

REACTIVO DE KOVACS

Para-di-metil-amino-benzaldehído  
Alcohol amílico  
Ácido clorhídrico concentrado

Disolver el benzaldehído en alcohol amílico y añadir el ácido clorhídrico en frasco oscuro.

SOLUCIÓN COLORANTE DE CARBOL-FUCSINA DE ZIEHL-NEELSEN

Rojo de metilo  
Alcohol etílico  
Agua

Disolver el rojo de metilo y alcohol etílico en agua.

SOLUCIÓN DE ALFA NAFTOL

Alfa naftol  
Alcohol etílico

MORDIENTE PARA FICELOS

Alumbre potásico  
Ácido tánico  
Cloruro de mercurio

Mezclar y agregar 0.4 ml de una solución alcohólica saturada de fucsina básica.

SOLUCIÓN COLORANTE DE BÓRAX-AZUL DE METILENO

Azul de metileno  
Bórax  
Agua

Disolver el azul de metileno y bórax en agua.

LUGOL

Yodo  
Yoduro de potasio  
Agua destilada

REFERENCIAS

Cowan, S.T.; 1982. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2a. Ed. Cía. Edit. Continental, S.A. de C.V. México.

Edwards, P.R.; and W.H. Ewing. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. Third Edition. Burgers Publishing Co.

Ewing, W.H.; A.C. McWhorther; M.R. Escobar and A.H. Lubin. 1965. Edwardsiella a new genus of Enterobacteriaceae based on a new species E. tarda.

Finegold, S.M. y W.J. Martin; 1983. Diagnóstico microbiológico. 6a. Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Holt, J.G. and N.R. Krieg; 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams-Wilkins Co. Baltimore, London.

Lucky, Z. edited by Hoffman G.L.; 1977. Methods for the diagnosis of fish diseases. Franklin Book. Programs Inc. Cairo.

Post, G.; 1983. Textbook of Fish. Health T.F.H. Publications Inc. Ltd.

se establecen cuando los tejidos de los peces...

La temperatura del agua juega un papel muy importante en este tipo de infecciones, ya que...

CAPITULO 13

ENFERMEDADES POR HONGOS

Los hongos presentan estructuras muy variables, pueden ser unicelulares como las levaduras o bien, estar constituidos por varias células que al unirse forman largos filamentos llamados hifas, los cuales pueden ser septados o aseptados y en conjunto formar un micelio.

Los hongos pueden ser saprofíticos, cuando se alimentan de materia orgánica muerta o parásitos, cuando lo hacen de organismos vivos, de donde toman su propio alimento.

La reproducción de los hongos puede ser sexual o asexual, esta última también se le conoce como reproducción somática o vegetativa.

Las esporas de los hongos (zoosporas) son resistentes al calor, desecación, desinfectantes y a los diversos mecanismos de defensa del huésped.

Son pocos los géneros y especies de hongos que se conocen como causantes de enfermedades de peces; sin embargo, ciertas enfermedades se manifiestan por la presencia de éstos en la parte externa del pez, los cuales generalmente son considerados como saprofíticos facultativos.

Para obtener un diagnóstico de enfermedades micóticas es importante identificar el agente causal. Para clasificar el hongo es necesario tomar en cuenta tanto el ciclo de vida como la morfología de hifas y esporas.

Entre los hongos que con mayor frecuencia se reportan como causantes de enfermedades del bagre, se encuentran diversas especies de los géneros Saprolegnia (S. parasitica, S. monoica, S. mixta, S. thureti) y Achlya (A. hoferi, A. polyandra, A. prolifera), que aunque se reportan como invasores secundarios, cuando los mecanismos de defensa de los propios peces se ven afectados por una enfermedad o por lesiones físicas, la acción letal de la mucuosidad presente en la superficie de los peces desaparece y las esporas del hongo pueden germinar fácilmente en la piel, penetrar y formar desde adentro un revestimiento algodonoso en forma de pelusa, generalmente de color grisáceo, que bajo ciertas circunstancias puede llegar a causar la muerte de los peces.

