

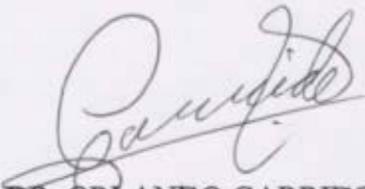


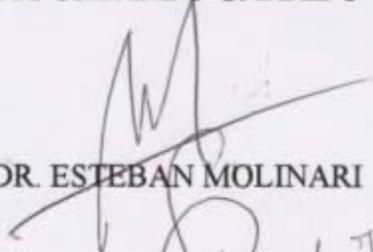
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Embriología

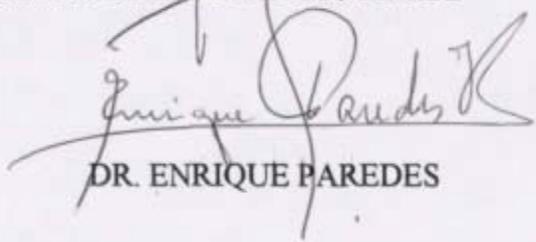
Malformaciones encontradas en alevines de salmón del atlántico (*Salmo salar*)
provenientes de ovas nacionales e importadas en una piscicultura
de la Décima Región, Chile

Tesis de Grado presentada como
parte de los requisitos para optar al
Grado de LICENCIADO EN
MEDICINA VETERINARIA.

María Eugenia Burgos Alvarado
Valdivia Chile 1999


PROFESOR PATROCINANTE : DR. ORLANDO GARRIDO


PROFESORES CALIFICADORES : DR. ESTEBAN MOLINARI


DR. ENRIQUE PAREDES

FECHA APROBACIÓN : VIERNES 15 DE ENERO DE 1999.

A mis padres por el esfuerzo que han realizado a lo largo de estos años, a mi familia, especialmente a mi hija Valentina por acompañarme durante mis años de estudio.

INDICE

1.RESUMEN	1
2.SUMMARY	2
3.INTRODUCCION	3
4.MATERIAL Y METODO	11
5.RESULTADOS	13
6.DISCUSION.....	24
7.BIBLIOGRAFIA	32
8.ANEXOS.....	35
AGRADECIMIENTOS.....	45

1. RESUMEN.

Con el objetivo de determinar, estudiar y comparar las malformaciones más frecuentes encontradas en alevines de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) provenientes tanto de ovas nacionales como de ovas importadas, se realizó una investigación en la piscicultura "Copihue" perteneciente a la Pesquera Mares Australes Ltda., localizada en el sector de Ensenada, Décima Región, Chile.

El trabajo consistió en obtener los alevines con malformaciones que podían ser observados en forma macroscópica, para ello se contó con alevines provenientes tanto de ovas nacionales como de ovas importadas, los importados pertenecían a los grupos Landcatch 3 de Escocia y 14 Irlanda del proveedor Fannad de Irlanda, los alevines con malformaciones provenientes de estos grupos fueron recolectados entre los meses de enero y marzo de 1997, por su parte los alevines de ovas nacionales pertenecen a los grupos Marus 10 Puro y Marus 10 Producción y fueron recolectados entre los meses de julio y agosto de 1997.

Una vez recolectada la totalidad de los alevines con malformaciones se observó que en el grupo Landcatch 3 se presentó un 0,32% de malformaciones, mientras que el grupo 14 Irlanda presentó un 0,19% de malformaciones. En relación a los grupos nacionales, el Marus 10 Puro presentó un 0,22% de malformaciones, mientras que el grupo Marus 10 Producción presentó un 0,12% de malformaciones. Los grupos importados presentaron un porcentaje ponderado de 0,27% de malformaciones, mientras los grupos nacionales presentaron un porcentaje ponderado de 0,18% de malformaciones. De los cuatro grupos estudiados el 44% del total de malformaciones fue aportado por los grupos nacionales y un 56% fue aportado por los grupos de importados.

Del total de los alevines con malformaciones se realizó una separación entre malformaciones del tipo únicas, entre los cuales destacan alevines con Espirilización de la Región Tronco Caudal, Xifosis y Lordosis; y malformaciones del tipo dobles donde destacan los Teratópagos y Teratodymos.

Dentro de las malformaciones del tipo únicas, que son las que mayormente se presentan (84% en los importados y 98% en los nacionales), destacaron en todos los grupos los llamados alevines con Espirilización de la Región Tronco Caudal, esta malformación consiste en que la zona de la región tronco-caudal del individuo se curva formando una espira en casos más leves, y hasta dos espiras en casos más severos.

Dentro de las malformaciones del tipo dobles (16% en los importados y 2% en los nacionales) destacan los Teratodymos los cuales se presentaron en todos los grupos en estudio, esta malformación en forma externa se caracteriza por observarse dos individuos los cuales se encuentran unidos tanto a nivel de la región vitelina como a nivel de la región caudal adoptando forma de Y.

2. SUMMARY.

With the intention to determine, study and compare the most frequent malformations found in Atlantic salmon fry from national and imported eggs, an investigation was made in Copihue hatchery, belonging to Mares Australes Ltda., at Ensenada in the 10th Region in Chile.

Work consisted in obtaining the fry with malformations that could be observed in a macroscopic way. For this, fry from imported and national eggs were used. The imported eggs belong to the groups Landcatch 3 from Scotland and 14 Irlanda from Ireland, the fry with malformation from these groups were recollected between January and March 1997. The fry from national eggs belong to the groups Marus 10 Puro y Manis 10 Produccion and were recollected between July and August 1997.

Once recollected the total of the fry with malformations, it was observed that in the group Landcatch 3, 0,32% had some type of malformation and in the group 14 Irlanda 0,19% of the fry presented some type of malformation. In the national group Marus 10, 0,22% of the fry presented some type malformation and in the group Marus 10 Produccion, 0,12% of the fry presented some type of malformation, that is, in general from the four groups studied. The imported groups presented a measured percentage of 0,27% of malformations and the national groups presented a measured percentage of 0,18% of malformations. In general 44% of the malformations were contributed by national groups and 56% were contributed by imported groups.

From the total of fry found with malformations, a separation was realised between single and double malformations. Within the singles it is possible to find Tronco Caudal Region Spirilization (TCRS), Xifosis and Lordosis; and within the double it is possible to find Teratophags y Teratodyms.

Within the single type malformations (84% in the imported groups and 98% in the national groups), stand out the fry with TCRS. This malformation consist that the tronco-caudal region of the fry is curved forming one spiral or two spirals in the most severe cases.

Within the double type malformations (16% in the imported groups and 2% in the national groups), stand out the Teratodyms which are present in all groups studied, this malformation in external form was characterised by observing two individuals that are united as much at level of the vitelin region as the level of the caudal region forming a Y.

3. INTRODUCCION

La acuicultura en Chile, está dentro de las actividades más dinámicas e importantes del Sector Pesquero Nacional, el cuál en su fase más reciente se ha caracterizado por el explosivo desarrollo de la salmonicultura, proceso que aún se encuentra en pleno crecimiento y que mantiene un importante horizonte de expansión que permite asegurar que el país se mantenga como segundo productor mundial de salmónidos cultivados. En 1997 se produjeron, en el ámbito mundial, 771.000 toneladas de salmón silvestre y 830.000 toneladas de salmón cultivado, de estas últimas 125.000 toneladas corresponden a Trucha de las cuales Chile aporta 60.000 toneladas; por otra parte, se produjeron 77.000 toneladas de Salmón coho de las cuales Chile es el principal productor, y por último 600.000 toneladas de Salmón Atlántico de las cuales Chile aportó 90.000 toneladas, alcanzándose así en 1997 a nivel nacional una producción total de 227.000 toneladas de salmón cultivado (Atkinson, 1998 a y b).

Debido al éxito que ha tenido la industria salmonera en Chile, la producción ha debido basarse en gran medida, en la importación de ovas. Hoy en día la industria salmonera hace distinción entre ovas nacionales e importadas, entendiéndose por nacionales aquellas que no provienen directamente de la importación desde el hemisferio norte, y que en algunos casos puede tener varias generaciones de cultivo en nuestro país (Estay y col., 1995). Por su parte, las ovas importadas provienen embrionadas y en estado de ojo, desde países como Irlanda, Escocia, Estados Unidos y Noruega, en el caso de salmón Atlántico (*Salmo salar*); de Estados Unidos, Dinamarca, Suecia, Noruega y Finlandia, para la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y de Estados Unidos y Canadá, para el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) (Fundación Chile, 1997).

En el país las especies que se manejan reproductivamente son fundamentalmente tres: el salmón Atlántico (*Salmo salar*), la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). El salmón Atlántico, que es la especie con que se trabajó en este estudio, es un teleosteo de la familia Salmonidae, especie anádroma debido a que desova en agua dulce y luego migra hacia el mar. Los adultos pesan entre 4 a 6 kilogramos y normalmente retornan al agua dulce después de dos años, los peces maduros que retornan después de sólo un año desde el mar se les conoce como "grilse" y pesan entre 1,5 a 3,5 kilos, hay una pequeña proporción que retorna a los tres años desde mar pesando entre 8 y 14 kilos. En líneas generales, sobre un 30% sobrevive para otro desove, siendo estos conocidos como "kelts" (Cordón y col., 1987). Debido a su condición anádroma se distinguen dos etapas durante el proceso de producción de esta especie, denominándose estas la fase de cultivo en agua dulce y la fase de cultivo en agua de mar.

Dentro de la fase de cultivo de agua dulce se distinguen las siguientes etapas: desove, que consiste en la obtención de los gametos por parte de los peces adultos reproductores; fertilización, que consiste en asegurar que las ovas y espermatozoides entren en

contacto; incubación que incluye el desarrollo y eclosión de los huevos fecundados; alevinaje que incluye la formación de un alevín con saco vitelino y la posterior absorción de este; finalmente la etapa de crecimiento en que el pez se desarrolla hasta estar apto para su traslado a agua de mar (Edwards, 1978).

Dentro del periodo de agua dulce ocurren una serie de enfermedades que son el resultado de la interacción de tres factores o elementos que deben conocerse y manejarse adecuadamente para prevenir y/o solucionar estos problemas, siendo estos el agente causal, el huésped o población susceptible y el medio ambiente (Jarpa, 1988).

Los peces en un cultivo intensivo, están continuamente sometidos a diversas situaciones o fluctuaciones ambientales y de manejo que difieren completamente de las que encuentran en su medio ambiente natural, las que por su condición de cautiverio no pueden eludir. Todas estas situaciones, tanto por separado como asociadas, imponen un fuerte estrés sobre los mecanismos homeostáticos o reguladores de la fisiología orgánica, situación que ocasiona diferentes reacciones compensatorias o de ajuste a las nuevas condiciones. Sin embargo, estos mecanismos de adaptación tienen una capacidad limitada de respuesta, de modo que un estrés menos severo predispondrá a los peces a contraer alguna enfermedad, pero uno que sobrepase dicha capacidad será desencadenante de un proceso patológico, que puede ser incluso letal para los peces (Jarpa, 1988).

Entre los factores ambientales de mayor incidencia en la presentación de enfermedades en nuestro medio, es posible mencionar las características físico-química del agua tales como temperatura, salinidad, ph (acidez), dureza (presencia de carbonates), turbidez (materias sólidas en suspensión), luminosidad, gases disueltos (oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono), productos de la desintegración orgánica o desechos metabólicos de los peces (sulfuro de hidrógeno, nitritos, nitratos, amonio, etc.), elementos o sustancias potencialmente tóxicas si se hallan a niveles superiores de los biocompatibles (mercurio, hierro, plomo, zinc, cobre, insecticidas, desechos industriales, etc.), por otra parte también hay factores relacionados con las instalaciones o manejo, que eventualmente predispone a los peces a contraer enfermedades, tales como: equipamiento o infraestructura inadecuada para la especie o fase de cultivo involucrada, estanques mal diseñados, flujos de agua y substratos o materiales inapropiados, densidades altas por tiempos prolongados, manipulaciones excesivas o poco cuidadosas durante conteos, desdobles, traslados, etc.; alimentación en cantidad o calidad insuficiente para la etapa de desarrollo y especie en cultivo, normas de higiene y desinfección nulas o deficientes tanto en las instalaciones como en los equipos y personal, tratamientos realizados a dosis muy superiores o inferiores a las recomendadas, utilización de productos inadecuados, etc. (Jarpa, 1988)

Los principales problemas registrados durante la etapa de incubación de las ovas, se refieren a porcentajes variables de mortalidad por diferentes causas que van desde enfermedades de carácter infeccioso a cuadros de etiología desconocida o multifactorial (Jarpa, 1988).

Sin duda la afección más común en las pisciculturas chilenas es la producida principalmente por hongos del género *Saprolegnia*, que se encuentran en todas las fuentes de agua dulce. Por otra parte, se registran mortalidades masivas de ovas por causa no bien determinadas que pueden hallarse asociadas a la calidad y estado sanitario de los reproductores utilizados. Se ha observado que son muchas las enfermedades transmisibles desde los reproductores a las ovas, siendo los géneros bacterianos más involucrados *Vibrio*, *Listeria*, *Corynebacterium* y *Staphylococcus* aparte de estos son también transmisibles por esta vía las enfermedades virales como el IPN, IHN, VHS (Jarpa, 1988). Por otra parte se suma la manipulación inadecuada de los reproductores y ovas que causan "manchas blancas" en los huevos debido a una ruptura o debilitamiento de la membrana del vitelo, lo que provoca la precipitación de la albúmina contenida en él, también es posible observar huevos con coágulos en su interior, posiblemente debido a los efectos de metales pesados del agua, sobretodo zinc y cobre (Roberts y Shepherd, 1986). En el caso de zinc, éste ion inhibe una enzima que le permite al alevín iniciar la eclosión, por lo que el empleo de tratamientos con verde de malaquita no libre de este ion causará la muerte de los alevines al no poder éstos eclosionar (Jarpa, 1988).

Respecto de las variables antes mencionadas y dada la creciente importancia que adquiere el auto abastecimiento de ovas, se requiere a corto plazo que haya una estandarización de las técnicas y metodologías más convenientes para producir ovas de buena calidad, las que a futuro podrían constituir una alternativa estable de producción y exportación.

Muchos de estos problemas originados durante la etapa de ova van a repercutir posteriormente durante la etapa de alevín con saco, causando mortalidades variables en los alevines.

Roberts (1989) señala que aparte de las patologías nutricionales y de origen infeccioso, existen tres grupos de enfermedades en alevines con saco vitelino. En primer lugar hay un número de enfermedades no infecciosas que están asociadas con cambios físicos en el agua, en segundo lugar hay varias condiciones bien reconocidas cuyas etiologías son aún poco conocidas, y en tercer lugar hay un grupo de enfermedades asociadas directamente con aberraciones genéticas.

Entre las enfermedades relacionadas con cambios físico-químicos del agua está la "enfermedad de la burbuja", asociada a una sobresaturación del agua por gases que pueden provocar una mortalidad entre los alevines. En casos menos graves se observan los alevines nadando de manera anormal frecuentemente con el vientre hacia arriba o con sus cabezas dirigidas verticalmente como consecuencia de las burbujas de gas en el interior del saco vitelino (Roberts y Shepherd, 1986).

