

## DETERMINACIÓN DE REGIONES DE BAJA Y ALTA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES VIRALES CON PROBLEMAS RECURRENTES EN GRANJAS CAMARONÍCOLAS DEL ESTADO DE SINALOA

*Martha Rodríguez Gutiérrez, Araceli Cortés García, Denise Contreras García, Vicente Ampudia Rueda, Ma. Luisa Serrano Islas y A. Karina Rodríguez Vicente*  
 Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

### INTRODUCCIÓN

La producción anual de camarón se ha incrementado en los últimos años (Figura 1), debido entre otras cosas a su cultivo en expansión, causado por el valor comercial del producto a partir de la demanda local, nacional e internacional.

En nuestro país se ha concentrando la producción en los Estados de Sinaloa y Sonora en los que se ubica aproximadamente el 90% de las granjas.

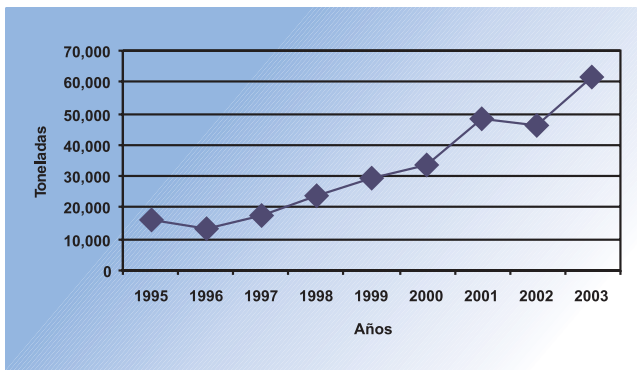


Figura 1. Volumen de la producción de camarón por acuicultura

Por la importancia de este recurso, se realizó el análisis de la información generada por los Laboratorios de la RED en el Estado de Sinaloa, tratando de encontrar indicadores sobre la incidencia de enfermedades en este estado.

La labor no fue fácil ya que la información no es continua, lo que dificulta su interpretación, pero a pesar de ello se presentan resultados que son de utilidad para entender la problemática que enfrenta la industria en la zona de estudio.

### PROPÓSITO

La Red de Diagnóstico del PRONALSA, en quién la SAGARPA – CONAPESCA a través de la Dirección de Organización y Fomento, se apoya para el diagnóstico y prevención de enfermedades, ha estado realizando monitoreos sanitarios en todo el país. A partir de esta información, se planteó la evaluación sanitaria en el Estado de Sinaloa para establecer algunos de los factores de riesgo que determinan el disparo de enfermedades virales por ser consideradas como las de mayor riesgo, debido al impacto que causan en la mortalidad llegando a ser hasta del 100%.

### METODOLOGÍA

A partir de todos los registros de los laboratorios de la RED DE DIAGNÓSTICO que operaron en el Estado de Sinaloa durante los años 2001 - 2004 obtenidos de los Formatos Únicos de los respectivos informes hasta el 2003 y del Sistema de Información para el 2004 (Figura 2), de los que se extrajeron los resultados sobre las enfermedades virales: Síndrome de Taura; (STV), Mancha Blanca (WSSV), Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (IHHNV).

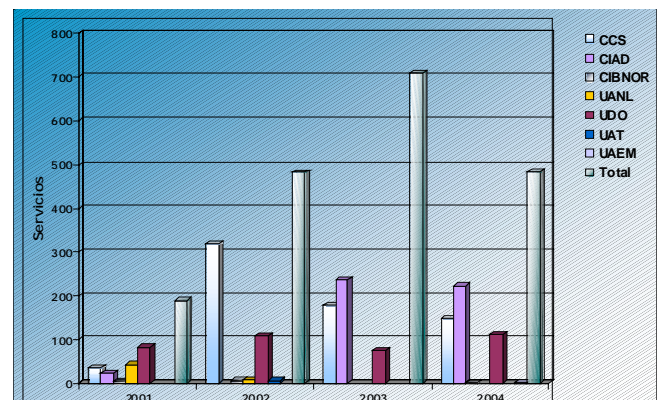


Figura 2. Servicios realizados por la RED 2001-2004 en el Estado de Sinaloa

Para cada año se cuantificó el número de granjas que hicieron muestreos en más de una ocasión y que tenían registros en los dos semestres del año; con el fin de establecer el grado de incidencia considerando nula cuando no había enfermedades, baja cuando solo se registraba un virus independientemente del número de veces que se diagnosticaba, media cuando había la presencia de dos virus y alta cuando se identificaban tres.

Para este estudio, se consideró como recurrencia cuando se diagnosticó el mismo virus en los diferentes años: siendo baja cuando solo se determinó en una ocasión; media cuando en dos periodos y alta, cuando fue mayor a dos.

También se hizo el análisis de la información recabada durante los cuatro años para cada granja, utilizando los mismos criterios, sin embargo, fue difícil el establecer la condición de nula, baja, mediana y alta incidencia, ya que los registros de los años 2001 y 2002, no contienen todas las granjas muestreadas en el 2003 y 2004 y viceversa, aún así, los resultados con estas reservas, son referentes de la situación sanitaria de las granjas estudiadas.

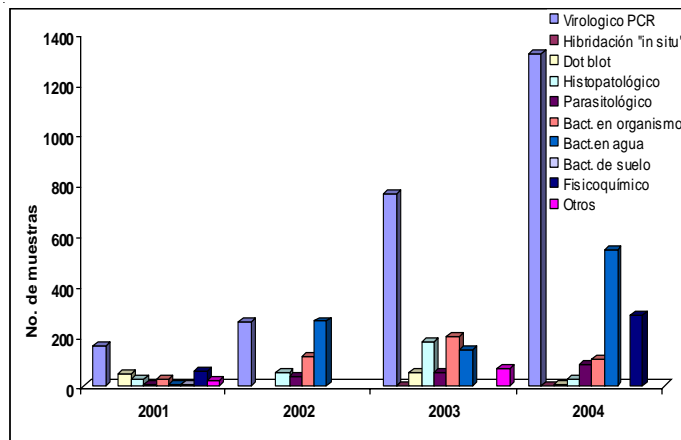
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El análisis de resultados se presenta por municipio, comparando el total de granjas que recibieron servicios por los laboratorios de la RED, el número de granjas que se diagnosticaron positivas y si fueron muestreadas durante el año 2001 – 2004 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Servicios realizados entre los diferentes laboratorios de la RED en el periodo 2001-2004

Servicios por los laboratorios de la RED												
Municipios	Total de Granjas registradas en el padrón de SAGARPA	2001			2002			2003		2004		
		Nc. de granjas c/diagnóstico (+)	Muestrados todo el año	Nc. de granjas c/diagnóstico (+)	Muestrados todo el año	Nc. de granjas c/diagnóstico (+)	Muestrados todo el año	Nc. de granjas c/diagnóstico (+)	Muestrados todo el año			
AHOME	45	4	2	16	5	3	28	20	4	22	17	
ANGOSTURA	21	2	1	7	2	2	9	6	1	3	1	
CULIACÁN	38	1	1	12	6		20	9	2	12	2	
ELOTA	8			4	2		4	3	1	3	1	
ESQUINAPA	6						3					
EL FUERTE							1	7	2			
GUASAVE	67	2	1	10	8		8	13	8	4	3	
MAZATLÁN	7	5	3	4	4		19	8	5	4	2	
NAVOLATO	41	7	5	3	26	8	10	17	3	1	7	3
ROSARIO	9						3				2	
SAN IGNACIO	4											
SALVADOR ALVARADO											3	1
<b>TOTAL</b>	<b>246</b>	<b>21</b>	<b>11</b>	<b>79</b>	<b>31</b>	<b>14</b>	<b>112</b>	<b>60</b>	<b>20</b>	<b>17</b>	<b>60</b>	<b>17</b>

En la figura 3 se presentan los servicios realizados en cuanto al tipo de estudios, si bien los virales son importantes, es necesario conocer los resultados con relación a otras posibles enfermedades, ya que en ocasiones éstas facilitan la entrada de las virales. En esta figura, se destaca como los estudios virológicos realizados por PCR año tras año han ido aumentando, siguiendo como segundo lugar el bacteriológico.



