



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA

IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE *Saprolegnia spp.* A PARTIR DE TILAPIA DEL NILO  
(*Oreochromis niloticus*) PARA EVALUACIÓN DE SU EFECTO EN INDIVIDUOS CON  
DIFERENTES ESTILOS DE AFRONTAMIENTOS

ASESORES:

MARTHA CHÁVEZ DE VON CHONG

REYNALDO VARGAS

POR:

MARTA JUDITH ARCIA HERRERA 2-723-2196

MARÍA ISABEL GONZÁLEZ HERNÁNDEZ 2-721-2274

Trabajo de graduación para optar por  
el título de Licenciado en Biología  
con Orientación en Biología Animal.

II SEMESTRE 2019

## **TRIBUNAL EXAMINADOR**

Profesora: Martha Chávez De Von Chong \_\_\_\_\_

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

Escuela de Biología.

kmvonchong@cwpanama.com

Profesora: Ivonne Guerra Pinzón \_\_\_\_\_

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

Escuela de Biología

Ivogue03@gmail.com

Profesor: Lorenzo Becerra Vergara \_\_\_\_\_

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

Escuela de Biología

lorebece@gmail.com

## **Dedicatoria**

Al concluir este periodo de formación académica, dedico el resultado de mi esfuerzo y persistencia reflejado en este proyecto a:

Mi madre, Judith Esther Herrera y mi padre, Alejandro Arcia Guevara, quienes me inculcaron el ejemplo de esfuerzo y persistencia, a pesar de las adversidades, cuando me decían nada bueno será fácil conseguirlo, además, que Dios siempre estaría conmigo.

A mi hijo, Jimmy Navarro, quien fue siempre mi motivo para seguir adelante, ya que, de mis logros dependerá su futuro.

A Edgar Reyes, compañero, amigo, confidente, por su apoyo incondicional; nunca dijiste no, en los momentos en que más te necesité, tus palabras fueron siempre sigue adelante no te rindas.

A la profesora Kiria Lam y al profesor Fulgencio Álvarez, por confiar en mí y brindarme la oportunidad de ingresar a la Universidad de Panamá, también, por sus consejos oportunos, impulsándome siempre a seguir adelante.

A mi compañera María Isabel González, por ser tan incondicional conmigo, fuiste el pilar fundamental cuando casi me rendía, me apoyaste cuando más lo necesité, por extender tu mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día, de verdad mil gracias, hermana de otra madre, siempre te llevo en mi corazón.

Finalmente, a mis asesores Martha de Von Chong y Reynaldo Vargas, por su paciencia y comprensión; a mis compañeros de promoción, porque a pesar de que tropezamos muchas veces, siempre nos levantamos; a todos los profesores que a lo largo de la carrera sembraron en mí la semilla de conocimiento y el valor de la perseverancia, en especial, a la profesora Iris Gómez de Huertas.

Marta Judith Arcia Herrera

## **Dedicatoria**

Al culminar esta etapa universitaria, dedico el resultado de mi esfuerzo, entrega y constancia, reflejado en esta tesis:

A mi Padre Dios y a mi Morenita, Nuestra Señora de Guadalupe, por todas las bendiciones recibidas, pero sobre todo por fortalecerme en los momentos más difíciles de la realización de este proyecto investigativo; por darme salud, fortaleza y sabiduría para lograr mis objetivos.

A mi madre, Victoriana Hernández y a mi padre, Pedro José González, por apoyarme en todos los momentos de mi vida. A mis hermanas y hermanos, por sus consejos y apoyo incondicional.

A mi compañera Marta, gracias por su amistad, su paciencia y su comprensión, por este trabajo en unidad, que nos permitió fortalecernos en los momentos difíciles, sobre todo en la realización de nuestra tesis. También, a mis compañeros por ese apoyo brindado durante estos años de estudio y, en especial, por sus palabras de aliento y motivación.

A todos los profesores que contribuyeron en mi formación académica y profesional, en especial, a la profesora Iris Gómez de Huertas y al profesor Aniceto Barrios, por hacer posible la apertura de la Licenciatura en Biología y por su interés en el florecimiento de la misma; a mis profesores asesores, Martha Chávez de Von Chong y Reynaldo Vargas por su apoyo, su paciencia, sus conocimientos y experiencias transmitidos.

María Isabel González Hernández

## **Agradecimiento**

Agradecemos primero a Dios, por el don de la vida, por la salud, la sabiduría, la fe y fortaleza, para llevar a cabo la culminación de este proyecto de investigación, por darnos la satisfacción de obtener nuestra Licenciatura en Biología. Gracias a ti, Virgen María, por ser nuestra luz cuando todo parecía estar en la oscuridad.

A nuestros padres que con mucho amor y cariño nos han apoyado y motivado en nuestra formación académica, gracias por estar en cada momento de nuestras vidas, por creer en nosotras sin dudar de nuestras habilidades y aptitudes.

Expresamos nuestro más profundo agradecimiento, a la profesora Martha Chávez de Von Chong y al profesor Reynaldo Vargas, por su apoyo incondicional, por asumir la responsabilidad de revisar y corregir nuestro proyecto de tesis, gracias por sus conocimientos y por sus enseñanzas durante este proceso.

De igual manera, queremos expresar nuestra gratitud a todos los profesores, quienes nos brindaron sus conocimientos y experiencias durante estos años de estudio, contribuyendo así en el fortalecimiento de nuestra vida profesional.

Agradecemos de manera especial, a Pedro Armando González por su apoyo proporcionado en la realización de esta tesis.

Finalmente, queremos agradecer a la Universidad de Panamá, al Centro Regional Universitario de Coclé por abrirnos sus puertas y brindarnos la oportunidad de prepararnos y formarnos como profesionales para contribuir en el futuro de nuestra sociedad.

Marta y María Isabel

## Índice general

Dedicatoria.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento .....	v
Índice general .....	vi
Índice de figuras .....	xi
Índice de cuadros .....	xii
Índice de anexos .....	xii
Resumen .....	xiii
Introducción.....	1
Objetivos.....	4
1. Antecedentes.....	5
1.1 Clase <i>Oomycetes</i> .....	5
1.1.1 Importancia.....	6
1.2 <i>Saprolegnia spp.</i> .....	7
1.2.1 Origen y evolución.....	7
1.2.2 Clasificación taxonómica.....	9
1.2.3. Morfología.....	10
1.2.3.1 Características macroscópicas.....	10
1.2.3.2. Características microscópicas.....	10
1.2.4 Ciclo biológico.....	11
1.2.4.1 Reproducción asexual.....	11
1.2.4.2 Reproducción sexual.....	11
1.2.5 Hábitat.....	12
1.2.6 Importancia de la <i>Saprolegnia</i> .....	12

1.3 Tilapia del Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	13
1.3.1 Origen.....	13
1.3.2 Distribución.....	14
1.3.3 Clasificación taxonómica.....	15
1.3.4 Características físicas.....	15
1.3.4.1 Morfología externa.....	16
1.3.4.2 Morfología interna.....	17
1.3.4.3 Caracteres sexuales.....	18
1.3.5 Reproducción.....	19
1.3.5.1 Ciclo de vida.....	19
1.3.5.1.1 Huevo.....	19
1.3.5.1.2 Alevín.....	19
1.3.5.1.3 Cría.....	19
1.3.5.1.4 Juvenil.....	20
1.3.5.1.5 Adulto.....	20
1.3.5.2 Madurez sexual.....	20
1.3.5.3 Comportamiento reproductivo.....	21
1.3.5.4 Reversión sexual.....	21
1.3.6 Nutrición y alimentación.....	22
1.3.7 Requerimientos ambientales.....	23
1.3.7.1 Salinidad.....	23
1.3.7.2 Temperatura.....	24
1.3.7.3 Concentración de oxígeno disuelto.....	24
1.3.7.4 Turbidez.....	24
1.3.7.5 Alcalinidad y dureza.....	25

1.3.7.6 pH. ....	25
1.3.7.7 Amoníaco.....	25
1.3.7.8 Nitrito.....	26
1.4 Factores que intervienen en la infección de los peces. ....	26
1.4.1 Traumatismo.....	26
1.4.2 Maduración sexual. ....	27
1.4.3 Estrés ambiental. ....	27
1.4.4 Presencia de otras enfermedades.....	28
2. Material y métodos .....	30
2.1 Equipo, materiales y medios de cultivo .....	30
2.1.1 Equipos.....	30
2.1.2 Materiales. ....	30
2.1.3 Medios de cultivo. ....	31
2.2 Metodología .....	31
2.2.1 Área de estudio.....	31
2.2.2 Diseño experimental.....	32
2.2.3 Etapa de aislamiento, identificación y cuantificación de esporas del género <i>Saprolegnia spp.</i> .....	33
2.2.3.1 Toma de la muestra.....	33
2.2.3.2 Procesamiento de las muestras. ....	33
2.2.3.3 Aislamiento.....	34
2.2.3.4 Caracterización morfológica de las colonias. ....	34
2.2.3.4.1 Morfotípica. ....	34
2.2.3.5 Microcultivo. ....	34
2.2.3.6 Preparación con cinta adhesiva transparente.....	35



2.2.3.7	Identificación taxonómica de <i>Saprolegnia spp.</i> .....	35
2.2.3.8	Conteo de zoosporas de <i>Saprolegnia spp.</i> .....	35
2.2.4	Etapa de selección de líneas por su variación en estilos de afrontamientos. ....	36
2.2.4.1	Población. ....	36
2.2.4.2	Aclimatación.....	37
2.2.4.3	Prueba de restricción. ....	37
2.2.4.4	Tasa ventilatoria. ....	38
2.2.4.5	Infección experimental con <i>Saprolegnia spp.</i> .....	39
2.2.4.5.1	Patogenicidad.....	39
2.3	Análisis estadístico.....	40
3.	Resultados y discusión.....	41
3.1	Etapa de aislamiento, identificación y cuantificación de esporas del género <i>Saprolegnia spp.</i> .....	41
3.1.1	Toma de la muestra. ....	41
3.1.2	Procesamiento de las muestras en el laboratorio.....	41
3.1.3	Aislamiento. ....	42
3.1.4	Caracterización morfológica de las colonias.....	44
3.1.5	Microcultivo y preparación con cinta adhesiva transparente.....	45
3.1.6	Identificación taxonómica de <i>Saprolegnia spp.</i> .....	46
3.1.7	Conteo de zoosporas de <i>Saprolegnia spp.</i> .....	48
3.2.	Etapa de selección de líneas por su variación en estilos de afrontamientos. ....	49
3.2.1	Prueba de restricción. ....	49
3.2.2	Tasa ventilatoria. ....	50
3.2.3	Infección experimental con <i>Saprolegnia spp.</i> .....	51
3.2.3.1	Patogenicidad.....	51

3.2.3.2 Supervivencia.....	52
3.3 Discusión.....	53
4. Conclusiones.....	56
5. Recomendaciones.....	57
6. Referencias bibliográficas.....	59
7. Anexos.....	70

## Índice de figuras

Figura N°1. Manchas algodonosas en piel y ojos de la tilapia del Nilo. ....	33
Figura N°2. Prueba de restricción seleccionado en tres subgrupos proactivo, reactivo e intermedios. ....	38
Figura N°3. Díptero ( <i>Musca domestica</i> ) colonizada de micelio blanco algodonoso. ....	40
Figura N°4. Animales con lesiones en la piel y manchas algodonosas en la cola y aletas.....	41
Figura N°5. Obtención de muestras en áreas de la piel y aletas afectadas .....	41
Figura N°6. Aislamiento del hongo <i>Saprolegnia spp</i> .....	42
Figura N°7. Comparación de los cultivos monospóricos en medios ASD y PDA. ....	43
Figura N°8. Muestras cultivadas en medio Agar Potato Dextrose (PDA). A. Anverso y B. Reverso de la colonia.....	43
Figura N°9. Muestras cultivadas en medio ASD. A. Anverso y B. Reverso de la colonia.....	44
Figura N°10. Morfología de las colonias.....	44
Figura N°11. Observación de estructuras del hongo. a). Técnica de Microcultivo y b). Técnica con cinta adhesiva transparente. ....	45
Figura N°12. Técnica de microcultivo y cinta adhesiva transparente. ....	46
Figura N°13. Características microscópicas de la <i>Saprolegnia spp</i> .....	47
Figura N°14. Media ( $\pm$ EE) de la latencia para el primer intento de escape entre individuos proactivos y reactivos. $p < 0.001$ . ....	49
Figura N°15. Media ( $\pm$ EE) de tasa ventilatoria entre individuos proactivos y reactivos. ....	50
Figura N°16. Media ( $\pm$ EE) de la respuesta patogénica a <i>Saprolegnia spp</i> . entre individuos proactivos y reactivos. ....	51
Figura N°17. Porcentaje de supervivencia de individuos P y R desafiados con <i>Saprolegnia</i> ....	52

## Índice de cuadros

Cuadro N°1. Clasificación taxonómica de la <i>Saprolegnia spp.</i> .....	9
Cuadro N°2. Clasificación taxonómica de la tilapia del Nilo.....	15
Cuadro N°3. Conteo de zooporas de <i>Saprolegnia spp.</i> .....	48

## Índice de anexos

Anexo N°1. Captura y transporte de las muestras.....	70
Anexo N°2. Preparación de los medios de cultivos utilizados para el aislamiento de la <i>Saprolegnia spp.</i> .....	71
Anexo N°3. Flujograma para el conteo de zoosporas de la <i>Saprolegnia spp.</i> .....	72
Anexo N°4. Patogenicidad de <i>Saprolegnia spp.</i> en tilapia del Nilo.....	73
Anexo N°5. Criterios morfológicos para la caracterización de hongos .....	74
Anexo N°6. Datos registrados en la prueba de restricción.....	78
Anexo N°7. Datos registrado en la tasa ventilatoria.....	79
Anexo N°8. Glosario. ....	80

## Resumen

La *Saprolegnia* es considerada como el principal agente etiológico de organismos relacionados con hongos en peces de agua dulce, actuando como patógeno secundario, por lo tanto, su infección ocasiona importantes pérdidas económicas en la acuicultura. El objetivo de este estudio fue identificar cepas de *Saprolegnia spp.* a partir de tilapias del Nilo (*O. niloticus*) y evaluar su efecto en individuos con diferentes estilos de afrontamientos; se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología del Centro Regional Universitario de Coclé. Se muestrearon 36 juveniles de *O. niloticus*, tomando en cuenta lesiones externas como heridas con manchas algodonosas en piel, aletas y cola, posteriormente se aislaron cepas de *Saprolegnia* y se purificaron en Papa Dextrose Agar y Agar Sabouraud con adición de Penicilina (0.1g/ml) y se incubaron a 28°C. A través de una cámara de Neubauer, se cuantificó la cantidad de unidades formadoras de colonias ( $9.62 \times 10^5$  esporas/ml) para la contaminación de los peces en estudio. La población fue separada en fenotipos de toma de riesgo mediante pruebas de restricción y tasa ventilatoria, después se procedió a la infección con *Saprolegnia* y se sometió a un ensayo de patogenicidad y supervivencia. Los resultados mostraron que los individuos proactivos tienen una menor latencia para enfrentar un desafío en la prueba de restricción  $p < 0.001$ . En la tasa ventilatoria existen diferencias significativas entre proactivos (P) y reactivos (R)  $p = 0.007$ . En respuesta patogénica al desafío con *Saprolegnia*, mostró que no existe diferencia significativa entre P y R  $p > 0.05$ , pero se observó mayor número de individuos reactivos con lesiones que en conjunto con los resultados de supervivencia los peces proactivos reflejaron una mayor tendencia a la supervivencia  $p = 0.07$ .

**Palabras Claves:** *Saprolegnia spp.*, aislamiento, identificación, cuantificación, *Oreochromis niloticus*, proactivo, reactivo, patogenicidad, supervivencia.

## Introducción

La tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*) es un pez nativo de África, posiblemente el más importante dentro del grupo de peces de aguas cálidas y una de las especies predominantes en el comercio a nivel mundial (Gómez, Peña, Salgado y Guzmán, 2003; Rodríguez, 2012).

Es una especie tropical que prefiere vivir en aguas someras, habita en una gran diversidad de cuerpos de agua, como arroyos, ríos, lagos, lagunas, incluso en hábitat marinos; muestran gran preferencia por aguas de escasa corriente o lénticas, poca profundidad y cerca de las orillas, refugiándose en márgenes de pantanos y riberas entre las raíces de las plantas acuáticas y piedras (Basualdo *et al.*, 2012).

Puede tolerar un mayor rango de condiciones ambientales, incluyendo factores como la salinidad, oxígeno disuelto, pH, niveles de amonio y temperatura, siendo las letales inferiores a 11°C - 12°C y superior a 42°C, en tanto que las temperaturas ideales varían entre 31°C y 36°C. (Guiscafré, 2018). Es omnívoro consume fitoplancton, plantas acuáticas, pequeños invertebrados, fauna béntica, desechos y capas bacterianas asociadas a los detritus (FAO, 2006-2011). En los sistemas de cultivo aceptan con mucha facilidad alimento suministrado artificialmente, tales como semillas oleaginosas, cereales, plantas, desperdicios de frutas, verduras y vegetales (López y Cruz, 2011).

La *O. niloticus* es resistente a enfermedades, posee alta fecundidad y productividad, tiene bajos costos de producción, gran adaptabilidad, fácil reproducción y una rápida tasa de crecimiento llegando al peso comercial en un menor intervalo de tiempo en comparación a otras especies (Logato, Murgas y De Souza, 2004; Rodríguez, 2012).

Su capacidad de reproducirse a una edad relativamente temprana, la hace ideal para “cultivo”. Madura a una edad de dos o tres meses y en adelante, puede tener crías cada tres a seis semanas, si se encuentra en condiciones óptimas (Morales *et. al.*, 2004).

A pesar, de que es una especie que presenta gran resistencia en cultivo, existen diversos factores que pueden influir en su desarrollo normal, mostrando enfermedades o infecciones que se dan por un fuerte estrés sufrido por temperaturas desfavorables, densidad de población elevada, prácticas de manejo inadecuadas, calidad química del agua, lo cual genera un déficit en el sistema inmune y pérdida de apetito, creando las condiciones propicias para la proliferación de todo tipo de microorganismos (Parra *et al.*, 2008; Ardila, 2010).

Generalmente, se han reportado infecciones en los peces por diversos agentes como bacterias, protozoarios y hongos, principalmente, como la *Saprolegnia spp.*, *Aphanomyces invadens* y *Achlya sp.* Estos son *Oomicetos* que se encuentran en ambientes dulceacuícolas, y no son más que patógenos oportunistas, que se multiplican en peces que están estresados, que presentan lesiones cutáneas o que tienen alguna infección o secuelas de otras enfermedades (Parra *et al.*, 2008; Castro, Serrano y León, 2015).

Los *oomycetes* causan enfermedades en los peces, como la *Saprolegniasis*, la cual se caracteriza por parches blancos o grises apreciables a simple vista, formados de micelio filamentosos que invade la superficie del cuerpo, aletas y ovas de peces (Parra *et al.*, 2008; Zaror *et al.*, 2004).

Según Vega, Moreno y López (2006) la *Saprolegniasis* son micosis superficiales que evolucionan a partir de puntos de colonización de los tegumentos o de las mucosas, y se diseminan a una extensa superficie corporal del animal. Estas lesiones se designan con el nombre de "algodones", haciendo referencia al aspecto coposo de las formaciones miceliales a las que el pez sirve como sustrato.

Las localizaciones más comunes son la piel y las branquias, las lesiones son extensivas y el pez acaba por manifestar signos de agotamiento y muere.

Las especies de la familia *Saprolegniaceae* se consideran ubicuas en los ecosistemas de agua dulce, lo que implica que los peces se encuentran en contacto continuo con zoosporas de *Saprolegnia spp.* potencialmente patógenas sin que en la mayoría de los casos lleguen a enfermar, por lo que se considera que existen una serie de factores predisponentes muy importantes asociados a un aumento de la receptividad a la *Saprolegniosis*, uno de los principales es la ausencia de integridad en el tegumento y un descenso en la producción del moco cutáneo, que actúan como mecanismo inmunitario inespecífico, evitando la entrada de infecciones por *Saprolegnia spp.* (Fregeneda, Fernández y Aller 2001; González, 2017).

