

CONTENIDO	PÁGS.
DESARROLLO DE UNA PRUEBA DE PCR ANIDADA PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA EN CAMARONES PENEIDOS <i>Dra. Josefina Audelo del Valle, Biol. María Isabel Peinado García y Dr. Fernando Montiel Aguirre</i> Laboratorio de Estudio y Diagnóstico Molecular de la Universidad de Occidente	2
EFFECTOS DE <i>Vibrio parahaemolyticus</i> SOBRE CAMARÓN BLANCO DE CULTIVO (<i>Litopenaeus vannamei</i>) <i>Gabriel Aguirre-Guzman, Ned Ivan de la Cruz-Hernandez, J. Genaro Sanchez-Martinez, Roberto Perez-Castañeda, Pablo Gonzalez-Alanis, Julio Martinez-Burnes, Ma. de la Luz Vazquez-Sauceda, Jaime L. Rabago-Castro</i> Universidad Autónoma de Tamaulipas	5
IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE CÉLULAS HEMÁTICAS DE <i>Cichlasoma urophthalmus</i> (GÜNTHER, 1862) POR MEDIO DE TÉCNICAS CITOQUÍMICAS <i>Raúl Antonio Sima Álvarez, Jorge Ivan Güemes Ricalde, Olivia Figueroa Yeh</i> Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN- Unidad Mérida	8
VACÍO SANITARIO COMO MEDIDA DE BIOSEGURIDAD PARA REDUCIR EL RIESGO DE REINFECCIÓN VIRAL EN CENTROS CAMARONÍCOLAS <i>Leobardo Montoya Rodríguez y Ma. Cristina Chávez Sánchez</i> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Unidad Mazatlán	12
DIÁLOGOS SOBRE LA ACUACULTURA <i>Martha Zarain Herzberg</i> Centro de Ciencias de Sinaloa	15
EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE LA PRESENCIA DE BACTERIAS DEL GÉNERO <i>Vibrio</i> sp. EN AGUA DE GRANJAS CAMARONÍCOLAS DE SAN BLAS, NAYARIT <i>Ma. de Jesús Durán Avelar, Jorge Gutiérrez Franco, Alejandro Vázquez Reyes, Miriam Fabiola Ayón Pérez y Norberto Vibanco Pérez.</i> Universidad Autónoma de Nayarit	17

DESARROLLO DE UNA PRUEBA DE PCR ANIDADA PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA EN CAMARONES PENEIDOS

*Dra. Josefina Audelo del Valle, Biol. María Isabel Peinado García
y Dr. Fernando Montiel Aguirre*

Laboratorio de Estudio y Diagnóstico Molecular de la Universidad de Occidente

INTRODUCCIÓN

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), es en la actualidad una de las técnicas más sensibles y precisas utilizadas para la detección de patógenos virales. Se trata de la síntesis *in vitro* de ácidos nucleicos, en donde se utilizan como iniciadores de la reacción fragmentos del genoma buscado (primers); el proceso es catalizado por una enzima polimerasa. Esta técnica, desarrollada en 1983 por Kary Mullis, permite amplificar un fragmento de DNA específico sin necesidad de células bacterianas. El proceso de copiado opera en forma cíclica duplicando, en cada ciclo, la cantidad de DNA blanco. Así, permite obtener millones de copias de un segmento genómico en pocos minutos. La reacción se lleva a cabo separando la doble cadena de DNA para después utilizar, como molde de la copia, la cadena original de este ácido nucleico. El objetivo de la metodología es copiar de forma exponencial, el segmento genómico localizado entre los primers utilizados de manera que, al final del proceso, dicho segmento puede ser detectado mediante electroforesis (Innis *et al.*, 1990 y Karp. 1998).

Existen variantes de la técnica, entre éstas se encuentran el PCR simple ó de un solo paso, el de tipo anidado ó de dos pasos ó bien la reverso transcriptasa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). El PCR de un solo paso amplifica *in vitro* un fragmento genómico utilizando un par de primers, el resultado es la síntesis del segmento genómico ubicado entre éstos. A su vez el RT-PCR puede ser considerado un

PCR simple ó de un paso, en el cual la síntesis se realiza a partir de RNA, de manera que se incluye una fase de transformación del RNA en DNA complementario, empleando una reverso transcriptasa.

En el caso del PCR anidado, se trata de amplificar varios fragmentos genómicos utilizando dos ó más pares de iniciadores. Este proceso consta de dos reacciones de amplificación: en la primera se obtiene la síntesis de un solo segmento; la segunda reacción se realiza con la alineación de un segundo par de primers en el producto de la primera reacción, es decir, los segundos primers están inmersos ó anidados en el primer segmento amplificado. Por consiguiente en esta segunda fase del proceso se sintetizará uno ó dos fragmentos genómicos alojados en el producto de la primera reacción de síntesis.

Esta poderosa técnica de detección, proporciona resultados más precisos y confiables para la diagnosis temprana de patógenos virales. Con este objetivo, desde la aparición del Virus de la Mancha Blanca (WSSV), diferentes grupos de investigadores han diseñado pruebas para la detección de este agente infeccioso basadas en la PCR anidada. Tal es el caso del grupo del Dr. Lo, quienes en 1996, desarrollaron una técnica anidada de PCR para detectar la presencia del Virus del síndrome de la Mancha Blanca, la cual fue utilizada para analizar muestras de camarón cultivado y camarón silvestre, así como jaibas y otros artrópodos. La detección del Virus de la Mancha Blanca en muestras de camarón cultivado (*P.*

monodon, *P. japonicus*, *P. penicillatus*) y algunos casos de jaiba en cultivo (*Scylla serrata*) fue posible mediante la prueba de PCR de un solo paso, amplificando un fragmento de 1447 pb. Mientras que la detección del mismo patógeno en organismos silvestres como langostino (*M. rosenbergii*), camarón (*P. monodon*, *P. japonicus*, *P. semisurcatus*, *P. penicillatus*) y jaibas colectados en costas de Taiwán, sólo fue posible con la técnica de PCR anidada. Con esta misma prueba de dos pasos, también se pudo detectar al WSSV en copépodos, palemónidos y larvas de insectos de la familia *Ephydriidae* colectados en granjas de Taiwán afectadas por el virus (Lo *et al.*, 1996).

En este mismo sentido, el grupo de investigadores del Laboratorio de Estudio y Diagnóstico Molecular de la Universidad de Occidente desarrollaron la técnica que aquí se presenta. Para la cual se diseñaron primers anidados, en el fragmento de 1090 pb sintetizado en una primera reacción, para la detección del Síndrome de la Mancha Blanca en camarones peneidos. Por consiguiente, al final de esta reacción de síntesis anidada, se amplifica un segmento de 616 pb de longitud que se encuentra inmerso en el obtenido durante la primera reacción. El procedimiento permitió elevar, aún más, el grado de sensibilidad y especificidad de la técnica de PCR utilizada para la detección de WSSV en este Laboratorio.

DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

Extracción de ácidos nucleicos

La extracción de DNA se realiza según la metodología descrita por Montiel (1994), la cual consiste en la homogenización del tejido en buffer de lisis, (EDTA 100 mM ph 8.0, SDS 1% y TRIS 10 mM). Una vez obtenido el homogenizado, este se clarifica por centrifugación a 14,000 RPM. Después

se realiza una triple extracción: con fenol equilibrado, fenol-cloroformo (1:1) y cloroformo. La precipitación del DNA se realiza con alcohol isopropílico, y el lavado con alcohol etílico.

Amplificación

Para efecto de la amplificación, se emplea una mezcla de reacción compuesta por primer 1, primer 2, agua destilada estéril, mezcla compuesta por 10 mM de dATP, dCTP, dGTP y dTTP, buffer de PCR: Tris HCL 100 mM, MgCl₂ 15 mM, KCl 500 mM ph 8.3 y DNA a analizar. La Taq polimerasa se agrega después de un precalentamiento de la mezcla de reacción a 95° C. La reacción de amplificación se realiza en 35 ciclos, los cuales incluyen fase de desnaturalización a 95° C, alineación a 72° C y extensión a 55° C. La reacción se detiene, transcurridos los primeros 15 ciclos, para agregar el segundo par de primers y proceder con la segunda reacción de amplificación.

Visualización del producto de la amplificación

Los productos amplificados se visualizan a través de electroforesis en gel de agarosa al 0.8%, teñido con bromuro de etidio (Sambrook *et al.*, 1989). Mediante la aplicación de luz ultravioleta, en el gel, es posible observar los fragmentos genómicos amplificados en el proceso de síntesis llevado a cabo. Así pues, para las muestras de organismos en los que fue posible detectar la presencia del virus de la Mancha Blanca, se hacen evidentes dos segmentos: uno de 1090 pb producto de la primera reacción de síntesis y uno de 616 pb amplificado a partir del primer fragmento sintetizado, por lo tanto inmerso en esta región genómica del virus (Figura 1).