En alevines con saco hay dos situaciones patológicas que no son de naturaleza infecciosa, sino más bien ambientales. Una de ellas es la constricción del saco vitelino que se presenta con cierta frecuencia en alevines del salmón del Pacífico y Atlántico, y que se manifiesta por constricción del extremo apical del saco vitelino, el cual se termina por

coagular y desprender si el alevín no muere antes, esta elongación se debería al parecer al esfuerzo natatorio del alevín al estar sobre una estructura lisa (Jarpa, 1988). Otra enfermedad se refiere a la "enfermedad del saco azul" que, según Roberts y Shepherd (1986), consiste en una patología en la cual el saco vitelino aumenta en tamaño de manera que los alevines no pueden nadar en posición normal. Esta condición se debe a un incremento en el fluido del saco vitelino, el cual se torna de color azul-gris. La causa más específica es probablemente la acumulación de productos metabólicos. Esta condición se puede aliviar, en cierta medida incrementando el flujo del agua.

Además de todas las patologías antes mencionadas y en este sistema intensivo de producción aparecen las llamadas malformaciones. La denominación "malformación" fue aplicada clásicamente a las anomalías estructurales que podían ser diagnosticadas a simple vista o con ayuda de técnicas auxiliares (Adler, 1974).

En términos generales y en diferentes tipos de especies, se reserva el término de "monstruos" a los casos de desviaciones complejas del desarrollo que confieren una grave distorsión del aspecto corporal. Se distinguen los monstruos unitarios, constituidos por un sólo individuo; y los monstruos dobles, constituidos por la totalidad o una parte de dos individuos que componen una sola estructura. Tanto los monstruos unitarios como los dobles pueden ser autófitos o parasitarios, según si son capaces o no de asegurar su propia circulación sanguínea. Dentro de los monstruos dobles, según el nivel del cuerpo que se presenta unido se denominan Teratópagos (unidos en H), Teratodelfos (unidos en Lambda), y Teratodymos (unidos en Y) (Adler, 1974). Sin embargo, también existen otros tipos de clasificación como la que cita (Aros, 1979) donde nombra a las deformaciones dobles como Omphalopagias las cuales van a ser omphalopagias epigástricas en el caso que los individuos se encuentren unidos ventralmente a nivel de la zona vitelina, u omphalopagias epigastro-caudal en el caso en que se encuentren unidos ventralmente a nivel de la región vitelina y la región caudal. También a las omphalopagias se les agrega si son iguales en el caso de que los tamaños de los individuos sean aproximadamente similares entre sí, o desiguales (o parasitarias) en el caso que los dos individuos sean de diferente tamaño, el individuo mayor y de aspecto externo normal representaría al autófito el cuál es el portador del saco vitelino y el menor sería el parásito adherido secundariamente al saco vitelino.

Los conocimientos actuales sobre las bases fisico-químicas del desarrollo embrionario, y la información disponible con respecto a la acción teratogénica de distintos agentes ambientales, permitiría afirmar que existen malformaciones aparentemente "espontaneas", que son aquellas en las cuales los métodos actuales de investigación y diagnóstico son insuficientes para detectar la causas subyacentes al defecto. Pero en estricto rigor, todas las malformaciones tienen una causa, por lo tanto estas malformaciones espontaneas no existen, es importante insistir en esto ya que el descubrimiento de las causas de las malformaciones congénitas es imprescindible para su prevención (Adler, 1974).

Entre los diferentes tipos de malformaciones se encuentran las malformaciones congénitas, que se refieren a las características adquiridas durante el desarrollo embrionario, y que por lo tanto se encuentran presentes en el momento de la eclosión, es decir, una

malformación congénita es una alteración que es originada en una falla en la formación de uno o más constituyentes del cuerpo durante su desarrollo (Adler, 1974).

Los factores etiológicos presentes en las malformaciones congénitas son diferentes según si intervienen antes, durante o después de la fecundación. Antes de la fecundación se trata de anomalías genéticas que serán transmitidas según las leyes de la herencia. Al momento de la fecundación se establecen las llamadas anomalías por aberraciones cromosómicas. Finalmente y con posterioridad a la fecundación, entre ella y el nacimiento, se producen malformaciones causadas por factores exógenos. Los factores que inciden antes y durante la fecundación se denominan endógenos. Se debe además considerar la fundamental importancia de una interacción conjunta de causales endógenas y exógenas, toda vez que la acción de factores externos pudieran moderar o agravar una predisposición genética (Adler, 1974).

Las malformaciones congénitas ocurren tanto en peces silvestres y cultivados, como también en otros grupos de vertebrados. Dentro de la prevalencia poblacional estas malformaciones son generalmente bajas y afectan básicamente a peces que mueren en estadios tempranos del desarrollo. Muchas de las malformaciones resultan de errores o aberraciones de origen genético primario, o bien son el resultado de la combinación de uno o varios factores ambientales que incluyen agentes infecciosos, hipoxia, desbalance nutricional, malas prácticas de manejo y otras condiciones relacionadas con situaciones de estrés (Bruno y Poppe, 1996). Sin embargo, la influencia de los factores ambientales, en gran parte no ha sido probada. El número y tipo de malformaciones de probable origen ambiental son variables e incluyen la reducción en el tamaño del huevo, decoloración general, alevines pseudo albinos, gemelos, cuerpo espiral, dos cabezas, dos colas y alteraciones del cráneo o mandíbula. Las condiciones de origen genético incluyen un número variable de deformaciones del esqueleto tales como alargamiento, aletas ausentes o duplicadas, y displacia localizada. Anormalidades como embriones con microftalmia y ciclopía han sido observadas en salmones, y ambas condiciones son consideradas como de origen genético. Muchos factores hereditarios involucran también la columna vertebral resultando en xifosis y lordosis. (Bruno y Poppe, 1996).

Akiyama y col. (1986) observaron que al dar por cuatro semanas dietas deficientes en triptófano a temperatura de agua de 10, 16 y 20°C a alevines de Salmón chum, la incidencia de peces con escoliosis al final del experimento significó un incremento desde un 23% a un 90%, por otra parte, a medida que la temperatura del cultivo fue disminuyendo, la escoliosis se iba haciendo más severa.

Muchos factores pueden tener interacción con el embrión en el proceso de diferenciación y crecimiento. Sin embargo, el resultado no siempre es una malformación macroscópica. En algunos casos el agente teratógeno es tan tóxico, o puede afectar de manera tan profunda a un órgano vital, como para provocar su muerte. En otros casos la influencia ambiental es tan escasa que logran sobrevivir, aunque resultan afectados algunos sistemas orgánicos, ocasionando retardo del crecimiento parcial o completo, o una alteración funcional (Sadler, 1986).

También se demostró con algunos experimentos que el efecto de un factor teratógeno va a depender del genotipo, es decir que los genes de los padres, lo mismo que los del embrión, pueden influir en la susceptibilidad de un teratógeno (Sadler, 1986).

Los teratógenos pueden actuar sobre diferentes funciones o productos celulares. De tal manera, pueden inhibir la síntesis de las proteínas o de los ácidos nucleicos, alterar la matriz extracelular, o afectar en forma adversa la citoarquitectura de las células embrionarias. Sin embargo, los agentes no se limitan a afectar un sólo proceso celular y, por lo tanto en muchos casos es difícil precisar el mecanismo básico de acción de un agente teratógeno (Sadler, 1986).

Es normal encontrar cantidades pequeñas de alevines constituidos anormalmente. Estos alevines denominados "monstruos" pueden tener forma de gemelos siameses o similares. En el caso de que su incidencia en un lote particular de huevos sea mayor al uno por ciento, este debe considerarse como sospechoso (Roberts y Shepherd, 1986).

Es importante considerar que si bien el porcentaje de alevines con malformaciones encontradas es generalmente bajo, hay que tomar en cuenta que durante el período de incubación gran parte de la mortalidad producida puede ser a causa de ovas que poseen en su interior embriones malformados, que por el daño que presentan no alcanzan siquiera a eclosionar como lo comprobó Arias y col. (1998), quién observó que sorpresivamente aparecía un fenómeno en algunos centros productores de salmón coho de la Décima Región, lo cual provocaba mortalidades importantes en esta fase productiva, debido a que habían ovas que presentaban anomalías en el desarrollo de los embriones, éstas ovas presentaban embriones con una clara microftalmia, además de embriones abortados durante el proceso de eclosión, ovas blancas (por coagulación del vitelo) y peces eclosionados pero que morían en las primeras horas. En el examen histológica éstos embriones anormales presentaban un detenimiento en el proceso de la formación del sistema nervioso, comprometiendo vesículas cefálicas, médula espinal y ojos. Por lo cual esto hace suponer que el número de alevines con malformaciones es mucho mayor al que se puede observar durante la fase de alevín con saco, ya que a estos habría que sumarle aquellas ovas que mueren antes de la eclosión.

La aparición de duplicaciones y gemelos unidos, incluye diferentes grados de serias malformaciones, las cuales pueden variar desde duplicación parcial de partes del cuerpo a la duplicación completa de dos individuos ligados en grado variable. Las anomalías congénitas de este tipo se refieren principalmente a siameses gemelos y ocurre tanto en alevines de salmónes silvestres como criados. La sobrevivencia es rara en muchos de estos gemelos, algunos de ellos logran vivir, pero sólo por unos pocos días. Generalmente mueren cuando el saco vitelino es absorbido, sin embargo se ha descrito que siameses gemelos pueden sobrevivir hasta la madurez, lo que ocurre generalmente cuando uno de los gemelos es dominante y ha crecido más que el gemelo vestigial. Los dos cuerpos se fusionan a lo largo del flanco con posible duplicación de la aleta dorsal. Cada pez puede contar con un set completo de órganos internos, a menudo el gemelo vestigial tiene órganos incompletos, pero ambos pueden compartir órganos internos tales como el tracto intestinal (Bruno y Poppe, 1996).

Duijn (1973) señala que las desviaciones del desarrollo normal pueden dar origen a "monstruos" tales como individuos bicéfalos, con dos colas o unidos por el abdomen, esto es dos embriones completos que comparten un sólo saco vitelino. Esta desviación se debe a que ciertos grupos celulares se separan unos de otros temprano durante el desarrollo embrionario, sin que vuelvan a unirse jamás, generándose de esta manera órganos duplicados. También señala que si la separación entre grupos celulares es completa y temprana durante el desarrollo embrionario, se producirán gemelos homocigotos.

Busnita y Gheorghe (1949) señalan que las malformaciones cefálicas pueden tener causas semejantes a las que provocan las malformaciones de las aletas. Los mismos autores afirman que las malformaciones cefálicas descritas en el lucio, barbo y perca, se producían a menudo por una carencia de oxígeno. Cuando la tasa de oxígeno descendía por debajo de seis miligramos por litro, se registraba desarrollo más lento. Si la tasa en cuestión disminuía por debajo de tres coma cinco miligramos por litro, se originaban individuos anormales o se producía la muerte de éstos.

Las anomalías que con mayor frecuencia se observan en peces, no necesariamente son de origen patógeno, destacando entre estas las anomalías del cuerpo, y en particular de las extremidades. Entre los peces recién nacidos se observan frecuentemente malformaciones múltiples, entre los jóvenes con mayor frecuencia la denominada "cabeza de dogo", y entre los peces adultos anomalías del color y la inversión sexual o hermafroditismo. Se ha informado, sobre la existencia de truchas sin cola, siendo las causas de estas malformaciones de diferente índole. En parte pueden tener origen genético, pero también pueden obedecer a quemaduras químicas por álcalis o ácidos, a la falta de vitaminas y a carencias de oxígeno. Las fluctuaciones en la tasa de oxígeno frenan el crecimiento y valores bajos los niveles mínimos son responsables de provocar malformaciones (Sarkar y Kapoor, 1956).

Por otro lado Schaperclaus (1991) señala que la incidencia de condiciones ambientales desfavorables durante el periodo de desarrollo de ova a embrión, produce alevines malformados y lisiados, los que suelen ser numerosos durante toda la incubación. Las principales malformaciones en salmonideos se han observado asociadas a las siguientes causas: huevos sobremaduros o inmaduros, deficiencias de oxígeno, grandes variaciones de temperatura, acción de la luz antes de la eclosión, vibraciones violentas, afluentes industriales como el hierro o debido a malas prácticas de manejo

Con respecto a como influye la temperatura en la producción de malformaciones, Kuramoto y col. (1988) observaron como las diferentes temperaturas influyen sobre el desarrollo temprano de huevos y la ocurrencia de malformaciones gemelas en alevines de Salmón chum. Los resultados enfatizan la fuerte influencia sobre la velocidad del desarrollo de huevos a baja temperatura del agua, no tanto así a altas temperaturas del agua. Por otra parte sólo en los grupos que se mantenían a 15°C fueron notificados embriones con malformaciones gemelares.

Antes de la gastrulación el desarrollo parece estar dirigido por factores citoplasmáticos y que los genes nucleares sólo actúan en tanto que determinan la estructura del citoplasma del huevo. Al empezar la gastrulación, los genes pueden actuar más directamente sobre el desarrollo y, a partir de ésta fase, los genes paternos que han penetrado en el huevo con el espermatozoide pueden manifestarse. Por lo tanto, la organogénesis esta regulada por los genes (Adler, 1974).

Actualmente no es posible demostrar qué acción tiene cada gene al influir sobre los procesos del desarrollo en los animales. En los mutantes, uno o más genes difieren del alelo "normal", o varía la disposición de los genes en los cromosomas (en las traslocaciones), detectándose este cambio por las desviaciones que se presentan respecto al desarrollo normal del organismo (Adler, 1974).

Muy a menudo la desviación consiste en una detención del desarrollo lo que permite deducir que el gene o los genes en su estado normal, no mutado, determinan el curso normal del desarrollo. Por lo tanto, si en un mutante se observa la perturbación de algún proceso de formación de los esbozos de los órganos, se concluye que dicho proceso está regido por el alelo normal del gene mutado o que depende de la disposición normal de los genes en los cromosomas (Adler, 1974).

Los cambios determinados por los genes mutantes en el organismo en desarrollo, en lo que a la organogénesis se refiere, pueden agruparse con bastante arbitrariedad en tres tipos:

- Desarrollo deficiente (disminución del tamaño o del número de órganos).
- Desarrollo excesivo (aumento del tamaño o del número de órganos).
- Cambios cualitativos en los esbozos de los órganos (sustitución de un esbozo por otro) (Adler, 1974).

Con el objeto de contribuir al conocimiento de las malformaciones encontradas en alevines de salmón Atlántico se propusieron los siguientes objetivos:

- Caracterizar los diferentes tipos de malformaciones, mediante exámenes anatomo-histológicos.

- Determinar y comparar el porcentaje de alevines con malformaciones provenientes de ovas nacionales de salmón Atlántico (*Salmo salar*) de los grupos denominados Marus 10 Puro y Marus 10 Producción, y de ovas importadas de los grupos denominados 14 Irlanda del proveedor Fannad de Irlanda, y Landcatch 3 del proveedor Landcatch de Escocia.