**Figura 3.** Estudios realizados en la fase operativa 2001-2004

Como se muestra en la Tabla 2, en el periodo 2002 y 2003 hubo mayor reincidencia de WSSV, mientras que IHNV se presentó en los municipios de Ahome, Angostura, Mazatlán y Navolato, y solo en una granja de Guasave y Angostura se presentó el TSV, mientras que en el año 2002 y 2004 se presentaron en la totalidad de las granjas de Ahome, Mazatlán y Navolato la baja incidencia y recurrencia de enfermedades virales.

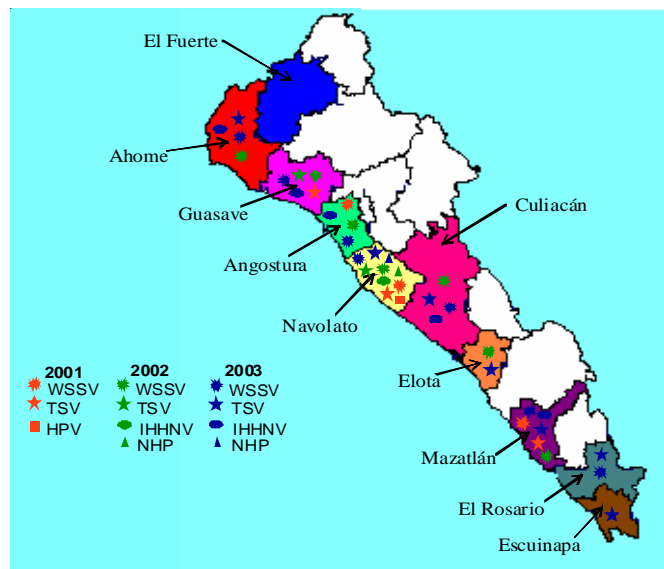
**Tabla 2.** Reincidencia de enfermedades virales en el periodo 2001 – 2004

Municipio	Granja o solicitante	Resultados			
		2001	2002	2003	2004
Ahome	1		WSSV	IHNV	
Ahome	2		WSSV	WSSV	
Ahome	3		WSSV	WSSV	WSSV
Angostura	4	WSSV	LIBRE	TSV WSSV IHNV	WSSV
Angostura	5	LIBRE	WSSV	WSSV	
Culiacán	6		WSSV	WSSV	
Guasave	7		WSSV	WSSV	WSSV
Guasave	8		WSSV TSV	WSSV	
Mazatlán	9	WSSV		IHNV	
Navolato	10	WSSV	IHNV	WSSV	IHNV
Navolato	11		WSSV	WSSV	

El análisis demostró la presencia de IHNV en el año 2002 en una granja de Navolato; para 2003 también se diagnosticó en granjas de Ahome, Angostura, Culiacán, Guasave, Navolato y Mazatlán. Para el año 2004, solo se diagnosticó en una granja de Mazatlán y otra del Rosario.

Las cifras anteriores denotan como los patógenos que en la actualidad son la causa principal de problemas de sanidad acuícola en Sinaloa, han extendido su cobertura. En 2001, WSSV se detectó Angostura, Mazatlán y Navolato; para 2002 además de en éstos, también se le localizó en Ahome, Culiacán, Guasave, La Cruz de Elota, y Navolato y en 2003 su presencia abarca un punto geográfico mas: El Rosario. Con TSV se observa un fenómeno similar, en 2001 se le localiza en Guasave, Mazatlán y Navolato; en 2002 sólo se observó en muestras de Guasave y Navolato y en

2003 se registraron epizootias de este patógeno en Ahome, Culiacán, Escuinapa, Guamuchil, La Cruz de Elota, Mazatlán, Navolato y El Rosario. De igual manera, el análisis revela el retorno de IHHNV. En 2002 se detecta un brote en granjas de Navolato; para 2003 los brotes también se dan en granjas de Ahome, Angostura, Culiacán, Guasave y Mazatlán (Figura 4).



**Figura 4.** Se muestra la ubicación geográfica de los puntos de detección de patógenos en granjas dedicadas al cultivo de camarón en Sinaloa, durante el periodo estudiado.

Finalmente, es clara la evolución del servicio que presta la Red a través de los Centros de Diagnóstico incorporados. Puede detectarse como se va incrementando el número de Laboratorios con prestación de servicios especializados en la detección de patógenos que afectan las poblaciones acuáticas en cultivo; pero sobre todo como se ha diversificado esta oferta en el servicio. Asimismo, sobresale el hecho de que existe un patrón permanente hacia la ampliación de la cobertura, el cual no solo se debe al mayor número de Laboratorios en operación sino también a la creciente cultura de la prevención de los acuacultores lo cual, denota la importancia que están dando los productores de camarón al examen permanente de sus cultivos con objeto de obtener mayores rendimientos y así estar en posibilidad de ofrecer al mercado nacional e internacional, un producto de alta calidad.

## CONCLUSIONES

En 2001, WSSV se detectó en Angostura, Mazatlán y Navolato; para 2002 además de en éstos municipios, también se le localizó en Ahome, Culiacán, Guasave, La Cruz de Elota y Navolato.

En el 2003 incrementa su presencia en el Rosario. Para 2004, la mayor incidencia de WSSV se diagnosticó en las granjas del Municipio de Ahome seguido de Guasave, Culiacán y Mazatlán.

Con respecto al TSV se observa un fenómeno similar, en el 2001 se detectó en Guasave, Mazatlán y Navolato; en 2002 sólo se diagnosticó en Guasave y Navolato y en 2003 se registraron epizootias de este patógeno en Ahome, Culiacán, Escuinapa, Guamuchil, La Cruz de Elota, Mazatlán, Navolato y El Rosario. En el 2004 el TSV estuvo presente en granjas de Ahome y Guasave.

Hay granjas que reincidentemente presentan enfermedades virales, siendo conveniente asesorarlas en sus procesos de producción.

## RECOMENDACIONES

Estos resultados se deben de tomar con reservas, ya que se carece de información que los fortalezcan como por ejemplo: el origen de las postlarvas en cada granja para verificar si las enfermedades virales que reportan venían del laboratorio o estaban presentes en la granja o durante el manejo se infectaron, por otro lado es deseable también cruzar la información con el número de larvas sembradas y el de recambios de agua a fin de establecer parámetros que auxilien en el manejo, así como la producción final que se obtuvo en cada una de ellas refiriéndola a kilos por hectárea a fin de ser comparativas.

También es necesario tomar en cuenta que no se tiene información que precise si las muestras son del mismo estanque o no, lo que dificulta la interpretación; así como, que en ocasiones están solo dos muestras: una por cada semestre así como el tamaño de la muestra, lo anterior se debe de considerar a la hora de la interpretación de los resultados.

En el año 2000, todavía había algunas granjas en el Estado de Sinaloa que engordaban camarón silvestre, afortunadamente esta práctica se ha eliminado y en la actualidad el origen de las larvas es de laboratorio. Sin embargo, aún falta por hacer un diagnóstico de por lo menos cuatro veces al año a cada laboratorio productor que demuestre de esta manera que están libres de patógenos de difícil control como son los Vibrios, el NHP y desde luego cualquiera de los virus propios del camarón como el TSV, WSSV y IHHNV.

## LITERATURA CITADA

Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Coordinación de la Red de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades de Organismos Acuáticos a Nivel Nacional. 2001. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Informe Final. Tomo I – IV. 560 págs

Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Coordinación de la Red de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades de Organismos Acuáticos a Nivel Nacional. 2002. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Informe Final. Tomo I – IV. 525 págs

Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Coordinación de la Red de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades de Organismos Acuáticos a Nivel Nacional. 2003. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Informe Final. Tomo I – IV. 595 págs

Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Coordinación de la Red de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades de Organismos Acuáticos a Nivel Nacional. 2004. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Informe Final. Tomo I – IV. 425 págs.

