

PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN Y MANEJO DE ANIMALES

- **El título del proyecto:** “Caracterización genómica de la edad de maduración en la cepa Lochy de *Salmo salar*”

- **Nombre de investigadores principales y otras personas autorizadas**

- Dr. José Gallardo, Profesor Adjunto de la Escuela de Ciencias del Mar

- **Fecha propuestas de inicio y de término del estudio**

22 de noviembre del 2021 al 15 de diciembre del 2022

- **Objetivos del proyecto y su metodología con base en su relevancia para la salud humana y animal, el avance del conocimiento y el bien de la sociedad.**

GENERAL

Caracterizar genómicamente la edad de maduración en machos de la cepa Lochy de salmón del Atlántico para identificar individuos con genotipos de maduración temprana y tardía que permitan prevenir los efectos perjudiciales de maduración en el campo.

ESPECÍFICOS

- Comparar la expresión global de genes en peces machos de maduración temprana y, no maduros de la cepa Lochy cultivados en agua dulce.
- Identificar polimorfismos de nucleótido simple (SNP) asociados a la edad de maduración en la cepa Lochy en peces cultivados en agua de mar

- **Justificación ética en el uso animal (Remplazar).**

Dada la naturaleza de la investigación, la cantidad de animales requeridos para análisis genómicos y la aplicabilidad industrial del cultivo de salmón del atlántico, no se puede sustituir animales por modelos informáticos o por animales con una menor percepción del dolor

- **Las especies y el número de animales a ser utilizados (Reducir).**

La cantidad de animales requerida para el cumplimiento de los objetivos de estudio es la mínima que podría usarse de acuerdo con otros estudios, sin embargo, como el muestreo de madurez en planta depende de la cantidad existente de maduros e inmaduros, los 1400 peces pueden verse reducidos según las condiciones de campo. Es necesario indicar que estos peces serán utilizados como alimento y por tanto no constituyen un número extra de animales a utilizar.

- **Descripción detallada de los procedimientos utilizados en los animales y su clasificación según nivel de invasividad.**

Para el primer objetivo específico, los peces provendrán del Centro de Mejora Genética y Reproducción de la empresa “Salmones Camanchaca”, donde la crianza de los salmones se desarrolla en agua dulce con el objetivo de producir animales reproductores (generar semen y huevos). Los reproductores son supervisados a diario para detectar anomalías en los estanques de cultivo que puedan poner en riesgo la salud y bienestar de los peces. Además, diariamente (3 veces por día) se registran variables ambientales (O₂, pH, T°, CO₂) para asegurar una adecuada calidad de agua de cultivo, se alimentan los peces y se verifica el comportamiento de los mismos para comprobar si existen animales enfermos, mortalidad o, si requieren, algún tratamiento sanitario.

Para el objetivo específico 2, los peces provendrán de centros de cultivo de engorda en el mar de la misma empresa donde igualmente los peces son supervisados diariamente, alimentados, controlados sanitariamente y en el tiempo de cosecha son sacrificados.

• Técnicas de refinamiento a considerar:- sedación, anestesia y analgesia, incluyendo las dosis y los métodos de uso; técnicas de enriquecimiento ambiental, etc. (Refinar)

Cabe recalcar que en el primer caso (reproductores) los animales son sacrificados con sobredosis de anestésico, para evitar el sufrimiento animal. En el segundo caso son adormecidos con hielo y luego sacrificados con un golpe automático en la cabeza.

Para la extracción de muestras, los peces serán anestesiados en un contenedor por separado con sobredosis del anestésico benzocaína al 20% (BZ-20, Verterquímica); previo a su manipulación, los animales serán seleccionados en base a su estadio de maduración.

• Protocolo de supervisión y criterios de punto final.

Dado que no existe experimentación controlada, solo se va a lcentro de cultivo y se extrae muestra sacrificando a los peces no se considera protocolos de supervición por parte de los investigadores.

• Método de eutanasia, acorde a la especie.

Para la eutanasia en *Salmo salar* se aplicará una dosis triple de anestésico en el agua. Este procedimiento es mejor que la inyección individual, ya que evita la manipulación y estrés del animal. Previo a la eutanasia los peces estarán en ayuno por 24 horas para aumentar la absorción del anestésico por el intestino y piel. El efecto del anestésico es rápido y no produce sufrimiento ni estrés al pez. Se verificará la muerte de los mismos cuando hay ausencia de movimiento frente a estímulos mecánicos Cuando los peces no presenten movimiento, se procederá a la extracción de los animales del medio para la toma de muestras de los tejidos descritos. Estos procedimientos tardarán alrededor de 1 minuto por pez.

• Cualquier otra información considerada importante, necesaria y pertinente.

La mortalidad y los residuos orgánicos son retirados a diario de todos los estanques de la empresa y colocados en un contenedor hermético, debidamente identificados. Posteriormente, los desechos son retirados por una empresa que se encarga de la gestión de residuos orgánicos y sustancias peligrosas.

Los muestreos se realizarán en las instalaciones de la empresa “Salmones Camanchaca”, con sus respectivas normas de bioseguridad. Que consiste en el adecuado proceso de desinfección al ingreso a las instalaciones de los estanques y usar indumentaria adecuada para evitar la diseminación de posibles patógenos o enfermedades.

En el muestreo no se usarán químicos con potencial riesgo biológico, sino únicamente el anestésico descrito anteriormente que no presenta riesgo para la salud humana; sin embargo, para su manipulación se usará en todo momento guantes y mascarilla. No se emplearán compuestos potencialmente cancerígenos, mutagénicos o teratogénicos.

Todo material empleado en el estudio será previamente esterilizado y generalmente se usan nuevos insumos en cada ensayo y todo desecho generado en el muestreo será debidamente etiquetado y procesado.

Todos los procedimientos serán supervisados continuamente por el profesor guía y el responsable técnico de la empresa “Salmones Camanchaca”.