

En el cultivo de hongos se debe tener presente que el medio de cultivo debe ser estéril y que el hongo debe ser introducido en él de manera aséptica. Para ello se debe utilizar un cubreobjetos estéril y una placa Petri estéril. El medio de cultivo debe ser preparado en un laboratorio de microbiología y debe ser estéril cuando se utiliza.

La fijación en alcohol formalina es un método muy utilizado para la conservación de los hongos. Este método consiste en fijar el hongo en alcohol y luego en formalina. Este método es muy útil para la conservación de los hongos y para su estudio en el laboratorio.

El cultivo de hongos en medio líquido es un método muy utilizado para el estudio de los hongos. Este método consiste en sembrar el hongo en un medio líquido estéril y observar su crecimiento. Este método es muy útil para el estudio de los hongos y para su identificación.

Cualquier pez que presente signos de leishmaniosis debe ser retirado y sacrificado. La leishmaniosis es una enfermedad muy grave que puede causar la muerte del pez. Por lo tanto, es importante estar atento a los signos de esta enfermedad y actuar de inmediato.

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 hacer en condiciones asépticas. Para ello se debe utilizar un cubreobjetos estéril y una placa Petri estéril. El medio de cultivo debe ser preparado en un laboratorio de microbiología y debe ser estéril cuando se utiliza.

La fijación en alcohol formalina es un método muy utilizado para la conservación de los hongos. Este método consiste en fijar el hongo en alcohol y luego en formalina. Este método es muy útil para la conservación de los hongos y para su estudio en el laboratorio.

El cultivo de hongos en medio líquido es un método muy utilizado para el estudio de los hongos. Este método consiste en sembrar el hongo en un medio líquido estéril y observar su crecimiento. Este método es muy útil para el estudio de los hongos y para su identificación.

CAPÍTULO 14

MÉTODOS 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

una ligera presión entre porta y cubreobjetos. Sellar tres lados del cubreobjetos con parafina, dejando uno libre para el acceso de oxígeno. Incubar a 18-20°C c/cinco días en atmósfera húmeda. Observar al microscopio.

b) Observación directa:

Homogeneizar un poco de material fúngico con una gota de solución salina sobre un portaobjetos, colocar encima un cubreobjetos y observar al microscopio.

c) Fijación en alcohol-formalina:

Suspender material fúngico en un ml. de una mezcla de etanol al 70 por ciento (94 partes) y formalina al 40 por ciento (seis partes). Colocar una gota entre porta y cubreobjetos, sellar con vaselina y observar al microscopio.

d) Montaje con lactofenol-azul de algodón:

Colocar sobre un portaobjetos una gota de reactivo lactofenol-azul de algodón; suspender material fúngico en el reactivo y si es necesario disociar con aguja. Una vez que el material esté homogeneizado, calentar sobre el mechero hasta que aparezcan burbujas, dejar enfriar. Colocar encima un cubreobjetos, sellar con vaselina y observar al microscopio.

MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

Agar con harina de maíz

Harina de maíz	40.0 g.
Agar	20.0 g.
Agua destilada	1 000 ml.

Hervir a fuego lento la harina de maíz con el agua durante una hora. Filtrar a través de gasa. Medir y completar a 1 000 ml. con agua destilada. Agregar el agar y disolver en baño maría. Filtrar sobre dos capas de algodón y gasa esterilizar a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Agar Sabouraud dextrosa

Peptona	10.0 g.
Glucosa	40.0 g.
Agar	18.0 g.
Agua	1 000 ml.

Lactofenol-azul de algodón

Cristales de fenol	20 g.
Acido láctico	20 g.
Glicerina	40 g.
Agua destilada	20 ml.

Disolver por calentamiento suave en baño de agua. Añadir 0.05 g. de azul de algodón.