## DETECCIÓN DE NECROSIS HEPATOPANCREÁTICA (NHP) EN CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* EN GRANJAS DE SONORA POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

José Cuauhtémoc Ibarra Gámez,  
Lucio Galavíz Silva, Zinnia Judith Molina Garza  
y Cecilia Luna Badillo  
Instituto Tecnológico de Sonora

### RESUMEN

El cultivo de camarón en Sonora, en los últimos cinco años ha tenido pérdidas económicas de 80 millones de dólares aproximadamente debido a problemas de tipo patológicos ocasionados por el Virus de la Mancha Blanca en combinación con la rickettsia causante de la Necrosis Hepatopancreática. Es por eso, que el objetivo principal de este estudio es el de detectar en forma temprana a la rickettsia causante de la Necrosis Hepatopancreática en cultivo de camarón mediante técnicas moleculares, se llevaron a cabo muestreos de camarones en cinco diferentes granjas resultando todas las muestras positivas por PCR para la Necrosis Hepatopancreática con una mortalidad de alrededor del 30% en el ciclo de cultivo.

### INTRODUCCIÓN

En Sonora la camaronicultura comercial inició en 1987 con alrededor de 340 hectáreas, teniendo un crecimiento acelerado, en el año de 1998 se contaba con 4600 hectáreas, llegando a tener 15,300 hectáreas en el 2003. En la región sur de Sonora, en el año 2001, 2002 y 2003 la industria sufrió pérdidas económicas entre el 70-80%, ocasionado por problemas de tipo patológico teniendo mortalidades promedio del 60% debido principalmente al Virus de la Mancha Blanca combinado con la rickettsia causante de la Necrosis Hepatopancreática, con pérdidas estimadas en alrededor de 80 millones de dólares.

En la actualidad, el gran impulso que ha tenido la camaronicultura no ha sido igual al desarrollo de la sanidad acuícola, por lo que existe la necesidad de enfrentar la problemática del diagnóstico oportuno de las enfermedades con la finalidad de prevenir o controlar epizootias en los organismos cultivados. Es por eso que el objetivo principal

de este estudio es determinar la presencia oportuna de la rickettsia causante de la Necrosis Hepatopancreática en *Litopenaeus vannamei* cultivado en granjas de Sonora mediante técnicas moleculares.

### ANTECEDENTES

La Necrosis Hepatopancreática es una enfermedad importante en la economía de las granjas camaroneras. La enfermedad fue reconocida por primera vez en Texas en 1985, inicialmente fue denominada como hepatopancreatitis granulomatosa. Posteriormente, fue reportada en ciudades de América Latina, en las costas del Océano Pacífico y Atlántico, incluyendo Brasil, Costa Rica, Ecuador, Panamá, Perú y Venezuela (Johnson, 1989; Frelie *et al.*, 1992).

Loy *et al.* (1996), detectaron el agente etiológico de NHP en cultivos de *L. vannamei* mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa. Amplificaron por PCR un segmento definido del gen 16S rRNA ribosomal usando primers específicos para las regiones variables (V5, V8 y V9), pf-1 5' ACG TTG GAG GTT CGT CCT TCAG 3', pr-1 5' TCA CCC CCT TGC TTC TCA TTG T 3', pr-2 5' CCA GTC ATC ACC TTT TCT GTG GTC 3', usando como molde de DNA extraído de tejido de camarones obtenidos de dos regiones diferentes (Norte y Sur América), obteniendo segmentos de 660 y 441 bp específicos de bacteria NHP de 16S rDNA. Adicionando el análisis de RFLP a los productos y comparándolos con productos obtenidos de muestras purificadas en gradiente de sucrosa de la bacteria NHP previamente usadas para reproducir la enfermedad (Frelie *et al.*, 1993), demostrando que las infecciones causadas en camarones de Texas y Perú son causadas por la misma bacteria.

Recientemente Briñez *et al.* (2003), diagnosticaron la presencia de NHP en *L. vannamei* desarrollando un método basado en PCR utilizando DNA purificado de muestras fecales infectadas como moldes, para tal propósito utilizan primers específicos para la región 16S del gen RNA ribosomal (pf-1 1:5 ACG TTG GAG GTT CGT CCT TCA-g 3' / pr- 2:5' TCA CCC CCT TGC TTC TCA TTG T 3'), para confirmación, amplificaron DNA extraído de block de parafina con NHP, obteniendo como resultados positivos segmentos de 440 bp.

### MATERIAL Y MÉTODO

#### Descripción del área de estudio

En la figura 1 se muestra el área de estudio de cinco granjas camaronícolas, Acción Acuícola (a), Acuícola Lobos (b), Loma de Félix (c), Acuícola Lombardo (d) y granja Don Fili (e). Ubicadas en el sur de Sonora, las cuales se encuentran aproximadamente a 70 Km. de Cd. Obregón. El muestreo en las granjas fue dirigido principalmente a camarones moribundos o que tenían alguna sintomatología o apariencia externa, aparentemente infectados con esta rickettsia. Se transportaron en nitrógeno líquido al Laboratorio de Patología Molecular, ubicado en la Unidad

B de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

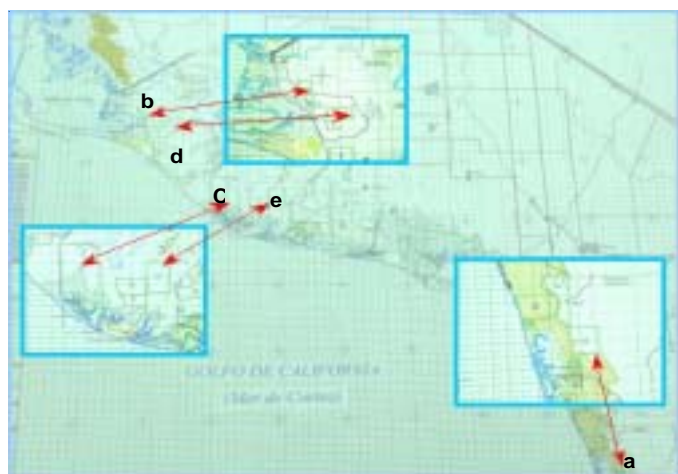


Figura 1. Ubicación de las granjas donde se realizaron los muestreos

### Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

**A) Extracción de Templado de DNA para PCR.** El DNA fue extraído de los hepatopancreas de *Litopenaeus vannamei* infectados con Hepatopancreatitis necrozante, utilizando el estuche 'High Pure PCR Template Preparation Kit' (Roche Diagnostic). Finalmente se conservó en el tubo de reacción el DNA el cual puede ser usado de inmediato o conservado a 4° C hasta el momento de ser utilizado para el PCR.

**B) Selección de iniciadores para la reacción.** Se utilizaron dos oligonucleotidos que reconocen regiones variables del gen 16S rDNA de la bacteria NHP y amplifican un producto de 209 bp. Los primers fueron sintetizados de acuerdo a las secuencias nucleotídicas citadas por Loy y Frelier (1996), confirmándose previamente los sitios de anillamiento de los primers en la región ribosomal 16S RNA de la rickettsia en el GenBank (acceso N°. UAU65509). La secuencia de primer delantero (f 27) es 5' ACATGCAAGTCGAACGCAATAGG y la secuencia del primer reverso (r 235) es 5' ACAGATCATAGGCTTGGTAGGCTG.

**C) Control positivo.** Se utilizó como control positivo el DNA de la NHP contenido en el kits ShrimPCaRe™ Múltiplex Primer Kit DiagXotics® Inc. El cual contiene un set de primers que amplifican a 312 pb y que además contiene como control interno, una región del DNA de camarón que amplifica a 506 bp las cuales sirven como patrón en la reacción de amplificación.

**D) Control Negativo.** Consistió en agua desionizada, estéril (IMSS).

**E) Amplificación del DNA.** Las muestras de DNA usadas en el proceso de amplificación totalizaron 0.2- a 0.3 mg/ml, agregándose 1 µl de primer mix a la mezcla de reacción, la cual se llevo a cabo utilizando el método Ready-to-Go™ RT-PCR Beads (Amersham Biosciences) a un volumen final de 25 µl, 200 µM. La amplificación se efectuó en un termociclador Thermal block II.

**F) Electroforesis en gel de Agarosa.** Los productos del PCR fueron evaluados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Se adicionó bromuro de etidio (1 mg/ml), buffer de corrida TBE 0.5X, se utilizó DNA Ladder 100 (Invitrogen). El tiempo de corrida fue de 30 minutos a 100 V para adquirir la resolución necesaria, el gel es removido y colocado sobre un transiluminador de luz UV, se toma la foto Polaroid al gel para interpretar los resultados.

