

UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZÁN”

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA



AISLAMIENTO DE *Saprolegnia spp*, EN TRUCHA ARCOIRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*) DE DIFERENTES ESTADÍOS DE DESARROLLO,  
CRIADOS EN CAUTIVERIO EN LA UNIDAD PRODUCTORA DE  
MOLINOS - PACHITEA - HUÁNUCO 2017

TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO

PRESENTADA POR

AGUILAR ROSALES, Nataly

HUÁNUCO – PERÚ

2017

# DEDICATORIA

*A nuestro señor Jesucristo  
Por su bondad infinita y por la grandeza  
de su amor que nos brinda en cada  
paso de nuestras vidas.*

*Con amor a mis padres Lida y Rafael  
por su constante e incondicional  
apoyo que me brindaron y por sus  
consejos que me ayudaron a  
alcanzar mis metas.*

*A mis queridos Hermanos (as) con  
mucho cariño.*

## AGRADECIMIENTO

A mis maestros de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan, por sus sabias enseñanzas científicas y humanas.

A mi asesora de la tesis. MV. Ernestina Ariza Ávila, por su notable apoyo y guía en este trabajo de investigación.

Al Dr. Juan Battaglia Aljaro, especialista en Truchas, por su generoso apoyo como consultor.

Al Ing. Jorge Escalante Soplin, quien, como Director Regional de Producción, del Gobierno Regional de Huánuco, permitió la realización de este trabajo en la Unidad Productora de Molinos.

Al Blgo. Gilmer Paredes Manrique, jefe de la Unidad Productora de Molinos, y a todos los técnicos de este centro acuícola, por brindarme los recursos y las facilidades requeridas para la ejecución de esta tesis.

A mis amigas, por motivarme y alentarme en la realización de la tesis.

**AISLAMIENTO DE *Saprolegnia spp.* EN TRUCHA ARCOÍRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*) DE DIFERENTES ESTADIOS DE DESARROLLO,  
CRIADOS EN CAUTIVERIO EN LA UNIDAD PRODUCTORA DE MOLINOS -  
PACHITEA - HUÁNUCO 2017**

**RESUMEN**

Se realizó un estudio con el objetivo de demostrar la existencia de ***Saprolegnia spp.*** en Truchas Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***) en la Unidad Productora de Molinos, Huánuco. Para tal fin, se colectaron Ovas verdes de artesas (50/200); se tomó muestras mediante el método de Skim Scrapes (raspones) de aleta dorsal y piel e hisopado de branquias de Alevines free (50/200), Juveniles Fingers ling (50/200) y Adultos reproductores (50/200) de distintos estanques. Las muestras fueron llevadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán para ser cultivadas en Agar Sabouraud Dextrosa adicionado con un antimicrobiano para evitar flora acompañante a una temperatura de 30°C con una humedad de 80%, hasta observar crecimiento ( $\pm$  5 días), evidenciando colonias típicas de ***Saprolegnia spp.*** resultaron positivos en todos los estadios un 40.5% (81/200) y negativos un 59.5% (119/200), se aisló colonias puras de este hongo y fueron cultivadas en Agar Harina Maíz para su caracterización microscópicas. El método fue efectivo, porque los sustratos empleados, favorecieron el crecimiento y aislamiento de cepas puras del hongo, pudiéndose observar la fase asexual, con formaciones de zoosporangio joven.

**Palabras claves:** *Saprolegnia*, *Oncorhynchus*, Sabouraud, Harina Maiz, zoosporangio.

**ISOLATION OF *Saprolegnia spp*, IN TRUCHA ARCOÍRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*) OF DIFFERENT STAGES OF  
DEVELOPMENT, IN CAUTIVES IN THE PRODUCTION UNIT OF  
MOLINOS - PACHITEA - HUÁNUCO 2017**

**SUMMARY**

A study was carried out to demonstrate the existence of ***Saprolegnia spp***. In Rainbow Trout (***Oncorhynchus mykiss***) at the Molinos Production Unit, Huánuco. For this purpose, green eggs of troughs were collected (50/200); Samples were taken using the method of Skim Scrapes of dorsal fin and skin and gill swabs of free fry (50/200), Juvenile Fingers ling (50/200) and Adult breeding (50/200) from different ponds. The samples were carried to the laboratory of Microbiology of the Faculty of Veterinary Medicine of the National University Hermilio Valdizán to be cultivated in Agar Sabouraud Dextrosa added with an antimicrobial to avoid accompanying flora at a temperature of 30 ° C with a humidity of 80%, until observe growth ( $\pm$  5 days), evidencing colonies typical of ***Saprolegnia spp***. they were positive in all the stages 40.5% (81/200) and negative 59.5% (119/200), pure colonies of this fungus were isolated and they were cultivated in Agar Harina Maíz for its microscopic characterization. The method was effective, because the substrates used, favored the growth and isolation of pure strains of the fungus, it was able to observe the asexual phase, with formations of young zoosporangio.

**Key words:** *Saprolegnia*, *Oncorhynchus*, Sabouraud, Maize Flour Agar, zoosporangium.

## CONTENIDO

CAPÍTULO	Pág
RESUMEN .....	vii
SUMARY.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. REVISIÓN DE ESTUDIOS REALIZADOS.....	4
2.1.1. Estudios Internacionales.....	4
2.1.2. Estudios Nacionales.....	6
2.1.3. Estudios Regionales.....	8
2.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES.....	9
2.2.1. IMPORTANCIA DE LA ACUICULTURA.....	9
2.2.2. SITUACIÓN DE LA ACUICULTURA.....	10
La producción de Truchas en el Perú.....	11
Ciclo reproductivo.....	15
2.2.3. SAPROLEGNIASIS.....	19
2.2.4. RESPUESTA INMUNE HACIA SAPROLEGNIASIS.....	23
2.2.5. DEFINICIÓN DE TERMINOS BÁSICOS.....	27
III. MARCO METODOLÓGICO.....	29
3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	29

3.2.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	29
3.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	30
3.4.	PERIODO DE ESTUDIO.....	31
3.5.	MATERIALES.....	31
	Biológico.....	31
	De laboratorio.....	31
	Medios de cultivo y Reactivos.....	31
	De escritorio.....	31
	Equipos.....	31
3.6.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	32
	3.6.1. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO.....	33
	3.6.2. RECEPCIÓN DE MUESTRAS.....	33
	3.6.3. IDENTIFICACIÓN CONFIRMATIVA DE <i>Saprolegnia spp.</i> .....	34
IV.	RESULTADOS.....	36
V.	DISCUSIÓN.....	47
VI.	CONCLUSIONES.....	50
VII.	RECOMENDACIONES.....	51
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
	ANEXOS.....	60

## LISTA DE CUADROS

Número	pág.
1. Distribución de la población para la toma de muestras.....	30
2. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp.</i> en Truchas Arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), en la Unidad Productora de Molinos 2017.....	36
3. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp</i> en Ovas verdes de Trucha Arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) en la Unidad Productora de Molinos 2017.....	37
4. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp.</i> en Alevines free de Truchas Arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) en la Unidad Productora de Molinos 2017.....	37
5. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp.</i> en Juveniles Fingers ling de Truchas Arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	38
6. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp.</i> en Adultos reproductores de Truchas Arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	38
7. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp</i> en Truchas Arcoíris en la Unidad Productora de Molinos 2017.....	39
8. Frecuencia de <i>Saprolegnia spp</i> en Alevines free, Juveniles Fingers ling y Adultos reproductores de Trucha Arcoiris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ).....	41



## LISTA DE FIGURAS

Número	Pág
1. Vista macroscópica de <i>Saprolegnia spp.</i> en Medio de cultivo ADS con 5 días de incubación.....	42
2. Vista macroscópica de <i>Saprolegnia spp.</i> en cultivo ASD con 9 días de incubación .....	43
3. Vista macroscópica de <i>Saprolegnia spp.</i> Aislada en Medio de cultivo Agar Harina de Maíz.....	44
4. Hifas cenocíticas .....	45
5. Zoosporangio joven.....	45
6. Vista del esporangio (flecha verde) (anexo 10).....	46
7. Izquierda; se observa la columela (flecha roja), también se observa la apófisis (flecha verde). Derecha se observa el esporangióforo (flecha roja).....	46

## I. INTRODUCCIÓN

Los hongos acuáticos constituyen una de las micosis más frecuentes en peces de agua dulce, su presencia está asociada a los sistemas estuarinos; ya que constituyen uno de los aspectos más confusos y menos explorados de la ictiopatología; las cuales producen grandes pérdidas económicas en acuicultura, menores sólo a las pérdidas producidas por bacterias (**Gonzales et al., 2001**).

El relativo retraso en el desarrollo de la micología de peces responde a una serie de consideraciones de orden taxonómico. Solo después de 1970 se dispuso investigaciones continuadas, que permitieron contar con material especializado para la clasificación de estos microorganismos (**Kinkelin, 1985**). Además, por lo general los productores de peces se interesan en resolver inmediatamente problemas de tipo práctico, por ejemplo: casos en los cuales ha habido una alta mortalidad de peces atribuibles a un hongo en particular, el énfasis principal es eliminarlo rápidamente controlando el brote, sin interesarse en investigar el agente causal y su relación con las especies afectadas (**Hughes, 1994**).

Los hongos acuáticos constituyen tres órdenes (Saprolegniales, Leptomitales y Feronosporales) de la clase Oomycetes incluyen especies que pueden infectar a los peces, siendo los más patógenos los pertenecientes a la familia Saprolegniaceae (**Noga, 1996**).

En zonas de la región alto andina del Perú se ha incrementado el desarrollo de la acuicultura a través de la creación de numerosas piscigranjas, especializadas en el cultivo de Trucha Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***), que forma parte de la dieta de las personas ya sea en forma fresca, seca o ahumada.

Las infecciones micóticas son una de las principales causas de enfermedad y mortalidad en peces de agua dulce, sobre todo en piscigranjas, lo que hace que tenga una especial importancia económica al incidir directamente en el rendimiento de la explotación comercial (**Fernández, et al., 1990**).

Las especies del género ***Saprolegnia*** poseen un micelio aseptado, muy ramificado, de aspecto algodonoso bajo el agua. Sus estructuras reproductivas están separadas de las hifas somáticas por septos y la reproducción asexual se realiza por medio de zoosporas biflageladas producidas por hifas vegetativas, siendo éstas móviles, lo cual facilita su dispersión (**Roberts, 1981**).

Estos hongos son oportunistas típicos que se alimentan, normalmente, de la materia orgánica en descomposición. Son saprófitos ubicuos y aparecen como patógenos de peces cuando hay un cambio brusco en las condiciones ambientales del medio (**Bly et al., 1993**).

Las infecciones comienzan, a menudo, cuando se produce una inmunosupresión debido a una variación brusca de temperatura, posiblemente en combinación con niveles de amonio críticamente elevados o debido a factores relacionados con el estrés ambiental, como cambios bruscos en las condiciones fisicoquímicas del agua, etc. (**Bruno y Stamps, 1987**).

El presente trabajo permitió demostrar la existencia de ***Saprolegnia spp*** en Truchas Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***) de diferentes estadios de reproducción (Ovas verde, Alevines free, Juveniles Fingers ling y Adultos Reproductores), para lo cual se empleó una metodología que permite la caracterización y aislamiento de cepas puras de dicho hongo.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. REVISIÓN DE ESTUDIOS REALIZADOS

#### 2.1.1 Estudios internacionales

De acuerdo a lo reportado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - Venezuela durante la fase de incubación de ovas de *Oncorhynchus mykiss*, uno de los mayores problemas que se originan lo constituye el ataque producido por hongos oportunistas presentes en el agua. Los hongos pertenecientes al género *Saprolegnia spp*, son los patógenos que atacan más frecuentemente las ovas de salmónidos. La saprolegniosis se manifiesta mediante la formación de un revestimiento de hifas (algodón) que se ubican sobre las ovas muertas, trasladándose rápidamente a las ovas sanas más cercanas, causando pérdidas que oscilan entre 20 y 100% de las ovas en incubación (ova verde y ova de ojo) (Torres y Fajardo, 2011).