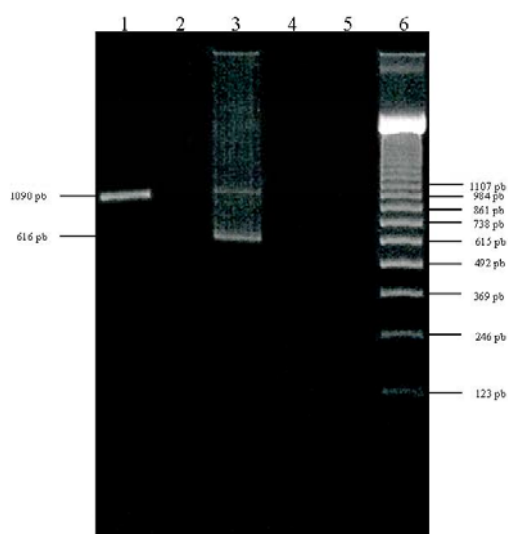


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %, de la prueba de PCR anidada diseñada para la detección del virus del Síndrome de la Mancha Blanca. Carril 1: resultado del análisis practicado a una muestra de camarón *L. vannamei*, afectado por WSSV; solo se utilizó un par de primers se trata de PCR de un solo paso. Carril 3: la misma muestra analizada con la prueba de PCR anidada, en la que se agregó un segundo par de primers, obteniéndose la síntesis de un fragmento de 616 pb alojado en el de 1090 pb amplificado en la primera reacción de síntesis. Carril 6: marcador de peso molecular.

LITERATURA CITADA

- Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White. 1990. PCR Protocol Cap. 2, Amplification of genomic DNA Academic Press, United States of America. pp 13-15.
- Karp, G. 1998. Biología Celular y Molecular. Capítulo 17, Técnicas en Biología Celular y Molecular. McGraw-Hill Interamericana, México. Pp 742-746.
- Lo C. F., C. H. Ho, S. E. Peng, H. C. Chen, H. C. Hsu, Y. L. Chiu, C. F. Chabg, K. F. Liu, M. S. Su, C. H. Wang y G. H. Kou. 1996. White Spot Syndrome Baculovirus (WSBV) Detected in Cultured and Captured Shrimp, Crabs and Other Artropods. *Diseases of Aquatic Organisms*. 27: 215-225.
- Montiel, F. 1994. Introducción a la Metodología del ADN Recombinante e Ingeniería Genética. Departamento de Bioquímica. Facultad de Química UNAM. Tercera edición. México.
- Nunnan L. M. y D. V. Lightner. 1997. Development of a non-radioactive gene probe by PCR for detection of white spot syndrome virus (WSSV). *Journal of virological Methods*. 63: 193-201.
- Rosenblum M. S., F. Pintado y H. C. Clifford. 1999. El Virus de la Mancha Blanca en México. *Super Shrimp*, S. A. de C.V. pp 1-8.
- Sambrook, K., E. F. Fristsh y T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning*. Cold Spg Harbor Laboratory Press. United States of America.
- Van Hulten M. C. W., J. Witteveldt, S. Peters, N. Kloosterboer, R. Tarchini, M. Fiers, H. Sandbrink, R. L. Klein y J. M. Vlák. 2001. The White Spot Syndrome Virus DNA Genome Sequence. *Virology*. 286: 7-22.
- Wang C. H., C. F. Lo, J. H. Leu., C. M. Chou, P. Y. Yeh, H. Y. Chou, M. C. Tung, C. F. Chang, M. S. Suy, G. H. Kou. 1995. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 13: 139-242.
- Wang Y. G., K. L. Lee, M. Najiah, M. Shariff y M. D. Hassan. 2000. A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* And its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Diseases of Aquatic Organisms*. 41: 9-18.

EFFECTOS DE *Vibrio parahaemolyticus* SOBRE CAMARÓN BLANCO DE CULTIVO (*Litopenaeus vannamei*)

Gabriel Aguirre-Guzman, Ned Ivan de la Cruz-Hernandez, J. Genaro Sanchez-Martinez, Roberto Perez-Castañeda, Pablo González-Alanis, Julio Martínez-Burnes, Ma. de la Luz Vázquez-Sauceda, Jaime L. Rabago-Castro
Universidad Autónoma de Tamaulipas

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es la actividad productiva de la cría y cultivo de especies marinas y dulceacuícolas, la cual ha experimentado un incremento importante en los últimos años. La gran demanda internacional que existe por camarón ha propiciado el desarrollo del cultivo de este organismo. Sin embargo, el crecimiento de esta industria se ve amenazada por el aumento en las enfermedades que afectan al camarón. La mortalidad generada por *Vibrio* puede llegar a ser significativa y reducir la producción de camarón (Aguirre y Ascencio 2000).

La patogenicidad expresada por los miembros del género *Vibrio* es muy variada. Al igual que otros patógenos, la enfermedad ocasionada por esta bacteria involucra la combinación de factores tales como la condición fisiológica del camarón, especie o cepa del patógeno que lo afecta y factores ambientales (Figura 1) (Karunasagar *et al.*, 1994).



Figura 1. Esquema de elementos básicos involucrados para la presencia de una enfermedad.

Los vibrios han sido asociados con la mortalidad de camarones peneidos en diferentes países del mundo (Tabla 1), siendo *V. harveyi* una de las especies más frecuentemente reportadas (Robertson *et al.*, 1998).

Moriarty (1999) reporta que esta especie de *Vibrio* generó importantes pérdidas en la producción de camarón y propició el posterior cierre de numerosas granjas camaronícolas en Filipinas. *Vibrio alginolyticus* ha sido reportado como un agente que afecta al caparazón y hepatopáncreas de camarones y langostas, mientras que *V. parahaemolyticus*, *P. damsela* y *V. mimicus* han causado importantes daños en todas las fases de cultivo del camarón (Vandenberghe *et al.*, 1999). El presente trabajo muestra los efectos de *V. parahaemolyticus* (cepa HL57), al usarse en forma controlada como agente patógeno de camarón.

Tabla 1. Especies de *Vibrio* que afectó la producción de camarón en los últimos 20 años

País	Año	Especie de <i>Vibrio</i>	Especie de Camarón
Tailandia	1985 1989-1990	<i>V. vulnificus</i> <i>V. harveyi</i>	<i>L. monodon</i> *
Japón	1988-1992	<i>V. penaeicida</i>	<i>M. japonicus</i>
Indonesia	1990	<i>V. harveyi</i>	<i>L. monodon</i>
Filipinas	1990-1993 1992-1994	<i>V. harveyi</i> y <i>V. parahaemolyticus</i> <i>V. harveyi</i>	<i>L. monodon</i> *
Taiwán	1993 1994	<i>V. harveyi</i> <i>V. alginolyticus</i>	<i>L. monodon</i> <i>L. monodon</i> y <i>M. japonicus</i>
Nueva Caledonia	1993	<i>V. penaeicida</i>	<i>L. stylirostris</i>
Ecuador	1993-1994	<i>V. harveyi</i>	<i>L. vannamei</i>
Australia	1994-1995	<i>V. harveyi</i> y <i>V. parahaemolyticus</i>	<i>L. monodon</i>
China	1995	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>L. orientalis</i>

MATERIAL Y MÉTODOS

Cepa Bacteriana y Condiciones de Cultivo

Una cepa de *Vibrio parahaemolyticus* (HL57), aislada originalmente de camarones enfermos, fue proporcionada por el Dr. Gomez-Gill (1998) de la colección de microorganismos de importancia acuícola (Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán). A fin de activar la cepa HL57 de congelación (-80° C), esta fue cultivada en agar LB (5 g L⁻¹ extracto de levadura, 10 g L⁻¹ triptosa, 20 g L⁻¹ agar, 2% NaCl) a 35° C por 24 h. Las colonias bacterianas fueron transferidas a 10 mL de solución salina estéril hasta obtener una absorbencia de 1 a 540 nm, equivalente a una concentración de 10⁹ ufc mL⁻¹ (Aguirre y Ascencio 2000).

Animales experimentales

Camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* (4-7 g de peso) fueron obtenidos de la granja comercial de Vista Hermosa (N 23°48'04.2" - W 97°53'35.6"), Tamaulipas, México (Figura 2). Los organismos fueron colectados con ayuda de una red tipo atarraya y transportados al área de bioensayos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas. Los camarones fueron aclimatados por 10 días en agua marina filtrada (27° C, pH 7.8-8.2, y 35‰) proveniente de la Presa, Soto La Marina, Tamaulipas. Los camarones fueron alimentados con una dieta comercial para camarón (35% de proteína, marca Purina).

Bioensayo de infección

Los camarones fueron infectados por medio de balneación con una solución bacteriana de 10⁶ ufc mL⁻¹ (Saulnier *et al.* 2000). Después de 2 h de exposición a la bacteria, los camarones fueron lavados en agua salina limpia y transferidos a peceras (10 camarones por pecera) con agua marina filtrada y aereación continua. El grupo control fue tratado de

la misma forma que fue señalada anteriormente, excepto por el uso de la bacteria. La mortalidad (%) de los camarones fue monitoreada por 240 h. Además de la mortalidad, los camarones infectados fueron evaluados histológicamente (H&E) conforme lo descrito por Álvarez *et al.* (2003). Los tejidos fueron fotografiados con la ayuda de un microscopio de luz (Carl Zeiss/Axiostar) y una cámara digital (Cannon, Powershot G6 PC1089).



Figura 2. Vista satelital de la granja comercial de camarón (*L. vannamei*) de Vista Hermosa Tamaulipas, México (N 23°48'04.2" - W 97°53'35.6")(Google Earth)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La vibriosis, nombre común de la enfermedad originada por los vibrios, puede generar una patología muy agresiva que puede desembocar en la muerte de los organismos en solo 24 h.