4. MATERIAL Y METODO

4.1. Material.

Para la realización del presente trabajo, se utilizaron tanto ovas nacionales como ovas importadas de salmón Atlántico (*Salmo salar*), las cuales fueron mantenidas en una sección de incubación que consta de 84 bateas horizontales en la piscicultura "Copihue", perteneciente a la Pesquera Mares Australes Ltda., y que se encuentra localizada en el sector de Ensenada, ruta 215 kilómetro 42, ocupando un área de 0,78 hectáreas en la rivera del río Copihue.

Las ovas nacionales utilizadas correspondieron a los grupos denominados Marus 10 Producción y Manís 10 Puro que originalmente provienen de Fannad de Irlanda, la denominación Marus fue dada en forma arbitraria por Mares Australes y el número corresponde a la generación en que este grupo se encuentra. Por su parte las ovas importadas corresponden a los grupos 14 Irlanda del proveedor Fannad de Irlanda y Landcatch 3 del proveedor Landcatch de Escocia, al igual que en el caso de los peces nacionales la denominación fue dada en forma arbitraria por Mares Australes y el número corresponde a la generación de peces traídos desde el extranjero. Todas las ovas son mantenidas en un principio en bateas que contienen siete bandejas o canastillos distribuidos en su interior, posteriormente los canastillos son retirados y los alevines quedan libres en el interior de las bateas.

Se utilizaron doce bateas en total, es decir, tres para cada grupo, esta muestra obtenida corresponde a un tipo de muestra de conveniencia o intención no probabilística. Al producirse el 100% de la eclosión el grupo Marus 10 Producción contaba con un total de 103.578 alevines, y el grupo Marus 10 Puro con un total de 96.680 alevines, por su parte en los importados el grupo Landcatch 3 contaba con un total de 86.403 alevines mientras que el grupo 14 Irlanda con un total de 82.756 alevines.

El agua utilizada en la piscicultura durante la etapa de incubación, que corresponde al período desde ova recién fertilizada hasta primera alimentación, proviene principalmente del río Copihue y de tres pozos, los cuales son utilizados para regular la temperatura del agua del río, la temperatura del agua de las bateas es registrada seis veces al día (4, 8, 12, 16, 20 y 24 hrs). Estas bateas que en un principio mantienen a las ovas y posteriormente a los alevines mantienen un flujo de agua de 12 l/min., realizándose cuatro cambios de agua por batea por hora.

En cuanto a los procesos de desinfección, los tratamientos realizados en esta piscicultura corresponden a los siguientes, durante los primeros días de incubación son realizados baños con verde de malaquita por una hora, con una concentración de 0,02 ppm, estos baños son realizados cada tres días, en el caso del salmón del Atlántico es suspendido entre las 195 y 210 unidades térmicas acumuladas (UTA).

Antes de producirse la eclosión en las bateas, estas son limpiadas colocándose un sustrato de piedras naturales en el fondo, este manejo se realiza con sumo cuidado, evitando así producir abortos. Al momento de producirse el 100% de la eclosión, los alevines son vertidos desde los canastillos a estas bateas, lugar en el cual se mantendrán los juveniles hasta los cuatro a seis días después de la primera alimentación.

Para la fijación de los alevines se utilizó la solución de Bouin que corresponde a una solución al 1,3% de ácido pícrico, formalina al 10% y ácido acético glacial al 5%.

4.2. Método.

Una vez eclosionadas las ovas, se procedió a observar los alevines utilizados en el presente estudio comenzándose a retirar aquellos que se encontraron con algún tipo de malformación posible de detectar macroscópicamente, esto se efectuó dos veces por semana y durante todo el período que corresponde a la absorción del saco vitelino.

Una vez obtenidas las muestras, estas fueron fijadas en "Bouin", y almacenadas en recipientes de vidrio claramente identificados según grupo y fecha de obtención.

Las diferentes malformaciones se caracterizaron en base a la observación macroscópica de estas (Adler, 1974), a la vez que se prepararon cortes histológicos de cada uno de los diferentes tipos de malformaciones, los cuales se prepararon según la técnica histológica normalmente usada en el Instituto de Embriología de la Universidad Austral de Chile.

Estas muestras fueron observadas y fotografiadas en un foto-microscopio.

Los resultados fueron comparados utilizando una prueba estadística denominada Dócima de Hipótesis.

5. RESULTADOS

5.1. Observación Macroscópica

Los alevines importados estudiados corresponden a los grupos Landcatch 3 y 14 Irlanda, se estudiaron un total de tres bateas para cada grupo, que en el caso del grupo Landcatch 3 contenían un total de 86.403 alevines al momento de la eclosión, de los cuales 277 eran alevines que se encontraron con algún tipo de malformación macroscópica y que fueron recolectados entre el periodo de eclosión y el de absorción de saco. Por su parte el grupo 14 Irlanda contenía un total de 82.756 alevines al momento de la eclosión, de los cuales 157 se encontraron con algún tipo de malformación entre la etapa de eclosión y de absorción de saco vitelino. (Tabla N°1 y N°2)

Tabla N°1: Número total de alevines al momento de la eclosión junto a sus respectivos números y porcentajes de deformes encontrados por batea en el grupo importado Landcatch 3.

Nº.batea.	Nº.alevines	Deformes.	%
68	28.435	80	0,28
69	28.728	103	0,36
70	29.240	94	0,32
Total	86.403	277	0,32

Tabla N°2: Número total de alevines al momento de la eclosión junto a sus respectivos números y porcentajes de deformes encontrados por batea en el grupo importado 14 Irlanda.

Nº.batea.	Nº.alevines	Deformes.	%
128	27.486	45	0,16
133	27.996	55	0,20
134	27.274	57	0,21
Total	82.756	157	0,19

Porcentaje ponderado de presentación de malformaciones en ambos grupos importados:

$$((277 * 0,32) + (157 * 0,19)) / (277 + 157) = 0,27$$

Los alevines nacionales estudiados corresponden a los grupos Manís 10 Puro y Manís 10 Producción, se estudiaron un total de tres bateas para cada grupo, que en el caso del grupo Manís 10 Puro contenían un total de 96.680 alevines al momento de la eclosión, de los cuales 216 eran alevines que se encontraron con algún tipo de malformación y que fueron recolectados entre el periodo de eclosión y el de absorción de saco. Por su parte el grupo Manís 10 Producción estaba compuesto por un total de 103.578 alevines al momento de la eclosión de los cuales 125 se encontraron con algún tipo de malformación entre la etapa de eclosión y de absorción de saco vitelino. (Tabla N°3 y N°4)

Tabla N°3: Número total de alevines al momento de la eclosión junto a sus respectivos números y porcentajes de deformes encontradas por batea en el grupo nacional Manís 10 Puro.

Nº.batea.	Nº.alevines	Deformes.	%
110	37.322	58	0,16
114	31.151	82	0,26
115	28.207	76	0,27
Total	96.680	216	0,22

Tabla N°4: Número total de alevines al momento de la eclosión junto a sus respectivos números y porcentajes de deformes encontradas por batea en el grupo nacional Marus 10 Producción.

Nº.batea.	Nº.alevines	Deformes.	%
113	41.541	40	0,10
118	21.731	43	0,20
120	40.306	42	0,10
Total	103.578	125	0,12

Porcentaje ponderado de presentación de malformaciones en ambos grupos nacionales:

$$((216 * 0,22) + (125 * 0,12)) / (216 + 125) = 0,18$$

De los grupos de alevines importados estudiados desde el periodo de eclosión al de absorción de saco, se observó un total de 434 alevines con malformaciones de los cuales 277 corresponden al grupo Landcatch 3 contribuyendo con el 64% de las malformaciones observadas y 157 corresponden al grupo 14 Irlanda contribuyendo con el restante 36% del total de malformaciones observadas dentro del grupo de importados (Tabla y Gráfico N° 5)

Tabla N° 5: Aporte porcentual del grupo Landcatch 3 y 14 Irlanda considerando el 100% de las malformaciones.

OVAS IMPORTADAS	Deformes:	%
Landcatch	277	64%
14 Irlanda	157	36%
TOTAL	434	100%

De los grupos de alevines nacionales estudiados desde el periodo de eclosión al de absorción de saco, se observó un total de 341 alevines con malformaciones de los cuales 216 corresponden al grupo Manís 10 Puro contribuyendo con el 63% de las malformaciones observadas y 125 corresponden al grupo Manís 10 Producción contribuyendo con el restante 37% del total de malformaciones observadas dentro del grupo de nacionales (Tabla y Gráfico n°6)

Tabla N° 6: Aporte porcentual del grupo Manís 10 Puro y Manís 10 Producción considerando el 100% de las malformaciones.

OVAS NACIONALES	Deformes:	%
M. 10 Puro	216	63%
M. 10 Prod.	125	37%
TOTAL	341	100%

En general se recolectaron durante el periodo 775 alevines deformes de los cuales 341 fueron aportados por ambos grupos nacionales, lo cual corresponde a un 44% y 434 fueron aportados por ambos grupos importados, correspondiendo a un 56% del total de deformes.

Tabla N° 7: Porcentaje de deformes encontrados en alevines de grupos nacionales versus alevines de grupos importados considerando el 100% de las malformaciones.

GRUPOS	DEFORMES	%
Nacionales	341	44%
Importados	434	56%
Total	775	100%

Las malformaciones encontradas en los grupos Landcatch 3 y 14 Irlanda provenientes de ovas importadas, fueron clasificadas como malformaciones del tipo únicas y malformaciones del tipo dobles (Tabla N° 8)

Tabla N° 8: Número y porcentaje de malformaciones únicas y dobles encontradas en alevines provenientes de ovas importadas del grupo Landcatch 3 y 14 Irlanda.

Malformaciones	Landcatch 3		14 Irlanda		Total	
	Número	%	Número	%	Número	%
Únicas	253	91	112	71	365	84
Dobles	24	9	45	29	69	16
Total	277	100	157	100	434	100

Las malformaciones encontradas en los grupos Manís 10 Puro y Marus 10 Producción provenientes de ovas nacionales, fueron clasificadas como malformaciones del tipo únicas y malformaciones del tipo dobles (Tabla N° 9)

Tabla N° 9: Número y porcentaje de malformaciones únicas y dobles encontradas en alevines provenientes de ovas nacionales del grupo Marus 10 Puro y Marus 10 Producción

Malformaciones	Marus 10 Puro		Marus 10 Prod.		Total	
	Número	%	Número	%	Número	%
Unicas	212	98	122	98	334	98
Dobles	4	2	3	2	7	2
Total	216	100	125	100	341	100

Los gráficos número 1 al 4 muestran los diferentes tipos de malformaciones encontradas en alevines provenientes de ovas importadas del grupo Landcatch 3 y 14 Irlanda, y de ovas nacionales del grupo Manís 10 Puro y Manís 10 Producción. Al observar que tipo de malformaciones se presentaban en las cuatro cepas estudiadas, se observó como resultado la aparición de los llamados "monstruos" unitarios y los "monstruos" dobles. Dentro de los unitarios se consideran a aquellas malformaciones constituidas por un solo individuo, donde se destacan e identifican la xifosis, lordosis y espiralización de la región troncocaudal (ERTC). Por su parte dentro de los "monstruos dobles", es decir dentro de aquellas malformaciones que involucran a dos individuos a la vez, se destacan los llamados teratópagos y teratodimos.

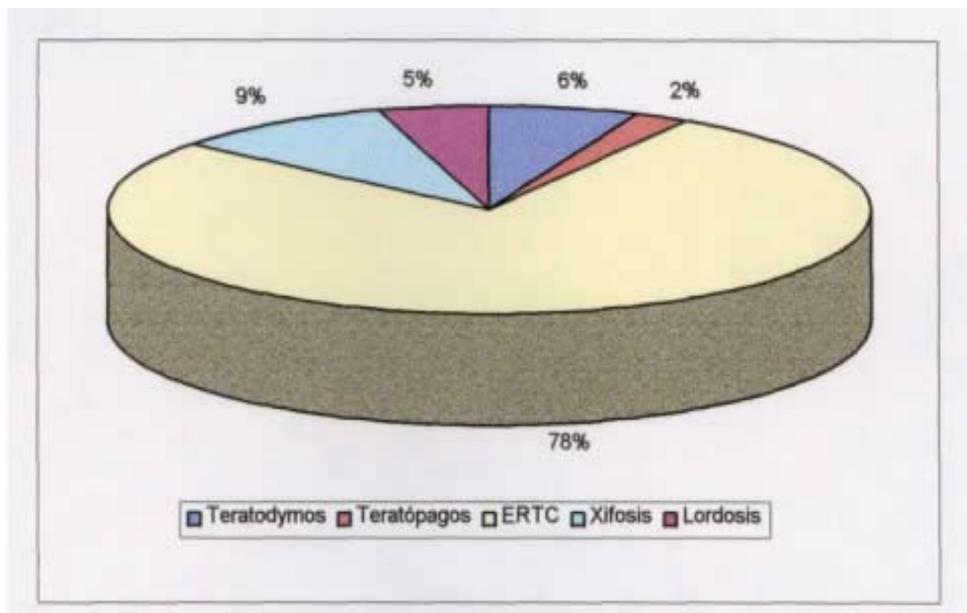


Gráfico N° 1. Distribución porcentual de diferentes tipos de malformaciones encontradas en alevines provenientes de ovas importadas del grupo Landcatch 3.

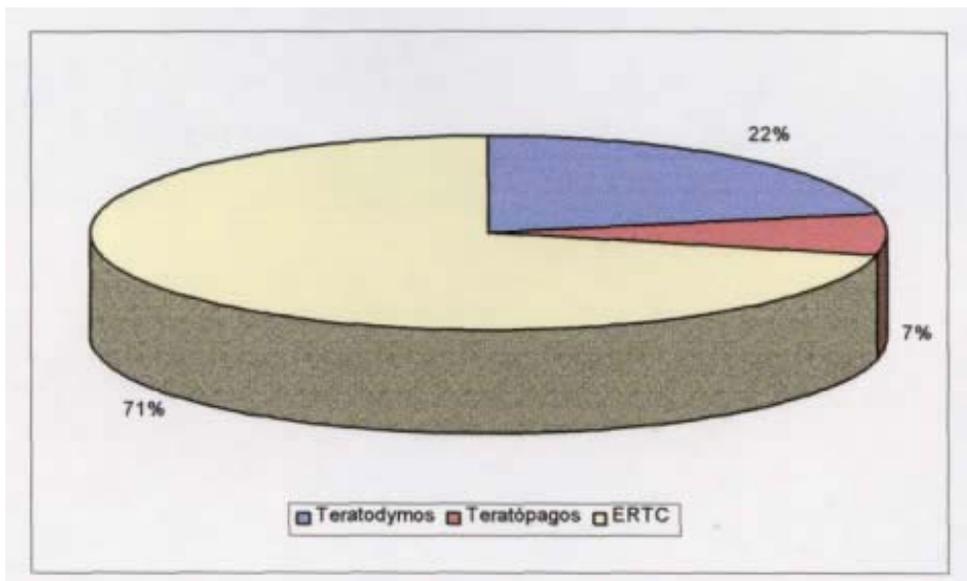


Gráfico N° 2. Distribución porcentual de diferentes tipos de malformaciones encontradas en alevines provenientes de ovas importadas del grupo 14 Irlanda.

