



24
28^o

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
'Z A R A G O Z A'

EVALUACION COMPARATIVA DE DOS TRATAMIENTOS
CONTRA LA SAPROLEGNIASIS EN REPRODUCTORES
DE SALMO GAIRDNERI, RICHARDSON (1836)
(TRUCHA ARCOIRIS), EN EL CENTRO
PISCICOLA "EL ZARCO", D. F.

T E S I S
Que para obtener el Título de
B I O L O G O

p r e s e n t a n
BERTHA LILIA MENDOZA FRANCO
RUBEN RAMIREZ ORTEGA

A s e s o r e s :
M.V.Z. María Estela Ana Auro Angulo
Biol. Angélica Elaine González Schaff
Biol. Bertha Peña Mendoza
M. en C. José Luis Gómez Márquez
Q. Arturo Martínez Ramos

México, D. F.

Mayo de 1990

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
3. CARACTERIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO	7
4. ANTECEDENTES	10
5. OBJETIVOS	16
6. METODOS	17
6.1 Trabajo de campo	17
6.2 Trabajo de laboratorio	21
6.3 Trabajo de gabinete	22
ABREVIATURAS	24
7. RESULTADOS	25
7.1 Taxonomía	25
7.2 Parámetros físicos y químicos	26
7.3 Morfometría y sexo	27
7.4 Estudio histopatológico	29
7.5 Tratamiento más eficaz	31
7.6 Bacterias asociadas a <u>Saprolegnia</u>	32
8. DISCUSION DE RESULTADOS	56
8.1 Taxonomía	56
8.2 Parámetros físicos y químicos	56

	Página
8.3 Morfometría y sexo	60
8.4 Estudio histopatológico	62
8.5 Tratamiento más eficaz	66
8.6 Bacterias asociadas a <u>Saprolegnia</u>	69
9. CONCLUSIONES	70
10. SUGERENCIAS	73
11. BIBLIOGRAFIA	74
11.1 Bibliografía citada	74
11.2 Bibliografía consultada	80

1. RESUMEN

Se evaluaron dos tratamientos curativos contra la Saprolegniasis en reproductores de Salmo gairdneri, Richardson (1836), en el centro piscícola "El Zarco", D.F., y se encontró que fue más eficaz el tratamiento con cloruro de benzal conio que el realizado con yodo polivinil pirrolidona. Además, se identificó al agente causal de la enfermedad, siendo un ficomiceto acuático: Saprolegnia parasitica Coker, 1923 y, también se determinó que la temperatura del agua fue uno de los factores que favorecieron la incidencia de la saprolegniasis. Paralelamente se estimó que los reproductores machos fueron más susceptibles a adquirir la enfermedad que las hembras. Mediante un estudio histopatológico se describen ocho lesiones causadas por la saprolegniasis y, finalmente, se identificaron a Streptococcus bovis, Streptococcus equinus y a Bacillus sp. como algunas de las bacterias asociadas a Saprolegnia parasitica.

2. INTRODUCCION

La acuicultura es una alternativa para producir protein animal de alta calidad. Dentro de la tecnología de cultivo existe la necesidad de conocer los procedimientos para - prevenir y controlar las enfermedades que potencialmente limitan la producción.

La Sanidad Piscícola atiende todas aquellas enfermedades de origen infeccioso -como son las ocasionadas por virus, bacterias, hongos, protozoarios, helmintos, artrópodos, etc.- y enfermedades no infecciosas como son las del tipo - genético, nutricional o funcional. Su objetivo primordial - es mantener y mejorar la salud de los peces para obtener el óptimo desarrollo y reproducción en el tiempo mínimo recomendable, lo cual es importante para conseguir la tasa de crecimiento deseada para cada especie.

De esta forma, se puede determinar que las enfermedades son una limitante en la producción piscícola, apareciendo a veces en forma esporádica o periódica (en cierta época del año). Por otra parte, pueden manifestarse en forma asínica sin ocasionar daños visibles, o bien, desarrollar el cuadro clínico específico de una enfermedad afectando la - economía del pez, siguiendo un curso crónico o desapareciendo totalmente.

La forma en que se manifiestan los agentes patógenos -

depende fundamentalmente de (Jiménez et. al., 1988):

- La especie o variedad del pez debido a la susceptibilidad típica;
- La patogenicidad del agente infeccioso;
- La influencia del medio ambiente (calidad del agua) y
- El manejo de los peces.

Estos factores han propiciado que se establezcan medidas orientadas al desarrollo de métodos de prevención, de diagnóstico y control de las enfermedades, así como implementar reglamentos, códigos y leyes, para legislar todo lo relativo a la sanidad de organismos acuáticos, sus productos, el uso del agua, los medicamentos, las sustancias químicas, etc., a fin de impedir o evitar la introducción, aparición y dispersión de enfermedades consideradas como de alto riesgo (SEPESCA, 1988).

Los organismos causantes de las enfermedades en los peces pueden encontrarse en las granjas piscícolas y unidades de cultivo, habitando el agua, el sedimento del fondo de los estanques, los tejidos y fluidos corporales de los peces clínicamente sanos que actúan como portadores de organismos infecciosos potencialmente transmisibles, así como en el alimento y en otros organismos (Herwig, 1979).

La enfermedad de mayor incidencia que se ha presentado en los reproductores de Salmo gairdneri, Richardson (1836) (trucha arcoiris) del centro piscícola "El Zarco", (Fig. 1),

es una micosis. Esta se manifiesta por la presencia de manchas blanquecinas y gelatinosas sobre las soluciones de continuidad de los peces, originados por hongos del género Saprolegnia (Rubin, 1978).

La infección micótica del pez depende de varios factores que influyen por una parte en el pez y, por otra, en el hongo, cuya combinación, más que la acción individual, conduce a la infección. Se ha considerado desde hace tiempo que los hongos responsables de la Saprolegniasis son patógenos secundarios, ya que las lesiones se observan después del manejo de los peces y como efecto de cualquier daño traumático en la piel, en condiciones de superpoblación o contaminación y asociados a enfermedades virales o bacterianas. El período evolutivo de la lesión varía considerablemente en función de las condiciones ambientales. La infección en los salmónidos puede conducir ocasionalmente a la muerte en menos de 36 horas después del comienzo de la infección (Roberts, 1981).

Se puede prevenir la enfermedad manteniendo los peces bajo condiciones adecuadas de cultivo. Es esencial una correcta alimentación, evitar la sobrepoblación, mantener una agua de buena calidad y realizar un manejo adecuado de los organismos en los centros reproductores, aunque a pesar de todo no es raro que los salmónidos adultos sucumban a la saprolegniasis (Roberts, 1981).

La quimioterapia de estas infecciones es muy amplia, -

comprendiendo tratamientos químicos externos e internos. En el caso de los primeros, se realiza mediante la aplicación tópica o a través de inmersiones por diferentes métodos bajo indicaciones y dosis previamente establecidas de diferentes productos químicos y, sobre todo, en condiciones estrictamente controladas (Herwig, 1979).

En los centros piscícolas de "El Zarco", con producción de trucha, en el Distrito Federal y el de "Tezontepec de Aldama", con producción de carpa, en Hidalgo, en algunas ocasiones se han presentado devastaciones causadas por agentes micóticos dado que el tratamiento y métodos preventivos que han seguido no siempre han dado resultados satisfactorios, - además de que tampoco se ha seguido una metodología para la recopilación de datos con relación al problema; de ahí la necesidad de investigar el uso de otros fármacos más eficientes.

De esta manera, la producción acuícola en México puede y debe ser incrementada con el consiguiente beneficio a la población; para ello se hace necesario no sólo mejorar las prácticas de manejo, almacenamiento, procesamiento y transporte de las mismas, sino cuidar de la calidad sanitaria y nutricional de las especies a cultivar, situación que redundaría no solamente en el aumento de la producción sino en la calidad del producto destinado al consumo humano (SEPESCA, - 1988).

Debido a que las especies de Saprolegnia son sin duda -

los hongos que con mayor frecuencia causan enfermedades en los almónidos, es necesario evaluar la eficacia de varios tratamientos, así como el establecimiento de los lineamientos para la aplicación del que resulte más eficaz en la reducción de la incidencia de la Saprolegniasis en reproductores de Salmo gairdneri, lo que implicaría paralelamente una disminución en la mortalidad de los peces y un aumento en la producción.

Así, el presente trabajo es una contribución para establecer algunas normas en materia de Sanidad Piscícola en base a las condiciones que presenta el centro piscícola "El Zarco", tomando como punto de partida nuestra realidad como país y nuestro grado de desarrollo en materia de acuicultura.

3. CARACTERIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO

En 1942 se inició la construcción del Centro Trutícola "El Zarco" (Distrito Federal), el cual se inauguró en 1943 siendo desde ese año, hasta la fecha, la principal unidad productora de crías de trucha en el país (Gómez y Arenas, 1987).

"El Zarco" pertenece a la Secretaría de Pesca, se encuentra ubicado entre los $19^{\circ}17'58''$ latitud norte y los $99^{\circ}22'15''$ longitud oeste, a una altitud de 3050 m.s.n.m., situándose en el extremo oeste del Distrito Federal (Fig. 1) (CETENAL, 1984).

Vías de Comunicación

El Centro Piscícola se comunica por la carretera Federal México-Toluca, a 0.8 Kms de "La Marquesa". También se puede llegar a este centro por la antigua carretera México-Toluca.

Clima

Según la clasificación de Köppen, modificada por Enrique García (1973), presenta un clima C (w₂) (w) b (i') templado húmedo con temperatura media del mes más frío entre -3° y 4°C y la del mes más caliente mayor a 6.5°C con poca oscilación, entre 5° y 7°C , presenta así una marcha de temperatura tipo Gange. Es el más húmedo de los templados subhúmedos con lluvias en verano, la precipitación media anual oscila

entre los 82 y 220 mm y el porcentaje de lluvia invernal es menor al 5% con respecto de la anual. Entre los meses más secos se encuentran enero, febrero y marzo con menos de 10 mm. El cociente de P/T es mayor a 55 (CETENAL, 1970).

Vegetación

Según Rzedowsky (1986), desde el punto de vista florístico la zona que rodea a "El Zarco" pertenece al reino Holártico, de la región mesoamericana de montaña de la provincia que corresponde a las serranías meridionales.

De acuerdo a la Carta de Uso del Suelo (CETENAL, 1979a), se tiene un tipo de vegetación S (Mi)-Pi caracterizada por vegetación secundaria, matorral inerme y pastizal inducido. El centro piscícola además se encuentra rodeado de pino, oyamel y bosque de coníferas.

Geología

El centro piscícola se encuentra a 1.8 Kms del Cerro "El Angel", el cual forma parte del Eje Neovolcánico, ésta es la más joven de las cadenas montañosas, pues las más importantes de sus elevaciones datan del Plioceno y del Pleistoceno. En esta zona los principales tipos de roca que afloran son volcánicos del Cenozoico y del pleistoceno, principalmente andesitas, basaltos, riolitas y tobas (CETENAL, 1978; Rzedowsky, 1986).

En la zona predominan suelos del tipo andosol (CETENAL, 1979b).