Los camarones infectados con *V. parahaemolyticus* (cepa HL57) mostraron signos generales de vibriosis tales como necrosis en branquias, letargia y falta de apetito. Sin embargo, la mortalidad que presentaron los organismos fue sólo del 7.5 ± 3% (240 h post-infección) sin ser este valor diferente al observado para el grupo control. De la Peña *et al.*, (2001) utilizaron concentraciones de 10⁶ ufc mL⁻¹ para infectar camarones juveniles (*L. monodon*) con *V. harveyi*, reportando mortalidades superiores al 50%. Muroga *et al.* (1994) infectan con *Vibrio* (10⁷ ufc mL⁻¹) larvas de *M. japonicus*, *Artemia* sp y *Palaemon paucidens* logrando sobrevivencias del 70-100%. Esto sugiere que existe una gran diferencia

entre la patogenicidad generada por las diferentes especies y cepas de *Vibrio*, y que la dosis bacteriana a la cual los camarones pueden estar expuestos es un elemento importante en términos de la patogenicidad, tal como lo sugiere Saulnier *et al.*, (2000).

En los camarones infectados con *V. parahaemolyticus* (HL57) se observó gran cantidad de granulomas y nódulo hemocítico en el hepatopáncreas (Figura 3). Gómez *et al.* (1998) encontraron a *V. alginolyticus*, *P. damsela*, y *Vibrio* sp en el hepatopáncreas de camarones, sugiriendo que estos entraron hasta este tejido vía el molino gástrico. Resultados similares fueron detectados por Lavilla *et al.* (1998) al detectar *V. harveyi* en el hepatopáncreas de *L. monodon*, siendo además detectada la presencia de granulomas e infiltraciones hemolíticas por H&E. Esto sugiere que el hepatopáncreas de los camarones es muy susceptible a este género bacteriano (*Vibrio* sp.) y que puede ser el órgano blanco de estas bacterias.

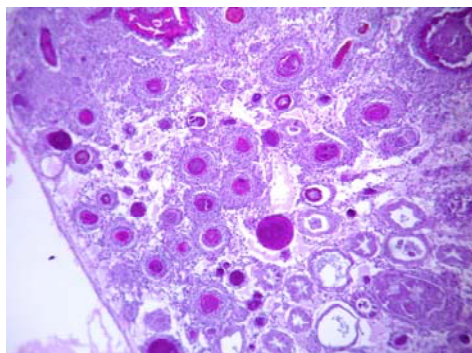


Figura 3. Lesiones ocasionadas por *V. parahaemolyticus* (HL57) en hepatopáncreas de camarones *L. vannamei* infectados experimentalmente (10^6 ufc mL⁻¹).

LITERATURA CITADA

Aguirre-Guzmán, G., Ascencio Valle F. 2000. Infectious disease in shrimp species with aquaculture potential. *Microbiol* 4:333-348.

Álvarez, J. D., Agurto C., Obregorf J., Peroza L. 2003. Detención de *Baculovirus*

penaei y de casos de vibrios en *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris* en una granja de la costa occidental de Venezuela. *Revista científica FCV-Luz* XIII 4:255-262.

De la Peña, L. D., Lavilla-Pitogo C. R., Paner M. G. 2001. Luminescent vibrios associated with mortality in pond-cultured shrimp *Penaeus monodon* in the Philippines: species composition fish pathology. 36:133-138.

Gomez-Gill B., Tron-Mayén L., Roque A., Turnbull J. F., Inglis V., Guerra-Flores A.L. 1998. Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juvenile *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 163:1-9.

Lavilla-Pitogo C. R., Leañó E. M., Paner M. G. 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent *Vibrios* in the rearing environment. *Aquaculture* 164:337-349.

Moriarty D. J. W. 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. In: Bell C. R., Brylinsky M., Johnson-Green P. (Eds.). *Microbial biosystems: New frontiers of proceedings of the 8th International Symposium on Microbial ecology*. pp 1-12.

Muroga, K., Suzuki K., Ishimaru K., Nogami K. 1994. Vibriosis of swimming crab *Portunus trituberculatus* in larviculture. *J. World Aquacult. Soc.* 25:50-53.

Robertson, P. A. W., Xu H. S., Austin B. 1998. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of *Vibrio harveyi* in penaeid shrimp and water. *J. Microbiol. Meth.* 34:31-39

Saulnier D., Haffner P., Goarant C., Levy P., Ansquer D. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture* 191:133-144.

IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE CÉLULAS HEMÁTICAS DE *Cichlasoma urophthalmus* (GÜNTHER, 1862) POR MEDIO DE TÉCNICAS CITOQUÍMICAS

Raúl Antonio Sima Álvarez, Jorge Ivan Güemes Ricalde, Olivia Figueroa Yeh
Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN- Unidad Mérida

INTRODUCCIÓN

Los estudios hematológicos en peces se emplean frecuentemente como una herramienta de diagnóstico para determinar el estado de salud y/o cambios fisiológicos, en estos organismos (Güemez y Simá, 1993 y Huchim, 2003). Actualmente el desarrollo de la acuicultura se ha visto en la necesidad de controlar y prevenir enfermedades en peces, lo que ha generado un interés en estudios hematológicos en este tipo de organismos. Sin embargo, para cada especie de pez es necesario establecer valores hematológicos estándares, que permitan diferenciar un estado de salud anormal durante la realización de investigaciones a nivel fisiológico, patológico, toxicológico y de estrés (Summerfelt *et al.* 1967).

Cichlasoma urophthalmus es una especie de gran aceptación comercial en el sureste de México. En los años 90's comenzó el estudio de ésta especie desde diferentes enfoques (biológico, nutricional, parasitológico, patológico, reproducción, etc.) con el fin de desarrollar la biotecnología para su cultivo (Ross y Martínez-Palacios, 1990). Esto ha generado a su vez la necesidad de conocer los parámetros citohematológicos "normales" a fin de comprender mejor los procesos fisiológicos que permitan, entre otras cosas, detectar el estado de salud de estos peces ya sea en sistemas naturales o de cultivo. Por lo tanto, en este trabajo se hace una caracterización de los parámetros hematológicos de este cíclido nativo en condiciones de laboratorio.

METODOLOGIA

Durante este estudio, se utilizaron 25 peces de la especie *C. urophthalmus* con un peso promedio de 310 ± 19 g, cultivadas en el Departamento de Recursos del Mar del CINVESTAV- Unidad Mérida. Los peces se mantuvieron durante 60 días en el laboratorio experimental para su aclimatación a una temperatura de $26^{\circ} \text{C} \pm 1$ y una alimentación *ad libitum* 3 veces al día. Al término de este período se tomaron muestras sanguíneas por punción en la vena caudal. Para ello los peces fueron anestesiados con benzocaina (100 mg/l durante 15 minutos) y la sangre fue conservada en viales conteniendo heparina.

Las tinciones citoquímicas realizadas fueron las de Esterasa no específica modificada, Sudan Black B y ácido Peryodico de Schiff Modificada (PAS). Los frotis fueron fijados con vapores de formalina al 40% (Undritz, 1973), posteriormente fueron teñidos y con la ayuda de un microscopio se realizó la descripción citoquímica y la reacción de cada una de las células a los diferentes colorantes, observando un total de 50 células (Undritz, 1973; Luna, 1968). Para el conteo diferencial se realizó la tinción por el método de May-Grunwald Giemsa técnica reportada como óptima por Parish *et al.*, 1986; Dheer *et al.*, 1987, Burrows 1988; Hunn 1992, para ello se contaron 100 células en 25 frotis teñidos, usando un microscópico compuesto a objetivo de 100X.

RESULTADOS

La descripción de cada una de las células observadas con las diferentes técnicas de

tinción se muestran en la Tabla 1. Los resultados del conteo diferencial, mostraron que la población de células más abundante en la sangre de *Cichlasoma urophthalmus* son los linfocitos y trombocitos. Entre los trombocitos, los de forma de gota resultaron ser los más abundantes, luego los trombocitos en forma oval y por último los trombocitos en forma de huso. En orden decreciente le continúan los granulocitos tipo I, monocitos y por último los trombocitos tipo II, del que solo se encontró una célula en los 25 conteos efectuados.

En la Figura 1 se observan varias de las células observadas en *Cichlasoma urophthalmus* por medio de la tinción de May Grunwald-Giemsa.

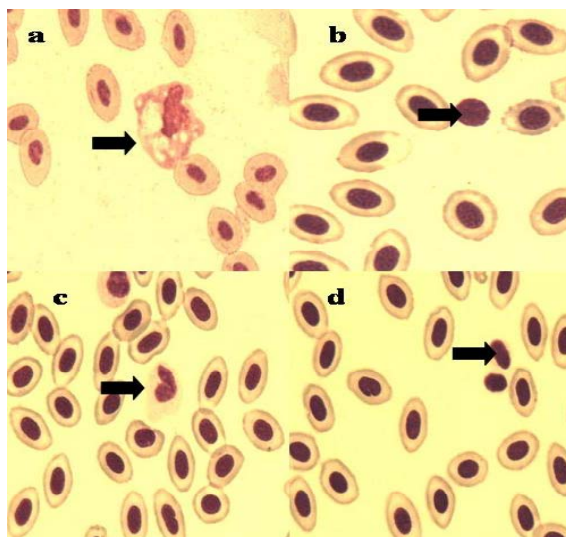


Figura 1. Frotis hematológico donde se observan varios tipos de células: a) Monocito, b) Linfocito, c) Neutrófilo, d) Trombocito, tinción , May Grunwald-Giemsa, 100 x.