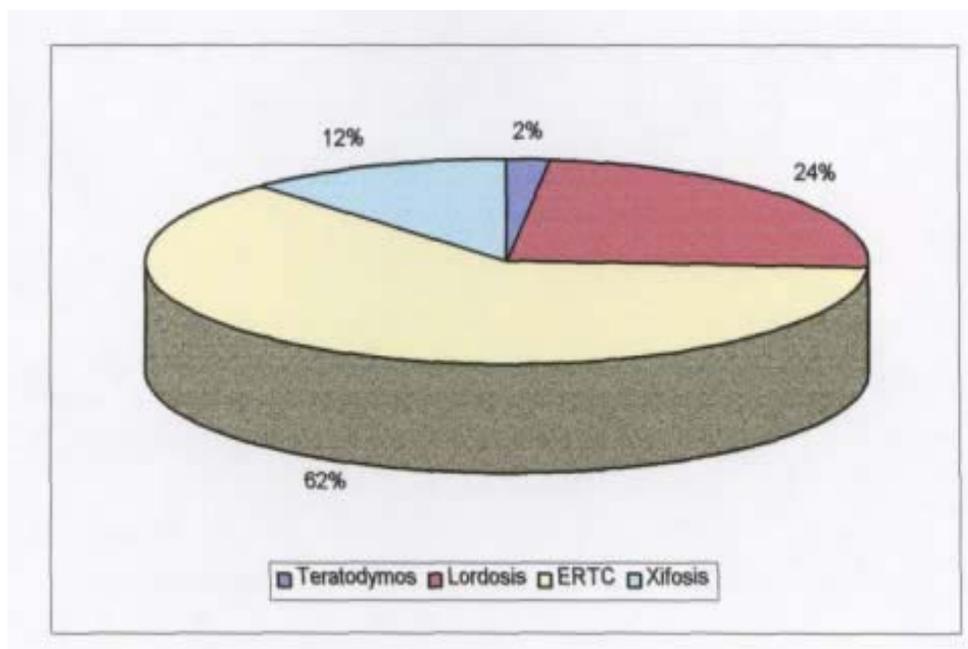


Gráfico N° 3. Distribución porcentual de diferentes tipos de malformaciones encontradas en alevines provenientes de ovas nacionales del grupo Marus 10 Puro.

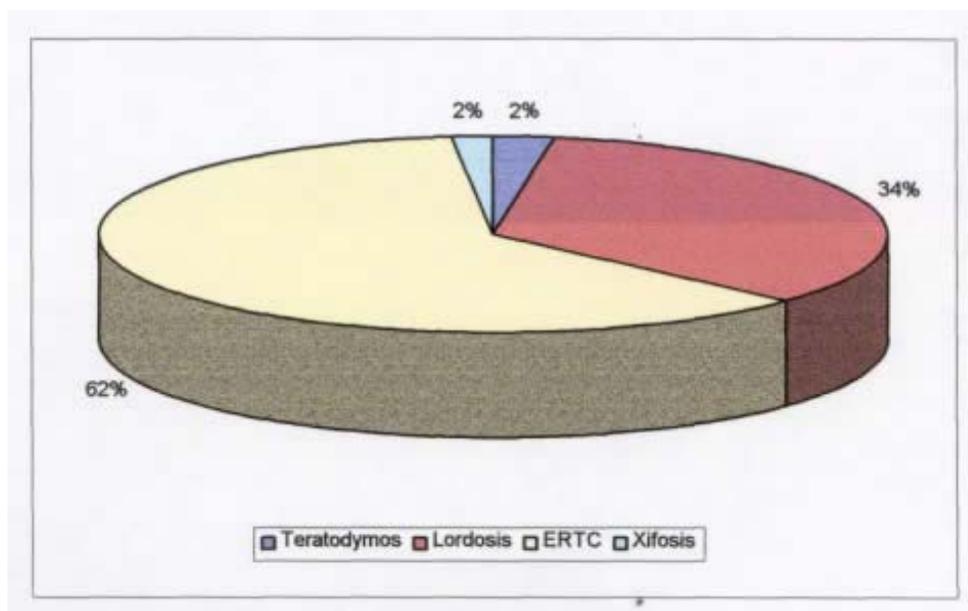


Gráfico N° 4. Distribución porcentual de diferentes tipos de malformaciones encontradas en alevines provenientes de ovas nacionales del grupo Marus 10 Producción.

5.2. Prueba estadística

Con el objetivo de comprobar si los diferentes porcentajes de malformaciones encontradas presentaban diferencias estadísticamente significativas, se aplicó un Test Estadístico (Décima de Hipótesis) (Hanke, 1997).

Tabla N° 10: Grupos a comparar usando test estadístico.

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
	Landcatch 3	14 Irlanda	Marus 10 Pu	Marus 10 Pr	Importados	Nacionales
Muestra	86.403	82.756	96.680	103.578	169.159	200.258
Proporción (p)	0,0032	0,0019	0,0022	0,0012	0,0026	0,0017
Malformados	211	157	216	124	434	340

Supuestos:

Todas las muestras tienen distribución Normal y son Independientes.

Variación desconocida

Nivel de Confianza: 95%, es decir el nivel de significación es 5%.

Décimas de Hipótesis:

Ho: $P_1 = P_2$

$P_1 - P_2 = 0$

Es decir las proporciones son iguales.

H1: $P_1 \neq P_2$

$P_1 - P_2 \neq 0$

Es decir las proporciones son distintas.

z de la tabla al 95% = 1,96

Estadístico de Prueba Z

$$z = \frac{\{p_1 - p_2\} - (P_1 - P_2)}{\text{sigma estimado}}$$

$$\text{sigma estimado} = \sqrt{\hat{p}(1-\hat{p})\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}$$

$$\hat{p} = \frac{X_1 + X_2}{n_1 + n_2}$$

X i: número de malformados en la muestra i; i = 1,2,3,4.

N i: tamaño de la muestra i; i = 1,2,3,4.

Criterio de Rechazo:

Se rechaza Ho si el estadístico de prueba Z es menor que -1,96 (Z de tabla) o mayor que 1,96 (Z de tabla).

Comparación de Landcatch 3 con 14 Irlanda

Ho: $P1 = P2$ $P1 - P2 = 0$ Es decir las proporciones son iguales.
 H1: $P1 \neq P2$ $P1 - P2 \neq 0$ Es decir las proporciones son distintas.

P estimado = 0,002565634
 Sigma estimado = 0,00024605

Bajo Ho, el estadístico de prueba = 5,283
 Valor de tabla al 95% = 1,96

Por lo tanto se rechaza Ho, es decir no existe evidencia muestral suficiente con una confianza del 95% para determinar que las proporciones son iguales.

Comparación de Marus 10 Puro con Marus 10 Producción.

Ho: $P3 = P4$ $P3 - P4 = 0$ Es decir las proporciones son iguales.
 H1: $P3 \neq P4$ $P3 - P4 \neq 0$ Es decir las proporciones son distintas.

P estimado = 0,00169781
 Sigma estimado = 0,00020952

Bajo Ho, el estadístico de prueba = 4,773
 Valor de tabla al 95% = 1,96

Por lo tanto se rechaza Ho, es decir no existe evidencia muestral suficiente con una confianza del 95% para determinar que las proporciones son iguales.

Comparación de Grupos Importados con Grupos Nacionales.

Ho: $P5 = P6$ $P5 - P6 = 0$ Es decir las proporciones son iguales.
 H1: $P5 \neq P6$ $P5 - P6 \neq 0$ Es decir las proporciones son distintas.

P estimado = 0,002095193
 Sigma estimado = 0,000150998

Bajo Ho, el estadístico de prueba = 5,747
 Valor de tabla al 95% = 1,96

Por lo tanto se rechaza Ho, es decir no existe evidencia muestral suficiente con una confianza del 95% para determinar que las proporciones son iguales.

5.3. Observación Microscópica

5.3.1. Teratópagos.

Dentro los monstruos dobles se encuentran los llamados teratópagos compuestos por dos individuos que pueden ser de tamaño similar o presentarse de forma que uno de los dos individuos es de menor tamaño. En general se considera el aspecto externo de todos aquellos individuos dobles que se encuentran unidos ventralmente a nivel de la zona vitelina adoptando forma de H. (Anexo, Ilustración N° 1).

De todos los teratópagos recolectados, el largo del cuerpo varió entre 1,5 y 2,0 cm, dependiendo de los días de vida que tenían, por otra parte, el tamaño entre los cuerpos de ambos individuos que se encuentran unidos es de tamaño muy similar con diferencias mínimas entre 1 y 2 mm.

En el caso de los teratópagos en que el tamaño de los cuerpos de los dos individuos es similar, al observarlos al microscopio es posible apreciar una completa normalidad de las diferentes estructuras tanto de las regiones encefálicas como de la región troncocaudal.

La única particularidad de estos individuos es que ambos se encuentran unidos por el saco vitelino, y más específicamente por los componentes de la pared del saco, esto es por la somatopleura y la esplacnopleura (la primera corresponde al ectodermo más la hoja somática del mesodermo lateral y la segunda corresponde al endodermo más la hoja esplácnica del mesodermo lateral), es decir, poseen en común la masa de vitelo y la cavidad celómica.

Sin embargo, se observaron una muy pequeña cantidad de individuos que a pesar que se encuentran unidos de la zona vitelina, la forma de H que adoptan está en cierta forma incompleta ya que uno de los individuos es de menor tamaño debido a cierta espiralización que adopta su cuerpo, el más pequeño que en estos casos adopta forma espiral se implanta sobre el cuerpo del mayor, el alevín de mayor tamaño es quién porta el saco vitelino, y el de menor tamaño es el que se encuentra adherido a este saco (Anexo, Ilustración N° 2). Este individuo de menor tamaño al ser observado histológicamente presenta completa normalidad de los órganos, solamente es posible observar asimetría de los haces musculares con atrofia de la musculatura interna, lo cual provoca la torsión del tronco del individuo hacia el saco vitelino compartido (Anexo, Ilustración N° 7), estos también se encuentran compartiendo el saco vitelino, es decir, se encuentran unidos por la somatopleura y la esplacnopleura.

5.3.2. Teratodmos.

En forma externa se puede apreciar que los teratodmos son dos individuos que se encuentran unidos tanto por la región vitelina como por la región caudal, adoptando forma de Y, (Anexo, Ilustración N° 3).

En este caso se encontraron individuos que poseen duplicación tanto por delante de las aletas pectorales como por delante de las aletas dorsales, así como también individuos que se encontraban unidos a nivel de la región tronco-caudal. En los casos en que hay duplicación por delante de la aleta dorsal es posible observar en los cortes histológicos como a nivel de la aleta dorsal hay dos médulas separadas con sus respectivas notocordas, también se ve una duplicación de la aleta dorsal y anal, por su parte los órganos internos en la zona caudal a la duplicación se presentan como si se tratara de un solo individuo, es decir se observa un intestino y un riñón. En cortes más caudales se observa como los ejes cordomedulares se van uniendo hasta quedar constituyendo una sola médula y una sola notocorda. En la región cefálica no se observa ningún tipo de anormalidad (Anexo, Ilustración N° 8 y 9).

En el caso de los individuos que solo se encontraban unidos a nivel de la región tronco-caudal es posible observar dos médulas separadas y un solo riñón, fusión de la musculatura en la región caudal y unión a nivel del saco vitelino compartido (Anexo, Ilustración N° 10).

En cuanto a las cabezas de estos individuos hay algunos que casi se encuentran mirándose ventralmente, habiendo entre las cabezas de estos una angulación que varía entre los 130 y 140 grados. A su vez es posible apreciar entre los cuerpos de estos individuos una angulación que se mantiene alrededor de los 80 grados. Sin embargo hay otros casos en los cuales casi se encuentran mirándose lateralmente, entre estos individuos la angulación de las cabezas va de los 90 a los 100 grados y entre los respectivos cuerpos entre los 60 a los 70 grados.

5.3.3. Espirilización de la Región Tronco Caudal (ERTC).

Dentro de este grupo se incluyen todos aquellos individuos cuya región tronco-caudal se curva formando una espira, en algunos casos esta rotación de la región tronco-caudal es más leve formándose una sola espira y en otros casos la rotación se hace más severa formándose hasta dos espiras (Anexo, Ilustración N° 4).

Las espiras se ubican lateral al eje céfalo-caudal, en algunos casos ubicada a la derecha y en otros casos a la izquierda.

En la zona en que se produce la espirilización es posible observar alteraciones de las estructuras del sistema nervioso central produciéndose duplicación de la notocorda. Los músculos que se encuentran en la parte dorsal del cuerpo muestran una completa normalidad,

mientras que en los de la región ventral se observa degeneración de la musculatura, lo cual contribuye para que se produzca la torsión del cuerpo del individuo (Anexo Ilustración N° 11).

5.3.4. Xifosis.

Estos alevines se caracterizan por poseer una desviación angular en sentido ventral a diferentes niveles del cuerpo y con diferentes grados de intensidad (Anexo Ilustración N° 5).

Los individuos con este tipo de malformación mantienen una completa normalidad de sus órganos internos. Solo es posible apreciar como se produce cierta degeneración de la musculatura en la zona ventral del cuerpo (Anexo, Ilustración N° 12).

5.3.5. Lordosis.

Estos alevines se caracterizan por presentar una desviación angular en sentido dorsal a diferentes niveles del cuerpo y con diferentes grados de intensidad (Anexo, Ilustración N°6).

Al observar cortes en la región caudal, donde se produce la lordosis, es posible observar como la médula espinal en primera instancia va adoptando una posición lateral para posteriormente duplicarse por completo, no así la notocorda que se mantiene como estructura única, una vez pasada la región de la desviación donde se produce la lordosis la médula vuelve a hacerse única (Anexo, Ilustración N° 13 y 14).

Hay otros casos en que la lordosis es tan severa que incluso se llega a producir fusión de la musculatura en la zona de la desviación. Al igual que en el caso anterior se aprecia como la zona en la lordosis sólo la médula se duplica para posteriormente en la región más caudal, volver a constituirse como estructura única. (Anexo, Ilustración N° 15 y 16).

Hubo alevines en los cuales en la región anterior donde se produce la lordosis se observó una angulación ventral como si se tratara de una xifosis, sin embargo a la histología se comprobó que sólo se trataba de individuos con lordosis ya que el único hallazgo de importancia que se observó fue la formación de una médula doble en la región donde se encontraba la lordosis y que caudalmente, pasada la malformación, la médula volvía a constituirse como única, por lo tanto la xifosis que se veía exteriormente sólo respondía a una forma especial que adoptaban al nadar los alevines que además de lordosis tenían problemas como la inflamación del saco vitelino.