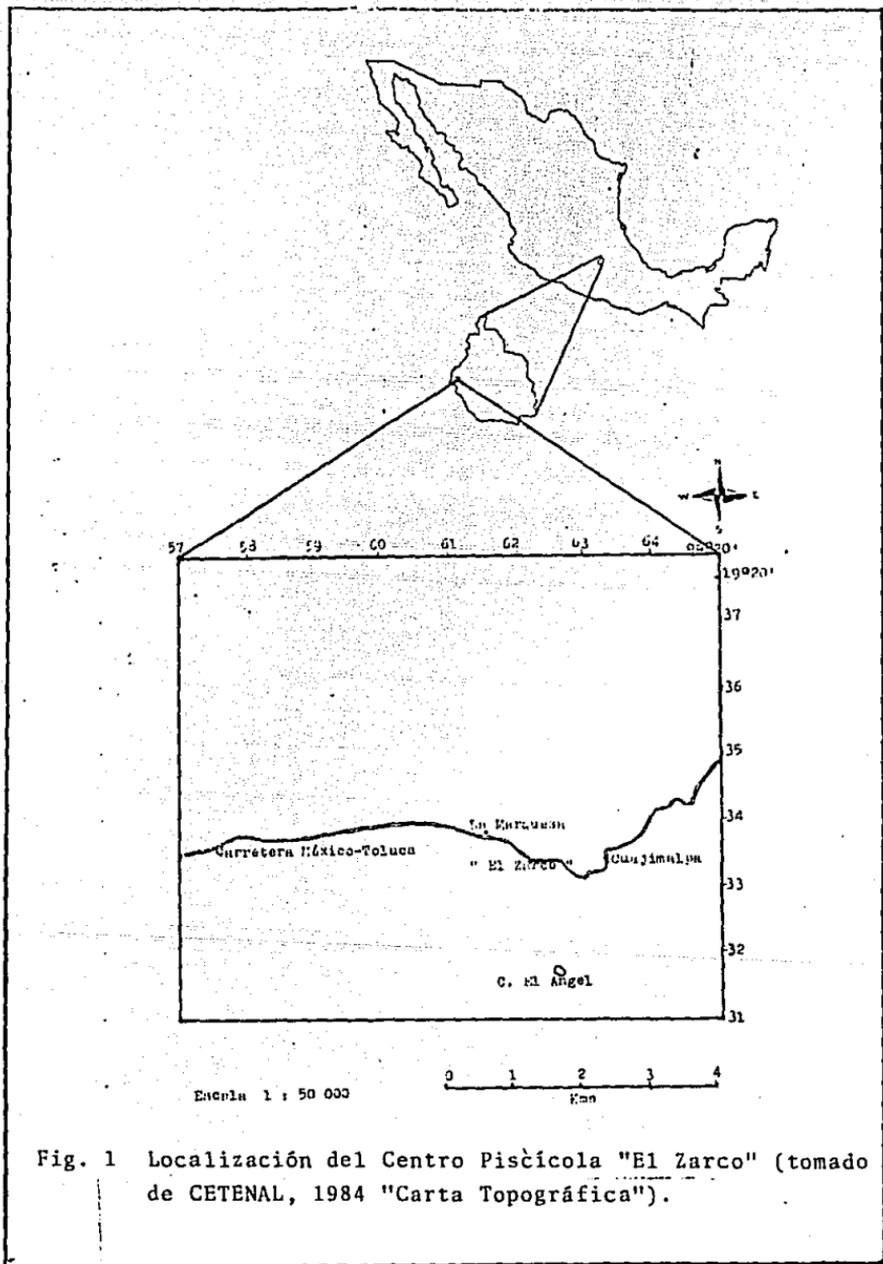


Fig. 1 Localización del Centro Piscícola "El Zarco" (tomado de CETENAL, 1984 "Carta Topográfica").

4. ANTECEDENTES

Las truchas se encuentran en Europa, América del Norte y del Sur, así como en Asia, Africa y Oceanía. En nuestro país se fue esparciendo como consecuencia de la introducción de las especies principales: la común y la arcoiris.

Durante 1741, Stephen Ludwig Jacobi estableció la primera planta productora de truchas en Alemania; en Estados Unidos de América se inició la producción con fines de comercialización en 1853; en México se introdujo la trucha de los Estados Unidos, hace casi un siglo. El piscicultor Esteban Cházari hizo los primeros experimentos con la trucha a finales del siglo pasado.

En nuestro país, en condiciones naturales se encuentra en los estados de Durango, Sinaloa y Chihuahua (ríos Culiacán, Truchas, Tabacatiado y Hondo). Por otro lado, debido a las siembras y repoblaciones que distintas instituciones y organismos estatales y federales han efectuado, su distribución se ha ampliado considerablemente, extendiéndose a los estados de Chiapas, Hidalgo, Jalisco, México, Baja California, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Querétaro, Veracruz, - Tamaulipas, Tlaxcala, Guerrero, Coahuila, Sonora, Guanajuato y el Distrito Federal (FONDEPESCA, 1988; SEPESCA, 1986).

La Trucha Arcoiris es el salmónido más apropiado para el cultivo industrial y para la producción de truchas de -

consumo. Las razones que la hacen preferida son las siguientes:

a) Posee mayor facilidad de adaptación que la trucha común. Soporta mejor las temperaturas elevadas y el menor contenido en O₂. En aguas profundas y con suficiente renovación puede soportar temperaturas comprendidas entre 20 y 22°C.

b) Es más resistente a algunas enfermedades como la furunculosis, pero más sensible a la mixosomatosis.

c) Su desarrollo es más rápido: el período de incubación es más corto y el crecimiento se realiza rápidamente.

De acuerdo con Starr y Warren (1963) y Aguilera y Noriega (1986), la posición taxonómica de la trucha arcoiris, es la siguiente:

Reino	Animal
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Pisces
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Superorden	Teleostei
Orden	Salmoniforme
Suborden	Salmonoidei
Familia	Salmonidae
Género	<u>Salmo</u>
Especie	<u>Salmo gairdneri</u> , (Richardson, 1836)

El término "Saprolegniasis" se usa para describir una - infección micótica de la piel y de las branquias, que puede ser imputable a un gran número de hongos, aunque sólo debería utilizarse este término una vez identificado su agente etiológico como perteneciente al orden Saprolegniales. (Roberts, 1981).

A finales del siglo XIX se despertó un gran interés por la evolución de una epizootia del salmón atlántico que sufría una invasión fúngica. A este hongo se le dio en esta época el nombre de S. ferax y se le consideró responsable de la enfermedad, aunque actualmente se cree que estos investigadores estudiaban las fases finales de la enfermedad que hoy día se conoce como necrosis ulcerativa dérmica (UDN). La mayor parte de estos primeros autores no aplicaron las características morfológicas del oogonio y enteridio para la clasificación de hongos en cuestión, hasta que en 1923 Coker publicó una monografía describiendo la familia Saprolegniaceae con gran detalle. A partir de entonces, se clasificaron todos los géneros por sus estructuras reproductivas asexuales, mientras que la definición de las especies se basó en las características de los órganos sexuales. Hubo una excepción a este método de clasificación, puesto que Coker describió una forma de Saprolegnia sexualmente estéril, en la que se formaban nuevos esporangios dentro de los que habían quedado vacíos, y en los que las esporas salían independientemente con movimiento propio abandonando el esporangio. Coker sugirió -

que esta forma era estéril, y en general parásita, dándole el nombre con el que se conoce en la actualidad: Saprolegnia parasitica.

Posteriormente se ha demostrado que muchos de los saprolegniáceos relacionados con los peces sólo presentan órganos sexuales después de un considerable período de incubación sobre un medio de cultivo especial. Esto condujo a que muchos aislamientos se describieran en principio como S. parasitica y más tarde fueron reidentificados como diferentes especies del género Saprolegnia. Hasta 1932, la investigadora Kanouse describió la forma sexual de S. parasitica a partir de una muestra obtenida de un sustrato a base de semilla de cáñamo después de un primer cultivo sobre huevos de peces. En 1970, Seymour publicó un estudio exhaustivo del género Saprolegnia.

La saprolegniasis es provocada por ficomicetos acuáticos del grupo de los Saprolegniales, siendo los de mayor importancia las especies de Saprolegnia y Achlya; la mayoría de estos hongos son saprófitos, pero existen especies ictiopatógenas como S. mixta, S. ferax, S. parasitica. S. monoica (esta última responsable de infecciones intestinales) y Achlya flagellata (Coker, 1923; Coker and Matthews, 1937; Tiffany, 1939b; Willoughby, 1962; Sparrow, 1960; Amlacher, 1970; Seymour, 1970; Webster, 1970; Conroy, 1976; Rubin, 1978; Roberts, 1981; Von Arx, 1981; Pérez, 1982; Roberts and Shepherd,

1986; Jiménez et. al., 1988). Los saprolegniáceos pertenecen a la clase Oomycetos, sus estructuras reproductoras están separadas de las hifas somáticas por septos, y la reproducción asexual se realiza por medio de zoosporas biflageladas (Alexopoulos, 1964).

En nuestro país se conocen pocos reportes acerca de investigaciones realizadas sobre infecciones o enfermedades originadas por hongos del género Saprolegnia. En 1932, en Estados Unidos Kanouse realizó un estudio sobre la fisiología y morfología de S. parasitica en el que muestra que la morfología de este hongo puede ser controlada en gran medida por modificaciones de las condiciones ambientales; que la peptona estimula la reproducción sexual del hongo cuando se usaba en combinación con leucina o con maltosa en solución, o con glucosa o maltosa en agar sintético y, describe algunas observaciones del parasitismo de este hongo.

En 1939, en Estados Unidos Tiffney describió los rangos de S. parasitica en diferentes hospederos (peces y anfibios) mediante inoculaciones controladas de este hongo. Así, el autor sugiere tres posibles causas de la muerte de los hospederos: 1) la destrucción de los tejidos; 2) la formación de materiales tóxicos, y 3) la dilución o deshidratación de los fluidos corporales como resultado de la destrucción de las áreas que protegen la epidermis.

En 1982, en Inglaterra Copland y Willoughby realizaron un estudio sobre la patología de infecciones de Saprolegnia en A. anguilla, en donde las principales lesiones fueron la pérdida de epitelio, ulceración y un cambio degenerativo miofibrilar de la masa muscular. Que las lesiones traumáticas con una subsecuente infección bacteriana tienen una respuesta inflamatoria mononuclear, esto sugería que la rápida extensión de la lesión disminuía la integridad del integumento, lo que alteraba la viabilidad de los tejidos y ocurría la infección por Saprolegnia.

5. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el efecto del Yodo Polivinil Pirrolidona y del Cloruro de Benzalconio contra la Saprolegniasis en reproductores de Salmo gairdneri, Richardson (1836) a partir del porcentaje de sobrevivencia, del estudio histopatológico de las zonas afectadas y de algunos parámetros físicos y químicos del agua.

Objetivos Particulares

- Identificar taxonómicamente al hongo causante de la saprolegniasis en reproductores de Salmo gairdneri, Richardson (1836).

- Determinar y evaluar la relación que existe entre la temperatura, oxígeno disuelto, alcalinidad, dureza y ph del agua con la incidencia de la saprolegniasis.

- Relacionar la biometría y sexo de los organismos con la incidencia de la saprolegniasis.

- Realizar pruebas con yodo polivinil pirrolidona y con cloruro de benzalconio para determinar el tratamiento más eficaz.

- Realizar un estudio histopatológico y evaluar las lesiones de los tejidos y la regeneración de éstos.

6. METODOS

6.1 Trabajo de campo

Tomando en cuenta que el período de desove y espermatismo (Armijo et. al., 1988) de los reproductores de S. Gairdneri del centro piscícola "El Zarco", comprendió los meses de agosto a febrero, el trabajo de campo se realizó de septiembre de 1988 a marzo de 1989, ya que durante este tiempo las truchas fueron más susceptibles a adquirir la Saprolegniasis.

Primeramente, se realizó el aseo y encalado de los estanques de tratamiento sanitario (Fig. 2) por un período de dos semanas y un posterior enjuague de los mismos.

Posteriormente, se identificaron los peces con signos visibles de saprolegniasis, la que se presentó en forma de manchas blanco-grisáceas, de tipo focal sobre la piel, aletas, ojos y branquias del pez, que al observarlas bajo el agua presentan un aspecto algodonoso debido al micelio del hongo que crece sobre la superficie (Roberts and Shepherd, 1986). Estos organismos se trasladaron de los estanques de estabulación hacia los de tratamiento sanitario, los cuales tienen una capacidad de 5 m³, ubicados en sistema de rosario son de corriente rápida siendo alimentados por un flujo de agua irregular proveniente del manantial "Pajaritos", ubicado en el Cerro de "Las Cruces".

Al trasladar y distribuir a 182 organismos enfermos a los estanques, se hizo el registro de sus datos biométricos, utilizando una regla graduada de precisión ± 0.1 cm (Nikolsky, 1976; Laevastu, 1971):

- Longitud Total (LT). Extremo distal del hocico hasta la punta de los rayos largos de la aleta caudal ligeramente oprimida en dirección dorsoventral.

- Altura (A). Perpendicular a la anterior en dirección dorsoventral y a nivel del margen anterior de la espina dorsal anterior.

Como medida ponderal, se determinó el Peso Total (PT) (el peso del ejemplar completo) con una balanza de precisión ± 1 g..

Asimismo, se tomó nota de las zonas del pez afectadas por la enfermedad, como fueron: branquias (b), cabeza (Ca), cuerpo (Cu), aletas (al) y en todo el organismo (B).

