



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**INFORME FINAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE BIÓLOGO**

**Identificación de cepas bacterianas en agua y ovas de trucha arco iris
(*Oncorhynchus mykiss*) del Centro Acuícola El Zarco, Estado de México.**

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Eduardo Méndez Tomás

Matrícula: 2143061985

ASESORES

**M. en C. Araceli Cortés García (30287)
Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola**

**M. en C. Mariela González Rentería (2163805465)
Doctorado en CBS de la UAM-X**

Ciudad de México

Febrero, 2020

Contenido

1. Introducción.....	3
2. Antecedentes	4
3. Marco teórico.....	7
3.1. Importancia de la truticultura	7
3.2. Enfermedades	8
3.2.1. Enfermedades bacterianas en truchas	8
3.3. Tratamientos para el control de patógenos en acuicultura y alternativas.....	10
4. Objetivos	10
5. Metodología.....	11
5.1. Área de estudio	11
5.2. Muestreo	11
5.3. Cultivo microbiológico	12
5.3.1. Tinción, observación al microscopio y caracterización	12
5.4. Identificación bioquímica de aislados bacterianos	12
5.5. Antibiogramas	12
6. Resultados	13
7. Discusión.....	15
8. Conclusiones.....	17
9. Referencias	¡Error! Marcador no definido.

1. Introducción

La acuicultura, es el sector productor de alimentos con el mayor crecimiento a nivel mundial, constituye el 50% del alimento acuático en el mundo y se percibe como la actividad con el mayor potencial. Su éxito y crecimiento acelerado se debe a la percepción generada por sectores públicos y privados como fuente favorable y aprovechable para el desarrollo económico de los países (García *et al.*, 2013). La FAO reconoce ampliamente el papel esencial de la pesca y la acuicultura para la seguridad alimentaria y la nutrición en el contexto del cambio climático, especialmente en el mundo en desarrollo (FAO, 2018).

En México, la acuicultura y pesca son parte esencial del quehacer económico y social del país (García-Mondragón *et al.*, 2013). Ésta contribuye de manera significativa a la producción de alimentos de origen animal para consumo humano y dentro de éstos, la familia de los salmónidos forma uno de los grupos que colabora de manera efectiva a dicha demanda (García-Macías *et al.*, 2004). El cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) es un ejemplo del crecimiento y desarrollo de la acuicultura en México (García-Mondragón *et al.*, 2013). En 2008, el total de toneladas producidas fue de 6,878 y para 2017 fue de 14,197, con lo cual la tasa media de crecimiento anual de producción en los últimos 10 años es de 8.39%, posicionándose el Estado de México como principal productor, seguido del Estado de Puebla, Tamaulipas, Veracruz y Michoacán (CONAPESCA, 2017).

El cultivo de trucha arco iris (*O. mykiss*) en México comenzó a finales del siglo XIX con el fin de repoblar cuerpos de agua nacionales, iniciando con la introducción de ejemplares de trucha en Chimela Lerma, Estado de México. En 1937 se formalizó la cría de *O. mykiss* en cautiverio con la creación de un centro piscícola en Salazar, Estado de México, que en 1943 se convirtió en el Centro Acuícola El Zarco, el cual facilitó la dispersión del cultivo de trucha en muchos cuerpos de agua del país (Vazquez, 2014).

Por otro lado, como en todos los sistemas de producción acuícola, los peces son susceptibles a enfermedades que suponen una considerable limitación de la producción, desarrollo y expansión (Ruiz *et al.*, 2002). En los cultivos de peces se tiene incidencia de enfermedades provocada por la interacción de agentes patógenos con factores estresantes (FAO, 2011). Muchas de estas reacciones son aparentes y van desde pérdida de apetito hasta una mayor sensibilidad a las enfermedades, principalmente aquellas de tipo infeccioso (Monteros, 1988).

En este sentido, se han identificado numerosos estresores que afectan a los peces. Estos incluyen los cambios físicos extremos del ambiente, interacción animal, interferencia humana y aguas contaminadas (Barandica, 2010). Los peces en cautiverio están sujetos a largos periodos de estrés debido al manejo, cambios en el agua y hacinamiento (Auró de Ocampo y Ocampo, 1999). El estrés es inevitable en los sistemas de cultivo, principalmente el crónico o subletal, que no producen mortalidades masivas, pero compromete diversas

funciones fisiológicas del huésped, entre ellas la vulnerabilidad a las enfermedades, lo que conduce al brote de éstas, siempre que el patógeno esté presente (Prieto, 2004).

Para el tratamiento de las enfermedades de tipo infeccioso se emplean químicos farmacéuticos y antibióticos. Los antibióticos pueden definirse como agentes quimioterapéuticos que anulan o restringen el crecimiento de microorganismos. Han sido utilizados de manera extensa y efectiva para el tratamiento de animales enfermos y sus beneficios también son reconocidos en la agricultura, acuicultura, apicultura y como promotores de crecimiento en ganadería (Gothwal y Shashidhar, 2015; Varela y Alfaro, 2018).

