



REVISTA DE LABORATORIO ANIMALES

REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

1 NOTICIAS DE SECAL

- JUNTA 22/03/2007

2 ARTÍCULOS

- EL DANIO CEBRA, (*Danio rerio*) (HAMILTON, 1822) COMO ANIMAL DE LABORATORIO

3 VARIOS

- INSTALACIONES DE ZEBRA FISH UBICADAS EN EL ANIMALARIO DEL PARC RECERCA BIOMEDICA DE BARCELONA (PRBB)

4 WEB, LEGISLACIÓN, CEEA.

- VALORACIÓN DE LA WEB "ZEBRAFISH"
- ANTEPROYECTO DE "LEY DE BIENESTAR DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN Y DE LOS UTILIZADOS PARA EXPERIMENTACIÓN Y OTROS FINES CIENTÍFICOS"
- V ENCUENTRO DE LOS COMITÉS DE ÉTICA DE LAS UNIVERSIDADES ESPAÑOLAS



GRUPO EDITOR

DIRECTOR

Joana Visa
jvisa@idibell.org

SUBDIRECTOR

Luis Muñoz

TESORERA

Pilar Bringas

REPR. VOCALIA FORMACIÓN

Antonio Martínez

RESPONSABLES SECCIONES

Joana Visa
Emilio Pérez
Jordi Cantó
Isabel Clara Rollán
Rosa Morales
Teresa Rodrigo
Jordi Guinea

CORRECCIÓN DE ESTILO

Joana Esteve

PUBLICIDAD

Pilar Bringas
cai.animalario@med.ucm.es

DISTRIBUCIÓN DE REVISTA

Carmina F. Criado

DISEÑA - IMPRIME

Enrique Nieto
& Asociados, S.A.
Tel.: 902 200 292
w@enyas.com

DEPÓSITO LEGAL

M-1362-1999

INCREMENTO EXPONENCIAL DEL USO DEL ZEBRA FISH
COMO ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN

En el año 1990 si se realizaba una búsqueda bibliográfica con la palabra “Zebra Fish” aparecían 600.000 citas; en el año 2006 aparecen más de un millón. Esta especie es relativamente económica de mantener (sobre todo si la comparamos con el coste de mantenimiento de ratones en condiciones SPF (Libres de Patógenos Específicos)), su ciclo de vida es corto y tiene abundante descendencia. Si a todo esto le añadimos que el desarrollo embrionario es externo y que los embriones son transparentes, probablemente se justifique el que su uso se haya incrementado exponencialmente.

Desde la Revista de la SECAL se propuso la publicación de un número monográfico sobre Pez Cebra y en el mes de febrero del 2007 se envió a la SECAL-L una petición de colaboradores para poder completar este monográfico. La respuesta ha sido tan amplia que se van a publicar dos números consecutivos (se van a publicar y a distribuir juntos): el 34 se centra en presentar al Pez Cebra como modelo experimental (biología y pautas de mantenimiento), mientras que el siguiente número, el 35, presenta diferentes aplicaciones y ejemplos concretos del uso de esta especie.

Para introducir esta especie acuática, Eduardo Díaz del CNB (Centro Nacional de Biotecnología) nos explica con gran detalle cómo es el pez Cebra (Dario rerio) en la naturaleza y cómo podemos, a partir de esta información, adaptarlo a vida en cautividad. Por otra parte, características como la posibilidad de poner 100 huevos una vez a la semana, no ser agresivo ni entre animales de su misma especie ni para la especie humana, no desprender olor o que no “se escape ni se esconda” podría plantear el utilizar esta especie como posible sustituto del ratón.

En España existen varios centros que se han especializado en el mantenimiento de pez cebra y en este número se presentan las instalaciones ubicadas en el PRBB (Parc de Recreca Biomédica de Barcelona). Juan Martín Caballero nos ha cedido las fotos de sus peceras y del sistema de filtrado.

Isabel Clara Rollan completa la información con una revisión de la Web “Zebra fish Information Network”.

El resumen de la Reunión ordinaria de la Junta de Gobierno del mes de febrero completa este número

Rosa Morales, desde la sección relacionada con la legislación, ha realizado un resumen del “Proyecto de Ley de normas básicas sobre explotación, transporte, experimentación y sacrificio para el cuidado de los animales” cuyo objetivo es establecer las normas básicas de funcionamiento y un régimen común de sanciones.

JOANA VISA

1

Noticias de la SECAL

JUNTA 23/02/2007

Resumen de los temas tratados en la reunión ordinaria de la Junta de Gobierno de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio celebrada el día 23 de Febrero de 2007 en el Colegio de Veterinarios de la Comunidad de Madrid, en Madrid.

El Presidente informa de que la futura Ley de Bienestar Animal ha pasado ya por el Consejo de Ministros y se encuentra ahora en vía parlamentaria.

El nuevo libro sobre animales de laboratorio, coordinado por Jesús Martín Zúñiga se encuentra bastante avanzado, y ya hay una propuesta de formato para la edición. Se espera que pueda ser distribuido entre los socios durante el próximo congreso, en Córdoba.

La Secretaría y la Tesorería están poniendo en marcha la redacción de sendos "Libros Blancos" en donde se recojan todos los procedimientos a realizar por ambas. Estos documentos deben servir de guía para poder transmitir la información entre las personas que ocupen los diferentes cargos en Juntas de Gobierno sucesivas. Hay un compromiso de redactar documentos similares por parte de todas las Vocalías.

Ya ha comenzado a diseñarse la nueva página web de SECAL. Paulatinamente se irán introduciendo los contenidos y se intentará que esté disponible para los socios lo antes posible.

Se acuerda que los contenidos de la Revista sean revisados previamente por la Junta de Gobierno, a través del responsable de la Vocalía de Formación, antes de ser publicados.

La Vocalía de Formación está elaborando un documento que establecerá las pautas a seguir a la ho-

ra de establecer convenios con otras sociedades. Este documento se hará público próximamente a todos los socios de cara a los futuros cursos, charlas, etc. que se pretendan organizar.

Se acuerda la concesión de ayudas de asistencia para el congreso de FELASA 2007 a los miembros de SECAL a los cuales les haya sido aceptada alguna comunicación al mismo, y que así lo soliciten.

En breve estará operativa la página web del Congreso SECAL 2007.



2 ARTÍCULOS

EL DANIO CEBRA (*Danio rerio*) (HAMILTON, 1822) COMO ANIMAL DE LABORATORIO

Eduardo Díaz García

Centro Nacional de Biotecnología. C/ Darwin, 3. Ciudad Universitaria de Cantoblanco, 28049, Madrid.

Tel. +34 91 585 5447

e-mail: edgarcia@cnb.uam.es

RESUMEN:

El danio cebra (*Danio rerio*) es el pez más empleado como animal de laboratorio. Su facilidad de mantenimiento, la abundancia y frecuencia de sus puestas, la rapidez de su ciclo de vida y la transparencia de sus embriones lo convierten en el sujeto ideal para la experimentación científica.

El genoma de los danios cebra mide 1.7 gigabases. Tiene 25 cromosomas (en fase haploide). No poseen cromosomas sexuales.

Los danios cebra son animales sociales que no forman jerarquías ni por lo general muestran agresividad entre ellos. Se deben mantener en grupos en acuarios desnudos con las siguientes características del medio: iluminación de media a tenue, fotoperiodo de doce a quince horas diarias de luz. Temperatura del agua: 25 – 28.5° C. Dureza: 5 – 15 grados alemanes. pH: 6.8 – 7.5.

Una propuesta de alimentación es:

- Entre 4 y 30 días: comida en polvo para alevines (dos veces al día).

- Entre 10 y 90 días: nauplios de artemia recién eclosionados (dos veces al día).
- Entre 20 y 90 días: comida en gránulos para peces jóvenes (cinco veces al día).
- A partir de los 90 días: comida en gránulos para peces adultos de tamaño pequeño (dos veces al día).

Los danios cebra son ovulíparos. La reproducción es externa. Cada hembra puede poner a partir de los 2.5 cm. de tamaño (aproximadamente a partir del tercer mes de vida) entre 100 y 300 óvulos (por lo general) una vez a la semana durante más de un año. Para su reproducción se utilizan acuarios de reproducción provistos de un doble fondo para proteger los huevos de ser devorados por sus padres. Los progenitores se juntan en ese acuario la tarde anterior a la puesta y se dejarán en él toda la noche. Realizarán el cortejo y la puesta a la mañana siguiente cuando se enciendan las luces del acuario. Tras retirar a los padres, se recogerán los huevos, se limpiarán y se mantendrán en una placa de Petri hasta el cuarto día, no más de 150 huevos por cada placa de Petri, cambiándoles el agua cada día, momento en el que se pa-

sarán a un acuario de crecimiento y se les empezará a alimentar.

INTRODUCCIÓN

LA HISTORIA DE UN NOMBRE

En algún momento a lo largo del siglo XV, o quizás a principios del XVI, se extinguió un équido salvaje autóctono de la península Ibérica llamado zebro. Cuando los marineros portugueses descubrieron en África un pintoresco caballo rayado, lo bautizaron como zebra en honor a aquel animal. El nombre se popularizó tanto que hoy prácticamente todo el mundo en todos los idiomas (salvo los africanos) denomina a estos animales empleando la misma palabra. Lo más llamativo de las cebras es su pelaje rayado. Este patrón resulta tan característico que se ha aplicado a otros animales, tales como mariposas, lagartos o peces. Prácticamente, a cualquier pez rayado se le llama *cebra* o *tigre*. Hay, por tanto, multitud de peces *cebra*.

Una de estas especies es la que nos ocupa en este artículo. El *Danio rerio* fue uno de los primeros peces que se importaron a Europa para el mercado acuariófilo (concretamente, la primera importación fue realizada por Mattelandkwitz en 1905). Su belleza, su resistencia ante un amplio rango de temperaturas y calidades de agua, su facilidad de alimentación, la posibilidad de reproducirlo en cautividad y sacar adelante a los alevines, lo convertían en el sujeto ideal como pez de salón. Este pez pertenece a la familia Ciprinidae y al grupo de los barbos, más concretamente al de los danios. Se le llamó, por tanto, *cebrita* o *danio cebra*. Su nombre en inglés es zebra danio en Gran Bretaña y zebrafish en Estados Unidos, y así apareció en los primeros artículos científicos que llegaron a España procedentes de este país. Los científicos españoles, desconociendo su nombre vernáculo o incluso el que se tratase de una especie corriente en el mercado acuariófilo, y acostumbrados a corromper el idioma con anglicismos, comenzaron a llamarlo también *zebrafish* (pero pronunciándolo a la española: cebrafís) o bien pez cebra, su traducción literal. Ahora bien, el primero es un barbarismo intolerable e innecesario, mientras que el segundo resulta demasiado ambiguo, dada la gran cantidad de especies de peces a los que también se los denomina cebra.

Ha de quedar claro, por tanto, que el nombre en castellano de esta especie es **cebrita** o **danio cebra**, y así lo llamaremos en este artículo.

¿POR QUÉ EMPLEARLO COMO MODELO DE LABORATORIO?

Nüsslein-Volhard y Dahm (2002) enumeran las ventajas del danio cebra como animal de investigación:

- La fertilización y el desarrollo embrionario son externos y pueden ser fácilmente observados a la lupa. En una misma puesta todos los embriones se desarrollan sincrónicamente.
- Los embriones son relativamente grandes y su desarrollo puede ser fácilmente observado a través del corion.
- Durante las primeras 24 horas de desarrollo, los embriones son totalmente transparentes, permitiendo observar el desarrollo de los órganos internos.
- El desarrollo embrionario es rápido y a los dos días ya se pueden observar todos los órganos típicos de los vertebrados.
- En comparación con los vertebrados superiores, los órganos de los embriones de los danios cebra parecen versiones minimalistas de aquéllos, usando tan sólo unas pocas células para realizar una función equivalente.
- En cuanto al análisis genético, el danio cebra posee una serie de características que lo hacen ideal para la identificación de mutaciones.

Pero estas características no justifican por sí mismas el empleo de esta especie como animal de laboratorio. De nada sirve que una especie cumpla todos los requisitos descritos arriba si resulta difícil de criar o su ciclo vital es demasiado lento.

Hay otras especies de peces que también se emplean en investigaciones científicas: el medaka (*Oryzias latipes*), los peces globo (*Takifugu rubripes*, *Tetraodon nigroviridis*), el espinosillo (*Gasterosteus aculeatus*). Pero ninguna de ellas ha tenido el éxito del danio cebra. El medaka pone unos huevos provistos de cáscara dura y llenos de pelos que les permiten enredarse en las plantas acuáticas, pero que son un engorro en su cría en cautividad porque atrapan toda la suciedad del entorno. Los peces globo son di-

fáciles de reproducir en cautividad. El espinosillo se emplea en experimentos de comportamiento, pero es un pez que sólo se reproduce en primavera y los machos son extremadamente territoriales durante la época de celo.

El danio cebra ha alcanzado un gran éxito porque comparte numerosas características con el ratón, el animal de laboratorio por excelencia.

Ambas especies:

- Son pequeñas y pueden mantenerse en un espacio relativamente reducido.
- Tienen un ciclo de vida rápido.
- Tienen abundante descendencia.
- No tienen una estación de celo, sino que son fértiles todo el año.
- Son especies sociales y poco agresivas.
- Son especies generalistas y muy adaptables medioambiental y tróficamente.
- Son baratas de cuidar.
- Ya existía previamente una tradición en su cuidado antes de su empleo como animales de laboratorio.

Además, el danio cebra presenta una serie de ventajas sobre el ratón:

- Posee mayor descendencia que el ratón. Una hembra puede poner más de cien huevos una vez a la semana durante muchos meses.
- La fecundación es externa, por lo que si hay que manipular al embrión, no es necesario abrir a la madre.
- El embrión, como ya hemos dicho, es transparente y ello permite seguir el desarrollo de los órganos en vivo.
- No posee dientes bucales, sino faríngeos, y, por tanto, no muerde cuando se lo manipula.
- No chillaba cuando se le ponen inyecciones. Esta característica del danio cebra no debe inducirnos a error: esta especie siente el dolor igual que el ratón. Hemos de ser tan cautos a la hora de manipular peces como mamíferos y, preferentemente, anestesiarnos cuando se vaya a trabajar con ellos.
- Al no cuidar de su descendencia, la madre no mata a sus crías si se las manipula.

- Es más barato de cuidar que el ratón.
- No huele mal ni deja olor pegado a la ropa ni al pelo.
- No es necesario limpiar su jaula todos los días.
- No transmite enfermedades al hombre ni puede contagiarse de los parásitos humanos.
- Si se escapa de la jaula, no corre a esconderse.
- Está menos emparentado con el hombre que el ratón. A una persona mentalmente sana le cuesta más hacerle daño a un animal cuanto más emparentado esté con el ser humano. En el trabajo con animales de laboratorio a veces es necesario someterlos a operaciones quirúrgicas y otro tipo de manipulaciones que pueden dañarlos. Aunque se haga en nombre de la ciencia y del progreso, cuesta mucho más hacerle daño a un chimpancé que a un mono, a un mono que a un perro, a un perro que a un ratón, y a este último que a un pez. Las personas con grandes escrúpulos de conciencia se sentirán más cómodas trabajando con peces que con mamíferos.

Pero el danio cebra también tiene una serie de desventajas frente al ratón que han de ser tenidas muy en cuenta por aquellos que quieran trabajar con esta especie:

- El periodo de crecimiento del danio cebra es superior al del ratón (tres meses hasta que alcanza la madurez sexual).
- Es necesario alimentarlo todos los días varias veces al día, incluyendo fines de semana, por lo que el tiempo empleado en su cuidado es superior al del ratón.
- Las madres no cuidan de su descendencia, por lo que es necesario cuidarla a mano.
- Jamás sobrevive el 100% de la descendencia. Siempre hay muertes.
- El agua es un medio más apropiado para el desarrollo de la vida que el aire, de ahí que haya muchos más microorganismos viviendo en el agua que en el aire. Entre esos microorganismos hay que contar con los parásitos de los peces. Los peces poseen muchos más parásitos y padecen de muchas más enfermedades que los mamífe-

ros. También son más sensibles al estrés. Una situación ambiental que a un mamífero sólo le estresaría, a un pez le puede hacer enfermar.

- Es necesario tener a los peces a temperaturas tropicales, con la molestia que eso supone para su cuidador.
- Al estar poco emparentado con el hombre, hay que tener cuidado a la hora de extrapolar los resultados a una aplicación humana.

EL DANIO CEBRA EN LA NATURALEZA

El danio cebra no es una especie doméstica, sino un animal salvaje mantenido en cautividad. La diferencia estriba en que los animales domésticos son especies que han permanecido en cautividad tanto tiempo que los genes que codifican para los comportamientos instintivos han sufrido numerosas mutaciones, las cuales han sido seleccionadas por los criadores para adaptar a estos animales a las necesidades humanas. Por ejemplo, es típico que los animales domésticos sean más mansos que sus antepasados salvajes con el objeto de que el hombre pueda manipularlos sin peligro y hayan sufrido una gran reducción de sus rituales de cortejo, hasta llegar prácticamente a la atrofia en algunos casos, para que sus propietarios no pierdan el tiempo al aparear un semental con una hembra (éste es el motivo de que los dueños de perros se vuelvan locos con cada nueva temporada de celo; los lobos, en cambio, tienen un periodo de cortejo muy prolongado, de varios meses, antes de que el macho monte a la hembra).

A tratarse de una especie salvaje, con instintos de animal salvaje, no podemos pretender que las cebritas se adapten a nuestras necesidades, sino que hemos de ser nosotros quienes nos adaptemos a las suyas; y para eso es imprescindible conocer su comportamiento en la naturaleza con el objeto de extrapolarlo a la vida en cautividad.

El *Danio* (*Brachydanio rerio*) (Hamilton, 1822) es un pequeño ciprínido asiático. Su tamaño máximo de adulto es de tan sólo 5 ó 6 cm. Esta especie es dulciacuícola y se distribuye, sobre todo, por el norte y nordeste de la India siguiendo su costa oriental; así como en parte del sudoeste, próximo a la costa occidental. También vive en: Pakistán, Bangladesh, Nepal, Myanmar y Bután. Ha sido introducido en:

Colombia, Japón, Martinica, Sri Lanka y Estados Unidos. Se distribuye entre los 33°N – 8° N y 66°E – 98°E. Tradicionalmente se decía que habita en los ríos y arroyos de la selva, en zonas con una corriente de agua no demasiado impetuosa, canales, zanjas, charcas y arrozales. Spence et al. (2006), realizando estudios de campo en Bangladesh, descubrieron que esta especie prefiere los cursos de agua remanada a las corrientes. Habita preferentemente en lagos, lagunas y charcas con abundantes plantas acuáticas creciendo en la orilla más que en los ríos y arroyos, como se decía tradicionalmente. Tampoco lo encontraron en los arrozales, sino en masas que agua que comunicaban con aquéllos. Se distribuye por toda la columna de agua, preferentemente cerca de la orilla, y reparte su tiempo por igual entre las plantas acuáticas y el espacio libre. Todo esto implica que al mantenerlo en cautividad hay que procurar que el filtro no cree una corriente muy impetuosa.

La amplitud de su área de distribución significa que no está especializado en vivir en aguas con unos caracteres físico-químicos específicos e invariables, sino que se trata de un generalista capaz de adaptarse a aguas con distintas temperaturas y grados de dureza y pH. Esto es muy importante para nosotros, porque facilita enormemente su mantenimiento en cautividad.

También se decía tradicionalmente que se trata de una especie omnívora que se alimenta tanto de materia animal como vegetal (esta última más importante en los adultos, mientras que los alevines, al necesitar proteínas para crecer, son más carnívoros). Pero McClure et al. (2006) en un estudio de campo realizado en la India descubrieron que el 91% de la comida encontrada en el estómago de estos peces estaba formada por insectos, principalmente terrestres, estando el resto repartido entre detritus y nematodos.

Los danios cebra son animales sociales que viven en cardúmenes. Ruhl y McRobert (2005) demostraron que machos y hembras han sufrido pulsiones evolutivas diferentes al adaptarse al cardumen. Tanto los machos como las hembras prefieren vivir en cardumen antes que solos. Pero las hembras prefieren los cardúmenes lo más grandes posible, sin atender a la composición sexual de los mismos, mientras que los machos prefieren los cardúmenes en los que haya hembras, sin atender a su tamaño. En cautividad hemos de mantenerlos en grupo, ya que los peces solitarios podrían estresar-

se. La forma de agrupación social en la que viven se denomina **multitud anónima**. Esto significa que los distintos ejemplares no pueden distinguirse individualmente unos a otros, *ergo* no hay jerarquías dentro del grupo, *ergo* no existe agresividad en el seno del cardumen. Añádasele a ello que esta especie no es territorial y el resultado será que podremos agrupar a los peces de nuestro laboratorio como queramos, mezclar unos con otros, separarlos, juntar o dividir machos y hembras, añadir ejemplares nuevos a un tanque con individuos viejos, etc., sin miedo a las agresiones. Tan sólo cuando se tienen dos individuos solos en un tanque puede ocurrir que se forme momentáneamente una jerarquía y uno de ellos empieza a hostigar al otro. Esto es un efecto de la cautividad. Pasa algo parecido cuando los grandes rebaños de rumiantes, los cuales también forman multitudes anónimas, se separan en manadas más pequeñas al inicio de la época de reproducción. Ahora los ejemplares pueden reconocerse individualmente unos a otros y formar una jerarquía mediante sus luchas ritualizadas. En nuestro caso, el problema se resuelve introduciendo un tercer individuo en el tanque.

Al carecer de jerarquía, las cebritas macho no acaparan a las hembras ni se pelean por ellas (a pesar de lo que afirma Pyron (2003)). Ello también nos facilita enormemente su reproducción en cautividad.