Fijador de etanol-formalina

Solución A

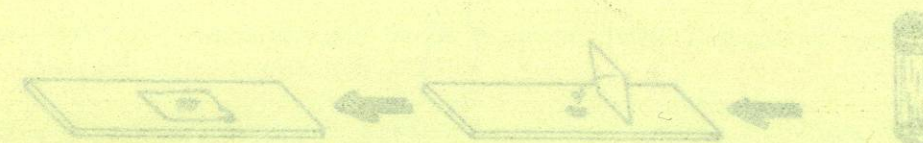
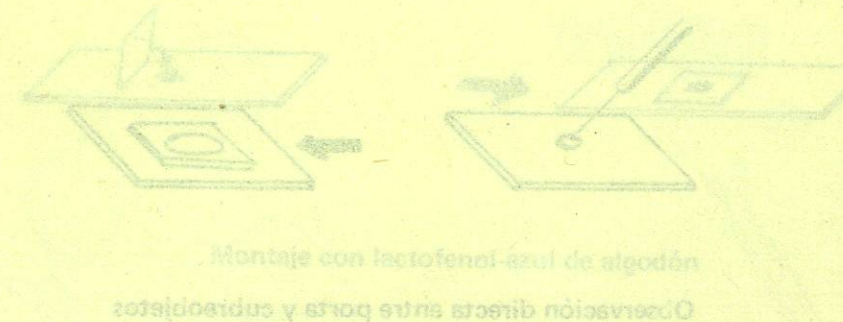
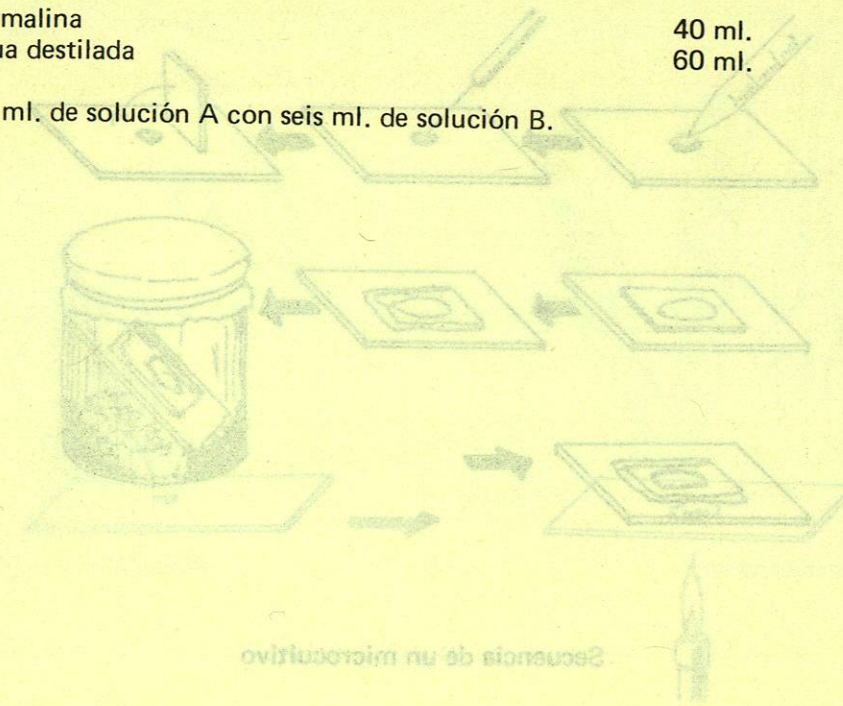
Etanol	70 ml.
--------	--------

Agua destilada 30 ml.

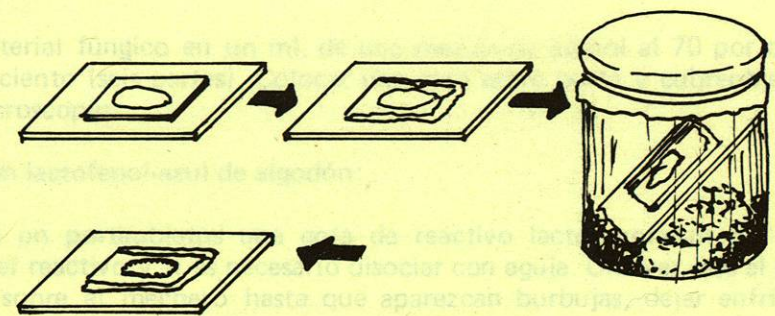
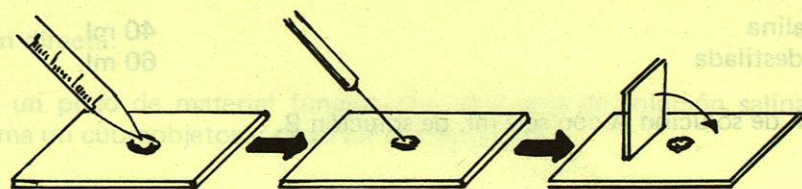
Solución B

Formalina 40 ml.
Agua destilada 60 ml.