En Chile, se estudiaron 70 cepas de hongos aisladas de salmón y trucha, enviadas desde dos laboratorios de Ictiopatología ubicados en las ciudades de Castro y Puerto Montt (sur de Chile), durante el período comprendido entre abril del 2001 y junio del 2002. Treinta y cinco de ellas correspondieron a *Saprolegnia spp*, motivo de este estudio. Las cepas de *Saprolegnia spp* fueron obtenidas de ovas, branquias y aletas de alevines e individuos

hasta fase smolt, de distintas especies de salmonídeos: salmón del Atlántico (***Salmo salar***); Salmón coho (***Oncorhynchus kisutch***) y Trucha Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***) (Zaror et al., 2004).

En la Universidad Autónoma de Baja California – México. Se describe la sintomatología clínica y las alteraciones histopatológicas producidas por ***Saprolegnia spp.*** en ***Chondrostomus polylepis*** y ***Rutilus albugineus*** sometidos a estrés ambiental. Como principales alteraciones histopatológicas se observaron la pérdida de epitelio (ulceración en estado avanzado de la enfermedad) y desórdenes del sistema circulatorio, consistentes en congestión sanguínea con hemorragias ocasionales. Los peces infectados desarrollan lesiones focales en las que el hongo invade el stratum spongiosum de la dermis y se extiende lateralmente hacia la epidermis, produciendo alteraciones a este nivel. El comienzo de la enfermedad fue producido por un descenso brusco en la temperatura del agua, que probablemente induce un efecto de inmunosupresión y favorece la proliferación del hongo. (González et al.,2001).

En la piscicultura de Rio Blanco (V Región - Chile) entre abril, 1995 y marzo 1996, se estudiaron los agentes responsables de saprolegniosis en trucha arcoíris y sus huevos, con el objetivo de caracterizar morfo-fisiológica y patogénicamente a los hongos del complejo ***Saprolegnia spp.*** asociados a su cultivo. Los propágulos de dispersión fúngicos (zoosporas), se obtuvieron a partir de dos estados econutricionales: "saprotrofo", aislados de muestras de

agua de 5 sectores de la piscicultura, y "biotrofo" desde peces y huevos infectados. A las muestras de agua se les adicionó semillas de cañamo como cebo, mientras que las hifas provenientes del estado biotrofo se cultivaron directamente en agar extracto de glucosa (GY). (Vivar, 1997).

### 2.1.2 Estudios nacionales

En el Perú se reporta en el año 1999, el aislamiento de ***Saprolegnia spp.*** en "trucha Arcofiris", en la piscigranja "El Ingenio" (Huancayo - Junín). Se colectaron alevinos, ovas, adultos y muestras de agua de las pozas de alevinos, las muestras se cultivaron sobre semillas de zapallo (***Cucurbita máxima***), como sustrato, evidenciándose colonias típicas a los siete días. Las características microscópicas de las hifas correspondieron al patrón gráfico de ***Saprolegnia spp.*** La presencia de este patógeno estaría relacionada con la elevada mortandad registrada en los alevinos (40%), probablemente por la importación de las ovas infectadas con el hongo. El método fue efectivo, porque el sustrato empleado, favoreció el crecimiento del hongo, y es de fácil aplicación y bajo costo. (Alzamora y Castro, 1999).

En otro estudio se evaluó la presencia de agentes bacterianos y micóticos en 120 paiches (***Arapaima gigas***) de dos centros de cultivo de la Amazonía peruana. Se reportó la presencia de siete agentes bacterianos: ***Pseudomonas spp***, ***Bacillus spp***, ***Staphylococcus spp***, ***Streptococcus spp***, ***Escherichia spp***, entre

otras, y de un hongo: ***Saprolegnia spp.*** Se recolectaron muestras de piel para analizar la presencia de hongos, el aislamiento de hongos se realizó mediante cultivo en agar Sabouraud dextrosa con antibiótico (penicilina). Las muestras de piel se siguieron incubando bajo las mismas condiciones por 15 días, y posteriormente se sembraron en placas de Agar Patata Dextrosa y Agar Harina de Maíz (Corn Meal Agar) bajo las mismas condiciones, observándose en forma diaria hasta su identificación. (**Serrano et al., 2014**).

Otro trabajo peruano realizado sobre ejemplares de la especie Paiche (***Arapaima gigas***), es reportado el año 2015, donde se aisló hongos del género ***Saprolegnia spp.*** en paiches criados de manera artesanal en Iquitos. Se tomó muestra de 30 paiches que presentaron características patológicas en piel como heridas con manchas algodonosas, aletas deshilachadas y branquias con zonas de aspecto arcilloso. Las muestras fueron sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa e incubadas a 28 °C por 15 días o hasta observar crecimiento. De un total de 30 muestras de paiches se logró aislar 13 colonias pertenecientes a ***Saprolegnia spp.*** De estas colonias, el 53,8% (7/13) se encontró afectando las aletas, 23,1% (3/13) las branquias y 23,1% (3/13) otras partes cutáneas del pez (**Castro V et al., 2015**).



### **2.1.3 Estudios regionales**

Se evaluó 230 Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), con signos clínicos de enfermedad, como cambios en la respuesta a estímulos, en la distribución en el agua, en la natación en la respiración y en el aspecto externo. Procedentes de la Piscigranja de Molinos del Distrito de Molino, Provincia de Pachitea, Región de Huánuco. Mediante la observación directa, por el examen clínico y necropsia, se halló la siguiente frecuencia de lesiones macroscópicas: traumatismos 83.0%, cambios degenerativos 39.1%, trastornos circulatorios 29.1%; las afecciones macroscópicas según el órgano afectado, fue: aletas 86.1%, piel 46.5%, branquias 13.5% (Díaz, 2011).

## 2.2. CONCEPTOS FUNDAMENTALES

### 2.2.1 IMPORTANCIA DE LA ACUICULTURA

La producción de alimentos procedentes de la acuicultura de aguas marinas y continentales ha estado creciendo de manera acelerada en todo el mundo en los últimos años. Desde la década de 1980 la producción acuícola ha aumentado de manera general a una tasa media anual de aproximadamente 10%, en comparación con el 3% correspondiente a la carne de bovino y 1.6% de la pesca extractiva. De este modo la acuicultura viene surgiendo como una fuente importante de empleo, ingresos y suministros de alimentos, convirtiéndose en una de las principales contribuciones a la seguridad alimentaria en el mundo (**Ministerio de la Producción, 2010**).

La acuicultura es una actividad que en los últimos años ha cobrado mucha importancia, pues hasta hace más de veinte años parecía una actividad olvidada de la cual no se podían obtener mayores beneficios, fue entonces cuando inició el cultivo de Trucha Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***) en distintos lugares de América Latina, después transcurridos los años, poco a poco se fueron observando los buenos resultados que esta actividad brinda (**Global Environmental Management, 2009**).

## 2.2.2 SITUACIÓN DE LA ACUICULTURA EN EL PERÚ

La acuicultura en nuestro país tiene un escaso nivel de desarrollo, comparado con otros países latinoamericanos y está orientada al cultivo de pocas especies. Los cultivos más desarrollados son los de concha de abanico y langostino, cuyas producciones son destinadas principalmente a la exportación. Asimismo, el cultivo de trucha se desarrolla en las zonas alto andinas y está dirigido tanto al mercado local como al de exportación. Otras especies cultivadas en zonas tropicales son peces nativos (Gamitana, Paco y Boquichico), y su producción se orienta al mercado local. Finalmente, la tilapia es cultivada en selva alta (San Martín) para consumo local y en la costa norte del país, para mercado interno y para exportación. (**Ministerio de la Producción, 2010**).

El año 2010 el Ministerio de la Producción aprueba el Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura (PNDA) elaborado por la Dirección General de Acuicultura del Despacho viceministerial de Pesquería que sirve de guía para el desarrollo acuícola durante el periodo 2010-2021. Participaron en la elaboración organismos públicos y privados, gobiernos regionales, empresas dedicadas a la actividad con el apoyo de la FAO con el Proyecto

TCP/PER/1301 “Estrategia Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Acuicultura en el Perú”. El PNDA determina como Visión que Perú tiene un sector acuícola competitivo y diversificado, económica y socialmente viable y ambientalmente sostenible en el tiempo, que contribuye con la seguridad alimentaria de la población, desarrolla tecnologías de cultivo de nuevas especies y genera aportes importantes en divisas, contando con un sector público y privado dinámico que colabora estrechamente entre sí. Asimismo, determina la Misión de promover la generación de recursos humanos, materiales, tecnológicos y financieros pertinentes, así como los servicios técnicos y condiciones institucionales adecuadas, para facilitar la inversión privada en la producción acuícola y comercialización de productos de la acuicultura en el mercado nacional e internacional. **(Ministerio de la Producción, 2010).**

### **La producción de Truchas en el Perú**

La actividad de la crianza de truchas en los últimos 10 años ha tomado un desarrollo e importancia comercial en las zonas alto andinas de nuestro país, principalmente en los departamentos de Puno, Junín, Cuzco, Ayacucho, Pasco, Huancavelica, Huánuco, Ancash y otros **(Del Valle, 2010).**

La Acuicultura en el Perú empieza a desarrollarse el siglo pasado con la introducción de la Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en los ríos y lagunas alto andinas para uso deportivo de los mineros provenientes de Europa. Posteriormente se fue introduciendo en las zonas norte y sur del país en las cuales se realiza la crianza en estanques y jaulas en lagos y lagunas. (Ruiz, 2012).

Específicamente la introducción de esta especie en el Perú tuvo lugar en el año 1925, desde los Estados Unidos de Norteamérica, con una cantidad de 50,000 huevos, los mismos que fueron instalados en un criadero a orillas del río Tishgo, en la Oroya – Junín, distribuyéndose a los ríos y lagunas de Junín y Pasco. En 1930 fueron transportados 50 Truchas adultas a la Estación Piscícola El Ingenio. En 1941 fueron transportados 25,000 huevos de Truchas desde la Estación Piscícola El Ingenio a la Estación Piscícola de Chucuito – Puno, poblándose todo el sistema hidrográfico del Lago Titicaca y otras lagunas, como la de Languilayo – Cuzco, donde inicialmente se llegaron a sembrar 2,000 alevines de esta especie; a partir de estas fechas se han venido poblando paulatinamente ríos y lagunas de varios departamentos de la sierra en forma natural o artificialmente. A partir de los 70, se comenzaron a instalar varias piscigranjas o centros de cultivos de peces, los cuales fueron

construidos siguiendo sistemas tradicionales de crianza, utilizando estanques de concreto (**Compañía Minera Antamina, 2009**).

Las truchas son peces de la subfamilia ***Salmonidae***, dentro de la familia de los salmónidos; el nombre se usa específicamente para peces de tres géneros de dicha subfamilia: ***Salmo sp***, que incluye las especies del Atlántico, ***Oncorhynchus spp***, que incluye las especies del Pacífico, y ***Salvelinus spp***. (**Coll, 1991**).

Esta especie se caracteriza por tener el cuerpo cubierto con finas escamas y fusiformes, la coloración de la trucha varía de acuerdo al ambiente en que vive, edad, estado de maduración sexual y otros factores; por ejemplo la influencia del ambiente en riachuelos sombreados presentan color plomo oscuro mientras que en un estanque bien expuestos a los rayos del sol ofrecen una tonalidad más clara, verde oliva en su parte superior luego una franja rojiza para finalizar con el abdomen blanco; además posee un gran número de máculas negras en la piel, a manera de lunares, por lo que en otros lugares se le llama también trucha pecosa. La denominación de Trucha Arcoíris se debe a la presencia de una franja de colores de diferentes tonalidades, con predominio de una franja rojiza sobre la línea lateral en ambos lados del cuerpo (**Global Environmental Management, 2009**).

Las aletas de las truchas carecen de espinas, y todas las especies tienen una pequeña aleta adiposa en el lomo, cerca de la cola. Las poblaciones aisladas presentan diferencias morfológicas. Sin embargo, muchos de estos grupos no muestran divergencias genéticas significativas, por lo que los ictiólogos los consideran como simples variedades de un número de especies mucho menor. La trucha del oeste de los Estados Unidos es un buen ejemplo de esto. (Mundy, 2005).