6. DISCUSION

En años recientes se ha observado un significativo incremento en el interés por parte de los productores de salmón y trucha, sobre las secuelas de índole económica y productiva que las malformaciones congénitas pueden producir (Comunicación Personal), las cuales son principalmente observadas o cobran importancia en peces de mayor tamaño, período en el cual se hacen evidentes. Durante el período de incubación estos peces con malformaciones pasan desapercibidos ya que por una parte son muy difíciles de distinguir a simple vista, y por otra parte tienden a morir en etapas tempranas posterior a la eclosión, siendo retirados con el resto de la mortalidad. Se puede observar en las tablas N° 1, 2, 3, y 4, que los porcentajes de malformaciones que se observan son muy bajos, sin embargo estos podrían aumentar si no se controlan las condiciones y factores que influyen en la presentación de estas malformaciones, las cuales pueden estar afectando al embrión ya desde sus primeras horas de vida.

Si bien el porcentaje de malformaciones encontradas durante el periodo de alevín con saco, que comprende desde la eclosión hasta la absorción del saco vitelino es baja, se debe considerar que durante el periodo de incubación de las ovas la mortalidad puede ascender a un 15% (Roberts, 1989), de este porcentaje gran cantidad podría corresponder también a ovas que poseen en su interior embriones malformados y que por el serio daño que presentan no alcanzan siquiera a eclosionar. Arias y col. (1998) lo comprobó en su reporte de desarrollo anormal de salmón Coho, donde observó que su grupo experimental de embriones anormales presentaba embriones abortados en y durante el proceso de eclosión, ovas blancas (por coagulación del vitelo) y peces eclosionados pero que morían en las primeras horas. Sobre la base de lo anterior, la mortalidad producida por malformaciones puede ser mucho mayor a lo que indican los resultados de este trabajo, ya que también habría que considerar aquellas ovas abortadas con malformaciones durante el periodo de incubación, las que no fueron consideradas en este estudio.

Hoy en día las malformaciones que más frecuentemente aparecen, son las que guardan relación con la columna vertebral y mandíbula, esto lo corrobora Bruno (1990) quien indica que las deformaciones y anormalidades del esqueleto, y particularmente de la columna vertebral, han sido observadas en muchas especies de peces destacando dentro de las causas factores hereditarios, injurias mecánicas, deficiencias nutricionales, parasitismo, condiciones ambientales adversas, y bajos niveles de oxígeno.

Lo anterior se puede corroborar con las tablas N° 8 y 9, donde se observa que las malformaciones del tipo únicas están muy por encima de aquellas malformaciones del tipo

dobles en los cuatro grupos que fueron estudiados. Dentro de las malformaciones del tipo únicas se incluyen a aquellas que guardan relación con la columna vertebral tales como Espiralización de la Región Tronco Caudal (ERTC), Xifosis y Lordosis, las causas de estas malformaciones podrían producirse por factores ambientales los cuales estarían lesionando la médula espinal dando un cambio en la dirección del eje embrionario (Comunicación Personal).

Debido a que tanto las condiciones ambientales, como el manejo que se le dé a los peces puede estar influyendo en la presentación de malformaciones, es importante hacer alusión a las condiciones en las cuales se mantenían tanto a ovas como a alevines. Durante los primeros días de incubación las ovas se sometieron a baños de desinfección con Verde de Malaquita por una hora cada tres días con una concentración de 0,02 ppm, el tratamiento se suspendía para el caso de salmón Atlántico a las 195 a 210 Unidades Térmicas Acumuladas (UTA). En relación a lo anterior la literatura señala que es posible el empleo de baños con Verde de Malaquita en concentraciones de hasta 1:200.000-400.000 tres veces a la semana por una hora de duración durante el estado de ova verde no debiendo usarse durante el periodo de ova con ojo (Corfo, 1987). Con respecto a esto, Edgell y col. (1993) realizaron un estudio durante los años 1987 a 1989 sobre el uso de soluciones de sal en lugar del Verde de Malaquita para el control de infecciones por hongos durante la incubación de huevos de salmón, demostrando que la mortalidad de huevos y la incidencia de alevines anormales es mucho más alta con la utilización del Verde de Malaquita. De la misma manera, Dawson y col. (1994) señalan que el Verde de Malaquita posee un gran potencial teratogénico en mamíferos y peces. Con respecto a lo mismo Ferguson (1989) destaca que las inadecuadas condiciones de incubación donde se incluye el abuso en el uso de agentes desinfectantes como el Verde de Malaquita, desencadenan la aparición de escoliosis, lordosis y otras anomalías del esqueleto, particularmente de cráneo, mandíbula, huesos branquiales y operculares. El mismo autor también señala, con relación a este desinfectante, que posee un importante potencial teratogénico.

Con respecto al flujo y a la calidad del agua, la literatura (Gordon y Col., 1987) considera un flujo de 12 litros por minuto como apropiado para cada batea, y en cuanto a la calidad del agua considera como óptimo una temperatura de 8 a 10 °C, niveles de oxígeno sobre 6 ppm, CÚ2 0,03 a 15 ppm, pH 6,7 a 8,2 y polución ausente, en este caso en la piscicultura en la cual se trabajó, las bateas que en un principio contenían a las ovas y posteriormente a los alevines mantenían un flujo de agua de 12 litros por minuto, realizándose cuatro cambios de agua por batea y por hora. En cuanto a la temperatura promedio desde el ingreso de las ovas hasta el traslado de los alevines a la sala de estanques, que es cuatro a cinco días posterior a la primera alimentación, los grupos importados Landcatch 3 y 14 Irlanda se sometieron a temperaturas promedio de 10,3 °C y de 10,4 °C respectivamente. Por otra parte los grupos nacionales Manís 10 Puro y Marus 10 Producción, se sometieron a temperaturas promedio de 8,8 °C, considerado la temperatura promedio desde la etapa de ova

y no solamente desde el período de eclosión. Se sabe que diferentes deformaciones pueden ocurrir en la etapa de huevo, cuando tiene lugar la formación de las partes relevantes del cuerpo y de algunos órganos, es así como se ha visto algunas deformaciones en huevos incubados a altas temperaturas, algunas de las cuales no aparecen hasta más tarde en el ciclo de vida. La relación entre temperatura y deformaciones es relativamente clara para algunos defectos como por ejemplo los del septum transverso, que resultan en la formación de un corazón deformado y ectópico (Akvaforsk, 1997). Se sabe que la temperatura del agua es un factor crítico para el desarrollo normal y uno de los más importantes con respecto a la incidencia de deformaciones en el salmón.

Hoy en día la situación en el mercado de los huevos y smolts es altamente competitiva, ya que la oportunidad de entrega y el tamaño de los smolts son factores importantes para la producción, por lo que la posibilidad de alcanzar los máximos crecimientos se ha transformado en un objetivo de importancia para los productores. A pesar del riesgo de aparición de deformaciones, se ha observado en forma experimental que las altas temperaturas durante el período previo a la primera alimentación inducen una importante ganancia de tiempo y la obtención de mejores crecimientos en los peces después de la primera alimentación (Akvaforsk, 1997).

Los peces continuamente excretan sustancias las cuales son potencialmente perjudiciales para ellos mismos, la acumulación de fecas induce el aumento de amonio y también incrementa el aumento de materia disuelta en el agua. Los sólidos suspendidos pueden dañar a los peces por dos vías, una es por irritación mecánica y posterior atrofia de las branquias y la segunda por la remoción del oxígeno desde el agua durante los procesos de descomposición, la demanda de oxígeno por parte de los desechos, materia orgánica y microorganismos puede producir una insuficiente cantidad del mismo afectando la salud de los peces (Roberts y Shepherd, 1986). También se señala que estas fluctuaciones en la tasa de oxígeno, que pueden ser atribuibles también a otras causas aparte de las ya citadas, frenan el crecimiento y provocan malformaciones al alcanzar niveles por debajo de los valores mínimos. En peces de cultivo es muy importante mantener un adecuado recambio de agua y limpiar regularmente los estanques para prevenir la acumulación de desechos y así evitar la remoción del oxígeno.

Con el objetivo de mantener la limpieza en los canastillos y bateas y así poder evitar tanto la contaminación con hongos como la variación en los niveles de oxígeno, es que a partir de la etapa de ova con ojo se procede a extraer la totalidad de las ovas muertas. Posteriormente, durante la etapa de alevín con saco la frecuencia de extracción de los ejemplares muertos es de cada cuatro a cinco días.

Bodammer (1993) observó que la contaminación del agua producía anomalías teratológicas en embriones y larvas de peces. Este autor se refiere principalmente a la contaminación producto de metales pesados, hidrocarburos, pH alto y ambiente afectado por condiciones físicas anormales como por bajos niveles de oxígeno, extrema salinidad o variación de la temperatura lo cual lleva a producir notocordas distorsionadas, defectos cráneo-faciales, y ojos anormales. En términos generales los efectos

tóxicos de los contaminantes se basan en una interrupción de la morfogénesis temprana lo cual puede resultar en aparición de malformaciones en estados más tardíos del desarrollo como en el último período de desarrollo embrionario y en larvas recién eclosionadas. Este mismo autor señala que los contaminantes podrían actuar sobre la fosforilación oxidativa, por lo tanto inhiben la formación del ATP necesario para el normal metabolismo. Sin embargo, el mismo señala que no está claramente definido si los contaminantes actúan directamente sobre procesos relacionados con la energía o si la energía necesaria para el metabolismo y crecimiento es utilizada para lograr la detoxificación del organismo.

Los grupos nacionales e importados se comportaron de manera muy similar en relación a la presentación de malformaciones, ya que de los dos grupos nacionales uno de ellos contribuyó con un 64% y el otro con un 36% del total de malformados encontrados. En el caso de los grupos importados uno aportó un 63% y el otro un 37% del total de los malformados encontrados, como se puede observar en las tablas N° 5 y 6. La razón específica de porque se dio esto se desconoce, ya que las condiciones de manejo a que fueron sometidos los dos grupos nacionales fueron similares, lo mismo en el caso de los dos grupos importados. Esto haría suponer que en el caso de los grupos nacionales la diferencia en la presentación de malformaciones entre ambos puede deberse a causas de tipo genético como el origen de las cepas, en el caso de los grupos importados las causas deben buscarse tanto en aquellas de origen genético, como en causas de tipo ambiental dado por las condiciones ambientales y las prácticas de manejo diferentes que pueden haberse dado a ambos grupos de ovas importadas desde la salida de su país de origen hasta la llegada a la piscicultura.

En la tabla N°7 se observa que al considerar ambos grupos nacionales en estudio, estos aportan un 44% del total de las malformaciones a la vez que ambos grupos importados aportan un 56% del total de las malformaciones. Lo anterior aparece como una presentación bastante equitativa, sin embargo al realizar un test estadístico (décima de hipótesis) para comparar los resultados, se observa que sí existen diferencias significativas entre los peces nacionales e importados.

De igual manera, al hacer la comparación tanto entre los grupos nacionales como entre los importados, se comprobó que existe una diferencia estadísticamente significativa.

Las condiciones ambientales juegan un papel importante en la presentación de malformaciones, por lo cual antes de iniciar este estudio se pensaba que el porcentaje de malformaciones en los grupos de importados podría ser superior en relación a los nacionales, considerando que los factores desencadenantes de estas malformaciones podrían ser más factibles de controlar en ovas de origen nacional ya que en estas es posible desarrollar un completo registro tanto de los padres, la obtención de gametos, la fecundación y germinación de las ovas con el objetivo de evitar la presencia de tales factores. A lo anterior se suma que las condiciones de estrés a las que están sometidas son mucho menores que aquellas ovas de origen importado, ya que éstas últimas pasan un primer período de su vida fuera del país debiendo ser trasladadas, lo cual implica condiciones de manejo adicionales durante el período de incubación. Jarpa (1988) señala que se debe considerar que los principales problemas

registrados durante la etapa de incubación de las ovas van a repercutir posteriormente de una u otra manera en la etapa de alevín con saco.

Los bajos porcentajes de malformaciones encontrados permiten plantear que probablemente la calidad genética de las cepas estudiadas es la adecuada, y por otra parte que se están respetando las condiciones ambientales necesarias tanto en la piscicultura como durante el transporte de las ovas importadas, disminuyendo así los eventos estresantes a los que pudiesen estar siendo sometidas las ovas. En relación a lo anterior, Bodammer (1993) propone que como respuesta a cualquier ambiente inadecuado, los embriones responden con un estrés generalizado que tiene como principal objetivo el que estos permanezcan vivos, sin importar el costo que esto conlleve pudiéndose producir tanto alteraciones morfológicas, fisiológicas como del comportamiento. Rand y Petrocelli (1985) señalan que como respuesta observada al estrés se producen efectos morfológicos tales como formación inusual del blastodisco y deformación e irregular división de blastómeros, lo que podrían derivar en malformaciones embrionales.

En el caso de las malformaciones del tipo únicas que corresponden a un 84% del total de malformaciones encontradas en las ovas importadas y a un 98% del total de malformaciones encontradas en las ovas nacionales como muestran las tablas N° 8 y 9, se refiere a casos de xifosis, lordosis, escoliosis y espiralización de la región tronco caudal (ERTC). Las tres condiciones de xifosis, lordosis y ERTC, se han logrado producir en *Fundulus sp.*, mediante transecciones de la médula espinal (Aros, 1979). La ERTC se obtiene por transección entre los somitas 6 y 7, durante el estado 18 de la embriogénesis. Lordosis y xifosis se obtiene por transección a diferentes niveles de la médula espinal. En la mayoría de las larvas posterior a la transección quirúrgica, se produce regeneración anatómica del tubo neural (Aros, 1979). Estas malformaciones del eje larvario pueden deberse posiblemente a injurias del tipo traumáticas como lo destaca Schaperclaus, (1991) quien señala que notorias malformaciones pueden originarse a menudo debido tanto a daños o injurias producidas a los peces como a su subsecuente cicatrización y regeneración.

Bruno y Poppe (1996) señalan que las deformaciones de la columna vertebral pueden tener muchas formas y se reportan tanto en salmón silvestre como cultivado. Es posible observar desviaciones en el plano horizontal como escoliosis y en el plano vertical como lordosis y xifosis. También se incluyen fusión, distorsión, reducción y alargamiento de las vértebras afectando a toda la médula o a cierta región específica. Cuando estas anomalías ocurren tarde en la vida son debido a diversos factores tales como a niveles inadecuados de vitaminas y nutrientes, hipoxia, acidificación del agua, parásitos, metales y ciertos químicos. Dentro de las condiciones ambientales adversas que pueden influir en la formación de malformaciones del tipo únicas y especialmente en la producción de escoliosis o síndrome de la espalda quebrada están los agentes químicos tales como las bajas concentraciones de metil mercurio, en que se observan cuadros de escoliosis severa post eclosión.

Por otra parte Poynton (1987) estudiando las anomalías de la columna vertebral en trucha arcoiris cita varias posibles causales como impulsos eléctricos, déficit nutricionales, parásitos y aumento en la temperatura del agua.