Algunas especies del género Saprolegnia pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo del pez incluyendo branquias, piel, aletas y boca; tal parece que las lesiones causadas por bacterias de los géneros Aeromonas y Flexibacter son el sitio ideal para el inicio de infecciones por este hongo. Las esporas se liberan y quedan en contacto con tejidos muertos o lesionados y una vez que la hifa

se establece, invade los tejidos sanos. El ciclo de zoospora a micelio puede ocurrir en 48 horas sin importar la época del año.

La temperatura del agua juega un papel muy importante en este tipo de infecciones, ya que éstas se incrementan cuando las temperaturas son bajas o bien cuando se tienen peces de agua templada en agua fría durante el verano. *Saprolegnia* tiene una temperatura óptima entre 15-30°C, mínima de 0-5°C y temperaturas superiores a 35°C, tienden a reducir su crecimiento. El bagre es un pez altamente susceptible a este hongo, el cual generalmente se presenta como una mancha blanco grisácea, de tipo focal sobre la piel del pez. Las lesiones aparecen inicialmente en forma circular y posteriormente invaden la periferia. Debido al barro o a la arcilla que poco a poco se adhiere al micelio, las manchas pueden tomar un color gris oscuro o marrón.

Los "hongos del agua" como se les conoce a los diferentes géneros de la familia *Saprolegniaceae*, crecen bien en agua dulce, aunque algunas especies también lo hacen en aguas ligeramente salinas.

La reproducción sexual de estos hongos se realiza por contacto entre el gameto masculino y el gametangio femenino produciendo un oogonio, el cual es muy importante para la identificación del hongo. Muchos de estos hongos que están relacionados con peces presentan solo órganos sexuales cuando se cultivan por un tiempo considerable en medios específicos.

A la enfermedad de los peces causada por hongos de la familia *Saprolegniaceae* se le conoce como *saprolegniasis*. Los principales agentes etiológicos son *Saprolegnia parasitica*, *Achlya hoferi* y *Dictyuchus sp*; los cuales presentan hifas aseptadas, se reproducen sexual y asexualmente y se caracterizan por sus zoosporangios; los de *S. parasitica* y *A. hoferi* descargan sus esporas en el agua y el suelo, quedando adheridas a las hifas; mientras que en *Dictyuchus sp.* éste cae de la hifa cuando llega a su madurez.

Pueden ser la causa de *saprolegniasis*:

Deficiencias nutricionales en los peces; presencia de sustancias tóxicas en el agua; lesiones en la piel, aletas o branquias; así como los "stress" físicos provocados por cambios bruscos de temperatura, pH y ciertas concentraciones de sal.

Aún cuando la *saprolegniasis* no es un factor de mortalidad directa para los peces, cuando el micelio del hongo cubre áreas vitales como son las branquias y la córnea de los ojos, al provocar sofocamiento y ceguera respectivamente, la presencia del hongo resulta fatal para los peces.

Para el diagnóstico de la enfermedad primeramente se localizan los filamentos (hifas) en el pez y después se confirman al observar microscópicamente el material extraído de las lesiones. Las hifas son largas, continuas, sin septos y forman esporangios en las células terminales.

Estudios realizados en bagre, en los que se inyectó intraperitonealmente este material fúngico, demostraron que la enfermedad se reprodujo y que el agente causal fue perfectamente reaislado e identificado.

Para el control de *Saprolegnia* es recomendable evitar el hacinamiento de peces; o bien realizar prácticas higiénicas adecuadas. Es preciso retirar del agua a los peces que han muerto por infecciones por hongos, pues de lo contrario, las zoosporas suspendidas en el agua, pueden invadir a peces vivos que presentan pequeñas lesiones aún cuando éstas sean leves.

Cuando el hongo se ha desarrollado en el pez, su control es difícil; sin embargo, se recomienda zambullir a los peces en una solución de 67 ppm de verde de malaquita libre de zinc durante 10-30 segundos o de tres ppm durante una hora. Es importante controlar debidamente la concentración de esta sustancia en el agua ya que concentraciones elevadas pueden ser tóxicas para el bagre.