#### **Taxonomía (Walbaum, 1972)**

**REINO:** Animalia

**FILO:** Chordata

**ORDEN:** Salmoniformes

**FAMILIA:** *Salmonidae*

**GÉNERO:** *Oncorhynchus*

**ESPECIE:** *O. mykiss*

La mayoría de las truchas sólo se encuentran en agua dulce y fría pero unas pocas, como la cabeza de acero o *steelhead*, en inglés (***Oncorhynchus mykiss***) que es la misma especie que la Trucha Arcoíris pasan su vida adulta en el océano y vuelven, para desovar, al río donde nacieron. Este fenómeno recibe el nombre de ciclo anádromo y se observa también en el salmón, así como en la trucha común europea (***Salmo trutta***), algunas de cuyas poblaciones pasan parte de su vida en el mar, volviendo al río a desovar (**Mundy, 2005**).

## **CICLO REPRODUCTIVO**

Las truchas se reproducen gracias a sus gónadas u órganos sexuales. Las hembras poseen dos ovarios, los cuales producirán miles de óvulos a partir de los que se formarán las huevas. Los machos, al igual que los mamíferos poseen dos testículos con un conducto deferente por el cual el semen pasa al medio exterior. (**McDowall y Tilzey, 1980**).

Se trata de una reproducción cíclica estacional, es decir que solo tiene lugar una vez al año durante una época determinada. Aunque el desove se produce en invierno, tanto la hembra como el macho van desarrollando sus



testículos desde el verano, ya que hay un importante incremento de tamaño (**Coll, 1991**).

### **Fertilización**

Las Ovas se van fertilizando mientras van siendo puestos por la hembra. En un cm<sup>3</sup> de esperma se calcula que hay unos 10.000 millones de espermatozoides. El esperma, se hace activo cuando entra en contacto con el agua, siendo atraído por la hueva. El espermatozoide solo tiene un minuto de vida, una vez a entrado en contacto con el agua y además solo puede penetrar en la hueva por un solo punto llamado micrópilo. Asimismo, la hueva al entrar en contacto con el agua también se hidrata por lo que el micrópilo se va cerrando. Se calcula que hay una fertilidad del 90% (**Bristow, 1992**).

Una vez que la Ova ha sido fecundada, se hace impermeable al agua y el embrión comienza su desarrollo gracias a las reservas nutritivas de la yema de la Ova. El embrión necesita un importante aporte de oxígeno para sobrevivir, que no solo entra por difusión del agua circundante, sino que es necesaria una cierta circulación de agua por su superficie, para renovar el agua cuyo oxígeno ya ha sido consumido. (**Riva et al., 2007**).

## **Incubación**

La duración de la incubación de la Ova no es por el número de días, si no está ligado a las Unidad Térmica Acumulada UTA. así una ova verde necesita un promedio de 110 -120 UTA, estando expuesta a una Temperatura de 8 – 10 °C para que pase a una ova o fase de ojo; para que tenga éxito en el nacimiento, es necesario que la Temperatura este comprendida entre 5 – 13°C. las variaciones de temperatura suelen ser mortales. (Riva et al., 2007).

**UT= Tx** multiplicado por **n**

**UT:** unidades térmicas

**Tx:** temperatura media del agua (°C)

**n:** días

## **Alevines**

Al principio los alevines permanecen tranquilos, en el fondo escondiéndose entre los relieves del fondo, refugiados al máximo de corrientes fuertes. Durante los primeros 25-45 días huyen de la luz y van a favor de la gravedad. Se alimentan del saco vitelino durante dos o tres semanas, según la temperatura, pero en general cuando el alevín tiene sobre unos 2.5 cm ya ha consumido casi íntegramente su vesícula vitelina. El alevín empieza a comer antes de que sus reservas del saco vitelino se han agotado. Están en el

fondo, pero nadan hacia arriba tras cualquier pequeño objeto que, en condiciones naturales, suele ser algún pequeño vertebrado para comer. (**McDowall et al., 1980**).

El alevín de 3-4 cm que ya no tiene saco vitelino se le llama (alevín free), posteriormente van tomando coloración típica de los salmónidos con manchas oscuras a lo largo de la línea lateral. a estos se les denomina alevin parr (**Riva et al., 2007**).

### **Juveniles**

A medida que crecen, los pequeños peces van cambiando en un nuevo estadio denominado smolt cuyo proceso se lo llama smoltificación. Esto implica también un cambio en la coloración desde las manchas Parr a un color plateado. Esta coloración los ayuda a mimetizarse en el nuevo ambiente. Durante el proceso de smoltificación se produce la memorización del ambiente de nacimiento a través de un aprendizaje rápido, durable e irreversible de las características olfatorias del mismo. Gracias a esta memorización (denominada en inglés imprinting) pueden retornar cuando son adultos para reproducirse (**Bristow, 1992**).

## **Adultos Reproductores**

Los juveniles que han migrado a un ambiente mayor (río, lago, o mar) viven en este nuevo ambiente bastante tiempo hasta que alcanzan la madurez sexual, momento en el que retornan a su ambiente original para buscar pareja y desovar. El tiempo que pasan antes de retornar varía considerablemente según las especies y variedades de salmónidos. Cuando llegan a un lago o al océano (en el caso del salmón del Pacífico), estos peces crecen rápidamente porque tienen disponible gran cantidad de alimento. (McDowall y Tilzey, 1980).

### **2.2.3 SAPROLEGNIASIS**

Los hongos acuáticos constituyen una de las micosis más frecuentes en peces de agua dulce, estando también asociada su presencia a los sistemas estuarinos. Tres órdenes (Saprolegniales, Leptomitales y Feronosporales) de la clase **Oomycetes** incluyen especies que pueden infectar a los peces, siendo los más patógenos los pertenecientes a la familia **Saprolegniaceae** (Noga, 1996).

Estos hongos son oportunistas típicos que se alimentan, normalmente, de la materia orgánica en descomposición. Son saprófitos ubicuos y aparecen como

patógenos de peces cuando hay un cambio brusco en las condiciones ambientales del medio (**Bly et al., 1993**).

Estos patógenos se multiplican en peces que están estresados, presentan lesiones o que tienen alguna infección bacteriana; sin embargo, se han reportado casos en los cuales actúan como agentes primarios de infecciones (**Pickering y Willoughby, 1982**) y en ovas (**Walser y Phelps, 1993**).

Las infecciones comienzan, a menudo, cuando se produce una inmunosupresión debido a una variación brusca de temperatura, posiblemente en combinación con niveles de amonio críticamente elevados o debido a factores relacionados con el estrés ambiental, como cambios bruscos en las condiciones fisicoquímicas del agua, entre otros. (**Bruno y Stamps, 1987**).

#### **Taxonomía (Smith y cols., 1985)**

**REINO:** Protista

**FILO:** Heterokontophyta

**CLASE:** Oomycota

**ORDEN:** Saprolegniales

**FAMILIA:** *Saprolegniaceae*

**ESPECIES:** *S. australis*, *S. ferax*, *S. declina*, *S. longicaulis*, *S. mixta*, *S. parasítica*, *S. sporangium*, *S. variabilis*.

El género ***Saprolegnia***, se encuentra principalmente distribuido en ambientes acuáticos, puede ser tanto saprófito como parasitoide, alimentándose así de células muertas o parasitando a peces como la trucha y el salmón, instalándose en piel, en branquias inclusive nivel visceral. La presencia cutánea y en branquias es llamada micosis **(Noga, 1993) (Neish y Hughes, 1980)**.

***Saprolegnia spp.*** comprende una diversidad de hongos acuáticos muy afines, que se hallan constantemente en el agua dulce, especialmente a temperaturas muy bajas **(Roberts y Shepherd, 1980)**.

Los brotes de saprolegniasis en cultivo de peces generalmente se limitan a casos crónicos, con pérdidas fijas; sin embargo, la mortalidad en ovas puede aumentar rápidamente, causando pérdidas significativas **(Willoughby, 1989)**.

Las especies del género ***Saprolegnia*** poseen un micelio aceptado (con *septum*), muy ramificado, de aspecto algodonoso bajo el agua. Sus estructuras reproductivas están separadas de las hifas somáticas por septos y la reproducción asexual se realiza por medio de zoosporas biflageladas producidas por hifas vegetativas, siendo éstas móviles, lo cual facilita su dispersión **(Roberts, 1981)**. La infección se difunde por la liberación de esporas móviles que

salen del esporangio y pasan al agua (**Roberts y Shepherd,1980**).

***Saprolegnia spp.*** es tolerante a grandes rangos de temperatura desde 3 a 33°C, se encuentra preferentemente en el agua, aunque también puede habitar en suelo húmedo, su rango de tolerancia a la salinidad relativa de aproximadamente 1,75% de ClNa, no soportando así concentraciones iguales o superiores a 3,5% de ClNa. Por lo tanto, la saprolegniosis no ocurre durante la fase marina ni estuarina, en la migración de salmónidos, considerándose una enfermedad de agua dulce (**Padgett, 1984**).

Sin embargo, Langvad en 1994 reportó que ***Saprolegnia parasítica*** podría sobrevivir y crecer en ambientes con una salinidad relativa de aproximadamente 1.75% de NaCl. No se observó desarrollo en concentraciones iguales o superiores a 3.5% de NaCl.

***Saprolegnia parasítica*** y ***Saprolegnia diclina*** son las especies de hongos que revisten la mayor importancia en cuanto a la patología de peces en agua dulce (**Roberts, 2001**).

***Saprolegnia parasítica*** ha sido reconocida como la principal especie patógena provocando micosis en peces, actuando principalmente como patógeno secundario. Otras

especies de *Saprolegnia*, ocasionalmente, han sido asociadas a micosis de peces como es el caso de *Saprolegnia ferax* y *Saprolegnia diclina*, entre otras (**Smith et al., 1985**).

Dentro de los signos clínicos de saprolegniasis se observa en los peces masas de algodón, especialmente alrededor de la cabeza, la aleta adiposa y aleta caudal. (**Hussein y col., 2001**). Tales lesiones comienzan generalmente como infecciones pequeñas, focales que pueden extenderse rápidamente por toda la superficie del cuerpo (**Stoskopf, 1992**).

Las hifas también penetran junto al músculo y vasos sanguíneos (**Hatai y Hoshiai, 1992**), en la cual se han descrito casos de trombosis, condición normalmente asociada a la infección causada por *Branchiomyces spp.* (**Roberts, 2001**).

#### **2.2.4 RESPUESTA INMUNE HACIA SAPROLEGNIASIS**

La cutícula del pez tiene actividad anti fúngica. Sin embargo, esta barrera suele ser insuficiente para evitar la infección por *Saprolegnia spp*, que invade salmónidos aun cuando se encuentren en etapa reproductiva y, por consiguiente, con una actividad anti fúngica desarrollada al máximo (**Zaror et al., 2000**).



La invasión de la dermis conduce con rapidez al desequilibrio de fluidos orgánicos y una falla circulatoria periférica debido a la pérdida del volumen de sangre circulante. Los pseudohongos crecen por lo regular sobre la piel del pez formando, lesiones en forma de manchas blancas o blanco grisáceas, focales, aterciopeladas o algodonosas, que pueden observarse a simple vista. ***Saprolegnia spp.*** también puede invadir el músculo y de forma ocasional órganos internos, desde donde se disemina por vía intestinal por lo común. Cuando las lesiones se hacen crónicas suelen sobrevenir infecciones de tipo bacteriano como una complicación secundaria que contribuye a debilitar aún más al organismo infectado. Al final las lesiones se hacen tan extensas que el pez acaba por manifestar signos de agotamiento y muerte (**Álvarez y Pellitero, 2008**).

Los síntomas de la saprolegniosis son inespecíficos. A menudo las lesiones son similares a las causadas por infecciones bacterianas, parasitarias o por micosis profundas que provocan reacciones granulomatosas. La reacción inflamatoria es poco intensa o nula, excepto cuando la micosis ocurre posteriormente a una infección primaria que ya ha provocado una reacción inflamatoria extensa (**Press y Evensen, 1999**).

Existen reportes de saprolegniosis que pueden provocar hasta 100% de mortalidad en colonias de organismos altamente susceptibles a las infecciones causadas por hongos. Este crece en materia orgánica en descomposición, lo que convierte a todo pez lesionado en candidato a contraer la infección. Se sugirió que algunos tipos de estrés fisiológico que alteran la producción de hormonas, en particular de corticosteroides, favorecen la posibilidad infectiva y la velocidad de crecimiento de los ***Saprolegnia spp.***, en especial a bajas temperaturas (Johnson et al., 2004).