Shaperclaus (1991) menciona que hay malformaciones que son producidas durante el desarrollo embrionario, debido a condiciones ambientales desfavorables durante este desarrollo, en el caso de deformaciones de la columna vertebral este autor las clasifica según las siguientes causas: deformaciones de la mandíbula, columna vertebral y ojo pueden deberse a huevos demasiado maduros o inmaduros, dentro de otras posibles causas que producirían problemas en la columna vertebral estarían la acción de la luz antes de la crianza, que aparte de producir lordosis y escoliosis también llevaría a retardo en el desarrollo y reducción en el número de las aletas dorsal y anal.

Shaperclaus (1991) señala que hay posibles causas exógenas que llevan a estas deformaciones o curvaturas de la columna vertebral como por ejemplo a escoliosis, lordosis, hundimiento descendente, curvatura ascendente, y deformaciones ondulantes de la columna vertebral, las cuales pueden tener lugar en peces debido a la deficiencia de vitaminas esenciales. Este autor lo atribuye principalmente a enfermedades deficitarias como a raquitismo en las cuales la predisposición hereditaria juega un rol importante, además la deficiencia de vitamina D causada por el ambiente induce a disturbios en el metabolismo del calcio y fósforo. Sin embargo no se puede atribuir el raquitismo ni las deformaciones al momento del nacimiento a alimentos pobres en vitamina D, ya que los peces son capaces de extraer calcio directamente desde el agua a través de sus membranas branquiales. Otros experimentos alimenticios también han demostrado que la deficiencia de vitamina C induce especialmente a lordosis y escoliosis.

El Laboratorio Roche (1990), con respecto a la vitamina C señala que su deficiencia en trucha arcoiris con lleva a cambios patológicos en el tejido de soporte (colágeno, hueso y cartilago), en el músculo y en los órganos formadores de sangre, sin embargo las deformaciones de la columna vertebral como xifosis, lordosis y escoliosis son los cambios más impresionantes observados.

Duijn (1973) señala que ciertas malformaciones de la espina dorsal pueden ser demostradas debido a la carencia de nucleoproteínas en los alimentos, estas deformaciones pueden ser xifosis, lordosis o escoliosis. Este mismo autor también menciona que sin duda hay deformaciones que pueden deberse a factores hereditarios como en el caso del pez dorado cuyas anomalías hereditarias han sido originadas por la selección genética a que han sido sometidos, y por la creación de líneas consanguíneas.

Brown (1993) también coincide con los autores anteriores en que hay algunas anomalías y deformaciones que pueden ser de origen genético, en estos casos incluye a alevines de trucha arcoiris que poseen un acortamiento de la parte anterior de la columna y a los salmones con la deformación de la mandíbula. Al respecto dice que se trata de un pool pequeño de genes que son usado en algunos cultivos de salmón, los cuales pueden aumentar la ocurrencia de anomalías genéticas, a su vez también la presión de selección para ciertas

características deseables puede ser causa concomitante en el incremento de algunas características indeseables.

En el caso de las malformaciones dobles que corresponden a un 16% del total de malformaciones encontradas en las ovas importadas y a un 2% del total de malformaciones encontradas en las ovas nacionales, éstas fueron clasificadas macroscópicamente según la terminología de Adler (1974). en Teratópagos en el caso de que los individuos se encontraban unidos a nivel de la región vitelina y Teratodimos en el caso de los que se encontraban unidos a nivel de la región gastro-caudal.

En el caso de los teratópagos éste es un tipo de duplicación que se ha logrado producir experimentalmente mediante la aplicación de métodos indirectos tales como agitación, asfixia, exposición al frío o al calor (Stockard, 1921). Esta situación produce gástrulas con duplicación del centro organizador, cada una de las cuales generan ejes embrionarios opuestos por su extremidad craneal, y cuyos ejes cordales no se fusionan entre sí. Luego de la delimitación corporal los embriones permanecen reunidos ventralmente con interposición del saco vitelino. Este autor también cita que el estado post gastrular de los peces es inmune frente a la interrupción del desarrollo provocado por una baja térmica. La obtención de duplicaciones en forma posterior al inicio de la gastrulación, es posible que ocurra mediante la fisuración mecánica a diferentes niveles del eje axial del blastómero bilaminar o trilaminar.

Tratamientos indirectos previos a la gastrulación o procedimientos directos una vez iniciada la gastrulación provocan la duplicidad por la formación de dos ejes embrionarios en el blastodermo. El tipo de duplicidad va a depender de la orientación y el grado de separación que ambos ejes embrionarios tengan entre sí. Si estos se encuentran separadamente contrapuestos y en sentido paralelo se forman los Teratópagos, si los ejes son adyacentes y convergen por su extremo caudal se forman los Teratodimos.

En este trabajo se observaron dos tipos de Teratópagos, aquellos en que el tamaño de los cuerpos de ambos individuos eran de dimensiones similares, y que eran los de presentación más frecuente, y aquellos Teratópagos en que el tamaño de uno de los individuos es menor, lo cual puede explicarse por la formación inicial de ejes embrionarios desiguales o bien, por una posterior influencia inhibitoria ejercida por uno de los componentes.

En el caso de los Teratodimos, que corresponden a individuos unidos en Y, los hay de dos tipos, aquellos que se encuentran unidos por la región tronco-caudal, para los cuales el mecanismo de acción por el cuál se producen básicamente es el mismo que para los Teratópagos. En este caso se supone una mayor aproximación de los ejes embrionarios por su extremo caudal pero sin que se produzca una real fusión de ellos. Por otra parte, también dentro de este grupo de Teratodimos, están aquellos que poseen una duplicación por delante de las aletas pectorales o de las dorsales y que poseen un tronco único, el mecanismo de acción por el cuál se producen según Stockard (1921) es debido a que las gástrulas presentan centros organizadores dobles, de los cuales cada uno genera ejes embrionarios adyacentes que convergen y se fusionan entre sí por el extremo caudal.

Sobre la base del trabajo realizado se puede concluir:

- En la totalidad de las bateas de ambos grupos nacionales e importados, se observaron malformaciones del tipo únicas y dobles, siendo las únicas las que predominaron.
- Dentro de las malformaciones únicas, la de más frecuente descripción fue la Espirilización de la Región Tronco Caudal.
- Dentro de las malformaciones dobles, la de más frecuente descripción fueron los Teratodermos.
- Existen diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de alevines encontrados con malformaciones al comparar los grupos nacionales con los grupos importados.
- Existen diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de alevines encontrados con malformaciones al comparar ambos grupos nacionales, y ambos grupos importados.

7. BIBLIOGRAFIA

- ADLER, R. 1974. *Biología del desarrollo y malformaciones congénitas*. Editorial El Ateneo Pedro García S.A., Buenos Aires.
- AKIYAMA, T., K. MORÍ, T. MURAL 1986. Effects of temperature on the incidence of scoliosis and cataract in chum salmon fry caused by tryptophan deficiency. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish Nissuishi*. 52(11): 2039.
- AKVAFORSK. 1997. Abnormal development in salmon fry. (Preliminary Report).
- ARIAS, P., R. SOLERVICENS, P. BUSTOS, L. MARÍN. 1998. Spinal cord malformation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) embryos: A preliminary study. *Bull. Eur. Ass. FishPathol*. 18(2): 67-72.
- AROS, J.W. 1979. Morfogénesis anormal en el *Salmo gairdneri* (Pisces salmonidae). Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- ATKINSON, B. 1998 a. BANR, Bill Atkinson's News Report (Reporte 736. Enero 28, 1998).
- ATKINSON, B. 1998 b. BANR, Bill Atkinson's News Report (Reporte 737. Febrero 4, 1998).
- BODAMMER, J.E. 1993. The teratological and pathological effects of contaminants on embryonic and larval fishes exposed as embryos: A brief review. En: American Fisheries Society Symposium, Bethesda, Maryland, 14: 77-84.
- BROWN, L. 1993. *Aquaculture for veterinarians, fish husbandry and medicine*. Pergamon Press, Oxford.
- BRUNO, D.W. 1990. Jaw deformity associated with farmed Atlantic salmon. (*Salmo salar*). *Vet. Rec.* 126: 402-403.
- BRUNO, D.W., T.T. POPPE. 1996. *A colour atlas of salmonids diseases*. Academic Press, London.
- BUSNITA, T., V. GHEORGHE. (1949). Die form des Kopfes und seine Deformation beim Barsch. *Bul. Stntif. Ak.* 1: 403-413.
- CORFO. 1987. *Manual de manejo para cultivo de trucha arco iris y salmón del pacífico*. Estudio: Perspectivas de desarrollo de cultivo intensivo e industrialización en especies dulceacuícolas en Chile, pp 2-14.

- DAWSON, V.K., J.J. RACH, T.M. SCHREFFER. 1994. Hydrogen peroxide as a fungicide for fish culture. *Bull. Aquacult. Assoc. Canadá* 94(2): 54-56.
- DUIJN, C.VAN. 1973. Diseases of fish. 3^{ra} Ed. Cox and Wyman Ltd., London.
- EDGEELL, P., D. LAWSETH, W.E. MCLEAN, E.W. BRITTON. 1993. The use of salt solutions to control fungus (*Saprolegnia*) infestations on salmon eggs. *Prog. Fish Culi.* 55(1): 48-52.
- EDWARDS, D.J. 1978. Salmon and trout farming in Norway. Fishing News Books, Farnham, England.
- ESTAY, F., N.F. DÍAZ, L. VALLADARES, G. DAZAROLA. 1995. Manejo reproductivo de salmónidos. Bases biológicas y manejo de un stock de peces reproductores. (Series publicaciones para la acuicultura N° 2).
- FERGUSON, H.W. 1989. Systemic pathology of fish. Iowa State University Press, Iowa.
- FUNDACIÓN CHILE. 1997. Ovas: Producción nacional gana terreno, *Aquanoticias Internacional*. Marzo-Abril, pp. 6-15.
- GORDON, M.R., K.C. KLOTINS, V.M. CAMPBELL, M.M. COOPER. 1987. Farmed salmon broodstock management. Sea-1 Aquafarms, Vancouver B.C.
- HANKE, J. 1997. Estadística para negocios. 2da Ed. McGraw-Hill.
- JARPA, M. 1988. Reseñas del programa de prevención de enfermedades y control sanitario de los cultivos de salmón: una visión chilena. En Seminario internacional: Técnicas de Cultivo y manejo del salmón, desarrollos recientes., Santiago, Chile.
- KURAMOTO, T., K. ARIMA, S. KAWAKAMI, N. SHEVFIZU, A. NAKWATARI. 1988. On the early development and the occurrence of twin malformation in chum salmon eggs and fry. *Sci. Rep. Hokkaido Salm. Hatch.* 42: 59-73.
- POYNTON, S.L. 1987. Vertebral column abnormalities in brown trout, *Salmo trutta* L. *J. Fish Dis.* 10: 53-57.
- RAND, G.M., S.R. PETROCELLI. 1985. Fundamentals of aquatic toxicology, methods and applications. Taylor & Francis, USA.
- ROBERTS, R.J. 1989. Fish pathology. 2nd Ed., Baillere Tindal, London.
- ROBERTS, R.J., C.J. SHEPHERD. 1986. Handbook of trout and salmon diseases. 2nd. Ed., Fishing News Books, Oxford.

- ROCHE 1990. Vitamin C deficiency in the Rainbow Trout. Brochure in the series "Animal Nutrition Events".
- SADLER, T.W. 1986. Embriología médica. 5ta Ed. Editorial médica panamericana, Buenos Aires.
- SARKAR, H.L., B.G. KAPOOR. 1956. Deformities in some Indian Cat Fishes. *J. Zool. Soc. India* 8: 157-164.
- SCHAPERCLAUS, W. 1991. Fish diseases, vol.2. 5* Ed., Amerind Publishing Co., New Delhi.
- STICKNEY, R.R. 1991. Culture of salmonid fishes. CRC Press, Boca Raton.
- STOCKARD, C.R. 1921. Developmental rate and structural expresion: An experimental study of twins, "Double Monsters" and single deformities, and the interaction among embrionic organs during their origin and development. *Am. Jour. Anat.* 28: 115-278.

8. ANEXOS

8.1. Fotografías

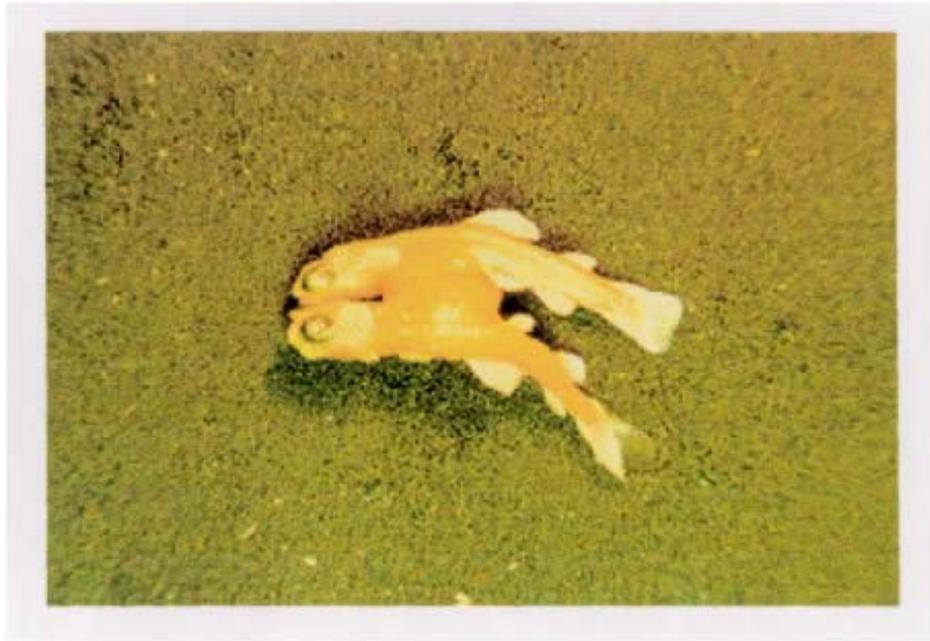


Ilustración N° 1: Alevines teratópagos (preparación fijada en Bouin). Grupo importado 14 Irlanda.



Ilustración N° 2: Alevín Teratópago con individuos de tamaño desigual (preparación fijada en Bouin). Grupo importado Landcatch 3.



Ilustración N° 3: Alevines Teratodimos en Y (preparación fresca). Grupo Importado 14 Irlanda.



Ilustración N° 4: Alevín que presenta Espirilización de la Región Tronco Caudal (preparación fresca). Grupo Manís 10 Puro.



Ilustración N° 5: Alevín que presenta Xifosis (preparación fijada en Bouin). Grupo nacional Manís 10 Puro.



