



MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE ACUACULTURA

ELABORADO POR

Dr. en C. Cesar Ortega Santana
M. en C. Luis Fernando Vega Castillo

REVISADO POR

Dr. Ivan Gallegos Alarcón

Aprobado por los H.H. Consejos Julio 2013





CONTENIDO

	Página
I. PRESENTACIÓN	3
II. PRÁCTICAS	
1. Anatomía comparada de peces	5
2. Toma de muestras para diagnóstico en peces	11
III. BIBLIOGRAFÍA	17
IV. ANEXOS	17
V. ACTUALIZACIÓN	17





Presentación

El enfoque del plan de estudios basado en competencias considera que los conocimientos por sí mismos no son lo más importante, sino el uso que se hace de ellos en situaciones específicas de la vida personal, social y profesional que el alumno afrontará. De este modo, las competencias requieren una base sólida de conocimientos y ciertas habilidades, los cuales se integran para un mismo propósito en un determinado contexto de la medicina veterinaria y zootecnia; por ello, durante el desarrollo y construcción del conocimiento en el alumno y la actividad del docente en el ordenamiento de los conocimientos adquiridos es importante contar con un instrumento que oriente el proceso y ejecución durante la enseñanza-aprendizaje, es por ello la elaboración de este manual de prácticas de la Unidad de Aprendizaje Acuicultura.

Esta unidad de aprendizaje se ubica en el área de producción animal, dentro del núcleo de unidades de aprendizaje optativas, que considera clases teóricas y prácticas. El manual de prácticas pretende dar pauta en la planeación de las actividades durante el periodo académico, así como de los recursos didácticos que se utilizarán durante las Unidades de competencia que requieren prácticas en el laboratorio.

Los peces son animales que presentan diferencias anatómicas y fisiológicas importantes con respecto a los animales terrestres, las cuales son características que necesariamente debe conocer el médico veterinario zootecnista para que pueda identificar aquellas anomalías físicas o de conducta que le indiquen la presencia de alguna enfermedad o condición que afecte la salud de este tipo de animales. Asimismo, las características físicas, químicas y biológicas del agua en que habitan los peces son factores directamente relacionados con su bienestar y que inciden también en la producción. El Médico Veterinario debe conocer los parámetros normales recomendados para las principales especies de peces, y debe ser capaz de interpretar o predecir el efecto que posibles variaciones pueden causar tanto a los peces como al ambiente, y de cómo algunos parámetros a su vez pueden influir sobre otros.

Las prácticas propuestas en esta Unidad de aprendizaje tienen el objeto de que el discente pueda integrar los temas vistos y comentados en las aulas, mediante el acercamiento de los alumnos a la realidad, donde podrán entrar en contacto estrecho con peces y visualizar las características morfo fisiológicas de las distintas especies, pudiendo evidenciar alteraciones o presencia de anomalías que les ayuden a identificar la





presencia de enfermedades e inclusive la causa. Las prácticas de campo permitirán a los alumnos conocer los distintos modos de producción y reproducción, técnicas de alimentación, medidas de bioseguridad y la aplicación de las buenas prácticas de producción acuícola. Por otra parte, se capacitarán en el proceso de necropsia y toma de muestras para realizar diagnósticos *in situ*, que le permitan abordar oportunamente situaciones que requieran de acciones inmediatas, y también en la forma en que debe colectar y enviar muestras a un laboratorio para solicitar diagnósticos confirmatorios





PRÁCTICA No. 1: Anatomía comparada de peces

Los peces son considerados como ancestros de los modernos vertebrados terrestres, y como los seres más primitivos en términos de evolución. La vida en el medio acuático presenta una serie de problemas específicos distintos de los experimentados por los animales terrestres, por lo que el grado de evolución hace la diferencia de la mayoría de los sistemas orgánicos entre los peces y los mamíferos terrestre.

Una diferencia marcada de los peces con respecto a los animales terrestres, es que son poiquiloterms, es decir su temperatura corporal varía pasivamente en función a la temperatura del agua. También hay diferencia en el sistema respiratorio en donde la branquia es el órgano respiratorio en los peces, además es la encargada de realizar el intercambio gaseoso, el conocimiento de su morfología y su fisiología es de gran importancia porque al describir sus características estructurales normales, aporta nociones valiosas para determinar lesiones y enfermedades causadas por diversos agentes, ya que estos órganos junto con los riñones, el hígado y la piel, son considerados como órganos primarios u órganos blancos, útiles para evaluar el efecto de la polución, por lo tanto, son importantes para ser utilizados en la aplicación como biomarcadores histopatológicos

Objetivo: El discente identificará las diferentes estructuras anatómicas de peces y establecerá diferencias entre especies y en relación con animales terrestres.