Hay datos que sugieren que la Trucha Arcoíris se vuelve muy susceptible a la infección por ***Saprolegnia spp.*** durante su etapa reproductora, que coincide además con la época del año en que la temperatura del agua es más baja. La descamación epidérmica que ocurre durante la maduración sexual en machos de la Trucha Marrón favorece con toda probabilidad el predominio de la infección fúngica sobre las infecciones que aparecen en hembras a nivel sexual (Pickering y Christie, 1980).

La infección por ***Saprolegnia spp.*** se desarrolla primero en las aletas de las truchas, donde no hay secreción de moco, y después se extiende al resto del cuerpo. Las truchas cultivadas de ambos sexos se infectan con más frecuencia en las aletas que en el resto del cuerpo, en

comparación con las truchas de vida libre. En estas últimas, los machos son más susceptibles, y las infecciones se localizan a lo largo de la superficie dorsal, en tanto que las hembras presentan lesiones en la región caudal y anal (**Álvarez y Pellitero, 2008**).

## 2.2.5 DEFINICIÓN DE TERMINOS BÁSICOS

- **ADS:** Agar Dextrosa Sabouraud
- **AHS:** Agar Harina Maíz
- **Anádromo:** se dice de los peces marinos que suben por los ríos para reproducirse o desovar. Ejm. Salmones
- **Artesas:** recipientes cuadrilongo, donde se hace la incubación de las ovas de Truchas.
- **Biótrofo:** organismo que sólo puede vivir y multiplicarse en otro organismo vivo, parasito obligado que se nutre de las células vivas del hospedador.
- **Cenocíticas:** micelio en el cual los núcleos incluidos en un citoplasma común no están separados por tabiques que delimiten células.
- **Esporangio:** es la estructura de las plantas, hongos, algas que produce y contiene esporas.
- **Estanque:** recinto cerrado donde se almacena y circula una determinada cantidad del recurso hídrico a fin de permitir el confinamiento de las truchas para lograr su crianza y desarrollo, a expensas de una alimentación ofrecida por el piscicultor.
- **Estuarinos:** es un área de la costa donde el agua dulce proveniente de la tierra se mezcla con el agua del mar.
- **Hialinas:** sustancia homogénea translúcida o transparente muy rica en polisacáridos complejos y fibras de colágeno que forma parte del cartílago.

- **Hifas:** red de filamentos cilíndricos que conforman la estructura de los hongos multicelulares.
- **Micosis:** enfermedad infecciosa producida por hongos microscópicos que puede afectar a cualquier parte del organismo.
- **Micelio:** conjunto de hifas
- **Parasitoide:** es un insecto cuyas larvas se alimentan y desarrollan en el interior
- **Pseudohongos:** son protistas fungoides o mohos que se asemejan a los hongos verdaderos pero que en realidad no están emparentados con ellos.
- **Saprotrofo:** organismo que se alimenta de materias corrompidas o en putrefacción.
- **Saprolegniasis:** enfermedad producida por hongos del género *Saprolegnia spp.*
- **Skim scrapes:** muestra de tejido epidérmico tomada para identificación en el laboratorio de elementos fúngicos.
- **Smolt:** dicho de un pez pequeño – alevines.
- **Tegumentario:** conjunto de estructuras y órganos ubicados en la superficie corporal, relacionado con su protección, secreción de productos (sebácea y sudor), y recepción sensitiva.

### III. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

**Nivel de Investigación:** Descriptivo – Transversal; Porque se recolectaron los datos en un solo momento, en un tiempo único.

**Tipo de Investigación:** Aplicada; por que los resultados del trabajo de investigación, nos ayudarán a prevenir perdidas económicas causada por *Saprolegnia spp* en Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

#### 3.2 LUGAR DE EJECUCIÓN

La Unidad Productora de Molinos, se encuentra localizada a 60.0 km de la ciudad de Huánuco vía carretera afirmada.

Región	: Huánuco
Provincia	: Pachitea
Distrito	: Molino
Altitud media	: 2,360 m.s.n.m
Temperatura rango	: 13-18°C

(DIREPROHCO., 2017)

### 3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

**Determinación de la población:** Estuvo representada por todas las Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la Unidad Productora de Molinos: 68,608.63 Truchas Arcoíris.

**Muestra:** Se tomó una muestra por conveniencia de 50 Ovas verdes de las Artesas, 50 ejemplares de Alevines free de las artesas, 50 Juveniles Fingers ling, 50 Adultos Reproductores de los estanques, independientemente del sexo.

**Cuadro 01.** Distribución de la población para la toma de muestras

TRUCHAS ARCOIRIS			
ETAPA DE REPRODUCCIÓN	DISTRIBUCIÓN GENERAL	DISTRIBUCION DE MUESTRAS	
OVAS	20 artesas (sala de incubación)	Artesas (1 al 10): 3 ovas cada artesa (30 ovas)  Artesas (11 al 20): 2 ovas cada artesa (20 ovas)	Recolección de ovas
ALEVIN FREE	4 estanques	Estanque (1 y 2): 13 truchas cada estanque (26 truchas)  Artesa 3 y 4: 12 truchas cada estanque (24 truchas)	Muestras de Aleta dorsal, Branquias, y piel. 3 por trucha = 150 muestras
JUVENILES FINGERS LING	2 estanques	Estanque 1: 25 truchas  Estanque 2: 25 truchas	Muestras de Aleta dorsal, Branquias, y piel. 3 por trucha = 150 muestras
ADULTOS REPRODUCTORES	3 Estanques	Estanques 1 y 2: 17 truchas cada estanque (34)  Estanque 3: 16 truchas	Muestras de Aleta dorsal, Branquias, y piel. 3 por trucha = 150 muestras

### 3.4 PERIODO DE ESTUDIO

La toma de muestras, se realizó los meses de abril y mayo del año 2017

### 3.5 MATERIALES

- **Biológico:** Se tomó 200 muestras de Trucha Arcoíris de diferentes estadios (Ovas Verdes, Alevín Free, Juveniles Finger lings y Adultos Reproductores)
- **De laboratorio:** Autoclave, Incubadora, Microscopio, 500 Tubos estériles, 200 Placas Petri estériles, 10 Gradillas, Asas de siembra, Hisopos estériles, Papel filtro, 5 Jeringas de 20 ml, Aguja n° 21, 1 Lt. Alcohol 96°, 450 Laminas porta objetos, Vaso precipitado, 200 unidades de guantes, Mascarillas, Mechero
- **Medios de Cultivo y Reactivos:** Caldo peptonado, Agar Sabouraud Dextrosa, Agar Harina de Maíz, 100 gr de gentamicina (antibiótico) y Azul de metileno.
- **De escritorio:** Cuaderno de apuntes, Plumones de tinta indeleble, lápiz, regla, lapiceros, corrector y papel bond.
- **Equipos:** Red de arrastre, red de captura (tipo cuchara), cámara fotográfica.



### 3.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### 3.6.1 PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

**Recolección de ovas:** se recolectó las ovas verdes que se encontraron no viables (muertos) de acuerdo a la distribución del **cuadro n° 1**. Estas fueron puestas en un tubo que contenía 1.5 ml de caldo peptonado, se rotuló con la fecha y número de muestra; se llevó las muestras al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco.

**Toma de muestras de Truchas Arcoiris (Alevín free, Juveniles Fingers ling y Adultos Reproductores):** Con ayuda del encargado de la Unidad Productora de Molinos, los peces fueron capturados mediante la red de arrastre, se recolectó las truchas vivas, con un colador, se tomó muestras de 50 Truchas Arcoíris – Alevín free, 50 truchas Arcoíris – Juveniles Fingers ling y 50 Truchas Arcoíris – Adultos Reproductores (**cuadro n° 01**). Cada individuo dio 03 muestras (aletas, branquias, y piel), el método que se utilizó fue el Skin Scrapes (raspones en aletas dorsales, piel e hisopado de branquias); las muestras se pusieron en tubos que contenían caldo peptonado 1.5 ml, se rotuló la fecha, número de muestra y a que parte del cuerpo pertenecían la muestra con (AD: aleta dorsal; B: branquias; P: piel), se guardó las muestras en una caja evitando el sol; posteriormente fueron transportados al laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria

y zootecnia de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco.

### **3.6.2 RECEPCIÓN DE MUESTRAS**

- Se registró las muestras debidamente identificadas
- Se hizo el sembrado en las placas con Agar Sabouraud Dextrosa (ASD), que es un medio de cultivo que por contener una elevada concentración de glucosa favorece el crecimiento de hongos.

#### **Preparación de los cultivos**

- Son 1.3 gr gramos de Agar Sabouraud por placa Petri con adición de Gentamicina 10% (antimicrobiano)
- Se sembró las muestras en cada placa Petri con ASD, utilizando la micro pipeta (30 (microlitros))
- Se llevó a la incubadora durante 5 días, a una temperatura de 28°C, se observó diariamente hasta obtener colonias (la metodología fue cambiada a 30 °C con una humedad de 80%), ya que no había crecimiento.
- Transcurrido el tiempo, se aisló las cepas en Agar Harina Maíz

### **3.6.3 IDENTIFICACIÓN CONFIRMATIVA DE *Saprolegnia spp.***

#### **Observación en fresco**

Se Colocó fragmentos de colonia, además un trozo del medio del cultivo en una lámina portaobjetos estéril, se adicionó 3 gotas de Azul de Metileno, se cubrió con otra lamina portaobjetos, se presionó suavemente para dispersar la muestra, posteriormente se llevó al microscopio en un aumento de 10 y 40 veces.

#### **Preparación con cinta adhesiva transparente**

Se colocó cinta adhesiva de 3 a 4 cm sobre la superficie de la colonia haciendo una ligera presión para obtener una cantidad considerable de micelio por adherencia, posteriormente se pegó sobre una lámina portaobjeto en el cual previamente se colocó una gota de azul de metileno, se cubrió con una lámina cubre objetos y se observó las estructuras miceliales al microscopio con aumento de 10 y 40 veces. (Koneman et al., 2008).

#### **Microcultivo o cultivo en lámina (Método de Riddel)**

Se aisló colonias puras de *Saprolegnia spp*, se transfirió a Medios de cultivo de Agar Papa Dextrosa (APD) y Agar Harina de Maíz (AHM) que sirve para el desarrollo y mantenimiento de Hongos, son preparadas sobre placas Petri previamente esterilizadas. Se sacó pequeños cuadrantes de 0.5 cm<sup>2</sup> de la colonia para sembrar en Agar Harina de Maíz previamente hecho un cuadrante de 0.5 cm<sup>2</sup>, se puso en la incubadora hasta por 5 días

a una temperatura de 30 °C, con una humedad de 80%. Posteriormente se hizo la técnica de la cinta adhesiva.

### **Análisis y Procesamiento de datos**

Los datos recolectados se analizaron mediante estadística descriptiva, se utilizó Excel y SPSS V21.

#### IV. RESULTADOS

Del total de la muestra estudiada de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), se encontró un 40.5% (81/200) de positivos a *Saprolegnia spp* y un 59.5% (119/200) negativos a crecimiento de *Saprolegnia spp*. (Cuadro N° 02).

**Cuadro N° 02:** Frecuencia de *Saprolegnia spp*. en Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), en la Unidad Productora de Molinos 2017

PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp</i>	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	81	40,5
NEGATIVO	119	59,5
Total	200	100,0

Del total de ovas verdes de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), fueron positivas al crecimiento de *Saprolegnia spp* en un 64% (32/50) y negativos en un 36% (18/50) (Cuadro N° 03).

**Cuadro N° 03:** Frecuencia de *Saprolegnia spp* en Ovas verdes de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en la Unidad Productora de Molinos 2017

<b>PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp.</i></b>	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	32	64,0
NEGATIVO	18	36,0
Total	50	100,0

Del total de Alevines free de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), fueron positivas al crecimiento de *Saprolegnia spp* en un 34% (17/50) y negativos en un 66% (33/50) (**Cuadro N° 04**)

**Cuadro N° 04:** Frecuencia de *Saprolegnia spp.* en Alevines free de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en la Unidad Productora de Molinos 2017

<b>PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp.</i></b>	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	17	34,0
NEGATIVO	33	66,0
Total	50	100,0

Del total de Juveniles fingers Ling de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), fueron positivas al crecimiento de *Saprolegnia spp* en un 18% (09/50) y negativos en un 82% (41/50) (Cuadro N° 05).