Ilustración N° 6: Alevín que presenta Lordosis (preparación fresca). Grupo nacional Manís 10 Producción

8.2. Microfotografías histológicas

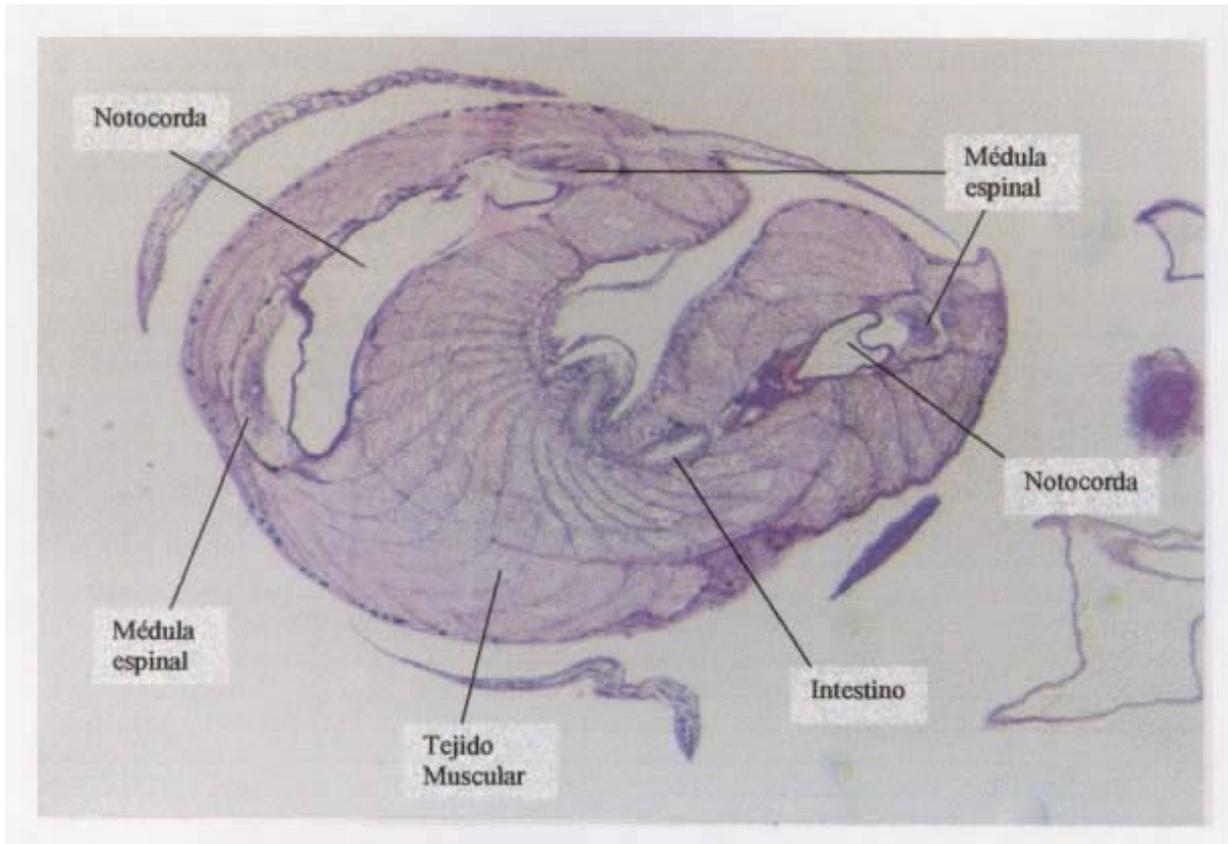


Ilustración N° 7: Microfotografía de corte histológico realizado en un individuo Teratópago y que muestra la espiralización que adopta hacia la zona del saco vitelino el individuo de menor tamaño. 575x

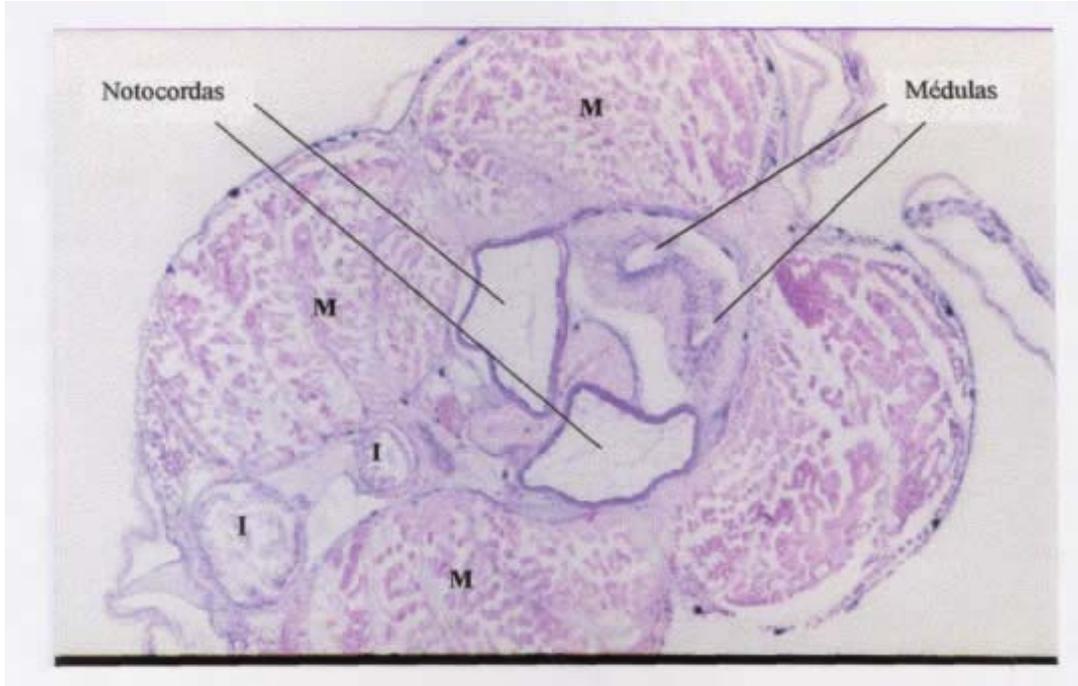


Ilustración N° 8: Macrofotografía histológica mostrando corte transversal de Teratodymo a nivel de la zona de duplicación. Se observan dos médulas separadas con sus respectivas notocordas. (I: Intestino, M: Músculo). 210x

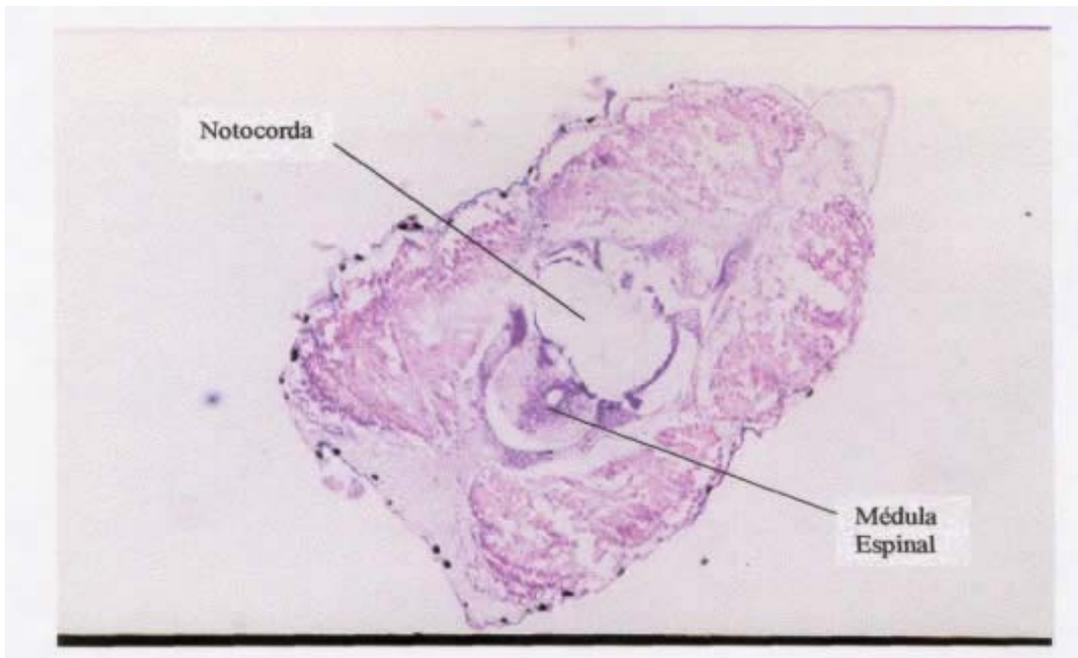


Ilustración N° 9: Macrofotografía histológica mostrando corte transversal de Teratodymo a nivel más caudal donde se produce la unión cordo-medular. 205x

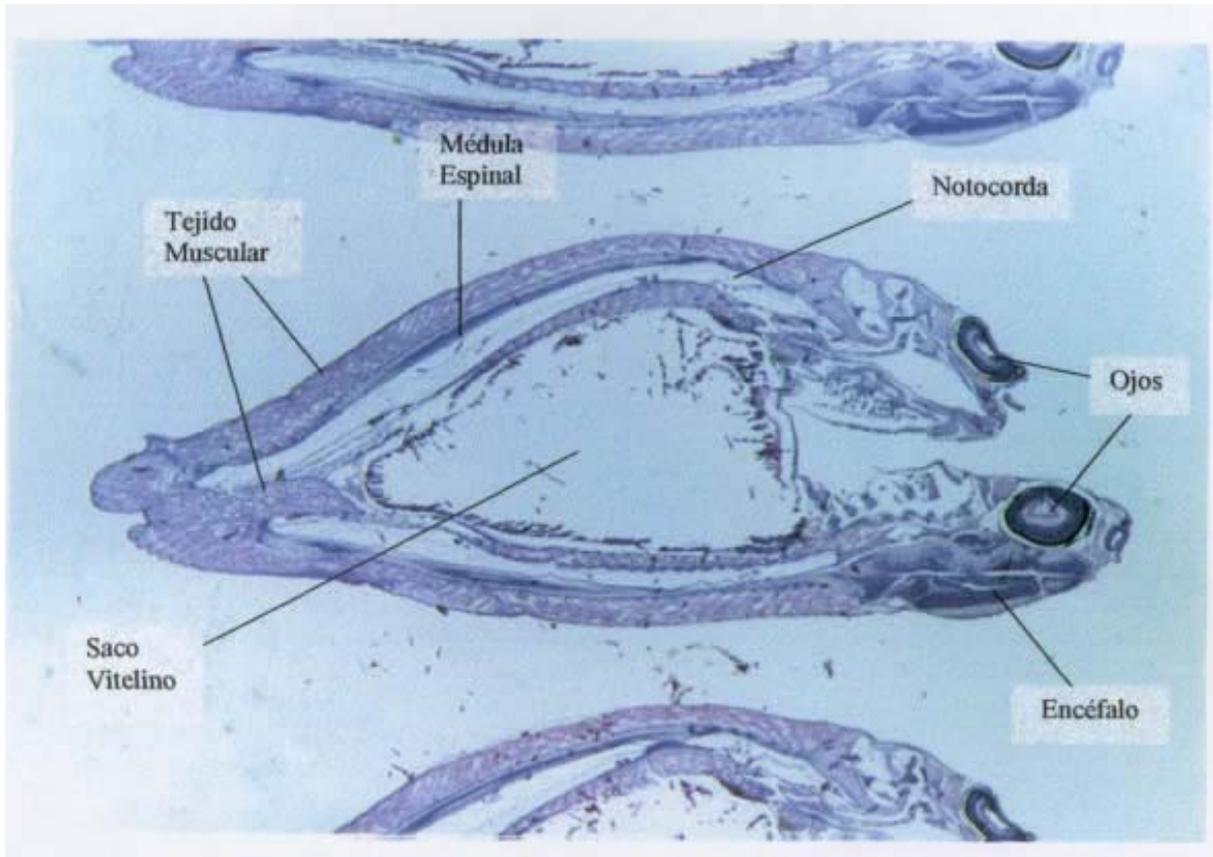


Ilustración N° 10: Microfotografía de corte histológico realizado a Teratodimo. Ambos individuos mantienen sus médulas separadas y sólo existe una unión a nivel del saco vitelino y tejido muscular de la región caudal. 108x

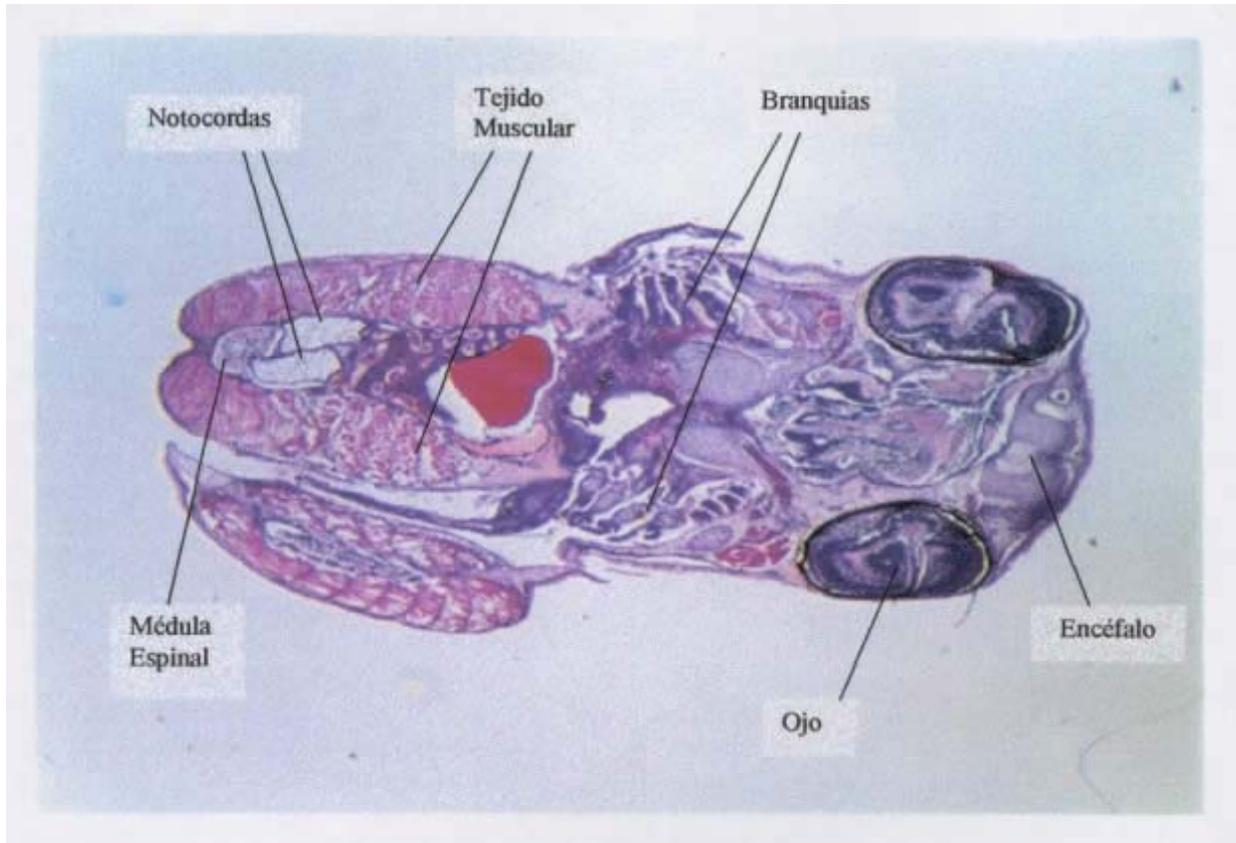


Ilustración N° 11: Microfotografía de corte histológico realizado a individuo que presentaba Espirilización de la Región Tronco Caudal. Se observa una duplicación de la notocorda y degeneración del tejido muscular en la zona ventral del cuerpo. 300x