### RESULTADOS

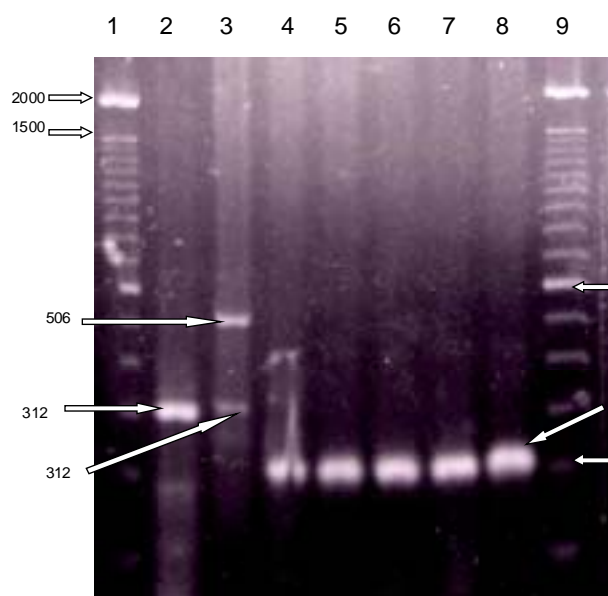


Figura 4. Gel de agarosa al 1%, carril 1: marcador de bp Lader 100, carril 2: control positivo de DiagXotics® Inc. que amplifica a 312 bp, carril 3: PCR múltiplex amplificando a 506 bp para tejido de un camarón sano y a 312bp para el DNA de NHP, carril 4, 5, 6, 7, 8: muestras positivas de las granjas de Sonora amplificando a 209 bp y carril 9: marcador de bp Ladder 100

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los últimos años la camaronicultura en Sonora ha tenido fuertes pérdidas económicas debido a diferentes enfermedades principalmente por virus, bacterias y rickettsias como NHP. En el 2003, en granjas del sur de Sonora se han observado mortalidades significativas en la producción por causa de esta última enfermedad causada por una bacteria relativamente pequeña, altamente pleomórfica, intracelular, gram negativa (Krol *et al.*, 1991; Frelier *et al.*, 1992; Lighthner *et al.*, 1992) en la que se han distinguido dos variantes morfológicas.

La forma más numerosa está constituida por pequeñas barras pleomórficas carentes de flagelos y la otra forma que es helicoidal, con ocho flagelos sobre la cúspide basal de la bacteria y un flagelo adicional (o posiblemente dos) sobre la cresta de la hélice (Krol *et al.*, 1991; Frelier *et al.*, 1992).

Las muestras analizadas mediante la técnica de PCR resultaron positivas ya que amplificaron a 209bp de acuerdo a los primers utilizados por Frelier y Loy (1996), f27: 5' ACATGCAAGTCGAACGCAATAGG y r235: es 5' ACAGATCATAGGCTTGGTAGGCTG, los cuales reconocen regiones variables del gen 16SrDNA de la bacteria NHP y amplifican a 209 bp, confirmándose previamente los sitios de anidamiento de los primers en la región ribosomal 16S RNA de la rickettsia en el GenBank.

Se concluye que el DNA amplificado, corresponde al de la rickettsia NHP reportada en Perú y Texas, USA, y que las mortalidades reportadas en los estanques de las granjas camaronícolas de Sonora son causadas por NHP, ampliando la distribución geográfica de este microorganismo y reportando a la rickettsia NHP por vez primera en México, como patógeno de camarón bajo condiciones de cultivo.

#### LITERATURA CITADA

Bríñez, B., Aranguren, F. y Salazar, M. 2003. Fecal Samples DNA Source for The diagnosis of necrotizing Hepato-Pancreatitis (NHP) in P. V. Broods-Tock, Vol. 55: 69-72.

Frelier, P. F., Loy, J. K. y Bell, T. A. 1992. Treatment of necrotizing hepato-Pancreatitis in *Penaeus vannamei*. Proc Int Coloq Pathol Mar Aquacult 5:30.

Frelier, P. F., Loy, J. K. y Kruppenbach, R. 1993. Transmission of necrotizing hepato-Pancreatitis in *Penaeus Vannamei* J. Invertebr. Path. 61:44-48.

Frelier, P. F., Loy, J. K. y Lawrence, A. L. 1994. Status of necrotizing hepato – Pancreatitis in Texas farmed shrimp, *Penaeus vannamei*. Proc World Aquacult Soc.

Johnson, S. K. 1989. Digestive gland manifestations, p.16 in SK Johnson (ed) Hadbook of shrimp diseases, Sea Grant College Program, Texas A&M University, Galveston, Texas.

Krol, R. M., Hawkins, W. E. y Overstreet, R. M. 1991. Rickettsial and mollicute infections in hepatopancreatic cells of cultured Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* J. Invertebr. Pathol. 57 :562-370.

Lighther, D. V., Redman, R. D. y Bonami, J. R. 1992. Morphological evidence for a Single bacterial etiology in Texas necrotizing hepatopancreatitis in - *Penaeus Vannamei* (Crustacea :Decapoda) Dis.Aquat. Org. 13:235-239.

Loy, J. K., Frelier, V. P. y Templeton, J. W. 1996. Detection of etologi agent of Necrotizing hepatopancreatitis in cultured P.V. from Texas and Peru By polymerasa chain reaction Dis Aquat. Org 25:117-122.

## USO DE LA TÉCNICA DE COLORACIÓN TRICROMICA DE GOMORI EN LA IDENTIFICACIÓN DE *Trichodina y Chilodonella* (Protozoa: Ciliophora) EN PIEL Y BRANQUIAS DE PECES CULTIVADOS

Feliciano Segovia Salinas y  
Fernando Jiménez Guzmán

Universidad Autónoma de Nuevo León

### INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una industria en expansión que actualmente contribuye de manera importante a la economía de muchos países. El interés sobre los microorganismos asociados con los peces y mariscos se centra esencialmente en los parásitos, incluyendo a los protozoarios. Las enfermedades de peces cultivados ha presentado problemas de manejo debido al confinamiento al que están expuestos tanto en el acuario como en el estanque de cultivo (Plumb, 1979). Algunas dependencias o empresas privadas estiman que el 10% de los peces cultivados se pierden debido a enfermedades infecciosas que pueden ser prevenidas, de aquí el interés de dar a conocer una técnica de coloración sencilla y barata que ayude a identificar las enfermedades causadas por protozoarios principalmente que los conozcan y aplique todo el personal que se ocupa del diagnóstico y cultivo de peces.

Cualquiera que sea la razón para estudiar a los microorganismos, es necesario emplear los mejores métodos disponibles, aún así, tales técnicas frecuentemente son conocidas sólo por un grupo minoritario de investigadores y la publicación de éstos métodos pudo haber sido en revistas desconocidas que no son fácilmente disponibles a todos los interesados o haber quedado inéditos en cuadernos de laboratorio; sin embargo, no puede exagerarse la importancia del uso de métodos apropiados para el aislamiento y caracterización de bacterias, hongos, virus y protozoarios (Austin y Austin, 1998).

Siempre que sea posible es mejor observar los organismos vivos, pero si esto no fuera posible, la fijación y tinción son técnicas auxiliares que se aplican cuando el material debe ser conservado durante largo tiempo o cuando se desean examinar estructuras que no resultan claramente visibles en el objeto vivo como en el caso del núcleo celular (Bucke, 1998).

La técnica de coloración de Tricrómica de Gomori es usada comúnmente en el diagnóstico de parasitosis intestinales y análisis coproparasitológicos de heces humanas dando excelentes resultados para la identificación de quistes de protozoarios (Melvin y Brooke, 1971). En el caso de enfermedades causadas por especies de protozoarios catalogadas como parásitos como *Trichodina fultoni* y

*Chilodonella hexasticha*, es muy importante no descartar su presencia en el lote de peces monitoreados ya que su omisión diagnóstica de seguro ocasionará pérdidas económicas cuantiosas, las cuales fácilmente pueden ser evitadas con un diagnóstico sencillo y eficiente de trofozoitos con la técnica de coloración de Tricrómica de Gomori modificada para organismos acuáticos.