**Cuadro N° 05:** Frecuencia de *Saprolegnia spp.* en Juveniles Fingers ling de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

<b>PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp.</i></b>	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	9	18,0
NEGATIVO	41	82,0
Total	50	100,0

Del total de Adultos Reproductores de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), fueron positivas al crecimiento de *Saprolegnia spp* en un 46% (23/50) y negativos en 54% (27/50) (Cuadro N° 06).

**Cuadro N° 06:** Frecuencia de *Saprolegnia spp.* en Adultos reproductores de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

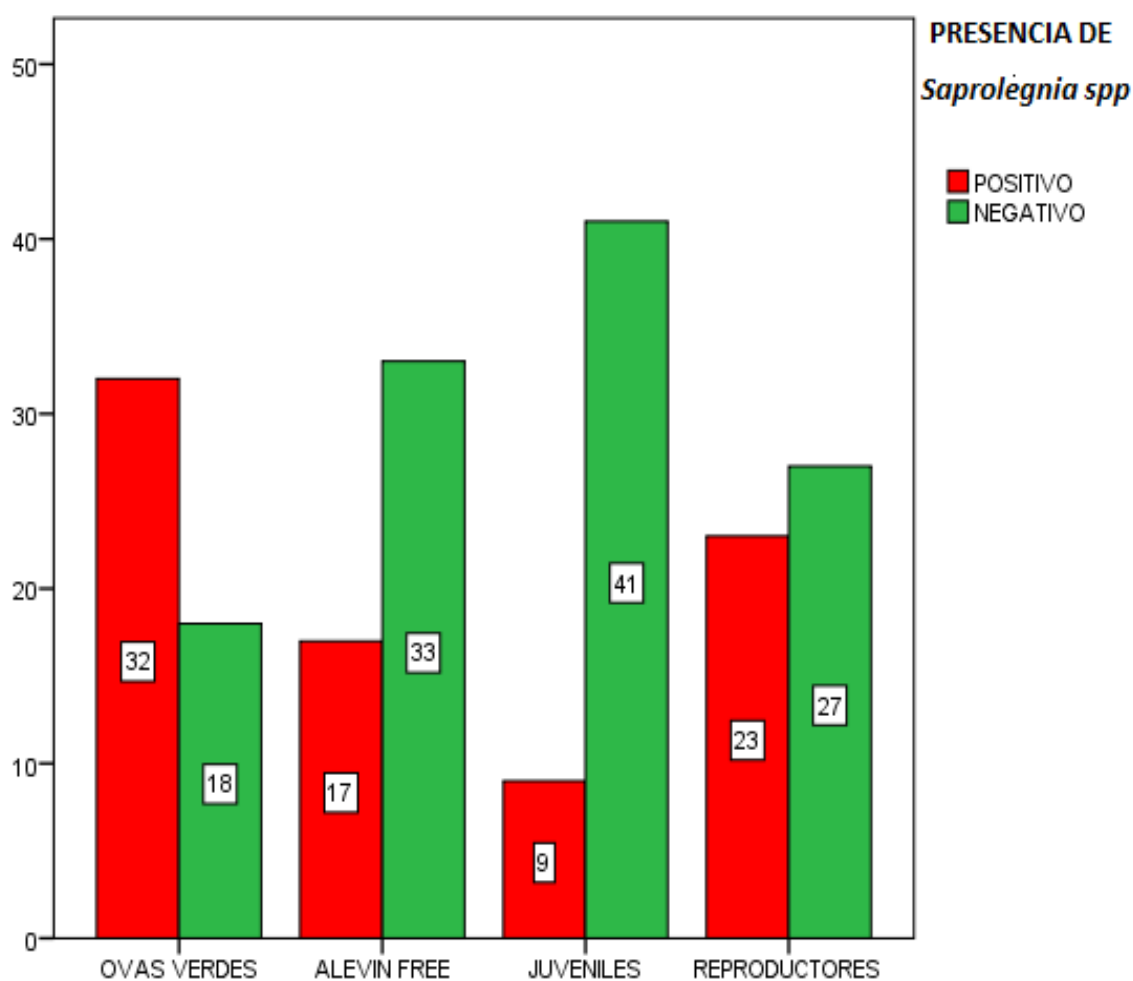
<b>PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp.</i></b>	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	23	46,0
NEGATIVO	27	54,0
Total	50	100,0

Del total de la muestra estudiada de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), se encontró un 40.5% (81/200) de positivos a *Saprolegnia spp* y un 59.5% (119/200) negativos a crecimiento de *Saprolegnia spp*; así mismo se encontraron mayores positivos en dos estadios reproductivos: en ovas verdes con 64% (32/50), en Adultos reproductores con 46% (23/50) (**Cuadro N° 07 Y Gráfico N° 01**).

**Cuadro N° 07:** Frecuencia de *Saprolegnia spp* en Truchas Arcoíris en la Unidad Productora de Molinos 2017.

PRESENCIA DE <i>Saprolegnia spp</i>				
		POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
	Frecuencia	32	18	50
OVAS VERDES	Porcentaje	64%	36%	100
	Frecuencia	17	33	50
ALEVINES FREE	Porcentaje	34%	66%	100%
	Frecuencia	9	41	50
JUVENILES FINGERS LING	Porcentaje	18%	82%	100
	Frecuencia	23	27	50
ADULTOS REPRODUCTORES	Porcentaje	46%	54%	100
TOTAL	Frecuencia	81	119	200





**Gráfico N° 01:** Frecuencia de *Saprolègnia spp* en Truchas Arcoiris en la Unidad Productora de Molinos 2017

Del total de la muestra estudiada de Truchas Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), en Alevines free, Juveniles Fingers ling y Adultos reproductores, nuestros resultados señalan la presencia de *Saprolègnia spp*, en la piel en un 24%, branquias en un 15% y aletas dorsales en un 2.7%. (**Cuadro N° 08**).

**Cuadro N° 08.** Frecuencia de *Saprolegnia spp* en Alevines free, Juveniles Fingers ling y Adultos reproductores de Trucha Arcoiris.

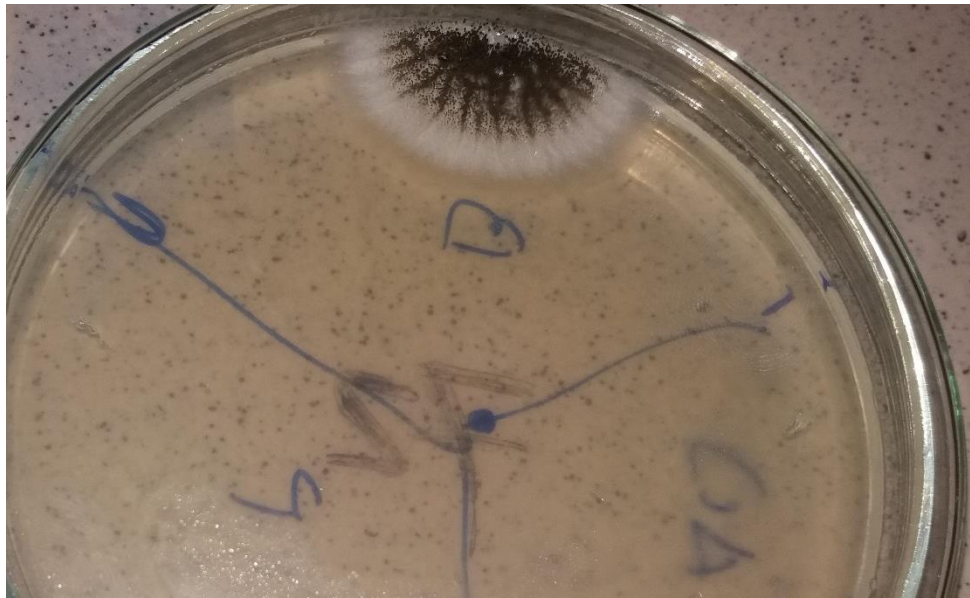
FRECUENCIA DE <i>Saprolegnia spp</i>			POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL
ALEVINES FREE, JUVENILES FINGERS LING Y ADULTOS REPRODUCTORES	Aleta dorsal	Frecuencia	4	146	
		Porcentaje	2.7%	97.3%	
	Branquias	Frecuencia	23	127	
		Porcentaje	15.3%	85%	150
	Piel	Frecuencia	36	114	
		Porcentaje	24%	76%	

En el estudio de las características macroscópicas del hongo del género *Saprolegnia spp.* sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa, se observa la colonia blanquecina tanto en la superficie como en el reverso, textura algodonosa – lanosa, superficies elevadas filamentosos y de consistencia suave, la incubación fue durante 5 días a una temperatura de 30 °C con una humedad de 80% (**Figura N° 01**).



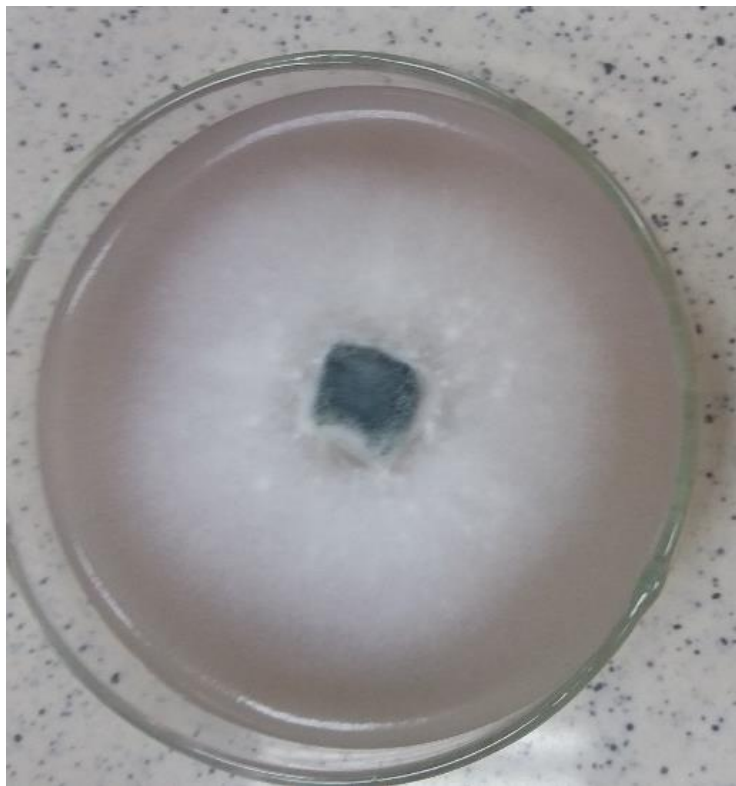
**Figura N° 01:** Vista macroscópica de *Saprolegnia spp.* en Medio de cultivo ADS con 5 días de incubación

En el estudio de las características macroscópicas del hongo del género *Saprolegnia spp.* sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa, se observan colonias blanquecinas y en la superficie coloración negruzca; textura algodonosa – lanosa, superficies elevadas filamentosos y de consistencia suave. la incubación fue durante 7 días a una temperatura de 30 °C con una humedad de 80% (**Figura N° 02**)



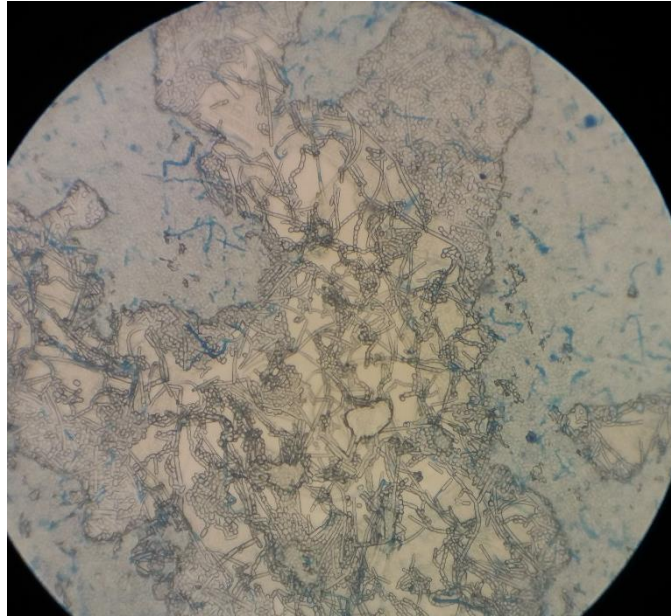
**Figura N° 02:** Vista macroscópica de *Saprolegnia spp.* en cultivo ASD con 9 días de incubación

En aislamiento de *Saprolegnia spp* en Agar Harina de Maíz se observa una colonia blanquecina, textura algodonosa – lanosa (filamentosa), superficie elevada y consistencia suave. La colonia de la derecha colonias blanquecinas y en la superficie coloración negruzca; textura algodonosa – lanosa, superficies elevadas filamentosos y de consistencia suave. (**Figura N° 03**).