Moretz et al. (2006) también hablan de agresividad en esta especie, pero no refiriéndose a los machos, sino a los miembros de ambos sexos. Una línea conseguida en cautividad llamada TM1 sería más agresiva de lo normal. Es posible, por supuesto, que una mutación genética seleccionada genere individuos más agresivos de lo típico en la especie. Pero también es cierto que los propios autores admiten que lo que ellos llaman «mordiscos» dirigidos por estos peces a su imagen reflejada en un espejo, podrían ser realmente intentos de contactar socialmente con su imagen especular.

Spence y Smith (2007) demostraron que los danios cebra reconocen a los miembros de su misma especie mediante un mecanismo de impronta basado en la coloración de los ejemplares entre los que se crían. En libertad la única coloración existente es la rayada (no se han descrito subespecies), pero en cautividad existen otras coloraciones, tales como la *golden*, la *leopard*, la *ruby roy* o la *TL*. Por suerte para nosotros, la impronta de seguimiento es dis-

tinta a la impronta sexual, y aunque los peces en cautividad prefieran vivir entre ejemplares con la misma coloración que aquéllos entre los que crecieron, se aparecen sin problemas con ejemplares de otras coloraciones.

Las cebritas en cautividad no tienen época de reproducción y crían a lo largo de todo el año (otra ventaja para nosotros). En la naturaleza estos peces se reproducen preferentemente durante los monzones húmedos (de junio a septiembre); pero Spence et al. (2006) encontraron hembras con óvulos maduros en enero. Crían en las orillas: allí donde los rayos del sol alcanzan el fondo y, por tanto, crecen abundantes plantas acuáticas. Éstas protegen a los progenitores mientras se reproducen, también protegen a los huevos y a los alevines de los depredadores (para empezar, de sus propios padres; esta especie es una conocida comedora de huevos) y proporcionan abundantes infusorios y otros microorganismos de los cuales se alimentan aquéllos. No obstante, estos peces también pueden reproducirse en orillas desnudas de vegetación. Spence et al. (2006) reproducían a sus peces en acuarios en los que introducían cajitas llenas de gravilla. Los peces ponían los huevos dentro de las mismas y éstos caían entre la gravilla, donde quedaban escondidos. Pyron (2003) introducía en los acuarios placas de Petri llenas de canicas en las que los peces ponían los huevos.

El estímulo desencadenante innato del cortejo es la luz del amanecer. A primera hora de la mañana se junta un nutrido grupo de machos y hembras a la orilla, entre las plantas acuáticas. Los machos cortejan a las hembras persiguiéndolas y dándoles golpes con el hocico en la cloaca. Presuntamente, es el contacto del hocico del macho en la cloaca de la hembra el estímulo desencadenante innato de la puesta de óvulos. Las hembras lanzan los óvulos a chorros, varios de cada vez. La presencia de los óvulos es el estímulo desencadenante innato de la eyaculación de los machos. Éstos eyaculan y los espermatozoides fecundan los óvulos. Se trata, por tanto, de una fecundación externa. Los huevos (óvulos fecundados) son más pesados que el agua, por lo que se precipitan al fondo, quedando ocultos entre las plantas acuáticas y el sustrato. Los huevos de esta especie no son lucífugos, a diferencia de los de otros muchos peces, por lo que pueden ser observados a la lupa sin matar al embrión. Los embriones tardan dos días en salir del huevo (más si las

temperaturas son demasiado bajas). Permanecerán otros dos días pegados a una superficie mientras se consume el vitelo. A partir de entonces se desarrolla la vejiga natatoria y pueden ya empezar a nadar y a cazar.

Por conveniencia, empezamos a contar los días de vida de los peces a partir del día de la puesta, no del día del nacimiento del alevín. Diremos, por tanto, que los alevines salen del huevo al segundo día de vida y que empiezan a alimentarse al cuarto. Las hembras empezarán a poner huevos cuando tengan una longitud de 2.5 cm. En cautividad podemos empezar a criarlos a partir del tercer mes de vida o incluso antes si el crecimiento es rápido.

CARACTERÍSTICAS DEL ACUARIO

Un acuario típico para la cría de cebritas (*figura 1*) consiste en una cámara cerrada y anexa al laboratorio en el que se trabaja con estos peces, en la cual se instalan los estantes que contienen los tanques (*figura 2*).

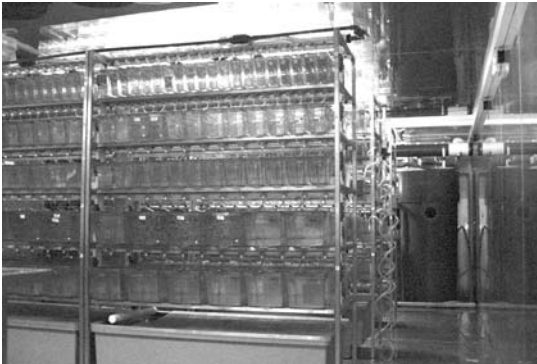


Figura 1



Figura 2

Las características deseables de la cámara son:

- Ha de ser un lugar cerrado, sin ventanas ni puertas que den directamente al exterior, pues dispondrá de iluminación artificial y no es deseable que la luz del sol entre.
- Ha de estar construida en mampostería, con materiales impermeables.
- Ha de estar bien aislada térmicamente del exterior.
- El suelo ha de ser bien firme y apoyarse directamente en tierra, pues algunos elementos, tales como las estanterías para los acuarios y el biofiltro, resultan muy pesados y podrían deformarlo.
- Ha de disponer de varios desagües a nivel del suelo, pues será corriente que el agua salpique el mismo. Resulta deseable que el suelo esté ligeramente inclinado hacia los desagües (una inclinación del 5% es adecuada).
- Ha de disponer de una correcta ventilación para evitar las condensaciones. No basta con mover el aire por el interior de la cámara. Éste ha de circular entre el exterior y el interior de la misma.
- Todos los cables eléctricos han de estar bien aislados.
- Ha de disponer de toma de agua potable y, si es posible, de aire a presión.
- Ha de disponer de su propio grupo electrógeno por si hubiese un corte de corriente.
- Ha de disponer de un fregadero por cada persona que trabaje en ella. Dos personas no pueden trabajar usando el mismo fregadero a la vez. Estos fregaderos han de ser lo más amplios posible y disponer de escurridor.
- Ha de disponer de estanterías para colocar los tanques de reproducción, los artemios y otros elementos.
- Ha de disponer de un almacén anexo para guardar la comida, los tanques de reproducción, utensilios de limpieza, etc.
- Ha de disponer de nevera y congelador, aunque éstos se pueden ubicar en el laboratorio.

Los mejores tanques se construyen de plástico transparente en una sola pieza. Son muy ligeros y

resistentes, y si se caen al suelo, no se rompen. Disponen de una tapadera que ajusta perfectamente, pues los cebritas son grandes saltadores. Esta tapadera ha de tener dos orificios: uno delantero por el que echaremos la comida y otro para insertar el tubo que trae el agua desde el filtro. El agua limpia entra por este tubo, circula por todo el tanque y sale por un rebosadero trasero. Este rebosadero ha de disponer de una rejilla para evitar que los peces se escapen por él. Los tanques de que disponemos en el CNB tienen tres capacidades: 1 litro (para albergar peces solitarios), 2,5 litros (para albergar un número medio de peces, nosotros consideramos que el número óptimo sería de 10 ejemplares) y 9 litros (para albergar 20 ó 30 ejemplares).

Cuando el agua sucia sale de cada tanque, se mezcla con la de los demás tanques y va directamente al sistema de filtración, donde se filtra mecánica, química y biológicamente (véase apartado de filtración) y regresa de nuevo a los tanques.

Los artemios se pueden mantener en la misma cámara que los peces o en otra aparte. Si se mantienen en una habitación independiente, ésta ha de disponer de calefacción a 28° C e iluminación intensa las 24 horas del día. Los artemios han de estar siempre junto a un fregadero.

LAS CARACTERÍSTICAS DEL AGUA

La filosofía que subyace tras el cuidado de esta especie es, básicamente, la misma que subyace tras el cuidado del ratón. Naturalmente, el cuidado de las cebritas tiene sus propias particularidades, pero éstas rondan tan sólo en torno a un hecho y nada más que uno: respiran agua, no aire. Para criar con éxito esta especie, las características del agua que se les proporcione son fundamentales.

Y ya que hablamos del agua, vamos a recalcar algo muy importante.

Una de las grandes diferencias entre el agua y el aire es que la primera es una excelente disolvente y conductora del calor, mientras que el segundo, no. Ello implica que cualquier cambio en las condiciones del agua se produce de manera paulatina. Así hemos de proceder nosotros al mantener en cautividad a nuestros peces. Todo cambio que hagamos en las condiciones ambientales de los animales (de temperatura, dureza, pH, alimentación, introduc-

ción en el sistema de ejemplares nuevos, cambios de agua, etc.) ha de hacerse siempre poco a poco. Los cambios bruscos estresan mucho a los animales, con el riesgo de que caigan enfermos.

Al tratarse la cebrita de una especie dulciacuícola, basta con controlar tres parámetros del agua: temperatura, dureza y pH.

-La temperatura:

La cebrita es una especie exoterma y tropical. Ahora bien, lo amplio de su área de distribución (de norte a sur) implica que en la naturaleza habita en aguas de muy amplia variación de temperatura (según fishbase.org, entre 18 y 24° C; pero Spence et al. (2006) en un estudio de campo midieron temperaturas del agua que oscilaban entre los 16.5° C y los 33° C, y McClure et al. (2006) temperaturas que oscilaban entre los 24° C y los 35° C; suponemos que en ambos casos los extremos no fueron más que situaciones transitorias. En los acuarios caseiros y en los criaderos se los suele mantener a los típicos 25° C. En los laboratorios se los mantiene a 28 ó 30° C. Hay dos versiones que explican el porqué de estas temperaturas tan altas. La oficial afirma que se trata de la temperatura óptima de crecimiento de los alevines. La extraoficial afirma que el primer científico que los empleó (si esta historia es verídica y no una leyenda urbana, se trataría de Streisinger) en sus investigaciones los tenía en un acuario en su laboratorio. No estaba muy seguro de qué temperatura darles y decidió tenerlos a 28.5° C. Cuando publicó sus primeros resultados, indicó que los había mantenido a esa temperatura y todos los científicos que llegaron detrás lo imitaron sin pararse a pensar en la razón de ello. En el CNB los mantenemos a 28° C sencillamente porque en la misma habitación criamos los nauplios de artemia y éstos no crecían bien a 25° C.

Hay que tener cuidado con las temperaturas altas. Prodocimo y Freire (2001) demuestran que los peces se recuperan mucho mejor de una temperatura excesivamente baja que de una excesivamente alta. Esto depende mucho de la aclimatación de los individuos. Es más peligroso transportar danios cebrita de un centro de investigación a otro en verano que en invierno. Hemos de exigir a la compañía de transporte que los peces (incluyendo los alevines y los huevos) estén siempre en un lugar climatizado a la misma temperatura que las personas. Con eso basta. Cuanto más alta es la temperatura del agua, más aumenta el metabolismo del pez, pero menos

oxígeno puede aquélla disolver. El agua a 30° C puede disolver sólo la mitad de oxígeno que el agua a 0° C. Es decir, cuanto más aumentan las necesidades de oxígeno de los animales, de menos oxígeno disponen; se pueden llegar a morir de asfixia. Dado que el agua es un excelente conductor del calor, en la naturaleza los cambios en la temperatura del agua se producen siempre de forma paulatina, y así es como debemos actuar nosotros en el laboratorio. Un descenso demasiado brusco de la temperatura del agua puede estresar a los animales, sus defensas verse afectadas e infectarse del temible punto blanco. No obstante, la adición de un chorro de agua fría al acuario de cría estimula el cortejo (véase el apartado dedicado a la reproducción). Todo es cuestión de evitar los extremos.

Schaefer y Ryan (2006) afirman que aquellos danios cebra criados desde pequeños en acuarios con oscilaciones diarias de la temperatura (6° C de diferencia) desarrollaron más resistencia ante temperaturas extremas que los criados a temperatura uniforme, como suele ser habitual; pero crecieron menos. Por tanto, nos interesará más criar a nuestros peces a temperatura constante, aunque resulte menos estimulante para ellos, que imitar el descenso nocturno de la naturaleza, porque así crecerán en menos tiempo. Pero a aquellos científicos que necesiten efectuar experimentos en los que se someta a los peces a un golpe de calor (heat shock) seguramente les convendrá más criar a sus peces desde alevines en acuarios dotados de dos temperaturas diferentes: una diurna más alta (por ejemplo, 28° C) y una nocturna más baja (por ejemplo, 22° C). Para ello se necesitan dos termostatos (uno a 28° C y otro a 22° C) conectados a sendos programadores horarios.

En cuanto al método de calefacción, hay dos posibilidades, cada uno con sus pros y sus contras: calentar el agua o calentar el aire de la habitación.

Si los acuarios están en el propio laboratorio, no queda más remedio que calentar el agua, ya que los científicos estarían demasiado incómodos trabajando a 25 ó 28 grados de temperatura.

Si los acuarios están ubicados en una cámara especial, se puede elegir entre calentar el agua o el aire de la misma.

Para calentar el agua se usarán calentadores de uso acuarístico conectados a termostatos. La poten-

cia del calentador dependerá del número de litros totales de agua a calentar y de la diferencia de temperaturas entre el aire de la cámara y la deseada del agua, pues el agua tiende a absorber el calor del aire. Si el aire de la cámara está a 20° C, el agua de los acuarios estará también a esa misma temperatura. Si deseamos darles a los peces una temperatura de 25° C, tan sólo será necesario elevar la temperatura 5°. Los libros de acuariofilia afirman que para elevar la temperatura de un litro de agua un grado centígrado, se necesita un vatio de potencia. Esto puede ayudarnos a calcular la potencia que necesitará nuestro calentador. La ventaja de calentar el agua es que la temperatura del aire será, por lo general, más baja y eso hará el trabajo más confortable al personal.

Paradójicamente, suele resultar más rentable calentar el aire de la cámara y dejar que el agua absorba la temperatura. Eso significa tener que trabajar a temperaturas tropicales. El motivo de que resulte más rentable estriba en que para reproducir a los peces es necesario sacarlos de sus acuarios habituales y dejarlos pasar toda la noche en los pequeños acuarios de reproducción, los cuales son independientes del sistema de circulación del agua general. Si calentamos el aire de la cámara, garantizaremos que el agua de los tanques de reproducción permanezca caliente toda la noche. También podremos mantener los huevos de pez durante los cuatro primeros días en placas de Petri sin necesitar incubadores y los artemieros sin necesidad de calefacción adicional.

Si se calienta el aire de la cámara, hay que tener en cuenta que el agua se evaporará y condensará en las tuberías, cables, paredes, techo, estanterías, etc., por lo que resulta imprescindible una correcta ventilación de la cámara para impedirlo. No basta con hacer circular el aire dentro de la propia cámara; es necesaria una ventilación que intercambie aire con el exterior.

-La conductividad y la dureza:

A medida que el agua de los ríos atraviesa las distintas regiones en su camino al mar, disuelve moléculas de los lechos por los que pasa. La concentración de sales que hay disueltas en el agua se mide mediante la **conductividad**. Ahora bien, las moléculas que más contribuyen a la conductividad son los cloruros, mientras que en el agua dulce de la naturaleza la mayor parte de las moléculas disueltas son de calcio, el cual suele encontrarse ligado a

los carbonatos, los cuales, por ser poco solubles, prácticamente no contribuyen a la conductividad; así que resulta mucho más práctico y sencillo medir la concentración de este elemento; el resto de los elementos son despreciables (Las Heras, 2006). A la concentración de calcio en el agua se la denomina **dureza**. La mayor parte de los átomos de calcio disueltos en el agua están unidos a carbonatos. Se habla, por tanto, de una **dureza carbonatada** y de una **dureza no carbonatada o de sulfatos**. La suma de ambas nos da la dureza total del agua. La dureza del agua se mide empleando diversas medidas. Los alemanes la miden en grados DH (Deutsch Hardness) y los ingleses en grados GH (General Hardness); pero nosotros usamos el sistema métrico decimal, así que resulta más correcto medirla en miligramos de calcio por litro de agua o partes por millón (ppm) (Ford, 1996). No obstante, como los mejores productos para acuariofilia que hay en Europa son alemanes, y entre ellos hay que contar con los medidores de dureza, en la práctica los grados que más frecuentemente se usan son los alemanes. Los factores de conversión son los siguientes:

$$\begin{aligned} \text{°DH} \times 17.9 &= \text{ppm} \\ \text{ppm} \times 0.056 &= \text{°DH} \end{aligned}$$

Al agua con menos de 6° DH o 100 ppm se la denomina **blanda**, al agua con más de 6° DH o 100 ppm se la denomina **dura**. Los problemas que trae el mantener a un pez en un agua de una dureza diferente a aquélla a la que está adaptado se relacionan con la osmorregulación. Los peces que viven en la naturaleza en aguas blandas tienen una concentración osmótica en su sangre mayor que la del agua que los rodea, por lo que el agua tiende a entrar por todas sus membranas permeables (fundamentalmente las branquias y el sistema digestivo) para equilibrar la concentración osmótica. Estas especies disponen de mecanismos osmorreguladores muy eficaces que expulsan esa agua de nuevo al medio. Si se intenta mantenerlos en agua dura y no logran adaptarse, estos mecanismos osmorreguladores seguirán trabajando expulsando agua de las células del pez y el resultado será que éste se deshidratará. Incluso si logra adaptarse se corre el peligro de que los cartílagos se sobrecalcifiquen, se formen depósitos calcáreos en los conductos renales, modificación del pH sanguíneo y otros efectos indeseables. Por suerte para nosotros, los danios cebrados adultos son muy adaptables a distintas durezas del agua. Debido a su amplia distribución, el agua de los lagos en los que moran puede ir de

blanda a francamente dura, (el rango medido es de entre 5 y 19 grados alemanes o 89.5 y 340 ppm). Ahora bien, los huevos durante sus primeras 12 horas de vida carecen de capacidad osmorreguladora. Durante la ovogénesis, los oocitos en desarrollo son muy permeables, pero están protegidos osmóticamente por el sistema regulador de la madre. Tras la puesta, los huevos se vuelven muy vulnerables antes de que sus propios mecanismos reguladores empiecen a operar. Antes de la fertilización, el corion (la cáscara del huevo) está pegada a la membrana vitelina, la cual rodea el vitelo, el citoplasma y el núcleo de futuro embrión. Tras la fertilización, el agua entra en el huevo generando un espacio perivitelino entre el corion y la membrana vitelina. El fluido perivitelino protege físicamente al embrión del medio externo. Al cabo de doce horas, la membrana vitelina ya adquiere sus propiedades osmorreguladoras (Bone et al, 1995). Eso significa que esas primeras doce horas son decisivas a la hora de criar peces en cautividad. Si se cría los huevos en un agua demasiado dura, la presión osmótica del agua será mayor que la del interior del huevo, por lo que el agua tenderá a salir del mismo para equilibrar las concentraciones, el huevo se arrugará y el embrión se deshidratará y morirá. Si el agua es demasiado blanda, la concentración osmótica en el interior del huevo será muy superior a la del exterior, por lo que el agua tenderá a entrar para equilibrar las concentraciones y el huevo estallará.

En general, el agua de Europa es más dura que la de las regiones tropicales. En España el grado de dureza varía mucho de unas regiones a otras. Se aconseja mantener a esta especie en un agua con una dureza entre 5 y 15 grados alemanes (89.5 y 268.5 ppm), o bien entre 500 y 1000 ppm de conductividad (el ideal oscila entorno a los 600 ppm). Si el agua del grifo de la zona en la que se ubica el laboratorio entra dentro de este rango, no hay problema. El problema empieza cuando se trata de agua más dura (es prácticamente seguro que no será agua más blanda). En este caso, lo óptimo es hacer pasar el agua del grifo a través de un sistema de ósmosis inversa. Los sistemas de ósmosis inversa son filtros con un poro de membrana tan pequeño que sólo deja pasar moléculas de agua. Así conseguiremos un agua de dureza cero. Como esta agua tampoco es apropiada para los peces, hay que mezclarla con un poco de la propia agua del grifo siguiendo esta fórmula:

$$(\text{valor de dureza del agua del grifo} - \text{valor deseado}) / \text{valor deseado}$$

Por ejemplo:

El agua del grifo tiene una dureza de 20 grados alemanes y queremos un agua de 7 grados alemanes.

$$20^{\circ} \text{ dH (valor real)} - 7^{\circ} \text{ dH (valor deseado)} = 13$$

$$13 / 7^{\circ} \text{ dH (valor deseado)} = 1.8$$

Esto significa que tenemos que mezclar 1.8 litros de agua de ósmosis inversa por cada litro de agua del grifo.

La empresa Aquaneering, que es la que ha montado los acuarios para danios cebra del Salk Institute, el Centro Nacional de Biotecnología y el PRBB, utiliza otro sistema, consistente en mezclar el agua de ósmosis inversa con agua del grifo en la que se ha disuelto sal marina para acuarios hasta alcanzar una conductividad de 600 ppm por centímetro y que se mantiene en un contenedor aparte (Tabla 1). Un detector de conductividad está conectado a una bomba peristáltica como las que se emplean en los hospitales para hacer diálisis. Cuando la conductividad del agua desciende por debajo de las 600 ppm, el detector activa la bomba peristáltica, la cual bombea el agua hipersalina al sistema principal hasta que el valor de 600 ppm se ha recuperado.

Hay que reconocer que, aunque extraño (pues el agua salada no es sólo cuantitativa, sino cualitativamente diferente del agua dulce; y así mientras que en agua dulce la sal más abundante es el calcio, en agua salada lo es el cloruro sódico), este sistema funciona muy bien y los peces se encuentran en excelentes condiciones en el agua resultante.