#### ANTECEDENTES

En México existen pocos reportes relacionados a enfermedades de peces. En el extranjero se han realizado diversas investigaciones principalmente relacionadas a la identificación, patología y tratamiento de patógenos entre ellos los protozoarios de peces de acuario y bagre de canal *Ictalurus punctatus* entre otros géneros de peces cultivados en la zona noreste de México.

Melvin y Brooke (1971) informa que la técnica de coloración tricrómica de Gomori es un método rápido que da buenos resultados en los estudios ordinarios de frotis de heces, el colorante es estable y puede utilizarse varias veces, tiñen más de 15 frotis al día (en 50ml de colorante). La principal diferencia entre la tinción de materias frescas y fijadas en PVA es que estas necesitan mas tiempo que las fijadas en Schaudinn.

Reichenbach-Klinke (1975) reporta las características diagnósticas de algunas de las principales enfermedades de los peces, según su localización encontrando comúnmente en piel enrojecimiento superficial cuando está *Trichodina* y el *Ichthyophthirius* y formación excesiva de moco cuando se encuentra *Chilodonella* y *Trichodina* compartiendo el mismo hábitat.

Rogers (1979) informa que las enfermedades causadas por protozoarios del género *Trichodina* están catalogadas entre las más significativas de todas las enfermedades parasitarias en peces, identifica a éste por su anillo denticulado típico tanto para las especies que afectan a peces de acuario y a otros hospederos como el bagre de canal, así mismo reporta a este género como causante de mortalidades extensas y que las epizootias están usualmente asociadas con el deterioro de la calidad de agua.

Jiménez *et al.* (1986), mencionan que el diagnóstico en el bagre de canal se basa en los síntomas clínicos como son la opacidad de la piel o branquias del pez, como una delgada película de moco cuya cantidad depende de la intensidad de la infección y se corrobora mediante la observación al microscopio compuesto. La observación de 10 a 15 parásitos por campos vistos de 100 - 400 aumentos se considera caso severo de infección.

Las principales enfermedades parasitarias de peces son la chilodoneliasis causada por protozoarios de la especie

*Chilodonella hexasticha* y *C. ciprini* y la Tricodiniasis causada por varias especies del género *Trichodina* (Jiménez *et al.*, 1988).

Rogers (1979) para el género *Chilodonella* menciona que el diagnóstico se basa en la forma redondeada y de corazón, ataca piel, branquias y tiene hilera de cilios paralelos a lo largo de los lados del cuerpo.

Jiménez *et al.* (1992), mencionan los aspectos etiológicos y patológicos de las enfermedades de los peces. Así mismo describen los factores que se interrelacionan para que en un momento dado se establezca una enfermedad, por ejemplo las condiciones de medio ambiente, temperatura, gases disueltos en el agua, eutroficación, aguas residuales, pesticidas, contaminación industrial y sobrepoblación. También reportan que los agentes etiológicos sobre el hospedero pueden causar efectos irritativos o inflamatorios en la superficie del cuerpo (*Trichodina* y *Ichthyophthirius*), y que si ésto ocurren en las branquias, la irritación trae como consecuencia un aumento de moco y producen asfixia de los peces en los tanques o estanques de cultivo.

Segovia y Jiménez en 1992, mencionan que para detectar ectoparásitos (*Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina sp.*, *Ambiphrya*, *Epistylis* y *Chilodonella*) de diversas especies de trucha, se recomienda examinar piel y branquias con la ayuda del microscopio compuesto. Para conservarlos por más tiempo recomiendan utilizar fijadores como el Schaudinn, y su posterior tinción con colorantes Tricrómico, Hematoxilina Delafield y Van Cleave.

Segovia y Jiménez en 1992 reportan claves para la determinación clínica de las enfermedades más comunes en la trucha, basado en la mortalidad en masa; mortalidad esporádica; cuando tienen inquietud general; suben a tomar aire a la superficie; pereza, poca movilidad; pérdida de peso; aletas deterioradas, piel (decoloración, obscurecimiento, descamación, úlceras, petequias, hemorragias, necrosis, mucosidad, quistes, nódulos); Ojos (deformación, manchas, opacidad de la córnea, exoftalmosis); branquias y filamentos branquiales; cavidad abdominal; vísceras y sangre.

Jiménez, *et al.*, 2002, dieron a conocer mediante un taller de técnicas de diagnóstico presuntivo de enfermedades de camarón, dónde se reportan brevemente las técnicas tradicionales de diagnóstico clínico o de laboratorio presuntivo las cuales requieren un mínimo de material y pueden apoyar a la identificación de enfermedades virales, vibriosis, micosis, epibiontes y protozoarios. En la mayoría de las técnicas presuntivas se usan técnicas citológicas, por ejemplo las células normales del epitelio cuticular muestran un núcleo pequeño y de forma constante, mientras que las de epitelio branquial son de forma irregular; en ambos casos la cromatina es uniforme y finamente granulada.

**OBJETIVO**

Uso de la técnica de coloración Tricrómica de Gomori como una herramienta para la identificación de protozoarios ciliados de los géneros *Trichodina* y *Chilodonella* con base a la observación de caracteres morfológicos típicos como el macronúcleo, anillo denticulado e hileras ciliares longitudinales.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

La técnica de coloración tricrómica de Gomori descrita por Melvin y Brooke (1971) se describe a continuación con algunas modificaciones realizadas específicamente para la detección de protozoarios ciliados del género *Trichodina* y *Chilodonella* habitando piel y branquias de peces cultivados en acuarios o estanques.

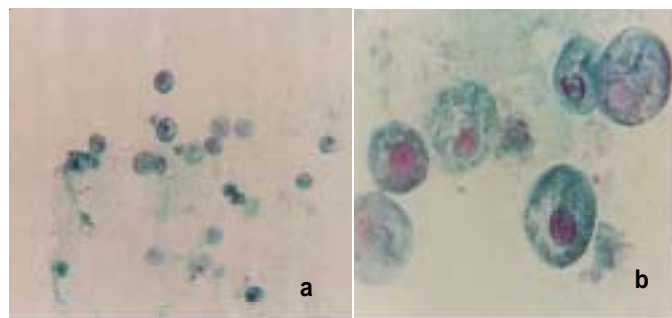
1. Tomar muestras de piel o branquias en fresco o fijadas en formol al 10%, realizando macerados, los cuales sin dejarlos secar, son fijados con spray para Papanicolau. Se guardan en cajas de laminillas o se procesan directamente para deshidratación en dos pasos de alcohol etílico al 70% (por 1 minuto cada uno)
2. Colorante tricrómica (1 a 8 minutos).
3. Alcohol al 90 por 100 acidificado por 10 a 20 si está sobreteñido o hasta que el frotis ya no pierda colorante.
4. Alcohol de 95 o 100 por 100 (Enjuagar 2 veces).
5. Alcohol de 100 por 100 y carboxilol (1 minuto en cada paso)
6. Xilol (1 minuto o hasta que desaparezca la refracción en la interfase frotis – xilol y se pueda montar en resina sintética de secado rápido).

Para la identificación de los protozoarios ciliados del género *Trichodina* y *Chilodonella* se usaron los criterios propuestos por Lucky (1977), Jiménez *et al.*, (1986 y 1988a-b) y Segovia *et al.*, 1992; Stevens y Lowe (1993) y Elroy (1992).

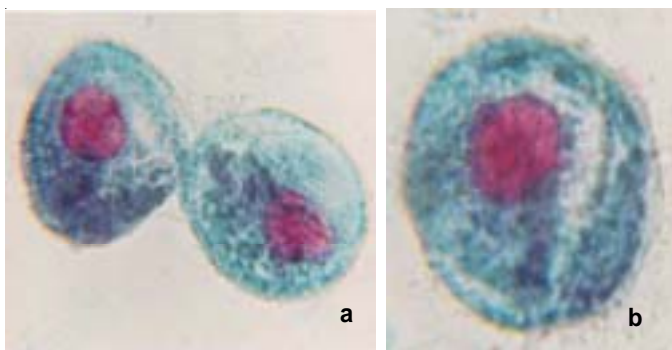
**RESULTADOS**

Se investigó la Técnica de Tinción de Tricrómico de Gomori para su uso en el diagnóstico de caracteres morfológicos útiles para identificar a los protozoarios *Trichodina* y *Chilodonella* parásitos de piel y branquias de peces de acuario denominados Carpa Koi; Japonés fantasía; telescopio rojo y cultivados como el bagre de canal.

