C A P I T U L O 13

DIAGNOSTICO MICOLOGICO

Para el aislamiento y observación microscópicas de los hongos se recomienda cultivar y aislar asépticamente una muestra a partir de las lesiones del pez en donde se sospecha la presencia de hongos, suspenderla en 5 ml de agua destilada estéril y verterla en una caja de Petri estéril. Posteriormente agregar semillas de lino, cáñamo o maíz previamente lavadas y esterilizadas, o hervidas en agua durante 10 a 15 minutos. Incubar a 18-20°C durante 10-15 días.

Utilizando una asa bacteriológica, tomar parte del material fúngico si es que éste se desarrolló en la superficie de las semillas y sembrar por estría cruzada en cajas de Petri con agar harina de maíz y/o agar Sabouraud dextrosa. Incubar a 18-20°C durante 5-10 días.

De las colonias aisladas pueden hacerse observaciones entre porta y cubreobjetos o bien fijar preparaciones con una mezcla de etanol-formalina o montajes con lactofenol-azul de algodón. También es recomendable hacer un microcultivo.

2. Observación entre porta y cubreobjetos: Homogenizar un poco de material fúngico con una gota de solución salina sobre el portaobjetos, colocar encima un cubreobjetos y observar al microscopio con 10X, 40X y 100X.

3. Fijación en alcohol-formalina: Suspender un poco de material fúngico en 1 ml del fijador alcohol-formalina, colocar una gota entre porta y cubreobjetos, sellar con vaselina y observar al microscopio con 10X, 40X y 100X.

4. Montaje en lactofenol-azul algodón: Homogenizar perfectamente un poco de material fúngico con 0.5 ml del reactivo lactofenol azul-algodón. Transferir una gota de la suspención a un portaobjetos, calentar sobre el mechero hasta que aparezcan burbujas, dejar enfriar, colocar encima un cubreobjetos, sellar con vaselina y observar al microscopio con 10X, 40X y 100X.

5. Microcultivo: Depositar en el centro de un portaobjetos estéril una gota de agar Sabouraud dextrosa estéril y fundido. Rápidamente tomar un poco de material fúngico con una asa bacteriológica estéril y homogenizar con la gota de medio de cultivo. Colocar encima un cubreobjetos

estéril, haciendo una ligera presión entre porta y cubreobjetos. Sellar tres lados del cubreobjetos con parafina fundida, dejando uno libre para el acceso de oxígeno. Incubar a 18-20°C/5 días en atmósfera húmeda y observar al microscópio con 10X, 40X y 100X.

MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS UTILIZADOS EN EL DIAGNOSTICO MICOLOGICO

Agar harina de maíz

Harina de maíz	40.0 g
Agar	20.0 g
Agua destilada	1000 ml

Se recomienda hervir a fuego lento la harina de maíz con agua durante una hora. Filtrar a través de la gasa. Medir y completar a 1000 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 destilada	1000 ml

Lactofenol-Azul de algodón

Cristal de fenol	20.0g
Acido láctico	20.0g
Glicerina	40.0g
Agua destilada	20ml

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

Fijador de etanol-formalina

Solución A	
Etanol	70.0ml
Agua destilada	30.0ml
Solución B	
Formalina	40.0ml
Agua destilada	60.0ml

Formalina	40.0ml
Agua destilada	60.0ml

Mezclar 94 ml de solución A con 6 ml. de solución B.

BIBLIOGRAFIA

DIAGNOSTICO MICOLOGICO

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

Conant, N.F; D.T. Smith; R.D. Baker y J.L. Callaway. 1971. Micologia. Tercera Edición. Editorial 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. Micologia. Primera edición Ed. El Ateneo, Buenos Aires: 504-506.