DISCUSIÓN

Se encontraron 7 tipos de células en la sangre periférica: trombocito en forma

oval, gota y huso, linfocitos, monolitos, granulocito tipo I y II. La morfología de las células de *C. urophthalmus* coinciden con lo reportado por Burrows y Fletcher (1988), y Fujimaki e Isoda (1990). Se identificaron dos tipos de granulocitos: I y II, se les denominó granulocitos por los distintos tamaños de gránulos que poseen (Fujimaki e Isoda, 1990). El granulocito tipo I es análogo a neutrófilos, tienen gránulos finos en todo el citoplasma, el núcleo es oval, excéntrico y ocasionalmente tetralobulado y son observados en la sangre periférica.

Son escasos los trabajos que reportan Granulocito tipo II en sangre periférica, lo cual concuerda con el presente estudio. La casi nula identificación puede ser debido a la tendencia a desgranulación en teleosteos de agua dulce como lo menciona Hine *et al.*, 1986b.

Con respecto a los trombocitos observados en *C. urophthalmus*, coincide con lo reportado por Rowley *et al.* (1988), sin embargo Ellis (1976) reporta que la presencia de estas células depende del grado de estrés durante el sangrado, aunque en este estudio se redujo al máximo el estrés en los peces no se podría afirmar que se evitó por completo. Los linfocitos observados son semejantes a los reportados por Ferguson (1984) y Roberts (1981).

El grado de positividad esta en relación con el grado de madurez de las células, debido a que estas contienen mayor cantidad de gránulos de lípidos y fosfolípidos a nivel del citoplasma, lo cual se demostró con la tinción de Sudan Black, esto coincide con lo reportado por Roberts (1981).

Tabla 1. Descripción citoquímica de las células sanguíneas de *Cichlasoma urophthalmus*

TINCIÓN	LINFOCITO	MONOCITO	GRANULOCITO TIPO I	GRANULOCITO TIPO II	TROMBOCITO (Gota, Oval y Huso)	ERITROCITO
May-Grunwald Giemsa	Forma redondos y ovals Citoplasma azul pálido. Núcleo violeta intenso	Son grandes, de forma redonda a oval irregular, con vacuolas, citoplasma azul grisáceo	Forma varia de esférico a oval, núcleo violeta intenso, citoplasma azul claro	Forma oval o redonda, citoplasma claro, núcleo excéntrico segmentado	Citoplasma transparente, Núcleo violeta intenso	Forma oval a redondo, citoplasma morado grisáceo, nucleo violeta intenso
Sudan Black B	Positivo (+) Citoplasma basófilo con gránulos finos dispersos de color grisáceo	Positivo (+) Citoplasma azul-morado con gránulos finos grisáceos. Positivo (++) Citoplasma azul con gránulos pequeños gruesos negros.	Positivo (+) Citoplasma azul con escasos gránulos dispersos azul-grisáceo Positivo (++) Citoplasma azul con gránulos pequeños grisáceos Positivo (+++) Citoplasma azul con gránulos gruesos negros.	Positivo (+++). Citoplasma azul con gránulos grandes gruesos de color negro intenso.	Negativo	Negativo.
Tinción de PAS	Positivo (+). Citoplasma azul claro Finos gránulos rosados.	Positivo (++) Finos gránulos dispersos y gruesos agrupados de color rosa fucsia, núcleo grisáceo.	Positivo (+++) Gránulos gruesos agrupados teñidos de color rosa intenso.	Positivo (+++) Gránulos grandes, gruesos y compactos, núcleo basófilo.	Citoplasma ligeramente rosa en todas las formas observadas. Presencia de vacuola en la forma de gota	Negativo.
Esterasa No Específica	Citoplasma café amarillo con gránulos café-rojizos dispersos	Citoplasma con gránulos Cafés-rojizos	Citoplasma con gránulos café-rojizos bien definidos.	Citoplasma con gránulos Café-rojizos con puntos Amarillos.	Negativo	Negativo

Grado de intensidad en la coloración de los Gránulos citoplásmicos:

(+) = Débilmente positivos

(++) = Algunos gránulos están mas perceptibles que otros

(+++)= Gránulos fuertemente marcados y agrupados

En este sentido se observó que fueron pocos los granulocitos y que estos fueron granulocitos tipo I. Con respecto a los monocitos y linfocitos que se clasificaron como medianamente positivos (++) y débilmente positivos (+) respectivamente nos atreveríamos a relacionarlo con la presencia de las vacuolas y gránulos dispersos en el citoplasma de acuerdo a los reportado por Undritz (1973), Parish *et al.* (1986).

Referente a los resultados obtenidos con la reacción de PAS, es importante notar que es la tinción que comparte resultados semejantes a los trabajos realizados por Roberts (1981) y Parish *et al.* (1986) en *Scyliornis canicula*, lo cual puede indicar que es una reacción no específica, ya que tiñe todo tipo de polisacáridos (incluyendo mucopolisacáridos, glucógeno, mucoproteínas y glucolípidos). Estos aparecen únicamente a nivel intracelular en el citoplasma como gránulos en masa o completamente dispersos con una amplia variabilidad de intensidad de color.

Undritz (1973) reporta que bajo condiciones normales; los polisacáridos intracelulares incrementan cuando estos maduran, y una vez más se estaría comprobando esta aseveración, ya que se apreció y se clasificó los tres grados de positividad en las células granulocíticas, y con las demás células (linfocitos, monocitos y trombocitos). La clasificación de los grados de positividad se relacionaría por los estudios efectuados por microscopia electrónica por Fujimaki e Isoda 1990 y Parish *et al.*, (1986), el cual clasificaron los leucocitos por el contenido y tamaño de gránulos intracelularmente.

CONCLUSIONES

No existe mucha diferencia morfológica, de las células hematológicas de *Cichlasoma uruphthalmus* con las de otras especies estudiadas.

Las células mas abundantes en sangre periférica en *Cichlasoma urophthalmus* son los linfocitos y trombocitos.

LITERATURA CITADA

Burrows A.S. and Fletcher T.C. 1988. Blood leucocytes of the turbot *Scophthalmus máximus* (L). J. Fish Biol (8). 143-156pp.

Ellis A.E.1976. Leucocytes and related cells in the plaice, *Pleuronectes platessa*. J. Fish Biol. Vol. 8. 143-156.

Fujimaki Y. e Isoda M. 1990. Fine-structural study of leucocytes in the goldfish, *Carassius auratus*. J. of fish Biol.(6). Vol. 36. 821-831 pp.

Güemez R.J. y Simá A.R. 1993. Determinación de algunos parámetros hematológicos normales del Cíclido *Cichlasoma urophthalmus* (Günther, 1869). Resúmenes del XII Congreso Nacional de Zoología. 93 pp.

Hine P.M., Wain J.M. and Dunlop D.M. 1986. Observations on granulocyte peroxidase in New Zealand freshwater eels, *Anguilla* species. J.Fish.Biol. 29: 711-720.

Luna L. E., 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Ed. McGraw-Hill. 258.pp.

Parish N., Wrathmell A., Hart S. and Harris J.E. 1986. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L. a morphological study. J. Fish Biol.Vol. 28. 545-561 pp.

Roberts, R.J. 1981. Patología de los peces. Ediciones Mundi- prensa, Madrid. 366 pp.

Ross, L.G. and Martínez Palacios, C. A. 1990. The biology and culture of *Cichlasoma urophthalmus*. A technical manual. In: Edit. by Lindsay G. Ross and Carlos A. Martínez Palacios. 219 pp.

Summerfelt R.C. 1967 Measurement of some hematological characteristics of the goldfish. Progressive fish- culturist. January(67) 23-20 pp.

Rowley A.F., Hunt, T.C., Page, M. and Mainwaring, G. 1988. Vertebrate blood cells. Ed. Cambridge University Press. 20-127.pp.

VACÍO SANITARIO COMO MEDIDA DE BIOSEGURIDAD PARA REDUCIR EL RIESGO DE REINFECCION VIRAL EN CENTROS CAMARONÍCOLAS

Leobardo Montoya Rodríguez y Ma. Cristina Chávez Sánchez

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Unidad Mazatlán

No obstante el crecimiento mundial de la actividad acuícola en las últimas tres décadas, ésta se ha visto fuertemente afectada por diferentes enfermedades virales que se han convertido en uno de los mayores impedimentos y desafíos para su desarrollo. El diseño de estrategias y la aplicación de medidas de bioseguridad enfocadas a la reducción de reinfecciones virales, son indispensables para alcanzar un crecimiento sostenido en la acuicultura.

Movilización irresponsable de organismos y sus consecuencias sanitarias

Actualmente se reconoce que el movimiento irresponsable de organismos, ha sido el causante de la introducción y dispersión de agentes patógenos y enfermedades en algunas regiones y sistemas de cultivo y que las pérdidas económicas ocasionadas han afectado directa e indirectamente la vida de muchas comunidades a través de la reducción en la disponibilidad de alimento, pérdida de ingresos económicos y empleos, con todas las consecuencias asociadas. Así mismo resulta lógico pensar que ha habido un impacto no suficientemente evaluado, sobre poblaciones naturales.

La aparición de un gran número de enfermedades virales en el cultivo de organismos acuáticos, ha estado ligada a la expansión, intensificación y diversificación de la actividad, así como a la comercialización basada en movimientos sin un control sanitario de larvas, semillas, huevos, reproductores y productos o subproductos que como alimentos utiliza la misma industria, tales movimientos se han realizado dentro de

los mismos países, de un país a otro e inclusive de un continente a otro.