Parámetros físico-químicos del agua según Aquaneering

	deseado	bajo	alto
Oxígeno disuelto	7 ppm	6 ppm	8,5 ppm
pH	7,0	6,5	7,5
Temperatura	28,5° C	27°C	29°C
CO2	< 20 mg/l		
salinidad	500-1000 ppm	200 ppm	1500 ppm

Tabla 1

A los que decidan instalar un acuario en su centro de investigación, nuestro consejo es que antes de gastarse el dinero en sistemas de ósmosis inversa prueben a criar los peces en el agua del grifo, reproducirlos y cuidar de los huevos y los alevines. Si los peces ponen huevos, éstos salen adelante y los alevines crecen sin dificultades, entonces lo mejor es olvidarse de la dureza y el pH del agua: son correctos. Si no, habrá que plantearse la inversión en un sistema de ósmosis inversa.

Una solución intermedia consiste en mantener los adultos en agua del grifo y los huevos en medio para embriones (Nüsslein-Volhard (2002)). Este medio para embriones consiste en una disolución de diversas sales en agua de ósmosis inversa hasta alcanzar unas condiciones isosmóticas con el medio interno del huevo. No nos parece una solución muy recomendable.

Con los peces nunca ha de emplearse un decalcificador de piscinas, ya que éstos lo que hacen es un intercambio de iones en el que sustituyen el calcio por otros iones que en altas concentraciones podrían resultar mortales para nuestros animales.

-El pH:

El pH es simplemente una función que nos permite calcular de forma sencilla la concentración de protones que hay en el agua.

Básicamente, la molécula de agua está formada por un átomo de oxígeno al que hay enlazados dos átomos de hidrógeno mediante sendos enlaces covalentes sencillos, de ahí la famosísima fórmula H₂O. La inmensa mayoría de las moléculas de agua se encuentran bajo esta forma. Ahora bien, en algunas moléculas de agua uno de los hidrógenos se disocia del resto. El hidrógeno es un elemento cuyos átomos están formados tan sólo por un protón en el núcleo y un solo electrón girando alrededor. Para formar el enlace covalente con el oxígeno, el hidrógeno comparte con él su único electrón. Al disociarse de la molécula de agua, el hidrógeno tendría que llevarse (teóricamente) su electrón; pero el oxígeno es más electropositivo que el hidrógeno, es decir, atrae los electrones con más fuerza, por lo que ese electrón se queda enlazado al oxígeno y lo único que se separa es el protón del núcleo del hidrógeno.



O más familiarmente:



H^+ simboliza a los **protones** y OH^- simboliza a los **hidroxilos**. Los protones son iones positivos o cationes y los hidroxilos son iones negativos o aniones.

Las moléculas de agua que se disocian en protones más hidroxilos son relativamente muy pocas en un volumen dado de agua, pero su importancia para la vida es inmensa. La razón es que, al poseer carga eléctrica, son muy reactivas y tienden a reaccionar con otras moléculas, afectándolas. La vida sólo puede darse en volúmenes de agua en los que la concentración de protones y la concentración de hidroxilos sea muy similar.

Para medir esta concentración se ideó la escala de pH. El pH simplemente mide la concentración de protones que hay en un volumen de agua. También existe un pOH, que mide la concentración de hidroxilos, pero habitualmente no suele utilizarse.

El pH va de 0 a 14. A pH 0 los protones están superconcentrados y no hay ni rastro de hidroxilos, a pH 14 ocurre justo lo contrario. A pH 7 la concentración de protones es la misma que la concentración de hidroxilos y ambas son muy bajas. Si el pH del agua va de 0 a 6,9 diremos que es **ácida**, si es 7,0 diremos que es **neutra**, a pH entre 7,1 y 14 diremos que es **alcalina** o **básica**. La escala de pH es logarítmica de base 10, lo que significa que va de 10 en 10. Un agua con pH 7 es diez veces más ácida que un agua con un pH 8.

En un frasco en el que tengamos agua pura, es decir sólo moléculas de H_2O , cada molécula de agua disociada dará lugar a un protón y un hidroxilo.



Es decir, habrá la misma concentración de protones que de hidroxilos y esa agua tendrá pH 7. Pero en la naturaleza las moléculas disueltas por el agua pueden aportar a la misma más protones o hidroxilos. Si una molécula, al disolverse en el agua aporta protones, diremos que es un ácido y tenderá a acidificar el agua; mientras que si aporta hidroxilos, diremos que es una base y tenderá a alcalinizar el agua. El pH concreto de esa agua dependerá del balance total de protones e hidroxilos disueltos en la misma.

Las aguas de los distintos ríos poseen todas un pH cercano a la neutralidad. En general, las aguas duras tienen un pH ligeramente alcalino porque el hidróxido de calcio libera hidroxilos: $\text{CaOH} \rightleftharpoons \text{Ca}^+ + \text{OH}^-$, mientras que las aguas blandas tienen pH ligeramente ácido debido a los ácidos orgánicos, que liberan protones. La acidez o basicidad del agua de los ríos depende de los lechos por los que pasa y de la materia orgánica en descomposición que haya en ellos (por ejemplo, hojas secas del bosque que van a parar al agua). Si el río pasa por un lecho compuesto por moléculas que al disolverse en el agua liberan hidroxilos, será básica. Si las moléculas liberan protones, será ácida. El carbonato (CO_3^{2-}) de las aguas duras realiza un efecto tampón del que carecen las aguas blandas, porque esos dos electrones de más que posee enlazan iónicamente con sendos protones, dando ácido carbónico (H_2CO_3), por eso las aguas duras poseen un pH muy estable, mientras que las aguas muy blandas pueden sufrir grandes oscilaciones diarias en su pH. Esto en la naturaleza no tiene importancia dado el gran volumen de agua, pero en el pequeño volumen de agua de un acuario de agua blanda, la oscilación de pH puede ser tan brusca como para matar a los peces.

Para éstos, la importancia del pH del agua se relaciona con la necesidad de mantener un equilibrio ácido-base en su sangre. La encargada de mantener este equilibrio es la enzima anhidrasa carbónica, la cual actúa en la sangre de los peces y en sus membranas branquiales.

En agua con un pH excesivamente ácido, la sangre de los peces también se vuelve ácida, por lo que se eleva en la misma el nivel de iones de bicarbonato (HCO_3^-) para compensarlo. El bicarbonato contribuye a evitar la acidificación de la sangre porque se disocia en OH^- más CO_2 , el cual se expulsa al exterior a través de las branquias.

En un agua excesivamente alcalina, la sangre también se alcaliniza; la anhidrasa carbónica retira de la sangre iones bicarbonato o añade iones de CO_2 . El CO_2 se combina con el agua sanguínea para dar ácido carbónico, el cual libera protones, acidificando la sangre.

Dada la gran resistencia de los adultos a vivir en aguas con diferente pH, a nosotros nos interesará mantener controlado este parámetro a la hora de mantener los huevos o a los alevines.

En la naturaleza se han medido rangos de pH del agua en la que viven las cebritas que oscilan entre 6 y 8, lo cual nos da una idea de su adaptabilidad. No obstante, en cautividad hemos de alejarnos de esos extremos y darles a nuestros peces un pH que ronde el 7.0. Nosotros encontramos preferible un pH ligeramente ácido (6.8 ó 6.9) que un pH ligeramente alcalino (7.1) porque a pH ácido el peligrosísimo amoníaco NH_3 reacciona con los protones del agua dando ión amonio NH_4^+ , el cual resulta inofensivo (no obstante, hemos de hacer la salvedad de que de los 26 hábitats habitados por estos peces y estudiados por Spence et al. (2006), en 21 el pH era de 8.0 y en el resto rondaba entre 7.4 y 7.6; pero también es cierto que el pH de las masas de agua varía diariamente dependiendo de diversos factores, como la concentración de CO_2). En agua ácida no hay posibilidad de que los peces mueran por intoxicación con amoníaco (véase más adelante el apartado dedicado a la filtración del agua). También se supone que el agua ácida dificulta el crecimiento de bacterias y otros microorganismos.

Cuando se instala el acuario y el agua empieza a circular, al principio el pH es una montaña rusa. Diariamente oscila de tal modo que resulta peligrosísimo para los peces. El pH se estabiliza cuando en el filtro se ha establecido una población bacteriana apropiada, es decir, cuando está **maduro**. Un filtro maduro es aquél en el que el proceso de nitrificación de los residuos nitrogenados se realiza por completo (véase el apartado de la filtración). Cuando montemos el acuario, deberemos inspeccionar el pH del agua diariamente (lo mejor es instalar un pH metro que lo mida de continuo) y anotar los resultados. No debemos instalar peces valiosos, como los transgénicos, hasta que el pH se haya estabilizado por completo en un valor próximo a la neutralidad. Esto ocurre espontáneamente cuando el filtro ha madurado. También se venden en los comercios de acuariofilia tampones de pH para estabilizarlo en su valor neutro sin afectar a los peces que nos pueden sacar de un apuro, pero sólo sirven para volúmenes de agua pequeños (de unos pocos cientos de litros). Para ayudar a madurar el filtro del sistema, hay que echar en el agua materia prima para que las bacterias empiecen a crecer. Se puede dejar que se descomponga algo de la comida seca que les daremos a los peces (en sistemas en los que aún no haya peces) o se puede introducir en el mismo unos cuantos ejemplares adultos de la variedad salvaje, alimentarlos y confiar en que las oscilaciones de pH no los maten. Este último sistema da

muy buen resultado y permite una rápida maduración del filtro y estabilización del pH.

Pero un filtro maduro libera muchos protones en el agua, por lo que, aunque evita bruscos cambios de pH, hace que el agua se acidifique poco a poco. Los cambios de agua periódicos evitan que esto ocurra (hablaremos de ello más adelante), pero también puede instalarse un pH metro conectado a una bomba peristáltica, conectada a su vez a un contenedor de agua en el que haya disuelto hidróxido sódico NaOH . Cuando el pH desciende demasiado (por ejemplo, por debajo de 6.8), el detector enciende la bomba peristáltica, la cual bombea agua con NaOH en el sistema hasta reestabilizar el pH, produciéndose la siguiente reacción:



Al liberar hidroxilos en el agua del acuario, evita su acidificación excesiva.

Otro parámetro físico a tener en cuenta, pero que no afecta directamente a la calidad del agua es la iluminación.

-La iluminación

En las regiones tropicales los días duran doce horas y las noches otras doce horas a lo largo de todo el año. Éste es el fotoperiodo que tenemos que darles a nuestros peces. Lo ideal es conectar las luces del acuario a un conmutador que las encienda y apague diariamente a sendas horas prefijadas. Este horario dependerá del horario del personal que trabaje en el acuario. Lo mejor es que la hora de encendido de las luces coincida con la hora de entrada al trabajo y el apagado, doce horas más tarde. Algunos autores prefieren dar un fotoperiodo de catorce o quince horas de luz y el resto de oscuridad afirmando que así se potencian las puestas.

En cuanto a la intensidad, no es demasiado importante. Los danos cebra, al proceder de las soleadas lagunas asiáticas, no son tan sensibles a la luminosidad intensa como los genuinos peces de la selva. El único problema que conlleva la iluminación demasiado intensa es el excesivo crecimiento de algas en el acuario. En realidad, las algas no son un problema para los peces, sino para el cuidador, pues si cubren el cristal frontero del acuario, no podrán verse los animales. Aparte de este motivo, las algas no suponen ningún problema. Un acuario lleno de algas no es un acuario sucio, como hemos oí-

do tantas veces. También es falso que una excesiva proliferación de algas retire oxígeno del agua, pues esta aseveración se refiere, en todo caso, a las algas nadadoras que infestan los estanques en verano, no a una monocapa de algas que cubra los cristales del acuario.

La intensidad de iluminación en el acuario no necesita ser excesivamente brillante; basta con que nos permita leer las etiquetas de los tanques sin tener que fijar la vista.

Otra cosa es el área de trabajo. El área de trabajo ha de tener una iluminación brillante para poder sexar los peces con comodidad, recoger los huevos, limpiar las placas de Petri de huevos muertos, etc. También conviene que los artemios estén situados en una zona con iluminación brillante, pues las artemias crecen mejor si están bien iluminadas. Lo ideal sería que los artemios tuviesen su propia iluminación, situada justo encima de los mismos (para ello serían ideales las lámparas tipo PL) y que esta iluminación se mantuviese encendida las 24 horas del día; aunque para ello sería necesario que los artemios estuviesen en una habitación distinta a la de los peces, pues éstos necesitan un periodo de oscuridad. Asimismo, conviene que el área en la que pongamos los tanques de reproducción esté bien iluminada, pues los peces se reproducen mejor si la iluminación es brillante.

De esto puede resumirse que el área en la que tengamos los tanques en los que vivan cotidianamente los peces ha de disponer de una iluminación suficientemente intensa para permitirnos leer las etiquetas de los tanques sin tener que fijar la vista, y el área de trabajo, de reproducción y cría de artemia de una iluminación brillante similar a la de una oficina.

Por lo que respecta a la calidad de la luz, no se necesitan ondas de una longitud determinada ni componente ultravioleta. Los tubos normales de oficina tipo *day light* resultan adecuados.

-La filtración del agua

Decimos que los acuarios corrientes son sistemas **semiabiertos**. Esto significa que reutilizamos una y otra vez la misma agua, pero realizamos pequeños cambios periódicos, desechando el agua vieja e introduciendo en el sistema agua nueva procedente del exterior. Dado que reutilizamos el agua, hemos de limpiarla. Para limpiarla se utiliza un filtro. Un buen

filtro de uso acuático realizará al mismo tiempo tres clases de filtración diferentes: filtración mecánica, filtración química y filtración biológica.

-La filtración mecánica

La filtración mecánica consiste en retirar del agua las partículas sólidas que flotan en ella. Es el tipo de filtración más intuitivo de todos. Nos permite obtener un agua clara y visualmente limpia. La filtración mecánica se lleva a cabo haciendo pasar el agua por medio de una bomba centrífuga a través de un medio poroso que permita el paso del agua, pero retenga las sustancias sólidas. Este medio poroso ha de ser inerte en el agua. Conviene que se disponga en varias capas, las anteriores han de tener poros gruesos para retener sólo las partículas de gran tamaño, dejando pasar las otras. El tamaño de poro disminuirá desde las capas anteriores a las posteriores. Las últimas han de tener los poros más pequeños de todos. Si las capas anteriores tuviesen los poros pequeños, el filtro se obturaría en seguida y habría que limpiarlo con demasiada frecuencia. La disminución progresiva del tamaño de poro permite que permanezca limpio más tiempo. Como filtro mecánico pueden usarse simplemente las bolsas de filtración con un tamaño de poro determinado que distribuyen las casas comerciales.

-La filtración química

Consiste en mantener unas condiciones químicas concretas del agua (dureza y pH). Si el agua del grifo ya tiene la dureza y el pH adecuados para mantener esta especie, no es necesario hacer nada. El peligroso cloro no ha de preocuparnos, porque es un gas que se evapora a las pocas horas. Los cambios de agua no se realizan nunca de golpe, sino poco a poco, por lo que el cloro que introduzcamos en el sistema con cada cambio de agua se disolverá en el agua vieja del mismo. Otra posibilidad consiste en filtrar el agua del grifo a través de carbón activado (de venta en tiendas de acuariofilia). El carbón activado absorberá el cloro.

Si el agua es demasiado dura, lo mejor es hacerla pasar a través de un sistema de ósmosis inversa, como ya explicamos más arriba. El cloro del agua puede dañar la membrana del sistema de ósmosis inversa, por lo que obligatoriamente hay que filtrarla previamente a través de carbón activado. No obstante, los sistemas de ósmosis inversa ya incluyen este paso previo.

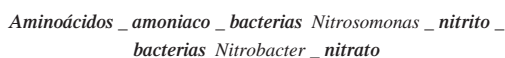
Además, un filtro maduro tiende a acidificar el agua poco a poco, por lo que hay que compensar

esta acidificación con los cambios periódicos de agua y, si éstos no fuesen suficientes, añadiendo hidróxido sódico.

-La filtración biológica

Un agua clara no es, necesariamente, un agua limpia. La filtración más importante no es la mecánica, sino la biológica, veamos en qué consiste.

El término **filtración biológica** designa la imitación en el filtro del acuario del proceso natural que tiene lugar en los ecosistemas consistente en la oxidación de los residuos nitrogenados llevado a cabo por bacterias nitrificantes y que podemos resumir así:

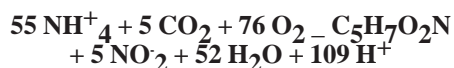


Es decir, se trata de cultivar bacterias nitrificantes en los filtros del acuario de manera que el agua que entre en los mismos esté cargada de peligroso amoniaco y la que salga lo esté de inocuo nitrato.

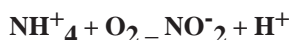
Dado que este proceso de filtración biológica es, quizás, el punto más importante a seguir a la hora de cultivar cebritas para la investigación científica, vamos a explicarlo más en detalle.

La mayor biomasa celular corresponde a las proteínas, las cuales están formadas por aminoácidos. Cuando cualquier resto orgánico (restos de comida, excrementos, peces muertos) se descompone en el agua, los aminoácidos liberan el residuo amino dando lugar a amoniaco NH_3 . El amoniaco es una molécula venenosísima y nunca hay que permitir que aumente por encima de 0.5 mg por litro. Si el agua es ácida (en nuestro caso pH 6.9 ó 6.8, pero no menos) el amoniaco reacciona con los protones del agua dando lugar a amonio NH_4^+ , el cual resulta inocuo.

En la naturaleza, las bacterias del género *Nitrosomonas*, las cuales son quimioautótrofas, emplean amoniaco o amonio como fuente de energía y lo oxidan, liberando como residuos protones y nitrito NO_2^- según la siguiente reacción:

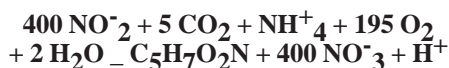


La cual puede ser resumida en nuestro interés así:

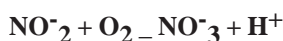


Las bacterias *Nitrosomonas* consumen amoniaco o amonio más oxígeno y secretan como residuo nitrito más protones, retirando oxígeno del agua y acidificándola.

Las bacterias del género *Nitrobacter* también son quimioautótrofas y emplean nitrito como fuente de energía, oxidándolo y liberando nitrato NO_3^- según la siguiente reacción:



La cual también podemos resumir así:



Las bacterias *Nitrobacter* consumen nitrito más oxígeno y secretan como residuo nitrato más protones, por lo que también contribuyen a la anoxia y a la acidificación del agua.

En resumen, las bacterias nitrificantes transforman el amoniaco en nitrato. Este proceso también ocurre de forma natural en el acuario. Ahí donde las bacterias nitrificantes dispongan de un sustrato para fijarse y crecer, ahí realizarán la transformación del amoniaco en nitrato.

Mientras que tanto el amoniaco como el nitrito son muy venenosos, el nitrato es inofensivo a no ser que se concentre demasiado.

Nos conviene tener nuestros propios cultivos de bacterias nitrificantes para filtrar biológicamente el agua del acuario y eliminar tanto el amoniaco como el nitrito. Lo mejor es dotar al filtro de un sustrato que permita el crecimiento de estas bacterias. Cualquier sustrato inerte al agua sirve. En las tiendas de acuariofilia ya se venden sustratos adecuados. Lo más importante es que sea muy poroso para que ofrezca la máxima superficie posible de fijación a las bacterias. Este sustrato no ha de lavarse ni cambiarse para evitar perder los cultivos. Las bacterias nitrificantes son sensibles y de crecimiento lento. La mayor parte de estos sustratos están sumergidos. Ahora bien, como podrá observarse en ambas fórmulas, las bacterias consumen oxígeno para realizar su función nitrificante (de hecho, *mucho* oxígeno), así que en un medio sumergido cerrado, el oxígeno se agota en seguida y supone un importante factor limitante del rendimiento de las bacterias. Hay al menos dos técnicas para evitar esto. Una de

ellas consiste en colocar el sustrato para que crezcan las bacterias por encima del nivel del agua, en un recipiente abierto, en contacto con el aire. El agua cae en cascada chorreando por el sustrato en el que viven las bacterias y formando una delgada película de agua entre ellas y el aire. Las bacterias toman el oxígeno que necesitan del aire, por lo que éste nunca supone un factor limitante. A esta clase de filtración se la denomina de **goteo o seco – húmeda** y resulta óptima para nuestros propósitos. El otro tipo son los **filtros de lecho fluido**. Consisten en un recipiente abierto por arriba para que entre el oxígeno del aire. Ese recipiente está parcialmente lleno de arena silíceo (para no alterar la dureza del agua) fina. Unos tubos que conducen el agua descendiendo hasta el fondo del recipiente enterrándose en la arena. Por esos tubos sale el agua a gran presión, elevándose y elevando consigo la arena. El agua recorre todo el recipiente de abajo arriba, de donde sale a través de un rebosadero. La arena permanece nadando en el agua y sobre ella crecen las colonias de bacterias. Como el agua se queda sin oxígeno, tras salir de este filtro ha de hacérsela caer por una cascada para oxigenarla de nuevo.

El problema que tienen estos filtros es que si hay un apagón de luz y el agua deja de correr, la arena precipita al fondo del biofiltro y ahí se apelmaza. Si el corte de luz dura mucho tiempo, se corre el riesgo de que se agote el oxígeno y las bacterias mueran y se descompongan liberando amoníaco, por lo que cuando regrese la luz y todo se vuelva a poner en funcionamiento hay peligro de intoxicar a los peces.

Además de las bacterias nitrificantes, en el biofiltro también crecen bacterias y otros microorganismos heterótrofos, los cuales cumplen el papel de descomponedores en los ecosistemas, descomponiendo la materia orgánica en materia inorgánica. El resultado es un lodo negro y maloliente que se acumulará en zonas sin corriente de agua y que habrá que limpiar periódicamente. Los líquidos que se venden en las tiendas de acuariofilia para madurar filtros no son cultivos de bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, como podría pensarse, sino cultivos de estas bacterias heterótrofas.