Por lo descrito anteriormente, cabe señalar, que las infecciones con *Saprolegnia* son comunes en peces de agua dulce afectando todas las etapas de desarrollo, incluyendo, los huevos; y debido a que no hemos encontrado estudios que evalúen la relación entre estilos de afrontamiento y grado de infección con este hongo, ya que los distintos tratamientos involucrados en el control de esta infección tienen implicaciones en la salud de los individuos y efectos ambientales adversos, con restricciones en su uso en algunos países por considerarlos peligrosos, consideramos que sería atractivo e interesante conocer si las variaciones fenotípicas en estilos de afrontamiento tienen implicaciones en la respuesta a la infección con el hongo del género *Saprolegnia*.



## Objetivos

### General

- Identificar cepas de *Saprolegnia spp.* a partir de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y evaluar su efecto en individuos con diferentes estilos de afrontamientos.

### Específicos

- Aislar cepas de *Saprolegnia* a partir de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) en medios de cultivos.
- Reconocer cepas de *Saprolegnia spp.* a partir de los aislamientos.
- Cuantificar la cantidad de unidades formadoras de colonias por ml para la contaminación de los peces en estudio.
- Separar la población de *O. niloticus* en fenotipos de estilos de afrontamientos ante la infección.
- Evaluar la respuesta de las líneas de estilos de afrontamientos frente a la infección con el género *Saprolegnia*.

## 1. Antecedentes

### 1.1 Clase *Oomycetes*

Los *oomicetos* son microorganismos eucarióticos, conocidos como “mohos de agua”. Fueron clasificados previamente como hongos, porque obtienen sus nutrientes a través de la absorción y producen los hilos filamentosos o micelio, característico de la mayoría de los hongos (Paul y Steciow, 2004; Songe, 2015). Sin embargo, la presencia de otras características, lo han clasificado como un grupo distinto, estando más estrechamente relacionados con las algas. Actualmente, ya no son considerados hongos verdaderos y se clasifican dentro del reino *Heterokonts (Stramenopiles) o Chromista*. (Baldauf, Roger, Wenk y Doolittle, 2000; Duan *et al.*, 2018).

Entre las características que los diferencian de los hongos verdaderos, se incluye: la presencia de zoosporas biflageladas; uno de los flagelos se dirige hacia adelante y posee una hilera de pelos en cada lado, mientras que el otro se dirige hacia atrás y es liso. El componente principal de sus paredes celulares es el  $\beta$ -glucano y celulosa, en lugar de quitina que se encuentra en los hongos verdaderos. Poseen crestas mitocondriales tubulares, a diferencia de los otros en los que las crestas mitocondriales tienen forma de plato (Fernández, 2011).

Otra diferencia importante, es que las células vegetativas de los *oomicetos* consisten generalmente en hifas cenocíticas, que contienen núcleos diploides, mientras que, en los hongos verdaderos la mayoría del micelio se divide en células por paredes transversales, cada una de ellas, contiene uno, dos o más núcleos haploides (Songe, 2015).

### 1.1.1 Importancia.

Habitan principalmente en suelos húmedos y acuáticos. Tienen un papel clave en el ciclo de nutrientes contribuyendo en la descomposición y reciclaje de la materia orgánica (Kamoun, 2003). Se encuentran entre los patógenos más perjudiciales de los peces de agua dulce cultivados y silvestres de todo el mundo (Van Der Berg y Van West, 2013).

Las infecciones por *oomicetos* se propagan, principalmente, a través de zoosporas nadadoras, las cuales permanecen por un tiempo en el medio hasta enquistarse, dando origen nuevas zoosporas que se unen en la superficie del hospedador, penetrando sus tejidos y ocasionando un problema para estas especies (Beakes, Glockling y Sekimoto, 2012; Sarowar *et al.*, 2018).

Los brotes de infección por *oomicetos* son comunes al inicio de la temporada de invierno cuando la temperatura del agua disminuye y favorece que el patógeno infecte a los huéspedes inmunes comprometidos (Sarowar *et al.*, 2018).

Dentro del grupo de los *Oomicetes* se han reconocido varios órdenes, siendo los más importantes los *Saprolegniales*, reportándose en este grupo ocho géneros en ambientes naturales y artificiales, de los cuales solo *Saprolegnia*, *Achyla* y *Aphanomyces* son importantes en la acuicultura, estos se presentan ocasionalmente causando infecciones en peces dulceacuícolas, en especial la *Saprolegnia* (Castro *et al.*, 2015).

## **1.2 *Saprolegnia* spp.**

### **1.2.1 Origen y evolución.**

Estudios científicos reportan que la principal descripción de *Saprolegnia* se realizó en 1970 por Seymour (Zaror *et al.*, 2004). Sin embargo, la historia de esta enfermedad abarca unos pocos siglos, pero existe la posibilidad de que haya sido conocida mucho antes de su descripción.

Las primeras descripciones datan del siglo XVIII. También, las hay de finales del siglo XIX y principios del siglo XX, debido al rápido desarrollo de la acuicultura en Europa y Norteamérica, señalándose la amenaza que constituía la *Saprolegniosis* para una gran variedad de peces de agua dulce (Carbajal, 2013).

Otros estudios señalan que para la década de los 80 en España, la aparición de brotes agudos de *Saprolegnia* en los ríos de la Provincia de León, provocó un descenso en poblaciones naturales de peces causando un gran impacto ecológico (González, 2017). Reportándose, también, brotes de esta enfermedad en los cultivos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), los cultivos del esturión del Atlántico, truchas, salmones, así como en peces tropicales; afectando específicamente ovas y alevines. Prácticamente, todas las especies de peces de los sistemas acuáticos estaban expuestos a la infección de este agente patógeno, y en especial, desde el estado de ovas hasta la esmoltificación (Campillay, 2007).

Posteriormente, observadores consideraron que la presencia de esta enfermedad se debía a factores predisponentes, como el hacinamiento de peces, la contaminación, la escasez de agua, herida de peces por los pescadores o por pelear en las camas de desove, interesándose de esta manera, por buscar alternativas para reducir los niveles de esta enfermedad que afectaban un gran número de peces, no solo produciendo una mala calidad de los individuos infectados, sino

disminuyendo las poblaciones, situación desastrosa para la acuicultura y la pesca (Marshall, Arena, Díaz, Nilo y Olivares, 2010; Songe, 2015).

A partir de estos estudios, la *Saprolegniosis*, tradicionalmente, se conocía como “infección por hongos” en los peces, siendo sus primeros encuentros en poblaciones de peces salvajes, pero con el advenimiento de la acuicultura en el siglo XX, se observó que los monocultivos sufrían de infecciones por *Saprolegnia*, convirtiéndose en un problema generalizado.

Actualmente, la *Saprolegnia* es descrita como una enfermedad propia de peces de agua dulce que puede aparecer en cualquiera de las fases de su ciclo biológico, afectando tanto a las poblaciones naturales como a los peces de cultivos (González, 2017). El crecimiento de este agente patógeno tiene lugar, principalmente, en branquias y piel, particularmente, en los tejidos epidérmicos de la cabeza, aletas caudal y anal, pudiendo en algunos casos alcanzar la musculatura superficial y en peces pequeños llega a invadir los órganos internos (Carbajal, 2013; Castro *et al.*, 2015).

La infección por *Saprolegnia spp.* causa cambios degenerativos en la epidermis y dermis, con necrosis celular y edema. La penetración de las hifas produce la destrucción de la epidermis y la membrana basal, que en casos más grave llegan hasta la hipodermis y la musculatura. En las fibras musculares esqueléticas, próxima a la dermis aparece vacuolización citoplasmática, degeneración hialina y necrosis (Aller, Fregeneda, González, García y Pérez, 2016).

En peces pequeños las hifas penetran en tejidos más profundos, llegando afectar al sistema nervioso y vascular, observándose en este último la presencia de trombos en los vasos sanguíneos. Mientras que, los huevos de peces infectados con *Saprolegnia* aparecen como mechones de algodón blanco cubriendo toda su superficie (Campillay, 2007; Songe, 2015).

*Saprolegnia* es tolerante a grandes rangos de temperatura que van desde 3 a 33 °C, también presenta un rango de tolerancia a la salinidad relativa que es de aproximadamente 1,75% de NaCl, no soportando así concentraciones iguales o superiores a 3,5% de NaCl, (Marschall *et al.*, 2010). Esto nos da a conocer que afecta principalmente a los peces de agua dulce, ya que, los peces marinos no la padecen porque la salinidad del agua impide la supervivencia de *Saprolegnia*; no obstante, se han encontrado infecciones por *Saprolegnia* en peces de baja salinidad en estuarios (Carbajal, 2013).

### 1.2.2 Clasificación taxonómica.

Durante años, el género *Saprolegnia* se encuadró taxonómicamente dentro del Reino *Fungi*, pero actualmente, el Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi (Kirk, Cannon, Minter y Stalpers, 2008), describió una clasificación taxonómica sobre el género *Saprolegnia* (Cuadro N°1).

Cuadro N°1

*Clasificación Taxonómica de la Saprolegnia spp.*

Reino	<i>Chromista</i>
Filo	<i>Oomycota</i>
Clase	<i>Oomycetes</i>
Orden	<i>Saprolegniales</i>
Familia	<i>Saprolegniaceae</i>
Género	<i>Saprolegnia</i>

Fuente: Kirk *et al.*, (2008).

Dentro de las diversas especies del género *Saprolegnia* solo unas pocas han sido descritas como patógenas, entre todas ellas *Saprolegnia parasítica*, destacándose la principal

especie patógena, recibiendo diversas denominaciones debido a que mucho de los aislados obtenidos de peces enfermos no produce estructuras sexuales cuando son cultivados en el laboratorio, utilizándose estas estructuras para identificar las distintas especies del género *Saprolegnia*.

### **1.2.3. Morfología.**

#### ***1.2.3.1 Características macroscópicas.***

La *Saprolegnia* se manifiesta con lesiones de aspecto algodonoso en la superficie del pez; por lo tanto, sus cultivos en laboratorio presentan coloración blanquecina tanto en la superficie como en el reverso, textura algodonosa-lanosa, superficie elevada y de consistencia muy tenue y suave (Castro *et al.*, 2015). Su forma algodonosa se desarrolla por la formación del micelio, que no es más que la proliferación de las hifas, la coloración del micelio puede variar y no ser en todos los casos de color blanco, ya que, pequeñas partículas en suspensión atrapadas en el micelio le pueden proporcionar un color marrón o verdoso, otro color que puede tomar el micelio es el color gris, este lo adquiere cuando el micelio está en asociación con bacterias patógenas (Zaror *et al.*, 2004).

#### ***1.2.3.2. Características microscópicas.***

Poseen hifas cenocíticas, hialinas, abundantemente ramificadas; zoosporangios largos y cilíndricos; terminales, de diámetro algo mayor que la hifa que los origina, tornándose la zona apical más oscura; zoosporas biflageladas que se dividen en zoosporas primarias, en forma de pera con flagelos apicales, y las zoosporas secundarias, que son reniformes con flagelos laterales dirigidos en sentido opuestos, insertos en un surco lateral profundo; oosporas esféricas u ovoides; ramas anteridiales usualmente numerosas, cortas, a veces ramificadas y retorcidas (Seymour, 1970; Arellano, Marano y Steciow, 2008; Markovskaja , 2006).

#### **1.2.4 Ciclo biológico.**

Las especies del género *Saprolegnia* tienen un ciclo de vida asexual y sexual. En el ciclo sexual las estructuras reproductivas están separadas de las hifas somáticas por septos; la reproducción asexual se realiza por medio de zoosporas biflageladas producidas por hifas vegetativas, siendo estas móviles, lo cual facilita su dispersión (González, Bosco, González y Sarasquete, 2001).

##### ***1.2.4.1 Reproducción asexual.***

En el extremo de las hifas cenocíticas se genera un tabique basal que separa una estructura apical denominada zoosporangio, en cuyo interior se forman las zoosporas primarias que son liberadas y nadan durante un breve espacio de tiempo antes de enquistarse, generando los quistes primarios que pueden germinar directamente dando lugar a un nuevo micelio, pero que generalmente originan zoosporas secundarias. Estas zoosporas secundarias nadan más tiempo que las primarias antes de dar origen a los quistes secundarios, ellas germinan formando nuevas hifas o generando nuevas zoosporas en un fenómeno conocido como poliplanetismo que favorece la dispersión. La zoospora secundaria o el quiste secundario se considera la forma infectante de las cepas patógenas de *Saprolegnia spp.* (González, 2017).

##### ***1.2.4.2 Reproducción sexual.***

Se producen dos gametangios, uno masculino conocido como anteridio y el gametangio femenino denominado oogonio. La penetración del contenido de la célula anteridial en el oogonio da lugar a las oosporas que germinarán, dando lugar a la formación de un nuevo micelio (Carbajal, 2013).



### **1.2.5 Hábitat.**

La distribución de *Saprolegnia*, es a nivel mundial, es un organismo cosmopolita que puede soportar diferentes ambientes de agua dulce, aunque existen algunas especies tolerantes a cierto grado de salinidad; son habitantes de ambientes salobres de los estuarios, a concentraciones salinas menores al 2.8% (Vega *et al.*, 2006).

También, ha sido encontrada en la tierra húmeda, son saprofitos o parasitoides, alimentándose de células muertas o parasitando peces (Marshall *et al.*, 2010).

### **1.2.6 Importancia de la *Saprolegnia*.**

Las especies de *Saprolegnia* son considerados como los *Oomycetes* más importantes cuando se trata de infecciones de peces y sus huevos. Se ha descrito como un agente patógeno importante en diferentes especies de peces silvestres y de cultivo, como tilapias, salmónidos, incluidos el salmón del Atlántico, el arco iris y trucha marrón, además de otras especies, como la perca, la anguila y el bagre (Bruno, Gordón y Van West, 2010).

Tiene un impacto económico importante en los cultivos de peces, así como también ecológico produciendo el declive de las poblaciones naturales de peces de agua dulce, además, consecuencias ecológicas en las masas de huevos, ya que, al invadirlos, el crecimiento del micelio provoca la muerte del embrión y se propaga a los huevos adyacentes (Van West, 2006; Bruno *et al.*, 2010).

### **1.3 Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

#### **1.3.1 Origen.**

El cultivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tiene sus orígenes en 1820 en África y en el Medio Oriente, desde ahí se ha extendido a gran parte del mundo (Patiño, 2013; Espejo y Torres, 2001). La FAO (2009), señala que este cultivo inició desde los antiguos egipcios, hace más de 4000 años atrás. Pero, se introdujo con más fuerza desde la década de 1960 hasta los años 80, llegando a Tailandia en 1965, a Brasil en 1971 y a Estados Unidos en 1974.

En 1978, la tilapia del Nilo llegó a China, este país es el mayor productor a nivel mundial, con más de la mitad de la producción global desde 1992 a 2003. Posteriormente, la cría incontrolada de tilapia en estanques, condujo a un excesivo reclutamiento, enanismo y un bajo porcentaje de peces de talla comercial; pero, con el desarrollo de técnicas de reversión sexual por medio del uso de hormonas, en los años 70 se generó un boom comercial, permitiendo el cultivo de poblaciones monosexuadas con tallas comerciales uniformes; generándose una rápida expansión de este sistema de producción. Actualmente, la tilapia del Nilo es la de mayor importancia económica (FAO, 2009).

En Panamá, la tilapia fue introducida en 1940 con fines deportivos, pero más tarde entre 1976 y 1982 el Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA), institución dedicada a la promoción del sector agropecuario, distribuyó semillas de diversas especies de tilapias, entre ellas la tilapia Nilótica (Martez, Singh y Toro, 2017). Posteriormente, a partir de la segunda parte de los años 80 se inicia el proceso de comercialización, en 1994 se dan las primeras exportaciones de tilapias de cultivo a los Estados Unidos (FAO, 2005, 2015).

### **1.3.2 Distribución.**

Las tilapias son organismos tropicales dulceacuícolas, debido a su adaptación se encuentran distribuidos en la mayoría de los países tropicales y subtropicales, donde las condiciones son favorables para su reproducción y crecimiento (Romero y Romero, 2012).

Entre todas las especies pertenecientes a “tilapia”, la Nilótica es la de mayor aceptación, adaptabilidad y producción a nivel mundial (Castillo, 2003). Tanto así, que ha colonizado diversos hábitats, pues es un pez de aguas cálidas, dulces, salobres o salinas; que puede adaptarse a aguas con baja concentración de oxígeno: también es común que habite en agua de poca corriente, permaneciendo en zonas poco profundas y cercanas a las orillas (Romero y Romero, 2012).

Patiño (2013) manifiesta que la tilapia Nilótica es una especie ideal para el cultivo en agua dulce o salada, ya que tiene una alta resistencia a enfermedades y una gran capacidad para adaptarse a condiciones adversas del medio. Situación que le permite tolerar condiciones extremas de contaminación, bajas de oxígeno y temperaturas elevadas (Mantilla, 2004).

Actualmente, su cultivo se realiza en numerosos países, siendo su distribución a nivel mundial y se cultiva principalmente en Israel, Brasil, Indonesia, Tailandia, China, Taiwán, Estados Unidos, Asia Suroriental, India, Panamá, Costa Rica, Honduras, Jamaica y México (Iturbide, 2004; Zuñiga, 2008).

### 1.3.3 Clasificación taxonómica.

Morales (2003) presenta una clasificación taxonómica completa de la tilapia Gris o Nilótica (Cuadro N°2).

Cuadro N°2

*Clasificación Taxonómica de la tilapia del Nilo*

---

Reino	<i>Animalia</i>
Phylum	<i>Chordata</i>
Subphylum	<i>Vertebrata</i>
Clase	<i>Actinopterygii</i>
Orden	<i>Perciformes</i>
Familia	<i>Cichlidae</i>
Género	<i>Oreochromis</i>
Especie	<i>Niloticus</i>

---

Fuente: Morales (2003).

### 1.3.4 Características físicas.

La tilapia puede ser identificada fácilmente por una interrupción de la línea lateral característica de los peces de la familia *Cichlidae*. Ya que, el pez Nilótico tiene bandas verticales marcadas y el macho maduro posee una pigmentación gris o rosada en la región del cuello, que la diferencia de las demás especies (Popma y Masser, 1999; Hernández, 2004).

#### ***1.3.4.1 Morfología externa.***

Posee cuerpo comprimido lateralmente y profundo con aletas dorsales largas, cuya porción delantera de la aleta dorsal es muy espinosa, ya que presenta de 16 – 18 espinas dorsales y de 29 – 31 radios (Noguera, 2009).

Según Hernández (2004) las espinas también se encuentran en las aletas de la pelvis y las anales. La aleta caudal es redonda, truncada y raramente cortada y le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua (Saavedra, 2006). La línea lateral es bifurcada, en la parte superior se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, en la porción inferior, aparecen varias escamas por debajo de donde termina la línea lateral hasta la terminación de la aleta caudal.

Presenta un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. La cabeza y la cola son pequeñas, pero el macho posee la cabeza más grande que la hembra, algunas veces según la edad y crecimiento el macho presenta tejidos grasos en la región anterior y dorsal de la cabeza (dimorfismo sexual) (Saavedra, 2006).

La boca es protráctil, mandíbula generalmente ancha, a menudo bordeada por labios gruesos con dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos, en otros casos puede presentar un puente carnosos (freno) que se encuentra en el maxilar inferior, en la parte media debajo del labio (Alamilla, 2000; Zúñiga, 2008). Posee membranas branquiales unidas por 5 o 6 radios branquióstegos y un número de branquispinas (Patiño, 2013).

#### ***1.3.4.2 Morfología interna.***

El sistema digestivo comienza en la boca, continuando con la faringe, la cual está perforada lateralmente por los arcos branquiales. Le sigue el esófago, que es muy elástico y dispone de células secretoras de una sustancia mucilaginosa que favorece el avance del bolo alimenticio hacia el estómago. El intestino es en forma de tubo hueco y redondo que se adelgaza después del píloro, es siete veces más largo que la longitud del cuerpo (Macias, 2016).