La camaronicultura en particular y en diversos países del mundo, ha sufrido importantes pérdidas debido a una gran variedad de enfermedades virales, ya que no se cuenta con métodos efectivos para el tratamiento de las mismas. La falta de aplicación de medidas estrictas de cuarentena y certificación, han sido algunas de las causas de la dispersión de dichas enfermedades.

Planes de Emergencia

Los planes de emergencia específicos para controlar y erradicar las enfermedades, no han podido ser desarrollados en su totalidad, debido principalmente al impacto económico y social que podrían tener sobre las comunidades locales de los principales países productores.

El Código Sanitario para los Animales Acuáticos (2007) publicado por la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal), señala las directrices para la elaboración de un plan de emergencia para reducir la dispersión de patógenos, entre las que se encuentran:

- 1) el sacrificio sanitario de organismos infectados mediante un método particular que impida la propagación de determinados agentes infecciosos, esto implica la detección temprana del brote y su control.
- 2) Procedimientos de desinfección, tanto de instalaciones como de materiales, utensilios, vehículos etc., bajo un protocolo que garantice la eliminación de agentes infecciosos y la no afectación al medio.

3) El vacío sanitario, que consiste "en la operación por la que se vacían de un establecimiento de acuicultura, los animales susceptibles a una enfermedad determinada o identificados como transmisores de un agente patógeno y cuando sea posible el agua que los contiene. En el caso de animales cuya susceptibilidad es indeterminada, es decir en aquellos animales acuáticos en la que se desconoce si el agente patógeno puede mantenerse "viable" o es capaz de multiplicarse y aquellos que no han sido reconocidos como portadores de una enfermedad determinada, la decisión de proceder al vacío sanitario debe basarse en una evaluación del riesgo" (OIE 2007), en esto último, se considera la probabilidad de que ocurra un incidente y la magnitud de sus consecuencias (alta, mediana, baja o insignificante).

Si bien es cierto que la aplicación de un vacío sanitario es factible en instalaciones relativamente pequeñas y con límites perimetrales, es más difícil de llevar a cabo en las condiciones en que se desarrolla el cultivo de camarón en México, debido a los tamaños de los centros de producción y a la complejidad que se presenta en el medio donde generalmente se han instalado dichos centros (esteros, lagunas, manglares y bahías).

Por ejemplo, actualmente cuando se presentan mortalidades debidas a un brote de virus de la mancha blanca, los productores realizan cosechas de emergencia, eliminando grandes cantidades de agua sin un tratamiento previo que asegure la no diseminación de patógenos o vectores de los mismos al medio. En algunos casos, los productores vuelven a sembrar en los mismos estanques incluso con la misma agua infectada.

En otros, llevan al cabo la limpieza de sus estanques y después de un periodo de secado que es variable, vuelven a

sembrar sin una evaluación previa del riesgo.

El evitar la liberación y dispersión de patógenos al medio a través de agua de cultivo contaminada, conjuntamente con procedimientos de desinfección y el vacío sanitario, son estrategias que deben realizarse en la actividad acuícola. El dejar de producir por un período considerable, es importante para permitir la restauración del medio y disminuir la probabilidad de que los organismos reservorios reinfecten los estanques.

Para lo anterior, las autoridades deben contar con información sobre: el nivel de riesgo para las demás operaciones acuícolas locales, conocer la gravedad de la enfermedad en cuanto al período de infección, los mecanismos de distribución del agente patógeno y el posible impacto económico y social. Finalmente se debe efectuar la evaluación del riesgo correspondiente.

De acuerdo a la OIE, "cuando exista una operación oficial de sacrificio sanitario total para combatir a una enfermedad determinada, la Autoridad Competente deberá exigir que un establecimiento de acuicultura infectado y todos los establecimientos de acuicultura situados en la zona infectada, oficialmente establecida, sean sometidos, simultáneamente de ser necesario a un período determinado de vacío sanitario"(OIE, 2007). Actualmente en México esta medida no es obligatoria y se deben elaborar las disposiciones y el marco legal para que se lleve a cabo.

Los parámetros técnicos para un plan reglamentario de vacío sanitario están establecidos en el Código de la OIE. En este se especifica que el vacío sanitario deberá realizarse después de haber evacuado todas las especies de animales acuáticos susceptibles a la enfermedad considerada, así como todas aquellas que puedan ser portadoras de la misma. Así mismo establece que cuando sea posible,

se debe haber evacuado el agua en la que se encontraban los animales infectados, y eliminar o desinfectar los equipos y material que haya estado en contacto con el agente infeccioso, siguiendo los procedimientos que autorice la Autoridad Competente.

Lo más importante de este procedimiento es que el vacío sanitario puede realizarse a nivel granja, cuerpo de agua, zona, microzona o región, adaptando la metodología a las circunstancias del problema. Para ello, se deberían seguir los pasos sugeridos por la OIE (OIE, 2007):

- ❖ Procedimientos de diagnóstico en los laboratorios de referencia nacionales.
- ❖ Confirmación de diagnóstico en caso de necesidad, por un laboratorio de referencia de la OIE.
- ❖ Instrucciones que debe observar permanentemente el personal del terreno encargado del estado sanitario de los animales acuáticos.
- ❖ Instrucciones para la manipulación y la eliminación de animales acuáticos muertos en un establecimiento de acuicultura.
- ❖ Instrucciones relativas al sacrificio sanitario.
- ❖ Instrucciones para el control de la enfermedad a nivel local.
- ❖ Instrucciones para la instauración de zonas de cuarentena y de zonas de observación (vigilancia).
- ❖ Procedimientos de desinfección.
- ❖ Procedimientos de vacío sanitario.
- ❖ Métodos de vigilancia asociados a la erradicación.
- ❖ Procedimientos de repoblación.
- ❖ Condiciones de indemnización.
- ❖ Procedimientos de declaración.
- ❖ Medidas destinadas a informar al público sobre la enfermedad de los animales acuáticos.

En el caso de enfermedades ya establecidas se pueden adoptar y adaptar algunas de éstas medidas. Por ejemplo, si un grupo de productores de un área específica decidieran aplicar estas medidas con el fin de reducir el impacto del virus de

la mancha blanca, deben acordar una serie de acciones conjuntas, entre ellas:

- 1) Confirmar la presencia del agente patógeno, su prevalencia y los posibles reservorios tanto en las instalaciones como en el medio donde se encuentran establecidas las granjas. Para ello, deben apoyarse en los laboratorios de diagnóstico de referencia nacionales y en las autoridades correspondientes.
- 2) Ser receptores de las instrucciones emitidas por parte de las autoridades, para la manipulación y eliminación adecuada de animales acuáticos muertos.
- 3) Aceptar y ejecutar las instrucciones relativas al sacrificio sanitario.
- 4) Realizar los procedimientos de desinfección de instalaciones, material, equipo, agua que aseguren la eliminación del patógeno y no su diseminación.
- 5) Estar conscientes de la responsabilidad, importancia y alcances de los procedimientos de un vacío sanitario.
- 6) Establecer y ejecutar un programa de vigilancia asociado a la disminución del riesgo y posible erradicación del problema.
- 7) Aplicar Buenas Prácticas durante los Procedimientos de repoblación.
- 8) Contar con condiciones de indemnización y apoyo por parte de las autoridades

LITERATURA CITADA

Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE, 2007. Código Sanitario para los Animales Acuáticos. Paris, Francia. 143 p.p.

Scarfe, A.D. Aquaculture biosecurity. World Aquaculture Society. 2006. 182 p.

FAO. 1995. Code of Conduct for Responsible Fisheries Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia. 41 pp.

DIÁLOGOS SOBRE LA ACUACULTURA

Martha Zarain Herzberg
Centro de Ciencias de Sinaloa

La acuacultura puede ser definida como el cultivo o el encierro de especies acuáticas bajo condiciones controladas, para un rápido crecimiento, contribuyendo con más de un tercio de las especies acuáticas consumidas a escala mundial y prometiendo producir alimento de alta calidad.

También es importante como actividad económica en muchos países ya que ofrece oportunidades para favorecer la disminución de la pobreza, el desarrollo de las comunidades, la reducción de la sobreexplotación de los recursos naturales, y la seguridad alimentaria en regiones tropicales y subtropicales.

Sin embargo, el desarrollo de la acuacultura ha generado un sinnúmero de debates sobre su costo y beneficio, tanto social como ambiental. Así como, se hace mención que esta industria contribuye con aproximadamente un tercio de la producción de alimento cultivado acuícola, así también la acuacultura consume más pescado y aceite de pescado que cualquier otra industria.

Entonces este acelerado crecimiento requiere que se ponga mayor atención sobre el establecimiento de estrategias de manejo efectivas, para que se favorezcan las contribuciones positivas, que por ejemplo, tiene el cultivo de camarón y otras formas de acuacultura, y que esta genere un crecimiento económico importante en cada uno de los países que participan en esta actividad, mientras que a su vez se controlan los impactos ambientales negativos que acompañan a un desarrollo inadecuadamente planeado (Figura 1).

Cientos de especies son cultivadas en todo el mundo para venta en mercados locales, internacionales y para la

continuidad de la producción de alimentos.



Figura 1. Cultivo de camarón

La producción global de animales y plantas acuáticos cultivados alcanzó en el año 2003, 55 millones de toneladas métricas con un valor cercano a 67 billones de dólares. Las especies que se comercializan internacionalmente en grandes volúmenes incluyen al ostión, tilapia, bagre, trucha, almeja, atún y mejillón. Dos de las especies más valuadas son el camarón y el salmón.