También podríamos considerar como parte de la filtración biológica las lámparas de rayos ultravioleta. El agua es muy medio mucho más adecuado para el desarrollo de la vida que el aire. Es por eso que en el agua los microorganismos son más abundantes

que en tierra firme. La mayor parte de esos microorganismos resultan inofensivos para los peces; pero dentro de los mismos también hemos de incluir los parásitos. Al vivir en el agua, los peces sufren el ataque de muchos más parásitos y otros agentes patógenos que los mamíferos. Muchos de estos agentes patógenos se encuentran en forma latente en el interior del cuerpo del pez. Mientras los peces estén sanos, nada ocurre. Pero si los peces padecen de estrés, entonces sus defensas disminuyen y es cuando esos microorganismos se convierten en patógenos. En el medio cerrado de un acuario, el contagio de patógenos de unos peces a otros resulta muy sencillo. De ahí que siempre resulte recomendable la adición de una lámpara de rayos ultravioleta al sistema de filtrado. El agua que ya sale limpia del filtro se hace pasar formando una capa fina a través de una lámpara de rayos ultravioleta de uso piscícola. La radiación ultravioleta degrada las moléculas de DNA, matando así cualquier microorganismo (patógeno o no) que haya en el medio.

Otra posibilidad consiste en el empleo de ozonizadores de uso acuariológico. El ozono O_3 es una molécula muy reactiva que oxida otras moléculas, matando así a los microorganismos que haya en el agua. No obstante, en lugares cerrados, como puedan ser los laboratorios y acuarios de centros de investigación, el empleo del ozono resulta desaconsejable y peligroso tanto para los peces como para el personal que trabaje allí.

-Los cambios de agua:

El filtrado del agua es necesario, pero no es ninguna panacea ni puede sustituir a los cambios de agua. Hay que realizar cambios de agua por dos motivos principales:

- A) Los nitratos se acumulan en el agua. Aunque a baja concentración no resultan nocivos para los peces, a una concentración elevada podrían ser tóxicos.
- B) No sólo se acumulan nitratos en el agua, sino todo tipo de sales procedentes de la alimentación de los peces a través de sus excrementos y de los restos de comida en descomposición. El agua acaba convirtiéndose en una sopa salina. Como este proceso se produce poco a poco, el medio interno de los peces se va adaptando a esta concentración salina sin que aparentemen-

te los perjudique. El problema surge cuando al fin se decide cambiar el agua. Al hacer un cambio importante de agua, la salinidad de la misma varía bruscamente, produciendo un choque osmótico en los peces. Si sus mecanismos osmorreguladores no pueden hacer frente a este choque osmótico, los peces morirán; pero incluso aunque logren sobrevivir, es muy fácil que el estrés los perjudique hasta el punto de hacerlos enfermar.

Los cambios de agua periódicos evitan que se produzca esta situación. Todo cambio de agua ha de ser progresivo para evitar choques osmóticos y variaciones bruscas de pH y temperatura. Lo ideal es hacer pequeños cambios parciales de agua diarios. Jamás hay que cambiar toda el agua de una sola vez.

-Un modelo de filtro

Para aclarar todas estas cuestiones, vamos a explicar cómo es el sistema de filtración del acuario del Centro Nacional de Biotecnología.

-La obtención del agua

El agua del grifo se hace pasar a través de un sistema de ósmosis inversa conectado a un temporizador, el cual lo enciende de 12 de la noche a 6 de la madrugada. El agua desalinizada así obtenida va a parar a un contenedor provisto de un rebosadero. Cuando el nivel del agua llega al rebosadero, cae a otro contenedor situado directamente sobre el suelo de la habitación y al que llamaremos **contenedor principal**. En éste hay instalados varios detectores. Uno de ellos es un detector de salinidad (o conductividad), otro es un detector de pH. Nosotros mantenemos a nuestros peces a una salinidad de 600 ppm, equivalente al agua dulce. Mantenemos una concentración hipersalina de agua (para que ocupe menos espacio) en otro contenedor. Esta concentración hipersalina se consigue disolviendo sal marina para acuarios de alta calidad en agua del grifo. El detector de salinidad está conectado a una bomba peristáltica, la cual bombea agua hipersalina desde ese contenedor al contenedor principal. Habitualmente, la bomba peristáltica permanece apagada, pero si el detector de salinidad detecta una salinidad inferior a 600 ppm, enciende la bomba peristáltica, la cual bombea agua hipersalina al sistema hasta que la anterior concentración se ha restablecido.

Para evitar la progresiva acidificación del agua debida a los protones liberados durante el proceso de la nitrificación, otro de los detectores ubicados en el contenedor principal es un pH metro. Cuando el pH disminuye por debajo de 6.8, el pH metro enciende una bomba peristáltica conectada a un contenedor que contiene una disolución de hidróxido sódico inofensivo para los peces en agua del grifo. La bomba peristáltica bombea esta disolución al contenedor principal hasta alcanzar un pH 7.1, entonces se apaga.

-La filtración

El agua limpia procedente del filtro entra en cada tanque con peces a través de un agujero situado en la tapa en posición delantera, recorre el tanque de delante atrás y sale del mismo a través de un rebosadero situado en su parte trasera y protegido para evitar que ningún pez se escape. Sale a un colector situado tras el mismo. El agua no pasa de un tanque a otro, sino que su recorrido es siempre :

filtro _ tanque con peces _ filtro.

Esta agua cargada de amoniaco/amonio que sale de cada tanque se mezcla con la de los otros tanques y atraviesa un prefiltro de material sintético que filtra las partículas sólidas más groseras.

De ahí va a parar al contenedor principal.

Una bomba centrífuga de gran potencia aspira el agua cargada de amoniaco/amonio del contenedor y la hace pasar a través de un biofiltro de lecho fluido. Consiste en un gran tanque cargado de agua y arena silíceo de grano fino y abierto por arriba para que entre el oxígeno del aire. La bomba impulsa el agua hasta la parte inferior del biofiltro a través de unas tuberías. El agua asciende completamente desde la parte inferior hasta la parte superior del biofiltro, por donde sale a través de un rebosadero. En su ascensión levanta levemente la arena y la mantiene en movimiento constante. Esta arena ofrece una grandísima superficie de colonización para las bacterias nitrificantes, las cuales convierten el amoniaco/amonio en nitrato.

Ahora el agua cargada de nitrato que sale del biofiltro ha perdido su oxígeno, ya que éste ha sido absorbido por las bacterias nitrificantes. Para oxigenarla se la hace caer por una cascada cargada de bolas de plástico, las cuales rompen la columna de agua en gotitas que se oxigenan en su contacto con el aire, al contenedor principal, donde se mezcla le-

vemente con el agua cargada de amoniaco/amonio procedente de los tanques con peces. No obstante, cada gota de agua pasa varias veces por el biofiltro antes de ser devuelta a los tanques, por lo que la proporción de amoniaco/amonio es mínima.

Otra bomba centrífuga absorbe esa agua y la impulsa a través de unos filtros mecánicos de bolsa con un tamaño de poro de 25 micras para acabar de filtrar los residuos sólidos más pequeños. De ahí es devuelta a los tanques tras atravesar una lámpara de rayos ultravioleta.

-Los cambios de agua

Nosotros hacemos pequeños cambios de agua diarios. El sistema de ósmosis inversa se mantiene encendido seis horas durante la noche. Cuando el agua nueva procedente del sistema de ósmosis inversa cae al contenedor principal y se mezcla con el agua vieja, el nivel de agua de este contenedor, naturalmente, sube y se va al sistema de alcantarillado a través de un rebosadero ubicado en el mismo. Es así como se cambia diariamente.

LA ALIMENTACIÓN

A la hora de alimentar a los danios cebrá, hay que tener en cuenta que se tragan su comida entera.

Lo mejor es alimentarlos con comida seca general para peces de acuario. Hay diversas marcas excelentes. Nosotros usamos SERA, pero también tienen mucha fama en el mercado acuariófilo TETRA y AQUARIAN.

La comida seca se presenta en dos formas: escamas y gránulos. Nosotros preferimos los gránulos porque ensucian menos el agua. Las escamas se quedan pegadas al más mínimo rastro de humedad: cristales del acuario, orificio de alimentación, etc. Si no se limpian de inmediato, se pudren y crían moho.

En cuanto al tamaño, a los alevines más pequeños les damos comida en polvo. A los juveniles, gránulos para peces jóvenes y a los adultos, gránulos para peces adultos pequeños (Tabla 2). La capacidad de ensuciar el agua es inversamente proporcional al tamaño del gránulo: la comida en polvo de los alevines ensucia más el agua que los gránulos para peces jóvenes, y éstos a su vez más que los gránulos para peces adultos. Además, los gránulos tienen una relación superficie/volumen menor cuanto mayores sean; esto reduce la cantidad de nutrientes que se pierden disueltos en el agua antes

de que los peces se los coman (Ramseyer y Garling). Es por eso que resulta conveniente cambiar el tamaño de gránulo lo antes posible una vez que estamos seguros de que los peces pueden tragarlo. Lo mejor para ello es echarles un poco de comida y observar si la comen sin dificultad.

La dieta de los peces

Entre 4 y 30 días	Comida en polvo
Entre 10 y 15 días	Poca artemia
A partir de 15 días	Mucha artemia
A partir de 20 días	Gránulos para peces jóvenes
Cuando alcancen tamaño adulto	Gránulos para peces adultos

Tabla 2

-La alimentación de los alevines

Los alevines salen del huevo al segundo día tras la freza. Disponen de un saco vitelino del que se alimentan durante dos días más. Durante ese tiempo permanecerán pegados a los laterales del acuario. El que permanezcan demasiado tiempo yaciendo en el fondo no es buena señal. Significa que están debilitados y probablemente mueran.

Al cuarto día tras la freza (a bajas temperaturas, al quinto) se ha consumido ya el saco vitelino, se desarrolla la vejiga natatoria y los alevines comienzan a nadar y a cazar. Es típico que permanezcan justo bajo la superficie del agua. Es entonces cuando debemos empezar a alimentarlos.

En los manuales de cría de estos peces suele recomendarse la cría de paramecios y microgusano para alimentarlos en este estado.

El empleo de comida viva para alimentar a los peces en cautividad es una rémora de los primeros tiempos de la acuariofilia, cuando las dietas secas no estaban muy bien preparadas y eran siempre deficitarias en nutrientes. Entonces no había más remedio que criar comida viva para suplir esas carencias. Hoy en día se elaboran unas dietas secas

perfectamente equilibradas, incluso para los alevines. Se trata de comida en polvo, adecuada al tamaño de la boca de los alevines, que se esparce sobre la superficie del agua. Los alevines comen de ella y parece gustarles. Nuestro consejo es prescindir de la comida viva todo lo posible. La cría de paramecios tiene tres problemas: huele mal, se corre el peligro de introducir algún parásito con ella y probablemente no sea todo lo completa que se cree. En la empresa norteamericana Scientific Hatcheries, nos informaron de que los paramecios son deficitarios en ácidos grasos esenciales poliinsaturados para los peces (ω_6 para los dulciacuícolas y ω_3 para los marinos), así que ellos emplean una fórmula secreta con la que alimentan a los paramecios antes de ofrecérselos a los alevines, transformándolos así en alimento encapsulado.

Paulo et al. (2006) coinciden en que las dietas para alevines basadas en paramecios son deficitarias. Proponen alimentarlos con nauplios de artemia desde el principio, demostrando que así su supervivencia es superior.

Las reservas energéticas les duran a los alevines exactamente 10 días. Si no se están alimentando, al décimo día observaremos una gran mortandad en el acuario.

No obstante, nada quita el que, además de alimento en polvo, les ofrezcamos a los alevines paramecios como golosina. Para el que quiera intentarlo, quizás el mejor método para criar los paramecios sea hacer germinar arroz integral en un recipiente con agua. La germinación del arroz proporcionará multitud de paramecios sin apenas malos olores.

-La artemia

El único alimento vivo que empleamos nosotros son los nauplios de artemia. «Nauplio» es simplemente el nombre dado a las larvas de algunos crustáceos. Las artemias son crustáceos branquiópodos de la familia de los anostráceos. Viven en charcas y lagos permanentes hipersalinos (con una salinidad del agua entre tres y diez veces superior a la del mar). Se alimentan de detritus orgánicos, microalgas y bacterias habitantes de estos medios (Esteban et al. 2000). Los lagos en los que las artemias habitan son tan salados que los peces no pueden vivir en ellos. Es decir, los peces en libertad no se alimentan de artemias; pero éstas son un excelente alimento para los peces en cautividad. Esto, que podría pare-

cer una contradicción, no lo es. Los nauplios de artemia son muy nutritivos y contienen ácidos grasos poliinsaturados ω_6 y ω_3 (dependiendo de la cepa). Además, como los parásitos viven junto a sus huéspedes, el que no haya peces en estos lagos hipersalados significa que tampoco hay parásitos de peces, por lo que podemos alimentar a los nuestros con ellas sin miedo.

La artemia se reproduce siguiendo dos modelos: el ovíparo y el ovovivíparo. En la reproducción ovovivípara, los embriones se desarrollan en el interior de la hembra y nacen directamente como nauplios perfectamente formados; en la reproducción ovípara, el embrión llegado a una fase de su desarrollo cesa éste y se cubre con un corion resistente, formando un quiste que es liberado por la hembra al agua. Estos quistes son estructuras de resistencia y pueden envasarse y transportarse. Son precisamente estos quistes lo que distribuyen las empresas. Hacerlos desarrollarse es muy sencillo. Basta con poner los quistes en un artemiero consistente en un recipiente con forma de cono invertido



Figura 3

(figura 3), lleno de agua con sal en la proporción que indique el fabricante y dotado de aireación, a una temperatura de entre 25 y 30 grados. Los nauplios nacerán al cabo de día o día y medio. Lo mejor es que se los ofrezcamos a nuestros peces lo antes posible, pues van perdiendo nutrientes a medida que pasa el tiempo y también crecen, por lo que los alevines más pequeños no pueden tragarlos. Estos nauplios miden entre 400 y 500 micras y los alevines más grandes (pues unos alevines crecen más deprisa que otros incluso en la misma puesta) empiezan a comérselos a partir del décimo día de vida (según nuestra experiencia; Carvalho et al. 2006 afirman que empiezan a comerlos al cuarto día de vida). Todos los alevines han crecido ya lo suficiente para comérselos al decimoquinto día de vida. A pesar de vivir en lagos hipersalados, resisten en agua dulce durante algunas horas, por lo que podemos echárselos a los alevines en exceso y dejar que se vayan sirviendo ellos mismos.

A los peces adultos también les gustan, los podemos utilizar para estimularlos para la puesta y para animar a alimentarse a los peces desganados por estar enfermos.

Los artemieros han de estar **siempre** junto a un fregadero, de manera que el tubo de salida caiga sobre éste. Para limpiarlos, lo mejor es que haya una pequeña manguera conectada a la toma de agua corriente, lo suficientemente larga como para poder lavar con ella el interior del artemiero. Si el artemiero es grande, una escobilla de retrete nos será muy útil para limpiar las paredes interiores. También es aconsejable un limpiatubos para limpiar el tubo de salida. Los artemieros tienen un defecto, y es que hay un espacio muerto en la parte inferior, justo antes de la llave de salida, en el que se acumulan las artemias muertas o que no han llegado a eclosionar. Para evitar mezclarlas con las que les demos a los peces, conviene abrir brevemente la llave de salida y desecharlas antes de hacer cada recolección.

Los artemieros pueden tenerse en la misma habitación en la que estén los peces o en otra habitación independiente. La ventaja de tenerlas en una habitación independiente estriba en que se puede dejar encendida la iluminación las 24 horas. Se supone que esto estimula el nacimiento de los nauplios. Esta habitación ha de estar a una temperatura de entre 25 y 30 grados y disponer de fregadero. Si se tienen los artemieros en la misma habitación que los peces,

hay que tenerlos en una zona con luz brillante para estimular el nacimiento de los nauplios. Es posible incluso colocar la iluminación (por ejemplo, lámparas PL) justo encima de cada artemiero. Hay que hacer cultivos de artemias diariamente, por ello hemos de disponer de un mínimo de dos artemieros. Ese dicho tan difundido que asegura que las artemias tardan sólo 24 horas en nacer, no es más que un bulo. Los distintos ejemplares tardan distinto tiempo en nacer, por lo que si esperamos sólo 24 horas, nos encontraremos con una mezcla de artemias ya nacidas y otras que aún permanecen dentro del quiste. Por eso nosotros preferimos dejarlas día y medio. Actuamos de la siguiente manera:

Supogamos que tenemos dos artemieros: A y B. El día 1, por la tarde, antes de abandonar el acuario, se llena el artemiero A con la mezcla de agua y sal que indique el fabricante. El agua puede ser agua del grifo o agua del sistema (nosotros usamos agua del sistema, pues la del grifo no daba buen resultado). Se coloca la aireación, consistente en una bomba de aire potente a la que hay conectado un tubo que se introduce en el artemiero. En el extremo de ese tubo hay una piedra porosa pesada de uso acuarístico que garantiza que el tubo caiga hasta el fondo del artemiero, pues, si no, tiende a flotar, y divide el aire en burbujas finas, aunque esto último no es imprescindible. La aireación hace que se mezcle bien el agua con la sal. Entonces se añade la cantidad adecuada de quistes de artemia. No se pueden dar datos de la cantidad de quistes que se deben echar en el artemiero, pues ello depende del tamaño de éste, de la cantidad de peces que haya que alimentar, etc. Cada uno debe calcularlo dependiendo de su experiencia. Siempre resulta aconsejable no hacer un cultivo demasiado denso, pues las artemias no nacerían bien y se morirían muchas. Se deja la mezcla de agua, sal y artemias mezclándose bien gracias al aireador.

El día 2 por la tarde se hace lo mismo con el artemiero B.

El día 3 por la mañana, al llegar a trabajar, se retira la aireación del artemiero A. Conviene, justo antes de hacerlo, abrir levemente la espita de salida para que las artemias que se han acumulado en el espacio muerto inferior del artemiero, y que han muerto allí, se vayan por el fregadero. Al retirar la aireación, el agua quedará en calma. Las artemias que ya hayan nacido se irán al fondo del artemiero y las cáscaras vacías flotarán hasta la superficie. Se

colocará entonces un recipiente bajo el tubo de salida del artemiero y se abrirá la llave de éste para recoger las artemias vivas más el agua salada limpia. Al descender el nivel del agua del artemiero, las cáscaras vacías irán quedándose pegadas a las paredes del mismo. Cuando se haya recogido la mezcla de nauplios de artemia viva más agua salada, se lava bien el interior del artemiero con agua del grifo para retirar todas las cáscaras muertas. Se vuelve a echar en su interior la mezcla de artemias vivas más agua salada y se coloca de nuevo la aireación. De esta forma podremos mantener vivos los nauplios a lo largo de todo el día e ir alimentando con ellos a nuestros peces.

Para recoger los nauplios, lo mejor es usar un tamiz especial de venta en tiendas de acuariofilia. Se coloca el tamiz al extremo del tubo de salida y un recipiente para recoger el agua debajo. Se abre la llave y se recogen las artemias en el tamiz y el agua en el recipiente. Se echa de nuevo el agua en el artemiero. Las artemias se echan en otro recipiente más pequeño, como un vaso de plástico, lleno con agua del sistema, y así se repartirán a los peces mediante una pipeta Pasteur de plástico.

Al final de la tarde, después de haber repartido todas las artemias, se aclara el artemiero A con agua del grifo y se vuelve a iniciar un cultivo tal y como se ha explicado.

El día 4 por la mañana se recolectan las artemias del artemiero B como ya se ha explicado. Al final de la tarde, cuando ya se hayan repartido todas, se inicia otro cultivo.

El día 5 por la mañana se hace lo mismo con el artemiero A.

De esta forma se usarán ambos artemieros en días alternos.

-Las dosis y los restos de comida

Los peces son animales exotermos, y eso implica que no gastan energía generando calor. Por ello, sus necesidades energéticas son menores que las de los mamíferos. La tendencia general del cuidador de animales es a sobrealimentarlos. En el caso de los ratones de laboratorio esto no supone ningún problema, porque se les administran pellets ad libitum y se deja que se vayan alimentando de ellos. Pero esto no se puede hacer con los peces. En el agua, la comida tiende a descomponerse con rapi-

dez. Por eso hay que dosificar la comida de manera que los animales se la coman toda en unos pocos minutos.

El mejor truco consiste en alimentar a los peces en pequeñas dosis varias veces al día. El número de dosis depende de la edad de los peces. Los alevines necesitan mucha comida para crecer y necesitan comer de continuo. Pero la comida en polvo que se utiliza aguanta flotando en el agua bastantes horas, por ello nosotros les damos de comer tan sólo dos veces al día comida en polvo.

En cuanto a los nauplios de artemia, resisten vivos en agua dulce varias horas antes de morir, por ello también se les puede echar en exceso (dentro de ciertos márgenes) y dejar que los peces vayan picando.

Los juveniles también necesitan mucha comida. Nosotros les damos pequeñas dosis de comida en gránulos para peces jóvenes unas cinco veces al día, además de la artemia.

A los peces adultos, que no necesitan gastar energía en crecer, les damos de comer dos veces al día.

Los residuos sólidos que aparecen en el acuario y que hay que retirar diariamente mediante un sifón, tienen dos orígenes: restos de comida sin comer y excrementos.

Nos conviene, por supuesto, que haya la menor cantidad posible de restos de comida sin comer. El problema estriba en cómo calcular las dosis de forma que se les proporcionen a los peces los nutrientes suficientes para su metabolismo sin que queden restos. Lo mejor es hacerlo a ojo, pero esta facultad se adquiere con la experiencia. En el caso de los peces juveniles, nos conviene que crezcan lo más rápidamente posible, por tanto nos compensará sobrealimentarlos aunque queden restos de comida en el tanque. En el caso de los peces ya crecidos, nos compensará echarles menos comida, aunque pasen un poco de hambre, sin llegar a la desnutrición, a que queden restos de comida, porque una alimentación en exceso puede producirles obesidad y ello redundará en una menor fertilidad.