Junto con el tracto digestivo, presenta dos glándulas muy importantes, siendo una de ellas el hígado, que es un órgano de gran tamaño y forma alargada. En su parte superior y sujeta a este, posee una estructura pequeña y redonda de coloración verdosa llamada vesícula biliar, la cual se comunica con el intestino por un diminuto tubo, llamado conducto biliar por el que se vierte un líquido verdoso, la bilis, que facilita el desdoblamiento de los alimentos. La otra glándula importante es el páncreas, cuya forma se presenta en pequeños fragmentos redondos, dificultándose su observación a simple vista por estar incluido en la grasa que rodea a los ciegos pilóricos (Chakan, 2004).

El sistema circulatorio, representado por el corazón, es un órgano de forma redonda generalmente bilobular compuesto por tejidos musculares, localizado casi en la base de la garganta, el corazón se caracteriza por presentar una sola aurícula y un ventrículo circulando por la sangre venosa (Morales, 2003).

Posee una vejiga natatoria que se localiza bajo la columna dorsal, tiene forma de bolsa alargada, la cual funciona como un órgano hidrostático que ayuda al pez para flotar a diferentes profundidades. El riñón es un filtro de forma ovoide que presenta un solo glomérulo, la sangre fluye a través de este mediante unos tubos hacia los uréteres, que secretan en la vejiga y que posteriormente descarga al exterior (Hurtado, 2005).

El esqueleto, por lo general, se presenta completamente calcificado, con terminación en unos huesos pequeños, los hipulares, de donde se forma la aleta caudal. Tiene una cubierta escamosa que es su esqueleto dérmico; el endoesqueleto está formado por un cráneo con mandíbulas equipadas de dientes, una columna vertebral, costillas y un arco pectoral (Chakan, 2004).

La función respiratoria es realizada mediante las branquias o agallas, situadas a ambos lados de la cabeza. Estas cavidades están protegidas por los opérculos que tienen facultad de movimiento para ayudar a la renovación de agua en las branquias o cerrar y protegerlas de cualquier agente externo (Hurtado, 2005).

#### ***1.3.4.3 Caracteres sexuales.***

El aparato reproductor está constituido por un par de gónadas que en las hembras tienen forma tubular y su diámetro varía de acuerdo a sus estadios reproductivos, mientras que en los machos los testículos tienen forma de sacos pequeños y alargados (Macias, 2016).

La diferenciación externa de los sexos se basa en que el macho posee dos orificios bajo el vientre; el ano y el orificio urogenital, mientras que la hembra posee tres: el ano, el poro genital y el orificio urinario. El ano está siempre bien visible; es un agujero redondo. El orificio urogenital del macho es un pequeño punto, mientras que el orificio de la hembra es microscópico, apenas visible a simple vista y el poro genital se encuentra en una hendidura perpendicular al eje del cuerpo (Saavedra, 2006).

### **1.3.5 Reproducción.**

La tilapia *O. niloticus* posee sexo separado, existiendo una clara diferencia entre macho y hembra, que puede ser por la coloración del cuerpo o su tamaño, siendo generalmente los machos de mayor peso y talla que las hembras. Para llevar a cabo la reproducción, se toman en consideración parámetros ideales de crecimiento como la temperatura y la luz, ya que el aumento de la iluminación o la disminución de ocho horas dificultan este proceso (Romero y Romero, 2012).

#### ***1.3.5.1 Ciclo de vida.***

Según Morales (2003) la *O. niloticus* tiene un ciclo biológico bien definido, el cual se describen a continuación:

##### ***1.3.5.1.1 Huevo.***

El tamaño varía entre 2 - 4 mm, así como el número, dependen del tamaño de la hembra (peso). Generalmente, son de color amarillo claro, no translúcido, forma ovoide; normalmente dura de 3 a 5 días para eclosionar, dependiendo de la temperatura.

##### ***1.3.5.1.2 Alevín.***

En esta etapa el desarrollo posterior al embrión y a la eclosión, comprende alrededor de 3 a 5 días; el alevín se caracteriza porque presenta un tamaño de 0.5 a 1 cm y además, posee un saco vitelino en el vientre que le permite alimentarse los primeros días de su eclosión.

##### ***1.3.5.1.3 Cría.***

Después que los alevines han absorbido el saco vitelino y comienzan a aceptar alimento balanceado, estos ya han alcanzado una talla de 1 a 5 cm de longitud.



#### *1.3.5.1.4 Juvenil.*

En esta etapa se encuentran peces con una talla que varía entre 5 y 10 cm de longitud total, la misma que alcanza a los 2 meses de edad y se encuentran aptos para aceptar alimento balanceado para su crecimiento.

#### *1.3.5.1.5 Adulto.*

Esta es la última etapa, los ejemplares presentan tallas entre 18 y 25 cm de longitud total, con un peso comprendido entre 150 a 300 g, características obtenidas alrededor de los 3.5 meses de edad.

#### *1.3.5.2 Madurez sexual.*

La tilapia alcanza la madurez sexual en función de la edad, el tamaño y las condiciones del medio ambiente. La alcanzan alrededor de los 5 meses de edad con un peso aproximado de 150 a 200 gramos, esto en función de la edad. Ya maduros hembras y machos, pueden reproducirse todo el año, siempre y cuando la temperatura sea mayor a 24°C. (Morales, 2004; Núñez, 2012).

Por su parte, Hernández (2004) manifiesta que la *O. niloticus*, alcanza su madurez sexual entre los 30 – 40 g. en condiciones ambientales favorables, en un intervalo de 2 – 4 meses. Una vez que ha madurado, puede realizar la puesta todo el año mientras la temperatura del agua sea superior a los 24°C. Cuando el crecimiento es lento, la madurez sexual en la tilapia del Nilo se retrasa uno o dos meses, pero los peces con el crecimiento impedido pueden desovar en un peso de menos de 20 g. Las hembras desovan en múltiples ocasiones, normalmente, realiza de 8 – 12 puestas en un año en condiciones adecuadas de temperatura y cada puesta puede contener entre 200 y 2000 huevos.

#### ***1.3.5.3 Comportamiento reproductivo.***

La *O. niloticus* presenta incubación maternal y cuidado de la cría. Los machos en época de reproducción excavan y hacen nidos en el fondo para atraer a la hembra, quien después del cortejo, deposita los huevos en el nido para ser fertilizados por el macho.

La hembra incuba los huevos en su boca hasta que eclosionen, esto dura de 3 a 5 días; después de eclosionar los pececillos permanecen dentro de la boca de la hembra para refugiarse hasta que puedan nadar libremente, esto sucede entre 8 y 10 días, finalmente son liberados en aguas poco profundas. Luego la hembra reanuda su actividad alimenticia y reacondiciona sus ovarios durante 2 – 4 semanas y de nuevo esta lista para una nueva puesta (Hernández, 2004; Núñez, 2012).

#### ***1.3.5.4 Reversión sexual.***

La reversión sexual tiene como fin, producir poblaciones mono sexo; es un proceso que se realiza durante el primer mes de vida del animal una vez reabsorbido el saco vitelino, utilizando hormonas. La hormona utilizada para producir machos hasta el 100% en alevines recién nacido de tilapia gris es la 17-alfa-metiltestosterona, la cual se suministra a través del alimento durante un período que dura normalmente entre 25 a 30 días (Espejo y Torres, 2001; Núñez, 2012).

La 17-alfa-metiltestosterona es un derivado especial de la testosterona, conserva su acción androgénica y es activada por vía oral, se incorpora en la dieta a razón de 60 mg por kg de alimento, una vez suministrada, el 90% de la hormona es excretado en las 24 horas siguientes y solo tres semanas después menos del 1% de la hormona permanece en el cuerpo del pez (Arboleda y Duván, 2005).

La hormona modifica directamente las características sexuales secundarias (fenotipo), y tiene un efecto adicional sobre las gónadas, pero en ningún momento afecta el genotipo, por lo que los individuos genéticamente mantienen la segregación normal esperada en el momento de la fertilización (Almeida, 2014).

Teniendo en cuenta que los alevines de tilapia recién eclosionados no tienen diferenciado su tejido gonadal y los peces pequeños, menos de 14 mm de longitud, inician su alimentación alrededor de los 3 días, es en este momento en el cual se debe realizar el proceso de inversión sexual, suministrando la hormona 17-alfa-metiltestosterona en el alimento de las tilapias, permitiendo obtener machos fenotípicos (FAO, 2009; Ramírez, 2015).

La utilización de alevines reversados garantiza la rentabilidad de la producción, ya que reduce el período de cultivo, mejora la conversión alimenticia y favorece la homogeneidad de tallas en un cultivo. Siempre existe un bajo porcentaje de hembras, pero la reproducción es mínima y comúnmente no presenta problemas de sobrepoblación en los sistemas de producción (Iturbide, 2004; Núñez, 2012).

### **1.3.6 Nutrición y alimentación.**

La tilapia se alimenta en ambiente natural de una amplia variedad de fuentes, desde plancton, organismos bentónicos, invertebrados de la columna de agua, larvas de peces, detritus, materia orgánica en descomposición, etc. (Zúñiga, 2008). De manera particular, es omnívora hasta su etapa de 5 cm, donde presenta preferencias fitoplanctófagas, puesto que su alimentación se basa en el consumo de zooplancton, insectos, vegetales acuáticos y de alimentos artificiales como harinas y granos (Green, 2006).

Basualdo (2012) señala que los juveniles se alimentan preferentemente de fitoplancton y zooplancton, inclusive aceptan alimentos preparados. Los adultos comen plancton, algas filamentosas, algunas plantas superiores y detritus vegetal.

Otros estudios manifiestan que las exigencias nutricionales de los alevines son iguales a la de las tilapias adultas, pero, aunque no se dispone de información para ciertas etapas del ciclo de vida de la tilapia nilótica, se espera que los juveniles tempranos (0,02-10 g) requieran de una dieta más elevada en proteínas, lípidos, vitaminas y minerales e inferior en carbohidratos. Los juveniles (10-25 g) requieren más energía de los lípidos y carbohidratos y una menor proporción de proteínas para su crecimiento y finalmente los peces adultos (>25 g) necesitan menos proteína dietética y mayores niveles de carbohidratos como fuente de energía. Es decir, a medida que los individuos van creciendo, requieren un menor nivel proteico para obtener la energía (Torres y Hurtado, 2012).

### **1.3.7 Requerimientos ambientales.**

Para cultivar tilapia es importante tomar en cuenta las propiedades fisicoquímicas del agua, ya que influyen directamente en los aspectos productivos y reproductivos de los peces, por lo tanto, estas deben mantenerse dentro de los rangos óptimos para garantizar el desarrollo de los peces (Poot *et. al.*, 2009).

#### **1.3.7.1 Salinidad.**

Las tilapias son peces de agua dulce que tienen ancestros netamente marinos adaptados a los ambientes lóticos y lénticos de aguas continentales, por lo tanto, conservan en mayor o menor grado la capacidad de adaptarse a vivir en aguas saladas (Castillo, 2003). La tilapia del Nilo es la menos tolerante a la salinidad, pero crece bien en salinidades de hasta 15 ppm (Hernández, 2004).

### ***1.3.7.2 Temperatura.***

La temperatura mínima letal para la tilapia del Nilo se encuentra por debajo de 11°C y 12° C, estando su temperatura óptima entre los 26° y 30° C. la temperatura máxima letal está alrededor de los 42° C. (Martínez y Mendoza, 2015). La reproducción se da con éxito a temperaturas entre 26°- 29° C.

Hurtado (2005) reporta que las temperaturas menores a 12° C son letales para la *O. niloticus*, pero tolera 8° C. por espacio de 3 a 4 horas, el rango de temperaturas que diversos autores indican para esta especie abarca desde los 8° C hasta los 40° C.

Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor será la tasa metabólica y, por ende, subirá el consumo de oxígeno (López y Cruz, 2011).

### ***1.3.7.3 Concentración de oxígeno disuelto.***

La tilapia Nilótica puede soportar bajas concentraciones de oxígeno. Ello se debe a la capacidad de su sangre a saturarse de oxígeno aun cuando la presión parcial de este último sea baja. También, posee la facultad de reducir su consumo de oxígeno cuando la concentración en el medio es baja (<3 mg/l) (Alamilla, 2000; Núñez, 2012).

### ***1.3.7.4 Turbidez.***

La turbidez del agua tiene dos tipos de efectos: uno sobre el medio y se debe a la dispersión de la luz y el otro actúa de manera mecánica directamente sobre los peces. Al impedir la libre penetración de los rayos solares, la turbidez limita la productividad natural del estanque, lo que a su vez reduce la disponibilidad de alimento para la tilapia. Es por ello, que se recomienda que el agua de los estanques no sea turbia para que el fitoplancton se pueda desarrollar adecuadamente (Alamilla, 2000).

Por otra parte, la materia coloidal en suspensión puede dañar físicamente las branquias de los peces provocando lesiones e infecciones. En caso de que las aguas sean demasiado turbias (>100ppm) conviene propiciar su sedimentación previamente a su introducción a los estanques de cultivo, bien sea por medios físicos y/o químicos (Alamilla, 2000).

#### ***1.3.7.5 Alcalinidad y dureza.***

Una alcalinidad superior a 175 mg CaCO<sub>3</sub>/l (Carbonato de calcio por litro) resulta perjudicial, debido a las formaciones calcáreas que se producen y que afectan tanto a la productividad del estanque como a los peces al dañar sus branquias. Una alcalinidad de aproximadamente 75 mg CaCO<sub>3</sub>/l se considera adecuada y propicia para enriquecer la productividad del estanque. Si la dureza con la que cuentan las aguas es de 200 mg/l, esta dureza es muy alta, pero siendo la tilapia un organismo que aguanta condiciones extremas es posible que pueda estar sin ningún problema (Alamilla, 2000).

#### ***1.3.7.6 pH.***

La gran mayoría de los organismos acuáticos sobreviven sin problemas en aguas neutrales (pH=7.0) o ligeramente alcalinas (Cantor, 2007). En peces como la tilapia el rango normal del agua se encuentra entre 6,5 y 9,0, ya que esto permite la secreción normal de mucus en la piel, combinado con una dureza normalmente alta (López y Cruz, 2011).

#### ***1.3.7.7 Amoniac.***

Proviene de la excreción nitrogenada de los propios peces en cultivo o de la descomposición de desechos orgánicos existente dentro del sistema. Es tóxico para los peces, ya que la exposición prolongada a concentraciones de amoniac no ionizado mayor de 1mg/l causa pérdidas entre alevines y juveniles en agua con baja concentración de oxígeno disuelto.

Las primeras muertes por exposición prolongada pueden comenzar en concentraciones tan bajas como 0.2 mg/l. Los niveles subletales de amoníaco se identifican por causar daño en agallas y tejido, crecimiento pobre e incremento a la susceptibilidad a enfermedades (Luchini, 2006; Hernández, 2004).

#### ***1.3.7.8 Nitrito.***

La tilapia son los peces más tolerantes al nitrito en comparación con los otros que se cultivan en agua dulce. Es por ello, que la concentración de nitrito debe mantenerse debajo de 27 mg/l, ya que niveles subletales de nitrito reducen el transporte de oxígeno en el pez, resultando en pobre conversión alimenticia, crecimiento reducido y se vuelve más susceptible a enfermedades (Hernández, 2004).

### **1.4 Factores que intervienen en la infección de los peces.**

La aparición de la enfermedad es consecuencia de una disminución en las defensas del pez probablemente provocada por factores que predisponen a la infección, entre los cuales se destacan: los traumatismos (Fregeneda *et al.*, 2001), la maduración sexual, el estrés ambiental y la presencia de otras enfermedades (Carbajal, 2013).

#### **1.4.1 Traumatismo.**

En las poblaciones naturales de peces, es frecuente observar lesiones características de *Saprolegniasis* en la zona de la aleta caudal y anal en el caso de las hembras, y en la aleta dorsal en los machos. Estas localizaciones están relacionadas con pequeños traumatismos producidos durante el desove (González, 2017).

Los traumatismos también son provocados por una manipulación inadecuada y cambio en las condiciones abióticas, ya que, en los alevines de cultivo, es recurrente la aparición de

heridas en la epidermis, debido a la pérdida del mucus protector a causa del estrés al cual son sometidos.

Esto es favorable para que las esporas adheridas en la piel, germinen y atraviesen la epidermis, llegando a la dermis donde se desarrolla el micelio de *Saprolegnia*. Las hifas causan necrosis de las células alrededor del lugar de proliferación. A partir de ahí se pueden extender por toda la dermis colonizando todo el cuerpo del pez. Esto produce un desequilibrio osmótico con pérdida de electrolitos que impide mantener el volumen de sangre circulante. En los casos en los que el hongo coloniza las branquias, finalmente se suma una insuficiencia respiratoria, en casos terminales se ha detectado invasión de las hifas hacia músculos y órganos internos (Marshall *et al.*, 2010).

#### **1.4.2 Maduración sexual.**

Diversos autores han relacionado la maduración sexual de los peces con una mayor predisposición a la infección por *Saprolegnia spp.*, debido a los cambios que se producen en la estructura de la epidermis y el descenso de las células productoras de moco cutáneo (González, 2017). Dentro de la maduración sexual, también, se consideraría el aumento de andrógenos que resultan en un número reducido de células mucosas en la epidermis (Songe, 2015).

#### **1.4.3 Estrés ambiental.**

Los factores de estrés físico que más favorecen las infecciones, son los cambios en la temperatura del agua, cambios en el pH y el incremento en salinidad (Noga, 2000). Teniendo un mayor impacto sobre la aparición de infecciones micóticas la temperatura, ya que, la mayoría de las epizootias se desarrollan entre 10° a 12°C, mientras que las consecutivas a un traumatismo pueden presentarse a cualquier temperatura, siempre que esta sea compatible con la vida del



pez; la invasión micótica, también, puede darse a mayores temperaturas, si bien la velocidad de invasión del hongo es menor (Vega *et al.*, 2006).

Se ha demostrado una clara relación entre los niveles aumentados de estradiol, progesterona o TSH y la incidencia de infecciones micóticas en peces de agua dulce, y se ha sugerido que este efecto está relacionado con una disminución en la respuesta de anticuerpos y la supresión de la reacción inflamatoria. Algunos tipos de estrés fisiológico que alteran la producción de algunas hormonas (en particular, el estrés que promueve la producción de corticoesteroides), sumado a las bajas temperaturas, podrían incrementar la susceptibilidad de los peces a la infección, y la velocidad de crecimiento de los hongos (Vega *et al.*, 2006).

Por otro lado, una pobre calidad de agua se asocia a un incremento de la materia orgánica que favorece la aparición de la *Saprolegniasis*, así como, elevadas densidades de peces en los estanques y agresión social en los mismos, incrementan la aparición de lesiones en el tegumento (González, 2017).

#### **1.4.4 Presencia de otras enfermedades.**

La *Saprolegnia* se considera un patógeno secundario, esto significa que ataca al pez, en la mayoría de los casos, después de que el hospedador haya sido atacado por alguna infección bacteriana, pero también es posible que aparezca *Saprolegnia* después del ataque de un parásito que no sea bacteria, como algunos protozoos o nematodos parásitos. Al entrar las bacterias o parásitos a la herida, estos mantienen el tejido expuesto a la hifa de *Saprolegnia*, fijándose en el organismo y posteriormente las hifas se propagan rápidamente a los tejidos saludables. Obtienen su alimento en el momento que las hifas sueltan enzimas digestivas y absorben los nutrientes resultantes, propagándose así esta enfermedad en los peces (Alarcon, 2015).

Con los factores descritos anteriormente, es importante manifestar que en estudios sobre la respuesta inmunitaria a la infección por *Saprolegnia*, se destaca la importancia del sistema inmunitario inespecífico, en el que el tegumento actúa como barrera física impidiendo la entrada del agente patógeno, igualmente el moco cutáneo también establece una barrera entre los peces y el ambiente, actuando como barrera física, química y biológica. Este moco efectúa una labor de arrastre que impide la fijación de los quistes secundarios (Wood *et al.*, 1988; Cross y Willoughby, 1989; González, 2017).