**Figura N° 03:** Vista macroscópica de *Saprolegnia spp*. Aislada en Medio de cultivo Agar Harina de Maíz.

Las observaciones microscópicas de las muestras en fresco permitieron diferenciar las hifas cenocíticas, hialinas; también se observa un zoosporangio joven alargado, en proceso de maduración con la zona apical tornándose oscuro típicas de la fase asexual de ***Saprolegnia spp.*** (Figura N° 04) y (Figura N° 05)

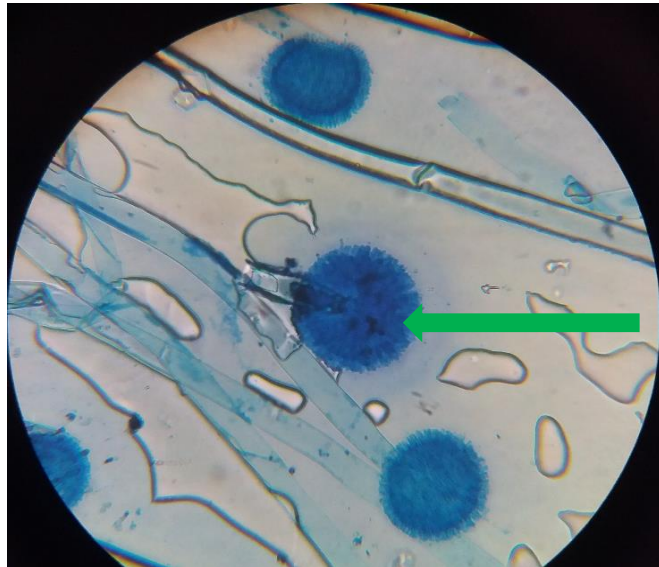


**Figura N° 04:** Hifas cenocíticas (aumento 10X)

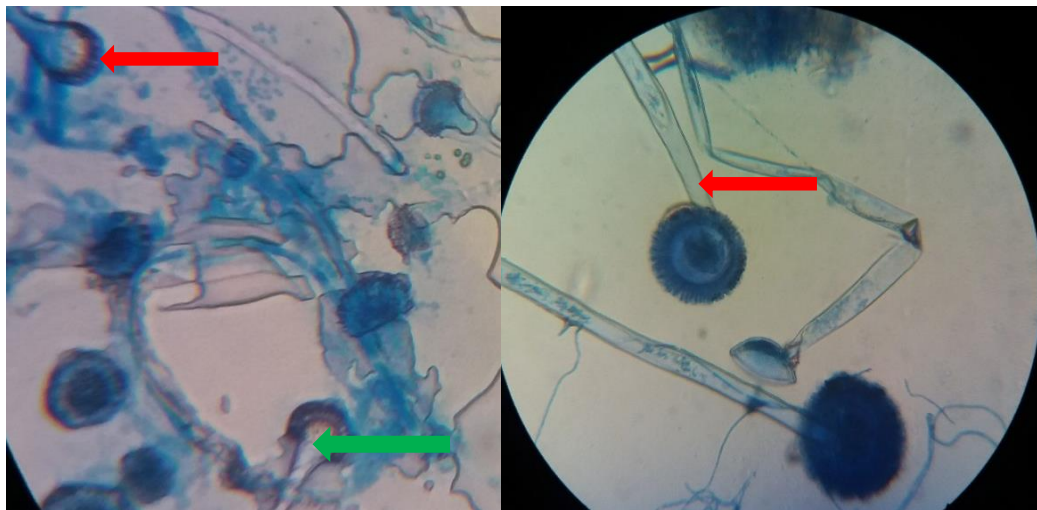


**Figura N° 05:** Zoosporangio joven (aumento 40X)

Definición de características de *Saprolegnia spp.* con Azul de Metileno (cinta adhesiva), las características de *Saprolegnia spp.*: esporangio, columela, apófisis con aumento de 10X y 40X (**Figura N° 06 Y Figura N° 07**).



**Figura N° 06:** Vista del esporangio (flecha verde) (anexo 10)



**Figura N° 07:** Izquierda; se observa la columela (flecha roja), también se observa la apófisis (flecha verde). Derecha; se observa el esporangióforo (flecha roja)

## V. DISCUSIÓN

Del total de muestras positivas, se encontró más positivos en ovas verdes con 64% (32/50) concordante con **Torres y Fajardo, (2011)**, quienes dicen que la Saprolegniosis se manifiesta mediante la formación de un revestimiento de hifas (algodón) que se ubica sobre las ovas muertas, trasladándose rápidamente a las ovas sanas más cercanas, causando pérdidas que oscilan entre 20 y 100% de las ovas en incubación (ova verde y ova de ojo).

De igual manera en Adultos reproductores se encontró un 46% (23/50) de positivos; **Hughes, (1962); Roberts, (1978); Roberts y Sheperd, (1980)** mencionan que la contaminación de **Saprolegnia** se inicia al nivel de Ovas y Adultos reproductores, en lo último está asociada con la inmunosupresión ocasionada por la disminución de temperatura, niveles elevados de amonio (orina) o stress.

Con menor frecuencia se encontró en alevines free con 34% (17/50) de positivos, y en Juveniles Fingers ling con 18% (9/50) de positivos; lo que concuerda con **Bruno y Poppe, (1996)**, quienes dicen que cualquiera de los estadios de reproducción de las truchas es susceptible a la infección de **Saprolegnia spp.**

Nuestros resultados señalan la presencia de **Saprolegnia spp**, en la piel en un 24%, branquias en un 15% y aletas dorsales en un 2.7%, sin encontrarse lesiones macroscópicas visibles, lo cual es compatible con lo mencionado por **Vega- Ramirez et al., (2006)**,



quienes indican que las localizaciones más comunes de *Saprolegnia* son la piel y branquias.

Nuestras cepas de *Saprolegnia spp*, se desarrollaron a 30 °C con una humedad de 80%, a diferente velocidad de crecimiento, concordante con **Mueller y Whisler, (1994)**. Además, **Hatai y Hoshiai, (1992)**, quienes clasificaron a *Saprolegnia* basados en el crecimiento a temperaturas entre 3 y 33°C, mencionan que la tasa de crecimiento a 30°C puede ser usado para una rápida identificación de *Saprolegnia*.

El uso del medio de cultivo AHM, permitió un mejor desarrollo de la colonia, observándose abundante micelio a diferencia de aquellas que fueron sembradas en ASD; además se logró una mejor observación macroscópica de las colonias para su identificación. **Pickering y Willoughby, (1977)** mencionan que el uso del medio AHM permite aislar diferentes especies de *Saprolegnia*, pero sobre todo de *Saprolegnia parasítica*. Aunque **Bruno y Stamps, (1987)**, afirman que el uso del medio ASD es útil sobre todo para el aislamiento de *S. diclina*.

En nuestro estudio se desarrolló la fase asexual, encontrando zoosporangios jóvenes; esto concuerda con lo descrito por **Bruno y Poppe, (1996)** y **Hatai y Hoshiai, (1992)**; ya que los tipos de reproducción que tiene *Saprolegnia spp*, son sexual y asexual; pero es más frecuente la reproducción asexual cuando está parasitando a algún individuo. Cuando las hifas, comienzan a modificarse formando

largos zoosporangios delimitados por septos, en estos zoosporangios se desarrollan zoosporas móviles que poseen dos flagelos, las primeras zoosporas soltadas al ambiente se llaman primarias, estas solo poseen la capacidad de enquistarse en algún hospedador por unos cuantos minutos, si no logra enquistarse esta germina y prolifera una zoospora secundaria, estas son mucho más móviles que las primarias y poseen la ventaja de poder aguantar un tiempo más prolongado en el ambiente, lo que aumenta su dispersión y le permite a la zoospora secundaria tener más probabilidades de encontrar un sustrato conveniente, las zoosporas secundarias son consideradas las esporas infecciosas de ***Saprolegnia***.

## VI. CONCLUSIONES

- Se aisló el hongo del género ***Saprolegnia spp*** en Truchas Arcoíris (***Oncorhynchus mykiss***) de diferentes estadios, en la Unidad Productora de Molinos, en un 40.5% (81/200); de estos, se encontraron con mayor frecuencia, en ovas verdes con 64% (32/50) y en adultos reproductores con 46% (23/50). Con menor frecuencia se encontró en alevines free con 34% (17/50) y en juveniles fingers ling con 18% (9/50).
- En la piel se encuentra mayor porcentaje de positivos a crecimiento de ***Saprolegnia spp*** con 24%, seguido de branquias en un 15% y las aletas dorsales en un 2.7%.
- La metodología para el aislamiento de ***Saprolegnia spp***, empleando Agar Harina de Maíz, es útil para determinar la fase asexual, ya que las hifas comienzan a modificarse formando largos zoosporangios delimitados por septos, en estos zoosporangios se desarrollan zoosporas móviles que poseen dos flagelos lo que aumenta su dispersión y le permite a la zoospora tener más probabilidades de encontrar un sustrato conveniente para desarrollarse en forma de hifas (algodón) sobre individuos.

## VII. RECOMENDACIONES

- En el manejo de Truchas Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), utilizar baños de sal.
- Continuar con el estudio de Aislamiento de *Saprolegnia spp.* con biología molecular.
- Crear medidas preventivas para evitar pérdidas económicas.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Álvarez, Pellitero P. 2008.** Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Vet. Immunol. Immunopathol.*126:171-198.
- **Alzamora L, Castro J. 1999.** Aislamiento de *Saprolegnia spp.* (Fungi: Saprolegniaceae) de *Oncorhynchus mykiss* (Pisces:Salmonidae) “Trucha arcoiris” en cautiverio.
- **Bangyeekhun, E., S. M. A. Quiniou, J. E. Bly, L. Cerenius. 2001.** Characterizations of *Saprolegnia* sp. isolates from channel catfish, *Dis. Aquat. Org.* 45: 53-59.
- **Basulto. S., C. Flores. 1963.** *Saprolegnia spp.* En peces, *Rev. Soc. Med. Vet Ch.* 11: 7-8.
- **Bly, J.E., Lawson, L.A., Szalai, A.J. and Clem, L.W. 1993.** Environmental factors affecting outbreaks of winter saprolegniosis in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Fish Dis.*, 5:15–19.
- **Branson E. 2002.** Efficacy of bronopol against infection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with the fungus *Saprolegnia* species. *Vet Rec.* 151:539-441.
- **Bristow, P.1992** “The illustrated encyclopedia of fishes”. Chancellor Press, Londres.
- **Bruno, D. y T Poppe. 1996.** A Colour Atlas of Salmonid Diseases London, Academic Press Limited. 194 pp.
- **Bruno DW, Stamps DJ. 1987.** Saprolegniasis of *Atlantic salmon*, *Salmon salar*. *J Fish Diseases* 10: 513-517.