Material:

Biológico:

Peces de diferentes especies

Trucha arcoíris

Bagre

Tilapia

Carpa común

Carpa herbívora

Peces de ornato

De laboratorio

Bata

Cámara fotográfica

Charola de disección

Estuche de disección





Guantes
Microscopio estereoscópico
Microscopio óptico
Cubreobjetos
Portaobjetos
Lápiz
Hoja de reporte
Anestésico

Metodología:

En equipos de trabajo, se conseguirán peces vivos de distintas especies para observar sus características externas generales, conducta de nado y respiración. Se describirán las características externas de cada especie y se registraran.

Los peces deberán manejarse proporcionando condiciones de bienestar animal y trato humanitario.

Secuencia de trabajo:

Antes del sacrificio, se describirán las características externas y conducta de los peces.

Posteriormente, se sacrificaran mediante sobredosis de anestesia. El pez dejara de realizar movimientos del opérculo y flotara, el alumno deberá observar la consistencia del *mucus*, así como la condición y aspecto de las aletas, opérculo, boca, ojos, piel.

Metodología de necropsia

El pez se coloca en la charola con la cabeza hacia la mano izquierda del alumno y con el vientre del pez de frente. En el primer corte, se debe retirar el opérculo para exponer las branquias. Seguidamente se hará una incisión en la línea media en dirección caudo-craneal, iniciando desde el orificio anal dirigido hacia la comisura inferior del opérculo. El tercer corte se inicia desde el orificio anal y se dirige dorso-craneal pasando por la línea lateral hacia la comisura superior del opérculo permitirá exponer los órganos internos. Se identificarán los órganos y se anotarán sus características, estableciendo posibles diferencias entre las especies de los demás equipos; así como comentar diferencias con respecto a animales terrestres. Se podrá hacer uso de microscopio estereoscópico para observar detalles de los diferentes órganos.





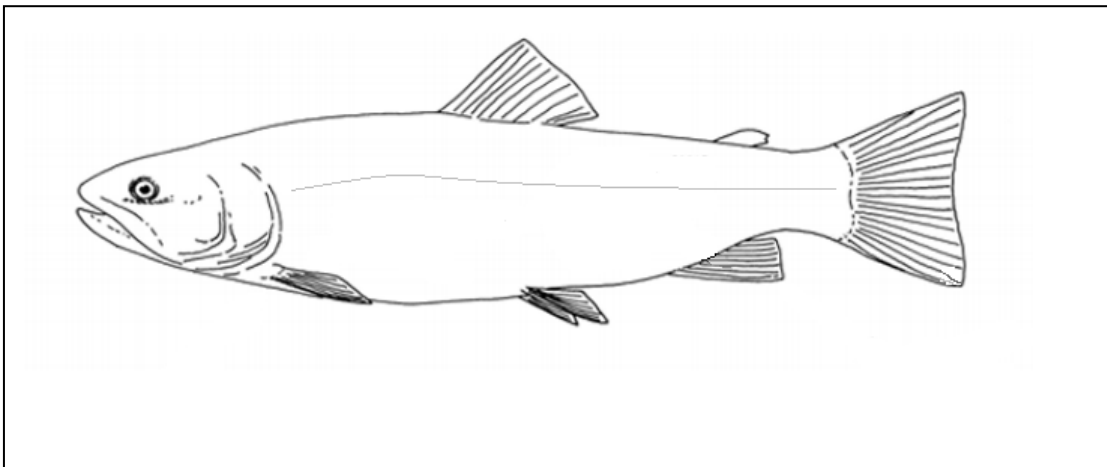
Se deberá coleccionar fragmentos de branquias y órganos internos para procesamiento histológico y posterior interpretación.

Cada equipo hará y entregará un reporte detallado de lo observado durante la práctica.

Evidencia de evaluación

Al finalizar la práctica, cada equipo entregará reporte del proceso de manejo, disección y observaciones realizadas, indicando la o las especies analizadas, descripción general de sus estructuras anatómicas y diferencias entre las especies observadas, y en relación con animales terrestres.

Instrucciones. En el siguiente dibujo marca el recorrido de los cortes que realizaste durante el proceso de la necropsia





Después de la necropsia realiza un dibujo o pega la foto de las siguientes estructuras:

Proceso de necropsia	Branquias

Riñón	Hígado
Bazo	Tracto digestivo

Colocar un trozo de cada órgano en un portaobjetos y con un cubre objetos hacer presión cuidando de no romper el cubre objetos observar al microscopio (identificación de centros melanomacrófagos)





Dificultades durante el desarrollo de la práctica:

Sugerencias:

Preguntas

- 1.- ¿Describir la ubicación de las branquias?