El moco cutáneo de los peces presenta una composición compleja, con numerosos factores antimicrobianos secretados por las células cutáneas, como aglutinas, inmunoglobulinas, lectinas, lisinas; pero estos no parecen tener un papel relevante a la hora de evitar la infección producida por *Saprolegnia*, por lo que la ausencia de infiltración leucocitaria en tejidos infectados, se relaciona con la inactividad del sistema del complemento (Bly *et al.*, 1992; Pickering, 1994; González, 2017). Por lo tanto, la infección puede progresar destruyendo la epidermis, ocasionando letargo, pérdida de equilibrio, agotamiento y ausencia del reflejo de huida, provocando rápidamente la muerte del pez en unas 48 horas aproximadamente (Aller, 1988).

## 2. Material y métodos

### 2.1 Equipo, materiales y medios de cultivo

#### 2.1.1 Equipos.

- Microscopio
- Estereoscopio
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Platos calentadores
- Cámara de Neubauer

#### 2.1.2 Materiales.

- Juego de disección
- Vaso químico de 100 y 500 ml
- Erlenmeyer de 500 y 1000 ml
- Pipetas estériles de 10 ml
- Platos Petri grandes y pequeños
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubos tapa rosca estériles
- Azul de lactofenol
- Agua destilada
- Guantes

- Mascarillas
- Papel toalla estéril
- Papel aluminio
- Bolsas *Ziploc*
- Mecheros de alcohol
- Penicilina
- Alcohol al 70% y 95%
- Espátula
- Goteros
- Frascos de plásticos estériles
- Cinta adhesiva
- Papel film
- Marcador
- Bata de laboratorio

### **2.1.3 Medios de cultivo.**

- Agar Sabouraud Dextrosa (ASD)
- Potato Dextrose Agar (PDA)

## **2.2 Metodología**

### **2.2.1 Área de estudio.**

La investigación se diseñó en dos etapas, la primera correspondió al aislamiento, identificación y cuantificación de esporas del hongo del *género Saprolegnia*, la cual se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Centro Regional Universitario de Coclé,

Universidad de Panamá, en el Distrito de Penonomé, Provincia de Coclé, durante los años 2018 – 2019.

La segunda etapa fue la selección por variación fenotípica en estilos de afrontamiento frente a desafíos ambientales y las respuestas a la infección con las esporas del género *Saprolegnia*, se realizó en peceras ubicadas en la comunidad de Llano Marín, corregimiento del Coco, en el distrito de Penonomé, provincia de Coclé.

### **2.2.2 Diseño experimental.**

Esta investigación se divide en dos partes, la primera parte es descriptiva y la segunda etapa es de tipo experimental.

#### **VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN**

##### **Primera etapa:**

Muestras colectadas en peces.

Hongos aislados en peces enfermos.

Se evaluó muestras de piel, aletas y cola de animales, tomados en la Estación Experimental de la Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP), ubicada en Divisa, provincia de Herrera, en los meses de diciembre 2018 y enero a abril 2019.

##### **Segunda etapa:**

**Independiente:** Estilo de afrontamiento.

**Dependiente:** Latencia (s).

Tasa ventilatoria (min).

Número de animales infectados.

Supervivencia.

### **2.2.3 Etapa de aislamiento, identificación y cuantificación de esporas del género**

#### ***Saprolegnia spp.***

##### **2.2.3.1 Toma de la muestra.**

Se muestreó 36 juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tomando en cuenta los que mostraban signos evidentes de infección causada por hongos, fueron obtenidas en la Estación Experimental de la Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP), ubicada en Divisa, provincia de Herrera.

La recolección de las muestras consistió en la captura mediante métodos artesanales de pesca utilizando una red y se transportaron en bolsas plásticas transparentes con agua del estanque, a la cual se le adicionó oxígeno disuelto, para asegurar la llegada de los peces vivos al laboratorio de Microbiología del Centro Regional Universitario de Coclé; donde se realizaron los estudios y análisis pertinentes.

##### **2.2.3.2 Procesamiento de las muestras.**

Se examinó la superficie corporal del animal, cola y aletas; se tomó en cuenta lesiones externas como heridas con manchas algodonosas en la piel y aletas deshilachadas (Figura N°1). Posteriormente, se limpió alrededor de la lesión con alcohol al 95% y algodón, con bisturí estéril fue retirado por medio de incisiones, áreas tanto de la piel y aletas que estaban afectadas.



*Figura N°1.* Manchas algodonosas en piel y ojos de la tilapia del Nilo.  
*Fuente:* Autoría propia, 2018.

### **2.2.3.3 Aislamiento.**

Las muestras obtenidas (tejido enfermo) fueron sembradas en condiciones asépticas en Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) con adición de Penicilina (0.1g/ml), y se incubaron a 28°C por 15 días con observaciones diarias. Al observarse el crecimiento hifal del hongo, se procedió a transferirlas en Agar Potato Dextrose (PDA) con penicilina (0.1g/ml), esto se hizo para obtener crecimiento monospórico y esporulación del hongo. Seguidamente, se incubaron a 28°C por 15 días aproximadamente, bajo un régimen de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad para lograr la esporulación del hongo, según la metodología de Castro *et al.*, (2015).

### **2.2.3.4 Caracterización morfológica de las colonias.**

#### **2.2.3.4.1 Morfotípica.**

Se tomaron en cuenta los siguientes criterios morfotípicos: tasa de crecimiento, textura, forma del margen y elevación/profundidad de la colonia, según Moller *et al.*, (1995).

### **2.2.3.5 Microcultivo.**

Se cortaron pequeños bloques de agar colocándose sobre un portaobjeto previamente esterilizado y estos a su vez, dentro de una caja de Petri con cámara húmeda. Los cultivos fueron cubiertos con una laminilla cubreobjetos e incubados a 28°C, por 48 o 72 horas, o el tiempo necesario para su crecimiento y posterior observación microscópica de sus estructuras reproductivas típicas.

A las 48 horas, se examinaba este montaje retirando cuidadosamente el cubreobjeto del microcultivo y se colocó sobre un portaobjeto con previa adición de azul de lactofenol, observando al microscopio a 10X y 40X de aumento.

Este mismo procedimiento se realizó para los microcultivos que fueron incubados a 72 o más horas, para observar las hifas, los zoosporangios y esporas.

#### **2.2.3.6 Preparación con cinta adhesiva transparente.**

También, se realizó montaje de placas con cinta adhesiva, para ello, se cortó la cinta de 3 a 4 cm y se colocó sobre la superficie de la colonia haciendo ligera presión para obtener una cantidad considerable de micelio, luego se pegó sobre una lámina portaobjetos, donde previamente se había colocado una gota de azul de lactofenol y se observó las estructuras miceliales al microscopio con aumento de 10X y 40X.

#### **2.2.3.7 Identificación taxonómica de *Saprolegnia* spp.**

Después de observar las estructuras miceliales del hongo, se procedió a la fase de identificación empleando la categoría taxonómica morfoespecie (Moller *et al.*, 1995) y las estructuras reproductivas se identificaron por medio de claves taxonómicas disponibles para *Oomicetos* (tipo de hifa, zoosporangio, forma de las esporas) (Seymour, 1970; Zaror *et al.*, 2004).

#### **2.2.3.8 Conteo de zoosporas de *Saprolegnia* spp.**

A los aislamientos caracterizados se le adicionó 20 ml de agua destilada estéril, se agitó durante dos minutos mediante movimiento circulares, se cubrió el borde del envase con una gasa para evitar que el agar o restos de micelio obstruyeran el paso de la solución, luego se decantó la suspensión en un envase estéril, al cual se le agregó ocho gotas de lactofenol, seguidamente se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos. Pasado ese tiempo se agitó nuevamente durante dos minutos, se colectó 2 ml de la suspensión colocándose en un nuevo envase debidamente estéril.

Posteriormente, con ayuda de una pipeta de dilución, se colocó su punta en la suspensión para coleccionar la muestra y se agitó durante dos minutos para obtener una mejor dispersión de las conidias.



Luego se descartó tres gotas de la muestra y la cuarta gota se colocó en el borde del cubreobjeto de la cámara de Neubauer. Después de llenar satisfactoriamente el área de contaje, se dejó reposar durante 1 minuto, con el fin de que las conidias se sedimentaran en la base de la cámara, se observó al microscopio usando el objetivo de 10 X y 40 X, ajustando bien la luz con el fin de que las líneas fueran completamente visibles.

Se contaron las conidias en todas las áreas de los cuatro milímetros cuadrados de las esquinas, registrándose el número de esporas en cada milímetro cuadrado. El conteo de cada colonia se repitió seis veces y se sacó un promedio (Gilchrist *et al.*, 2005; Bustillo, 2010).

Finalmente, se calculó el promedio de esporas de cada colonia, aplicando la fórmula de Gamma, citado por Parra *et al.*, (2008).

$$\text{N}^{\circ} \text{ de esporas/ml} = (\text{F.D.}) (\text{P.H.}) (1,000) (\text{N.P.})$$

F.D. Factor de dilución

P.H. Profundidad del hematocitómetro

N.P. Número promedio de esporas.

Una vez, finalizado el conteo de esporas, las diluciones fueron guardadas en envases estéril, hasta el momento de ser utilizadas, para llevar a cabo la segunda etapa de esta investigación.

## **2.2.4 Etapa de selección de líneas por su variación en estilos de afrontamientos.**

### **2.2.4.1 Población.**

Se utilizaron 100 juveniles de tilapia del Nilo, con peso comprendido entre  $1.5 \pm 0.91$ , sexualmente inmaduros, formando la población base. Fueron adquiridos en la Estación Experimental de la Autoridad de Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP), ubicada en Divisa, provincia de Herrera.

Se transportaron en bolsas plásticas transparentes con agua del estanque y se le adicionó oxígeno disuelto para asegurar que llegaran en el mejor estado posible a la residencia en la comunidad de Llano Marín, corregimiento El Coco, distrito de Penonomé, provincia de Coclé, donde se establecieron las peceras, las cuales fueron acondicionadas tomando en cuenta los requerimientos fisicoquímicos de la especie.

#### ***2.2.4.2 Aclimatación.***

Los animales experimentales fueron alojados en dos peceras de 50 L cada una. El suministro de agua se realizó con agua de grifo. Los parámetros fisicoquímicos pH: 6.8, Nitrato: 1.2 mg/l, Cloruro: 14.8 mg/l y Nitrito: 0.002 mg/l, fueron monitoreados. El continuo flujo de agua mantuvo las concentraciones adecuadas de oxígeno, adicionalmente, las peceras no fueron equipadas con sistemas de filtrado y fuente auxiliar de oxígeno. Para mantener la calidad del agua, semanalmente se sustituyó 30% del volumen total de agua de cada estantería.

El proceso de aclimatación de los peces duró 22 días, garantizando la adaptabilidad de los mismos a las nuevas instalaciones y evitar resultados contradictorios referidos a los niveles de estrés producto del proceso de transporte. El fotoperiodo se estableció en 12 horas luz y 12 horas oscuridad siguiendo el fotoperiodo tropical característico de nuestro país y a temperatura ambiente de 28°C.

Los individuos fueron alimentados siguiendo las recomendaciones establecidas por la especie de acuerdo al peso y la edad, se le suministró dos veces al día, en la mañana y en la tarde.

#### ***2.2.4.3 Prueba de restricción.***

Después del período de aclimatación se separó la población en fenotipos de toma de riesgo, mediante la prueba de restricción (Castanheira *et al.*, 2013) que consistió en retener un

pez en una malla y se evaluó el primer intento de escape del individuo, seleccionándolos en tres subgrupos: 27 individuos Proactivos (P), 27 Reactivos (R) y 27 Intermedios (I), siendo los P aquellos que hicieron el primer intento de escape, los R los que fueron más lentos en reaccionar y los I que fueron intermedios en su primer intento de escape. Cada grupo fue colocado en una pecera plástica, debidamente etiquetada a la que previamente se acondicionó teniendo en cuenta los requerimientos necesarios para el manejo de los individuos (Figura N°2).

De las tres subpoblaciones se usaron los P y R para las pruebas experimentales de infección del hongo *Saprolegnia* y los I se desecharon.



Figura N°2. Prueba de Restricción seleccionando las poblaciones en tres subgrupos Proactivos (P), Reactivos (R) e Intermedios (I).

Fuente: Autoría propia, 2019.

#### 2.2.4.4 Tasa ventilatoria.

Transcurrido ocho días después de la prueba de restricción, a los dos subgrupos seleccionados (P y R), se les aplicó la prueba de frecuencia o tasa ventilatoria, la cual se midió en movimientos operculares por minuto. Esta prueba se considera un método no invasivo que está relacionado a respuestas fisiológicas clásicas de estrés como son la liberación de catecolaminas, cortico esteroides y glucosa (Altimiras y Larsen, 2000; Barreto, *et al.*, 2003).

Las mediciones se realizaron de forma visual, colocando cada pez individualmente en una pecera pequeña debidamente cubierta, registrando las observaciones a partir de una abertura dejada en el tanque de prueba. Los dos subgrupos P y R fueron separados en tres Bach de 9

peces. Los peces fueron transferidos al tanque de prueba dejándolos 5 minutos para aclimatación, al minuto seis se determinó el primer conteo del número de aperturas bucales del individuo, registrando el tiempo requerido para efectuar 20 movimientos operculares mediante un cronómetro, posteriormente, se procedió a realizar una nueva medición de la frecuencia respiratoria al minuto siete y al minuto ocho, registrándose tres medidas por pez, utilizando el promedio de tres medidas (Barreto y Volpato, 2004).

#### ***2.2.4.5 Infección experimental con *Saprolegnia* spp.***

Ocho días después, se colocaron 6 peceras conteniendo 12 L de agua cada una, las cuales se les aplicó el proceso de decloración mediante la evaporación 24 horas antes de agregar los animales. Se tomó la subpoblación Proactiva y Reactiva en densidades de 9 individuos por peceras, quedando tres réplicas por subpoblación.

##### ***2.2.4.5.1 Patogenicidad.***

Los peces fueron dejados por doce días, para aclimatarse a las nuevas condiciones experimentales. A partir de ese momento se procedió con el proceso de infección, donde se colocó 6 peceras más, conteniendo la misma cantidad de agua (12 L) y se les agregó una dilución de  $9.62 \times 10^5$  espora/ml a cuatro de ellas (infección), dejando 2 peceras de control (una por subpoblación), además se colocó cebos para hongos acuáticos mosca común (*Musca domestica*), para confirmar la presencia del hongo. Después de 24 horas se observó el díptero totalmente colonizado de micelio blanco algodonoso (Parra *et al.*, 2008), dando una posible confirmación de la presencia de *Saprolegnia* (Figura N°3).



*Figura N°3. Díptero (Musca domestica) colonizada de micelio blanco algodonoso.*  
*Fuente: Autoría propia, 2019.*

Se procedió a colocar los 9 peces de cada subpoblación en cada una de las peceras, quedando cada subpoblación distribuida en dos peceras con presencia del hongo y una como control.

El seguimiento de las tilapias infectadas se realizó con observaciones diarias, para detectar la presencia de signos de enfermedad, por un período de 8 días registrando lesiones características del ataque de este hongo en tilapia del Nilo. Adicionalmente, se registró la mortalidad durante ese periodo.

### **2.3 Análisis estadístico.**

Los datos fueron registrados en una hoja de cálculo de *Excel (Microsoft Excel 2016)*. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico *Statistica* versión 10 (*StatSoftV10*) y *Graph Pad Prism V.6* (San Diego, CA, USA). Los datos de variables respuesta fueron probados por normalidad utilizando la prueba de *Shapiro-Wilk's* y *Levene's* para homogeneidad de varianzas. Datos de variables de estilo de afrontamiento (Prueba de restricción, tasa Ventilatoria y patogenicidad) fueron evaluados utilizando prueba de *t-tes* o *Mann Whitney*, según el comportamiento de la variable. Resultados de supervivencia se evaluaron con el estimador de *Kaplan-Meier*.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Etapa de aislamiento, identificación y cuantificación de esporas del género *Saprolegnia* spp.

##### 3.1.1 Toma de la muestra.

De las 36 muestras que se obtuvieron en la Estación Experimental de la Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP), ubicada en Divisa, provincia de Herrera, se emplearon en el estudio 11 unidades, las cuales presentaron características fenotípicas de la enfermedad.

##### 3.1.2 Procesamiento de las muestras en el laboratorio.

Las muestras presentaron lesiones externas en la región de la piel y forma de manchas algodonosas en la cola y aletas (Figura N°4 y N°5).



*Figura N°4.* Animales con lesiones en la piel y manchas algodonosas en la cola y aletas.

*Fuente:* Autoría propia, 2019.



*Figura N°5.* Obtención de muestras en áreas de la piel y aletas afectadas.

*Fuente:* Autoría propia, 2019.

### 3.1.3 Aislamiento.

De un total de 400 aislamientos que fueron sembrados tanto en ASD y PDA con Penicilina (0.1g/ml) e incubadas a 28°C; 210 correspondían a tejidos de la cola, 100 de la piel y 90 de las aletas (Figura N°6). En esta gráfica se observa el porcentaje de colonias que se lograron aislar, correspondiendo el 52% a tejidos de la cola, el 25% tejidos de la piel y el 23% tejidos de aletas.

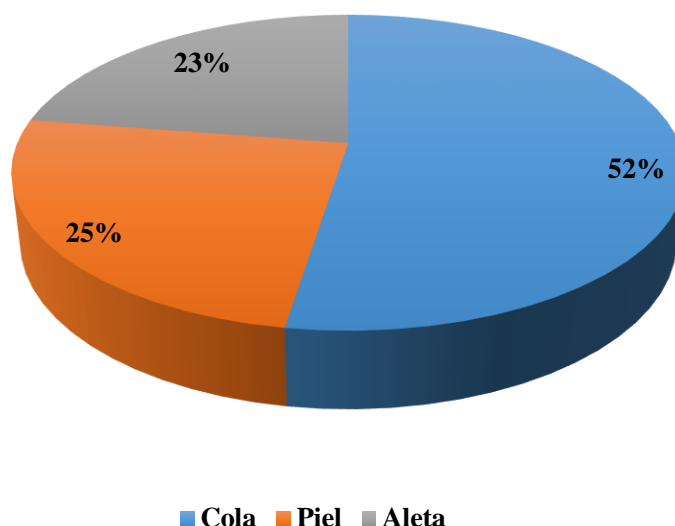
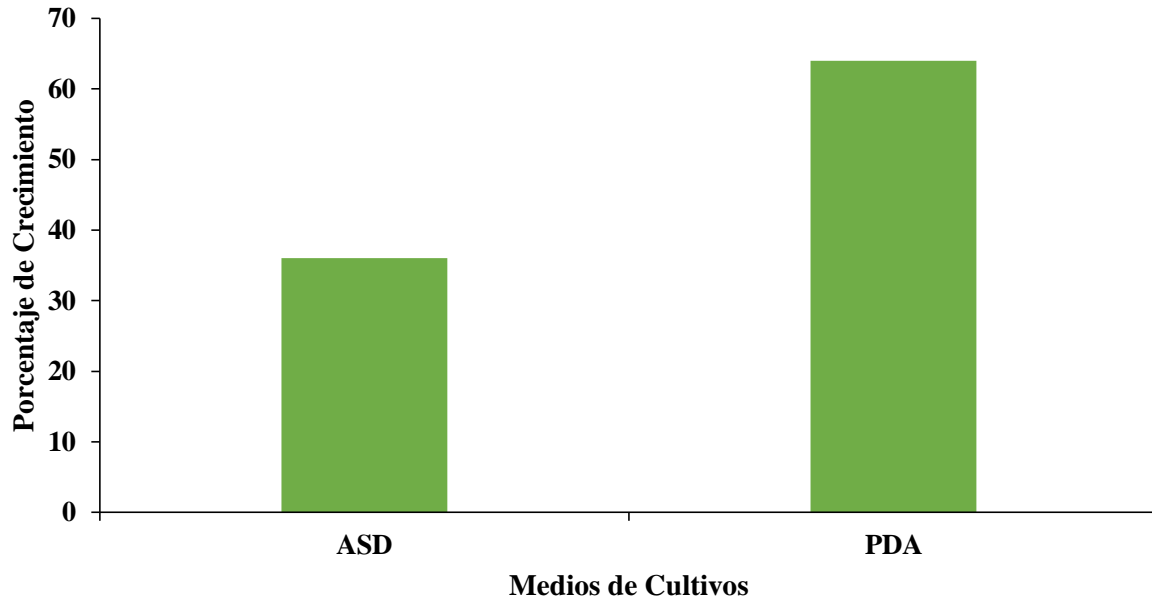


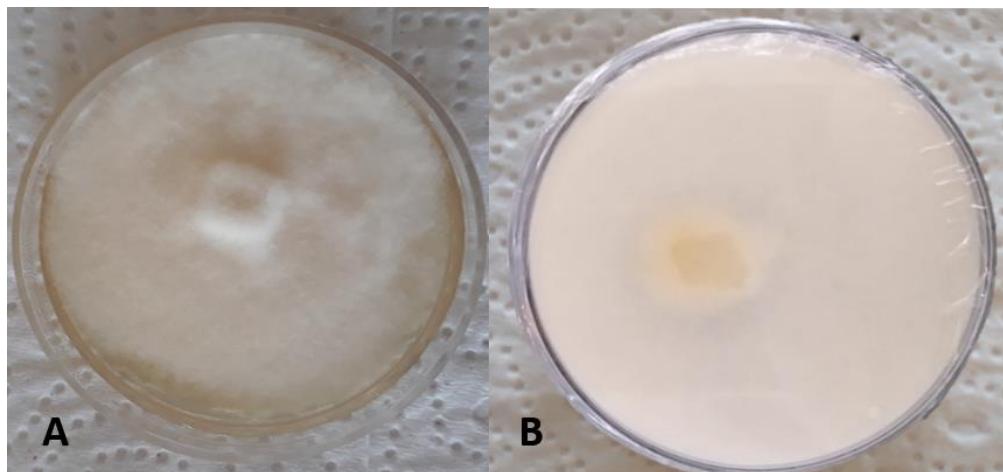
Figura N°4. Aislamiento del Hongo *Saprolegnia spp.*

Fueron seleccionados 250 cultivos monospóricos, pues mostraban las características fenotípicas del hongo en estudio, 125 se aislaron en PDA y 125 en ASD, obteniendo 80 cultivos monospóricos con crecimiento en PDA, los cuales se tomaron en cuenta para la realización de este estudio; solo 45 crecieron en ASD, por lo tanto, estos fueron descartados porque presentaron un crecimiento más lento en comparación con el medio de cultivo PDA (Figura N°7).