La cantidad de excrementos que producen los peces depende de la digestibilidad de la alimentación que les demos. En general, los peces digieren mejor

las proteínas y los ácidos grasos que los hidratos de carbono (Craig y Helfrich 2002). El problema de las dietas hiperproteicas estriba, por un lado, en el alto coste de producir proteínas y, por otro, en que el exceso de aminoácidos hace que los sobrantes no se digieran y se descompongan en el agua, desprendiendo el extremo amino y generando amoníaco. Por ello se tiende a sustituir las proteínas por ácidos grasos, los cuales son una fuente de energía importante, pero no generan amoníaco. No obstante, recordemos que en los peces hay diez aminoácidos esenciales (tabla 3) los cuales no pueden ser aportados por los ácidos grasos. Los trabajos que hemos encontrado en la bibliografía (Cho y Bureau 2001; Ramseyer y Garling) se escribieron pensando en la contaminación producida por las piscifactorías, no en la cría de peces como animales de laboratorio, y hacen mucho hincapié en alimentar a los peces con dietas altamente digeribles que generen pocos residuos. Pero no hacen referencia al tránsito intestinal de esa alimentación. Podemos suponer que los restos indigeribles facilitan el tránsito intestinal del alimento. Si los danios cebra se alimentan principalmente de insectos (McClure et al. 2006), los cuales poseen exoesqueletos quitinosos indigeribles, podemos imaginar que esos restos facilitan el tránsito intestinal del alimento y que los peces se han adaptado a ese tipo de alimentación. Se sabe que a animales tan dispares como chinchillas y tortugas terrestres mediterráneas, que han evolucionado convergentemente al alimentarse en la naturaleza de hierbas secas, el alimentarlas en cautividad con hierbas jugosas les causa problemas digestivos. ¿Cómo afectaría a nuestros peces una alimentación sin restos indigeribles? ¿Les produciría problemas intestinales? ¿Compensaría ello la reducción en los excrementos?

LA REPRODUCCIÓN

Como los estudios científicos que toman como modelo de investigación el danio cebrado trabajan casi exclusivamente con embriones (salvo los experimentos de regeneración, para los que se emplean adultos), la reproducción de esta especie es el objetivo primordial de su crianza como animal de laboratorio.

Reproducir estos animales resulta muy sencillo para tratarse de un pez, pero es más difícil que reproducir ratones y ratas. Para entender el origen de los problemas que puedan surgir y resolverlos adecuadamente, es indispensable tener ciertas nocio-

nes de etología. Vamos a hacer, por tanto, una breve introducción al instinto.

-Los comportamientos innatos

El comportamiento de un animal consiste, básicamente, en el conjunto de movimientos que realiza. Los etólogos dividen los movimientos de los animales en distintas categorías. Por un lado, tenemos los movimientos innatos y, por otro, los aprendidos. Dejemos de lado estos últimos y concentremos en los primeros.

Un movimiento innato es un movimiento con una base genética. Hay genes que codifican para el movimiento. Podemos dividir los movimientos innatos en dos categorías: los reflejos y los movimientos instintivos. Todo movimiento, tanto innato como aprendido, es una reacción ante un estímulo. Los reflejos son movimientos innatos que sólo reaccionan ante **estímulos exógenos proporcionados por el medio ambiente**. Un ejemplo es el reflejo pupilar: si la luz es intensa, la pupila se contrae; si la luz es tenue, la pupila se dilata. La pupila no se dilata si la luz es tenue ni viceversa. Los movimientos instintivos, o **pautas fijas de conducta**, son movimientos innatos que reaccionan ante dos clases de estímulos: **estímulos exógenos proporcionados por el medio ambiente** (al igual que los reflejos) y **estímulos endógenos generados de manera automática y rítmica por el propio sistema nervioso central**. Es precisamente la reacción ante estos estímulos endógenos lo que caracteriza a los movimientos instintivos y los diferencia de todos los demás.

No hemos de confundir la expresión «movimiento instintivo» con la palabra «instinto». Un «instinto» es una **tendencia innata de comportamiento**, no un movimiento. El instinto reproductor es la tendencia innata a reproducirse, el instinto maternal es la tendencia innata a cuidar de los hijos, etc. Cuando un animal realiza un instinto, está desencadenando todo tipo de movimientos, tanto innatos como aprendidos, entrelazados entre sí.

El sujeto desencadena un movimiento instintivo concreto cuando la suma de estímulos endógenos generados de manera automática y rítmica por el sistema nervioso central más los estímulos exógenos proporcionados por el medio ambiente **alcanza o supera un valor umbral**. A los estímulos exógenos para determinado movimiento instintivo se los denomina **desencadenantes**.

El cerebro actúa como un filtro de desencadenantes. De todos los estímulos exógenos que rodean a un individuo, filtra todos menos los desencadenantes para una acción instintiva concreta.

La secuencia de acción es, más o menos, la siguiente:

Es sistema nervioso central de un animal (incluyendo al hombre) genera de manera automática y rítmica estímulos endógenos para determinada acción instintiva. Esos estímulos se acumulan. Cuando alcanzan determinado nivel, al animal le «apetece» realizar esa acción instintiva, así que buscará de forma activa la situación medioambiental desencadenante (a esto se le llama **mecanismo de apetencia**). Cuando la encuentre, los estímulos exógenos medioambientales se sumarán a los estímulos endógenos y, si superan el valor umbral, el sujeto desencadenará la acción instintiva. El desencadenamiento de la acción instintiva «gasta» los estímulos endógenos que se habían acumulado. Como los estímulos exógenos no podrán ellos solos superar el umbral desencadenante, el animal se tranquilizará y no volverá a realizar la acción instintiva hasta que su sistema nervioso central genere más estímulos endógenos. Se dice que el animal se **fatiga**. Esta fatiga no es una fatiga física, sino psicológica.

Si al sujeto se le impide desencadenar un movimiento instintivo determinado, el sistema nervioso central continúa generando estímulos endógenos de forma automática y rítmica, los cuales se acumulan en su organismo por encima del valor habitual. Esto le causa un gran estrés, por lo cual busca con mayor ahínco la situación medioambiental desencadenante. El valor de los estímulos endógenos acumulados puede ser tan alto que con sólo añadirle unos pocos estímulos exógenos medioambientales, la suma de unos y otros supere el valor umbral desencadenante y el animal realice el movimiento instintivo en condiciones subóptimas. El caso extremo consiste en que los estímulos endógenos se hayan acumulado hasta tal nivel que ellos solos superen el valor del umbral desencadenante. Entonces, el animal realizará la acción instintiva en ausencia de estímulo exógeno alguno. A esto se le llama **reacción en vacío**: aves insectívoras que cazan moscas invisibles,

tritones en época de celo que cortejan una esquina del acuario, etc.

Hemos dicho que cuando se impide a un animal desencadenar un movimiento instintivo determinado, se estresa debido a la acumulación de estímulos endógenos por encima de su valor habitual. Esto es una gran responsabilidad para los cuidadores de animales en cautividad. La mejor manera de mantener a nuestros animales relajados es permitirles realizar la mayor cantidad de comportamientos instintivos posible (idealmente, todos los típicos de la especie). Las pautas fijas de conducta están más relacionadas con la fisiología que con la psicología. Si se impide que un individuo desencadene un movimiento instintivo concreto durante demasiado tiempo, ese movimiento puede atrofiarse (lo mismo que los músculos de un brazo escayolado por el codo se atrofian por falta de movimiento).

Un ejemplo que ilustra esto perfectamente es el del mapache. Al mapache también se le llama «osito lavador», ya que se dice que lava su comida antes de metérsela en la boca. Lo extraño es que sólo se observaba este comportamiento en cautividad, nunca en libertad. Lo que pasaba era lo siguiente:

Los mapaches son animales semiacuáticos que habitualmente viven a la orilla de los ríos. En ellos encuentran gran parte de sus presas. La manera de cazar del mapache consiste en ir palpando con las manos las piedras del río. Cuando descubre gracias al tacto algún animalillo, lo captura y lo devora.

Pero cuando se llevaron los primeros mapaches a los zoológicos, nada de esto se sabía. El animal vivía en una jaula de suelo de cemento y tan sólo se le proporcionaba un plato con comida y otro con agua, no había río alguno. El sistema nervioso central del mapache continuaba generando estímulos de caza de manera continua, pero el animal carecía de la situación medioambiental desencadenante. Esto le causaba un gran estrés. Los estímulos endógenos se acumulaban hasta tal nivel que cualquier estímulo exógeno que recordase a un río, por pequeño que fuese, bastaba para superar el umbral desencadenante. Y lo único que recordaba a un río en su jaula era el plato con agua. Así que el mapache cogía la comida del plato con comida, la echaba en el plato con agua y se ponía a palparla como hacía en la naturaleza con las piedras del río. A un observador le daba la impresión de que estaba lavando su comida.

En resumen, para reproducir los danios cebrá, en principio basta con colocar una pareja o un pequeño grupo en el acuario de reproducción por la tarde y esperar a que se enciendan las luces del acuario a la mañana siguiente. Pero si además enriquecemos el acuario de reproducción con estímulos externos que actúen como desencadenantes de la conducta de cortejo, aumentaremos la probabilidad de que se reproduzcan. Cuantos más desencadenantes les proporcionemos, más probabilidad habrá de que su adición a los estímulos internos de los propios peces supere el valor umbral desencadenante y pongan huevos.

-La reproducción de los peces

Veamos cómo se reproducen los peces en la naturaleza para poder extrapolarlo a la cautividad y resolver cualquier problema que se nos plantee:

El sistema nervioso central de un pez genera de manera automática y rítmica estímulos endógenos para el cortejo. Estos estímulos se acumulan en el organismo del animal. Cuantos más estímulos se acumulan, más apetencia tiene el pez por reproducirse; el animal se siente incómodo y busca activamente la situación medioambiental desencadenante. Entonces, cuando llega el amanecer, con las primeras luces, el cardumen se dirige a la orilla del río. Los estímulos externos (la presencia de otros congéneres del sexo opuesto, la luz del amanecer, la poca profundidad del agua y la presencia de plantas acuáticas) se suman a los estímulos internos. Si entre todos superan el valor umbral desencadenante, los animales iniciarán el ritual del cortejo. El macho perseguirá intensamente a la hembra, la cual tendrá al principio tendencia a huir, tocándole la cloaca con el hocico. Este comportamiento es el estímulo desencadenante innato de la puesta de huevos. La hembra lanzará un chorro de óvulos (unas pocas unidades de cada vez), los cuales serán a su vez el estímulo desencadenante innato de la eyacuación del macho. Éste eyaculará una nube de esperma. Los espermatozoides fecundarán los óvulos y como éstos son más pesados que el agua, caerán al fondo, donde quedarán ocultos de la voracidad de sus padres. Los peces cortejantes repiten la conducta detallada más arriba varias veces hasta que los estímulos endógenos se desgastan y su suma a los estímulos exógenos no logra alcanzar el valor umbral desencadenante. Los peces se han fatigado. En ese momento, los padres dejarán de reproducirse hasta que la acumulación de estímulos endógenos sea de nuevo, al cabo de unos días, lo

bastante elevada para inducirlos a reproducirse de nuevo.

Así pues, los desencadenantes básicos de la reproducción que hemos de proporcionar para reproducir los peces en cautividad son:

- Presencia de individuos del sexo opuesto en edad reproductora.
- Luz del amanecer.
- Poca profundidad de agua.
- Presencia de plantas acuáticas.

Hay otros dos desencadenantes que, sin ser estrictamente necesarios, facilitan la reproducción:

- Agua fría (presuntamente relacionado con la llegada de los monzones).
- Abundancia de alimento vivo (presuntamente relacionado con periodos de bonanza).

Para la reproducción se emplean tanques especiales, separados del sistema de circulación de agua, los cuales son pequeños para resultar fácilmente manejables, tienen sólo unos centímetros de profundidad y un doble fondo para que los huevos lo atraviesen y puedan escapar de la voracidad de sus padres (figura 4). Los progenitores se ponen en esos tanque de cría, que estarán llenos con la misma agua en la que viven los animales habitualmente (junto a plantas acuáticas artificiales) la tarde anterior a la mañana de la puesta y se les deja en ellos toda la noche sin comida (la cual invariablemente se pudriría elevando la concentración de amoníaco del agua). Cuando las luces de la instalación se enciendan, los progenitores iniciarán el cortejo y la puesta de huevos. Los huevos son más pesados que el agua, así que caerán atravesando el doble fondo



Figura 4

y yendo a parar a la parte inferior, donde pueden permanecer sanos y salvos hasta que los recojamos.

Puede ocurrir que al cruzar una pareja de peces que llevan muchas semanas separados, el valor de sus estímulos reproductores endógenos sea tan alto que con sólo añadirle la presencia del otro individuo como estímulo exógeno la suma de ambos supere el valor umbral desencadenante y se reproduzcan de inmediato. Estos peces se reproducirán esa misma tarde y se volverán a reproducir a la mañana siguiente, cuando las luces se enciendan. Nos encontraremos embriones de dos edades diferentes en la misma puesta. Si el experimentador necesita embriones de edad o estadio de desarrollo muy concretos, tenemos que evitarlo. Hay dos formas de lograrlo. La primera consiste en reproducir los peces regularmente cada semana o cada dos semanas para que los estímulos endógenos nunca alcancen niveles demasiado elevados. La segunda, más eficaz, consiste en dividir el acuario de reproducción mediante una placa transparente en dos mitades, en cada una de las cuales colocaremos un cónyuge, de manera que puedan verse, pero no tocarse. Los dejaremos así toda la noche y a la mañana siguiente, cuando ya las luces se hayan encendido, retiraremos la placa, añadiremos un chorro de agua fría y permitiremos que se reproduzcan. Este sistema es tan eficaz que incluso aunque se retire la placa tres horas después de que se hayan encendido las luces, hay una probabilidad muy elevada de que los peces se reproduzcan (dependiendo, eso sí, de la suma de sus estímulos externos e internos).

Como la reproducción depende del nivel de estímulos endógenos de los reproductores, hay cierta plasticidad en cuanto al número de estímulos exógenos necesarios. Conviene alimentar abundantemente a los reproductores con artemia el día del cruce; pero si esto no se hace, también es posible que se reproduzcan. Asimismo, puede haber puesta aunque no les añadamos agua fría o no coloquemos las plantas acuáticas artificiales. Todos estos detalles aumentan la probabilidad de que los peces pongan huevos, no la aseguran.

Los peces mantenidos separados por sexos durante varios meses no se reproducen, por regla general, cuando se los junta de nuevo. En parte esto se debe a que las hembras han acumulado tantos óvulos dentro de su organismo que se vuelven tan gordas que no pueden poner. En este caso, lo me-

yor es anestesiarse a la hembra con triclaína colocándola en una placa de Petri en la que se haya disuelto esta droga en el agua. Cuando la hembra esté dormida, se le darán suaves masajes con el dedo en dirección adelante – atrás (hacia la cloaca), hasta que haya salido la mayor cantidad posible de óvulos. Pero también suele ocurrir que los machos no cortejen sencillamente porque el comportamiento reproductor se haya atrofiado por falta de práctica. Por eso nuestro consejo es mantener ejemplares de ambos sexos en el mismo tanque si no tenemos pensado reproducirlos en un futuro inmediato, para que se vayan reproduciendo a medida que lo deseen (aunque se coman los huevos) y separarlos una semana antes de volver a reproducirlos sistemáticamente (para permitir que los estímulos endógenos para el cortejo se acumulen hasta un nivel adecuado).

La mejor manera de conseguir buenas puestas consiste en reproducir regularmente los mismos ejemplares: cada semana, cada dos semanas o cada tres semanas.

Se aumenta la probabilidad de que pongan alimentándolos abundantemente con nauplios de artemia el día de la puesta, además de su comida seca habitual. Nosotros les damos a los reproductores el día de la puesta dos veces comida seca (una por la mañana y otra por la tarde) y entre medias hasta cinco veces nauplios de artemia. Como los nauplios sobreviven varias horas en agua dulce, se les pueden dar en exceso y dejar que los peces vayan «picando».

Otro truco que da muy buen resultado consiste en añadir un chorro de agua fría al acuario de reproducción en el momento en que se retira la placa divisoria o bien a primera hora de la mañana, cuando se acaban de encender las luces. Esta agua fría es agua del mismo acuario en el que viven los peces que se mantiene toda la noche en una botella en la nevera, a 4° C. Se asocia un descenso brusco de la temperatura del agua de los peces con la aparición de una enfermedad llamada punto blanco. Esto ocurre ante descensos de la temperatura del agua muy prolongados, los cuales estresan a los peces hasta el extremo de hacerlos perder defensas. El chorro de agua fría que nosotros añadimos sólo produce un descenso de la temperatura momentáneo y jamás ha inducido punto blanco en nuestros ejemplares.

Los buenos reproductores han puesto ya todos los huevos unos 15 ó 20 minutos después del inicio del cortejo. Tras ese tiempo se los puede separar y recoger los huevos.

En cuanto al número de reproductores, se los puede reproducir por parejas, por tríos o en grupo.

Una forma de reproducir a los peces en grupo consiste en mantener varios ejemplares de ambos sexos en un acuario amplio y proporcionarles una orilla «artificial» consistente en introducir un acuario de reproducción (siempre y cuando sea notablemente más pequeño que el acuario principal) con plantas acuáticas artificiales en su interior. Los peces se meterán espontáneamente dentro de este pequeño acuario para reproducirse. Luego basta sacarlo y recoger los huevos. Algunos autores introducen cajitas de plástico inerte al agua llenas de gravilla dentro del acuario principal o placas de Petri llenas de canicas. Los peces ponen sus huevos en dichos lugares.

Lo más habitual es reproducir los peces por parejas. Se introduce un ejemplar de cada sexo en el acuario de reproducción por la tarde y, tras la puesta, a la mañana siguiente se los separa y se recogen los huevos. Nunca hay que dejar más tiempo a los ejemplares en el acuario de reproducción, pues, aunque no coman, defecarán la comida ingerida el día anterior y, dado el escaso volumen de agua del acuario de reproducción, se corre el peligro de que el amoníaco alcance niveles mortales para ellos.

Pero también se los puede reproducir por tríos. Estos tríos pueden estar formados por un macho y dos hembras o por dos machos y una hembra. Cada sistema tiene sus pros.

Si sabemos que determinados ejemplares son buenos ponedores, los podemos reproducir en tríos de un macho con dos hembras. De esta forma podremos conseguir más o menos el mismo número de huevos que criándolos por parejas, pero usando sólo la mitad de tanques de reproducción, con las ventajas en ahorro de tiempo que ello conlleva.

Si los peces no son buenos reproductores o nos interesa más que ponga el mayor número posible de hembras, aunque sea pocos huevos cada una, que el número total de huevos (por ejemplo, porque estamos seleccionando hembras dependiendo del fenotipo o el genotipo de los embriones), lo mejor

es hacer tríos de dos machos y una hembra. Al estar las hembras doblemente estimuladas, la probabilidad de que pongan aumenta.

En cuanto al número de huevos, esa aseveración tan difundida que afirma sin ambages que cada hembra pone doscientos huevos justos y exactos, es pura leyenda. El número de huevos depende del tamaño de la hembra. Los peces crecen durante toda su vida, así que una hembra vieja (de un año) pondrá más huevos que una joven sencillamente porque será mayor. Teóricamente, las hembras empiezan a poner huevos cuando alcanzan los 2.5 centímetros de longitud, pero pondrán pocos. Los valores que suelen darse oscilan entre los 50 huevos y los 3000 por puesta (nosotros nunca hemos visto una puesta de 3000 huevos, pero así consta en la bibliografía). El valor habitual oscila entre los 100 y los 300. Una hembra que ponga 100 huevos una vez a la semana es una hembra magnífica.

En una puesta típica se encuentra una mezcla de huevos vivos, huevos muertos (reconocibles por estar blancos) y excrementos. Hay que recogerlos y limpiarlos. Para recogerlos suelen usarse coladores de té. Se echan los huevos en el colador de té, se los lava con agua del acuario para que los excrementos atraviesen la rejilla y se los echa en una placa de Petri llena de agua del acuario. No obstante, el colador de té tiene el inconveniente de ser rígido, lo cual dificulta echar los huevos en la placa de Petri. Después de probar diversos artículos, los más satisfactorios resultaron ser los mismos salabres que se emplean para capturar a los peces adultos. Estos salabres han de ser de malla fina para que no dejen pasar los huevos. La ventaja es que son flexibles y reversibles, por lo que se puede echar los huevos en una placa de Petri llena de agua simplemente poniendo la red del revés. Ahora han de lavarse muy bien para eliminar cualquier huevo que se haya podido quedar enganchado y evitar que vaya a parar a otra puesta de otra línea, con lo que correríamos el peligro de mezclar huevos de líneas diferentes. Para evitar esto, lo mejor es tener un recipiente de agua con lejía o agua hipersalina para meter en ella los salabres y desinfectarlos.

El lavado de los huevos en el colador de té o el salabre elimina casi todos los excrementos, pero no los huevos muertos. Para retirarlos y dejar sólo huevos vivos, lo mejor es aspirarlos con una pipeta Pasteur de plástico.

Los huevos y los embriones se pueden mantener en placas de Petri durante los primeros cuatro días. Al cuarto día es cuando los alevines empiezan a alimentarse, así que habrá que trasladarlos a un acuario para que crezcan. Las mejores placas de Petri son las de 50 ml, porque son más profundas que las otras. Hay que procurar no echar más de 150 huevos por placa de Petri. Han de mantenerse a unos 25 ó 28° C, aunque temperaturas algo más bajas no los perjudican, simplemente retrasan el crecimiento. Todos los días hay que cambiarles el agua. El cambio más importante de todos es el que se realiza el día 1 (el siguiente a la puesta). Una de las desventajas del pez respecto al ratón es que jamás hay una supervivencia del 100% de los huevos. Hemos de contar con que algunos se morirán. Se reconoce a esos huevos muertos por estar blancos. Estos huevos se mueren dentro de las primeras 24 horas. Transcurrido ese tiempo, no tiene por qué morir ningún huevo más. La mañana siguiente a la de la puesta hemos de retirar esos huevos muertos aspirándolos con una pipeta Pasteur de plástico y cambiar el agua empleando siempre agua nueva del acuario. Como los huevos muertos estarán mezclados con los huevos vivos, una forma de facilitar nuestro trabajo consiste en dar un breve giro a la placa de Petri para que en su interior se forme un remolino. Este remolino crea una fuerza centrípeta que arrastra los huevos justo al centro; pero como los huevos muertos tienen menos densidad que los vivos, tienden a quedarse en la periferia, lo cual ayuda a discriminarlos y aspirarlos más fácilmente.