Después se colocaron a los organismos en un estanque "H" de "captación" del cual se distribuyeron para su tratamiento en la siguiente forma (ver Fig. 2):

a) Estanque "E" con 32 organismos del grupo testigo al cual no se le aplicó ningún medicamento para tener un patrón de comparación de la enfermedad con relación a los tratamientos con medicamento.

b) Estanque "F" con 75 organismos que fueron tratados -

A-H Estanques de tratamiento sanitario.

Estanques de estabulación:

I-VIII circulares.

I-38 rústicos.

X = Unidad de reproducción y alevinaje.

Y = Bodega de alimento.

Z = Laboratorio. :

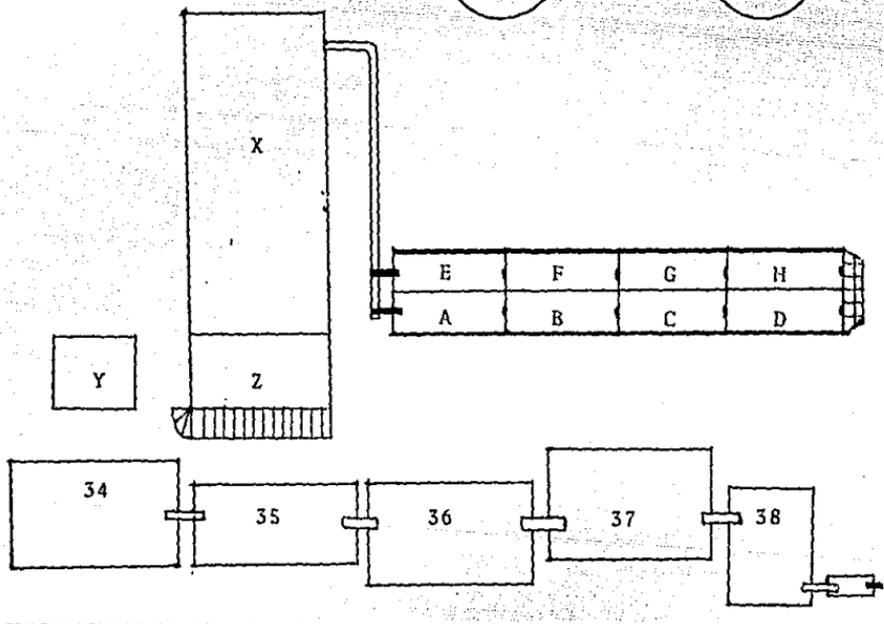
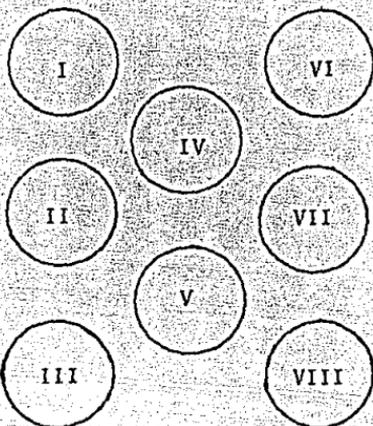


Fig. 2 Distribución de la estanquería en el Centro Piscícola "El Zarco".

con cloruro de benzalconio (1 x 400) (Remington's, 1975).

c) Estanque "G" con 75 organismos que fueron tratados con yodo polivinil pirrolidona (1.1 g de yodo/100 ml.) (Index Merck, 1976).

Cabe señalar que para los estanques "F" y "G" se realizaron 3 entradas de 25 organismos cada 2 meses.

La aplicación de los medicamentos fue tópica y a intervalos de tiempo de 48 horas entre una aplicación y otra.

Los peces que ya no presentaron signos visibles de Saprolegniasis durante los tratamientos, se trasladaron a otros estanques sanitarios anexos (A, B, C, D) para observar si el hongo fue atacado completamente y si éste ya no se desarrollaba en las zonas afectadas, esto se llevó a cabo por un período de 15 días, al término de los cuales se reubicó a los organismos en los estanques de estabulación.

También durante los meses de mayo de 1988 a abril de 1989 se llevaron a cabo determinaciones mensuales de algunos parámetros físicos y químicos del agua de los estanques, utilizándose los siguientes métodos (A.P.H.A., 1976):

- Determinación del oxígeno disuelto por el método de Winkler con la modificación de la azida de sodio.

- Determinación de la alcalinidad por carbonatos mediante el método de indicadores.

- Determinación de la dureza por calcio mediante el método complejométrico.

- El ph se determinó con un potenciómetro de campo de marca Corning y la temperatura mediante un termómetro graduado centígradamente de -10° a 120°C con precisión de $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

6.2 Trabajo de Laboratorio

Se llevó a cabo la identificación micológica, para lo cual se procedió a la incubación de formas parasíticas del hongo usando el método dado por Klebs y Pieters (Tiffney, 1939a), que consistió en el crecimiento de los hongos por tres días o más en un medio de cultivo nutritivo adicionado con peptona, hasta la obtención de cepas puras, las cuales fueron montadas en placas para su identificación usando claves micológicas (Sparrow, 1960). Para esta identificación se enviaron cultivos del hongo al Laboratorio de Bacteriología, y Micología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. y al Laboratorio de Patología de la Subdirección de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

La evaluación de las lesiones y el grado de regeneración de los tejidos se llevó a cabo por medio de un estudio histopatológico en los organismos sacrificados de cada tratamiento (SEPESCA, 1988), para posteriormente realizar la compara-

ción entre ellos y determinar así la eficacia de cada uno.

Para realizar el estudio histopatológico, cada organismo fue pesado, medido y sometido a un detallado examen postmortem, el cual se llevó a cabo bajo un microscopio de disección (Copland and Willoughby, 1982). Los tejidos (branquias, ojos y piel) fueron fijados en una solución de Bouin, aclarados con tolueno-alcohol (1:1), deshidratados con alcoholes graduales, incluidos en parafina, cortados a 5 micras y teñidos con hematoxilina-eosina (HE) (Manual of H.S.M., 1968). De esta manera fue posible obtener un registro de la enfermedad.

Debido a que en algunos de los organismos bajo tratamiento se presentaron furunculos, se realizó el aislamiento de las bacterias de estas zonas en un caldo peptonado y su posterior identificación en base a 25 pruebas bioquímicas y 1 física.

6.3 Trabajo de Gabinete

Los valores obtenidos de los parámetros físicos y químicos fueron procesados, tabulados y graficados para su análisis posterior.

Para estimar y relacionar la biometría y sexo de los organismos con la incidencia de la saprolegniasis, se utilizó la estadística para datos agrupados con la que se calculó las longitudes y pesos promedio de la población infectada,

así como la proporción de sexos de los organismos tratados. Asimismo, por el método indirecto de Petersen (1892) se estimaron los rangos de edad de la población dañada y en cual(es) de ella(s) hubo más frecuencia de organismos enfermos y el tipo de lesión más ocurrenciente para cada rango de edad.

Para evaluar la imagen histológica obtenida de las tinciones con HE, se comparó estos resultados con las tablas de frecuencia e incidencia de lesiones histológicas en las diferentes enfermedades de peces (Zschiescher, 1980) y se obtuvieron una serie de valores a los que se les aplicó la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher (Siegel, 1978).

Para evaluar si los dos criterios de clasificación (tratamientos versus sobrevivencia) son independientes o dependientes, se realizó la prueba de Ji-Cuadrada de Independencia o de Tablas de Contingencias (Wadsworth and Bryan, 1979; Siegel, 1978; Marques, 1988).

Finalmente, para determinar el tratamiento más eficaz, además de tomar en cuenta los parámetros físicos y químicos y el estudio histopatológico, se realizó la evaluación del porcentaje de sobrevivencia para cada tratamiento.

ABREVIATURAS

- b - branquias
- Ca - cabeza
- Cu - cuerpo
- al - aletas
- B - todo el cuerpo
- C.B. - cloruro de benzalconio
- I.p.p. - yodo polivinil pirrolidona
- T. - grupo testigo
- S.C.P.A. - sin cambios patológicos aparentes
- H.E. - hematoxilina-eosina
- - sin valor o significado numérico
- + - prueba positiva
- - prueba negativa

7. RESULTADOS

7.1 Taxonomía

De las muestras de hongo tomadas para su identificación a partir de los organismos infectados, se tuvo que el agente causal de la Saprolegniosis fue Saprolegnia parasitica Coker, 1923. De esta manera, la posición taxonómica de este hongo es la siguiente:

Reino	Fungi	
División	Mastigomycotina	
Clase	Oomycetes	
Orden	Saprolegniales	Weston, 1941
Familia	Saprolegniaceae	Coker, 1923
Género	<u>Saprolegnia</u>	Coker and Matthews, 1937
Especie	<u>S. parasitica</u>	Coker, 1923

Para realizar la identificación de S. parasitica, se reconocieron sus estructuras reproductoras tanto sexuales como asexuales, como las que se observan en la figura 3. Así, se tuvo que su estado vegetativo es de forma filamentososa y el micelio constituye una densa trama; con abundantes gemas, en cadenas de 3 a 30 por hilera; variables en forma y tamaño - que va desde largos cilindros a unas en forma de masa, piriformes o subesféricas a esféricas.

Su reproducción asexual se da por medio de zoosporas. Su zoosporangio es regular con largos cilindros de 180-350 X 20-24 μ , siendo más pequeños e irregulares en ciertos medios de cultivo. Sus zoosporas son diplanéticas de 12 μ de diámetro.

Su reproducción sexual se da por medio de oogonios y anteridios. Los oogonios se encuentran de manera terminal o intercalada; su forma va desde una piriforme, a una de masa y de subesférica a esférica; miden de 65-135 X 60-75 μ o de 65-95 μ de diámetro. Las oosporas son variables en número (3-25), con 18-22 μ de diámetro. Los anteridios se dividen en su origen en diclinos o en hermafroditas, teniendo delgados filamentos en espiral; forman pequeñas masas o subcilindros; tienen de 1 a 5 anexos en cada oogonio.

7.2 Parámetros físicos y químicos

Los valores de los parámetros físicos y químicos se muestran en la tabla 1, en la cual aparecen los promedios mensuales para cada parámetro, de mayo de 1988 a abril de 1989. Asimismo, en la figura 4 se tiene la representación gráfica de estos mismos valores durante el período de tiempo ya señalado.

El rango de temperatura fue de 8.6° a 12.5°C, teniéndose la máxima en el mes de mayo y la mínima en enero. Este parámetro fue el más variable a lo largo del estudio, presen-

tándose un descenso notable entre los meses de noviembre a febrero.

Las concentraciones de oxígeno disuelto oscilaron de 6.4 a 7.8 ppm, teniéndose la concentración mínima en agosto y la máxima en febrero. Así, los valores reportados nos muestran que las concentraciones se mantuvieron dentro de un rango constante durante los tratamientos.

La tendencia del potencial de hidrógeno (pH), fue hacia la estabilidad ya que se mantuvo entre 6.4 y 6.7, predominando un pH de 6.5. El valor máximo se tuvo en mayo y el mínimo en noviembre.

El comportamiento de la alcalinidad a la fenoftaleína fue de 32 a 35 ppm, correspondiendo el valor mínimo a noviembre y el máximo a abril.

La dureza al calcio presentó mayor variación en cuanto a su concentración, ya que osciló de 31 a 41 ppm, siendo la mínima en febrero y la máxima en mayo.

7.3 Morfometría y sexo

Por lo que respecta a la morfometría y sexo de los organismos tratados se encontró lo siguiente (tabla 2):

- La longitud promedio de la población tratada fue de 43.74 cm.

- El peso promedio de la población tratada fue de 1220 g.

- La proporción de sexos (♀ - ♂) de la población tratada fue de 1:15.

En la figura 5 se da la representación gráfica de los rangos de edad para los reproductores de S. gairdneri por el método de Petersen (1892), del cual se obtuvieron cuatro a saber:

- | | | |
|---|---|-------|
| 1) 24-37 cm, con 28 organismos (15.4%) | } | 75.8% |
| 2) 37.1-45 cm, con 86 organismos (47.25%) | | |
| 3) 45.1-51 cm, con 52 organismos (28.55%) | | |
| 4) 51.1-58 cm, con 16 organismos (8.8%) | | |

De lo anterior se observa que en el segundo y tercer rango de edad se tuvo la mayor cantidad de organismos infectados por el hongo, las que representan el 75.8% de la población tratada; por el contrario, el primer y cuarto rango de edad estuvieron poco representadas, ya que sólo expresan el 24.2%.