*Figura N°5.* Comparación de los cultivos monospóricos en medios ASD y PDA.

Esta gráfica muestra en porcentaje que el crecimiento monospórico en PDA fue de 64%, mientras que en ASD fue de un 36%. Obteniendo en PDA colonias blancas con apariencia algodonosa, además en este medio se produjo abundante micelio y un mejor desarrollo de los cultivos a diferencia de aquellas que fueron sembradas en ASD (Crecimiento lento) (Figura N°8 y N°9).

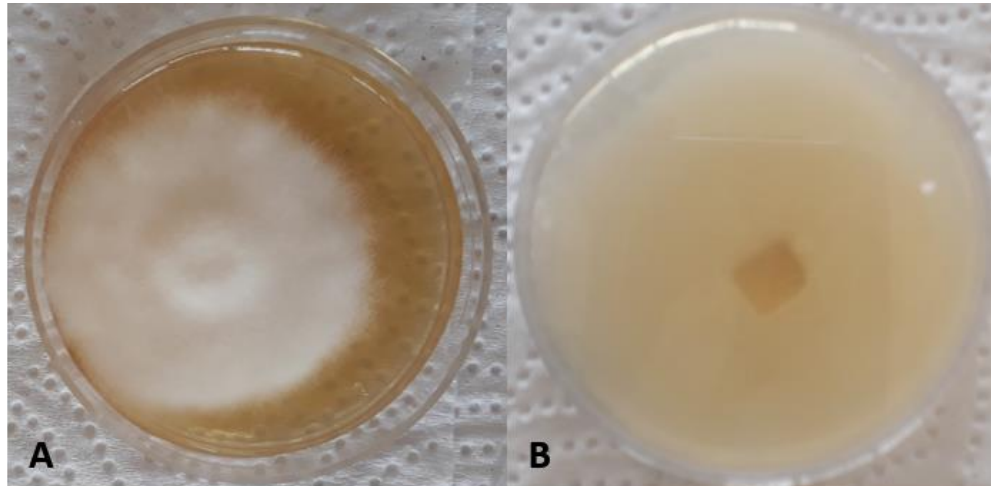


*Figura N°6.* Muestras cultivadas en medio Agar Potato Dextrose (PDA).

A. Anverso y B. Reverso de la colonia.

*Fuente:* Autoría propia, 2019.





*Figura N°7.* Muestras cultivadas en medio Agar Sabouraud Dextrosa (ASD).  
A. Anverso y B. Reverso de la colonia.  
*Fuente:* Autoría propia, 2019.

#### **3.1.4 Caracterización morfológica de las colonias.**

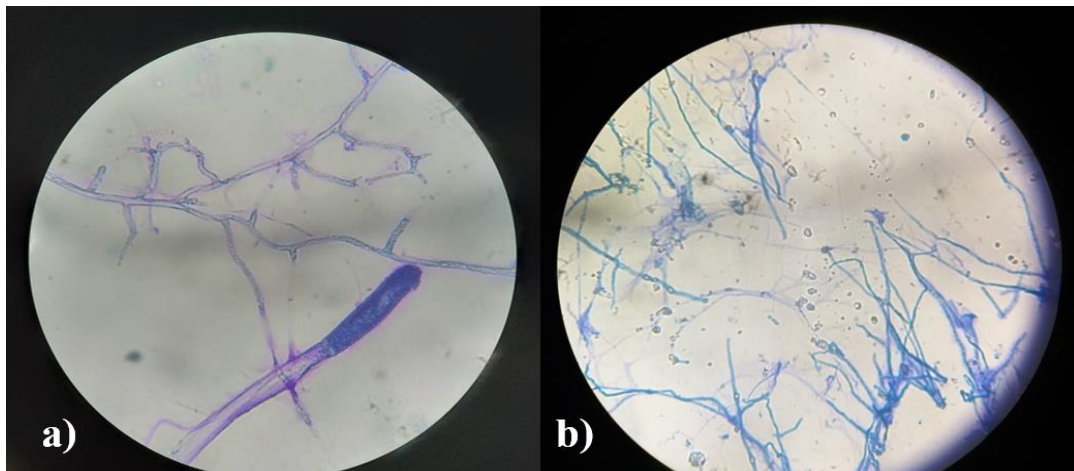
Las colonias presentaron las siguientes características: tasa de crecimiento rápido, abundante micelio aéreo, textura algodonosa, margen rizoide, superficie elevada y sin crecimiento dentro del medio de cultivo, según los criterios morfológicos de Moller *et al.*, (1995). (Figura N°10).



*Figura N°8.* Morfología de las colonias.  
*Fuente:* Autoría propia, 2019.

### 3.1.5 Microcultivo y preparación con cinta adhesiva transparente.

De los 80 cultivos monospóricos seleccionados se prepararon 40 microcultivos, donde 32 montajes semipermanentes mostraron estructuras vegetativas, técnica que fue muy útil porque permitió observar fácilmente la distribución y características de las hifas, observándose hifas cenocíticas, zoosporangios, yemas y zoosporas; con la técnica de cinta adhesiva transparente también se realizaron 40 montajes semipermanentes, observándose solo en 8 montajes hifas cenocíticas, las demás presentaron dificultades para observar la conformación de las hifas, ya que estas son muy delicadas y al ejercer presión sobre la lámina portaobjetos pierden rápidamente su constitución y forma (Figura N°11). Se demuestra que la técnica de microcultivo es mejor y más efectiva para la observación de las estructuras microscópicas del hongo, en comparación con la técnica de cinta adhesiva transparente. (Figura N°12).



*Figura N°9.* Observación de Estructuras del Hongo. a). Técnica de Microcultivo y b). Técnica con Cinta Adhesiva Transparente.

*Fuente:* Autoría propia, 2019.

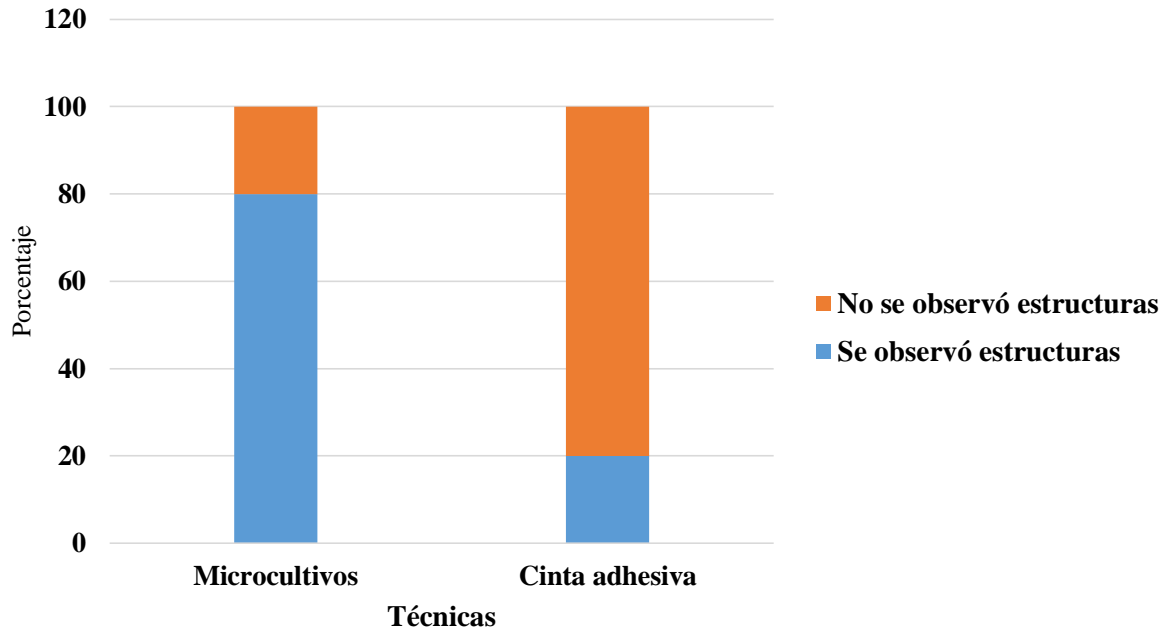


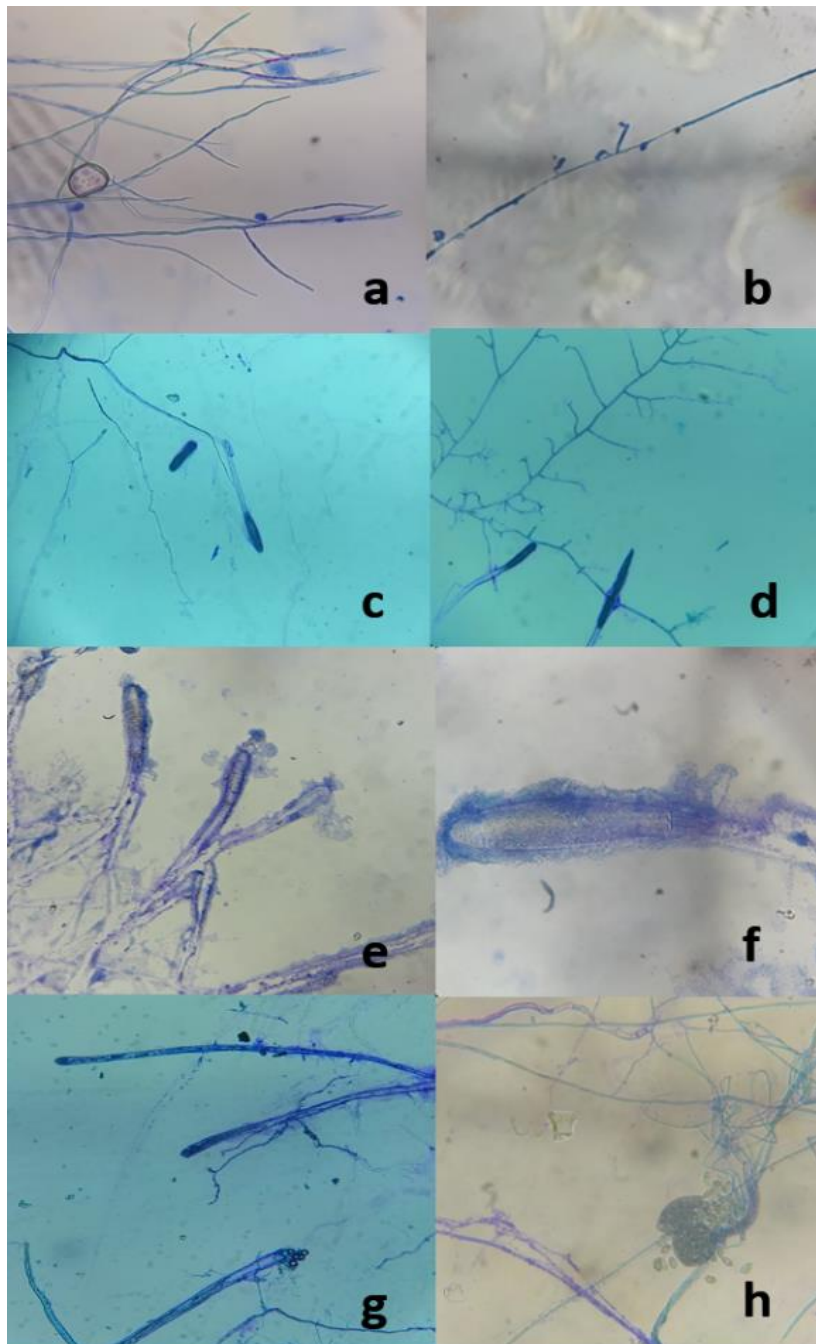
Figura N°10. Técnica de microcultivo y cinta adhesiva transparente.

Esta gráfica muestra que el 80% de montajes que se realizaron mediante la técnica de Microcultivo fueron efectivas; mientras que con la técnica de cinta adhesiva solo el 20% de los montajes reflejó estructuras del hongo.

### 3.1.6 Identificación taxonómica de *Saprolegnia spp.*

Se utilizaron los 32 montajes que mostraron las características microscópicas del hongo, cuya identificación se realizó tomando en cuenta las claves taxonómicas de Seymour (1970) y Zaror *et al.* (2004). El género identificado presentó las siguientes características:

El día 2 se logró observar hifas cenocíticas, ramificadas y yemas poco abundantes; el día 3 y 4 día se observó además de las hifas, zoosporangios pequeños, cilíndricos y presencia de yemas; entre los días 6 y 8 días aparecieron los zoosporangios oscuros y largos, de diámetro mayor que la hifa que lo origina; y en el día 10 se observó los zoosporangios maduros con un tabique conteniendo zoosporas (Figura N°13).



*Figura N°11. Características Microscópicas de la Saprolegnia sp. a y b: Día 2. Hifas Cenocíticas y yemas; c y d: Día 3 y 4. Zoosporangios pequeños; e y f: Día 6-8. Zoosporangios largos y cilíndricos; g y h: Día 10. Zoosporangio maduro. Fuente: Autoría propia, 2019.*

### 3.1.7 Conteo de Zoosporas de *Saprolegnia spp.*

Para el conteo total de esporas se utilizaron 15 cultivos monospóricos, se le agregó 20ml de agua destilada estéril a cada cultivo para homogenizarlo. En cámara de Neubauer, se calculó el promedio por cuadrícula, realizando el conteo de cada colonia seis veces (Cuadro N°3).

Cuadro N°3.

*Conteo de zoosporas de Saprolegnia spp.*

N° conteo	A	B	C	D	Suma
1	118	111	141	122	492
2	106	113	119	137	475
3	125	118	124	111	478
4	105	101	105	115	426
5	134	139	124	110	507
6	113	127	135	133	508
Número de esporas				Total	2886
				Promedio	481

Conteo de esporas por cuadrícula (A, B, C, D), repitiéndose seis veces (1, 2, 3, 4, 5 y 6) por colonia, para obtener el promedio de las mismas.

Una vez medido el promedio de esporas, se determinó la concentración experimental como valor obtenido para la infección con *Saprolegnia spp.* para ello se aplicó la fórmula de Gamma, citado por Parra *et al.*, (2008).

$$\text{N}^\circ \text{ de esporas/ml} = (\text{F.D.}) (\text{P.H.}) (1,000) (\text{N.P.})$$

$$\text{N}^\circ \text{ de esporas/ml} = (20 \text{ ml}) (0.1 \text{ ml}) (1,000) (481)$$

$$= 9.62 \times 10^5 \text{ esporas/ml}$$

### 3.2. Etapa de selección de líneas por su variación en estilos de afrontamientos.

#### 3.2.1 Prueba de restricción.

De la población sana, que fue clasificada en fenotipo de toma de riesgo, se tomó en cuenta los datos registrados de los 27 individuos Proactivos (P) y los 27 individuos Reactivos (R) (Ver Anexo N°6). La figura N°14 muestra que los individuos de la personalidad P tienen una menor latencia para realizar el primer intento de escape que los individuos con personalidad R (*Mann-Whitney*  $U= 51,00$ ;  $p<0.001$ ).

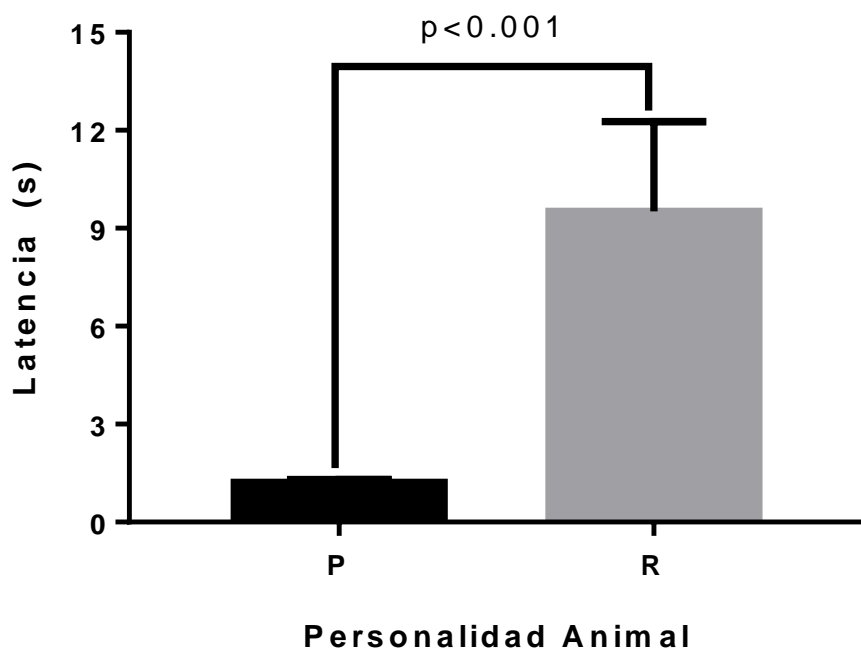


Figura N°12. Media ( $\pm$  EE) de la latencia para el primer intento de escape entre individuos proactivos (P) y reactivos (R).  $p<0.001$ .

### 3.2.2 Tasa ventilatoria.

Se tomó en cuenta las tres medidas registradas del tiempo requerido para efectuar 20 movimientos operculares de los 27 individuos P y los 27 individuos R (Ver Anexo N°7).

Los resultados muestran que existen diferencias significativas entre peces proactivos y reactivos en la tasa ventilatoria ( $t = -2.77$ ,  $p = 0.007$ , Figura N°15).