El primer género identificado en base a la observación de las estructuras morfológicas teñidas con la Tinción Tricrómica de Gomori fue *Chilodonella* sp., el cual presentaba trofozoitos en el tejido epitelial en peces de acuario (Figura 1a), con necrosis tisular (Figura 1b), macronúcleo redondeado y citoplasma granular (Figura 2a), con hileras ciliares y macronúcleo típico (Figura 2b) y ciliatura bucal típica del género (Figura 3a).

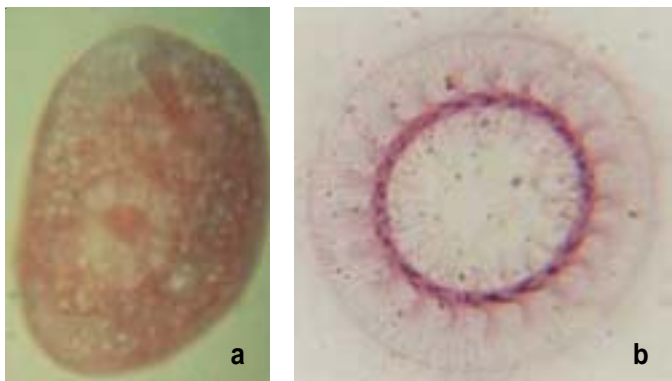


**Figura 1. a)** Trofozoitos de *Chilodonella* sp. en tejido epitelial de peces de acuario. 100X y **b)** *Chilodonella* sp. de forma redondeada y macronúcleo redondeado 400X. Tinción Tricrómica de Gomori

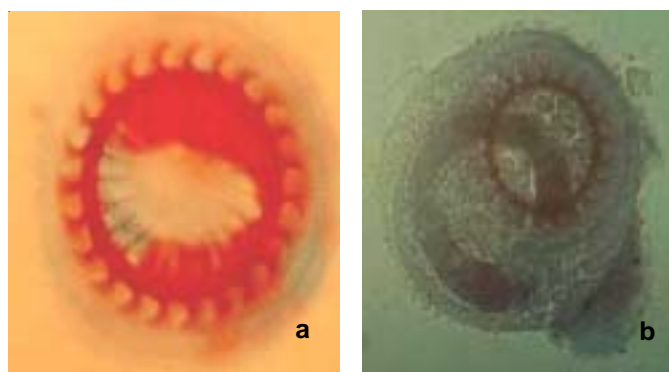


**Figura 2. a)** Trofozoito de *Chilodonella* redondeado con macronúcleo y citoplasma granular 1000 X. y **b)** Trofozoitos con hileras ciliares y macronúcleo típico del género *Chilodonella* 1000X. Tinción Tricrómica de Gomori

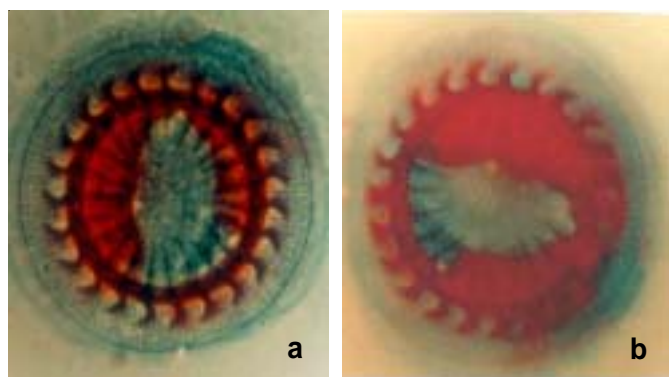
En el género *Trichodina* se observó su presencia en la piel de peces de acuario, y su anillo denticulado típico (Figura 3b); con trofozoitos con el macronúcleo en forma de herradura en la parte posterior del cuerpo (Figura 4a), ó montado uno sobre otro con ciliatura externa bien definida en muestras obtenidas en peces cultivados (Figura 4b), y con el anillo denticulado, ciliatura externa y macronúcleo típicos del género (Figura 5a y b).



**Figura 3. a)** Ciliatura bucal, macronúcleo y citoplasma de *Chilodonella*. 1000X y **b)** Género *Trichodina* sp. en piel de peces de acuario. Se observa anillo denticulado típico. 400X. Tinción Tricrómica de Gomori



**Figura 4. a)** Trofozoitos de *Trichodina* sp. con el macronúcleo en forma de herradura en la parte posterior del cuerpo y anillo denticulado obtenido de peces de acuario 400X y **b)** Ciliado del género *Trichodina* con anillo denticulado y macronúcleo uno sobre otro con ciliatura externa bien definida; obtenido de peces cultivados 1000X. Tinción Tricrómica de Gomori



**Figura 5. a)** Trofozoito del ciliado *Trichodina* obtenido de peces cultivados con los caracteres morfológicos típicos del género 1000X. y **b)** Trofozoito del ciliado *Trichodina* obtenido de peces cultivados. 1000X. Tinción Tricrómica de Gomori

## DISCUSIÓN

En ésta investigación se identificaron a los géneros *Trichodina* y *Chilodonella* en piel y branquias de peces de acuario y bagre de canal capturados en Nuevo León, México. A los protozoarios se les ha descrito como causantes de cambios patológicos manifestándose con coloración anormal, hemorragias diversas, inflamación y producción excesiva de una capa de mucus blanco grisáceo. Jiménez *et al.* (1986) reportaron que las infecciones por *Trichodina* y *Chilodonella* son esencialmente similares a las de *Costia* causando irritación de la piel y epitelio branquial, que resulta en hiperplasia y degeneración tardía. Por esta razón, los estadios del ciclo de vida de los protozoarios no siempre son fáciles de detectar con técnicas estándar de tinción como la de Hematoxilina y Eosina (H & E), aunque algunas como la Tricrómica muestran a la mayoría de los grupos de protozoarios incluyendo algunos quistes o esporas maduras detectables con los colorantes Giemsa o Gram (Bucke, 1971, 1988 y 1998).

En otros casos diagnósticos de enfermedades en peces se mencionan comúnmente para ciliados de piel, branquias y raramente en tracto urinario, los métodos de examen en fresco donde puedan notarse caracteres morfológicos típicos como el macronúcleo, ciliatura, citostoma usando fijación en alcohol sublimado y tinción con hematoxilina Delafield o Heidenhain y montaje en Bálsamo de Canadá para la identificación de *Ichthyophthirius*, *Chilodonella*. Otra forma es el uso de nitrato de plata al 1-2%, hospederos parásitados, sitio de infección, número de dientes para ciliados como *Tripartiella*, *Trichodinella* y *Trichodina* según lo descrito por Lucky (1977).

En el caso de la tinción de protozoarios en organismos acuáticos y otros patógenos usando la técnica de Tricrómica de Gomori o algo similar como la Tricrómica de Masson existen pocos trabajos al respecto. Para el diagnóstico de parásitos en moluscos en particular ostras, se han usado la Tinción de Tricrómico Rápido en un paso de Gomori usando el fijador de Bouin y Davidson y los colorantes Cromótropo 2R, Verde rápido FCF por un tiempo de coloración de 15 a 20 minutos, usando colorante Hematoxilina férrica de Weigert, Verde luz, Azul de anilina, además de Hematoxilina para la Tricrómica de Masson (Bucke, 1988). En ésta investigación se usó la Tricrómica de Gomori descrita por Melvin & Brooke (1982), pero sin usar el colorante Hematoxilina y la fijación se realizó con fijador citológico en spray usado para la técnica de Papanicolau.

## CONCLUSIONES

1. La Técnica Tricrómica de Gomori fue de utilidad para el diagnóstico de protozoarios ciliados de los géneros *Trichodina* y *Chilodonella*, así como de sus caracteres morfológicos característicos de ambos parásitos.
2. Para el género *Trichodina* fue fácilmente observable el macronúcleo en forma de herradura con coloración rojiza y el anillo denticulado en la parte central del cuerpo.
3. En el caso del parásito *Chilodonella* se detectó claramente el macronúcleo en forma redondeada color rojizo y ciliatura longitudinal en la parte lateral del cuerpo del ciliado.