También es fácil que salgan hongos en el agua. Estos hongos forman un micelio que enlaza los distintos huevos entre sí como una tela de araña. Cuando se intenta aspirar un huevo muerto, se arrastran también cinco vivos. Si salen hongos, la mejor forma de combatirlos es añadir al agua una disolución de azul de metileno al 0.3% tras haber limpiado los huevos el día de la puesta. El azul de metileno no ayuda a que sobrevivan más huevos, sino a que no salgan hongos y así facilitar el cambio del día 1. Como es lucífugo, habrá que mantener los huevos esas primeras 24 horas en oscuridad. Tras estas primeras 24 horas, no es necesario volver a añadirlo.

Los alevines salen del huevo al segundo día tras la puesta, mas no salen todos a la vez. En el cambio de agua de segundo día nos encontraremos una mezcla de alevines que ya han salido del huevo jun-

to a otros que aún permanecen dentro de él, más cáscaras vacías. Habrá que aspirar las cáscaras vacías con la pipeta Pasteur cuidando de no aspirar ningún alevín.

En el cambio de agua del tercer día, ya han salido todos del huevo. La mejor forma de eliminar las cáscaras vacías que queden consiste en dar un giro a la placa de Petri, al igual que el primer día, para que se genere un remolino en su interior cuya fuerza centrípeta arrastre tanto a los alevines como a las cáscaras vacías al centro. Pero en cuanto se detiene el remolino, los alevines huyen nadando hasta los bordes de la placa de Petri, quedando las cáscaras vacías únicamente en el centro. Así se pueden retirar fácilmente.

Al cuarto día se desarrolla la vejiga natatoria y los alevines empiezan a nadar y alimentarse. Hay que trasladarlos a un tanque conectado al sistema para que crezcan. Para evitar perder alevines, este tanque ha de tener una rejilla en el conducto de salida del agua que impida el paso de los mismos. A los alevines les gusta permanecer justo bajo la superficie del agua, alimentándose de la comida en polvo, que flota. No les gustan las corrientes de agua porque les obligan a gastar un exceso de energía nadando a contracorriente. Por tanto, la corriente de agua en este tanque ha de ser suave y el extremo del conducto de entrada del agua ha de estar situado bajo la superficie de la misma con el objeto de impedir que la rompa. Lo ideal es que aunque exista una leve corriente en la mitad inferior del acuario, el agua de la superficie (donde se encuentran los alevines) permanezca quieta.

EL CUIDADO DE LOS ALEVINES Y LOS JUVENILES

El crecimiento de los alevines es diferencial: unos crecen más rápido que otros. Al décimo día de vida, algunos de los alevines ya han crecido lo bastante para empezar a comer nauplios de artemia en adición a su comida en polvo. Conviene, por tanto, empezar a echarles un par de veces al día algunos nauplios. Sabremos que se alimentan de ellos porque podremos ver su vientre transparente de color anaranjado.

Al decimoquinto día de vida, todos los alevines han crecido ya lo bastante para alimentarse de nauplios, así que conviene aumentar la dosis. Como los nauplios sobreviven varias horas en el agua dulce,

se les puede echar en exceso y dejar que se vayan alimentando de ellos en las horas siguientes.

Al vigésimo día de vida se les puede añadir a la comida en polvo y a los nauplios de artemia algo de comida seca en gránulos para peces jóvenes.

Al trigésimo día de vida, podemos dejar ya de darles la comida en polvo, pues todos ellos habrán crecido ya lo bastante para alimentarse de la comida en gránulos para peces jóvenes.

En algunas ocasiones, hemos observado un extraño fenómeno. En algunas puestas casi todos los peces se desarrollan como hembras y hay poquísimos machos. Esto puede llegar a ser un problema si se trata de una línea letal en homocigosis. Si es necesario conseguir heterocigotos de ambos sexos para conservar la línea, el que casi sólo aparezcan hembras puede causarnos un transtorno. Para resolver este problema, es necesario conocer cómo se determina el sexo en los danios cebra.

Esta especie no posee cromosomas sexuales y es proterogina no funcional (Maack y Segner 2003). Eso significa que los peces se desarrollan primero como hembras y luego (algunos) como machos, pero antes de que alcancen la madurez sexual.

A las dos semanas de vida ya se observan células germinales primordiales en el celoma dorsocaudal. Esas células se van a desarrollar, en principio, como ovarios. Ahora bien, entre las semanas quinta y undécima se observa que en algunos ejemplares esas células se deforman. Esta deformación se ha asociado con su transformación paulatina en testículos. Entre la séptima y la octava semanas de vida ya se observan primordios de testículos. A la undécima semana de vida ya pueden observarse auténticos testículos con espermatogonias, espermátocitos y espermatidas.

Esta transformación de ovarios en testículos puede observarse *in vivo* en el transgénico *vas::egfp*, el cual expresa la proteína fluorescente (EGFP) en los ovarios (Wang et al. 2007).

Maack y Segner (2003) no observaron relación entre la transformación de hembras a machos y el tamaño de los individuos. Pero Lawrence et al. (2006) sí la observan. Según estos autores, los alevines de esta especie mejor alimentados y que, por tanto, crecen más rápido, son siempre hembras;

mientras que aquellos otros peor alimentados serán la mitad machos y la mitad hembras. Tratan de explicar este fenómeno alegando que, como las hembras que ponen más huevos son las de mayor tamaño, si en la naturaleza hay un periodo de gran abundancia de alimento y los peces crecen mucho, les convendrá (empleando el repelente lenguaje sociobiológico) quedarse como hembras; mientras que si hay escasez de alimentos y no pueden alcanzar grandes tamaños, esto no tendrá tanta importancia y convendrá que haya más machos (porque como éstos no se pelean entre sí por las hembras, no necesitan ser lo mayores posible). Esta última afirmación entra en franca contradicción con la aseveración de Pyron (2003) según el cual las hembras prefieren aparearse con los machos de mayor tamaño. Pero dejemos este tema aparte a la espera de nuevas publicaciones que lo aclaren.

Los peces mantenidos a altas temperaturas se desarrollan casi exclusivamente como machos (Lawrence et al. 2006). Pero dado que esas temperaturas han de ser superiores a los 35° C, eso a nosotros no nos afectará.

En resumen, si sobrealimentamos a nuestros cebritas en cautividad, obtendremos casi exclusivamente hembras.

La cosa no se queda aquí. Nosotros hemos observado que las puestas en las que casi sólo aparecen hembras son aquellas que se han mantenido en baja densidad. Nos preguntamos si la densidad en la que se cuidan los peces también influirá en la determinación del sexo o esto se deberá que resulta inevitable sobrealimentar los tanques que alberguen un bajo número de ejemplares.

De hecho, nos conviene criar los peces a baja densidad, porque así crecerán antes que los mantenidos a densidad alta. Si la norma general consiste en empezar a reproducir los peces cuando tienen tres meses de edad, si vemos que crecen rápido podemos probar a empezar a criarlos a los dos meses y medio; a veces, algo antes.

En cambio, si se colocan demasiados alevines en el mismo tanque, la concentración de distintas hormonas que secretan al agua aumenta. Un exceso de concentración hormonal en el agua impide el crecimiento adecuado de los peces. Éstos se quedan enanos. Según parece, esto es un mecanismo evolutivo que permite la supervivencia de los

ejemplares en charcas pequeñas y sería hasta cierto punto un fenómeno análogo a los bonsáis.

La incompatibilidad es evidente: si cuidamos los peces durante su etapa de crecimiento a baja densidad, crecerán rápido y se harán grandes, pero sólo tendremos hembras. Si los cuidamos a alta densidad, habrá más o menos un cincuenta por ciento de machos, pero crecerán despacio e incluso es probable que se queden enanos.

La solución que nosotros proponemos para resolver este problema consiste en mantener los alevines a alta densidad hasta que cumplan las siete semanas de vida y su sexo esté ya determinado. A partir de esa fecha ya podremos separarlos y mantenerlos a baja densidad, dándoles alimento en abundancia, para que crezcan deprisa y alcancen en poco tiempo un buen tamaño.

Puede ocurrir que en las primeras puestas de una hembra todos los huevos estén muertos. Esto no es motivo de preocupación. Probablemente se deba a que en muchas especies la maduración de los instintos y la de los órganos va ligeramente desacompañada. Si el instinto de cortejo y puesta de huevos madura antes que el aparato genital, será normal que los huevos se mueran. Esto se corrige espontáneamente tras unas pocas puestas.

EL BIENESTAR

Una interesante cuestión es cómo saber que el pez se encuentra bien, que no sufre. Es evidente que no podemos preguntárselo. La respuesta es: observando su aspecto y su comportamiento. Un pez sano tendrá unos colores brillantes, aletas desplegadas, se mantendrá en posición horizontal en la columna de agua y al nadar no hará giros.

- El síntoma más evidente de que el pez no se encuentra bien es la **posición de las aletas**. Éstas han de permanecer desplegadas. Un pez con las aletas plegadas no está sano, aunque no muestre otros signos de enfermedad.
- Otro síntoma muy evidente es la natación. Si el pez nada haciendo trompos y giros sobre el eje longitudinal, es que tiene una infección bacteriana.
- Otro síntoma de infección bacteriana muy frecuente son las llagas sobre la piel. En

este caso, el sistema que usamos es el siguiente: colocamos el pez o peces que dentro del mismo tanque presenten llagas sobre la piel en un tanque muy limpio lo antes posible. Los peces enfermos están desganados, así que no suelen comer comida seca, por lo que se debilitan. Nosotros los alimentamos transitoriamente sólo con nauplios de artemia vivos. Esto los estimula a comer, con lo que ganan defensas. Haciéndolo así, al día siguiente ya se nota la mejoría, y al cabo de unos pocos días las llagas ya habrán desaparecido y podrá volver a juntárselos con sus compañeros.

- También es un síntoma muy claro el que permanezcan con las aletas plegadas posados en un rincón del acuario.
- Otro síntoma muy claro son los peces muy delgados y con el cuerpo deformado. La tuberculosis presenta estos síntomas, pero no hay que alarmarse. También pueden ser producidos por la capilariasis o una infección del digestivo.
- Otro síntoma es la hidropesía. La hidropesía es un síntoma de estrés consistente en un aumento de la presión de los fluidos internos del pez que hace que las escamas se queden «de punta». Los ingleses a esto lo llaman «piel de lagarto». El pez da la curiosa impresión de tener las escamas erizadas, como los pelos de los mamíferos y las plumas de las aves asustadas. Nosotros hemos detectado habitualmente hidropesía en tanques que por descuido se habían ensuciado mucho. Una vez limpio el tanque, al cabo de unas pocas horas la hidropesía ya ha desaparecido.
- Si notamos una gran cantidad de peces con la espalda deforme, posiblemente es que la alimentación que les estamos dando sea deficitaria en vitamina C.

El enriquecimiento

Los animales en cautividad disponen de muchos menos estímulos que los que viven en libertad. Un animal en libertad debe buscar comida, defenderse de los depredadores, etc. A un animal en cautividad ya se le proporciona la comida y se lo defiende de los depredadores. Además, en un animalario los parámetros medioambientales, tales como la temperatura, ya están controlados y suelen ser invariables.

Todo esto redundará en una pérdida de calidad de vida de los animales. Especialmente aquellos animales con capacidad para aburrirse, como los monos o los perros, pueden llegar a sufrir en una cautividad demasiado estricta.

Los animales menos inteligentes, como los peces, sufren menos debido a este motivo que los mamíferos.

Las técnicas de enriquecimiento medioambiental consisten básicamente en proporcionar a los animales estímulos desencadenantes de sus comportamientos instintivos. Un animal podrá desencadenar sobre un objeto un comportamiento instintivo concreto si ese objeto tiene en común con un desencadenante natural suficientes características como para mimetizarlo. En el caso de los peces, el enriquecimiento ambiental es especialmente importante en aquellas especies ligadas al sustrato, como los peces gato o los peces de arrecife. Un pez que en la naturaleza se encierra en la arena del fondo puede sufrir en cautividad si no se le proporciona arena para enterrarse. Los que viven en cuevas necesitan objetos con las suficientes características en común con una cueva para mimetizarla (por ejemplo, trozos de tubo cortados por la mitad, cáscaras de coco, ladrillos, etc.).

Los danios cebra son una especie poco ligada al sustrato. Una forma de enriquecimiento podría ser permitir un descenso nocturno de la temperatura del agua. No obstante, esto redundará en un crecimiento más lento de nuestros peces (Schaefer y Ryan 2006).

Las técnicas de enriquecimiento para esta especie están más bien relacionadas con la estructura social, la alimentación y la reproducción.

-La estructura social

Ya sabemos que el danio cebra es un pez que en la naturaleza vive en cardúmenes. La técnica de enriquecimiento más intuitiva consiste en mantenerlo en el mismo tanque con otros individuos de la misma especie.

A veces no queda más remedio que mantener ejemplares aislados en un tanque para genotiparlos, seleccionarlos o mantenerlos en cuarentena. Estos individuos aislados han de estarlo sólo de forma transitoria, nunca permanente, preferentemente en cubetas de paredes trasparentes anexas a otras cu-

betas llenas de peces para que, al menos, puedan verlos a través de las paredes.

En cardúmenes numerosos jamás se observan agresiones entre los distintos individuos. Solamente cuando se mantienen dos individuos aislados en un tanque puede uno de ellos acosar al otro. Si se da esta situación, lo mejor es separarlos y mantenerlos en tanques anexas a otros llenos de peces. Si resulta factible, una solución mejor consiste en introducir otros ejemplares en el mismo tanque. Entonces finalizan las agresiones. Ruhl y McRobert (2005) demostraron que las hembras prefieren los cardúmenes lo más grandes posible, independientemente de la composición sexual de los mismos, mientras que los machos prefieren los cardúmenes en los que haya hembras, independientemente del tamaño de los mismos. En cautividad no quedará más remedio que mantener en numerosas ocasiones los sexos separados. No obstante, siempre podremos colocar anexas los tanques con machos y hembras para que puedan verse mutuamente. Dado que se trata de una especie social, una alta densidad de peces dentro del tanque no ocasiona un problema psicológico a los mismos; pero sí puede ocasionar problemas prácticos al cuidador.

La principal ventaja de mantener a los peces en una alta densidad dentro del tanque estriba en el hecho de que, en general, se tiende a sobrealimentar a los animales y los restos de comida caen al fondo del tanque, donde se pudren. Los tanques con una alta densidad de peces se mantienen más limpios que aquéllos en los que hay una baja densidad porque los peces aprovechan mejor la comida.

La principal desventaja de mantener a los peces en una alta densidad dentro del tanque tiene dos vertientes: los peces jóvenes no crecen bien, como ya explicamos, porque la alta densidad hormonal en el agua lo impide; se quedan enanos y no se reproducen bien. En el caso de peces adultos, la probabilidad de que los individuos se transmitan unos a otros una enfermedad es mayor.

Con el sistema que empleamos en el CNB, consideramos que lo óptimo es mantener 10 ejemplares adultos en tanque de 2.5 litros y entre 20 y 30 ejemplares en los de 9 litros.

-La alimentación

Una cosa es que la alimentación sea nutritiva y otra diferente que sepa bien. La comida seca que se

le da a los peces resulta óptima desde el punto de vista nutricional, pero sospechamos que los peces sólo la comen por estar hambrientos, no porque realmente les guste. Cuando se proporciona comida viva o congelada a los animales, éstos se abalanzan sobre ella con notablemente más voracidad que sobre la comida seca. Una forma de enriquecer la alimentación de los peces consiste en darles golosinas en forma de comida viva o congelada. Esto resulta especialmente aconsejable en el caso de los reproductores. El aporte de comida viva o congelada los estimula para la reproducción. Estas golosinas no necesitan ser muy completas nutricionalmente; su función no es la nutrición, sino la estimulación. Nosotros les damos a todos nuestros peces en edad de crecimiento y a los adultos que vamos a reproducir esa tarde abundantes nauplios de artemia. Otras alternativas son: dafnia congelada, larva de mosquito congelada (en algunos países se ha introducido esta especie para combatir la malaria por ser grandes comedores de larvas de mosquito), artemia adulta congelada, gusanos tubífex congelados, etc. Lo importante es que las partículas de alimento sean lo suficientemente pequeñas para que los animales puedan tragarlas.

Recordemos además que en el estudio sobre la alimentación de esta especie en libertad McClure et al. descubrieron que el 91% del contenido estomacal de los ejemplares muestreados consistía en insectos, principalmente terrestres. Sería interesante probar a cultivar moscas del vinagre con alas atrofiadas como enriquecimiento para esta especie.

Dada la gran cantidad de huevos que ponen los danios cebra, es habitual que no se necesiten todos y sobren algunos. En este caso, pueden usarse los sobrantes para alimentar a los adultos. Esta especie es conocida por ser una gran devoradora de huevos, éstos son nutritivos y un buen alimento.

Otra posibilidad son las papillas caseras. Se puede hacer una papilla mezclando y triturando con una picadora de cocina o una batidora: gamba, mejillón, calamar y pescado de agua dulce, como trucha (por ser rico en ácido omega 6). Se divide en porciones pequeñas, las cuales se aplastan para formar una capa muy fina, se envuelven en papel de aluminio y se mantienen en el congelador. Para dárselo a los peces, se parte con los dedos una porción de tamaño adecuado, se deja que descongele y se le da a los animales. El único problema que tienen estas papillas caseras es que suelen ensuciar el

agua más que la comida seca, así que conviene retirar los restos sin comer.

-La reproducción

La mayor parte del enriquecimiento social de estos peces va ligado a la reproducción. No nos entenderemos, ya que ya hemos hablado de ello en el capítulo correspondiente. Tan sólo recordar que los desencadenantes que podemos emplear para estimular a nuestros animales son: alimentación abundante el día del cruce, luz del amanecer, acuario de reproducción de poca profundidad de agua, plantas acuáticas artificiales y, sobre todo, un chorro de agua fría.

Recordemos también que se puede inducir la reproducción introduciendo en un acuario en el que haya numerosos machos y hembras una placa de Petri llena de canicas, una cajita de plástico llena de canicas o gravilla o un pequeño acuario de reproducción que contenga plantas acuáticas de plástico.

EL MERCADO DE LOS PECES

A diferencia de los tejidos de los mamíferos, los tejidos de los peces regeneran si se los daña. Ello impide que se puedan marcar mediante agujeros, como se hace con los ratones. Si hiciésemos un agujero, por ejemplo, en una aleta, al cabo de menos de una semana ya no tendríamos agujero. Los peces no se marcan individualmente, se marcan los tanques en los que viven. Esto nos obliga a tomar una serie de precauciones para no confundir las estirpes: poner una etiqueta identificativa en todos los tanques de mantenimiento con peces. Poner una etiqueta identificativa en todos los tanques de reproducción con peces. Poner una etiqueta identificativa en todas las placas de Petri que contengan huevos o alevines. Jamás tener destapada más de una placa de Petri que contenga huevos o alevines al mismo tiempo.

Un acuario de cría de estos animales ha de prever tanques para poder alojar ejemplares individualmente. No obstante, conviene tener a estos individuos aislados el menor tiempo posible para evitar que se estresen. Estos tanques son para mantener en ellos a los peces transitoriamente (mientras se los genotipa o selecciona) no de forma habitual.

En general, a diferencia de lo que ocurre con los ratones, no resulta práctico individualizar a los pe-

ces, porque como ponen tantos huevos, en seguida tendremos cientos de ejemplares con el mismo genotipo. Lo habitual es mantener estos ejemplares con el mismo genotipo viviendo juntos en un tanque.

Cada cubeta ha de tener dos tipos de etiquetas: etiquetas de identificación y etiquetas de alimentación (figura 5).



Figura 5

Las etiquetas de identificación que nosotros usamos son etiquetas rectangulares blancas adhesivas de las empleadas habitualmente en oficina. En ellas se escribirán con tinta resistente al agua, como mínimo, el nombre de la estirpe y la fecha de nacimiento de los ejemplares. Si el tanque contiene sólo peces de un solo sexo, también se hará constar. Además, se puede incluir alguna aclaración, como el nombre del científico que trabaja con esa estirpe.

Como complemento a estas etiquetas identificativas, se puede llevar una base de datos en el ordenador.

Dado que esas etiquetas van pegadas a la parte frontal del tanque, han de ser pequeñas para poder ver a los ejemplares que haya en el interior. Por eso han de contener pocos datos. No resulta práctico, por ejemplo, incluir en las mismas si los peces son mutantes o transgénicos, pues eso ya lo sabe el investigador que trabaje con ellos y al técnico del animalario le da igual. Es mejor incluir ese dato en la base de datos.

Las etiquetas de alimentación que nosotros usamos son etiquetas circulares autoadhesivas de colores de las usadas comúnmente en oficinas. Cada

color simboliza una clase de comida. La persona encargada de alimentar a los peces simplemente ha de añadir en cada tanque la clase de comida que indiquen las etiquetas.

En nuestro caso, los colores son:

- Verde: comida en polvo para alevines
- Amarillo: poca artemia
- Rojo: mucha artemia
- Azul: comida en gránulos para peces jóvenes
- Blanco: comida en gránulos para peces adultos

Si un tanque tiene una etiqueta roja y otra blanca, cualquier persona sabrá que a esos peces hay que alimentarlos con comida seca para peces adultos más abundante artemia. Para facilitar la tarea, esas mismas etiquetas están pegadas en cada recipiente con comida. Además, hay hojas explicativas pegadas en las paredes de la habitación.