- 2.- ¿Indicar qué función tiene la línea lateral?

- 3.- ¿Indicar cuáles son las aletas impares?

- 4.- ¿Explicar cual es la función de las aletas en los peces?

- 5.- ¿Indicar qué especie de pez no presenta escamas?





PRÁCTICA No. 2. Toma de muestras para diagnóstico en peces

A últimos años, la acuicultura mundial ha presentado gran desarrollo, caracterizada por la expansión e intensificación del cultivo de especies tradicionales, así como la diversificación e introducción de nuevas especies, aprovechando innovaciones tecnológicas en distintos ámbitos de la producción. Aunado a lo anterior, los productos obtenidos por acuicultura se consideran más limpios y seguros para el consumidor; en contraste, la pesca o captura ha mostrado una drástica disminución y estos productos representan mayor riesgo sanitario por su consumo.

El auge de la acuicultura ha favorecido el surgimiento, diseminación o exacerbación de enfermedades infecciosas que amenazan la actividad, por lo que su control representa uno de los principales desafíos a la industria (Murray, 2006). En acuicultura, las enfermedades pueden ser de distinta etiología, teniendo fuerte relación con el ambiente; su detección oportuna y diagnóstico certero permiten realizar estrategias de tratamiento o corrección, que dependiendo de diversos factores el resultado suele ser variable. En este sentido, pese al actual nivel de conocimiento, las enfermedades de etiología viral son difíciles de controlar, y debido a que no existe un tratamiento establecido, son los padecimientos de mayor impacto económico para la acuicultura mundial, amenazando su supervivencia, ya sea por el impacto directo a la población afectada, como el caso de infecciones virales de camarón, o bien por políticas sanitarias de los países, donde las mayores pérdidas se deben al valor económico de peces sacrificados aun sin padecer la enfermedad clínica. Por su importancia, la mejor manera de controlar una enfermedad viral es la prevención (OIE, 2005), para lo cual es fundamental realizar un diagnóstico correcto y oportuno.

Objetivo: El discente conocerá y realizará en forma eficiente el proceso de necropsia y la toma muestras para diagnóstico en peces.

El discente dominará la forma de obtención y conservación de distintas muestras de peces para el diagnóstico de enfermedades o situaciones de improductividad.

El discente formulará análisis de diagnóstico *in situ* durante el desarrollo de la necropsia.





Material: Estará dividido en material biológico y de laboratorio.

Biológico:

Peces de diferentes especies (Trucha arcoíris, Bagre, Tilapia, Carpas, Peces de ornato), idealmente animales con signos y lesiones, y animales sanos para establecer diferencias.

De laboratorio

Bata u overol
Botas
Cámara fotográfica
Charola de disección
Estuche de disección
Guantes de latex o de cirujano
Cubreobjetos
Portaobjetos
Lápiz
Hoja de reporte
Mesas de trabajo.
Microscopio de luz y estereoscópico.
Mecheros.
Medios de cultivo bacteriológico y MEM para virus.
Frascos con formalina.
Libreta de notas.
Kit de Tinción Gram.
Balanza.
Anestésico (benzocaina).
Contenedores de residuos





METODOLOGÍA

Los estudiantes se organizarán en equipo para llevar peces al laboratorio. Los animales serán sacrificados por sobredosis de anestesia y una vez muertos, se procederá a realizar la necropsia.

Previo al sacrificio, se anotará la conducta y forma de nado, la coloración de los animales, forma y frecuencia de respiración.

Una vez muerto el animal, evaluar consistencia de mucus, integridad de piel, aletas y escamas, la coloración de branquias, orificios naturales, aspecto de los ojos.

Realizar un raspado de piel para observación en fresco en microscopio. Para esto con un cubreobjetos limpio se recorre la superficie externa del pez en sentido antero-posterior. Lo mismo se realizará con las aletas. La muestra se analizará en el microscopio. En caso de observar lesiones sugestivas de infección bacteriana en piel y aletas, se realizaran improntas del área afectada y se debe intentar el aislamiento bacteriológico, utilizando el medio de cultivo que corresponda.

Para el caso del análisis en fresco de las branquias. Con tijeras, se retirará el opérculo para exponer las branquias, anotando coloración y aspecto; un trozo de uno de los arcos branquiales es cortado y puesto entre porta y cubreobjetos para evaluar en fresco, bajo el microscopio la presencia de bacterias, parásitos o cualquier anomalía. En caso de observar lesiones sugestivas de infección bacteriana, intenta el aislamiento bacteriológico utilizando el medio de cultivo que corresponda.

Observación y toma de muestra de órganos internos.

