneficiarios algunos de los autores de este documento, el Departamento de Ciencias Básicas de la UNLu y al financiamiento otorgado por ANPCyT (PICT2012/1207).

Manual de procedimiento básico para la cría de *Cnesterodon decemmaculatus* en laboratorio

Benítez, Jésica

Ficella, Milagros

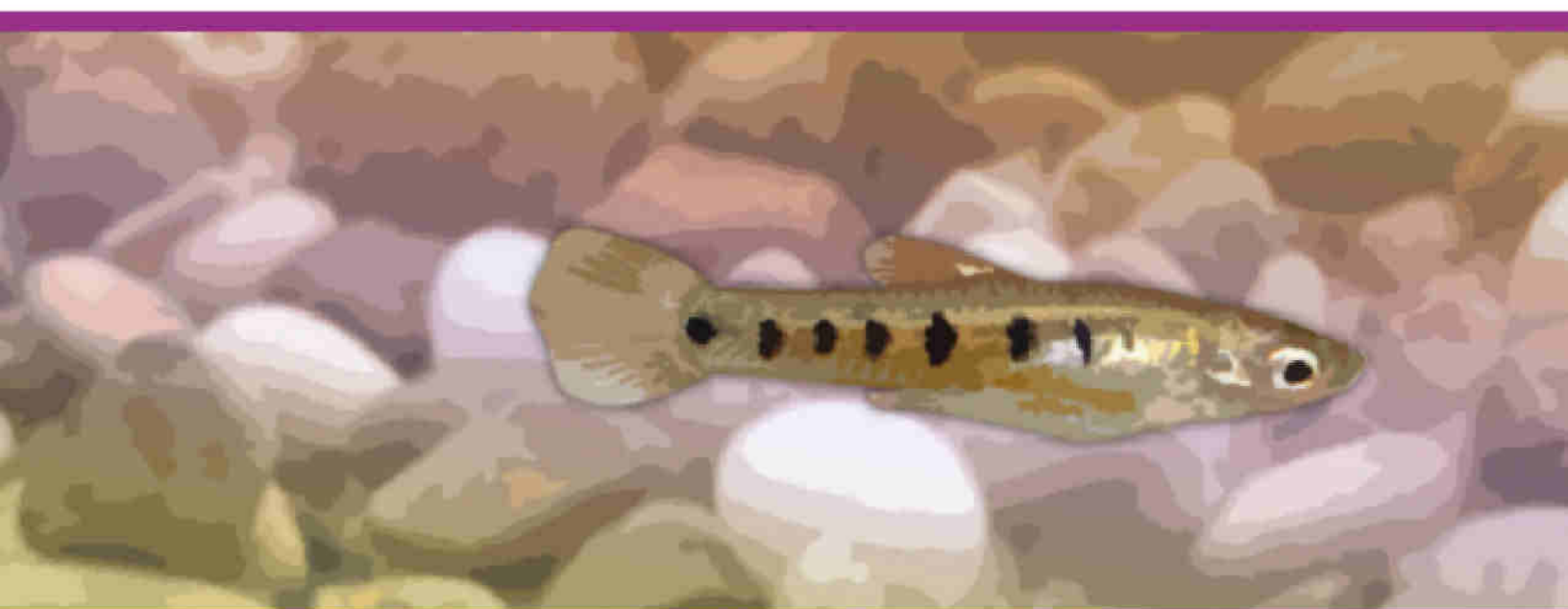
Mastrángelo, Martina

Palacio, Mauro

Somma, Agustín

Tripoli, Luis

Compiladora: Ferrari Lucrecia



ISBN 978-987-3941-20-7



9 789873 941207