Siendo el camarón uno de los alimentos marinos más populares y valuados en el mundo, ya que se producen aproximadamente 5 millones de toneladas métricas al año, contando con la contribución del camarón cultivado que ayuda a satisfacer la demanda de este producto. En una comparación a escala mundial de la producción de camarón por cultivo, ésta se encuentra principalmente en China, seguida por Tailandia, Indonesia, India, Vietnam, Brasil, Ecuador y Bangladesh. La mayoría de camarón producido es importando por Estados Unidos, Europa y Japón.

Al igual que con otras especies acuáticas la industria del camarón genera grandes

ganancias económicas, sin embargo, también se tienen preocupaciones de cómo el cultivo del camarón está afectando el medio y a la sociedad. Una relación de los principales impactos con la acuicultura del camarón son los siguientes.

a) En el diseño de las granjas, muchas veces su entorno ecológico es afectado por la tala de la vegetación nativa principalmente el mangle para la construcción de estanques.

b) El agua de mar destinada a estanques construidos en tierra puede filtrarse al subsuelo de tierras adyacentes que son utilizadas para la agricultura ocasionando el proceso llamado salinización. El agua de desecho de los estanques que puede contener potentes químicos o antibióticos es enviada a los cuerpos de agua naturales.

c) El uso de peces marinos para la fabricación de alimento balanceado para camarón.

d) El escape de camarones cultivados puede afectar a las especies silvestres por competencia por el alimento, transmisión de enfermedades y entrecruzamiento.

e) Los empleos pueden disminuir o desaparecer cuando a causa de una epizootia una granja es cerrada.

Por lo que es necesario el establecimiento de estándares para medir y certificar los productos y procesos relativos al cultivo del camarón.

La fundación mundial para la vida silvestre (de sus siglas en inglés WWF) está trabajando en el desarrollo de estándares para certificar la acuicultura del camarón en granjas de Centro América, México, África y Asia por medio de -Diálogos- entre participantes.

La WWF a través de diversas mesas redondas llamadas -Diálogos- colabora con productores, compradores, organizaciones no gubernamentales, y personas relacionadas, para el desarrollo de estándares verosímiles para minimizar o eliminar los principales impactos

medioambientales y sociales causados por la acuicultura.

En estos Diálogos los participantes utilizan como soporte los Principios Internacionales para el cultivo del camarón adoptados en el año 2006 por la FAO, para el desarrollo de criterios, indicadores y estándares.

Los criterios proveen la dirección de como reducir cada uno de estos impactos, así mismo los indicadores dirán como medir la extensión de los mismos.

Los principales principios son:
Localizar a las granjas acuícolas de acuerdo a una planeación nacional y de acuerdo a los marcos legales en sitios ambientalmente adecuados.

Diseñar y construir las granjas acuícolas de tal forma que se minimicen el daño ambiental.

Minimizar el impacto del agua usada por las granjas sobre el recurso agua y usar reproductores y postlarvas libres de enfermedades y /o resistentes para favorecer la bioseguridad, reducir enfermedades e incrementar la producción, también reducir el uso de reservas silvestres.

El uso y manejo de prácticas de alimentación para hacer más eficiente y disponible los recursos de alimento, promover eficientemente el crecimiento del camarón, minimizar la producción y una descarga apropiada del agua de desecho con nutrientes.

Adoptar planes sanitarios de manejo con el objetivo de reducir el estrés, minimizando el riesgo de enfermedades que afecten a los organismos cultivados y silvestres e incrementen la seguridad del alimento.

Desarrollar y operar las granjas de una manera socialmente responsable para que beneficie a la granja, la comunidad local y el país, y que contribuya efectivamente a un desarrollo rural (particularmente la reducción de la pobreza en áreas costeras) sin comprometer el medio.

EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE LA PRESENCIA DE BACTERIAS DEL GÉNERO *Vibrio* sp. EN AGUA DE GRANJAS CAMARONÍCOLAS DE SAN BLAS, NAYARIT

Ma. de Jesús Durán Avelar, Jorge Gutiérrez Franco, Alejandro Vázquez Reyes, Miriam Fabiola Ayón Pérez y Norberto Vibanco Pérez.
Universidad Autónoma de Nayarit

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las bacterias del género *Vibrio*, son del medio acuático, bien de aguas dulces o marinas. *Vibrio* se considera una bacteria halófila, dentro de los organismos halófilos los que requieren del 1 al 6% de NaCl se les considera discretos, moderados a los que pueden crecer entre el 6 y el 15 % de NaCl y extremos a los que crecen en el rango de 15-30% de NaCl. *Vibrio* es considerado un halófilo discreto, siendo capaz de desarrollarse en agua de mar, la cual contiene aproximadamente 3% de NaCl y posee una actividad de agua de 0.98 (Michael, 2004; Kautsky *et al.*, 2000).

Dado la existencia de bacterias potencialmente patógenas en los ambientes acuáticos, se pueden presentar infecciones en los camarones y ocasionar brotes de enfermedades. Uno de los detonadores para las infecciones bacterianas es la mala calidad del agua en los estanques, en los cuales la concentración de la salinidad puede variar causando estrés en el camarón. Se ha demostrado, que cambios en los niveles de salinidad afectan el buen funcionamiento del sistema inmunológico del camarón (Lon-Uong y Jiann-Ghu, 2005).

Como se describió anteriormente, la salinidad juega un papel importante en la dinámica de la cantidad de bacterias del género *Vibrio*, es por eso que en este trabajo se planteó determinar la cantidad de UFC crecidas en el medio de cultivo TCBS, presentes en el agua de los estanques en cuatro granjas camaronícolas, ubicadas en el municipio de San Blas, Nayarit.

MATERIAL Y MÉTODOS

Granjas en estudio

Las granjas camaronícolas en donde se realizaron los muestreos se ubican en el municipio de San Blas, Nayarit y fueron las que se señalan en la Tabla 1.

Tabla 1. Granjas incluidas en el estudio y ubicación

Granja	Ubicación
S.E.A.E. Oro Azul S.P.R. de R.L./Jorge González Arroyo.	N21°36'20.8" W105°18'39.8"
Vivero los Ponchos S.A. de C. V.	N21°36'24.4" W105°18'31.0"
Camaronícola la Providencia S.A. de C. V.	N21°36'66.2" W105°17'85.6"
Camaronícola Gloria S.A. de C. V.	N21°36'30.6" W105°17'67.9"

Recolección de muestras

Para la recolección de muestras se seleccionó al azar un estanque. Las muestras se recolectaron cada 15 días durante un ciclo productivo del mismo estanque. El tiempo de duración del ciclo de producción para cada una de las granjas fue variable y dependió de la decisión de cada productor.

Se recolectaron alrededor de 40 mL de agua de los estanques en tubos Falcon de 50 mL estériles, una vez recolectada la muestra esta se transportó en hielo hasta el laboratorio.

Análisis de muestras

La salinidad fue determinada directamente en el agua del estanque a la hora de cada uno de los muestreos, para lo cual se utilizó un salinómetro de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

La muestra de agua para el análisis microbiológico se mantuvo a 4° C hasta el momento de procesarlas. Se hicieron diluciones 10^{-1} y 10^{-2} con NaCl al 2.5% y se sembraron masivamente 100 μ L de las diluciones en agar TCBS en triplicado en el primer muestreo. En los muestreos siguientes sólo se inoculó la dilución 10^{-1} .

Posteriormente se incubaron a 30° C durante 24 h y se calculó la cantidad de UFC/mL.

Análisis de resultados

Se realizó el análisis estadístico que permitió establecer la existencia de diferencias significativas en la cantidad de UFC entre las muestras analizadas a lo largo del ciclo, todas en conjunto y pareadas, para esto se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y la Prueba de T respectivamente. Para considerar con una confianza del 95 % que existió diferencia, se estableció que $p \leq 0.05$.

Se determinó la correlación entre la cantidad de UFC de bacterias crecidas en agar TCBS existentes en las muestras procesadas lo largo del ciclo productivo de las 4 granjas camaronícolas y el valor de la salinidad presente al momento de cada muestreo, utilizando la prueba de correlación de Pearson, la cual se interpretó con base a la Tabla correspondiente, considerando un nivel de significancia de 0.05 (Freund y Manning, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreo

Las cuatro granjas analizadas, se encuentran en la microregión del sur del Estado de Nayarit, en el Municipio de San Blas. En la Tabla 2 se muestran los días en que las cuatro granjas iniciaron su ciclo productivo.

Sus ciclos productivos fueron variados, ya que dos granjas finalizaron su ciclo productivo en el mes de agosto (S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo y Vivero

los Ponchos), esto posiblemente debido al precio del camarón ya que no se reportaron pérdidas por enfermedades en los camarones en éstas dos granjas.

Tabla 2. Fechas de muestreo en las cuatro granjas camaronícolas

Muestreo	Camaronícola Gloria	Camaronícola la Providencia	S.E.A.E. Oro Azul/ Jorge González Arroyo	Vivero los Ponchos
1	25/05/06	02/06/06	31/05/06	02/06/06
2	29/05/06	03/06/06	3/06/06	05/06/06
3	15/06/06	16/06/06	16/06/06	15/06/06
4	29/06/06	30/06/06	30/06/06	29/06/06
5	13/07/06	14/07/06	13/07/06	13/07/06
6	27/07/06	28/07/06	25/07/06	27/07/06
7	10/08/06	11/08/06	11/08/06	10/08/06
8	24/08/06	25/08/06	25/08/06	24/08/06
9	7/09/06	8/09/06	F	F
10	21/09/06	22/09/06	F	F
11	5/10/06	6/10/06	F	F
12	19/10/06	F	F	F
13	6/11/06	F	F	F
14	21/11/06	F	F	F

F= Fin de ciclo

La granja Camaronícola la Providencia finalizó su ciclo en el mes de octubre y la granja Camaronícola Gloria fue la que tuvo el ciclo productivo más largo de las cuatro granjas analizadas finalizando su ciclo productivo en el mes de noviembre.