El cloruro de sodio en concentraciones de cinco por ciento es efectivo cuando los peces se sumergen por uno o dos minutos en dicha solución pero cuando los peces no la soportan, podrán utilizarse concentraciones más bajas con un tiempo de exposición mayor.

Para reducir el crecimiento de hongos, también se recomienda sumergir a los peces en una solución de ácido acético al 5 por ciento durante 30-60 segundos; o en formalina a una concentración de 250 mg/l durante 60 minutos; puede usarse también una combinación de 100 mg/l de formalina con un 2.5 mg/l de verde de malaquita durante el mismo tiempo.

Otra enfermedad causada por hongos en los peces, aunque no muy común en el bagre, es la conocida como *Ichthyophonus* cuyo agente causal es *Ichthyophonus hoferi*; parásito obligado que tiene una temperatura óptima de 10°C y una temperatura igual o mayor a 30°C impide su crecimiento.

Se han reportado infecciones por este hongo en peces de acuario, peces de agua dulce y salada, así como de aguas frías y tropicales.

La enfermedad causada por *I. hoferi* se manifiesta en el pez por el aspecto de su piel, la cual se torna rugosa o granulomatosa, ya que gran número de unidades infectivas se internan en la piel, causando lesiones necróticas. Estas lesiones pueden aparecer también en músculo y en órganos internos como riñón, hígado y bazo.

Para la identificación de este hongo se requiere la observación microscópica. Una prueba presuntiva positiva la darán los signos externos de la enfermedad y la observación microscópica del material procedente de las lesiones en donde deberán estar presentes cuerpos esféricos de doble pared refractiva. Para obtener una prueba confirmatoria, deberá sembrarse a partir del material causante de las lesiones, en medios de cultivo tales como agar Sabouraud dextrosa o agarglicerina peptona, ambos con uno por ciento de suero de bovino.

Cualquier pez que presente signos de *Ichthyophonus*, deberá ser removido y sacrificado, ya que no se conocen procedimientos terapéuticos para la enfermedad.

Otra enfermedad causada por hongos en los peces es la branquiomicosis, ésta reduce el paso de sangre a las branquias y al causar la pérdida de oxígeno en la sangre, los tejidos de las branquias se destruyen.

El agente causal de branquiomicosis se conoce como *Branchiomyces sanguinis* y *B. demigrans*. Ambos producen micelio con hifas no septadas. Sus esporas generalmente están dentro del filamento. Sus requerimientos nutricionales son simples y la temperatura óptima de ambos es de 25-32°C. Se cultivan fácilmente en agar Sabouraud dextrosa. Las esporas de *Branchiomyces* al llegar a las branquias germinan, producen hifas y penetran al epitelio. El micelio se extiende y causa obstrucción, congestión y necrosis. Las branquias toman un color rojo brillante con ciertas áreas de color blanco o café. Aunque con menor frecuencia este hongo puede también invadir hígado y bazo.

Las esporas, al desprenderse de las branquias de un pez infectado, quedan alojadas en el sedimento de los estanques y tenderán a incrementar su número al aprovechar la materia orgánica en el agua.

La enfermedad puede presentarse en un período de dos a cuatro días bajo condiciones favorables, ya que el período de incubación del hongo depende directamente de la temperatura.

El control de la enfermedad se logra realizando prácticas sanitarias adecuadas, eliminando los peces infectados y aplicando con frecuencia a los estanques tratamientos con óxido de calcio y sulfato de cobre.

Cuando se presenta una epizootia de la enfermedad, es recomendable tratar a los peces con una solución de 0.3 mg/l de verde de malaquita por un período de 12 horas.

En el cultivo de hongos se debe tener presente que el hongo se desarrolla en un medio rico en nutrientes y que la temperatura óptima para su crecimiento es de 25-30°C. La humedad es un factor importante para el desarrollo del hongo y debe mantenerse en un nivel adecuado. El pH del medio también influye en el crecimiento del hongo y debe ajustarse a un nivel adecuado.