Mezclar 94 ml. de solución A con seis ml. de solución B.

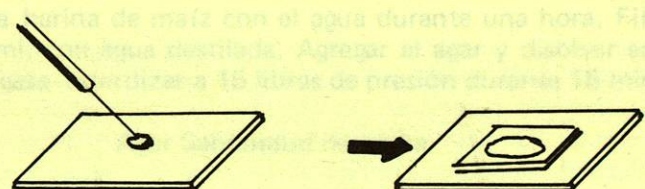


TECNICAS MICOLOGICAS



Secuencia de un microcultivo

Harina de maíz	40.0 g
Agar	20.0 g
Agua destilada	1 000 ml

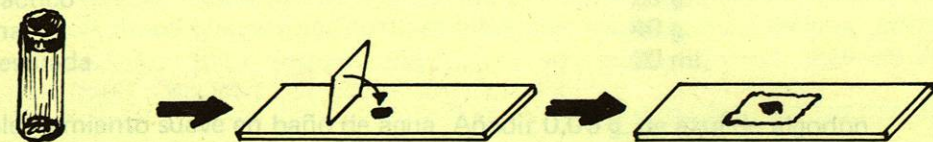


Peptona	10.0 g
Glucosa	40.0 g
Agar	10.0 g
Agua	1 000 ml

Observación directa entre porta y cubreobjetos

Lactofenol-azul de algodón

Cristales de fenol	30 g
Acido láctico	30 g
Glicerina	30 g
Agua destilada	30 ml

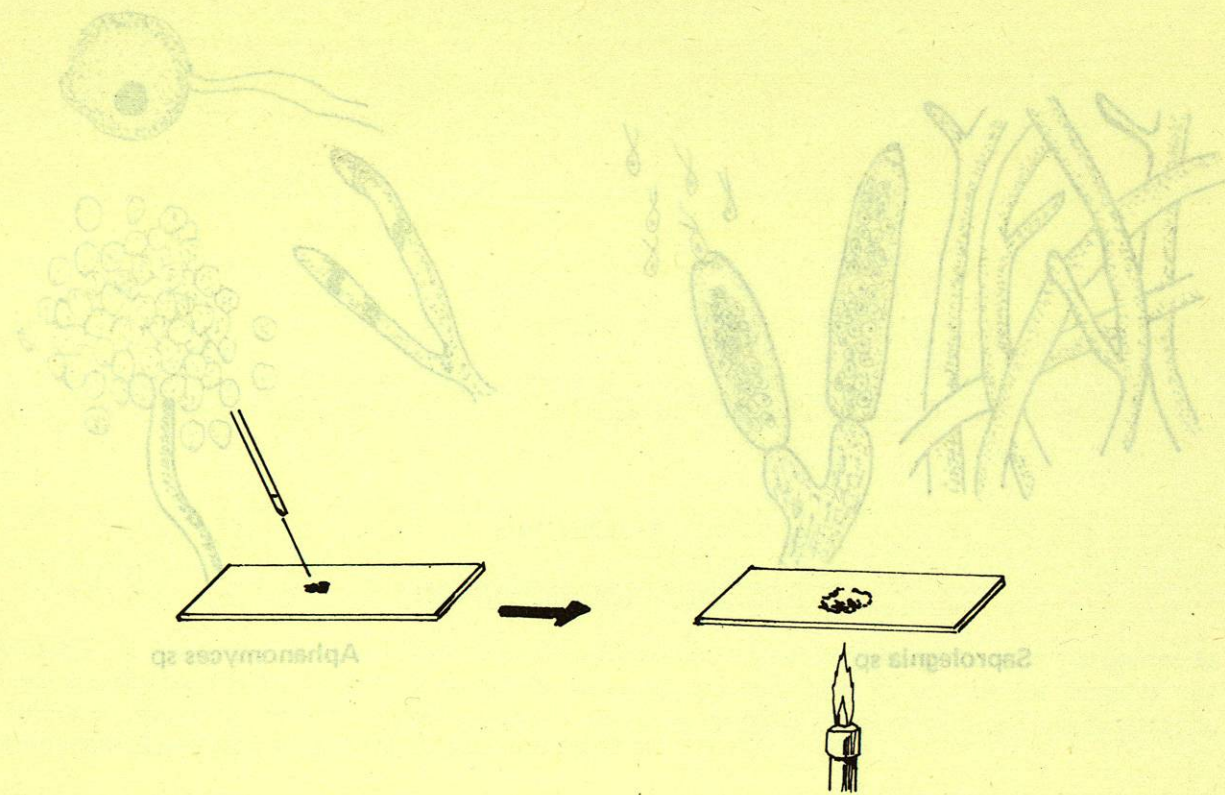


Fijador de etanol-formalina

Solución A

Fijación en alcohol formalina

Etanol	10 ml
--------	-------

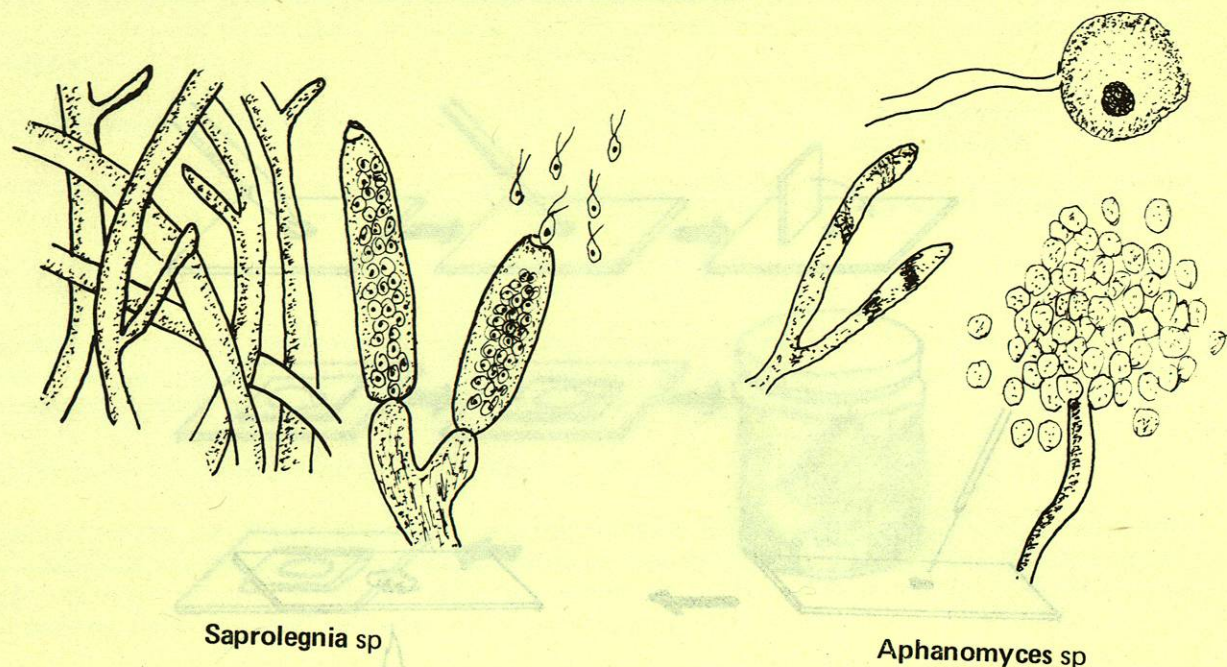


Montaje con lactofenol-azul de algodón



REFERENCIAS

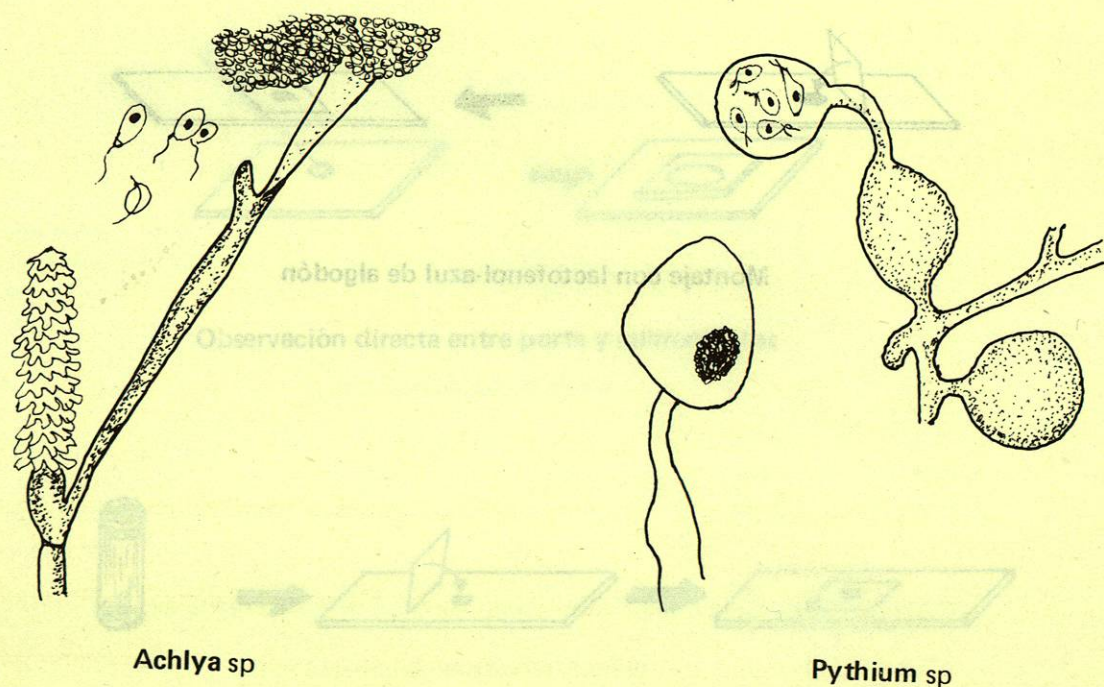
- Bauer, O.N.; V.A. Musselius and Yu.A. Strelkov. 1973. Diseases of pond fishes. International Program for Scientific Translations, Ltd: 177.
- Cenani, N.F., D.T. Smith, R.D. Baker y J.L. Callaway. 1971. Micología. Tercera Ed. Interamericana.
- Sank, K.L.; B.C. Jhingran. 1977. Observations on some aquatic fungi pathogenic to eggs and fry freshwater fish and prawn. Aquaculture, 12: 141-147.