En la figura 6 se muestran las principales zonas en las que el hongo atacó a S. gairdneri, siendo éstas: branquias, cabeza, cuerpo y aletas.

En la determinación del tipo de lesión (b, Ca, Cu, al, B) más ocurrente para cada rango de edad, se obtuvo que las

más frecuentes fueron en el cuerpo (Cu) para el segundo y tercer rango de edad con 41 (22.5%) y 21 (11.5%) organismos, respectivamente (tabla 3 y 4), y en la cabeza (Ca) para los mismos rangos con 17 (9.3%) y 11 (6%) organismos. Posteriormente, en todo el cuerpo (B) para el segundo rango de edad con 15 (8.25%). Finalmente, en las aletas (al) con 9 (4.95%) organismos totales y en las branquias (b) con un organismo para el segundo rango de edad.

7.4 Estudio Histopatológico

De las evaluaciones de las imágenes histológicas se representan ocho lesiones a saber:

La figura 7 corresponde a una hiperplasia branquial, dada por la proliferación de células epiteliales de las lamelas, lo que ocasiona que ocurra una fusión de éstas; asimismo, se observa que sobre las células epiteliales bordeadoras de las lamelas proliferaron células caliciformes.

En la figura 8 se muestran una gran cantidad de células caliciformes sobre la punta de la lamela, lo que trae como consecuencia la mayor producción de mucus.

En la figura 9 se ven células necrosadas (más oscuro) - en las puntas de las lamelas, sobre las que también hay células caliciformes e hiperplasia. Asimismo en la figura 10 se indican células necrosadas sobre el epitelio de la piel, ade

más de núcleos picnóticos y células caliciformes. Lo anterior corresponde a una necrosis celular.

La figura 11 muestra una inflamación aguda, caracterizada por células polimorfonucleares de núcleo lobulado con puntilleo heterófilo.

En la figura 12 se ilustra una inflamación piógena, la cual se manifiesta por la presencia de piocitos; también se ven células caliciformes sobre una lamela.

En la figura 13 se observa una miositis piógena dada por infiltrados celulares (células mononucleares), en tejido muscular.

La figura 14 manifiesta una endoftalmitis piógena caracterizada por la infiltración de células mononucleares (basófilas) en la coroides, lo que ocasiona el engrosamiento de esta capa.

En la figura 15 se observa la sustitución de las células destruidas por tejido conjuntivo fibroso.

Además, en la figura 16 se muestra una branquiectasia formada por una serie de minitrombos formados principalmente por sangre necrosada; también se ve hiperplasia en la base de las lamelas.

A partir de las imágenes histológicas presentadas en las figuras 7 a 15, se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 5. En ésta se dan valores en porcentaje in-

dicados como un cociente de las frecuencias de prevalencia e incidencia de las diferentes lesiones histológicas debidas a la enfermedad del pez. Posteriormente, a estos valores de la tabla 5 se les aplicó la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher, cuyos resultados se muestran en la tabla 6, en la que se determinaron cuatro niveles de significación con sus respectivos porcentajes de confianza, siendo éstos: 0.05 - 95%, 0.025 - 97.5%, 0.01 - 99% y 0.005 - 99.5%.

La evaluación en esta prueba para la hiperplasia branquial y la degeneración mucosa no se realizó debido a que no cumplieron el supuesto de ser diferente a 100/100 en el grupo de organismos sin cambios patológicos aparentes. Asimismo los espacios sin clave no cumplieron con los supuestos que marca esta prueba.

En la tabla 7, se muestra el resultado de la Prueba de Ji-cuadrada de Independencia, en la cual se encontró que la X^2 teórica fue de 5.99, mientras que X^2 fue de 84.95.

7.5 Tratamiento más eficaz

Para determinar el tratamiento más eficaz, además de tomar en cuenta los anteriores resultados se estimó el porcentaje de sobrevivencia de cada tratamiento. Así, el cloruro de benzalconio tuvo 90.66%, el yodo polivinil pirrolidona 72% y el grupo testigo 0.0% de sobrevivencia (Fig. 17).

7.6 Bacterias asociadas a Saprolegnia

Mediante 25 pruebas bioquímicas y 1 física se identificaron algunas de las bacterias asociadas a Saprolegnia (Tabla 8), se encontró a dos especies de Streptococcus, S. equinus y S. bovis y bacterias del género Bacillus (MacFaddin, 1980).

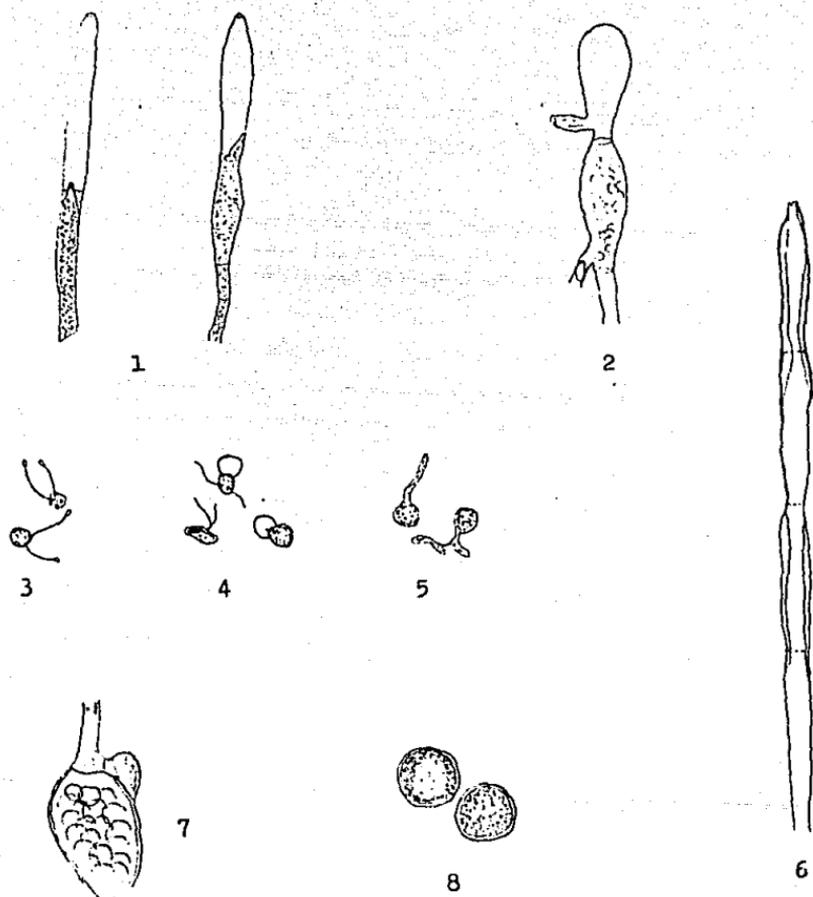


Fig. 3 Estructuras de Saprolegnia parasitica: 1. zoosporangio vacío y proliferación del zoosporangio secundario; 2. dos gemas, la inferior funciona como zoosporangio; 3, 4 y 5, zoosporas en el primer estadio acuático, segundo estadio acuático y en germinación; 6, proliferación del zoosporangio secundario; 7, oogonio con oosporas formadas partenogénicamente; 8, oosporas subcéntricas maduras. (Tomado de Kanouse, 1932).

AÑO	MES	Temp. (°C)	pH	(O ₂) (ppm)	Alc. (CO ₃ ⁼) (ppm)	Dur. (Ca ⁺⁺) (ppm)
1988	Mayo	12.5	6.7	6.8	34	41
	Jun.	12.2	6.6	6.6	34	39
	Jul.	12.1	6.6	6.5	34	38
	Ago.	12.0	6.5	6.4	34	38
	Spt.	11.6	6.5	6.5	33	37
	Oct.	11.0	6.5	6.6	33	36
	Nov.	10.3	6.4	7.0	32	35
	Dic.	8.9	6.5	7.0	33	35
1989	Ene.	8.6	6.5	7.5	33	32
	Feb.	8.7	6.5	7.8	34	31
	Mar.	9.1	6.6	7.4	35	33
	Abr.	10.3	6.6	6.9	35	40

Tabla 1 Parámetros físicos y químicos.

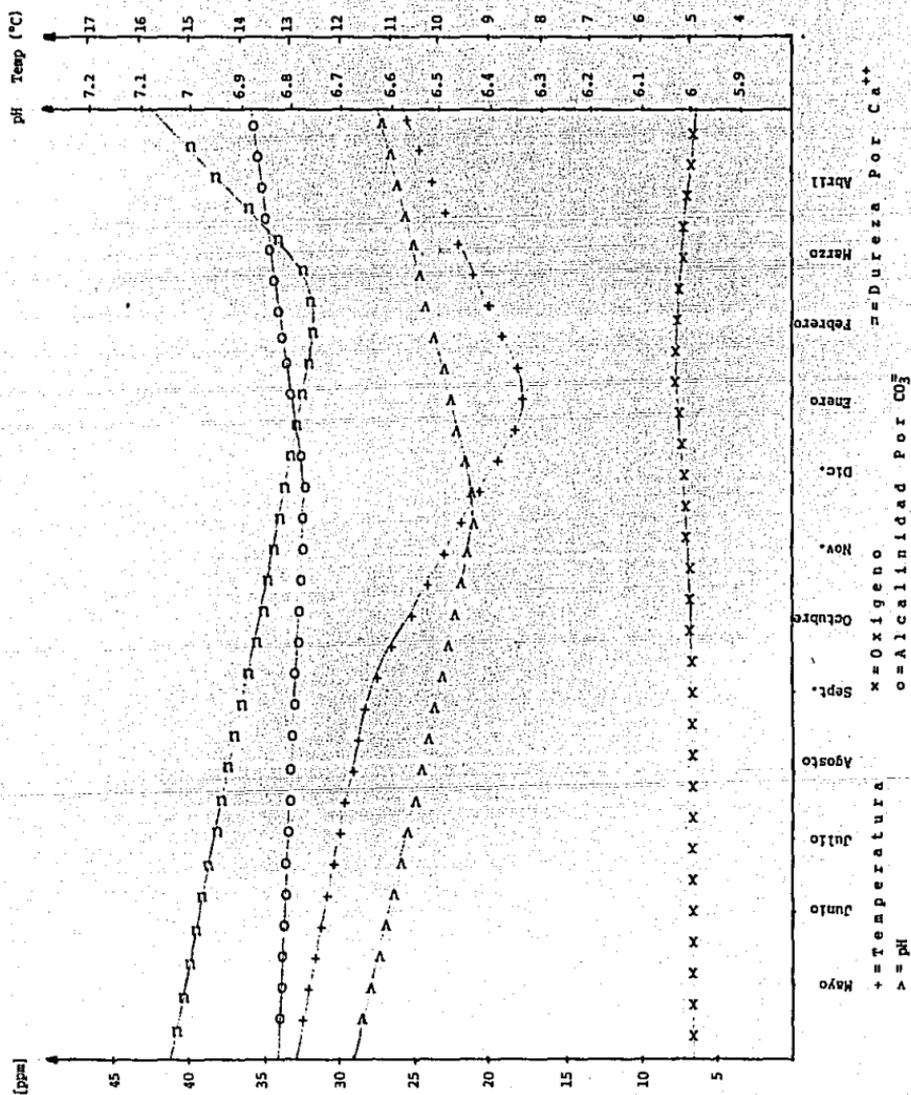


Fig. 4 Representación gráfica de los parámetros físicos y químicos de mayo de 1988 a abril de 1989.

	T R A T A M I E N T O S			
	C B	I P P	T	TOTAL
Número de organismos	75	75	32	182
LONGITUD				
MEDIA	43.20	43.46	44.57	43.74
PESO				
MEDIA	1072.5	1205.21	1382.34	1220
PROPORCION DE SEXOS (♀ - ♂)	1 - 1.27	1 - 1.77	1 - 1.46	1 - 1.5

Tabla 2 Resultados para la estadística de datos agrupados en cada uno de los tratamientos y para la población total infectada.