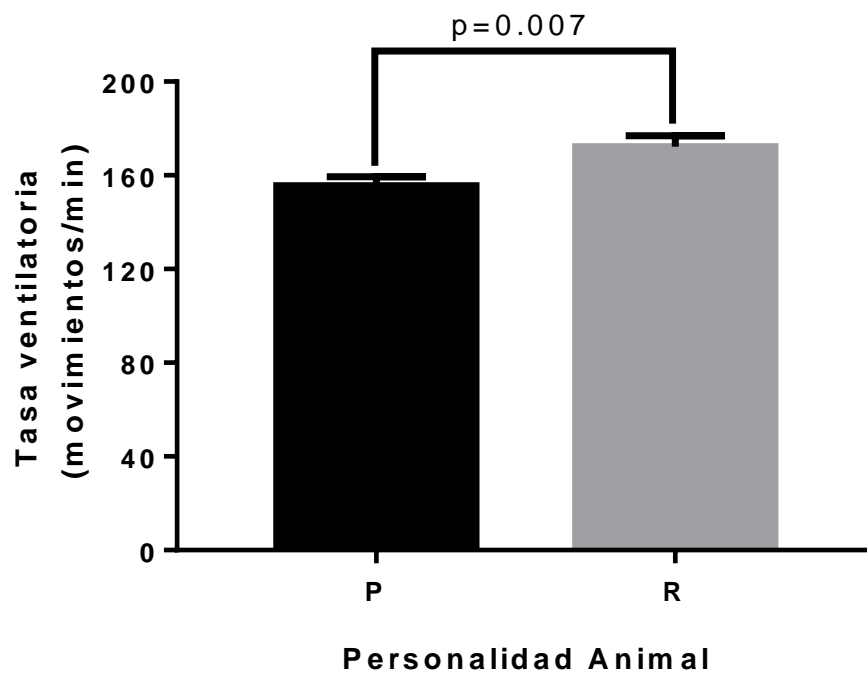


Figura N°13. Media ( $\pm$  EE) de tasa ventilatoria entre individuos proactivos (P) y reactivos (R).

### 3.2.3 Infección Experimental con *Saprolegnia spp.*

#### 3.2.3.1 Patogenicidad.

La figura N°16 muestra que no existe diferencia significativa entre P y R en la respuesta patogénica a un desafío con *Saprolegnia spp.* ( $t= 1.16$ ,  $p=0.26$ ).

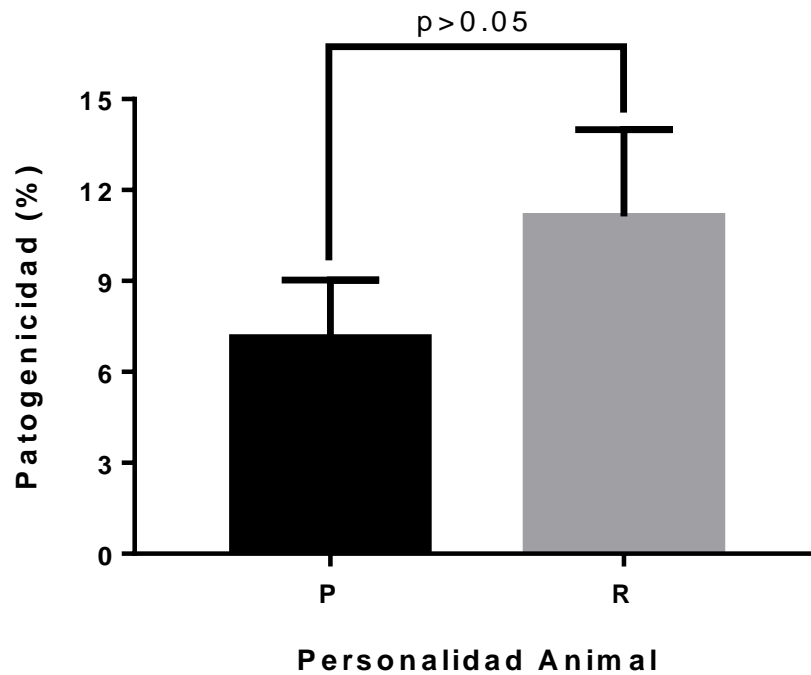


Figura N°14. Media ( $\pm$  EE) de la respuesta patogénica a *Saprolegnia spp.* entre individuos proactivos (P) y reactivos (R).



### 3.2.3.2 Supervivencia.

Los resultados de la prueba de Kaplan-Meier muestran que no existe diferencias significativas entre individuos P y R en el porcentaje de supervivencia ( $X^2_{(1)} = 3.10$ ,  $p=0.07$ ). Sin embargo, los datos reflejan una tendencia a mayor supervivencia en individuos P que R (55% y 30%, respectivamente) Figura N° 17.

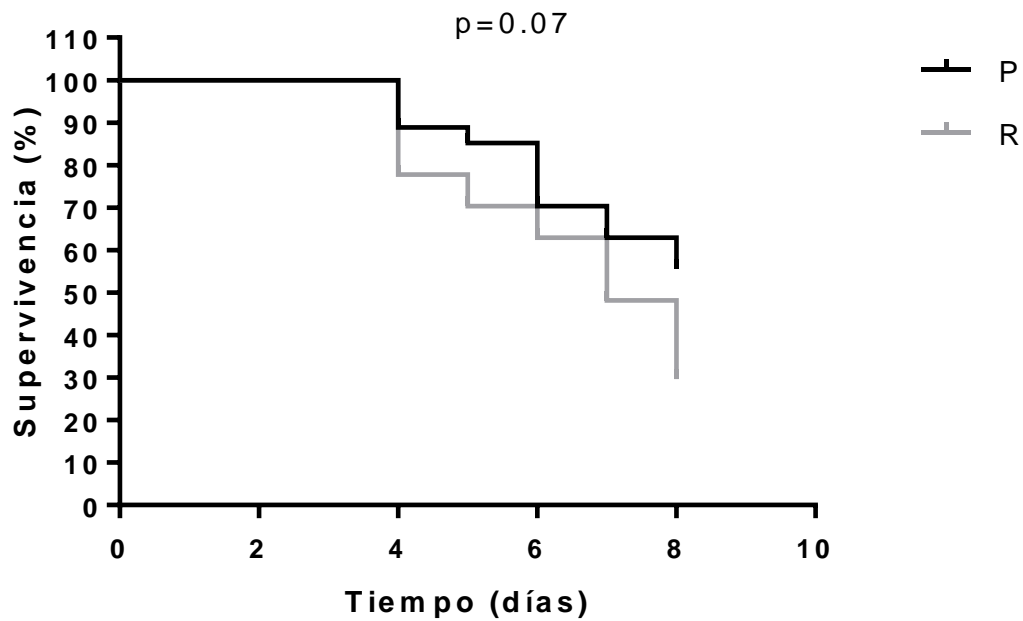


Figura N°15. Porcentaje de supervivencia de individuos P y R desafiados con *Saprolegnia*.

### 3.3 Discusión

Los estudios sobre hongos patógenos que afectan peces en Panamá son escasos, en especial, el género *Saprolegnia*, sin embargo, los reportes publicados en otros países describen esta patología como motas de algodón, correspondiendo a un micelio aéreo, siendo las zonas más afectadas la cabeza, aletas y piel (Zaror *et al.* 2004). De igual forma, Vega *et al.* (2006), manifiesta que las localizaciones más comunes de *Saprolegnia* en peces son la cola, piel y las branquias. Los resultados de esta investigación coinciden con los reportes de estos autores en donde la mayor cantidad de afectación por el hongo se presentó en la cola.

En cuanto al crecimiento de las colonias en los medios de cultivos Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) y Papa Dextrosa Agar (PDA), hubo mayor desarrollo del micelio en las muestras que fueron incubadas en PDA, además presentaron todas las características descritas del hongo, lo que coincide con el estudio realizado por Castro *et al.*, (2015), quien señala que el medio PDA permitió un mejor desarrollo de la colonia observándose abundante micelio a diferencia de aquellas que fueron sembradas en ASD; además, de una mejor observación macroscópica de las colonias. Asimismo, los montajes semipermanentes permitieron observar microscópicamente la presencia de hifas cenocíticas, zoosporangios y zoosporas, características que son compatibles con *Saprolegnia sp.*, como lo mencionan Zaror *et al.* (2004) y Vega *et al.* (2006).

A pesar, que el principal problema de la *Saprolegniosis* es su identificación, existe una polémica, puesto que el género *Saprolegnia*, no forma frecuentemente estructuras sexuales que permita su identificación por los métodos clásicos de morfología, por lo tanto, no pueden ser identificados a nivel de especie (Bangyeekhun, Quiniou y Cerenius, 2001; Zaror *et al.*, 2004).

Bajo este contexto, se han reportado muchos estudios que describen esta enfermedad, cuyos caracteres coinciden con los encontrados en los peces muestreados, así como en las cepas aisladas lo que nos permite considerar que la afección micótica que afecta a las tilapias Nilóticas pertenece a este género.

Castro *et al.* (2015), reporta que la *Saprolegnia spp.*, se desarrolla por heridas en diversas áreas del cuerpo, probablemente causado por una mala manipulación de los peces al momento de trasladarlos, por roces al capturarlos o por golpes entre ellos debido a la alta densidad de peces en los estanques: también, manifiesta que en los ejemplares adultos la susceptibilidad a infecciones por *Saprolegnia* estaría dada por traumas mecánicos, generando pérdida de la integridad de la epidermis, lo que a su vez origina un daño en su primera barrera defensiva, el mucus, trayendo consigo un gran riesgo para el pez. Por otro lado, Espejo y Torres, (2001); y Ardila (2010), señalan que estas lesiones generalmente ocurren por factores estresantes, generando un déficit en el sistema inmune y pérdida de apetito, ocasionando grandes mortalidades a corto tiempo. Para este estudio es probable que la micosis por *Saprolegnia* esté relacionado con lo antes mencionado, sin embargo, los peces no mostraban signos evidentes de lesiones al inicio de la exposición a *Saprolegnia*.

Los dos grupos proactivos y reactivos no mostraron diferencias estadísticas en el ensayo de patogenicidad, pero se observó mayor número de individuos reactivos con lesiones que en conjunto con los resultados de supervivencia en donde los peces proactivos mostraron una mayor tendencia a la supervivencia, parece indicar diferencias en la forma de afrontar este desafío, esto está en línea con los reportes que indican que los peces muestran diferentes estilos de afrontamientos en respuesta a una variedad de desafíos, ilustrándolo claramente en un estudio en el que la carpa común que muestra predictores de comportamiento de diferentes estilos de afrontamiento, caracterizados por una respuesta proactiva y reactiva, fueron sometidos a un

desafío inflamatorio y transcripciones de genes específicos, encontrándose diferencias significativas entre los peces proactivos y reactivos, con niveles más bajos y menos variables en los peces proactivos (Mackenzie *et al.*, 2009).

Fevolden *et al.*, (1993), utilizó dos líneas de salmón del Atlántico, seleccionados para una respuesta al estrés alta o baja después de mediciones de los niveles de cortisol en la sangre, desafiados por tres patógenos bacterianos *furunculosis*, *vibriosis* y la enfermedad renal bacteriana, encontrándose que los peces de respuesta de bajo estrés, característico de proactivos, fueron más resistentes a los patógenos bacterianos, puesto que la mortalidad acumulada al final de los experimentos, fueron significativamente más altos en los de respuesta de alto estrés, indicando una inmunidad baja en peces altamente estresados, característico de reactivos.

Bajo este mismo contexto, se desafiaron dos líneas de trucha arcoíris con *furunculosis* y *vibriosis*, donde la tasa de supervivencia y la mortalidad total acumulada, fueron significativamente diferentes entre las dos líneas, ya que la tasa de mortalidad fue mayor en la línea de alto estrés que los de bajo estrés, indicando que la selección por la respuesta a estrés afecta la resistencia a la enfermedad en trucha arcoíris (Fevolden *et al.*, 1992).

Kittilsen *et al.*, (2012) reporta que el salmón del Atlántico con alta incidencia de manchas en la piel a base de melanina negra, albergan menos piojos de mar en comparación con peces menos pigmentados. Asimismo, en un experimento de laboratorio, se reveló una fuerte correlación negativa entre las manchas de la piel y los niveles de cortisol post-estrés, con individuos menos pigmentados que muestran una respuesta de cortisol más pronunciada al estrés agudo, por lo tanto la personalidad animal y la variabilidad correlacionada en la resistencia de parásitos pueden de hecho reflejar una compensación (*trade-off*) invocada por niveles fluctuantes de agentes infecciosos y recursos nutricionales, permitiendo a los animales invertir energía en sistemas de defensa de acuerdo con los recursos disponibles y la necesidad.

#### 4. Conclusiones

1. Se aisló el género *Saprolegnia spp.*, a partir de muestras tomadas de lesiones de la piel, cola y aletas de juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), en medios de cultivos Agar Sabouraud Dextrosa y Agar Papa Dextrosa, siendo este último más factible, ya que se observó un mejor y más rápido crecimiento de la cepa aislada.
2. Los métodos de aislamiento utilizados para la identificación del género *Saprolegnia spp.*, fueron útiles para concretar el objetivo deseado, puesto que se logró caracterizar la morfología del hongo, obteniendo mejores resultados con la técnica de microcultivo.
3. Se cuantificó la cantidad de unidades formadoras de colonias de *Saprolegnia spp.*, obteniendo una concentración de  $9.62 \times 10^5$  esporas/ml para la infección de los peces (*O. niloticus*).
4. La población de *O. niloticus* se separó adecuadamente en fenotipos de estilos de afrontamientos, mediante la prueba de restricción y tasa ventilatoria.
5. Los fenotipos de estilos de afrontamientos mostraron tendencias diferenciales en el porcentaje de supervivencia a la infección con *Saprolegnia*.

## 5. Recomendaciones

1. A pesar de que los resultados fueron un 80 por ciento satisfactorios, en nuestro país son nulos los estudios sobre *Saprolegnia*, por lo que recomendamos a los profesores de la Universidad de Panamá fomentar interés en los estudiantes de seguir la línea de investigación, para mejorar los resultados y obtener nuevas informaciones.
2. Las autoridades del Centro Regional Universitario de Coclé Dr. Bernardo Lombardo, deberían considerar necesario el implemento de un laboratorio totalmente disponible para investigaciones, que cuente con los equipos necesarios y sofisticados, los cuales permitan resultados confiables a futuros proyectos investigativos, ya que actualmente se carece de los mismos y los estudiantes trabajan de manera rudimentaria.
3. La Universidad de Panamá debería establecer vínculos con entidades privadas y de gobierno, haciéndole ver la importancia y los beneficios que obtendrían a partir de los proyectos de investigación, lo que estimularía el patrocinio por parte de las mismas, así al estudiante le sería más fácil llevar a cabo el objetivo deseado, ya que actualmente los tesisas sufragan todos los gastos, además, no tienen espacios disponibles para realizar sus trabajos, por el restringido acceso a los laboratorios.

4. Exhortamos a los profesores de la Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología del CRU Coclé, a trabajar en unidad y armonía, por el beneficio de los estudiantes, ya que cada uno es poseedor de su propio conocimiento, que es de mucho provecho en nuestros proyectos investigativos. Ejemplo de ello es la implementación de las distintas ramas de las ciencias, las cuales son estrictamente necesarias, ya que cada una se especializa en obtener una información en particular que complementa a las demás, por ello creemos firmemente que cada uno de nuestros docentes es importante en nuestra facultad.

## 6. Referencias bibliográficas

- Alamilla, H. (2000). Cultivo de tilapia. México, Zoetecnocampo. Recuperado de <https://www.zoetecnocampo.com/Documentos/tilapia/tilapia.htm>
- Alarcon, J. (21 de enero de 2015). *Saprolegnia* ¿El ataque de un hongo? Recuperado de <http://www.acuaristas.cl/saprolegnia-el-ataque-de-un-hongo/>
- Aller, J. (1988). *Saprolegniosis*, with Special Referente to Salmonid Fish. *Pro-Veterinario*, (8) 9 – 12.
- Aller, J., Fregeneda, J., González, C., García, M. y Pérez, L. (2016). First record of an outbreak of Saprolegniosis by *Saprolegnia parasitica* in *Pseudochondrostoma duriense* (Coelho, 1985) (Cyprinidae). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 36(2), 91 – 96.
- Almeida, J. (2014). *Reversión Sexual de Tilapia Roja (Oreochromis niloticus), Utilizando Dos Tipos de Andrógenos Comerciales y un Testigo (Andriol y Proviron)* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica de Machala.
- Altimiras, J. y Larsen, E. (2000). Non-invasive Recording of Heart Rate and Ventilation Rate in Rainbow Trout During Rest and Swimming. *Fish go wireless J. Fish Biol.* (57) 197-209.
- Arboleda, O., y Duván A. (2005). Reversión Sexual de las Tilapias Roja (*Oreochromis sp.*) una Guía Básica para el Acuicultor. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(12), 1- 5.



- Ardila, D. (2010). *Evaluación del efecto de aislados bacterianos sobre el peso, talla y supervivencia a infecciones experimentales en juveniles de tilapia Nilótica Oreochromis niloticus* (Tesis de Pregrado). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta.
- Arellano, M., Marano, A., y Steciow, M. (2008). Nuevas Citas de Saprolegniales (*Peronosporomycota, Straminipila*) para Ambientes Acuáticos de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). *Darwiniana*, 46(1), 36 – 45.
- Baldauf, S., Roger, A., Wenk, I. y Doolittle, W. (2000). A kingdom-Level Phylogeny of Eukaryotes Base on Combined Protein Data. *Science*, 290, 972.
- Bangyeekhun, E., Quiniou, S., Bly, J. y Cerenius, L. (2001). Characterisation of *Saprolegnia* sp. Isolates from Channel Catfish. *Dis. Aquat. Org.* 45, 53 – 59.
- Barreto, R., Luchiari, A. y Marcondes, A. (2003). Ventilatory Frequency Indicates Visual Recognition of an Allopatric Predator in Naïve Nile Tilapia. *Behav. Process.* 60, 235–239.
- Barreto, R. y Volpato, G. (2004). Ventilation Rates Indicate Stress-coping Styles in Nile Tilapia. *J. Biosci.* 36, 851 – 855.
- Basualdo, L., Jiménez, F., Jiménez, A., Macal, F., Mendoza, E., Montaña, D. y Urcelay, E. (2012). Criterios Técnicos y Económicos para la Producción Sustentable de Tilapia en México. Manual para el Productor. Recuperado de [https://www.academia.edu/13386065/Criterios\\_T%25C3%25A9cnicos\\_y\\_Econ%25C3%25B3micos\\_para\\_la\\_Producci%25C3%25B3n\\_Sustentable\\_de\\_Tilapia.pdf](https://www.academia.edu/13386065/Criterios_T%25C3%25A9cnicos_y_Econ%25C3%25B3micos_para_la_Producci%25C3%25B3n_Sustentable_de_Tilapia.pdf)
- Beakes, G., Glockling, S. y Sekimoto, S. (2012). The Evolutionary Phylogeny of the Oomycete “Fungi”. *Protoplasma*, 249(1), 3 – 10. doi: 10.1007/s00709-011- 0269-2.

- Bly, J., Lawson, L., Dale, D., Szalai, A., Durburow, R. y Clem, L. (1992). Winter *Saprolegniosis* in Channel Catfish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 13, 155 – 164.
- Bruno, D., Gordón, W. y Van West, P. (2010). Saprolegnia and other Oomycetes. En Bruno, D. W., Woo, P. T. K. (Ed.), *Fish Diseases and Disorders. Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. (pp. 669). Oxon, England: CABI Publishing.
- Bustillo, A. (2010). Método para Cuantificar Suspensiones de Esporas de Hongos y otros Organismos. DOI: 10.13140/RG.2.1.3594.5128p
- Campillay, R. (2007). *Antagonismo Biológico de Cepas Bacterianas contra Saprolegnia spp. Agente Causal de Micosis en Peces* (Tesis Doctoral). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Cantor, F. (2007). Manual de Producción de Tilapia. Secretaria de Desarrollo Rural del Estado de Puebla. México.
- Carbajal, M. (2013). *Patogenicidad, Adhesión al moco cutáneo y poder inhibitorio frente a Saprolegnia parasítica de Bacterias representativas de la flora cutánea de Trucha Común (Salmo trutta) y Trucha Arcoíris (Oncorhynchus mykiss)* (Tesis Doctoral). Universidad de León, España.
- Castanheira, M., Herrera, M., Costas, B., Conceição, L. y Martins, C. (2013). Can we Predict Personality in Fish? – Searching for Consistency Over Time and Across Contexts. *PLoS ONE* 8, e62037.
- Castillo, L. (2003). Tilapia 2003: Desarrollo del Cultivo en América Latina, Contexto y Perspectiva Internacional. *Panorama Acuícola Magazine*, 8(4), 30 – 34.