## LITERATURA CITADA

Austin, B. y Austin, D. A., 1988. Introducción general. En; Metodos para el análisis microbiológico en peces y mariscos. Editada en Departamento de Ciencias Biológicas Universidad Heriot - Walt, Edimburgo, Escocia. Traducida por Alfonso Esquivel Herrera y Martha Rodríguez Gutiérrez. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. pp. 1-3.

Bucke, D. 1972. Histological Techniques aplicable to fish tissues. In: Mawdesley-Thomas, L.E. (ed.) Diseases of Fish Symp. Zool. London. No. 30: pp. 153-189.

Bucke, D. 1988. Pathology of the Bonamiasis. Parasitology Today. Vol. 4. pp. 174-176.

Bucke, D., 1998. Histology. En; METODOS PARA EL ANALISIS MICROBIOLOGICO EN PECES Y MARISCOS.. Editada en Departamento de Ciencias Biológicas Universidad Heriot - Walt, Edimburgo, Escocia. Traducida por Alfonso Esquivel Herrera y Martha Rodríguez Gutiérrez Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. pp. 47-66.

Elroy, D. M. A. 1992. Chapter 17 Connective Tissue. In: Laboratory Methods in Histotechnology. Edited by Prophet E.B., Mills, B., Arrigton J.B., Sobin L.H., Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C. pp. 127-132.

Jiménez, G.F., Galaviz S.L., Segovia S.F., Garza F.H., Wesche E.P. 1986. Parásitos y Enfermedades del Bagre. Publicación Técnica No. 1. FONDEPESCA-Facultad de Ciencias Biológicas U.A. N. L. Impreso en Talleres Gráficos de la Nación, México D.F. pp. 237.

Jiménez, G. F., Galaviz S. L., Segovia S. F. 1988a. Parásitos y Enfermedades de la Lobina. Publicación Técnica No. 2. FONDEPESCA – Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L. Impreso en Talleres Gráficos de la Nación, México D. F. pp. 137.

Jiménez, G. F., Garza F. H., Segovia, S. F., Galaviz S. L. Iruegas B. F., Adame J. M., Salinas L. N. 1988b. Parásitos y Enfermedades del Bagre. Publicación Técnica No. 3. FONDEPESCA – Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L. Impreso en Talleres Gráficos de la Nación, México D. F. pp. 237.

Jiménez, G. F., Galaviz S. L. y Segovia S. F., 1992, Parásitos y enfermedades de la trucha: aspectos etiológicos y patológicos de las enfermedades de los peces. Publicación Técnica No. 4 Universidad Autónoma de Nuevo León – Secretaria de Pesca. Impreso en la Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L., pp. 1-5

Jiménez G. F., S. L. y Galaviz S. L., Segovia S. F., Garza G. H. 1988. Sanidad Acuícola: Manual Introductoria a la Sanidad Piscícola. FONDEPESCA – Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L. pp 261.

Jiménez G. F., Ibarra G.C., Segovia S. F., 2002, Manual de Técnicas de Diagnóstico Presuntivo de Enfermedades de Camarón. ISA; CESASIN; PAC, UANL, Culiacán, Sinaloa, México pp 24.

Lucky Z. 1977. Methods for the Diagnosis of Fish Diseases. Translated for the Fish and Wild life Service, United States

Department of the Interior, USA. Edited by Dr. Glenn L. Hoffman, Arkansas, USA. pp. 93-97.

Melvin, D.M. y Brooke M.M. 1971. Métodos de Laboratorio para el diagnóstico de Parasitosis Intestinales. Primera Edición. Editorial Interamericana. pp. 120.

Plumb, J. A. 1979. In: Principal Diseases of farm-Raised Catfish. Southern Cooperative Series No. 225. pp. 5-6.

Reichenbach-Klinke, H. H. 1975. Claves para el diagnóstico de las enfermedades de los peces. Editorial Acribia, Zaragoza-España. pp. 4-58.

Rogers, W. A., 1979. PROTOZOAN PARASITES. In: Principal Diseases of farm-Raised Catfish. Southern Cooperative Series No. 225. pp. 34-38.

Segovia, S. F. y Jiménez G. F., 1992, Parásitos y enfermedades de la trucha: CLAVES PARA LA DETERMINACION CLINICA DE LAS ENFERMEDADES MAS COMUNES EN LA TRUCHA. Publicación Técnica No. 4 Universidad Autónoma de Nuevo León – Secretaria de Pesca. Impreso en la Facultad de Ciencias Biológicas U. A. N. L., pp. 120

Stevens, A. y Lowe, J. 1993, Texto y Atlas de Histología, Editorial DOYMA, pp. 378.

## LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN EN PATOLOGÍA ACUÁTICA DEPARTAMENTO DE RECURSOS DEL MAR UNIDAD-MÉRIDA

*Leopoldina Aguirre Macedo, Rossanna Rodríguez Canul, Victor Vidal Martínez, Raul Sima Alvarez, Clara Vivas, Rodríguez, Jorge Güemez Ricalde, Gregory Arjona Torres, Juan Antonio Pérez Vega*

El grupo de patología acuática tiene como principal objetivo el diagnóstico, tratamiento y estudio epidemiológico de agentes causales de enfermedades de organismos acuáticos silvestres y cultivados tanto marinos como dulceacuícolas de la Península de Yucatán.

En el laboratorio se han implementado y estandarizado técnicas convencionales y moleculares para identificación de organismos causales de enfermedades en organismos acuáticos. Una vez identificado el agente, se determina entre otras cosas, los daños histológicos que produce en sus hospederos (peces, ranas, camarones). Se evalúan sus prevalencias, abundancias y se establecen etiologías de las enfermedades para posteriormente, proponer métodos efectivos de control (aislamiento de bacterias, antibiogramas, bioensayos, etc).

El grupo es reconocido como tercer especialista aprobado por la SAGARPA/ CONAPESCA para el diagnóstico del virus de enfermedades en el cultivo del camarón (Virus de la Mancha Blanca, virus de la cabeza amarilla y detección de residuos de cloranfenicol) de acuerdo a la NOM-EM-006-PESC-2004. También es considerado por la misma institución como experto en el diagnóstico y prevención de introducción de enfermedades de peces en sistemas de cultivo por el movimiento de organismos de una región a otra del país así como por la importación de especies exóticas.

Dentro de los aspectos básicos se estudia la filogenia, taxonomía clásica y molecular de helmintos parásitos de peces, incluyendo monogéneos, tremátodos y nemátodos así como sus ciclos de vida en la naturaleza y en condiciones de laboratorio; los procesos que determinan la estructura de las comunidades de helmintos de peces tanto marinos como dulceacuícolas y los elementos predecibles de las comunidades de helmintos incluyendo la aplicación de modelos nulos (p. ej. anidamiento, co-ocurrencia de especies, estructura espacial). Así también estudia actualmente el papel de los helmintos y /o sus comunidades como indicadores de impacto ambiental (Figura 1).