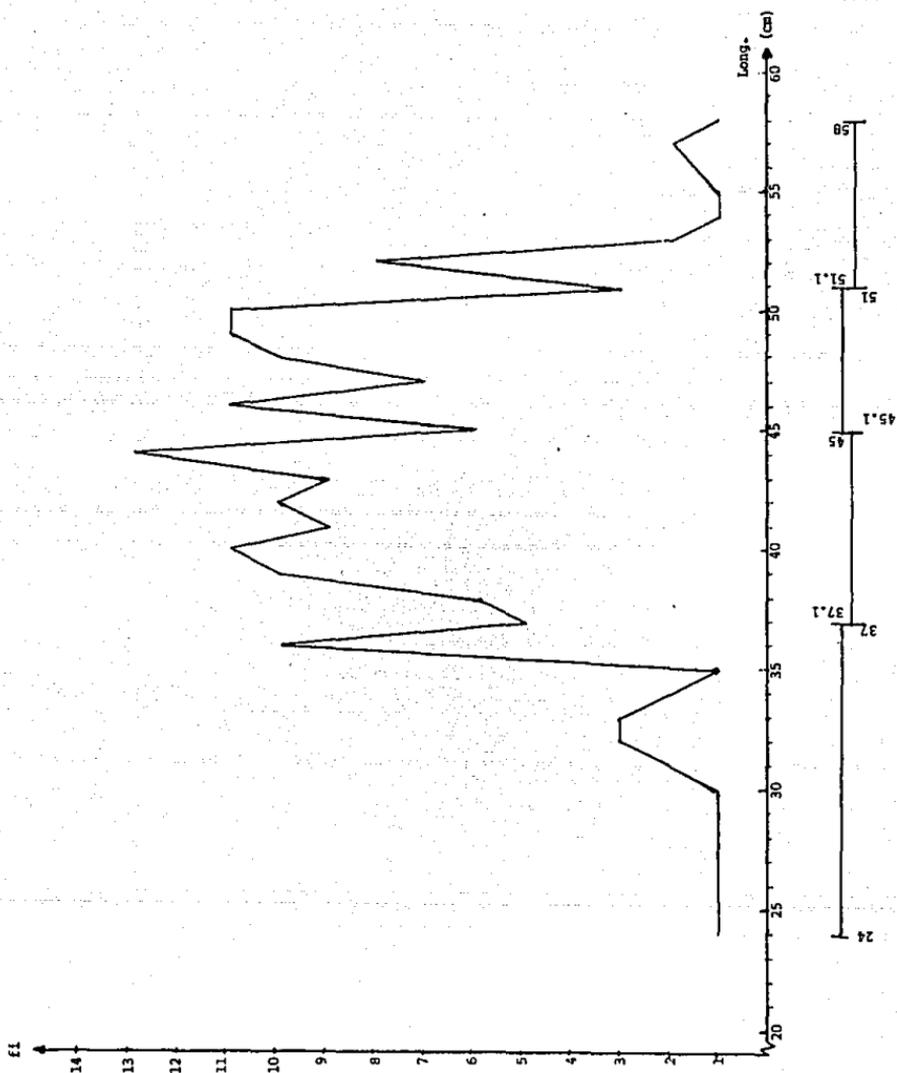


Fig. 5 Representación gráfica de los rangos de edad para los reproductores de Salmo gairdneri por el método de Petersen (1892).



Fig. 6 Principales zonas en las que Saprolegnia parasitica atacó a Salmo gairdneri (→)

Ubicación de la lesión	R A N G O D E E D A D (cm)				
	24 - 37	37.1-45	45.1-51	51.1-58	TOTAL
b	-	1	-	-	1
Ca	10	17	11	1	39
Cu	4	41	21	9	75
al	3	1	4	1	9
B	2	15	2	2	21
b - Ca	1	3	5	-	9
b - Cu	3	2	2	-	7
b - al	2	-	1	-	3
Cu - al	3	3	4	1	11
Ca - al	-	1	1	1	3
Ca - Cu	-	-	1	-	1
b-Ca-al	-	1	-	1	2
b-Cu-al	-	1	-	-	1
TOTAL	28	86	52	16	182

Tabla 3 Sinópsis de las lesiones ocurridas en frecuencia por rango de edad.

Ubicación de la lesión	R A N G O D E E D A D (cm)				
	24 - 37	37.1-45	45.1-51	51.1-58	TOTAL
b	-	0.55	-	-	0.55
Ca	5.5	9.3	6	0.55	21.42
Cu	2.2	22.5	11.5	4.95	41.2
a1	1.6	0.55	2.2	0.55	4.95
B	1.1	8.25	1.1	1.1	11.5
b - Ca	0.55	1.65	2.7	-	4.95
b - Cu	1.65	1.1	1.1	-	3.85
b - a1	1.1	-	0.55	-	1.65
Cu - a1	1.65	1.65	2.2	0.55	6.05
Ca - a1	-	0.55	0.55	0.55	1.65
Ca - Cu	-	-	0.55	-	0.55
b-Ca-a1	-	0.55	-	0.55	1.1
b-Cu-a1	-	0.55	-	-	0.55
TOTAL	15.4	47.25	28.55	8.8	100%

Tabla 4 Sinópsis de las lesiones ocurridas en porcentaje por rango de edad.

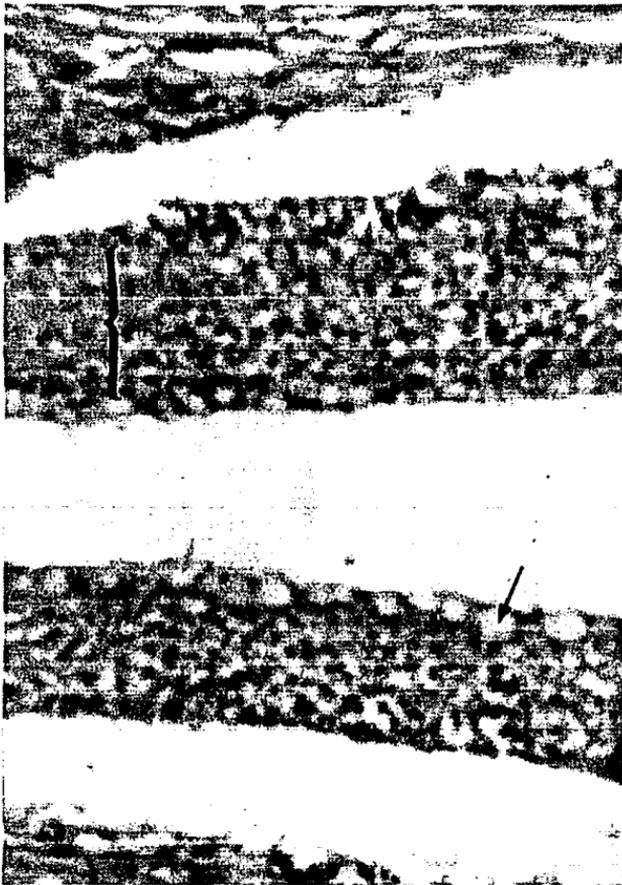


Fig. 7 Branquia que muestra hiperplasia epitelial (H. E.) }
80 X. → células caliciformes.

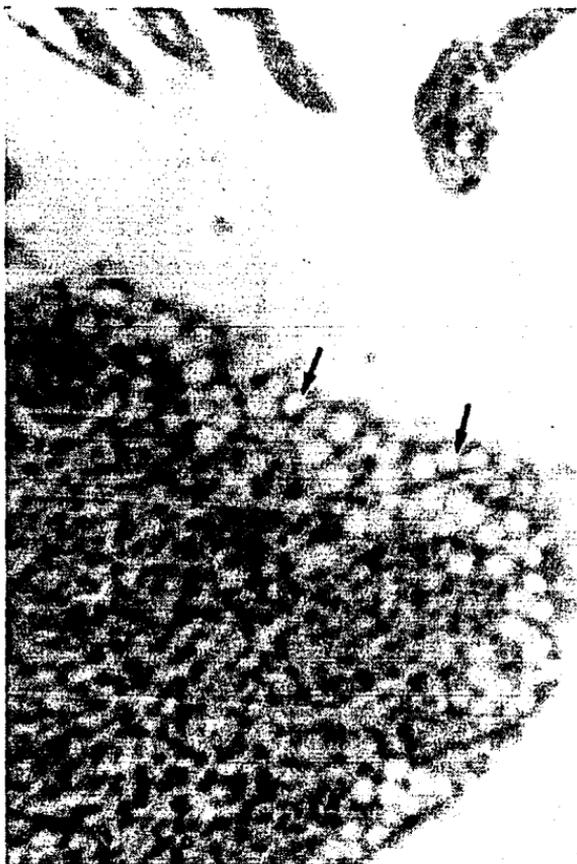


Fig. 8 Punta de lamela primaria con degeneración mucosa
(H.E.) 80 X. —→



Fig. 9 Necrosis licuativa epitelial superficial en branquia (H.E.) 80 X. —→



Fig. 10 Necrosis licuativa epitelial superficial en dermis (H.E.) 80 X. —→



Fig. 11. Acercamiento de imagen branquial con inflamación aguda (H.E.) 200 X. —→

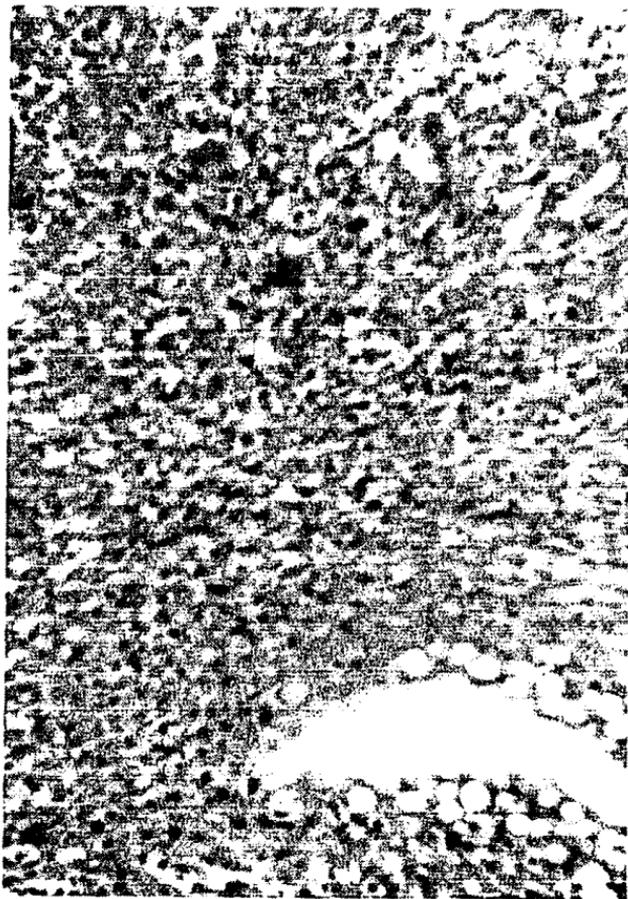


Fig. 12. Epitelio branquial hiperplásico con inflamación piógena (H.E.) 80 X.



Fig. 13 Haces musculares con infiltración mononuclear por inflamación piógena (H.E.) 200 X. —→



Fig. 14 Coroides con infiltrado mononuclear por inflamación piógena (H.E.) 80 X. →



Fig. 15 Cicatrización por sustitución conjuntivo fibrosa en branquia (H.E.) 80 X.



Fig. 16 Branquiectasias en lamelas secundarias (H.E.) 80 X. →

L E S I O N	T R A T A M I E N T O S			
	T	I P P	C B	S C P A
Hiperplasia branquial	100/100	100/100	100/100	100/100
Degeneración mucosa	100/100	100/100	100/100	100/100
Necrosis celular	80/100	40/100	10/100	0/100
Inflamación aguda	100/100	90/100	0/100	0/100
Inflamación piógena	100/100	0/100	0/100	50/100
Miositis piógena	100/100	80/100	60/100	0/100
Endoftalmitis piógena	100/100	0/100	0/100	0/100
Cicatrización	20/100	60/100	90/100	0/100

Tabla 5 Resultados histopatológicos en los animales tratados y no tratados (frecuencias de prevalencia e incidencias de las diferentes lesiones histológicas debidas a la enfermedad del pez) (Zschiescher, 1980).

L E S I O N	T R A T A M I E N T O S					
	CB-IPP	CB-T	IPP-T	SCPA-CB	SCPA-IP	SCPA-T
Necrosis celular	0	+	—	—	—	+
Cicatrización	0	+	—	+	"	—
Inflamación aguda	+	+	—	—	+	+
Inflamación piógena	—	+	+	X	X	X
Miositis piógena	—	0	—	"	+	+
Endoftalmitis piógena	—	+	+	—	—	+

Tabla 6 Resultados de la Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher.