- Verna, L.C. y F.J. Herrera. 1952. Micología. Primera edición. Ed. El Ateneo, Buenos Aires: 504-505.



Saprolegnia sp

Aphanomyces sp

Fijación en alcohol formalina



Achlya sp

Pythium sp

Fijación en alcohol formalina

ENFERMEDADES VIRALES

La virología de los peces es una ciencia relativamente nueva. El conocimiento de virus patógenos se incrementa continuamente. La alta densidad de peces en los estanques es uno de los factores que contribuye al desarrollo de estas enfermedades y hace que es difícil controlarlas por quimioterapia, lo más recomendable para su control es la prevención.

Los virus en los peces no han sido estudiados extensamente. La información de que se dispone es derivada de los estudios en peces de importancia económica o peces deportivos.

Los virus son agentes infecciosos que solo pueden multiplicarse dentro de las células vivas del huésped. Otras características distintivas son su estructura sencilla y sus mecanismos de replicación. El material genético puede ser de DNA o RNA.

Los virus están constituidos por la cubierta proteínica externa llamada capsula que contiene el ácido nucleico y un envoltorio que puede ser de tres tipos: esférico, helicoidal o complejo.

La mejor forma de prevenir y controlar la enfermedad es evitar que una infección viral llegue a los estanques y para lograrlo se recomienda observar a los peces y los huevos de estos con la mayor frecuencia posible y vigilar que el agua no provenga de lugares contaminados.

Con el objeto de disminuir la frecuencia de estas enfermedades es importante tomar en cuenta diversos factores como concentración de oxígeno, manejo de los peces. Asimismo se ha demostrado que el empleo de temperaturas elevadas es un buen método para el control de ciertas enfermedades.

REFERENCIAS

Bauer, O.N.; V.A. Musselius and Yu A. Strelkov. 1973. Diseases of pond fishes. Israel Program for Scientific Translations. Ltd.: 177.

Canant, N.F.; D.T. Smith; R.D. Baker y J.L. Callaway. 1971. Micología. Tercera Ed. Interamericana.

Sanh, K.L.; B.C. Jha and A.G. Jhingran. 1977. Observations on some aquatic Phycomycetes pathogenic to eggs and fry freshwater fish and prawn. Aquaculture. 12: 141-147.

Verna, L.C. y F.J. Herrero. 1952. Micología. Primera edición. Ed. El Ateneo, Buenos Aires: 504-506.