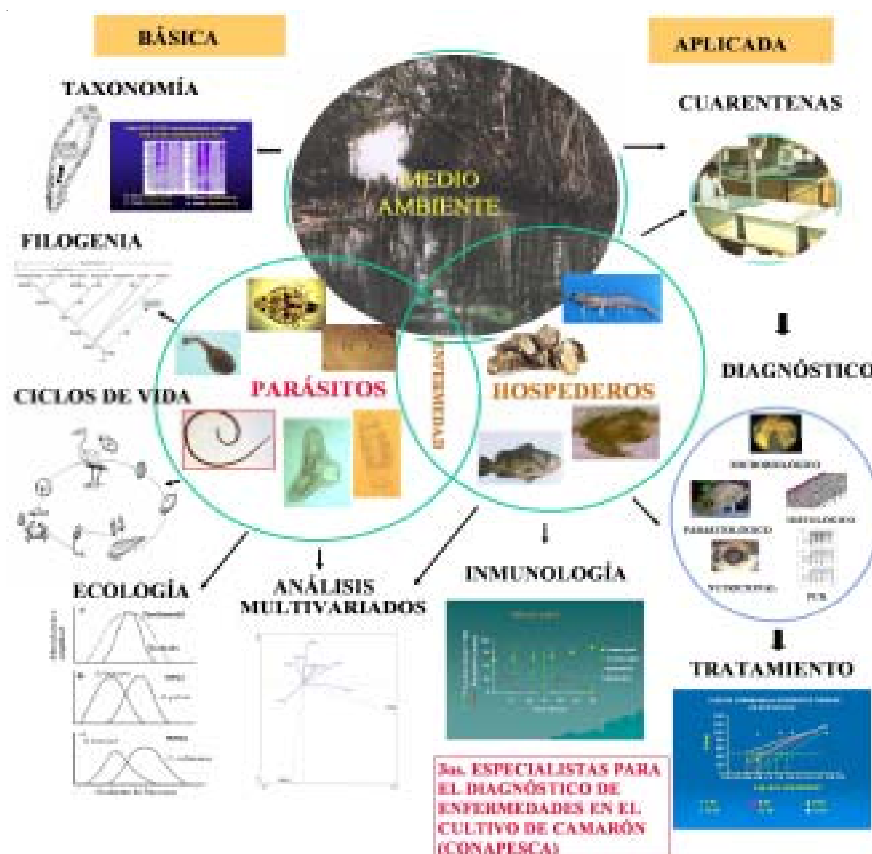


Figura 1. Líneas de investigación en patología acuática

**CONTENIDO**

**PAG.**

**DETERMINACIÓN DE REGIONES DE BAJA Y ALTA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES VIRALES CON PROBLEMAS RECURRENTE EN GRANJAS CAMARONÍCOLAS DEL ESTADO DE SINALOA**

1

Martha Rodríguez Gutiérrez, Araceli Cortés García, Denise Contreras García, Vicente Ampudia Rueda, Ma. Luisa Serrano Islas y A. Karina Rodríguez Vicente  
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

**DETECCIÓN DE NECROSIS HEPATOPANCREÁTICA (NHP) EN CAMARÓN *Litopenaeus vannamei* EN GRANJAS DE SONORA POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA**

4

José Cuauhtémoc Ibarra Gámez, Lucio Galavíz Silva, Zinna Judith Molina Garza y Cecilia Luna Badillo  
Instituto Tecnológico de Sonora

**USO DE LA TÉCNICA DE COLORACIÓN TRICROMICA DE GOMORI EN LA IDENTIFICACIÓN DE *Trichodina* y *Chilodonella* (Protozoa: Ciliophora) EN PIEL Y BRANQUIAS DE PECES CULTIVADOS**

6

Feliciano Segovia Salinas y Fernando Jiménez Guzmán  
Universidad Autónoma de Nuevo León

**LINEAS DE INVESTIGACIÓN EN PATOLOGÍA ACUÁTICA DEPARTAMENTO DE RECURSOS DEL MAR UNIDAD-MÉRIDA**

11

Leopoldina Aguirre Macedo, Rossanna Rodríguez Canul, Víctor Vidal Martínez, Raul Sima Alvarez, Clara Vivas, Rodríguez, Jorge Güemez Ricalde, Gregory Arjona Torres, Juan Antonio Pérez Vega  
Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del IPN - Unidad Mérida

**COMITÉ EDITORIAL**

MOISÉS GÓMEZ REYNA  
DIRECTOR GENERAL DE ORGANIZACIÓN Y FOMENTO

JUAN ANTONIO PÉREZ HERNÁNDEZ  
DIRECTOR DE FOMENTO ACUÍCOLA  
CONAPESCA-SAGARPA

MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ  
COORDINADORA DE LA RED DE DIAGNÓSTICO

**RESPONSABLES DE EDICIÓN**

MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ  
COORDINADORA DE LA RED DE DIAGNÓSTICO  
UAM—XOCHIMILCO

DENISE CONTRERAS GARCÍA  
ARACELI CORTÉS GARCÍA  
ANA KARINA RODRÍGUEZ VICENTE  
UAM—XOCHIMILCO

**DIRECTORIO**

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN (SAGARPA)

LIC. FRANCISCO JAVIER MAYORGA CASTAÑEDA  
SECRETARIO DE LA SAGARPA

ING. RAMÓN CORRAL ÁVILA  
COMISIONADO NACIONAL DE ACUACULTURA Y PESCA

LIC. MOISÉS GÓMEZ REYNA  
DIRECTOR GENERAL DE ORGANIZACIÓN Y FOMENTO

LIC. TONATIUH GRANADOS SAMANIEGO  
DIRECTOR DE FOMENTO E INCENTIVOS A LA PRODUCCIÓN

BIOL. JUAN ANTONIO PÉREZ HERNÁNDEZ  
DIRECTOR DE FOMENTO ACUÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO

DR. LUIS MIER Y TERÁN CASANUEVA  
RECTOR GENERAL

DR. CARLOS RICARDO SOLÍS GONZÁLEZ  
SECRETARIO GENERAL

M. EN C. NORBERTO MANJARREZ ÁLVAREZ  
RECTOR DE LA UNIDAD XOCHIMILCO

DR. CUAUHTÉMOC PÉREZ LLANAS  
SECRETARIO DE LA UNIDAD XOCHIMILCO

M. EN U. ROSA MARÍA NAJERA  
DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FIS. MARCO ANTONIO ZEPEDA  
SECRETARIO ACADÉMICO

M. EN C. AURORA CHIMAL HERNÁNDEZ  
JEFA DEL DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE

M. EN C. MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ  
LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA ACUÍCOLA

Consúltenos en: <http://www.xoc.uam.mx/pronalsa>

**DIRECTORIO DE INSTITUCIONES PARTICIPANTES EN LA RED DE DIAGNÓSTICO**

Centro de Ciencias de Sinaloa (CCS)  
Dra. Martha Zarain Herzberg  
Tel. 01(667)712 29 39  
e-mail: martha@computo.ccs.net.mx

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)  
Dr. Jorge Hernández López  
Tel. 01(622) 221 22 37 Ext.23  
e-mail: jhlopez04@cibnor.mx

Universidad de Occidente (UDO)  
Dra. Josefina Audelo del Valle  
Tel. 01 (668) 816 10 00  
e-mail: jaudelo@mochis.udo.mx

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD)  
M. en C. Leobardo Montoya  
Tel. 01(669) 988 01 57  
e-mail: montoya@victoria.ciad.mx

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)  
Dr. Jorge A. Cáceres Martínez  
Tel. 01(646)174 50 50 ext. 244 44  
e-mail: jcaceres@cicece.mx

Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I. P. N Unidad Mérida (CINVESTAV)  
Dr. Víctor Manuel Vidal Martínez  
Tel: 01(999) 98 12 960  
e-mail: vvidal@km.cieamer.conacyt.mx

Universidad Autónoma Metropolitana  
Unidad Xochimilco (UAM-X)  
M. en C. Martha Rodríguez Gutiérrez  
Tel. 01 (55) 54 83 74 94  
e-mail: rogm0211@correo.xoc.uam.mx

Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL)  
Centro Nacional de Sanidad Acuicola  
Dr. Fernando Jiménez Guzmán  
Tel/Fax. 01(818) 359 35 77  
e-mail: toxicologíaacuatica@hotmail.com

Universidad de Sonora (USON)  
I. Q. León Armando Pérez Alvidrez  
DICTUS. Tel. 01(662) 212 19 95  
e-mail: lperez@guayacan.uson.mx

Universidad Autónoma de Tamaulipas (UAT)  
Dr. Gabriel Aguirre Guzmán  
Tel. 01 (834)312 50 78  
e-mail: gabaguirre@uat.edu.mx

Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) CIESA  
M. en C. Celene Salgado Miranda  
Tel. 01(722)29 655 55  
e-mail: salgadamiranda@uaemex.mx

Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON)  
Dr. José Cuauhtémoc Ibarra  
Tel: 01(644) 410 09 00 Ext. 2100-04  
e-mail: jibarra@itson.mx

NOTA: Invitamos a nuestros lectores a enviarnos artículos sobre temas de interés de Sanidad Acuicola, así como sus sugerencias, acerca de este boletín a: BIOL. JUAN ANTONIO PÉREZ. Av. Camarón Sábalo s/n Esq. con tiburón, Col. Sábalo Country. C. P. 82100, Mazatlán, Sinaloa México. e-mail: jperezh@conapesca.sagarpa.gob.mx y/o M. EN C. MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ. Dpto. El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100. Col. Villa Quietud. Del. Coyoacán, C. P. 04960, México D. F. e-mail: rogm0211@correo.xoc.uam.mx