0 = 95% de confianza, 0.05 de significación

X = 97.5% de confianza, 0.025 de significación

" = 99% de confianza, 0.01 de significación

+ = 99.5% de confianza, 0.005 de significación

— = sin valor o significado numérico.

TRATAMIENTO	Sobrevivencia		TOTAL
	Vivos	Muertos	
C B	68	7	75
I P P	54	21	75
T	0	32	32
TOTAL	122	60	182

OBSERVADOS

TRATAMIENTO	Sobrevivencia		TOTAL
	Vivos	Muertos	
C B	68/50.27	7/24.72	75
I P P	54/50.27	21/24.72	75
T	0/21.45	32/10.54	32
TOTAL	122	60	182

ESPERADOS

$$X^2 = 91.98 + 1.98 + 58 + 17.84 + 97.15 - N = 266.95 - 182$$

$$X^2 = 84.95$$

Con 95% conf., 2 g.l. - tablas \rightarrow 5.99 (X^2 teórica)

$\therefore X^2 > X^2$ teórica, los dos criterios de clasificación son Dependientes.

Tabla 7 Prueba de Ji-Cuadrada de Independencia.

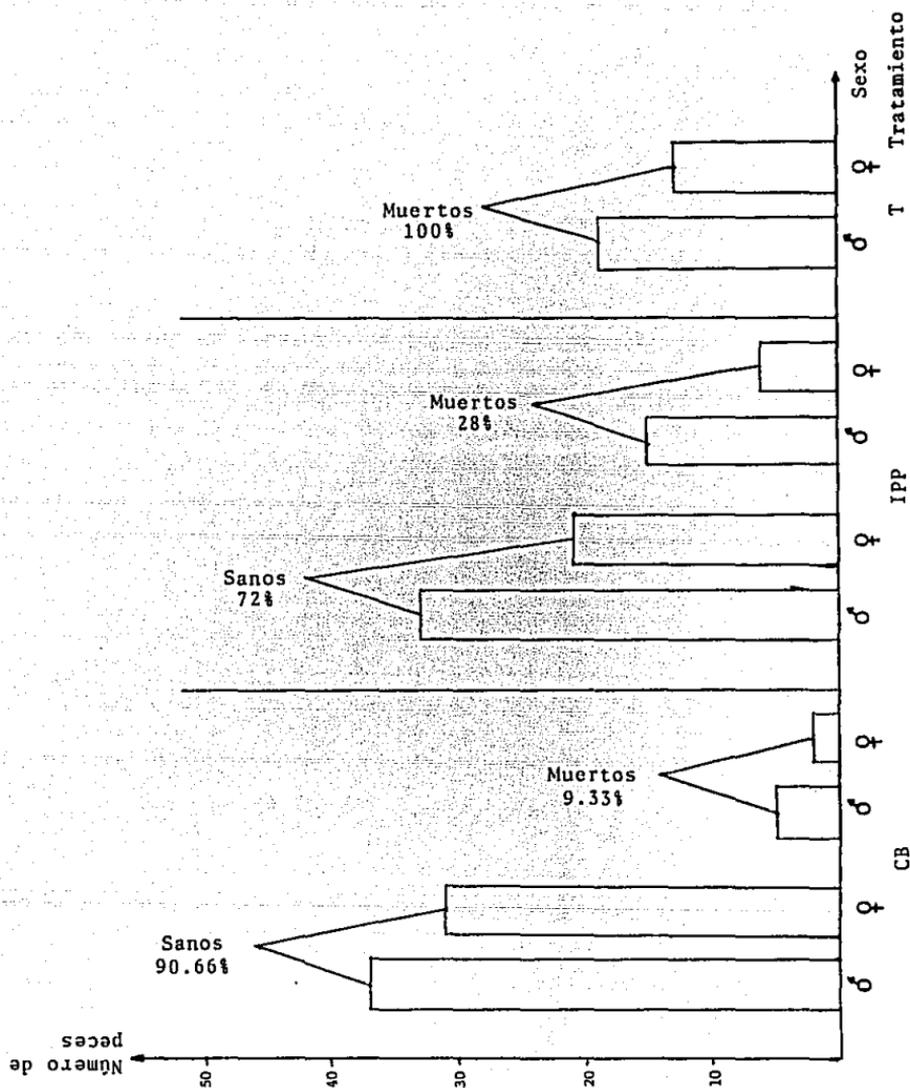


Fig. 17 Representación gráfica de los porcentajes de sobrevivencia y mortalidad en los reproductores de Salmo gairdneri

8. DISCUSION DE RESULTADOS

8.1 Taxonomía

De acuerdo a los resultados de las estructuras reproductoras sexuales y asexuales encontradas, se identificó como al agente causal de la saprolegniasis a Saprolegnia parasitica Coker, 1923. Este resultado concuerda con las observaciones realizadas por Coker and Matthews, 1937; Tiffney, 1939b; Willouhby, 1962; Sparrow, 1960; Amlacher, 1970; Seymour, 1970; Webster, 1970; Conroy, 1976; Rubin, 1978; Roberts, 1981; Von Arx, 1981; Pérez, 1982 y Jiménez et. al., 1988, en el sentido de que S. parasitica es considerado un hongo saprófito e ictiopatógeno.

8.2 Parámetros físicos y químicos

La calidad del agua para el cultivo de organismos acuáticos es de vital importancia, ya que si los niveles óptimos de cada uno de los parámetros físico-químicos del agua no son los más adecuados, o no se encuentran en el rango permisible para el cultivo de una determinada especie provocará "stress" o tensión y el consiguiente debilitamiento del organismo acuático, predisponiéndolo a ser atacado por algún patógeno, presente en el agua o incluso causando mortalidad por anoxia (SEPESCA, 1988).

TEMPERATURA

Los organismos tienen un límite superior e inferior de tolerancia térmica y temperaturas óptimas para su crecimiento, incubación de los huevos, índice de conversión de alimentos y resistencia a determinadas enfermedades. Estos óptimos pueden ser todos diferentes o pueden cambiar según otros factores como la presión de oxígeno y el pH del agua.

Tomando en cuenta lo reportado por SEPESCA (1986), en relación al rango de temperatura óptima para la reproducción de S. gairdneri bajo las condiciones ambientales y de cultivo de nuestro país, se tiene que oscila de 8° a 12°C. Dadas las condiciones de temperatura encontradas durante el estudio, los valores de 8.6° a 12.5°C son adecuados para la reproducción de esta especie.

Cabe señalar que durante el período de desove y espermatismo de la trucha arcoiris se tuvieron las temperaturas más bajas, de 8.6° a 10.3°C. Asimismo, en el gráfico de temperatura se muestra un descenso notable entre los meses de noviembre a febrero, lo que coadyuvó en la presentación de problemas micóticos debidos a Saprolegnia. Lo anterior se expresa por las observaciones clínicas en campo.

OXIGENO DISUELTO

El oxígeno disuelto tiene un comportamiento inverso con

respecto a la temperatura, es decir, que cuando se tienen bajas temperaturas se esperaría encontrar concentraciones de oxígeno disuelto más altas (Wetzel, 1981).

Así, la cantidad de oxígeno disuelto que necesitan la mayor parte de los peces bajo cultivo para las condiciones de nuestro país según Swingle (1969) citado por Arredondo -- (1986), debe ser mayor de 5 ppm para que el pez tenga una reproducción y crecimiento normales (Contreras, 1988; SEPESCA, 1988).

De esta manera, los niveles mínimos de concentración de oxígeno tolerados por la trucha son de aproximadamente 5.5 ppm (Aguilera y Noriega, 1986; FONDEPESCA, 1988; Jiménez et. al. 1988). Los valores de oxígeno disuelto reportados en el presente trabajo (6.4 a 7.8 ppm) se encuentran en el mínimo permisible para el cultivo de la especie, por lo que no representó un factor que contribuyera a la aparición de enfermedades.

pH

De acuerdo con Swingle (1961), citado por Arredondo -- (1986), el rango más apropiado para la reproducción de peces es de 6.5 a 9; debajo de 4 se produce muerte ácida y por encima de 11 muerte alcalina. Asimismo, un pH inferior a 5 precipita el hierro coloidal, lo que impide la función respiratoria de las branquias (Contreras, 1988). Para el cultivo de

la trucha es necesario que el pH sea lo más estable dentro de un rango de 6.5 a 8 ya que las variaciones lesionan o estresan a esta especie (Aguilera y Noriega, 1986).

Según los valores de pH reportados en este estudio (6.4 a 6.7) se tuvo una tendencia hacia la estabilidad, ya que predominó un valor de 6.5, por lo tanto, el sistema de amortiguamiento no afectó la reproducción de la trucha arcoiris.

ALCALINIDAD

La importancia de la alcalinidad radica en su comportamiento como un amortiguador en los cambios de pH. Alcalinidades superiores a 200 ppm pueden afectar la productividad de los estanques y las branquias de las truchas; en el estudio, la alcalinidad a la fenoftaleína se mantuvo de 32 a 35 ppm, por lo que a este nivel no afectó la producción de truchas y el pH se mantuvo estable.

DUREZA AL CALCIO

Durante el estudio se determinó la dureza dada por iones calcio (31 a 41 ppm); como la dureza se relaciona con la alcalinidad (debido a que los aniones de la alcalinidad y los cationes de la dureza, se derivan de carbonatos minerales), en el sentido de que ambos guardan un comportamiento paralelo, se espera que las fluctuaciones de la dureza no alteren las condiciones de cultivo de S. gairdneri. De no ocurrir lo

anterior, la concentración de carbonato de calcio podría ser elevada (incluso mayor al límite superior de 250 ppm) y se produciría una excesiva presión osmótica asfixiando a los peces.

8.3 Morfometría y sexo

A pesar del hecho de que durante el período de reproducción de S. gairdneri, en el centro piscícola se utilizaron 2131 machos y 3017 hembras en el ciclo y, de que en el desove se emplearon a 1.7 hembras por cada macho, se tuvo una mayor incidencia de la enfermedad en machos (1 hembra por cada 1.5 machos enfermos), durante el estudio. Esto se debió a que durante la reproducción de esta especie se usó hasta tres veces a un macho para el espermatismo, mientras que las hembras sólo fueron desovadas una vez.

Por otro lado, al estimar los rangos de edad para la población tratada en el estudio, se ve que la mayor cantidad de reproductores se encontraron en el segundo y tercer rango con 138 (75.8%) organismos. Esto se atribuye a que del total de la población reproductora en "El Zarco" (5148 organismos), el 87.3% (4494 organismos) se encuentra entre 37 y 51 cm, tamaño que corresponde al segundo y tercer rango de edad estimado.

Durante el manejo, los organismos más susceptibles a ad

quirir la saprolegniasis fueron aquéllos que presentaron una mayor resistencia al manejo, los cuales correspondieron precisamente al segundo y tercer rangos, a pesar de que también se tuvieron reproductores infectados del primer y cuarto rango de edad.

Del primer rango sólo se tuvieron 28 organismos (15.4%), lo que se debió a que su tamaño permitió un más fácil manejo mientras que los 16 organismos (8.8%) del cuarto rango por haber sido empleados como reproductores en alguna otra ocasión, permitieron su manejo haciendo que su frecuencia fuese la menor.

De esta manera, al tener mayor cantidad de organismos en el segundo y tercer rango de edad, las medias de la población infectada durante el estudio fueron de 43.74 cm. de longitud y de 1220 g. de peso.

En general, debido a que los reproductores se expusieron continuamente a masajes manuales para el desove y espermatismo, éstos perdieron gran parte de su glucoproteína protectora tanto a nivel abdominal como en la región cefálica, a pesar de que durante su reproducción aumenta aún más la capa de mucus en todo su cuerpo. Por lo tanto, al ubicar las lesiones de los organismos enfermos, se tuvo que la mayor incidencia se presentó en el cuerpo y en la cabeza, siendo estas lesiones más frecuentes en el segundo y tercer rango de edad.

Por el contrario, en las branquias y aletas sólo se tuvieron 1 (0.55%) y 9 (4.95%) organismos infectados, respectivamente. Esto fue debido principalmente a que estas zonas no son las utilizadas para inmovilizar al pez; aún así, se presentaron organismos en los que hubo más de una zona lesionada, como los que sufrieron lesiones en todo su cuerpo, esto como consecuencia de que a estos organismos no se les aplicó ningún fármaco por lo que el hongo se extendió a más de una zona del cuerpo.