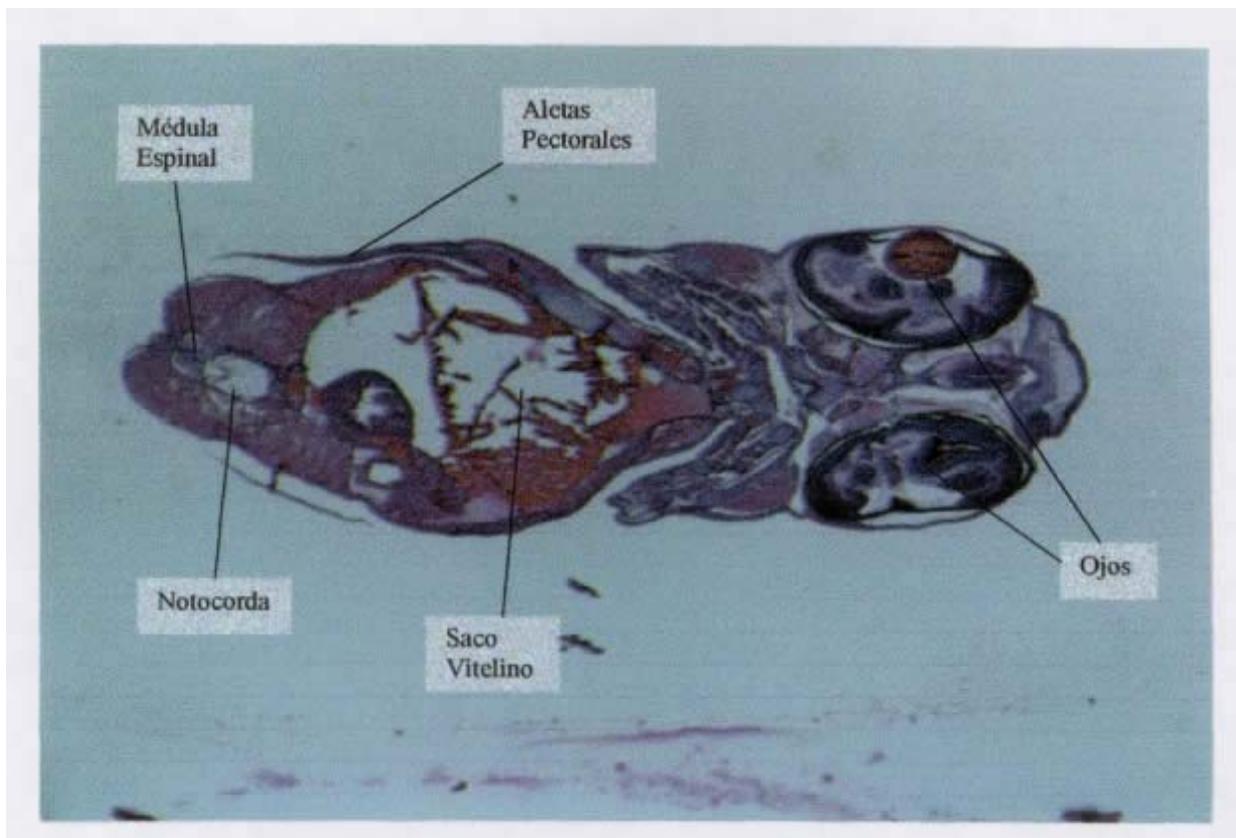


Ilustración N° 12: Microfotografía de corte histológico realizado a individuo que presentaba Xifosis. Se observa degeneración del tejido muscular en la zona ventral del cuerpo. 300x

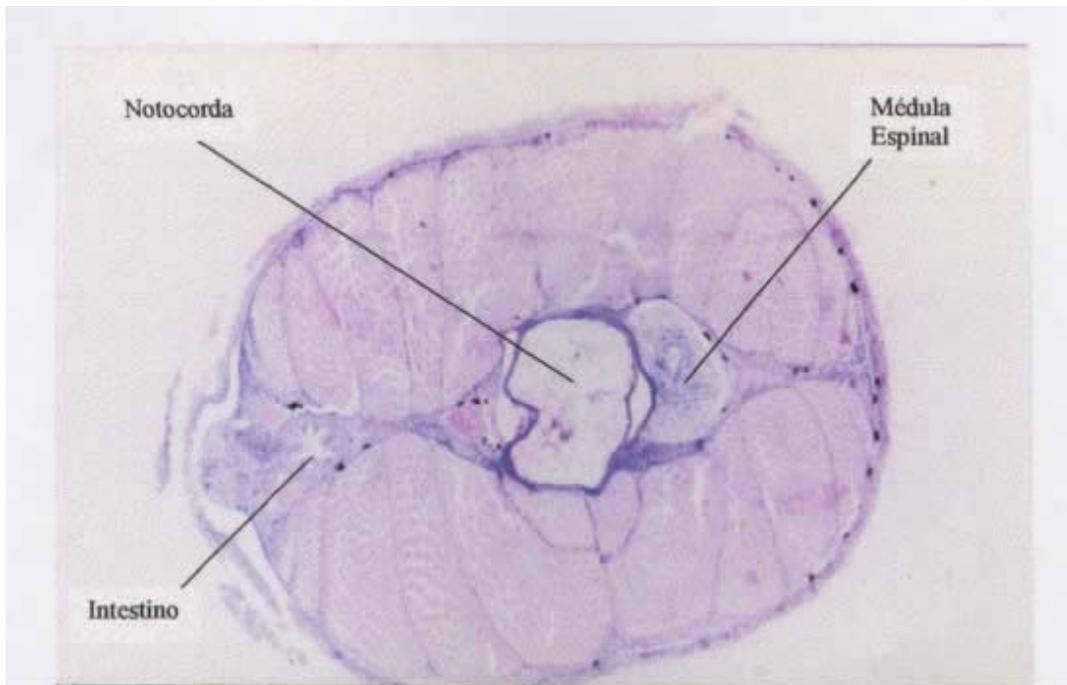


Ilustración N° 13: Microfotografía de corte histológico realizado a individuo que presentaba Lordosis. Se observa la médula espinal adoptando disposición lateral. 220x

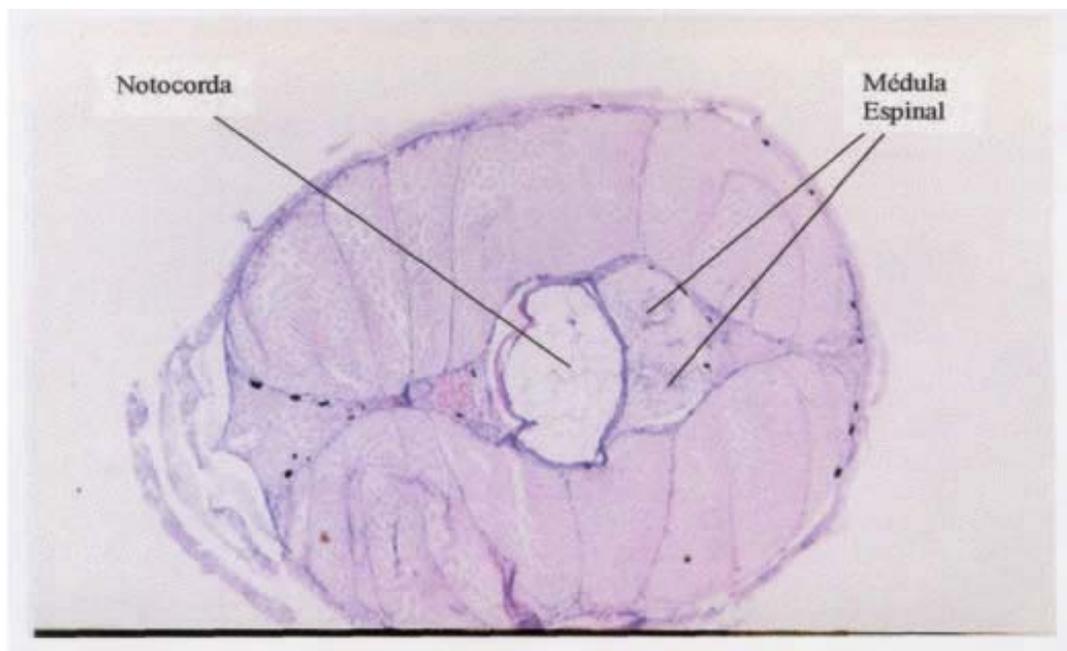


Ilustración N° 14: Microfotografía de corte histológico realizado a individuo que presentaba Lordosis. Se observa duplicación de la médula espinal. 220x

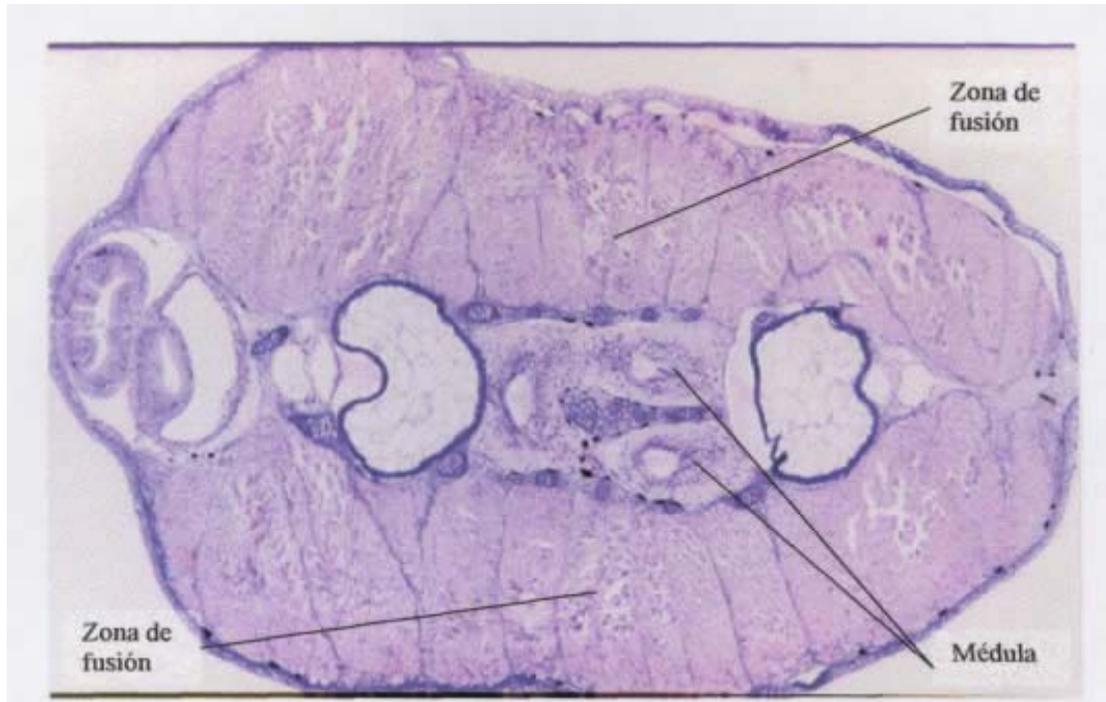


Ilustración N° 15: Microfotografía histológica de corte transversal a nivel de la zona donde se produce la lordosis. Se observa fusión de la musculatura dorsal del tronco y cola del alevín. Además de observa duplicación de la médula espinal. 190x

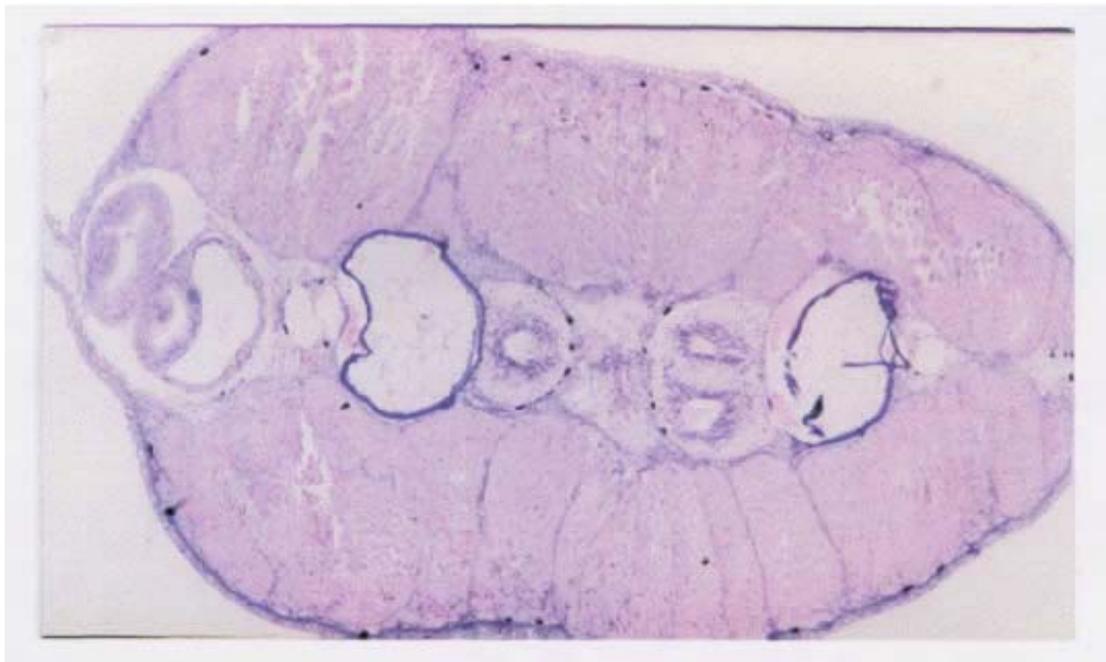


Ilustración N° 16: Microfotografía histológica de corte transversal a nivel de la zona donde se produce la lordosis. Se observa fusión de la musculatura dorsal y duplicación de la médula espinal. 190x

AGRADECIMIENTOS

Mis sinceros agradecimientos a todos aquellos que hicieron posible la realización de esta tesis, a mi profesor patrocinante Dr. Orlando Garrido por su tiempo, su apoyo y sus buenos consejos, y al Sr. Valentín Peña por su cooperación en la preparación de las muestras histológicas.

También agradecer en forma especial a la Empresa Mares Australes Ltda. quienes, a través de su ayuda económica, hicieron posible la realización de esta tesis, al Sr. Claudio Figueroa por su confianza depositada en mí, a Yeny Marzán, Valeria Burgos y a todos los operarios que trabajan en la piscicultura por su cooperación, paciencia y apoyo.

En forma muy especial deseo agradecer a mi familia, a Ronald por su cooperación, ayuda, consejos, dedicación y tiempo, y a mis hijas Isidora y Valentina por su paciencia y cariño.