La fijación en alcohol formalina es un método común para la preservación de hongos. Este método implica la fijación del hongo en una solución de alcohol formalina durante un período de tiempo determinado. Este método es útil para la preservación de hongos para su estudio posterior.

El cultivo de hongos en placas Petri es un método común para el estudio de hongos. Este método implica la siembra de un cultivo de hongo en una placa Petri que contiene un medio de cultivo. El cultivo se incuba en un incubador a una temperatura adecuada durante un período de tiempo determinado.

Cualquier pez que presente signos de leishmaniasis debe ser examinado y aislado para su estudio. La leishmaniasis es una enfermedad causada por el protozoo *Leishmania*. Este protozoo se transmite a los peces a través de la ingestión de agua contaminada con el protozoo. Los síntomas de la leishmaniasis incluyen debilidad, pérdida de apetito y muerte.

REFERENCIAS

Fijan, N. 1969. Systemic mycosis in channel catfish. Bull. Wildl. Dis. Assoc. 5: 109-110.

Meyer, F.P. and J.A. Robinson. 1973. Branchyomycosis: a new fungal disease of North American Fishes. Prog. Fish. Cult; 330: 74-77.

Post, G. 1983. Textbook of Fish Health T.F.H. Publications Inc. Ltd.

Plumb, J.A. 1979. Principal Diseases of Farm Raised Catfish. Southern Cooperative, Series No. 225: 25-27.

Ribelin, W.E. and G. Migaki. 1975. The Pathology of Fishes. The University of Wisconsin Press.

El cultivo de hongos se debe tener presente que el hongo se desarrolla en un medio rico en nutrientes y que la temperatura óptima para su crecimiento es de 25-30°C. La humedad es un factor importante para el desarrollo del hongo y debe mantenerse en un nivel adecuado. El pH del medio también influye en el crecimiento del hongo y debe ajustarse a un nivel adecuado.

CAPÍTULO 14  
METODOS PARA EL AISLAMIENTO Y OBSERVACION MICROSCOPICA DE HONGOS

CULTIVO Y AISLAMIENTO:

Con las debidas precauciones de higiene, tomar una muestra de las lesiones del pez en donde se sospecha la presencia de hongos; suspenderla en cinco ml. de agua destilada estéril y verter en una placa Petri.

Agregar semillas de lino, cañamo, maíz o trigo previamente esterilizadas o hervidas en agua durante 10-15 minutos. Incubar a 18-20°C durante 5-10 días.

En condiciones asépticas lavar las semillas con agua estéril con el objeto de eliminar posibles bacterias presentes. Con una asa bacteriológica tomar parte del material fúngico que se desarrolló en la superficie de las semillas y sembrar por estría cruzada en placas Petri con agar harina de maíz y agar Sabouraud dextrosa. Incubar a 18-20°C durante 5-10 días. Si no se logra obtener colonias aisladas hacer subcultivos en los mismos medios de cultivo e incubar en las condiciones antes mencionadas. Si se desea obtener cultivos puros a partir de una espora, se deberá utilizar un microscopio y con la ayuda de agujas estériles tomar una espora y transferirla a una placa Petri con agar Sabouraud dextrosa o agar harina de maíz e incubar a 18-20°C durante 5-10 días.

De los hongos aislados pueden hacerse microcultivos o bien, hacer observaciones directas entre porta y cubreobjetos, preparaciones fijadas con una mezcla de etanol y formalina o montajes con lactofenol-azul de algodón.

El género del hongo se determina por la forma y estructura de las hifas y esporas. Además de *Saprolegnia*; pueden cultivarse por este método otros hongos tales como *Achlya sp.*, *Aphanomyces sp.*, *Pythium sp.*, etc.

OBSERVACION DE LOS HONGOS:

a) Microcultivo.

Depositar en el centro de un portaobjetos estéril una gota de agar Sabouraud dextrosa estéril fundido. Homogeneizar con la gota de medio una parte de la colonia de hongo que fue retirada de la placa Petri con asa bacteriológica y colocar inmediatamente encima un cubreobjetos estéril, haciendo