Cabe señalar que las lesiones en branquias tienen una relación directa con la incidencia de las infecciones presentadas en la cabeza, ya que al sujetar al pez por ésta, se ejercía una presión sobre los opérculos de tal manera que en ocasiones llegó a dañar a las branquias, propiciándose así la infección por Saprolegnia parasitica.

8.4 Estudio histopatológico

De las observaciones clínicas de la enfermedad se tuvo que el hongo se estableció de manera focal, presentándose en forma de manchas blanco-grisáceas sobre la piel, branquias, aletas y ojos de S. gairdneri. Estas observaciones coinciden con lo reportado por Roberts (1981), Amlacher (1970), Seymour (1970) y Pérez (1982).

De las secciones infectadas por Saprolegnia, a excepción

de aletas, una vez teñidas con H.E., se mostraron las siguientes lesiones:

- Hiperplasia branquial ocasionada por la acción individual o combinada de algunos agentes agresores irritantes, tales como hongos, bacterias, e incluso altas concentraciones de nitrógeno amoniacal. Esta lesión trajo como consecuencia una hipoxia en el organismo, llegando en ocasiones a causarle anoxia.

- Degeneración mucosa debida a la proliferación de células caliciformes sobre las células epiteliales bordeadoras de las lamelas, las que produjeron mucus como primera reacción para contrarrestar el efecto del o los agresores irritantes.

- Necrosis celular causada por el efecto proteolítico del propio hongo, el cual al penetrar las capas celulares superficiales de branquia y piel ocasionó una lisis celular en éstas, produciendo tejido degenerativo caracterizado por células necrosadas y de núcleos picnóticos, los cuales son no funcionales.

- Inflamación aguda (la que nos indicó que la reacción al agente causal acababa de suceder). Esta se manifestó por la presencia de puntilleo heterófilo con núcleo lobulado en células polimorfonucleares.

- Inflamación piógena, la que se presentó como respues-

ta a una posible infección secundaria de origen bacteriano - debida a Pseudomonas o Aeromonas (Amlacher, 1970). En esta lesión la infección secundaria ocasionó la presencia de piocitos entre las células.

- Una miositis piógena como resultado de infiltrados de células mononucleares en el tejido muscular, debida a una infección secundaria ocurrida después de la necrosis celular.

- Endoftalmitis piógena la cual se atribuyó a una invasión secundaria por bacterias. Esta permitió la infiltración de células mononucleares en la coroides, lo que provocó el engrosamiento de esta capa.

- Cicatrización manifestada por la formación de tejido conjuntivo fibroso, el cual sustituyó a las células destruidas ocupando el espacio dejado por éstas. Sin embargo, este tejido de reemplazo no es funcional, ocasionando hipoxia o anoxia a nivel de branquias.

- Branquiectasia debida al mal manejo de los organismos lo que ocasionó la formación de minitrombos en las puntas de las lamelas por la sangre necrosada. Estos trombos convierten a las lamelas en no funcionales, por lo que el intercambio gaseoso disminuye.

Posteriormente, de las primeras ocho lesiones anteriores se obtuvieron las frecuencias de prevalencia e incidencias de las lesiones histológicas en porcentaje, las cuales

nos mostraron que tanto para la hiperplasia branquial como para la degeneración mucosa no existió una respuesta favorable para los tratamientos, ya que en todos los casos se obtuvieron valores de 100/100, aun para el grupo sin cambios patológicos aparentes. Mientras para las otras seis lesiones se encontró que los datos reportados indicaron que existieron diferencias entre los tratamientos. Aún así, se confirma que tanto el cloruro de benzalconio como el yodo polivinilpirrolidona evitan las infecciones secundarias por piógenos, lo que es muy conveniente ya que gran parte de la mortalidad por saprolegniasis se debe a estas infecciones superpuestas, y consecuentemente a septicemia (Amlacher, 1970).

Una vez realizada la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher se obtuvieron los niveles de significación y los porcentajes de confianza mostrados en la tabla 6, los cuales nos indican que a medida que el porcentaje de confianza se acerca a 100, los resultados entre los dos tratamientos son debidos al efecto de los mismos. Por el contrario, cuando el porcentaje se aleja de 100 se le atribuye a este resultado un error sistemático. De esta manera, se observa que el tratamiento con cloruro de benzalconio tuvo los por cientos de confianza más altos.

Para establecer si la sobrevivencia de los organismos dependió del tratamiento utilizado, se realizó la prueba de -

Ji-cuadrada de Independencia, con la cual se comprobó que la sobrevivencia de los organismos dependió del tratamiento, debido a que de los valores calculados la X^2 (84.95) fue mayor que la X^2 teórica (5.99) obtenida de tablas con un 95% de confianza.

8.5 Tratamiento más eficaz

Como puede observarse en las gráficas de barras (Fig. 17), la mortalidad medida en porcentaje fue menor en los peces tratados con cloruro de benzalconio (9.33%), que en aquellos tratados con yodo polivinil pirrolidona (28%) y los del grupo testigo (100%), estos resultados coinciden con las observaciones de Reinchenbach-Klinke (1966), en el sentido de que este cloruro ha resultado mejor fungicida que los derivados de yodo. La mortalidad observada en los peces tratados con yodo polivinil pirrolidona coincide con los resultados reportados por De la Torre (1985) en tratamiento de la saprolegniasis en Gambusia affinis, ya que reportó un índice de mortalidad de 42.8% con yodo isomérico; aunque parezca un poco elevado este porcentaje, cabe señalar que Gambusia no tiene la misma resistencia que S. gairdneri contra el ataque de Saprolegnia parasitica.

De acuerdo con Willoughby, citado por Roberts (1981), la

cutícula de los salmónidos está dotada de una cierta actividad antifúngica y más aún la de los reproductores, ya que está particularmente más desarrollada; sin embargo, a pesar de esta mayor protección, la infección fúngica se presentó en estos organismos y fue letal para aquéllos en los que no se aplicó ningún fármaco (grupo testigo). Aquí se resalta más la importancia de aplicar quimioterapias para disminuir la mortalidad que ocasionan estas infecciones.

Por haberse tenido una dureza de calcio superior a 30 ppm y un pH mayor a 6, la toxicidad de los productos químicos utilizados fue menor, haciendo que su eficacia fuese mayor (Roberts, 1981; SEPESCA, 1988; Herwig, 1979), es decir, que cuanto más alto es el pH, menor es la acidez y mayor la dureza, por lo que menor es la toxicidad de los productos químicos y mayor la eficacia de los tratamientos. No obstante esta regla general, la sobrevivencia fue mayor en el grupo tratado con cloruro de benzalconio (90.66%), que en el tratado con yodo polivinil pirrolidona (72%). Esto se debió a que el cloruro de benzalconio es considerado un agente tensoactivo catiónico, con acción antiséptica de comienzo rápido, de buena penetración tisular y poca toxicidad sistémica; mientras el yodo polivinil pirrolidona es un yodóforo considerado como un agente tensoactivo aniónico, el cual después de su aplicación libera lentamente yodo libre que actúa como germicida. Además, este fármaco es menos irritante y tóxico

que las soluciones alcohólicas y acuosas de yodo (Merck and Dohme, 1986; Merck Index, 1976; Remington's, 1975). Sin embargo, aun cuando los dos medicamentos fueron poco tóxicos e irritantes para los organismos tratados, la eficacia fue mayor con el cloruro de benzalconio ya que de las observaciones clínicas se tuvo que este fármaco actuó rápidamente sobre las lesiones, mientras que el yodo polivinil pirrolidona actuó lentamente coadyuvando a que algunas lesiones persistieran y que otras conllevaran a la muerte del organismo

Desde el punto de vista patológico, el tratamiento con cloruro de benzalconio presentó mayor inocuidad y consecuentemente mayor efectividad que aquél con yodo polivinil pirrolidona, estos resultados confirman los de Hoffman and Meyer (1974), Ricker and Whipple (1951) y Snieszko (1959). Por otro lado, Abolafia et. al. (1985), Finn and Nielsen (1971) y Rodríguez (1985), concluyen que los efectos del yodo dejan mucho que desear en cuanto a su inocuidad en mucosas y tejidos.

Si bien los resultados obtenidos son alentadores, es conveniente hacer hincapié en que el problema de las micosis en peces son debidas a saprófitos y que la causa predisponente es preferentemente un mal manejo en las zonas de explotación, ya sea en el control de los parámetros físicos del medio ambiente acuático (aseo de los estanques, alimentación, sobrepoblación), o en la manipulación de los individuos; como ya

se había mencionado, en el caso específico de "El Zarco", los animales afectados fueron los reproductores que se expusieron continuamente a masajes manuales tanto para desove como para espermatismo, con lo que se perdió gran parte de la glucoproteína protectora a nivel abdominal medio inferior, lugar donde se inició la infección micótica primaria.

8.6 Bacterias asociadas a Saprolegnia

Para este caso, de los medios de cultivo en que se sembraron las muestras de bacterias contenidas en los furúnculos que presentaron algunos peces, se encontró que algunas de las bacterias que se asociaron a la infección micótica fueron Streptococcus bovis y Streptococcus equinus y Bacillus sp., lo que se atribuyó a una contaminación del agua que alimenta la estanquería de "El Zarco" por heces de ganado de las zonas aledañas a dicho centro. Al encontrarse estos patógenos en el medio acuático, basta que encuentren un medio favorable en el pez para causar una infección primaria, la cual abre el camino para algún tipo de infección secundaria (micosis) (Roberts, 1981).

9. CONCLUSIONES

Tomando como base los resultados de las estructuras reproductoras sexuales y asexuales encontradas, se identificó como al agente causal de la Saprolegniasis a Saprolegnia parasitica Coker, 1923.

De los parámetros físicos y químicos evaluados (temperatura, oxígeno disuelto, pH, Alcalinidad a la fenoftaleína, dureza al calcio), la temperatura resultó ser el principal factor que favoreció la incidencia de la saprolegniasis. Los demás parámetros se mantuvieron dentro de los rangos óptimos para el cultivo de S. gairdneri, así dadas las condiciones de "El Zarco", éstos no coadyuvaron en la aparición de problemas micóticos.

Por lo que respecta a la biometría, la incidencia de la enfermedad en los organismos tratados se dio en cuatro rangos de edad a saber: de 24 a 37 cm, con 28 organismos (15.4%); de 37.1 a 45 cm, con 86 organismos (47.25%); de 45.1 a 51 cm, con 52 organismos (28.55%) y de 51.1 a 58 cm, con 16 organismos (8.8%). En estos rangos de edad se describieron cuatro diferentes áreas infectadas por el hongo en el cuerpo de los reproductores, las que fueron en la cabeza, cuerpo, branquias y aletas, de las cuales la más frecuente fue en el cuerpo.

En cuanto al sexo se encontró que la incidencia de la

enfermedad fue más frecuente en los machos ya que en la reproducción se empleó hasta tres veces a cada macho, mientras que las hembras sólo se utilizaron una vez. Esto se reflejó en la proporción de sexos estimada en el estudio para los organismos tratados, la que fue de una hembra por cada 1.5 machos.

Del estudio histopatológico realizado a las secciones de piel, branquias y ojo infectadas por Saprolegnia, se encontraron las siguientes lesiones: hiperplasia branquial, de generación mucosa, necrosis celular, inflamación aguda, inflamación piógena, miositis piógena, endoftalmitis piógena y cicatrización. A estas lesiones se les determinó un por ciento de frecuencia e incidencia por cada tratamiento y a estos valores se les aplicó la prueba de la Probabilidad Exacta de Fisher, con la que se determinó que el tratamiento con cloruro de benzalconio tuvo los porcentajes de confianza mayores, lo que implica que estos valores se debieran al efecto del propio tratamiento.

Además de estas lesiones se presentó otra a nivel de branquias denominada "branquiectasia", la que fue debida al manejo de los organismos.

A partir de los porcentajes de sobrevivencia, se tuvo que el tratamiento con cloruro de benzalconio fue el más eficaz con un 90.66% de sobrevivencia, seguido del tratamiento con yodo polivinil pirrolidona con un 72% de sobrevivencia.

Por el contrario, al no aplicar ningún fármaco al grupo testigo, el por ciento de mortalidad fue de 100%. De esta manera se reflejó que la sobrevivencia de los reproductores dependió del tratamiento utilizado, lo que se comprobó con la prueba de χ^2 de Independencia.