A medida que los alevines crecen, hay que cambiarles la comida. Por ello resulta muy práctico llevar una agenda en la que se apuntarán en qué fechas hay que cambiar las etiquetas de los tanques. Nosotros apuntamos todos estos datos el mismo día de la puesta.

Cuando se cruzan los peces, hay que escribir el nombre de la estirpe que se está cruzando en una etiqueta y pegarla al tanque de reproducción. Hay que hacer esto en todos los tanques de reproducción que se estén empleando. Asimismo, hay que pegar una etiqueta en la que se haga constar la estirpe y la fecha de nacimiento en cada placa de Petri que contenga huevos. Como lo más práctico es pegarlas sobre la tapa, nunca hay que tener más de una placa de Petri destapada al mismo tiempo, pues el riesgo de confundirse al colocarlas es muy alto. Estas placas de Petri pueden reutilizarse previo baño en una disolución de agua con lejía o agua hipersalina.

EL GENOTIPADO

Se puede genotipar muy fácilmente a los peces extrayendo DNA a partir de trozos de aleta o de embriones enteros. Hasta el momento, nosotros sólo hemos extraído DNA a partir de trozos de aleta.

Los danios cebra pertenecen a la clase de los actinopterigios. Esto significa que poseen aletas radiadas. Los radios tienen dos orígenes: algunos son de tejido óseo y otros de tejido cartilaginoso. Los primeros se caracterizan por ser duros y monorrámeos. Proporcionan rigidez a las aletas y suelen encontrarse en su parte delantera. Los segundos son birrámeos y blandos, proporcionan elasticidad a la aleta. Son los radios más abundantes. La forma más fácil de conseguir DNA es a partir de la aleta caudal. Simplemente se corta la aleta caudal hacia la mitad de su longitud, allí donde los radios cartilaginosos empiezan a bifurcarse. Esta zona carece de nervios, así que al pez no le duele; tampoco sangra y regenera en una semana. Los peces no dan muestras de sentirse molestos tras el corte de aleta caudal.

Vamos a explicar el protocolo que usamos nosotros, el cual permite cortar una buena cantidad de aletas en poco tiempo.

-Materiales

- una placa de Petri profunda
- un bisturí
- tricafina
- etiquetas y un rotulador
- unas pinzas
- tubos de plástico para echar en ellos el trozo de aleta cortado
- tanques individuales para albergar a los peces mientras se los genotipa

-Método

Se selecciona a los individuos que se va a genotipar. A cada uno se le debe dar un símbolo para reconocerlo (por ejemplo, un número o un código de letras y números). Se escriben esos símbolos en las etiquetas y se pega cada una en cada tanque que se vaya a usar para albergar a cada pez por separado. Se deja esos tanques sin tapa. Se escriben los mismos códigos en cada uno de los tubos en los que se vayan a meter los trozos de cola. También se los deja destapados y dispuestos en orden.

Se llena de agua la placa de Petri y se disuelve la tricafina en ella. Se traslada un número pequeño de peces (por ejemplo seis u ocho) a la placa de Petri y se le coloca la tapa.

Cuando los peces se hayan dormido (se quedan panza arriba), se quita la tapa a la placa de Petri, se la coloca sobre la mesa en la que estemos trabajado **con el borde hacia abajo**, con las pinzas se coge un pez por la aleta caudal, se lo saca sin miedo fuera del agua y se lo deposita en seco sobre la cara superior de la tapa de la placa de Petri. Se corta la aleta caudal del pez hacia la mitad de su longitud con el bisturí. Ahora tendremos sobre la tapa de la placa de Petri, por un lado el trozo de cola y, por otro, el resto del pez dormido. Se lleva todo sobre el tanque destapado que vaya a albergar a ese pez. Se inclina la tapa de la placa de Petri del lado en el que esté la cabeza del pez. El pez se deslizará sobre la misma y caerá al agua, donde se despertará al cabo de unos segundos. El trozo del cola, por el contrario, se quedará pegado a la tapa de la placa de Petri gracias a la tensión superficial generada por una gota de agua que siempre se forma. Se tapa el tanque con el pez y se conecta el sistema de circulación de agua. Con las pinzas se recoge el trozo de cola y se introducen en el tubo que tenga escrito el mismo código que el tanque en el que hemos echado el pez y se cierra.

Esta operación se repite por cada uno de los ejemplares.

El DNA se puede extraer usando un protocolo de extracción de DNA de colas de ratón. La PCR sale muy bien y la banda se ve muy clara.

EL ENVÍO DE PECES POR CORREO Y LA ACLIMATACIÓN

Lo más importante a la hora de enviar peces por correo es asegurarnos de que viajen, tanto en el avión como en los camiones de reparto, a la misma temperatura a la que van habitualmente las personas. Con eso basta para asegurarnos de que lleguen vivos a destino.

Para enviar huevos o alevines por correo pueden emplearse botellas de plástico de cultivos. Como la mayoría de los huevos se mueren antes de las 24 horas, conviene esperar ese tiempo para hacer el envío (lo óptimo es hacer el envío al segundo día tras la puesta). Los huevos se tratarán con lejía para evitar enviar con ellos parásitos siguiendo el protocolo habitual. Como los peces se quedan muy debilitados tras el tratamiento con lejía, no pueden eclosionar, no tienen fuerza, por lo que conviene añadir pronasa para disolver el corion.

La botella se llenará de agua hasta la mitad y en ella se depositarán los alevines. Para estar seguros de que no enviamos ningún parásito con los alevines, podemos usar medio de embriones o, mejor aún, agua del sistema ligeramente hervida en un microondas.

Con un rotulador de tinta inalterable se escribirá en la botella el nombre de la línea y la fecha de puesta de los huevos.

Esta botella se introducirá en una caja de porexpán con bolas en su interior para fijarla bien y evitar las sacudidas bruscas. La caja se cerrará con cinta aislante.

El transporte suele producir un retraso en el desarrollo de los embriones, porque pasan frío.

Si recibimos nosotros el envío debemos aclimatar a los alevines siguiendo los siguientes pasos:

Sacaremos la botella de la caja de porexpán, abriremos el tapón para que entre el oxígeno del aire e introduciremos la botella en el acuario para que vaya absorbiendo el calor del aire.

Poco a poco, añadiremos chorritos del agua de nuestro sistema en la botella para que los alevines se vayan acostumbrando paulatinamente a sus características físico-químicas.

Al cabo de una o dos horas, echaremos el contenido completo de la botella en uno de nuestros acuarios y conectaremos la circulación del agua a una intensidad baja.

Como los alevines tendrán un retraso en el desarrollo, no podemos fiarnos de la fecha de la puesta para empezar a alimentarlos; esperaremos a que floten bajo la superficie del agua, consideraremos que ese día es el número 4 tras la puesta y empezaremos a alimentarlos de forma habitual.

Para enviar a los adultos usaremos las bolsas de plástico que se emplean en las tiendas de acuariofilia. Esas bolsas son muy resistentes, impermeables, altas y estrechas para poder cerrarlas bien y no tienen esquinas en las que se puedan quedar atrapados los peces.

Se llena la bolsa de agua tan sólo una tercera o cuarta parte y se introducen los peces en ella. El

resto de la bolsa se llena con aire atmosférico o con oxígeno puro.

Siempre se aconseja, en la medida de lo posible, llenarla con oxígeno puro. Se coloca la boca de la espita de la bombona de oxígeno dentro de la bolsa, cerrándola bien con ésta. Se abre la llave y se deja que se llene de oxígeno hasta que la bolsa esté inflada. Se saca la espita del oxígeno, se cierra rápidamente la bolsa y se le dan varias vueltas con una goma elástica. Para asegurarnos de que no pierda agua, se le da la vuelta y se comprueba que no gotee.

Si no disponemos de oxígeno, habrá que llenarla con aire atmosférico. Se deja la bolsa de pie con la boca bien abierta. Con un movimiento veloz se cierra la boca de la bolsa lo más rápidamente posible y se le dan varias vueltas de goma elástica. Así quedará inflada de aire.

La bolsa también se mete en una caja de porexpán con bolas para que no reciba sacudidas.

Es muy importante mantener a los peces que se vayan a enviar el día anterior o los dos días anteriores al envío en ayunas para que no defequen dentro de la bolsa de viaje. Ello podría redundar en un aumento excesivo de amoniaco que mate a los peces.

Si el científico encargado del envío insiste en que hagamos el envío de inmediato, hay que negarse y esperar ese día o esos dos días de demora.

Si recibimos nosotros los peces, introduciremos la bolsa en el acuario para que vaya absorbiendo la temperatura del aire y echaremos pequeños chorros de agua de nuestro sistema para que los peces se acostumbren a las características de nuestra agua.

Habrá que introducir estos peces en un tanque de aclimatación, mal llamado de cuarentena, separado de la circulación general del agua, y comprobar que en los días siguientes los peces no desarrollen ninguna enfermedad antes de pasarlos al sistema definitivo. El objetivo de la aclimatación es acostumbrar a los nuevos peces a las características físico-químicas del agua del nuevo acuario y permitirles recuperarse del estrés del viaje.

Pese a lo que se diga en la literatura algo anticuada, no hay que mantener a los peces en el acuario de aclimatación a mayor temperatura de la usual

para que cualquier enfermedad que porten en estado latente se exprese ni hay que echar en el agua ningún medicamento preventivo.

FORMAS DE MATAR UN PEZ

El que los peces no chillen, no significa que no sufran ni sientan dolor. Al manipularlos siempre resulta aconsejable anestésiarlos con tricafina. Para ello se echa la tricafina en el agua en la dosis recomendada.

Una sobredosis de tricafina puede servir para matar a los peces de forma indolora.

El mismo efecto lo hace el frío. Los animales exotermos no reaccionan ante el frío como lo hacen los endotermos ni presentan sus mismas reacciones (por ejemplo, no tiritan). Simplemente, adaptan su temperatura interna a la externa y se quedan dormidos. Otra forma de anestésiar a los peces es mediante agua fría o hielo. Si la temperatura sigue descendiendo hasta el extremo de que afecte a sus órganos vitales, los animales morirán sin sufrir dolor.

También se los puede decapitar. Para ello primero habrá que anestésiarlos con tricafina o frío.

UNA JORNADA DIARIA

Las luces del acuario del Centro Nacional de Biotecnología se encienden a las nueve de la mañana. Yo llego poco después.

Lo primero que hago es comprobar en los monitores el pH y la salinidad del agua, y la presión en los distintos manómetros.

Después echo un chorro de agua fría en aquellos acuarios en los que hay peces reproduciéndose y retiro la placa separadora de plástico en caso de que se la haya colocado.

Tras eso, compruebo en mi agenda los cambios de etiquetas de alimentación que hay que hacer ese día.

Luego recojo los nauplios de artemia. Para ello retiro la piedra porosa, con lo que los nauplios se irán al fondo del artemiero y las cáscaras vacías a la superficie, abro la llave y dejo que las artemias cai-

gan poco a poco en un recipiente junto con su agua salada. Cuando ya han salido todas, limpio los restos de cáscaras vacías del artemiero con agua del grifo, echo en él de nuevo las artemias y pongo de nuevo la piedra porosa para que el agua circule.

Ahora doy de comer a los peces su comida seca. Tras ella, recojo algunos nauplios y los reparto entre los peces en crecimiento y los reproductores que vaya a poner por la tarde. El motivo por el cual les doy la comida seca en primer lugar y los nauplios en segundo, se debe a que a los peces los nauplios les gustan más que la comida seca. Así, primero comen la comida seca porque están hambrientos y en segundo lugar comen la artemia porque les estimula y les gusta. A lo largo del día alimentaré así varias veces a los animales en periodo de crecimiento y a los reproductores que vaya a usar ese día.

Lo siguiente consiste en supervisar uno a uno todos los acuarios y cambiar las rejillas protectoras que impiden que los peces se escapen que se hayan atorado de suciedad. Lavo las que he retirado con agua del grifo y las dejo unas horas en un recipiente lleno de agua con lejía o agua hipersalina. Después las lavaré bien con agua del grifo y las dejaré secando hasta que las necesite de nuevo.

Tras eso, devuelvo a los peces reproductores a sus tanques habituales, recojo los huevos que hayan puesto y los coloco en placas de Petri identificadas mediante etiquetas con el nombre de la estirpe de pez y la fecha. No más de 150 huevos por placa de Petri. Limpio esas placas de Petri retirando los excrementos y los huevos muertos (si es necesario añado azul de metileno y los tengo las primeras 24 horas en oscuridad para evitar el crecimiento de hongos) y también las de los nacimientos de los días anteriores, retirando los huevos muertos y cambiándoles el agua.

Ahora limpio los residuos sólidos pesados de los tanques aspirándolos con un sifón. Lo hago acuario por acuario y puede llevar un rato largo. Si hay algún pez muerto, lo retiro.

Tras eso, limpio completamente todos los tanques de una fila de las estanterías. Echo los peces en otro tanque, limpio todas las paredes y el suelo del tanque sucio empleando un pañuelo de papel (la ventaja de usar el pañuelo y no una esponja es que después de limpiar cada tanque el pañuelo va a la papelera, no se usa el mismo pañuelo para más de

un tanque, con lo que se reduce el riesgo de transmitir gérmenes entre unos y otros), lo aclaro con agua del grifo y vuelvo a echar los peces en él.

Tras esto, aprovecho para hacer trabajo de laboratorio, seleccionar peces, etc. Hasta después de la comida.

Por la tarde, a partir de las cuatro, alimento de nuevo a todos los peces, limpio las tapaderas de todos los tanques de los residuos de comida que se hayan podido quedar pegados, preparo los tanques de reproducción, coloco en ellos a los reproductores, superviso de nuevo los controles de pH y salinidad, cambio los prefiltros y los filtros de bolsa si es necesario, preparo las mezclas de agua con sal o agua con hidróxido sódico de los contenedores si hace falta y friego el suelo.

Así termina mi jornada con los peces.

BIBLIOGRAFÍA

Bone Q., Marshall N. B., Blaxter J. H. S.

Biology of fishes
Second edition
Blackie Academic and Professional, 1995

Carvalho, António Paulo, Araújo, Leonor, Santos, Miguel M.
Rearing zebrafish (*Danio rerio*) larvae without live food: evaluation of a commercial, a practical and a purified starter diet on larval performance
Aquaculture Research, 2006, 37, 1107-1111

Cho, C. Y., Bureau, D. P.

A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture
Aquaculture Research, 2001, 32 (Suppl. 1), 349-360

Craig, Steven, Helfrich, Louis A.

Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding
Virginia Cooperative Extension
Publication 420-256 (2002)

Esteban, Jaime, Mitjana, Olga, Josa, Agustín, Espinosa, Emilio

La Artemia. Zooplancton de uso en acuariofilia
Acuario Práctico, 2000 (?) 48-53

Ford, David

Bacterias
Acuario Práctico, 1: 69-73
Neagary Press, 1996

Ford, David

Maravillosa, maravillosa agua
Acuario Práctico, 3: 68-72
Neagary Press, 1996

Francis-Floyd, Ruth

Fish Nutrition
VM114. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
First published. March 12, 2002.
<http://edis.ifas.ufl.edu>

Garvía, Ángel

Dime qué les das de comer y te diré de qué enferman
Acuario Práctico, 6: 44 – 47
Neagari Press, 1997

Kardong, Kenneth V.

Vertebrados. Anatomía comparada, función, evolución
McGraw-Hill/interamericana de España, S.A.U.
1999

Las Heras, Jorge

El agua para discos
Acuario Práctico, 54: 28-35
MC ediciones, 2006

Lawrence, Christian, Ebersole, John P., Kesseli, Richard V.

Rapid growth and out-crossing promote female development in zebrafish (*Danio rerio*)
Environ Biol Fish (2006)
DOI 10.1007/s10641-007-9195-8

Maack, G., Segner, H.

Morphological development of the gonads in zebrafish
Journal of Fish Biology (2003) 62, 895-906

McClure, M. M., McIntyre, P. B., McCune, A. R.

Notes on the natural diet and habitat of eight danionin fishes, including the zebrafish *Danio rerio*
Journal of Fish Biology (2006) 69, 553-570

Miles, R.D., Chapman, F.A.

The Benefits of Fish Meal in Aquaculture Diets FA122. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

First published. May, 2006.

<http://edis.ifas.ufl.edu>

Moretz, Jason A., Martins, Emília P., Robison, Barrie D.

The effects of early and adult social environment on zebrafish (*Danio rerio*) behaviour

Environ Biol Fish (2006)

DOI 10.1007/s10641-006-9122-4

Nüsslein-Volhard, Christiane, Dahm, Ralf

Zebrafish

Practical Approach

Oxford University Press, 2002

Prodocimo, V. y C.A. Freire. 2001

Critical thermal maxima and minima of the platyfish *Xiphophorus maculatus* Günther (Poeciliidae, Cyprinodontiformes) – a tropical species of ornamental freshwater fish. *Revista brasileira de Biologia* 18 (Suppl. 1): 97-106

Pyron, M.

Female preferences and male-male interactions in zebrafish (*Danio rerio*)

Can. J. Zool. 81: 122-125 (2003)

Ramseyer, Laurel J., Garling, Donald L.

Fish nutrition and aquaculture waste management

Department of Fisheries and Wildlife

Michigan State University

Royes, Juli-Anne B., Chapman, Frank A.

Preparing Your Own Fish Feeds

Circular 97. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. First published: February 2003.

<http://edis.ifas.ufl.edu>

Ruhl, N., McRobert, S. P.

The effect of sex and shoal size on shoaling behaviour in *Danio rerio*

Journal of Fish Biology (2005) 67, 1318-1326

Schaefer, J., Ryan, A.

Developmental plasticity in the thermal tolerance of zebrafish *Danio rerio*

Journal of Fish Biology (2006) 69, 722-734

Spence, R., Fatema, M. K., Reichard, M., Huq, K. A., Wahab, M. A., Ahmed, Z. F., Smith, C.

The distribution and habitat preferences of the zebrafish in Bangladesh

Journal of Fish Biology (2006) 69, 1435-1448

Spence, Rowena, Smith, Carl

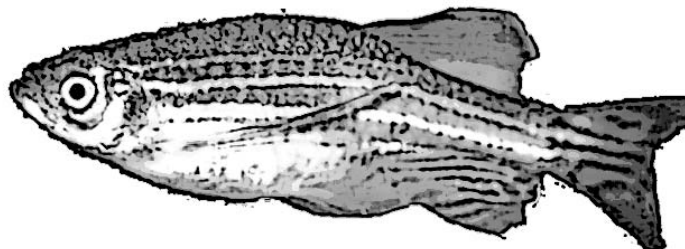
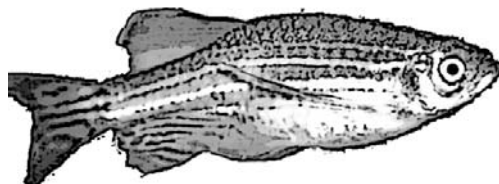
The role of early learning in determining shoaling preferences based on visual cues in the zebrafish, *Danio rerio*

Ethology 113 (2007) 62-67

Wang, X. G., Bartfai, R., Sleptsova-Freidrich, I., Orban, L.

The timing and extent of 'juvenile ovary' phase are highly variable during zebrafish testis differentiation

Journal of Fish Biology (2007) 70 (Supplement A), 33-44



3 VARIOS

INSTALACIONES DE ZEBRA FISH UBICADAS EN EL ANIMALARIO DEL PARC RECERCA BIOMÉDICA DE BARCELONA (PRBB)

Juan Martín-Caballero DVM, PhD.

*Director of Laboratory Animal Units. Barcelona Biomedical Research Park
Doctor Aiguader, 88. 08003 Barcelona. Spain*



sistema principal de zebrafish. Se puede observar la disposición de los tanques, los tanques colectores abajo y el filtro biológico (lecho fluido de arena) a la derecha.



Sistema de dosificación de químicos en el sistema de zebrafish, que consta de sondas, tanques dosificadores y bombas pulsátiles, que permiten el ajuste automático de los parámetros.



Pasillo de servicio del sistema principal de zebrafish. Al fondo se puede observar las unidades de ósmosis inversa que renuevan el agua diariamente, asegurando la calidad del agua.

4 WEB

Legislación, CEEA

VALORACIÓN DE LA WEB "ZEBRAFISH INFORMATION NETWORK"

[HTTP://ZFIN.ORG](http://ZFIN.ORG)

*Revisión página web:
Isabel C. Rollán Delgado
(CABD)*

El Dr. George Streisinger, científico de la Universidad de Oregon, decidió emplear al pez cebra en estudios de genética y desarrollo de vertebrados a principios de los años setenta.. A pesar de que, de forma tradicional se vienen utilizando otros organismos, son varias las razones que hacen de *zebrafish* un modelo ideal:

- Como es un vertebrado está más relacionado con los humanos que otros modelos generalmente utilizados (*Caenorhabditis*, *Drosophila*, etc). Los modelos invertebrados son válidos en comparaciones a nivel celular o bioquímico.
- Fácil mantenimiento, manipulación (experimentos de trasplante) y observación.
- Las hembras ponen gran cantidad de huevos (importante en estudios genéticos).
- Los embriones son transparentes, se desarrollan con rapidez y contienen menor cantidad de células en comparación con otros embriones de vertebrados, con lo que es muy fácil rastrear el desarrollo de células individuales.

Debido a que en los últimos años ha aumentado notablemente el interés por utilizar este modelo (ya sea de forma exclusiva o como modelo parale-

lo), surge la necesidad de crear una herramienta, acorde con la tecnología actual, que sirva como vehículo de intercambio de información entre los profesionales del sector. Bajo esta idea nace en 1994 ZFIN; a raíz de un congreso sobre genética y desarrollo en *zebrafish* (Puerto de Cold Spring). ZFIN es una base de datos *on-line*, y entre sus objetivos destacan los siguientes:

- Convertirse en una base de datos de uso general para los laboratorios que utilizan a *zebrafish* como modelo.
- Apoyar y desarrollar información relativa a este modelo (en cuanto a genética, genómica y desarrollo se refiere).
- Mantener información actualizada, pues sólo así puede ser un instrumento eficaz para científicos y técnicos.
- Relacionar la información disponible con la existente en otras bases de datos de diferentes organismos modelos (incluyendo también al hombre).
- Facilitar el uso de *zebrafish* como modelo para el estudio de la biología humana.
- Satisfacer las necesidades de la comunidad científica (recopilando la información que a veces resulta tan dispersa).