Niveles de salinidad

En la Tabla 3 se resumen los valores de salinidad al momento del muestreo en los estanques de las cuatro granjas camaronícolas observando dos tendencias, la primera en las granjas Camaronícola Gloria y Camaronícola la Providencia, las cuales mostraron a lo largo del ciclo, niveles de salinidad similares en sus mínimos y máximos 5 – 32‰ y 10 – 32‰ respectivamente, mientras que la granja S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo y Vivero los Ponchos las salinidades fueron de 27 a 54‰ y 30 a 56‰ respectivamente. Observándose además, que al inicio del ciclo las granjas presentaron diferentes niveles de salinidad, lo cual probablemente se debió al origen del agua, del que no se obtuvo información por parte de los responsables. En la

Grafica 1, se observa en lo general una dinámica similar de incrementos y decrementos de los niveles de salinidad en las cuatro granjas analizadas. En todos los casos se observó un incremento a partir del inicio de ciclo, el cual coincidió con la ausencia de lluvias, posteriormente se presentó un decremento sostenido en la salinidad durante la época de lluvia. En el ciclo largo, que realizó la granja Camaronícola Gloria, se observa una estabilización de la salinidad en la época de disminución de lluvias y un repunte a los niveles iniciales a finales del ciclo productivo (mes de noviembre) coincidiendo con la ausencia de precipitación pluvial, lo cual coincide con lo reportado acerca de que en época de lluvia la concentración de la salinidad en el estanque disminuye (Martínez, 1999; Arredondo y Ponce, 1998).

Camaronícola Gloria varió de 0 a 1.7×10^3 , mientras que la granja Camaronícola la Providencia fue de 0 a 1.8×10^3 , la granja S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo fue de 0 a 5.56×10^2 y la granja Vivero los Ponchos fue de 0 a 1×10^3 .

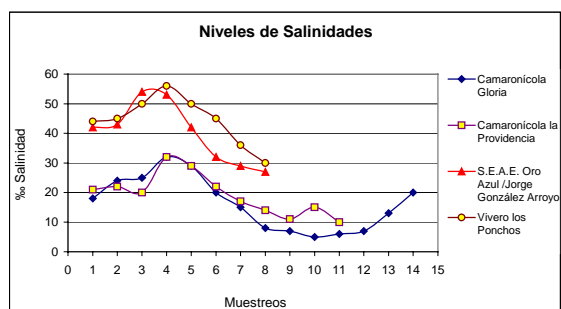


Figura 1. Comportamiento de la salinidad durante un ciclo productivo de cada una de las granjas camaronícolas estudiadas en San Blas, Nayarit

Tabla 3. Concentraciones de salinidad a lo largo del ciclo productivo (‰)

Muestreo	Camaronicola Gloria	Camaronicola La Providencia	S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo	Vivero Los Ponchos
1	18	21	42	44
2	24	22	43	45
3	25	20	54	50
4	32	32	53	56
5	29	29	42	50
6	20	32	32	45
7	15	17	29	36
8	8	14	27	30
9	7	11	F	F
10	5	15	F	F
11	6	10	F	F
12	7	F	F	F
13	13	F	F	F
14	20	F	F	F

F= Fin de ciclo

UFC/mL de bacterias crecidas en agar TCBS en Agua del estanque

El conteo de UFC/mL de bacterias en agua crecidas en agar TCBS se realizó desde el inicio hasta el final del ciclo productivo de cada granja. En la Tabla 3 se muestra la cantidad de UFC/mL calculadas a partir del número de colonias presentes en agua del estanque de cada granja muestreada. La cantidad de UFC/mL presentes en el agua del estanque muestreado de la granja

Estas cantidades coinciden con lo reportado por Gopal *et al.*, (2005) quien realizó un estudio en donde se muestrearon 5 granjas camaronícolas en la costa este y 10 granjas camaronícolas en la costa oeste de la India, en donde las concentraciones de salinidad oscilaron entre 1.5 - 2%, reportando cantidades de UFC/mL en la costa oeste de 10^4 y en la costa este 10^2 respectivamente.

En la granja Camaronícola Gloria se reportó la utilización del antimicrobiano Timsen® en los muestreos 4 y 5, sin embargo, no se observó una disminución en la cantidad de UFC/mL en los muestreos posteriores (Tabla 4).

En la granja Vivero los Ponchos donde se le agregó el antimicrobiano Omicrón en el muestreo 5 (Tabla 4) se observa una disminución de UFC/mL en el muestreo posterior a la adición del antimicrobiano.

Cabe aclarar que no se precisó la fecha exacta de la aplicación del antimicrobiano, ya que solo a la hora del muestreo se indicó que se había aplicado, pudiendo haber sido en

cualquier día de los quince anteriores al muestreo.

Tabla 4. Cantidad de UFC/mL de bacterias crecidas en TCBS en agua en los diferentes muestreos

Muestreo	Camaronícola Gloria	Camaronícola la Providencia	S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo	Vivero los Ponchos
1	0	$5.3 \times 10^2 \pm 273$	0	$3.3 \times 10^3 \pm 57.7$
2	$3.3 \times 10^3 \pm 57.7$	$3 \times 10^3 \pm 57.7$	0	0
3	$3.3 \times 10^3 \pm 57.7$	$1.8 \times 10^3 \pm 57.7$	$3.3 \times 10^3 \pm 57.7$	$1.3 \times 10^3 \pm 57.7$
4	0 *	$2.6 \times 10^2 \pm 378.5$	0	$1 \times 10^3 \pm 1000$
5	$9.6 \times 10^2 * \pm 862.1$	$2.3 \times 10^2 \pm 1011.5$	0	$6.6 \times 10^2 * \pm 550.7$
6	$1.7 \times 10^3 \pm 0$	0	$5.5 \times 10^2 \pm 251.6$	$2 \times 10^2 \pm 100$
7	$1.3 \times 10^3 \pm 808.2$	$2 \times 10^2 \pm 200$	$1.6 \times 10^2 \pm 57.7$	$2.6 \times 10^2 \pm 115.4$
8	$5.6 \times 10^2 \pm 251.6$	$2.3 \times 10^2 \pm 152.7$	$1 \times 10^2 \pm 0$	$4 \times 10^2 \pm 264.5$
9	$6.3 \times 10^2 \pm 152.7$	$3 \times 10^3 \pm 57.7$	F	F
10	$2.3 \times 10^2 \pm 152.7$	$5.6 \times 10^2 \pm 251.6$	F	F
11	$6.6 \times 10^3 \pm 57.7$	0	F	F
12	$4 \times 10^2 \pm 264.7$	F	F	F
13	$4 \times 10^2 \pm 200$	F	F	F
14	$9.3 \times 10^2 \pm 351.1$	F	F	F

F= Fin de ciclo

D.E. = Desviación estándar

*= Reporte de utilización de antimicrobiano

Diferencias en la cantidad de UFC crecidas en agar TCBS en los diferentes muestreos a lo largo del ciclo productivo

En la Tabla 5 se observan los valores de las probabilidades, que permitieron establecer la existencia o no de diferencias significativas en la cantidad de UFC/mL o UFC/g de bacterias crecidas en agar TCBS, presentes en agua a lo largo del ciclo productivo de cada granja.

En general se puede afirmar que la cantidad de UFC capaces de crecer en agar TCBS, de las muestras de agua de las que se aislaron, presenta una variación estadísticamente significativa en los diferentes momentos del ciclo productivo, cuestión que concuerda con lo reportado en la literatura, por ejemplo en un estudio realizado en aguas marinas de la costa del Atlántico norte se

encontró que la cantidad de *Vibrios* totales presentes variaron, respecto al tiempo en un periodo de 15 meses estudiados (Thompson *et al.*, 2004), otro caso fue el reportado por Sung *et al.*, (2001) quienes durante 100 días monitorearon agua de estanques utilizados para el cultivo de camarón y encontraron cambios dramáticos en la cantidad de UFC/mL en los distintos muestreos realizados.

Tabla 5. Probabilidad (p) de que la cantidad de UFC/mL de bacterias crecidas en agar TCBS fueran diferentes a lo largo del ciclo en las muestras de agua analizadas

Granjas	Agua
Camaronícola Gloria	$p = 0.002$
Camaronícola la Providencia	$p = 0.022$
S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo	$p = 0.003$
Vivero los Ponchos	$p = 0.039$

Correlación entre la cantidad de UFC crecidas en agar TCBS y la salinidad del agua

Los datos de las UFC/mL y UFC/g de bacterias crecidas en agar TCBS de las cuatro granjas, se correlacionaron con la salinidad encontrada al momento del muestreo a lo largo del ciclo productivo, esto se realizó con la prueba de correlación de Pearson.

En la Tabla 6 se resumen los valores de r para todas las granjas estudiadas.

En la gráfica 2 se observa una tendencia directamente proporcional de las UFC/mL en agua del estanque de la granja Camaronícola la Providencia, sin embargo, estadísticamente no existe correlación entre estas dos variables estudiadas.