Finalmente, se identificaron algunas de las bacterias asociadas a Saprolegnia parasitica, encontrándose a Streptococcus bovis, Streptococcus equinus y a Bacillus sp..

10. SUGERENCIAS

- Realizar un estudio comparativo de costos entre el tratamiento curativo a base de cloruro de benzalconio y un tratamiento profiláctico a base de sustitutos glusídicos (gelatina neutra) para la lubricación del área de masaje.

- Realizar un estudio que estime la eficacia del yodo polivinil pirrolidona a diferentes dosis y/o variando el tiempo de aplicación del reactivo.

- Debido a que el manejo inadecuado de los reproductores de "El Zarco" durante su desove y espermatismo es la causa principal de la micosis que presentaron, se hace conveniente evaluar los costos de la aplicación de anestésicos, los que favorecerían el manejo de los organismos, en contraste con la inversión requerida para la quimioterapia curativa de la saprolegniasis.

- Determinar si la capacidad de carga de los estanques del centro es un factor que propicie la ocurrencia de esta micosis.

- Tomando como base el cuadro de la tabla 8, tratar de identificar las especies de Bacillus asociadas a Saprolegnia parasitica.

11. BIBLIOGRAFIA

11.1 Bibliografía citada

- ABOLAFIA, A.A. et. al. (1985). "Evaluación del efecto cicatrizante de la acupuntura", Rev. Vet. Mex., 16:27-31.
- AGUILERA, H.P. Y NORIEGA, C.P. (1986). "La trucha y su cultivo", FONDEPESCA, SEPESCA, México, 60 pp.
- ALEXOPOULOS, C.J. AND MIMS, C.W. (1964). "Introductory Mycology", 3a. ed., Jhon Wiley and Sons, U.S.A., 632 pp.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (A.P.H.A.), AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (A.W.W.A.) AND WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (W.P.C.F.), (1976). "Standard methods for the examination of water and waste water", 14th ed. Joint Editorial Board, U.S.A., pp. 61-63, 125-300, 406-549.
- AMLACHER, E. (1970). "Textbook of Fish Diseases", T.F.H. - Publications, U.S.A., 302 pp.
- ARMIJO, A. et. al. (1988). "Glosario de Términos de Acuicultura", 1a. ed., SEPESCA, México, 210 pp.
- CETENAL, (1970). "Carta de Climas". México, 14-Q-V.
- CETENAL, (1978). "Carta Geológica", 2a. imp., Toluca E-14-A-38.
- CETENAL, (1979a). "Carta de uso del suelo", 2a imp., Toluca.

- CETENAL, (1979b). "Carta Edafológica", 2a. imp., Toluca.
- CETENAL, (1984). "Carta Topográfica", Toluca.
- COKER, W.C. (1923). "The Saprolegniaceae, with notes on other water molds", Univ. North Carolina Press, 201 pp.
- COKER, W.C. AND MATTHEWS, V.D. (1937). "Blastocladiales, Monoblepharidales, Saprolegniales", N. Am. Flora, 2 (1), 76 pp.
- CONTRERAS, F.L.E. (1988). "Manual de prevención de enfermedades que afectan a los organismos en cultivo", 1a. ed., SEPESCA, México, 83 pp.
- CONROY, D.A. Y VAZQUEZ, D.C. (1976). "Principales Enfermedades Infectocontagiosas de los Salmónidos". INDERENEA-FAO, Bogotá, Colombia, 252 pp.
- COPLAND, J.W. AND WILLOUGHBY, L.G. (1982). "The pathology of Saprolegnia infections of Anguilla anguilla", Journal of Fish Diseases, Vol. 5, No. 5, 421-428.
- DE LA TORRE, R.J.T. (1985). "Evaluación de cuatro diferentes tratamientos en terapia de Saprolegniasis en peces de acuario", Tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., México, 28 pp.
- FINN, J. AND NIELSEN, N.O. (1971). "The effect of temperature variation the inflammatory response of rainbow trout",

- J. Path. 105: 257-267.
- FONDEPESCA, (1988). "Formulación de Proyectos: guía para -
truticultura", México, 95 pp.
 - GOMEZ, A.S. Y ARENAS, F.V. (1987). "Contribuciones en Hidro-
biología", 1a. ed., U.N.A.M., México, 278 pp.
 - HERWIG, N. (1979). "Handbook of drugs and chemicals used
in the treatment of fish diseases", Ed. Charles C. Thomas
Publisher, Illinois, U.S.A.
 - HOFFMAN, G.S. AND MEYER, F.P. (1974). "Parasites of fresh-
water fisher", T.F.H. Publications, New Jersey.
 - JIMENEZ, G.F. et. al. (1988). "Sanidad Acuícola", 1a. ed.,
FONDEPESCA, México, 261 pp.
 - KANOUSE, B.B. (1932). "A physiological and morphological -
study of Saprolegnia parasitica", Mycology, 24, 431-452.
 - LAEVASTU, T. (1971). "Manual de Métodos de Biología Pesque-
ra", Public. F.A.O., Ed. Acribia, Zaragoza, España. 243 pp.
 - MAC FADDIN, J.F. (1980). "Pruebas bioquímicas para la iden-
tificación de bacterias de importancia clínica", Ed. Pana-
mericana, México, 301 pp.
 - MANUAL OF HISTOPATOLOGIC STAINING METHODS (1968), 3a. ed.,
Mc Graw Hill, U.S.A, 258 pp.

- MARQUES, M.J. (1988). "Probabilidad y Estadística para Ciencias Químico-Biológicas", 1a. ed., U.N.A.M., México, 657 pp.
- MERCK SHARP AND DOHME INTERNATIONAL (1986). "El Manual Merck", 7a. ed., Rahway, N.J., U.S.A., 2310 pp.
- NIKOLSKY, G.V. (1976). "The Ecology of Fishes", Academic Press Inc., New York, 353 pp.
- PEREZ, S.L.A. (1982). "Piscicultura", 1a. ed., Ed. El Manual Moderno, S.A., México, 154 pp.
- REICHENBACH-KLINKE, H.H. (1966). "Claves para el diagnóstico de las enfermedades de los peces", Ed. Acribia, Zaragoza, España, 89 pp.
- REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (1975). Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, U.S.A., 1957 pp.
- RUCKER, R.R. AND WHIPPLE, W.J. (1951). "Effects of Bactericidas on Stulhead Trout Fry", Prog. Fish. Cult., 13 (1): 43-44.
- ROBERTS, R.J. (1981). "Patología de los Peces", Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España, 366 pp.
- ROBERTS, R.J. AND SHEPHERD, C.V. (1986). "Handbook of Trout and Salmon Diseases", 2a. ed., Published by Fishing News Book, England, 222 pp.

- RODRIGUEZ, F. (1985). "Evaluación de la capacidad de cicatrización de un campo eléctrico en heridas contaminadas con Staphylococcus aureus", Tesis de licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot., U.N.A.M.
- RUBIN, R.R. (1978). "La piscifactoría (Cría industrial de los peces de agua dulce)", 2a. ed., C.E.C.S.A., México, 191 pp.
- RZEDOWSKY, J. (1986). "Vegetación de México", 3a. reimpre-
sión, Ed. Limusa, México, 432 pp.
- SEPESCA, (1986). "Piscicultura de agua dulce. Manual recetario: bagre-carpa-trucha-tilapia", México, 461 pp.
- -----, (1988). "Lineamientos normativos para la sanidad y nutrición acuícola en México", México, 532 pp.
- SEYMOUR, R.L. (1970). "The genus Saprolegnia", Nova Hedwigia, 19:1-60.
- SIEGEL, S. (1978). "Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta", 2a. ed., Trillas, México.
- SNIESZKO, S.F. (1959). "Antibiotics in Fish Diseases and Fish Nutrition", Antibiotics and Chemotherapy, 9 (9); 541-545.
- SPARROW, F.K. (1960). "Aquatic Phycomycetes", second revised edition, Ann Arbor, The University of Michigan Press, U.S.A., 1185 pp.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- STARR, J.D. AND WARREN, E.B. (1963). "The fishes of North and Middle America", T.F.H. publications, Inc. Jersey City, U.S.A. 954 pp.
- THE MERCK INDEX (1976). 9a. ed., Published by Merck and Co., Inc. Rahway, N.J., U.S.A., 1313 pp.
- TIFFNEY, W.N. (1939a). "The host range of Saprolegnia parasitica", *Micologia*, 310-321.
- ----- (1939b). "The identity of certain species of the Saprolegniaceae parasitic to fish", *J. Elisha Mitchell Scient. Soc.*, 55, 134-151.
- VON ARX, J.A. (1981). "The Genera Fungi", 3a. ed., K.G.FL-9490 Vaduz, Germany, 424 pp.
- WADSWORTH, G.P. AND BRYAN, J.G. (1979). "Aplicaciones a la teoría de probabilidades y variables aleatorias", 1a. ed., Ed. Alhambra, Madrid, España.
- WEBSTER, J. (1970). "Introduction to Fungi", 1a. ed., Printed by offset in Great Britain by Alden and Mowbray Ltd at the Alden Press. 424 pp.
- WETZEL, G.R. (1981). "Limnología", Omega, España, 679 pp.
- WILLOUGHBY, L.G. (1962). "The occurrence and distribution of reproductive spores of Saprolegnia in fresh water", *F. Ecol.*, 50, 733-759.

- ZSCHIESCHER, B. (1980). "Tabla de frecuencia de prevalencia e incidencia de lesiones histológicas en las diferentes enfermedades de peces", Zoologischer Anzeiger, 36: 291-300.

11.2 Bibliografía Consultada

- ACUAVISION, (1988). FONDEPESCA, México. Año 2, No. 12, 40 pp.
- ACUAVISION, (1988). FONDEPESCA, México. Año 3, No. 13, 40 pp.
- AINSWORTH, G.C. (1966). "A general purpose classification of fungi", Bibliography of systematic mycology, 1-4.
- BARDACH, J.E. et. al. (1986). "Acuacultura", AGT Editor, México, 741 pp.
- BLANK, I.H. AND TIFFNEY, W.N. (1936). "The use of UV-irradiated culture media for securing bacteria free cultures of Saprolegnia", Mycology, 28, 324-329.
- BUELL, C.B. AND WESTON, W.H. (1947). "Application of the mineral oil conservation method to maintaining collections of fungus cultures", Am. F. Bot., 34, 551-561.
- COWAN, S.T. AND STEEL, K.J. (1985). "Manual para la identificación de bacterias de importancia médica", 3a. ed., C.E. C.S.A., México.

- DAVIS, H.S. (1953). "Culture and Siseases of game fishes", Univ. Carolina Press, Berkeley and The Angeles, 332 pp.
- DICK, M.W. (1973). "Saprolegniales", In G.C. Ainsworth, F. K. Sparrow and A.S. Sussman (eds), The Fungi, Vol. IVb, - New York.
- KAUFFMAN, C.H. (1908). "A contribution to the physiology - of the Saprolegniaceae, with special reference to varia-- tions of the sexual organs", Ann. Bot., London, 22: 361-387.
- LABORATORY MANUAL FOR FOOD CANNERS PROCESSORS (1968). Com- piled by National Nanners Association Research Laboratories, Vol. 1.
- LAGLER, K.F. et. al. (1984). "Ictiología", AGT Editor, S. A., México, 489 pp.
- MIGUEZ, B.J.P. (1980). "Nociones sobre morfología, anato-- mía y fisiología de salmónidos", Instituto Nacional de Ca- pacitación Profesional, México, 1-17.
- SCOTT, W.N. AND O'BIER, A.H. (1962). "Aquatic Fungi Asso- ciated with Diseased fish and their eggs", Progve Fish - Cult., 24, 90-92.
- STUART, M.R. AND FULLER, H.T. (1968). "Micological aspects of diseased Atlantic salmon", Nature, London. 217, 90-92.
- TALBOT, P.H.B. (1978). "Principles of Fungal Taxonomy", -

The Mac Millan Press LTD.

- TE STRAKE, D. (1959). "Estuarine reproduction and saline - tolerance of some Saprolegniaceae", *Phyton*, B. Aires. 12, 147-152.
- WHEATON, F.W. (1982). "Acuacultura", AGT Editor, México, - 741 pp.
- WITTAKER, R.H. AND MARGULIS, L. (1978). "Protist classification and the Kingdoms of organisms", *Byosystems*, 10: 3-18.