- Castro, V., Serrano, E., y León, J. (2015). Aislamiento e identificación morfológica de *Saprolegnia sp.* en Paiche (*Arapaima gigas*) proveniente de criaderos artesanales en Iquitos, Perú. *AquaTIC*, (41), 8 – 18.
- Chakan, H. (2004). Manifestación de impacto ambiental en su modalidad particular, cultivo de tilapia. Recuperado de <http://sinat.semarnat.gob.mx/dgiraDocs/documentos/yuc/estudios/2004/31YU2004PDo24.pdf>
- Cross, M. y Willoughby, L. (1989). Enhanced Vulnerability of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to *Saprolegnia* infection, following treatment of the fish with an androgen. *Mycological Research*, 93, 373 – 402.
- Duan, J., Feng, Y., Huang, X., Wang, K., Geng, Y., Deng, Y., Ou, Y., Chen, D. y Yang, S. (2018). A Review: Factors Affecting Outbreaks of Saprolegniosis on Aquatic Animals. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, IJA*. (70), 2 – 11.
- Espejo, C., Torres, E. (2001). cultivo de tilapias rojas y plateadas (*Oreochromis niloticus*). En H. Rodríguez, P. Daza, M. Carrillo (Ed.), *Fundamentos de Acuicultura Continental* (pp. 283 – 298). Bogotá, Colombia: Ediciones de Grafimpresos Quintero.
- FAO. (2005 – 2015). Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus*. Programa de Información de Especies Acuáticas. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis\\_niloticus/es#tcNA0078](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es#tcNA0078)
- FAO. (2006 - 2011). Programa de información de especies acuáticas *Oreochromis niloticus*. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Recuperado de [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_colombia/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_colombia/es)

FAO. (2009). *Oreochromis niloticus*. In cultured Aquatic Species Fact Sheets. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Recuperado de [http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es\\_niletlapia.html](http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletlapia.html)

Fernández, M. (2011). *Infecciones por Oomycetes en Poblaciones de Anfibios de la Sierra de Gredos (Ávila). Efecto de la Radiación UV-B* (Tesis Doctoral). Universidad de Salamanca, España.

Fevolden, S., Refstie, T. y Røed, K. (1992). Disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for stress response. *Aquaculture*, 104(1992), 19 – 29.

Fevolden, S., Nordmo, R., Refstie, T. y Røed, K. (1993). Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) selected for high or low responses to stress. *Aquaculture*, 109(1993), 215 – 224.

Fregeneda, J., Fernández, M. y Aller, J. (2001). Experimental Pathogenicity in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, of Two distinct Morphotypes of Long-Spined *Saprolegnia* isolates Obtained from Wild Brown Trout, *Salmo trutta* L., and River Water. *Journal of Fish Diseases*, 24(6), 351 – 359.

Gilchrist, S., Fuentes, D., Martínez, C., López, A., Duveiller, R., Singh, M., Henry, E., y García, A. (2005). Guía Práctica para la Identificación de algunas Enfermedades de Trigo y Cebada. Segunda Edición. México, D.F.:CIMMYT.

Gómez, J., Peña, B., Salgado, I. y Guzmán, M. (2003). Reproductive aspects of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: *Cichlidae*) at Coatetelco lake, Morelos, Mexico. *Revista Biol. Trop.* 51(1), 221 – 228.

- González, C. (2017). *Biocontrol de la Saprolegniosis por Saprolegnia parasítica en Trucha Arcoíris (Oncorhynchus mykiss) utilizando Bacterias aisladas de Peces Continentales y Marinos* (Tesis Doctoral). Universidad de León, España.
- González, M., Bosco, J., González, M. y Sarasquete, C. (2001). *Saprolegniasis en Poblaciones Naturales de Peces. Ciencias Marinas*, 27(1), 125 – 137.
- Green, B. (2006). Sistema de Producción de Alevines de Tilapia. *Prensa de Productos Alimenticios*. Binghamton, Nueva York, 181 – 210.
- Guiscafré, F. (2018). *Dieta Enriquecida con Nonnochloropsis limnetica para Juveniles de Tilapia (Oreochromis niloticus)* (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro.
- Hernández, F. (2004). *Cultivo Intensivo de “Tilapia” en Jaulas Flotantes* (Tesis de Pregrado). Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, México.
- Hurtado, N. (2005). Tilapia, La Alternativa Social y Económica del Tercer Milenio. *Revista Aquatic*. 127. Recuperado de [http://www.revistaaquatic.com/documentos/docs/nh\\_tilapia3milenio.pdf](http://www.revistaaquatic.com/documentos/docs/nh_tilapia3milenio.pdf)
- Iturbide, K. (2004). *Impacto de la Estación Acuícola de Amatitlán en el Desarrollo de la Tilapicultura en Guatemala* (Tesis de Pregrado). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Kamoun, S. (2003). Molecular Genetics of Pathogenic Oomycetes. *Eukaryotic Cell*, 2(2), 191 – 199.
- Kirk, P., Cannon, P., Minter, D. y Stalpers J. (2008). *Ainsworth & Bisby’s Dictionary of the Fungi*. CAB Internacional, Wallingford. Oxon OX10 8DE. UK

- Kittilsen, S., Johansen, I., Braastad, B. y Øverli, Ø. (2012). Pigments, Parasites and Personality: Towards a Unifying Role for Steroid Hormones? *PLoS One*, 7(4), e34281.
- Logato, P., Murgas, L. y de Souza, F. (2004). Estudio Del Efecto De La Relación Macho Hembra En La Puesta Natural Y Dosis De 17- alfa - Metil Testosterona En La Reversión Sexual De Tilapia Del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Universidad Veterinaria de Murcia*, 20, 95-103.
- López, B., y Cruz, L. (2011). *Elaboración de un Probiótico a Base de Microorganismos Nativos y Evaluación de su Efecto Benéfico al Proceso Digestivo de la Tilapia Roja (Oreochromis spp.) en Etapa de Engorde en la Zona de Santo Domingo* (Tesis de Pregrado). Escuela Politécnica del Ejército, Santo Domingo, Ecuador.
- Luchini, L. (2006). *Tilapia: Su Cultivo y Sistemas de Producción*. Dirección de Acuicultura.
- Macias, J. (2016). *Estado y Estructura Poblacional de la Tilapia Negra Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) (Perciformes: Cichlidae) En la Represa La Esperanza, Quiroga-Manabi* (Tesis de Maestría). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Mackenzie, S., Ribas, L., Pilarczyk, M., Capdevila, D., Kadri, S. y Huntingford, F. (2009). Screening for Coping Style Increases the Power of Gene Expression Studies. *PLoS One*, 4(4), e5314
- Mantilla M. (2004). *Acuicultura: Cultivo de Truchas en Jaulas Flotantes*. Universidad Nacional del Altiplano. Editorial Palomino, Lima. *PRODUCE*, 24 – 124.
- Markovskaja, S. (2006). *Saprolegniaceae (Peronosporomycetes) in Lithuania. II. The Genus Saprolegnia*. *Botanica Lithuanica*, 12(2), 97 – 112.

- Marshall, S., Arena, G., Díaz, M., Nilo, L., y Olivares, J. (2010). Molécula Peptídica Recombinante para tratar Saprolegniosis. *Organización Mundial de la Propiedad Intelectual*, 21(3), 1 – 20.
- Martez, N., Singh, M., y Toro, D. (2017). Análisis de la Cadena de Suministro Acuícola de Panamá: Estudio de Caso con Productores de Tilapia en Río Sereno, Chiriquí. *Latin American Journal Of Business Management*, 8(1), 125 -148.
- Martínez, V., y Mendoza, W. (2015). *Comportamiento del Crecimiento de Juveniles de Tilapia Oreochromis niloticus, utilizando alimento comercial: para Tilapia al 28% vs para Camaron al 30%* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua.
- Moller, Ch. (1995). Manual Biolead Project. Switzerlad. 24 – 28.
- Morales, A. (2003). Biología, Cultivo y Comercialización de la Tilapia. México, Ed. AGT Editor S.A. 4ta ed. Recuperado de [http://books.google.com.ni/books/about/Biolog%C3%Ada\\_cultivo\\_y\\_comercializaci%C3%B3n\\_de.html?id=T0bIMQAACAAJ&redir\\_esc=y](http://books.google.com.ni/books/about/Biolog%C3%Ada_cultivo_y_comercializaci%C3%B3n_de.html?id=T0bIMQAACAAJ&redir_esc=y)
- Morales, G., Arias, M., Blanco, L. y Chaves, C. (2004). Evaluación de la Calidad Bacteriológica de Tilapia Fresca (*Oreochromis niloticus*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(4), 433 – 437.
- Noga, E. (2000). *Fish Disease, Diagnosis and Treatment*. Iowa State University Press, USA: Editorial Ames.

- Noguera, C. (2009). *Aislamiento, Identificación y Valoración In vitro del Potencial Probiótico de Cepas Bacterianas Nativas de Tilapia Nilótica (Oreochromis niloticus)* (Tesis de Pregrado). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta.
- Núñez, L. (2012). *Producción de Tilapia Oreochromis niloticus, Utilizando Energía Solar Térmica y Fotovoltaica, en la Comunidad Nueva Esperanza de la Aldea Tzapineb, Cobán Alta Verapáz* (Tesis de Pregrado). Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Parra, R., García, F., Borrego, L., Lanz, H., Del Río, I., y De La Cruz, F. (2008). Aislamiento y Purificación del Oomycete *Saprolegnia parasítica*, Patógeno de Peces Dulceacuícolas, a partir de muestras de peceras comerciales y evaluación de la sensibilidad del Kit BIAADETECT para su detección. *Ciencia y Tecnología* 7(7), 61 – 69.
- Patiño, C. (2013). *Caracterización de las Propiedades Funcionales de la Carne de Caballa y Tilapia en Refrigeración y Congelación* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.
- Paul, B. y Steciow, M. (2004). *Saprolegnia multispora*, a new oomycete isolated from water samples taken in a river in the Burgundian región of France. *FEMS Microbiology Letters*, 237(204), 393 – 398.
- Pickering, A. (1994). Factors Influencing the Susceptibility of Salmonid fish to Saprolegniasis. En Mueller, G. *Salmon saprolegniasis*, pp. 67 – 86. U.S. Department of Energy, Boneville Power Administration, Portland, OR, USA.
- Poot, C., Novelo, R. y Hernández, M. (2009). ABC en el Cultivo Integral de Tilapia. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/55367067/20458321-ABC-en-El-Cultivo-Integral-de-La-Tilapia>



- Popma, T. y M. Masser. (1999). *Tilapia. Life History and Biology*. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication No. 283. USA. Recuperado de: <http://srac.tamu.edu/283fs.pdf>
- Ramírez, S. (2015). *Evaluación de la Inversión Sexual de Tilapia Gris (Oreochromis niloticus) Bajo un Sistema de Bioflocs* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú.
- Roberts, R. (2001). *Fish Pathology*. 3rd ed. New York: W.B Saunders. 472.
- Rodríguez, E. (2012). *Comparación De parámetros Reproductivos En Hembras De Tilapia Nilótica (Oreochromis niloticus) De Alto Y Bajo Valor Genético* (Tesis de Pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá, Colombia.
- Romero, M. y Romero, M. (2012). *Determinación del Perfil Bacteriológico de Oreochromis niloticus (Tilapia) fresca y su Respectiva Agua de Estanque Proveniente del Canton Antiocoyo, Municipio de San Pablo Tacachico, La Libertad* (Tesis de Pregrado). Universidad de El Salvador, El Salvador.
- Saavedra, M. (2006). *Manejo del Cultivo de Tilapia*. Universidad Centroamericana, Managua, Nicaragua.
- Sarowar, M., Hossain, M., Nasrin, T., Naznin, T., Hossain, Z. y Rahman, M. (2018). Molecular Identification of Oomycete species affecting aquaculture in Bangladesh. *Aquaculture an Fisheries*, 30(4), 2 – 9.
- Seymour, R. (1970). The Genus Saprolegnia. *Nova Hedwigia*, 19, 1 – 124.

- Songe, M. (2015). *Pathogenicity and Infectivity of Saprolegnia species in Atlantic salmon (Salmo salar L.) and their eggs* (Tesis Doctoral). National Veterinary Institute.
- Torres, D. y Hurtado, V. (2012). Requerimientos Nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Orinoquia*, 16(1), 63 – 68.
- Van Der Berg, A. y Van West, P. (2013). The impact of the water moulds *Saprolegnia diclina* and *Saprolegnia parasítica* on Natural Ecosystems and the Aquaculture Industry. *Fungal Biology Reviews*, 27(2), 33 – 42.
- Van West, P. (2006). *Saprolegnia parasítica*, an Oomycete Pathogen with a Fishy Appetite: New Challenges for an old Problem. *Mycologist*, 20(3), 99 – 104. Doi: 10.1016/j.mycol.2006.06.004.
- Vega, M., Moreno, M. y López, R. (2006). Hongos acuáticos: presencia del género *Saprolegnia* en México. *Research*, 207 – 225. DOI: 10.13140/RG.2.1.2344.3281.
- Wood, S., Willoughby, L. y Beakes, G. (1988). Experimental studies on Uptake and Interaction of Spores of the *Saprolegnia diclina-parasítica* complex with external mucus of Brown trout (*Salmo trutta*). *Transactions of the British Mycological Society*, 90, 63 – 73.
- Zaror, L., Collado, L., Bohle, H., Landskron, E., Montaña, J. y Avendaño, F. (2004). *Saprolegnia parasítica* en Salmones y Truchas del sur de Chile. *Rev. Med. Vet.*, 36(1), 71 – 78.
- Zúñiga, E. (2008). *Propuesta Teórica para el Desarrollo de un Sistema Productivo de Tilapia Orgánica* (Tesis de Pregrado). Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

## 7. Anexos

### Anexo N°1. Captura y transporte de las muestras



Captura de las muestras (*O. niloticus*)



Muestras en bolsa plástica transparente para transporte

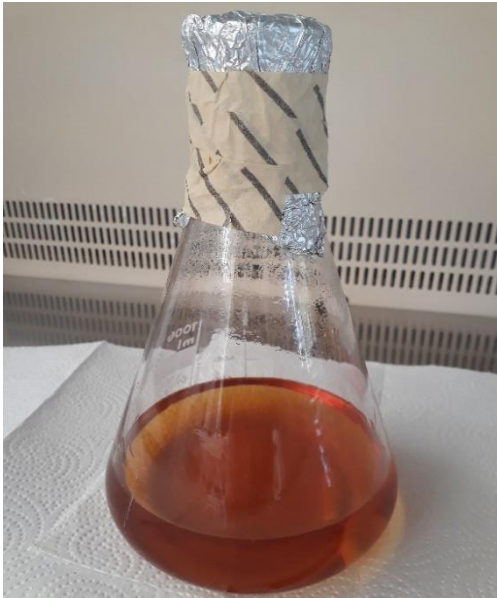


Oxigenación de las muestras



Transporte de las muestras

**Anexo N°2. Preparación de los medios de cultivos utilizados para el aislamiento de la *Saprolegnia spp.***



Agar Sabouraud Dextrosa (ASD)



Potato Dextrose Agar (PDA)



ASD en platos de Petri

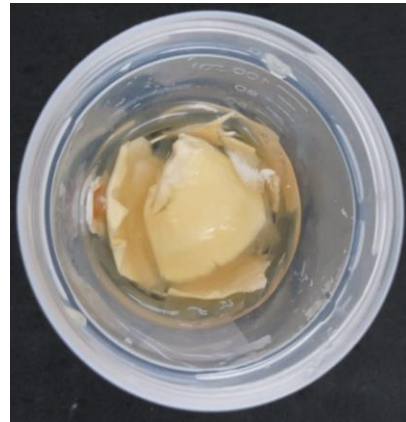


PDA en platos de Petri

**Anexo N°3. Flujograma para el conteo de zoosporas de la *Saprolegnia spp.***



Colonia de la *Saprolegnia spp.*



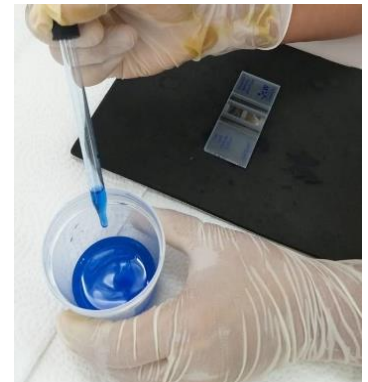
Muestra más 20 ml de agua destilada estéril



Colocación del cubreobjeto sobre la muestra



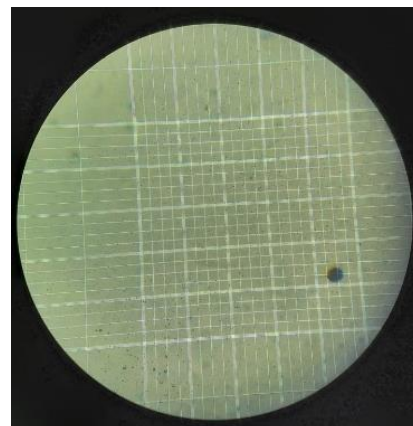
Colocación de una gota de la muestra en la cámara de Neubauer