Tabla 6. Valores de la correlación de Pearson entre la cantidad de UFC y la salinidad

Granjas	Agua
Camaronícola Gloria	$r = -0.3760$
Camaronícola la Providencia	$r = 0.2849$
S.E.A.E. Oro Azul/ Jorge González Arroyo	$r = -0.6284$
Vivero los Ponchos	$r = 0.0699$

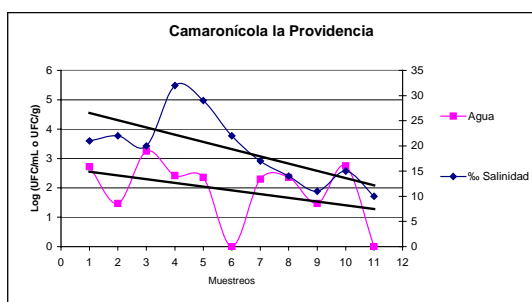


Figura 2. Dinámica de las UFC/mL de bacterias crecidas en agar TCBS en agua con relación a los niveles de salinidad del estanque analizado en la granja Camaronícola la Providencia. Las líneas negras sólidas representan las líneas de tendencia central.

A partir del análisis estadístico se puede afirmar que no existieron evidencias en ningún caso de una correlación significativa entre la salinidad y la cantidad de UFC, sin embargo, podemos tomar como ejemplo, lo reportado por Gopal *et al.*, (2005) en un estudio donde a bajos valores de salinidad la cantidad de *Vibrio* disminuye en agua, y donde se manejaron valores de salinidad de 15 a 20‰. Estos hallazgos permiten establecer que las tendencias encontradas a lo largo del ciclo productivo respecto a la cantidad de bacterias en agua, no son debidas a los cambios de salinidad, ya que la granja Camaronícola Gloria y Camaronícola la Providencia tuvieron valores de salinidad que oscilaron en los rangos óptimos reportados por Martínez (1999), para el cultivo del camarón blanco de 15 a 30 ‰ y las granjas Vivero los Ponchos y S.E.A.E. Oro Azul /Jorge González Arroyo

estuvieron por arriba de los valores óptimos de salinidad para el cultivo del camarón blanco, sin embargo no se reportaron problemas de Vibriosis.

Es interesante considerar que la práctica de utilizar antibióticos como medida preventiva o terapéutica ante eventuales problemas de sanidad, modifican artificialmente la dinámica poblacional de los microorganismos estudiados (Sung *et al.*, 2003) lo cual, probablemente sea la causa de que no se encontró dicha correlación, ya que es práctica común ocultar el uso de antibióticos debido a la tendencia cada vez mayor de consumir alimentos libre de estas sustancias, lo que tampoco contribuye a explicar los valores obtenidos.

Si bien es cierto que la cantidad de bacterias es fundamental en el curso de una infección, la especie y sus capacidades patogénicas también son relevantes y los distintos niveles de salinidad pudieran tener distinto efecto sobre cada una de ellas, al respecto se ha reportado que la salinidad es un factor que modifica la concentración de ciertas especies y no las cantidades de bacterias presente en las muestras analizadas ya que valores mínimos de sal pueden favorecer el aumento de especies como *V. cholerae* que requiere 5‰ para crecer óptimamente, pero en el caso de incrementar la cantidad de sal a 20‰ se suprime el crecimiento de *V. cholerae*, pero favorece el incremento de *V. vulnificus* sin repercutir en la cantidad de UFC/mL o UFC/g (Yanling y Ji-Dong, 2005).

CONCLUSIONES

- En general, existió una diferencia significativa en la cantidad de unidades formadoras de colonias crecidas en agar TCBS presentes en agua de los estanques analizados en diferentes momentos a lo largo del ciclo productivo.

- No existió correlación entre los niveles de salinidad del agua de los estanques estudiados y la cantidad de UFC/mL crecidas en medio TCBS entre las cuatro granjas estudiadas.

Proyecto financiado por los fondos del Programa "Fondo Sectorial de Investigación en Materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agrobiotecnología y Recursos Filogenéticos" convenio SAGARPA-CONACYT No. 12675, el Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit y la Universidad Autónoma de Nayarit.

Agradecemos la participación del personal técnico y administrativo del Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Nayarit (CESANAY) por su participación invaluable en la toma de muestras y datos, particularmente en esta ocasión al Oceanólogo Honorio González.

LITERATURA CITADA

Arredondo F. J. L., Ponce P. J. T. 1998. Calidad del Agua en Acuicultura, Conceptos y Aplicaciones. México. AGT Editores, S.A.. pp. 222.

Freund E.J., Manning S. R. 1989. Estadística. 4ta Edición. Editorial Prentice Hall. México.. pp. 489-97, 568.

Gopal S., Subhendu K. O., Sanath K., Indrai K., Matsuaki N., Iddya Karunasagar. 2005. The occurrence of *Vibrio* species in tropical shrimp culture environments; implications for food safety. *Int J Food Microbiol*;(102): 151-9.

Kaustky N., Ronnaback P., Tedengren M., Troell M. 2000. Ecosystem perspectives on management of disease in shrimp pond farming. *Aquaculture*;(191):145-65.

Long-Uong W., Jiann-Ghu C. 2005. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels. *Fish & Shellfish Immunology*;(18):269-78.

Martínez C. L. 1999. Cultivo de Camarones Peneidos. Principios y Fundamentos. México. Editorial AGT.. pp. 283.

Michael T. M., Martinko M. J., Parker J. 2004. Biología de los Microorganismos, Brock.10ª edición. Editorial Prentice Hall. pp. 1010.

Sung HH., Hsu SF., Chen CK., Ting YY., Chao WL. 2001. Relationships between disease outbreak in culture tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation. *Aquaculture*;(192):101-10.

Sung HH., Lin SC., Chen WL., Ting YY., Chao WL. 2003. Influence of Timsen™ on *Vibrio* populations of culture pond water and Hepatopancreas and on the hemocytic activity of tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*;(219): 123-33.

Thompson R. J., Randa A. M., Marcelino A. L., Tomita-Mitchell A., Eelin L., Polz F. M. 2004. Diversity and Dynamics of a North Atlantic Coastal *Vibrio* Community. *Appl Env Microbiol*. jul;70(7):41903-10.

Yanling W., Ji-Dong G. 2005. Influence of temperature, salinity and pH on the growth of environmental *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from Mai Po and the Inner Bay Nature Reserve Ramsar Site of Hong Kong. *J Basic Microbiol*;(145):83-93

DIRECTORIO

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

ING. ALBERTO CÁRDENAS JIMÉNEZ
SECRETARIO DE LA SAGARPA

ING. RAMÓN CORRAL ÁVILA
COMISIONADO NACIONAL DE ACUACULTURA Y PESCA

M. EN C. VÍCTOR M. ARRIAGA HARO
DIRECTOR GENERAL DE ORGANIZACIÓN Y FOMENTO

ING. FRANCISCO NIETO SÁNCHEZ
DIRECTOR DE FOMENTO ACUÍCOLA Y PESQUERO

BIOL. JUAN ANTONIO PÉREZ HERNÁNDEZ
DIRECTOR DE INTEGRACIÓN DE CADENAS PRODUCTIVAS

BIOL. MAURICIO CORTÉS HERNÁNDEZ
DIRECTOR DE FOMENTO E INCENTIVOS A LA PRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

DR. JOSÉ LEMA LABADIÉ
RECTOR GENERAL

DR. CARLOS RICARDO SOLÍS GONZÁLEZ
SECRETARIO GENERAL

DR. CUAUHTEMOC V. PÉREZ LLANAS
RECTOR DE LA UNIDAD XOCHIMILCO

LIC. HILDA ROSARIO DÁVILA IBAÑEZ
SECRETARIA DE LA UNIDAD XOCHIMILCO

DR. SALVADOR VEGA Y LEÓN
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DRA. PATRICIA E. ALFARO MOCTEZUMA
SECRETARIA ACADÉMICA

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

COMITÉ EDITORIAL

M. EN C. VÍCTOR MANUEL ARRIAGA HARO
DIRECTOR DE FOMENTO ACUÍCOLA
CONAPESCA-SAGARPA

M. EN C. MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ
DR. JORGE CÁCERES MARTÍNEZ
ING. FRANCISCO NIETO SÁNCHEZ

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 DE INSTITUCIONES PARTICIPANTES EN LA RED DE DIAGNÓSTICO

Universidad Autónoma de Nayarit (UAN)
Dr. Norberto Vibanco Pérez
e-mail: nvibanco@nayar.uan.mx
Tel: 01(311) 51 21 18 800

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

Universidad de Sonora (USON)
Dr. Marco Antonio López
Tel. 01 (662) 259 21 97
e-mail: malopez@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. V. Z. Fernando Vega Castillo
Tel. 01(722) 296 55 55
e-mail: mvzlfvc1@yahoo.com.mx

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

Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH)
Dr. Gilberto Erosa de la Vega
Tel. 10 (614) 414 44 92
e-mail: gerosa@uach.mx

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.ciemer.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

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

NOTA: Invitamos a nuestros lectores a enviarnos artículos sobre temas de interés de Sanidad Acuicola, así como sus sugerencias, acerca de este boletín a: Ing. Francisco Nieto. Av. Camarón Sábalo s/n Esq. con tiburón, Col. Sábalo Country. C. P. 82100, Mazatlán, Sinaloa México. e-mail: fnietos@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