De entre todas las posibilidades que ofrece, las más llamativas y por consiguiente, las más valoradas por los científicos son:

- La disponibilidad de datos relativos a: mutantes, genes, líneas concretas, etc.
- La posibilidad de consultar on-line un manual bastante completo sobre el uso de *zebrafish*.
- La posibilidad de localizar publicaciones muy diversas relativas a *zebrafish*.
- El poder contactar vía mail con profesionales de la materia.

En estrecha colaboración con ZFIN trabaja el ZIRC (*Zebrafish International Resource Center*) fundado por el Instituto Nacional de Salud. El ZIRC facilita, entre otras cosas, la consulta de especies existentes (ya sean “wild type” o mutantes y da una idea de cómo conseguir las) y servicios para el control del estado sanitario de una instalación... además de proporcionar información interesante relacionada con dicho modelo. Otra de las aportaciones más relevantes es la del propio Instituto Sanger, en Cambridge, encargado de la secuenciación del genoma de *zebrafish*.

La base de datos se actualiza diariamente (literatura diversa, publicaciones, contactos con empresas distribuidoras de productos de interés...). A pesar de que haya personal dedicado específicamente a esta cuestión, se insta a los laboratorios a que, por medio de una persona responsable, contribuyan a esas actualizaciones periódicamente. Para ello disponen de una clave de acceso que han de solicitar al responsable de la gestión de la web.

En el marco central de la página, aparecen los siguientes apartados:

- **Mutants/Transgenics:** para la búsqueda de mutaciones y líneas transgénicas en base al nombre de un gen así como su localización en el mapa o fenotipo.
- **Wild-Type stocks:** listado con las líneas silvestres del pez cebra así como una breve descripción.
- **Genes/Markers/Clones:** búsqueda de genes, marcadores, clones, número de acceso, LG, secuencia tipo, etc.
- **Gene Expression:** búsqueda de: patrones de expresión por el nombre de un gen, es-

tao del desarrollo, estructura anatómica, etc. Este es quizás uno de los apartados más llamativos por la cantidad de figuras que muestran y por la información disponible para un gen en concreto. Algunos de los apartados mencionados con anterioridad conducen básicamente al mismo sitio.

- **BLAST:** alineación de secuencias y comparación de la base de datos ZFIN con otras bases de datos relacionadas con *zebrafish*.
- **Publications:** búsqueda de publicaciones por autor, título, palabras clave....
- **People/Laboratories:** laboratorios y personas de contacto relacionadas con la investigación en este modelo.
- **Companies:** búsqueda de compañías que distribuyen o fabrican acuarios, filtros, sistemas de ósmosis reversa, etc.
- **Buscador:** que dirige de manera directa a la cuestión planteada.

Dentro de una serie de categorías más amplias, se pueden localizar información referente a: ofertas de trabajo, jornadas, cursos y congresos, un foro de discusión (donde se intercambian opiniones, protocolos, técnicas, novedades, etc.), referencia a otras bases de datos de peces diferentes a *zebrafish* utilizados en investigación, enlaces a multitud de glosarios on-line; algunos de ellos muy interesantes (*The Zebrafish Anatomical Dictionary*, *The Zebrafish Developmental Staging Series*, *The Glossary of Genetic Terms*)...y así con otros tantos links de interés.

Mención especial merece el Atlas del desarrollo en el que se muestra la anatomía del individuo en distintos estadios (24, 48, 72 y 120 horas). Por cada etapa se muestran una serie de cortes longitudinales y transversales con mención a las estructuras más relevantes. También se indican criterios para clasificar a un embrión en su estadio correspondiente así como un clip de película bastante didáctico, etc.

Así mismo debe destacarse el enlace que dirige al manual por excelencia de *zebrafish*: The Zebrafish Book (M. Westerfield). Este manual muestra una variedad de consejos prácticos tanto a nivel de mantenimiento de la especie como de: preparaciones histológicas, métodos genéticos y moleculares, recetas de los medios más utilizados...

Otro de los enlaces más interesantes, quizás por su originalidad, es el **Zebrafish K-12** en el que, además de una serie de recomendaciones, se ofrece un tutorial bastante completo acerca de la designación de: alelos mutantes (*Zebrafish Nomenclature Guidelines*), nomenclatura de genes o búsqueda de líneas existentes. Otro de los apartados destaca, por lo curioso de su temática, ya que muestra tests de autoevaluación para poner de manifiesto los conocimientos adquiridos. El **Zebrafish K-12** enlaza con páginas infantiles que quién sabe si contribuirán a despertar la curiosidad de los “investigadores del mañana”.

Además de las publicaciones procedentes de otras fuentes, ZFIN ofrece propia una publicación

bianual (una en invierno y otra en verano) con contenidos de lo más diverso.

Quizás se encuentra a faltar más participación española en el foro puesto que, aunque sean relativamente pocos los laboratorios en España que estén trabajando con este modelo, es evidente que no están todos los que son. Desde aquí animo a participar a todos aquellos que aún no lo ha hecho, porque así la información tendrá una mayor cobertura.

En cuanto a valoración personal: muy positiva, ya que pocas veces se puede encontrar páginas tan completas sin que, a la vez, resulten demasiado farragosas.

LEGISLACIÓN

Revisión legislación:

Rosa Morales

La autora revisa la legislación relacionada con el anteproyecto de “ley de Bienestar de los animales de producción y de los utilizados para experimentación y otros fines científicos”

ANTEPROYECTO DE “LEY DE BIENESTAR DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN Y DE LOS UTILIZADOS PARA EXPERIMENTACIÓN Y OTROS FINES CIENTÍFICOS”

Este título, que corresponde a las primeras propuestas que se hicieron de este documento y que tras sus numerosas lecturas, acuerdos y discusiones, el citado Anteproyecto aprobado recientemente (febrero) por la Mesa de la Cámara del Congreso de los Diputados, se denomina actualmente : “Proyecto de Ley de normas básicas sobre explotación, transporte, experimentación y sacrificio para el cuidado de los animales”

Su estructura consta de : Exposición de motivos, Título preliminar, Título I y Título II dividido este en tres capítulos, una disposición adicional y seis disposiciones finales.

La filosofía de la exposición de motivos hace referencia a todos los antecedentes sobre el tema, por un lado intentando equilibrar posturas que han ido cambiando con los tiempos, ya no pensamos solo en suministrar alimentos en cantidad suficiente, sino que sean de calidad y a buen precio, también pretendemos que se compagine con condiciones adecuadas de mantenimiento y bienestar de los animales teniendo en cuenta su condición de seres vivos sensibles.

Se debe conseguir por lo tanto un equilibrio entre las demandas de la sociedad y los aspectos inherentes a la actividad ganadera. Las normas sobre bienestar animal tienen no solo una repercusión social, también una económica muy importante.

Todas las obligaciones en lo referente a los animales derivan de la legislación en piensos y alimentos, normativa sobre salud animal y bienestar

animal, protección durante el transporte, normas mínimas para la protección de terneros, normas mínimas para la protección de cerdos, protección de los animales en las explotaciones ganaderas, normas mínimas para la protección de gallinas ponedoras, protección de los animales en el momento del sacrificio, la relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.....todas estas obligaciones previstas en las Directivas a las que se hace referencia, se han ido incorporando a nuestro ordenamiento jurídico para su cumplimiento, a diferencia de los Reglamentos que han sido de aplicación inmediata, desde el año 1994 progresivamente en ocho normas estatales.

Pero en cualquiera de ellas existe una “laguna” que se resolverá por medio de esta Ley y que la Unión Europea establece de forma clara: la obligación de regular el régimen sancionador por incumplimiento de las normativas de bienestar animal, así pues quedará completa la normativa nacional existente.

¿CUÁL ES EL OBJETO DE LA LEY?

“Establecer las normas básicas sobre explotación, transporte, experimentación y sacrificio para el cuidado de los animales y un régimen común de infracciones y sanciones para garantizar su cumplimiento.

Regular la potestad sancionadora de la Administración General del Estado sobre la exportación e importación de animales desde o hacia los Estados no miembros de la Unión Europea en los que respecta a su atención y cuidado y sobre los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en procedimientos de su competencia.”

El Título I regula los aspectos más importantes sobre explotación, transporte de los animales su sacrificio o matanza, concreta también las actividades que necesitan autorización administrativa o notificación previa a la Administración competente. (sacrificio de animales por ritos religiosos).

El Título II en sus tres capítulos, establece las normas generales sobre las inspecciones y controles, régimen del personal inspector y las obligacio-

nes de la inspección. Se hace referencia también a las infracciones y sanciones que las tipifica en muy graves, graves y leves, por incumplimiento en la materia correspondiente, en cuanto a las sanciones se establece su contenido sancionador mínimo. Y finalmente se regula la potestad sancionadora de la Administración General del Estado.

Las cuantías de las sanciones hacen referencia a :

- En el caso de las infracciones muy graves, se aplicará una multa de al menos 6.001 euros.
- En el caso de las infracciones graves, se aplicará una multa de al menos 601 euros.
- Y en el caso de las infracciones leves, se aplicará una sanción de multa o apercibimiento.

EN LO REFERENTE A EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.-

Los fines, así como las definiciones a que hace referencia son textuales del RD vigente (1201/2005), respecto a los centros o establecimientos destinados a la cría, suministro o uso de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, incluida la docencia, señala:

“deben estar autorizados o inscritos en el correspondiente registro administrativo, con carácter previo al inicio de su actividad. La inscripción se exigirá en todo caso a las autoridades o centros universitarios.”

En el caso de las infracciones, clasifica dentro de las muy graves “Provocar, facilitar o permitir la salida de los animales de experimentación u otros fines científicos del centro o establecimiento, sin autorización por escrito del responsable del mismo, cuando de lugar a la muerte del animal o cree un riesgo grave para la salud pública”

Entre las infracciones graves “ Realizar cualquiera de las actividades reguladas en esta Ley sin contar con la autorización administrativa o la inspección registral exigible según las normas de la Protección animal aplicables”

“Utilizar perros y gatos vagabundos en procedimientos”.

También hay sanciones accesorias que incluyen “El cese o interrupción de la actividad” y “Clausura o cierre de establecimientos”

Y PARA EL FINAL LA DISPOSICIÓN FINAL QUINTA.-

Reconocimiento de la formación de los investigadores en centros que utilicen animales para experimentación u otros fines científicos.

“ El Ministerio de Educación y Ciencia establecerá en el plazo de dos meses desde la entrada en vigor de esta Ley, un procedimiento excepcional

para acreditar que los investigadores que posean la formación y experiencia adecuada para la experimentación con animales. La aplicación de este procedimiento se extenderá hasta un año después de la entrada en vigor de la Ley.”

Solo me queda decir que tendremos que estar muy atentos a este sorprendente “procedimiento excepcional para acreditar” no os parece? De cualquier forma todavía puede haber modificaciones, aún faltan trámites para llegar al final.



V ENCUENTRO DE LOS COMITÉS DE ÉTICA DE LAS UNIVERSIDADES ESPAÑOLAS

CEEA:

J. Guinea y T. Rodrigo
Universitat de Barcelona

Jordi Guinea es Secretario del Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Barcelona

Los pasados 30 de noviembre y 1 de diciembre de 2006 se celebró en la Biblioteca de Humanidades Maria Moliner de la Universidad de Zaragoza el V Encuentro de los Comités de Ética de las Universidades Españolas. La inauguración de las Jornadas fue a cargo del Excmo. Sr. D. Felipe Pétriz Calvo, Rector de la Universidad de Zaragoza y de la Excm. Sra. Dña. Luisa María Noeno Ceamanos, Consejera del Departamento de Salud y Consumo del Gobierno de Aragón. En su intervención, ambos coincidieron en la importancia que tienen, especialmente para el avance y progreso de la biomedicina, la experimentación animal y la investigación con muestras de procedencia humana. Sin embargo, también remarcaron que todo ello debe realizarse, de cara a la sociedad, con la mayor transparencia y

con un uso ético tanto de los animales de experimentación como de los tejidos de procedencia humana.

La conferencia inaugural titulada: Compromiso ético: Bancos de cordón umbilical situación actual, la llevó a cabo el Dr. Joan García López, Director del Programa de Cordón Umbilical del Banco de Sangre y Tejidos de Barcelona. El Dr. García explicó como nació el programa que él dirige y el importante crecimiento y desarrollo que ha tenido en los últimos años. También comentó algunos de los principales procesos y aplicaciones que se derivan de una estructura de este tipo como la obtención de las famosas células madre. Finalmente, habló de la gran potencialidad y recursos que pueden ofrecer en

el futuro los bancos cordones umbilicales y de tejidos en la investigación relacionada con la salud.

A continuación, y como viene siendo habitual en estas jornadas, se prosiguió con una mesa redonda, en esta ocasión dedicada a los organismos modificados genéticamente. La primera ponencia con la que se inició la mesa la realizó el Dr. Pere Puigdoménech, investigador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, el cual habló de los OMG's en experimentación con vegetales. El Dr. Puigdoménech comentó que en los vegetales las modificaciones genéticas tienen un origen muy antiguo. La gran mayoría de vegetales cultivados proceden de variedades salvajes que han sido seleccionadas de manera artificial por el hombre sin que éste fuera, en la mayor parte de las ocasiones, consciente de lo que esto implicaba a nivel genético. Más recientemente y gracias a las técnicas desarrolladas por la ingeniería genética, se ha potenciado esta manipulación en busca de objetivos concretos. Uno de los casos más conocidos fue la obtención del "golden rice", arroz capaz de producir vitamina C, de cara a combatir el escorbuto en poblaciones en las que esta patología es endémica. Actualmente se sigue investigando para obtener nuevas variedades que sean más productivas y más resistentes a enfermedades y plagas entre otros objetivos. No obstante, la proliferación de vegetales transgénicos destinados al consumo animal y humano ha suscitado recelo en algunos sectores de la sociedad. Es importante que tanto los científicos como las administraciones informen, regulen y controlen este tipo de productos. La segunda ponencia fue presentada por el Dr. Lluís Montoliu del Centro Nacional de Biotecnología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en este caso trató de los OMG's en experimentación animal. En



el mundo animal la situación es mucho más limitada que en el Vegetal y el Dr. Montoliu centró su exposición en los ratones, que hoy por hoy son los animales que más se utilizan y de los que ya existen varios miles de modificaciones. A continuación explicó brevemente cuales son las principales técnicas para su obtención y luego presentó algunos trabajos científicos basados en estos animales. Finalmente, la tercera ponencia versó sobre el registro de los centros y bioseguridad de la mano de la Dra. Lucía Roda Ghisleri, miembro de la Comisión Nacional de Bioseguridad del Ministerio de Medio Ambiente. La Dra. Roda hizo énfasis en la importancia de las medidas de bioseguridad que se requieren cuando se trabaja con este tipo de organismos y de la necesidad de utilizar protocolos de trabajo bien definidos así como de las medidas de contención, mostrando una especial preocupación por la liberación accidental de OMG's al medio ambiente. También insistió en la necesidad de controlar y regular el uso de estos organismos. A tal efecto, La Dra. Roda instó a los asistentes a que las instituciones en las que se realizan actividades con OMG's registren en las administraciones competentes sus centros y los distintos modelos que emplean, ardua tarea tanto para los investigadores, las instituciones y las administraciones que no por ello debe ser obviada.

Después del almuerzo y siguiendo el programa de las jornadas, los participantes se distribuyeron en seis grupos de trabajo:

- **Situación actual en España del proteccionismo radical. Actitudes en contra del uso de animales en el aprendizaje en investigación y docencia.** Moderado por el Dr. Xavier Cañas Perea, Presidente del Comité Ético de Experimentación Animal del Parc Científic de Barcelona y por mi mismo. En este grupo se abordó entre otros aspectos la gran desinformación de la sociedad sobre la experimentación animal; el desamparo de los profesionales de este sector frente a actos vandálicos perpetrados en ciertas ocasiones por alumnos de las propias universidades; la necesidad de los centros educativos de replantearse los contenidos de las titulaciones experimentales que emplean animales vivos en su docencia y el sensacionalismo y falta de objetividad de algunos medios de comunicación en relación a la experimentación con animales.

- **Formación en ética para la investigación y experimentación con humanos.** Moderado por el Dr. Antoni Vallès Segales, Vicerrector de la Universidad de Barcelona y miembro de la Comisión de Bioética de la Universidad de Barcelona. En este grupo se planteó el promover que en las páginas web de los comités se incluyan documentos, protocolos y textos formativos; el asesorar a los investigadores para que su actividad se adecue a las exigencias de la bioética; la realización de cursos específicos sobre ética en la investigación y la recomendación de que en los masters de las universidades se introduzca un módulo de formación en ética homologable entre universidades.
- **Formación en ética para la investigación y experimentación con animales.** Moderado por la Dra. Carmen Fernández Criado, Directora del Gabinete Veterinario de la Universidad Autónoma de Madrid. En este grupo se denunció la falta de formación ética en las titulaciones de grado universitario y se propuso la inclusión de esta disciplina en las licenciaturas así como la incorporación de la formación legalmente exigida en los post grados relacionados con los animales de laboratorio.
- **Análisis de las cuestiones que atañen a los diferentes Comités Éticos en la ley de Biomedicina y relaciones entre comités éticos: presente y futuro.** Este grupo surgió de la fusión de otros dos y fue moderado conjuntamente por el Dr. Agustín Zapata González, Subdirector General de Terapia Celular y Medicina Regenerativa del Instituto Carlos III, el Dr. Rogelio Altisent Trota, Presidente de la Comisión Deontológica del Consejo General de Colegios de Médicos, el Dr. César Loris Pablo, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón y el Dr. Jesús Magdalena Belio, Miembro del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón. Entre las principales conclusiones de este grupo cabe destacar: la necesidad de la existencia de Comités Éticos de Investigación en aquellos centros que se dedican a esta actividad; la unificación con comités ya existentes y su compatibilización con los Comités de Experimentación Animal y de

Organismos Genéticamente Modificados; la necesidad de asegurar desde la Administración Central y las Administraciones Autonómicas la asignación de recursos materiales y humanos para el correcto funcionamiento de los Comités y el que los Comités Éticos de Investigación asesoren a los investigadores en los aspectos normativos además de cumplir con sus funciones éticas y legales.

- **La ética en la comunicación de los resultados científicos.** Moderado por la Dra. Mónica Torrijos Tejada, Responsable de seguimiento de ensayos clínicos de Aragón y el Dr. Anselmo López Cabañas Responsable de Apoyo Metodológico del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. En este grupo se debatió sobre la transparencia en el proceso científico abogando por un mejor conocimiento y acceso a los resultados de las investigaciones, tanto positivos como negativos; una independencia del origen de la financiación en los aspectos éticos de la comunicación de los resultados y una función formativa de los investigadores, no solo evaluadora, con el fin de potenciar una "cultura ética".
- **Interfase entre estudios humano-animal. Ética de la Experimentación Animal aplicada a la formación e investigación en medicina humana.** Moderado por el Dr. José Ramón Morandeira García, Director del Servicio de Biomedicina y Biomateriales de la Universidad de Zaragoza y la Dra. Cristina Pastor Oliver Profesora del Departamento de Cirugía, Ginecología y Obstetricia de la Universidad de Zaragoza. Después del debate, este grupo propuso que en la evaluación de los proyectos clínicos esté siempre presente la figura del asesor clínico; que en los proyectos de formación D + I sea el Comité de Ética del centro el responsable del mismo y en el marco de un proyecto de investigación con animales no tenga por qué ser la misma persona el investigador principal del mismo y el investigador responsable de los procedimientos con animales, debiendo estar, éste último, debidamente homologado por la autoridad competente.

Las conclusiones completas de los grupos de trabajo estarán disponibles en breve en la página web de la Red de Comités de Ética de las Universidades Españolas (<http://www.ub.es/rceue/>).

La siguiente jornada se inició con la conferencia de clausura titulada: Reflexión Ética sobre los retos actuales de la investigación, a cargo del Dr. Diego Gracia Guillén, Director del Master de Bioética de la Universidad Complutense de Madrid. El Dr. Gracia hizo una excelente revisión de la relación del hombre con los animales, bajo el prisma de la ética, desde el modelo clásico de Aristóteles, pasando por Santo Tomás de Aquino, Kant o la corriente del “emotivismo” hasta las tendencias proteccionistas con Tom Regan como uno de sus mayores exponentes.

Tras la exposición de las conclusiones de los grupos de trabajo, el Dr. Albert Royes Qui, Secretario de la Comisión de Bioética de la Universidad de Barcelona, presentó la ponencia: La Red de los Comités de Ética, un año de andadura. Reflexiones de cinco años de Encuentros, con la que concluyó la jornada. El Dr. Royes realizó un breve recorrido por los distintos Encuentros de los Comités desde Sitges (2002) hasta Zaragoza (2006) para finalizar su charla con una reflexión en voz alta sobre La Red de los Comités de Ética y su utilización. Encontré al Dr. Royes un poco decepcionado por las pocas visitas a la página por lo que desde estas líneas os invito a visitarla ya que considero que es una buena herramienta de intercambio de ideas, documentos y consulta de casos prácticos y situaciones reales.

En relación a otros encuentros anteriores a los que he asistido, me ha sorprendido gratamente el considerable incremento de participantes de esta última edición. Según la organización, asistieron miembros de 25 universidades españolas y de otros organismos públicos de investigación hasta un total de 91.

Finalmente, hay que felicitar a la Dra. Rosa Morales, miembro de la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, y a su equipo de colaboradores por la excelente organización de las jornadas, que han dejado el listón muy alto de cara a sucesivos encuentros.