Solución más gotas de lactofenol



Observación de las esporas en el microscopio



Conteo de esporas de *Saprolegnia spp.*

**Anexo N°4. Patogenicidad de *Saprolegnia spp.* en tilapia del Nilo**



Pez con lesiones en la piel

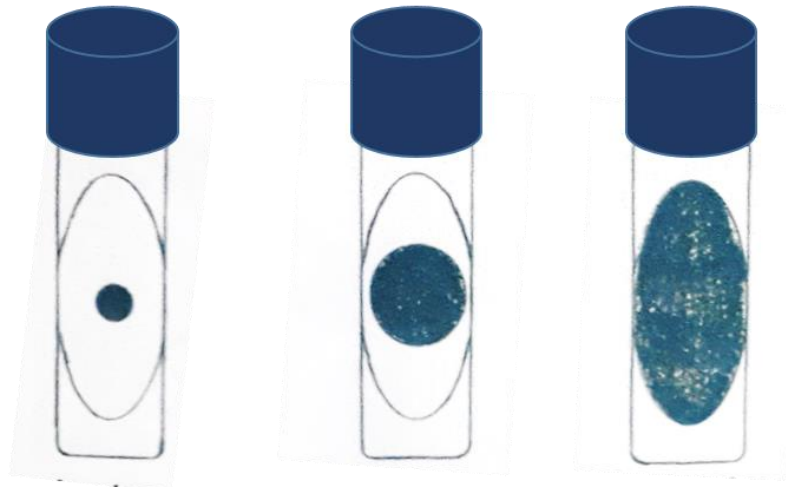


Presencia de *Saprolegnia spp.* en cola de la tilapia

**Anexo N°5. Criterios morfológicos para la caracterización de hongos**

**Tasa de Crecimiento**

diámetro aprox. después de 5 semanas de incubación

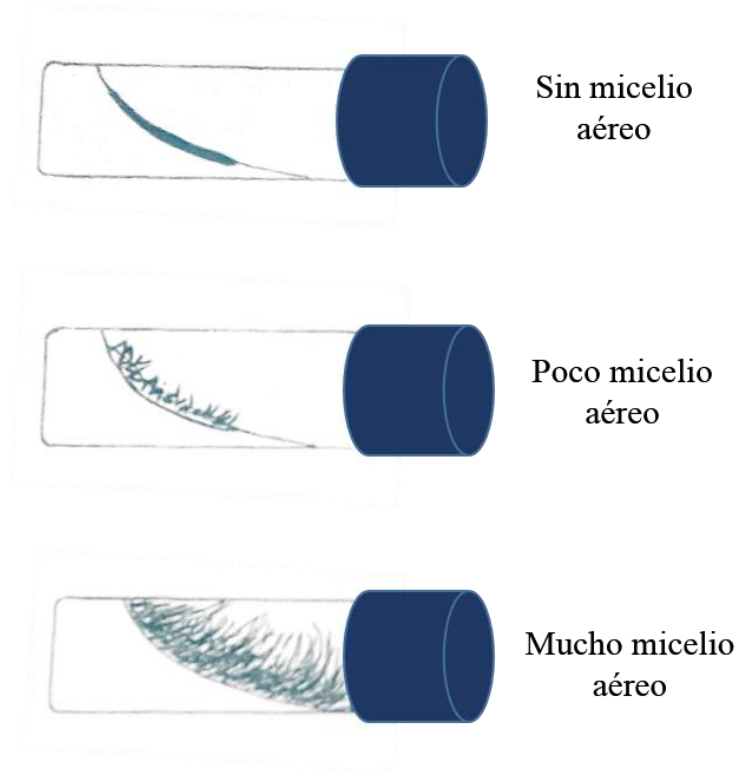


Lento crecimiento

Moderado crecimiento

Rápido crecimiento

**Micelio Aéreo**



Sin micelio aéreo

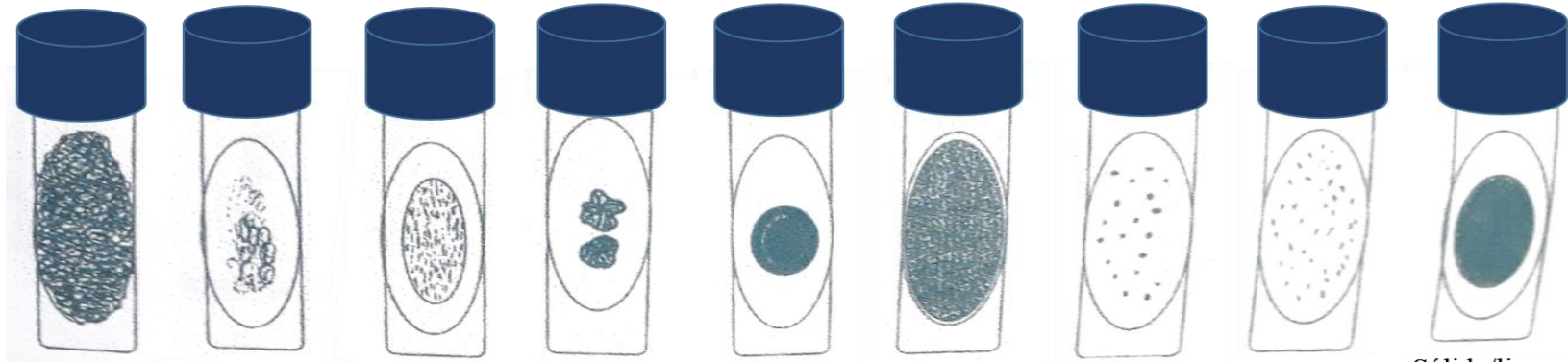
Poco micelio aéreo

Mucho micelio aéreo

Tomado de Manual Biolead Project. 1995. Moller Ch, *et al.*, Pp: 24 – 28. Switzerland

Anexo N°5. Continuación

Textura



Lanoso o algodonoso

Felpa

Aterciopelado

Cartilaginoso

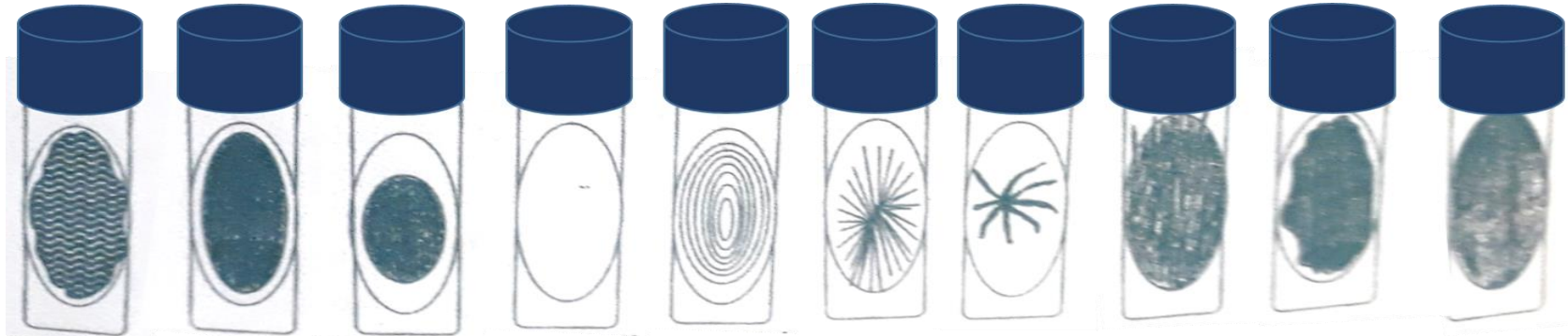
Inmerso

Pulverulento

Granulado

Parecido a sémola

Sólido/liso



Limoso

Ceroso

Opaco o mate

Con brillo metálico

Concéntrico

Radial

Rizomorfo

Sinematoso

Fibroso

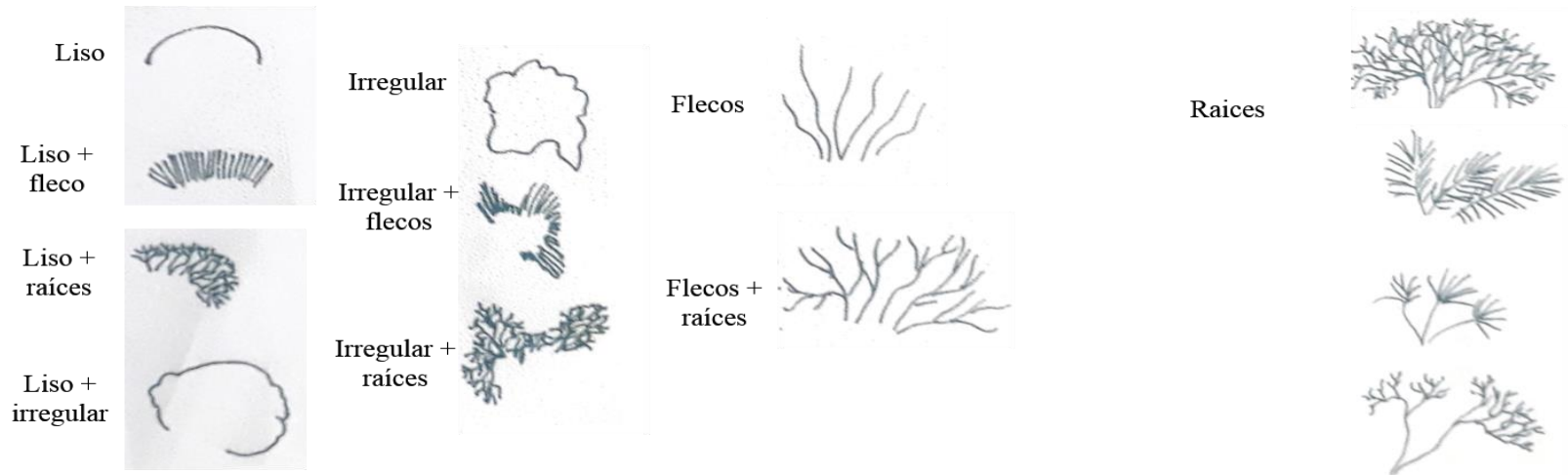
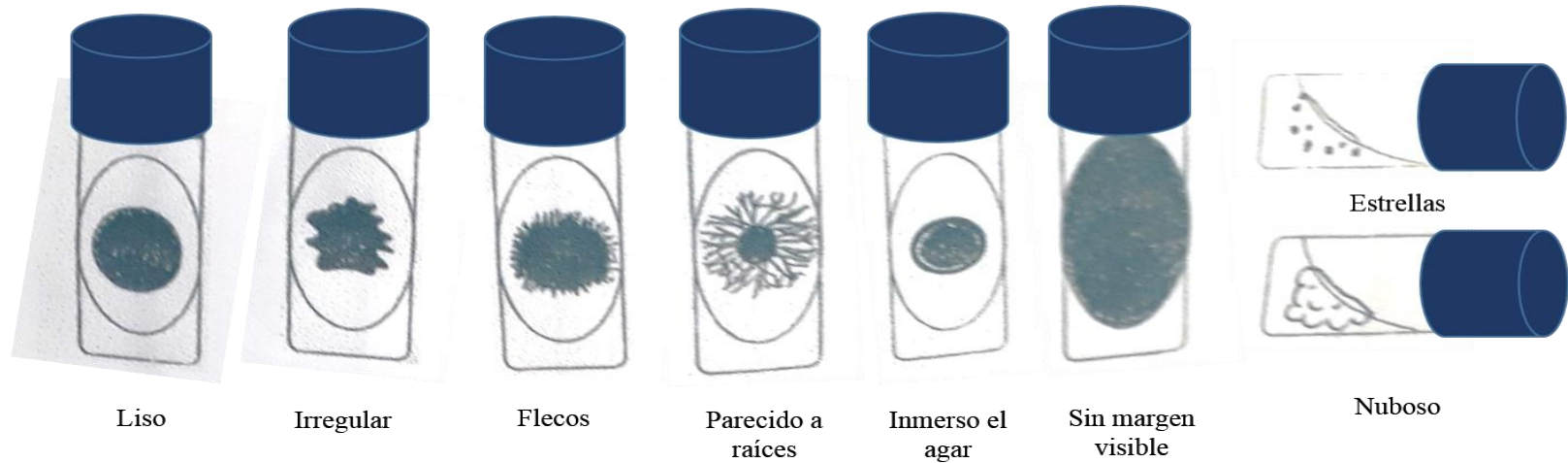
Otro

Tomado de Manual Biolead Project. 1995. Moller Ch, *et al.*, Pp: 24 – 28. Switzerland



Anexo N°5. Continuación

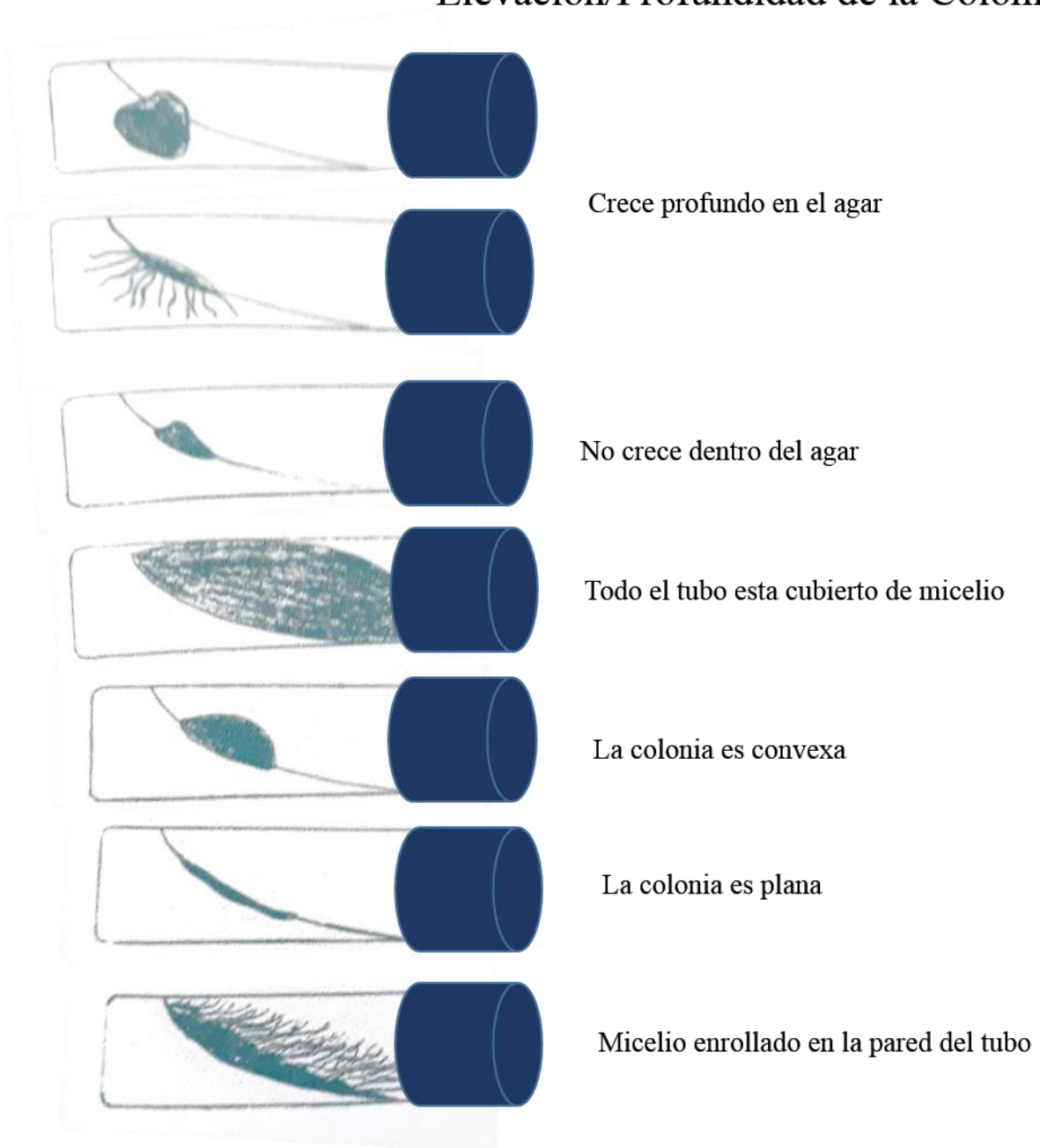
Formas del Margen



Tomado de Manual Biolead Project. 1995. Moller Ch, *et al.*, Pp: 24 – 28. Switzerland

Anexo N°5. Continuación

Elevación/Profundidad de la Colonia



Tomado de Manual Biolead Project. 1995. Moller Ch, *et al.*, Pp: 24 – 28. Switzerland

### **Anexo N°6. Datos registrados en la prueba de restricción**

Prueba de restricción	
Latencia (s)	
P	R
2	2
2	20
2	2
2	2
2	2
2	2
1	3
1	2
1	3
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
1	2
2	13
1	3
1	28
1	56
1	28
1	38
1	31

### Anexo N°7. Datos registrados en la tasa ventilatoria

Tasa ventilatoria (min)	
P	R
9.3	8
8	10.3
7.3	6.3
7.6	6
10	5.6
8	8.3
8.6	8
7	6
6.6	7.3
7.3	6.6
7.3	7.6
7	7.6
6.6	6.3
9.3	6.3
7.3	6.6
7.6	7
8.3	6
7.3	6
9.3	7
10.6	6.3
7.6	7.6
8	8
6.6	7
7.3	6.3
6.3	7.3
7	9.6
8.6	7

## **Anexo N°8.**

### **Glosario**

**Agar Papa Dextrosa:** En inglés Potato Dextrose Agar (PDA), medio común de cultivo microbiológico que se preparan a partir de infusión de patata y dextrosa. Es el medio más utilizado para el crecimiento de hongos y levaduras que atacan a las plantas vivas o materia vegetal muerta en descomposición. Puede ser suplementado con antibióticos o ácidos para inhibir el crecimiento bacteriano. Es recomendado para realizar el recuento colonial, también puede ser utilizado para promover el crecimiento de hongos y levaduras de importancia clínica. La infusión de patata promueve un crecimiento abundante de los hongos y levaduras y el agar es adicionado como agente solidificante.

**Agar Sabouraud Dextrosa:** Es un medio de cultivo sólido, especialmente enriquecido para el aislamiento y desarrollo de hongos, como levaduras, mohos y dermatofitos. Es ideal para el crecimiento de bacterias filamentosas. Su uso es muy amplio, pues puede ser empleado en la micología humana, animal, vegetal e industrial.

**Cámara de Neubauer:** Es una placa gruesa con forma de porta, cuya porción central está dividida en tres bandas longitudinales perpendiculares a su eje longitudinal. De ellas, las dos laterales se encuentran sobreelevadas con respecto de la central en 0.1 mm, y en la central hay grabado un retículo cuadrangular. Es un instrumento ideado para contar células sanguíneas y se puede usar también para estimar la concentración de conidias en una suspensión acuosa de esporas.

**Conidia:** Es una spora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena. A menudo son pigmentadas y son resistentes a la desecación, además sirven para dispersar al hongo hacia nuevos hábitats.

**Corticosteroides:** Son una variedad de hormonas del grupo de los esteroides (producida por la corteza de las glándulas suprarrenales) y sus derivados. Los corticosteroides están implicados en una variedad de mecanismos fisiológicos, incluyendo aquellos que regulan la inflamación, el sistema inmunitario, el metabolismo de hidratos de carbono, el catabolismo de proteínas, los niveles electrolíticos en plasma y, por último, los que caracterizan la respuesta frente al estrés.

**Crecimiento monospórico:** Es aquel crecimiento que se desarrolla a partir de una espora simple.

**Diferencia significativa:** Es una medida matemática de la diferencia entre grupos. Se dice que la diferencia es estadísticamente significativa cuando es mayor de lo esperable que ocurra solamente por casualidad. Cuando el valor p está por debajo de un nivel de significancia ( $\alpha$ ) (generalmente 0.10, 0.05 o 0.01), se puede decir que la diferencia es estadísticamente significativa.

**Epizootias:** Es una enfermedad contagiosa que ataca a un número elevado e inusual de animales al mismo tiempo y lugar y se propaga con rapidez.

**Esmoltificación:** Es el proceso regulado hormonalmente por el que peces anádromos sufren adaptaciones físicas y fisiológicas por la migración de agua dulce a agua salada, ocurriendo típicamente entre el primer y segundo año de vida.

**Anádromos:** Peces diádromos que viven en el mar una gran parte de su vida y migran a aguas dulces para criar. Por ejemplo, como el salmón del atlántico (*Salmo salar*) que cría en el curso superior de un río.

**Estilos de afrontamiento:** Hacen referencia a los esfuerzos, mediante conducta manifiesta o interna, para hacer frente a las demandas internas y ambientales, que exceden los recursos de la persona u animal. Estos procesos entran en funcionamiento en todos aquellos casos en que se desequilibra la transacción individuo-ambiente. Se trata de un término propio de la psicología y especialmente vinculado al estrés.

**Hifas cenocíticas:** Las hifas pueden presentar un tipo de segmentación que divide al filamento por medio de tabiques denominados septos, lo cual permite la separación citoplasmática. Por otro lado, hay hongos que no presentan este tipo de morfología y se denominan cenocíticos.

**Latencia:** En el campo de la Biología hace referencia para nombrar el tiempo que pasa a partir de lanzado un estímulo y la aparición de una respuesta frente a él.

**Micelio:** Aparato vegetativo de los hongos que le sirve para nutrirse y está constituido por hifas.

**Microcultivo:** Es una técnica eficaz para identificar y clasificar un hongo filamentosos, ya que permite la observación de las estructuras microscópicas sin alteración o rompimiento de las mismas, debido a que crecen directamente bajo el cubreobjetos.

**Morfotipo o morfoespecie:** Se refiere a un grupo de organismos de cualquier taxón con características morfológicas comunes, que pueden ser de una misma especie o de diferentes especies.

**Patogenicidad:** Es la capacidad de un agente infeccioso de producir enfermedad en un huésped susceptible.

**Poliplanetismo:** En los *oomycetes*, el fenómeno relativo a la existencia alternativa de fases móviles e inmóviles en las zoosporas.

**Ubicuidad:** Son aquellos microorganismos que pueden habitar en cualquier lugar, ya sea agua, tierra o aire.

**Variaciones fenotípicas:** Son aquellas particularidades visibles en los organismos, es decir, la sumatoria de todas las características observables de un individuo y que son el resultado de la interacción entre genotipo y el ambiente.