- **Castro Verónica, Castro Pérez, Enrique Serrano y Jorge León Q2. 2015.** Aislamiento e identificación morfológica de *Saprolegnia sp.* En paiche (*Arapaima gigas*) proveniente de criaderos artesanales en Iquitos, Perú
- **Centeno L, Silva-Acuña A, Silva-Acuña R, Pérez J. 2004.** Fauna ectoparasitaria asociada a *Colossoma macropomum* y al híbrido de *C. macropomum x Piaractus brachypomus*, cultivados en el estado delta Amacuro, Venezuela. *Bioagro* 16(2):121-126.
- **Compañía Minera Antamina. 2009.** Manual de crianza de trucha (*Oncorhynchus mykiss*). CEPED. Ragash – Perú.
- **Coll J. 1991.** Acuicultura marina animales. Ed. Mundi. prensa. Madrid – España.
- **Del Valle O. 2010** Crianza, manejo y alimentación de truchas. En separata del primer curso Regional de Capacitación en Truchas. Gobierno Regional de Huánuco. Huánuco 28 de mayo. 2010.
- **Díaz R. 2011.** Lesiones macroscópicas en Truchas juveniles Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) de la piscigranja de molinos. Huánuco.
- **Fernández B, de Quiros, C; G.G Auschwitz y J. L Martinez 1990.** Actas III Congreso Nacional Acuicultura. 727-732.
- **Global Environmental Management – GEM. 2009.** Manual básico para el cultivo de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Manual de capacitación para la participación comunitaria. Series de manuales de capacitación Oaxaca – México. 2009
- **González J, Heredia B. 1998.** Cultivo de la cachama (*Colossoma macropomum*). fondo nacional de investigaciones agropecuarias. Centro

de Investigaciones Agropecuarias del Estado Guárico. Maracay, Venezuela. 134p.

- **González de Canales M. L. \*J. Bosco Ortiz1 Manuel González del Valle, Carmen Sarasquete. 2001.** saprolegniasis en poblaciones naturales de peces (*Ciencias Marinas, Vol. 27, No. 1, 2001*).
- **Hatai, K., G. Hoshiai. 1992.** Mass mortality in cultured Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) due to *Saprolegnia parasitica* coker. *Journal Wildl Diseases. 28 (4): 532-6*
- **Hatai, K., L. G. Willoughby, G. W. Beakes. 1990.** Some Characteristics of *Saprolegnia* obtained from fish hatcheries in Japan. *Mycol. Res. 94: 182-190*
- **Ho, H. H. 1975.** A selective medium for the isolation of *Saprolegnia spp.* from freshwater. *Can. J. Microbiol. 21: 1126-1128.*
- **Hughes, G. C. 1962.**” Seasonal periodicity of the Saprolegniaceae in the South Eastern United States”, *Trans Brit, Mycol. Soc; 45; 519-531*
- **Hughes, G. C. 1994.** Saprolegniasis, then and now: a retrospective. In: G. J. Mueller, ed., *Salmon Saprolegniasis*. Bonneville Power Administration, Div. Fish and Wildlife, Portland,OR. pp 3-32.
- **Hussein, M., K. Hatai, T. Nomura. 2001.** Saprolegniasis in salmonids and their eggs in Japan. *Journal Wildl Diseases. 37 (1):204-7*
- **Johnson TW, Seymour RL, Padgett. 2004:** Biology and systematics of the *Saprolegniaceae*..
- **Kinkelin, P., C. H. Michel., P. Ghittino. 1985.** Hongos y micosis, Tratado de las enfermedades de los peces. Editorial Acribia, S. A: Zaragoza España pp. 109- 116.

- **Koneman E, Winn W, Allen A, Janda W, Procop G, Wood G, y cols. 2008.** Diagnostico Microbiológico: Texto y atlas en color. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1475 p.
- **Langvad, F.1994.** Saprolegnia in Norwegian Fish Farming. In: G. J. Mueller, ed., Salmon Saprolegniasis. Bonneville Power Administration, Div. Fish and Wildlife, Portland, OR. pp 188-201.
- **López – Dóriga, M,V y J, L. Martínez 1995.** “Ultrastructure of fish celis involved in celular defenses against *Saprolegnia* infections evidence of non-leucocytic nature”. Dis. Aquat. Org. 32: 111-117.
- **Marking, L. L., J. J. Rach., T. M. Schreier. 1994.** Search for antifungal agents in fish culture, In: G. J. Mueller, ed., Salmon Saprolegniasis. Bonneville Power Administration, Div. Fish and Wildlife, Portland, OR. pp 131-148.
- **Meyer, F. P. 1991.** Aquaculture disease and health management. *J. Anim. Sci.* 69: 4201-4208.
- **Ministerio de la Producción. 2010.** Plan Nacional de Desarrollo Acuícola. Dirección de Acuicultura. Despacho Viceministerial de Pesquería. Lima – Perú.
- **McDowall, R.m. y R.D.J. Tilzey, 1980** “family Salmonidae, salmons, trouts and chars” p. 72-78. En R.m Mc Dowall (ed) freshwater fishes of south -eastem Australia. A.H. y A.W. Reed Pty.Ltd Sydney, Australia
- **Mundy B, C. 2005.** “Checklist of the fishes of the Hawaiian Archipiélago” Bishop Museum Bulletins in Zoology. Bishop Mus bull. Zool. 1-704
- **Neish, G.A. 1977.** Observations on saprolegniasis of adult sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum). *J. Fish Biol.*, 10: 513–522.



- **Neish G, Hughes G. 1980.** Diseases of Fishes Book 6. Fungal Diseases of Fishes. New Jersey: T.W.F. Publications, Neptune. 159 p.
- **Noga E. 1993.** Fungal and algal diseases of temperate freshwater and estuarine fishes. In Stoskopf M, editors. Fish medicine. London: W.B Saunders. p 278- 283.
- **Noga, E.J.1996.** Fish Diseases, Diagnosis and Treatment. Mosby-Year Book, 565 pp.
- **Padgett DE. 1984.** Evidence for extreme salinity tolerance in *saprolegniaceous fungi (oömycetes)*. *Mycologia* 76: 372-375.
- **Pickering AD, Christie P. 1980.** Sexual differences in the incidence and severity of ectoparasitic infestation of the brown trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol.16:669-683.
- **Pickering AD, Willoughby LG. 1977.** Epidermal lesions and fungal infection on the perch, *Perca fluviatilis*, in Windermere. J Fish Biology 11: 349-354.
- **Pickering AD, Willoughby LG. 1982.** *Saprolegnia* infections of salmonid fish. In: 50th Annual Report, Institute of Freshwater Ecology, Windermere Laboratory. England. p 38–48.
- **Press C, Evensen O.1999.**The morphology of the immune system in teleost fishes. *Fish & Shellfish Immunology*.;9:309-318.
- **Richard, R.H. and Pickering, A.D. (1978).** Frequency and distribution patterns of *Saprolegnia* infection in wild and hatchery-reared brown trout *Salmo trutta* L. and char *Salvenilus alpinus*. J. Fish Dis.,1: 69–82.
- **Riva Rossi, C., M.A. Pascual, J. A Babaluk, M. Garcia-Asorey y N. M. Halden, 2007** “Intra population variation in anadromy and reproductive life

span in rainbow trout introduced in the Santa Cruz River, Argentina” J. Fish. Biol 70:1780-1797

- **Roberts, R.J. y Sheperd, C.J. 1974.** A. Handbook of Trout and Salmon Diseases. London. Fishing News, pp. 315–324.
- **Roberts R J. 1978.** “The mycolgy of teleosis”. In Fish Patology. Baillieri Tindall. London.Pp 205-215
- **Roberts, R., J. Shepherd. 1980.** B Enfermedades de la trucha y el salmón. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza. España.
- **Roberts R. 1981.** Patología de los peces. Madrid: Mundi-Prensa. 366 p.
- **Roberts, R. 2001.** Fish pathology. 3º edición. W.B. Saunders. Philadelphia.
- **Ruiz, L. 2012.** Estado de la acuicultura en el Perú. Facultad de Pesquería. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima. Perú. Revista AquaTIC, nº 37, pp. 99-106.
- **Schreier, T. M., J. J. Rach, G. E. Howe. 1996.** Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture* 140: 323-331.
- **Serrano E, Martínez, Castro V, Quispe M, Casas G, León J. 2014.** Aislamiento de bacterias y hongos en tejidos de paiche (*Arapaima gigas*) criados en cautiverio. Rev Inv Vet Perú 2014; 25(1): 117-122
- **Seymour, R.L.1970.** The genus *Saprolegnia*. Nova Hedwigia 19; 1-124.
- **Scott W y O´bier M. 1962.** “Aquatic fungi associated with disease fish eggs” The program fish cult, 24; 3-15.

- **Smith SN, Armstrong RA, Springate J, Barker G.1985.** Infection and colonization of Trout eggs by *Saprolegniaceae*. Trans. Br. Mycol. Soc. 85: 719-723
- **Srivastava, R. C. 1987.** Fish Mycopathology current trends in life sciences-XIV. Today & Tomorrow 's printers and publishers, New Delhi. p 107.
- **Stoskopf, M. 1992.** Fish medicine. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- **Tampieri, M. P. 1998.** Mycoses of fish. *Med. Mycol.* 36: 216-219.
- **Tiffney, W, N. 1939.** The lost rane of *Saprolegnia* parasítica. *Mycologia.* 31: 310-321
- **Torres J, Fajardo C. 2011.** Tratamientos profilácticos anti-saprolegniasis para mejorar la sobrevivencia embrionaria en ovas de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)
- **Vega-R MT, Moreno-Lafont MC, García-F V, y López-S R. 2010.** Respuesta inmune en peces. 1-6
- **Vega-Ramírez M, Moreno-Lafont M, García-Flores V, Cervantes-Olivares R, Damas- Aguilar J, López-Santiago R. 2006.** Hongos acuáticos: Presencia del género *Saprolegnia* en México. En: Rocha-Gracia RC, Lozano-Zarain P, Martínez-Laguna Y, editores. Mecanismos de patogenicidad e interacción parasito hospedero II. 2ª ed. México: Publicación especial de la Benemérita Universida Autónoma de Puebla. Puebla, México. P 207-225.
- **Vivar Muñoz, Valia M.1997.**Saprolegniosis en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss walbaum*) en la piscicultura de Rio Blanco (V

Región-Chile) / Saprolegniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*) in Rio Blanco pisciculture (V Región-Chile).

- **Vivar, V. M., F. L. Bernal. 1998.** Control de saprolegniales por ácido acético, cloruro de sodio y verde malaquita en huevos de trucha arcoíris. *Bol. Micol.* 13: 29-34.
- **Walbaum J. 1972.** the Illustrated Enciclopedia of fishes Chancellor Press, Londres
- **Walser A, Phelps P. 1993.** The use of formalin and iodine to control Saprolegnia infections on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, eggs. *Journal of Applied Aquaculture* 3: 269–278.
- **Willoughby L. 1989.** Continued defence of salmoid fish against Saprolegnia fungus, after its establishment. *Fish Diseases* 12: 63-67.
- **Wolke, R.E. 1975.** Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish. Univ. Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, pp. 33–116.
- **Zaror, L., H. Fernández, L. Otth, G. Wilson, A. Gutierrez. 2000.** Manual de Laboratorio de Microbiología Sistemática y Clínica; Facultad de Medicina, Instituto de Microbiología Clínica, UACH.
- **Zaror L, Collado L, Bohle H, Landskron E, Montaña J, Avendaño F. 2004.** *Saprolegnia parasítica* en salmones y truchas del sur de Chile. *J Rev med vet* 36: 71-78.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

### Cuadro de toma de muestras

<b>NUMERO DE ESTANQUE</b>	Frecuencia	Porcentaje
A-01	3	1,5
A-02	3	1,5
A-03	3	1,5
A-04	3	1,5
A-05	3	1,5
A-06	3	1,5
A-07	3	1,5
A-08	3	1,5
A-09	3	1,5
A-10	3	1,5
A-11	2	1,0
A-12	2	1,0
A-13	2	1,0
A-14	2	1,0
A-15	2	1,0
A-16	2	1,0
A-17	2	1,0
A-18	2	1,0
A-19	2	1,0
A-20	2	1,0
EA-01	17	8,5
EA-02	11	5,5
EA-03	11	5,5
EA-04	11	5,5
EJ-01	25	12,5
EJ-02	25	12,5
ER-01	17	8,5
ER-02	17	8,5
ER-03	16	8,0
Total	200	100,0

## ANEXO 2

### FOTOGRAFIAS DESCRITAS -PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



Esterilización de las placas Petri en el Horno de Pasteur



Preparación del Caldo peptonado, para el transporte de las muestras.