Para evidenciar la cavidad abdominal se debe tener precaución de no provocar contaminación durante el desarrollo de la necropsia. Inicialmente, con tijeras estériles se realiza un corte postero-anterior sobre la línea media del pez, partiendo inmediatamente anterior al orificio anal y hasta la región branquial, un segundo corte correrá desde anterior al orificio anal y hasta la comisura superior del opérculo; el costado muscular obtenido es cortado y retirado, quedando al descubierto los órganos internos. Después de dejar al descubierto la cavidad abdominal se observan los órganos internos con fin de determinar su estructura y coloración, buscando zonas hemorrágicas, focos necróticos, abscesos, parásitos, inflamaciones, áreas pálidas, nódulos y la presencia de exudados, y si existe presencia o ausencia de alimento y/o líquido en el tracto digestivo. También se revisará la





musculatura latero-dorsal de los peces con una navaja de bisturí, con el fin de observar la presencia de hemorragias, nódulos u otros cambios.

Ante la presencia de daños o lesiones se retiran pequeños trozos que se depositan en formalina al 10% para enviar a histología. En caso de observar lesiones sugestivas de infección bacteriana, se realizaran improntas del área u órgano afectado y se intentará el aislamiento bacteriológico, utilizando el medio de cultivo que corresponda.

En el caso de sospecha de infección viral, se obtendrán muestras para su diagnóstico. Si la idea es realizar el aislamiento e identificación viral, se recoge aproximadamente un ml de tejido conformado por riñón, bazo e hígado que se depositará en un tubo con 9 ml de medio de cultivo celular. Esta muestra posteriormente se macerará en mortero con arena estéril para su posterior inoculación en cultivo de células.

Si la idea es realizar un diagnóstico mediante prueba molecular (PCR o RT-PCR), a partir de la muestra colectada se procederá a extraer el ácido nucleico correspondiente.

Al final del proceso de recolección, se harán las anotaciones pertinentes de lo observado para la integración de informe de diagnóstico presuntivo y final según las evidencias encontradas en los animales analizados.

La evaluación se realizará de acuerdo a:

- a) La calidad del informe de la actividad realizada.
- b) La observación visual de la forma de trabajo en equipo e individual durante el desarrollo de la práctica.
- c) La actitud y forma de participación y colaboración en el desarrollo de la práctica.

Al finalizar la práctica, cada equipo entregará reporte del proceso realizado en las especies de peces analizadas, partiendo desde el adecuado manejo de la muestra, el proceso de disección, los hallazgos encontrados e indicará las acciones que realizaron para obtener el diagnóstico, así como su diagnóstico presuntivo debidamente justificado.

Cada equipo entregará:

- a) El resumen del proceso de toma de muestra realizado.
- b) Descripción de las características y condición general de las muestras analizadas.
- c) La interpretación de la causa de las lesiones encontradas in situ y de órganos internos en los animales analizados.





Indica las posibles dificultades que encontraste durante el desarrollo de la práctica:

Sugerencias:





CUESTIONARIO

1. Indicar que procedimientos se realizan previo al desarrollo de la necropsia y por qué es importante realizarlo?.
2. Explicar la forma correcta en que se descubre la cavidad del pez para poder observar los órganos internos, ¿Qué precauciones se deben tener?.
3. Indicar en qué consiste el proceso de observación en fresco o *in situ* durante la toma de muestras.
4. Explicar lo que indica un cambio de coloración en los peces.
5. Explicar qué condiciones o características estarían presentes en peces que padezcan una enfermedad septicémica.





III. BIBLIOGRAFIA

Brown, L., (1993), Aquaculture for veterinarians: Fish husbandry and medicine, Pergamon Press, Inglaterra.

Ferguson, H. 1989. Systemic pathology of fish a text and atlas of comparative tissue responses. University Pres. USA. 263 pp.

Inglis, V.; Roberts, J.; Bromage, N. 1993: Bacterial diseases of fish. B. Sci. Publicat. Inglaterra. 312 Págs.

Office International des épizooties. (2003). Diagnostic manual for Aquatic Animal Diseases. 3rd. Ed. Paris, France.

Roberts, R. J. (1981), Patología de los peces, Mundi prensa, Madrid, España.

Shaperclaus, W. 1991. Fish diseases. 1^o. 2^a Vol. A. A. Balkema/Ro. Inglaterra. 1398.

Wolf, K., (1988), Fish viruses and fish viral diseases, C. Univer. Press. U.S.A.





IV. ANEXOS

V. ACTUALIZACIÓN

Manual de Prácticas de Laboratorio de Acuicultura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, estado de México; 27 de mayo de 2013.

Primera Edición

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTEENIA

Director:
Dr. en C. José Mauro Victoria Mora

Elaboró:
M en C. Luis Fernando Vega Castillo
Dr. César Ortega Santana

Revisó:

