

Aislamiento e identificación morfológica de *Saprolegnia* sp. en paiche (*Arapaima gigas*) proveniente de criaderos artesanales en Iquitos, Perú

Verónica K. Castro Pérez¹; Enrique Serrano¹ y Jorge León Q²

¹Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima – Perú

²Laboratorio de Ecología Microbiana, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú

Email: veronica.castro@upch.pe

Resumen

Arapaima gigas o paiche, es un pez amazónico de vida silvestre, pero actualmente criado también en cautiverio por su excelente calidad de carne. A pesar de las características favorables que presenta para fomentar su crianza, existen diversos factores desconocidos que pueden influir en su normal desarrollo y conllevar a infecciones o a su muerte. Las infecciones micóticas producidas por Oomicetos son las más frecuentes en la piscicultura continental, siendo el Orden Saprolegniales los más comunes que se asocian a patologías de peces dulce-acuícolas en general. En Perú no se ha determinado el género causante de micosis. A pesar que existen pruebas rápidas para su identificación, se presentan reacciones cruzadas. Por ello, el objetivo del presente estudio fue aislar e identificar *Saprolegnia* sp. en paiches criados de manera artesanal en Iquitos. Se tomó muestras de 30 paiches que presentaron características patológicas en piel como heridas con manchas algodonosas, aletas deshilachadas y branquias con zonas de aspecto arcilloso. Las muestras fueron sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa e incubadas a 28 °C por 15 días o hasta observar crecimiento. De un total de 30 muestras de paiches se logró aislar 13 colonias pertenecientes a *Saprolegnia* sp. De estas colonias, el 53,8% (7/13) se encontró afectando las aletas, 23,1% (3/13) las branquias y 23,1% (3/13) otras partes cutáneas del pez. El aislamiento e identificación de *Saprolegnia* en paiche, permite establecer un adecuado control y tratamiento sobre este patógeno y así un mejor desarrollo del pez.

Palabras Claves: *Saprolegnia* sp., *Arapaima gigas*, crianza artesanal, Iquitos, Perú

Summary

Isolation and morphological identification of *Saprolegnia* sp. in paiche (*Arapaima gigas*) growths in rural conditions in Iquitos, Perú.

Arapaima gigas or paiche is an Amazonian fish that is used in aquaculture due to its excellent flesh quality; however, there are several factors that can interfere with their normal growth and, as a result, cause infections or death. The most frequent fungal infection in continental fish farming is caused by Oomycetes, the most common being Order Saprolegnials, a disease associated with freshwater fish in general. The genus that causes mycoses has not been identified in Peru. Although there are rapid tests for identification, cross-reactions occur. The goal of this study was to isolate and identify *Saprolegnia* sp. from paiche (*Arapaima gigas*) grown under rural conditions in Iquitos. A total of 30 samples were collected from paiche with pathological characteristics in skin such as injury with cotton wool spots, frayed fins, and gills with clay-like areas. These samples were grown on Sabouraud Dextrose Agar medium and were incubated in 28 °C, until growth was apparent. As a result, 13 (43%) colonies belonging to *Saprolegnia* sp. were found, and their presence was confirmed by extra tests. In addition, it was observed that 53,8% (7/13) were found in fins, 23,1% (3/13) in gills, and 23,1% (3/13) in skin infections. The isolation and identification of *Saprolegnia* sp. in paiche will help to have more knowledge about fish farming in this area as well as to establish an adequate control and treatment of this pathogen to help improve production.

Key words: *Saprolegnia* sp., *Arapaima gigas*, rustic grow, Iquitos, Peru.

Introducción

Arapaima gigas o paiche, es una de las especies más representativas de la ictiofauna amazónica, es considerado uno de los mejores peces amazónicos debido a su gran tamaño, buena calidad de carne y carencia de huesos intermusculares (Alfaro y cols., 1999), además con respecto a su crianza presenta fácil adaptación al alimento artificial, rusticidad y tolerancia a bajos tenores de oxígeno disuelto (Alcántara y cols., 2002), sin embargo existen diversos factores que pueden influir en su normal desarrollo y conllevar a infecciones mortales, repercutiendo económicamente en el productor (Elespuru y cols., 2007). Se han reportado enfermedades por diversos agentes como: *Trichodinas*, *Ichthyophthirius*, *Microsporidia*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, bacterias y hongos principalmente (Alcántara y cols., 2002).

Las infecciones micóticas son producidas principalmente por Oomicetos, los cuales se encuentran en ambientes dulceacuícolas. Los Oomicetos son patógenos oportunistas, ya que se multiplican en peces que están estresados, presentan lesiones o que tienen alguna infección bacteriana; sin embargo, se han reportado casos en los cuales actúan como agentes primarios de infecciones (Pickering y Willoughby, 1982) y en ovas (Walser y Phelps, 1993). Dentro del grupo de los Oomicetos se han reconocido varios órdenes, siendo los más importantes los Saprolegniales. En este grupo se han reportado ocho géneros en ambientes naturales y artificiales (infecciones inducidas) de los cuales solo *Saprolegnia*, *Achyla* y *Aphanomyces* son importantes en la acuicultura (Bruno y Wood, 1999). Se ha reconocido a *Saprolegnia parasitica* como la especie que con mayor frecuencia se presenta en peces, pero también se han reportado otras especies como *Saprolegnia ferax* y *Saprolegnia diclina*, las cuales se presentan ocasionalmente causando infecciones en peces dulceacuícolas (Smith y cols., 1985; Hatai y Hoshiai, 1992; Bruno y Wood, 1999).

La saprolegniasis es descrita como una micosis superficial que se localiza principalmente en branquias y piel, particularmente alrededor de la cabeza, aleta caudal y anal (Neish y Hughes, 1980; Willoughby, 1989; Noga, 1993). Los brotes de saprolegniasis en cultivo de peces generalmente se limitan a casos crónicos, con pérdidas fijas; sin embargo, la mortalidad en ovas puede aumentar rápidamente, causando pérdidas significativas. En México, el problema originado por saprolegniales en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) representa un 8% de la mortalidad en organismos reproductores; sin embargo se desconoce el porcentaje de mortandad en alevines y juveniles (Vega-Ramírez y cols., 2006). En Chile, la mortalidad de ovas de trucha arcoíris fluctuó entre un 15 y un 25% debido a "saprolegniasis" (Vivar, 1997). Otro estudio realizado en la X Región de los Lagos (Chile), muestra a *S. parasitica* como el principal agente de micosis en salmónidos (Zaror y cols., 2004). Los datos recopilados en Perú sobre el impacto de las micosis en la acuicultura son escasos; los pocos datos encontrados indican que se han reportado "hongos" en paiche a consecuencia de infestaciones bacterianas y por protozoarios, pero no se ha determinado específicamente cual es el agente patógeno causante (Alcántara y cols., 2002).

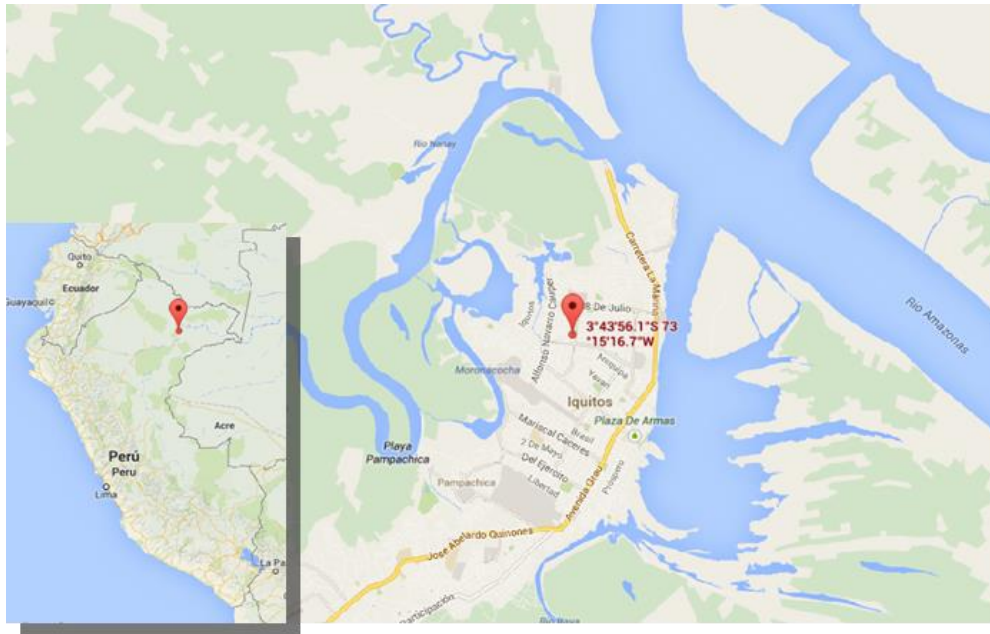
Por ello, el objetivo del presente estudio fue aislar e identificar morfológicamente *Saprolegnia* sp. en paiche (*Arapaima gigas*) mayores a un año proveniente de criaderos artesanales en Iquitos, Perú. Los resultados incluyen la identificación de la especie, la descripción de las características macroscópicas así como medición de las hifas.

Materiales y métodos

Lugar de muestreo

El estudio se llevó a cabo en dos criaderos artesanales (fundos) de la localidad de Iquitos - Perú, el primero, ubicado a la altura del km 34 ($3^{\circ}43'56.1''S$ $73^{\circ}15'16.6''O$) y el segundo a la altura del km 44,2 ($3^{\circ}43'56.1''S$ $73^{\circ}15'16.7''O$), ambos ubicados en la carretera Iquitos – Nauta (Figura 1).

Figura 1. Ubicación de los criaderos artesanales de la localidad de Iquitos-Perú evaluadas en la búsqueda de *Saprolegnia* sp. en paiches



Colecta de muestras y criterios de inclusión

Se muestreó 30 paiches mayores a un año, con un peso promedio de 7 kg y con una longitud promedio de 97 cm, que presentaron características patológicas como: heridas con manchas algodonosas en piel, aletas deshilachadas y branquias con zonas de aspecto arcilloso. Los peces fueron capturados mediante métodos artesanales de pesca directa utilizando una red. Se examinó la superficie corporal, branquias y aletas; se tuvo en cuenta los especímenes con lesiones externas. Para la toma de muestra, se limpió alrededor de la lesión con alcohol y algodón y con la ayuda de bisturí e hisopo estéril se tomó la muestra, realizando un raspado de la zona corporal afectada. En los peces con aletas deshilachadas, se cortó una parte de la zona afectada.

Cultivo en el laboratorio

Todas las muestras fueron sembradas en condiciones asépticas en Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) con adición de Penicilina G (60000 UI), incubadas a 28°C por 15 días con observaciones diarias o hasta obtener colonias. Los cultivos se realizaron inicialmente en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP) Iquitos – Perú, complementándose la incubación en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima – Perú.

Identificación morfológica de las colonias

Al observarse crecimiento, se realizó el examen macroscópico para cada colonia, tomando en cuenta: tamaño, forma, color en la superficie y en el reverso del cultivo, así como coloración, textura, superficie y consistencia. Para la identificación preliminar de las colonias se aplicó la tinción con azul de lactofenol, con especial énfasis en las colonias blancas, algodonosas, vellosas lanosas, ligeramente elevadas y suaves.

Identificación confirmativa de *Saprolegnia*.

Se tuvo en cuenta las siguientes etapas confirmativas.

1. Observación en fresco

Fragmentos de la colonia conteniendo además un trozo del medio de cultivo se depositó sobre un portaobjetos estéril en el cual previamente se colocó gotas de azul de lactofenol. Se disgregó cuidadosamente, quitando el excedente del colorante con ayuda de un papel filtro. Se cubrió con otro portaobjeto presionando suavemente para dispersar la muestra, luego se procedió a observar las estructuras miceliales y de reproducción al microscopio con aumentos de 100 y 400 veces.

2. Preparación con cinta adhesiva transparente

Cinta adhesiva de 3 a 4 cm se colocó sobre la superficie de la colonia haciendo ligera presión para obtener una cantidad considerable de micelio por adherencia, luego se pegó sobre una lámina portaobjetos en la cual previamente se había colocado una gota pequeña de azul de lactofenol, se cubrió con una laminilla y se observó las estructuras miceliales al microscopio con un aumento de 400 veces según lo descrito por Koneman y cols., 2008.

3. Microcultivo o cultivo en lámina (Método de Riddel).

Colonias puras de aislados fueron transferidas a bloques de Agar Papa Dextrosa (APD) y Agar Harina de Maíz (AHM) preparadas sobre un portaobjeto previamente esterilizado y colocado dentro de una placa de Petri debidamente acondicionada. Los cultivos fueron cubiertos con una laminilla cubreobjetos y fueron incubados a 28°C hasta por 5 días. Se examinó este montaje retirando cuidadosamente el cubreobjeto y observando al microscopio a 400 aumentos con previa adición de Azul de Lactofenol.

4. Desarrollo de la fase sexual de *Saprolegnia* sp.

Colonias presuntivas de *Saprolegnia* se sembraron en AHM, paralelamente se colocó dos semillas de melón (*Cucumis melo*) estériles y equidistantes entre sí. Los cultivos se incubaron a 25, 26 y 28°C hasta por 2 semanas con observaciones diarias. Al observarse colonizada la semilla se separó y con ayuda de una pinza estéril se pasó a una placa petri con 20 ml agua destilada estéril con pH 6,5, para observar la fase sexual, incubándose una semilla a 28°C y la otra a 4°C (Vega-Ramírez y cols., 2013). La muestra se observó cada cinco días, extrayendo un fragmento de la colonia, colocando sobre un portaobjeto con adición de Azul de Lactofenol en condiciones de esterilidad y luego observando al microscopio a 400 de aumento. Este proceso se realizó con la finalidad de observar las estructuras sexuales del Oomiceto *Saprolegnia*.

Resultados

De los 30 paiches analizados, 5 fueron provenientes del segundo fondo y 25 del primero. De las muestras del primer fondo solo se logró aislar 3 cepas de *Saprolegnia* sp., en cambio del segundo fondo se logró aislar hasta 10 colonias pertenecientes a este Oomiceto. En total fueron confirmadas 13 cepas pertenecientes al género *Saprolegnia*. De estas muestras positivas, el 53,8% fueron provenientes de las aletas, 23,1% de las branquias y 23,1% de otras heridas corporales.

Las características macroscópicas de las colonias de *Saprolegnia* fueron compatibles con lo descrito por otros autores, presentando coloración blanquecina tanto en la superficie como en el reverso, textura algodonosa-lanosa, superficie elevada y de consistencia muy tenue y suave. Se pudo observar macroscópicamente mucho mejor en AHM y APD las colonias blancas con apariencia algodonosa, además en estos medios produjeron abundante micelio y un mejor desarrollo de las colonias a diferencia de aquellas que fueron sembradas en ASD.

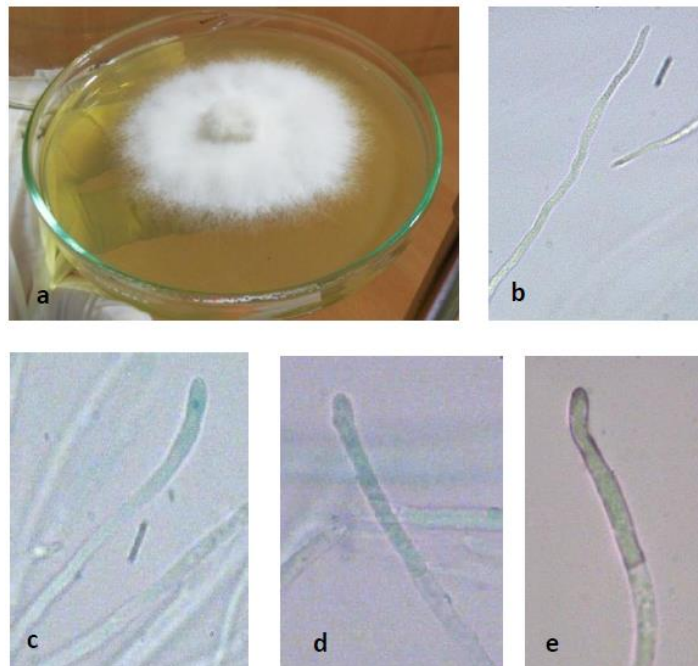
Las observaciones microscópicas de las muestras en fresco permitieron diferenciar las hifas cenocíticas, hialinas, con o sin zoosporangios, sospechando de esta manera de *Saprolegnia* desde un principio. Las características morfológicas que se observaron en la preparación directa de los mismos, con microscopio de campo claro, se muestran en la Figura 2. En la técnica de preparación en fresco, la observación de hifas cenocíticas fue dificultosa, sin embargo se pudo observar que algunas hifas presentaban ramificaciones.

Figura 2. Características macroscópicas y microscópicas de *Saprolegnia* sp. en AHM

a: Colonia blanquecina tanto en la superficie como en el reverso, textura algodonosa-lanosa, superficie elevada y consistencia suave.

b y c: Zoosporangio joven alargado, en proceso de maduración, con la zona apical tornándose oscuro.

d y e: Hifa madura con el septo transversal bien definido que permite independizarlo de la hifa que le dio origen.



Respecto a la técnica de preparación con cinta adhesiva transparente, presentó dificultades para observar la conformación de las hifas así como su distribución, ya

que estas son muy delicadas y al ejercer presión sobre la lámina portaobjetos rápidamente pierden su constitución y forma. No se logró tomar mediciones de sus estructuras de interés.

La técnica del microcultivo o cultivo en lámina (Método de Riddel), fue muy útil porque permitió observar fácilmente la distribución y características de las hifas, observándose así hifas hialinas cenocíticas en el primer día. Al segundo y tercer día se observaron los zoosporangios oscuros muy bien delimitados y entre tercer y cuarto día los zoosporangios maduros con un tabique conteniendo zoosporas.

No se logró desarrollar la fase sexual en los medios AHM, APD y ASD.

En el caso de semillas de melón para la determinación taxonómica de *Saprolegnia*, no se pudo observar la fase sexual. A pesar de ello, las muestras incubadas en 20 ml de agua destilada a 28°C y con un pH de 6,5, mostraron buen crecimiento, observando entre el tercer y cuarto día colonias densas, blanquecinas rodeando el borde de la semilla. Al realizar la tinción con azul de lactofenol, se pudo observar hifas cenocíticas algunas con zoosporangios, similar a los sembrados en AHM o APD.

En las placas con semillas de melón incubadas a 28°C, se observó un crecimiento mucho más rápido en relación a las placas incubadas a 4°C.

En cuanto a las características microscópicas de las colonias, se pudo observar entre el segundo y tercer día zoosporangios jóvenes alargados, entre el tercer y cuarto día se observó algunas en proceso de maduración, ya que en la zona apical se tornó de un color marrón oscuro; al cuarto día se logró observar algunas hifas maduras con el septo transversal bien definido que permite independizarlo de la hifa que le dio origen. De las características microscópicas al tercer día se observó, que el 38,46% (5) solo presentaron hifas hialinas cenocíticas el 23,08% (3) presentaba muy escasa cantidad de zoosporangios, el 23,08% (3) escasa cantidad de zoosporangios y el 15,38% (2) regular cantidad de zoosporangios (Tabla 1). Se tomó como referencia los parámetros por zona de muy escasa 0-1 zoosporangio, escasa 2-4 zoosporangios, regular 5-8 zoosporangios y abundante mayor a 8 zoosporangios (Zaror y cols., 2004). De esta manera se confirmó la identificación de *Saprolegnia* sp.

Tabla 1. Características microscópicas de zoosporangios de *Saprolegnia* sp. por zona

Característica	Nº de cepas con éstas características	Frecuencia (%)
Solo HHC	5	38,46
MECZ	3	23,08
ECZ	3	23,08
RCZ	2	15,38

HHC: Hifa Hialina Cenocítica, MEC: Muy Escasa Cantidad, EC: Escasa Cantidad, RC: Regular Cantidad, AC: Abundante Cantidad, Z: Zoosporangio.

Al medir los zoosporangios, se encontró que tenían una media aritmética de 229,9 µm de largo y 15,3 µm de ancho, siendo el largo y ancho máximo 392,2 y 20,5 µm respectivamente y el largo y ancho mínimo 111,1 y 6,8 µm respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Promedio del tamaño de las estructuras reproductivas (zoosporangios) de *Saprolegnia* sp. según zona de lesión

Zona de lesión	Código	Zoosporangios	
		Largo (µm)	Ancho (µm)
Aletas	4, 6, 7, 5, 8, 3, 9		
Branquias	3(b), 47, 23		
Otras lesiones	39, 41, 2		
Media aritmética		229,9	15,3
Rango		281,1	13,7
Desviación estándar		96,9	4,5

Discusión

Los hongos y Oomicetos cultivados a partir de muestras, son organismos comúnmente patógenos en ambientes dulceacuícolas siendo el Oomiceto *Saprolegnia* el agente infeccioso con mayor patogenicidad para los peces dulceacuícolas cultivados (Parra y cols., 2006). En un estudio realizado por Noguchi (1976) en Lima, se encontró *Saprolegnia* en estanques de crianza de carpas (*Cyprinus carpio*), lo cual demuestra la presencia de este género en ambientes dulceacuícolas; asimismo Alcántara y cols. (2002), mencionan que se presentan hongos en paiches a consecuencia de infestaciones bacterianas y por protozoarios pero no determinan específicamente cual es el agente patógeno causal. En el presente estudio se tomó muestras de 30 paiches de dos centros de crianza artesanal en Iquitos-Perú con el objetivo de determinar el agente causal en esta especie, encontrándose positivos a *Saprolegnia* sp. en ambos fondos estudiados. Este es el primer estudio en el cual se logra identificar a *Saprolegnia* sp. como agente causal de micosis en paiches (*Arapaima gigas*) criados de manera artesanal en Iquitos.

Nuestros resultados señalan la presencia de *Saprolegnia* sp., afectando las aletas (53,8%), branquias (23,1%) y otras lesiones (23,1%), lo cual es compatible con lo mencionado por Vega-Ramírez y cols. (2006), quien indica que las localizaciones más comunes de *Saprolegnia* son la piel y las branquias, sin embargo Kinkelin y cols. (1991) mencionan que las zonas frecuentemente afectadas por saprolegniasis es la cabeza y la región dorsal de salmónidos; aunque por otro lado Vega-Ramírez (1995) y Roberts (2001), señalan que en salmónidos es más común en las aletas natatorias, probablemente a consecuencia de frotamientos contra el fondo y las paredes de los estanques.

Roberts (1981), menciona que *Saprolegnia* es un patógeno oportunista y que la mayor parte de epizootias surgen cuando las temperaturas son menores a 10°C, sin embargo si existe algún traumatismo en el pez, este agente puede presentarse a cualquier temperatura. Asimismo, Zaror y cols. (2004), indican que la instalación y desarrollo de *Saprolegnia* puede estar condicionada por factores de estrés o por la existencia de heridas iniciales; esto es confirmado con el presente estudio, en el cual se logró aislar *Saprolegnia* sp. de heridas en diversas áreas de la cabeza, probablemente causado por una mala manipulación de los peces al momento de trasladarlos a otra laguna, por roces con la red al momento de la captura o por golpes entre ellos debido a la alta densidad de peces por estanque, siendo la densidad de siembra recomendada de un paiche adulto (40 a 60 kg)

por cada 100 a 300 m² (Alcántara *y cols.*, 2002). Pickering y Willoughby, (1982), corroboran lo antes mencionando, indicando que en los ejemplares adultos, la susceptibilidad a infecciones por *Saprolegnia* estaría dada por traumas mecánicos, a consecuencia de la gran densidad de peces, la cual genera pérdida de la integridad de la epidermis, lo que a su vez origina un daño en su primera barrera defensiva, el mucus, generando un gran riesgo para el pez.

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

En cuanto al crecimiento de las colonias en el medio AHM y APD se observó que hubo un crecimiento mucho más rápido en placas incubadas a 28°C que a 25-26°C; asimismo se observó crecimiento en semillas de melón incubadas tanto a 28°C como a 4°C. En relación a ello Hatai y Hoshiai (1992), quienes clasificaron a *Saprolegnia* basados en el crecimiento a temperaturas entre 3 y 33°C, mencionan que la tasa de crecimiento a 30°C puede ser usado para una rápida identificación de *Saprolegnia*, sin embargo Weena *y cols.* (2005), en un estudio realizado con cepas de *Saprolegnia* de peces de aguas frías de diferentes países, mencionan que se da un máximo crecimiento en placas incubadas a 25°C, además menciona que a una temperatura mayor a 30°C el crecimiento es mucho menor, con ello se demuestra que *Saprolegnia* puede crecer a temperaturas altas que no sobrepasen los 30°C y a temperaturas bajas de 4°C. Este crecimiento nos permite tener más certeza que se trata de *Saprolegnia* sp. ya que crece en temperaturas bajas y altas, como lo menciona Wood *y cols.* (1988), quienes indican que la morfología de la colonia y el crecimiento a una temperatura de 25°C podría ser útil para distinguir *S. diclina* de *S. parasítica* en salmónidos. No se encontró referencias respecto a la presencia de *Saprolegnia* y su relación con las temperaturas de crecimiento.

El uso de semillas de melón es una buena alternativa para el aislamiento de *Saprolegnia* ya que permite el crecimiento de colonias densas blanquecinas entre el tercer y cuarto día. Asimismo, al colorearlas permite observar las hifas cenocíticas algunas con zoosporangios con gran claridad como si hubieran sido sembrados en medios AHM o APD. Otra ventaja de su uso es que no hay mucha proliferación bacteriana a diferencia de lo realizado por Noguchi (1976), quien al usar semillas de maíz (*Zea mays*) para el aislamiento de *Saprolegnia*, obtuvo una alta proliferación bacteriana teniendo que descartarlas al tercer día de incubación. Asimismo en el uso de semillas de molle (*Schinus molle*) Noguchi (1976), obtuvo un crecimiento muy limitado (pocas hifas) y con alto desarrollo bacteriano, con el uso de semillas de cecropia (*Cecropia* sp.), obtuvo un crecimiento demasiado lento y escaso.

En el presente trabajo utilizando semillas de melón (*Cucumis melo*), no se obtuvo la fase sexual, probablemente porque se trata de *Saprolegnia parasítica*, ya que según Vega-Ramírez *y cols.* (2006), en un estudio usando semillas de melón lograron observar el desarrollo de la fase sexual de *S. australis*, *S. diclina*, *S. glomerata*, *S. terrestris*, *S. uliginosa* y *S. unispora*, menos de *Saprolegnia parasítica*. Es decir, el desarrollo de la fase sexual usando semillas de melón es útil para la identificación en todas las especies antes mencionadas, excepto si se trata de *Saprolegnia parasítica* (Vega-Ramírez-comunicación personal).

En el presente estudio, observando las características microscópicas de las colonias se notó que al tercer día de incubación (28°C) el 38,46 % (5) solo presentaron hifas hialinas

cenocíticas, el 23,08% (3) presentaba muy escasa cantidad de zoosporangios, el 23,08% (3) escasa cantidad de zoosporangios y el 15,38% (2) regular cantidad de zoosporangios, además se pudo observar zoosporangios jóvenes alargados, en proceso de maduración, con zona apical marrón oscura así como también hifas maduras con el septo transversal bien definido conteniendo en el interior pequeñas zoosporas. Todas estas características microscópicas son compatibles con *Saprolegnia* sp. como lo mencionan Noguchi (1976); Bruno y Wood (1999); Zaror y cols. (2004) y Vega-Ramírez y cols. (2006).

Las hifas presentaron un promedio de 229,9 µm de largo y 15,3 µm de ancho, lo cual es también mencionado por Kanouse (1932), quien afirma que en *Saprolegnia parasitica* los zoosporangios miden entre 180 a 350 µm de largo y 20 a 24 µm de ancho crecidas en *Cannabis sativa*, sin embargo señala que puede haber variaciones en el tamaño. Por otro lado Milanez y Beneke (1966), mencionan que para *Saprolegnia* los zoosporangios pueden medir entre 120 a 400 µm de largo y 20 a 38 µm de ancho, aproximándose a los resultados obtenidos en el presente estudio.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica - CONCYTEC – Perú, quien a través del Programa FINCYT brindó el apoyo financiero al Proyecto "Patógenos de etiología infecciosa en paiche" desarrollado el año 2010. Asimismo, agradecen a la Magíster en Ciencias María Teresa Vega Ramírez (UNAM) por sus valiosas sugerencias y apoyo durante el desarrollo del presente estudio.

Bibliografía

1. Alcántara F, Padilla P, Rebaza M, Tello S, Ismiño R, Rebaza C, y cols. Producción y manejo de alevinos de paiche. Iquitos: IIAP. Manual informativo. 100 p. 2002
2. Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. 1996. Introductory Mycology. 4th. Ed. New York: Jonh Willey & sons. 869 p.
3. Alfaro M, Bocanegra F, García M. 1999. Manual de piscicultura del Paiche (*Arapaima gigas Cuvier*). Caracas: Secretaría pro Tempore. Tratado de Cooperación Amazónica. 71 p.
4. Bruno DW, Stamps DJ. 1987. Saprolegniasis of Atlantic salmon, Salmon salar. J Fish Diseases 10: 513-517.
5. Bruno DW, Wood BP. 1999. *Saprolegnia* and the other Oomycetes. In: Woo PTK, Bruno DW, editors. Fish Diseases and Disorders 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. New York: CAB International. p 599-659.
6. De Kinkelin P, Michel CH, Guittino P. 1991. Tratado de las enfermedades de los peces. Zaragoza: Acribia S.A. 352 p.
7. Dick MW. 1973. Saprolegniales. In: The Fungi, an advanced treatise. A.S, editors: Academic Press. p 113-144.
8. Elespuru N, Sandoval M, Alcántara F. 2007. Datos preliminares de los efectos del medio ambiente en la expresión de genes asociados al estrés, producción y reproducción en paiches *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829), criado en cautiverio. Iquitos: IIAP -BIODAMAZ. Serie Artículo Científico. 12 p.

9. Guarro J, Gené J, Stchigel A. 1999. Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 454-500.
10. Hatai K, Hoshiai G. 1992. Saprolegniasis in cultured coho salmon. *J Fish Pathology* 27: 233-234.
11. Kanouse B. 1932. A physiological and morphological study of *Saprolegnia parasitica*. *Mycologia* 24: 431-452.
12. Koneman E, Winn W, Allen A, Janda W, Procop G, Wood G, y cols. 2008. *Diagnostico Microbiológico: Texto y atlas en color*. 6ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1475 p.
13. Meyer FP. 1991. Aquaculture disease and health management. *Anim. Sci* 69: 4201-4208.
14. Milanez A, Beneke ES. 1966. An unusual *Saprolegnia* from the Gull Lake área. *Sci Ltrs* 51: 175-182.
15. Neish G, Hughes G. 1980. *Diseases of Fishes Book 6. Fungal Diseases of Fishes*. New Jersey: T.W.F. Publications, Neptune. 159 p.
16. Noga E. 1993. Fungal and algal diseases of temperate freshwater and estuarine fishes. In Stoskopf M, editors. *Fish medicine*. London: W.B Saunders. p 278-283.
17. Noguchi J. 1976. Algunos hongos saprolegniaceos presentes en estanques de crianza de peces. Tesis de Biólogo. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. 37 p.
18. Parra R, García-Gil de Muñoz F, BorregovL, Lanz-Mendoza H, Del Rio I, Hernandez-Hernandez F. 2006. Detección de hongos y Oomicetos en cultivos de peces dulceacuícolas empleando el kit BIAADETECT, producto desarrollado a partir del homóptero *Dactylopius coccus*. *Rev. Ciencia y Tecnología*. 61-69.
19. Pickering AD, Willoughby LG. 1977. Epidermal lesions and fungal infection on the perch, *Perca fluviatilis*, in Windermere. *J Fish Biology* 11: 349-354.
20. Pickering AD, Willoughby LG. 1982. *Saprolegnia* infections of salmonid fish. In: 50th Annual Report, Institute of Freshwater Ecology, Windermere Laboratory. England. p 38-48.
21. Roberts R. 1981. *Patología de los peces*. Madrid: Mundi-Prensa. 366 p.
22. Roberts R. 2001. *Fish pathology*. 3rd ed. New York: W.B Saunders. 472 p.
23. Smith SN, Armstrong RA, Springate J, Barker G. 1985. Infection and colonization of Trout eggs by *Saprolegniaceae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 85: 719-723
24. Vega-Ramírez M. 1995. Respuesta de anticuerpos específicos contra *Saprolegnia* spp. En trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Tesis de Licenciatura. Iztacala: UNAM. 76 p.

25. Vega-Ramírez M, Moreno-Lafont M, García-Flores V, Cervantes-Olivares R, Damas- Aguilar J, López-Santiago R. 2006. Hongos acuáticos: Presencia del género *Saprolegnia* en México. En: Rocha-Gracia RC, Lozano-Zarain P, Martínez-Laguna Y, editores. Mecanismos de patogenicidad e interacción parasito hospedero II. 2ª ed. México: Publicación especial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. p 207-225.
26. Vega-Ramírez M, Moreno-Lafont M, Valenzuela R, Cervantes-Olivares R, Aller-Gancedo J, Fregeneda-Grandes J, y cols. New records of Saprolegniaceae isolated from rainbow trout, from their eggs, and water in a fish farm from the State of México. *Rev Mex Biodivers*. 2013; 84: 637-649.
27. Vivar VM. 1997. Saprolegniosis en Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) en la piscicultura de Río Blanco (V Región-Chile). *Bol Micológico* 12: 1-12.
28. Walser A, Phelps P. 1993. The use of formalin and iodine to control *Saprolegnia* infections on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, eggs. *Journal of Applied Aquaculture* 3: 269–278.
29. Weena K, Panarat P, Jirasak T, Kishio H. 2005. Influence of pH, temperature and sodium chloride concentration on growth rate of *Saprolegnia* sp. *J Sci Res Chula Univ* 30: 123-129.
30. Willoughby L. 1989. Continued defence of salmoid fish against *Saprolegnia* fungus, after its establishment. *Fish Diseases* 12: 63-67.
31. Wood SE, Willoughby LG, Beakes GW. 1988. Experimental studies on uptake and interaction of spores of the *Saprolegnia diclina-parasítica* complex with external mucus of brown trout, *Salmo trutta* L. *Trans Br Mycol Soc* 90: 63-73.
32. Wood SE, Willoughby LG. 1986. Ecological observation on the fungal colonization of fish by Saprolegniaceae in Windermere. *J Applied Ecology* 23: 737-749.
33. Zaror L, Collado L, Bohle H, Landskron E, Montaña J, Avendaño F. 2004. *Saprolegnia parasítica* en salmones y truchas del sur de Chile. *J Rev med vet* 36: 71-78.