### ANEXO 3

#### TOMA DE MUESTRAS



Recolección de Ovas verdes



Toma de muestras de Alevines free



## ANEXO 4

### TOMA DE MUESTRAS JUVENILES- REPRODUCTORES



Toma de muestras en Juveniles Fingers ling



Método del arrastre para la Toma de muestras de Adultos reproductores

## ANEXO 5

### PREPARACIÓN Y SEMBRADO EN EL MEDIO DE CULTIVO



Preparación de Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) más adición de gentamicina al 10% para evitar el crecimiento de Flora acompañante



Siembra de las muestras con las micro pipetas (30 uc)

## ANEXO 6

### INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS



incubación de las muestras a 30 °C, con humedad de 80%, notable crecimiento en el tercer día.

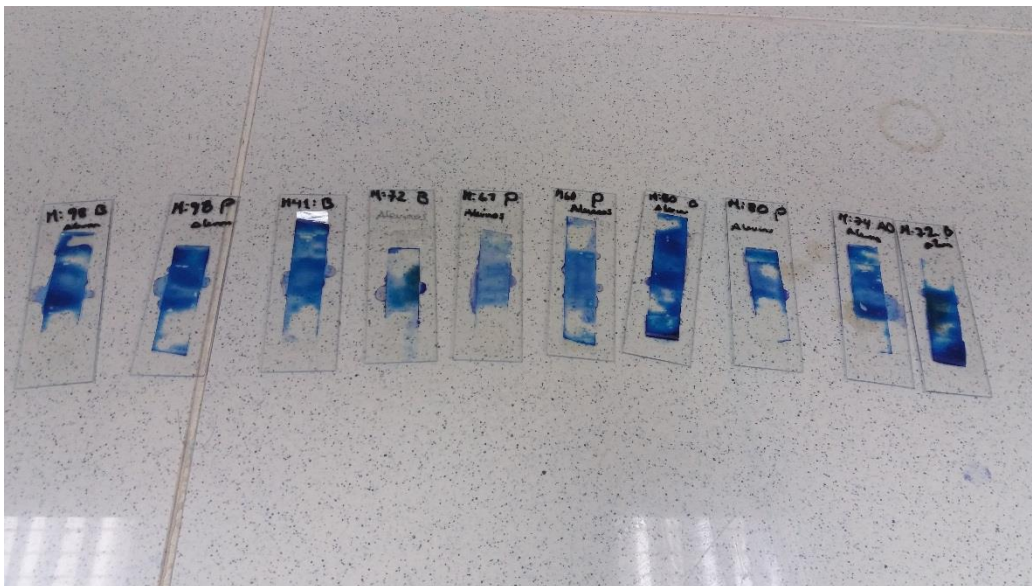


Determinación de positivos y negativos a crecimiento de *Saprolegnia spp*

**ANEXO 7**  
**PREPARACION DE LAMINAS PORTAOBJETO**



preparación con cinta adhesiva transparente para la coloración con azul de Metileno



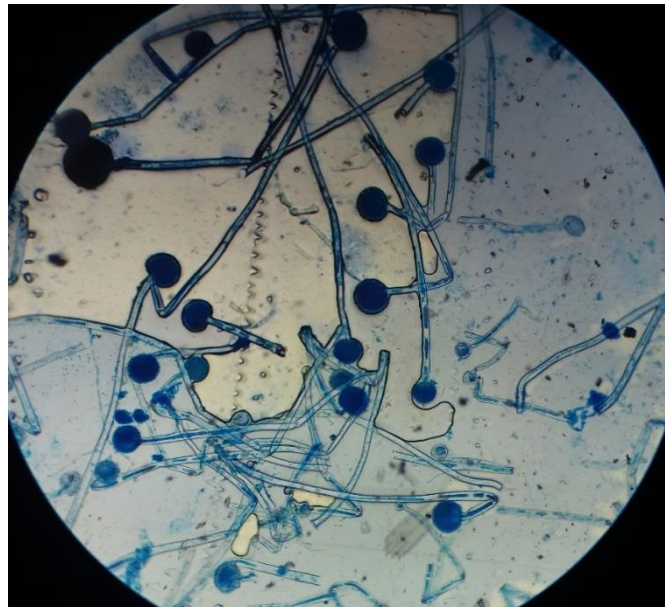
Laminas portaobjetos listos para observar las características de ***Saprolegnia spp***

## ANEXO 8

### OBSERVACION EN EL MICROSCOPIO Y CARACTERIZACION DE *Saprolegnia spp.*



Tesista, observando *Saprolegnia spp*



Caracterización de *Saprolegnia spp.*

## ANEXO N° 9

### AISLAMIENTO DE *Saprolegnia* spp



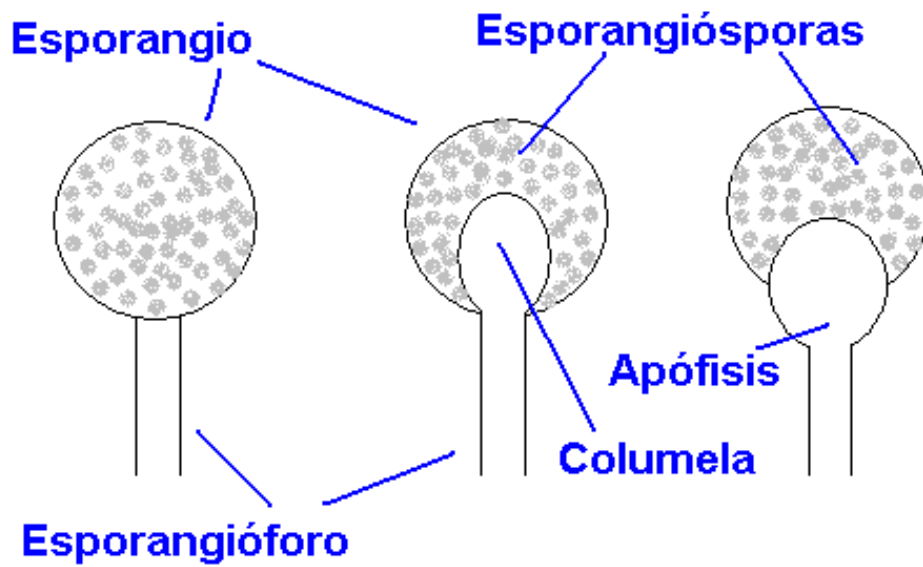
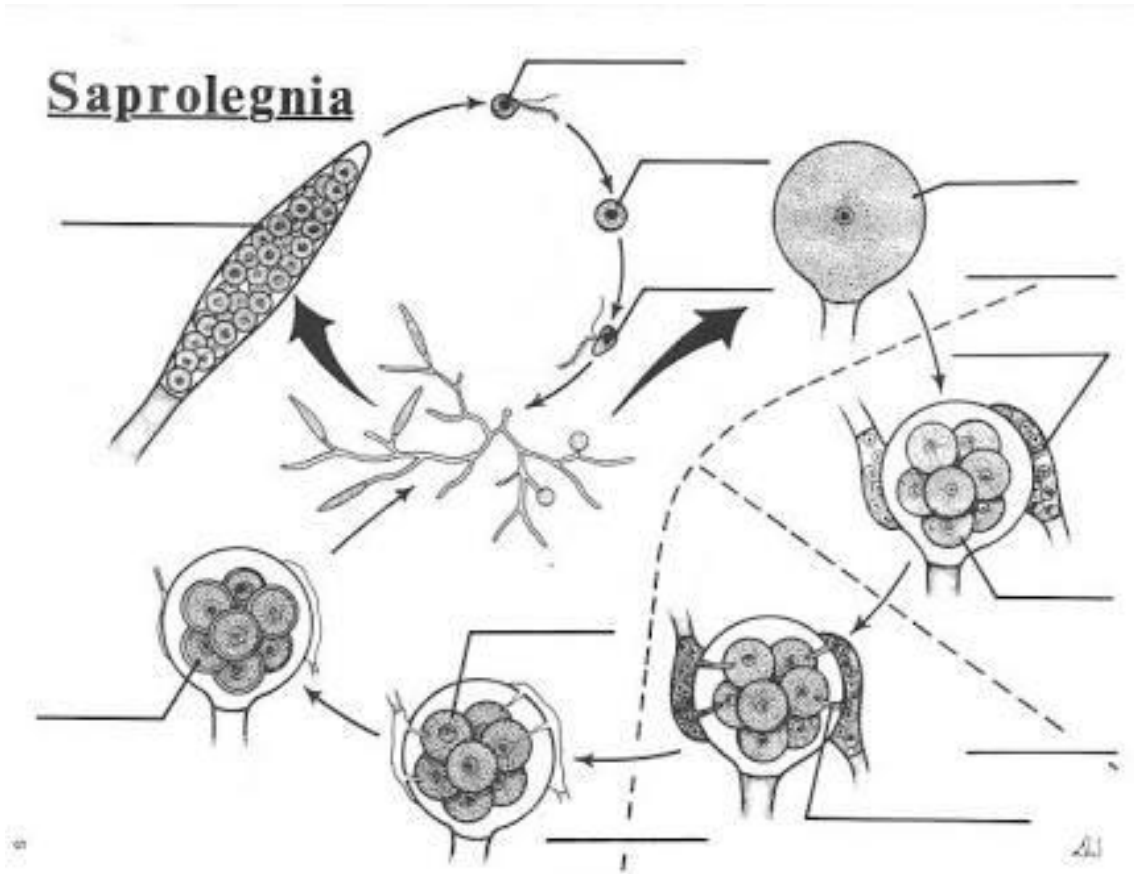
preparación del Agar Maíz para el aislamiento de sepas puras de *Saprolegnia* spp.



Aislamiento de *Saprolegnia* spp. en Agar Maíz

ANEXO 10

CARACTERÍSTICAS DE *Saprolegnia* spp.



ANEXO 11

CICLO BIOLÓGICO DE LA TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*)





## ANEXO 12

### INSTALACIONES DE LA UNIDAD PRODUCTORA DE MOLINOS



Estanques de Juveniles Fingers ling



Con el biólogo, encargado de la Unidad Productora de Molinos

## NOTA BIOGRÁFICA



Nací en el 11 de febrero del año 1994 en la ciudad de Llata – Huamalíes, de donde son naturales mis padres (Llida Rosales Luicho y Rafael Aguilar Espinoza). Yo soy la sexta de siete hermanos.

Mi educación secundaria lo realice en el Glorioso Colegio Nacional Industrial “Japón” en la Ciudad de Llata, saliendo de promoción en el año 2010. Al siguiente año con 16 años ingrese a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán, específicamente en la carrera profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ha sido bastante duro separarme de mi madre, ya que en la Ciudad de Huánuco no tenía familiares cercanos. Terminé la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia con 21 años; las practicas pre profesionales lo hice con mis amigas más allegadas (Fiorella y Asalia), nos tocó conocer ciudades como Huancayo, Tingo María, Ayacucho, entre otros. La convivencia fue muy buena.

Actualmente estoy en un nivel de mi vida que he deseado, de terminar la carrera, estoy trabajando en la clínica Veterinaria de mis tíos, los cuales también son Médicos Veterinarios; deseo con mucho ímpetu seguir creciendo profesionalmente.



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN - HUÁNUCO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MEDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Distrito de Pillco Marca, a los dieciocho días del mes de julio del 2017, siendo las once horas, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos se reunieron en el Auditorio de la Facultad, los Miembros integrantes del Jurado examinador para proceder a la Evaluación de Sustentación de la Tesis Titulada: "AISLAMIENTO DE *Saprolegnia spp*, EN TRUCHA ARCOÍRIS (*Oncorhynchus mykiss*) DE DIFERENTES ESTADIOS DE DESARROLLO, CRIADOS EN CAUTIVERIO EN LA UNIDAD PRODUCTORA DE MOLINOS - PACHITEA-HUÁNUCO 2017"; de la Bachiller Nataly AGUILAR ROSALES, para OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO, estando integrado por los siguientes miembros:

- Mg. Richard TASAYCO ALCÁNTARA PRESIDENTE
- Mg. Rosel APAESTEGUI LIVAQUE SECRETARIO
- Mg. Christian ESCOBEDO BAILÓN VOCAL

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue APROBADO, con la nota de DIECISEIS (16), con el calificativo de: BUENO.

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 12:30 PM, en fe de la cual firmamos.

Mg. Richard TASAYCO ALCÁNTARA  
PRESIDENTE

Mg. Rosel APAESTEGUI LIVAQUE  
SECRETARIO

Mg. Christian ESCOBEDO BAILÓN  
VOCAL