Debido al uso excesivo de productos farmacéuticos, la contaminación del ambiente es un problema de salud pública. Entre las principales consecuencias del uso y abuso de los antibióticos, se encuentran el desarrollo y difusión de la resistencia que se han convertido en un problema mundial (Smaldone *et al.*, 2014). Los antibióticos pueden ser absorbidos por vegetales, cultivos, plantas acuáticas y animales (Gothwal y Shashidhar, 2015). La mayoría de los fármacos tienen la capacidad de fijarse a determinados tejidos en los que alcanzan concentraciones altas que en el resto del organismo, como sucede con la acumulación de los fármacos liposolubles en la grasa, las tetraciclinas en el hueso o la griseofulvina en la piel (Armijo, 2014), lo que ha permitido la restricción del uso de antibióticos en acuicultura. Como respuesta a la problemática y con el fin de reducir el uso de antibióticos, se ha incursionado en diferentes alternativas terapéuticas, entre ellas el uso de sustancias naturales, tales como extractos vegetales con propiedades antibacteriales, más económicos, seguros y biodegradables (Varela y Alfaro, 2018).

Por lo anterior, el objetivo de la investigación para el servicio social fue identificar bacterias en muestras de agua y ovas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y probar la eficiencia antimicrobiana de extractos naturales sobre cepas patógenas de interés halladas en el centro de cultivo.

2. Antecedentes

Llerena (2012) argumenta que las enfermedades de la trucha son ocasionadas principalmente por contagios directos o indirectos, frecuentemente ocasionadas por microorganismos como bacterias, virus, protozoarios, hongos y parásitos. Dentro de las enfermedades comunes en truchas están: necrosis pancreática, necrosis infecciosa hematopoyética y septicemia hemorrágica, furunculosis, enfermedad entérica de la boca roja, ictioftiriasis, costiasis, chilodoneliasis, argulosis, entre otras.

Fuentes y Pérez (1998) realizaron un muestreo en una granja piscícola dedicada a la explotación de trucha arco iris (*O. mykiss*), ubicada en el Estado de México, en el cual hubo un brote de septicemia hemorrágica provocada por el agente etiológico *Aeromonas hydrophila*. La septicemia hemorrágica, se caracteriza por ulceración dérmica y necrosis en los órganos mayores. Los animales estudiados presentaban oscurecimiento de la piel,

exoftalmia unilateral y el patrón de comportamiento alterado, la morbilidad fue de 80% y la mortalidad del 51.2%.

Por otra parte, Constantino *et al.* (1997) realizaron un estudio donde encontraron un brote de infección por *A. hydrophila* acompañada de una infestación masiva por *Ichthyophthirius multifiliis* en trucha arco iris (*O. mykiss*) y tilapia (*O. aureus*) en una granja de acopio del estado de Morelos, México. En el estudio, concluyeron la relevancia de la interacción de los patógenos, así como la posible inconveniencia del mantenimiento estrecho de diferentes especies sin las medidas adecuadas de manejo.

La mayoría de los cambios que la civilización humana induce o provoca de modo directo sobre los ecosistemas acuáticos han ocurrido en la escala de apenas décadas, siglos o milenios. A partir del siglo XX el desarrollo tecnológico agropecuario e industrial, el formidable incremento de tamaño de los asentamientos humanos, la enorme cuantía en los desechos que estos generan y el desdén y abuso con el que se han utilizado arroyos, ríos, cenotes, lagos y estuarios como fuentes de agua, proveedores de agua o como simples drenajes, han causado daños severos en plazos de apenas decenios o años (INESEMARNAT, 2007).

El aumento descontrolado de la actividad humana se ha convertido en el principal factor de cambio en los ecosistemas, ocasionando problemas ambientales sin precedentes en el planeta. Factores como el crecimiento en la población humana, el aumento en la actividad económica, el consumo de bienes y servicios per cápita, así como la necesidad de nueva infraestructura para el desarrollo humano han sido catalizadores directos para la degradación de las áreas naturales (CONABIO, 2009).

El agua, además de ser un recurso imprescindible para la supervivencia del ser humano y el desarrollo de todas las formas de vida, es ampliamente utilizada en las actividades diarias (Gutierrez *et al.*, 2014). La calidad del agua incluye todos los variables físicos, químicos y biológicos que influyen en la producción de peces y otros organismos acuáticos y el objetivo mantener las condiciones adecuadas del medio (Meyer, 2004). Por otro lado, los tensores antrópicos definen variaciones drásticas en las condiciones fisicoquímicas y biológicas dentro de los cuerpos hídricos (Custodio y Pantoja, 2012).

Los cuerpos de agua naturales siempre han sido utilizados como una vía para llevar las excretas humanas. Además de la contaminación, que reduce la calidad del agua para la biodiversidad de los ecosistemas acuáticos, la extracción para uso humano ocurre la mayor parte de las veces a tasas por encima de la recarga natural, lo que reduce la superficie y el volumen del cuerpo de agua (Challenger *et al.*, 2009).

Un aspecto relevante para el cultivo de truchas es el agua, pues es el medio donde los peces se desarrollarán, así que conocer y mantener la temperatura, oxígeno, turbidez, pH y amonio es de suma importancia para el éxito de producción (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008). En relación con la calidad, es importante tener disponible una fuente de agua limpia, libre de contaminación y con poco sedimento. La temperatura del agua es importante porque regula el crecimiento de los peces, ya que estos no tienen capacidad propia para regular su temperatura corporal. Otro parámetro que es afectado por la

temperatura es el oxígeno disuelto en el agua, pues a temperaturas altas, el oxígeno disuelto es menor que a temperaturas bajas (FAO, 2014).

Salgado *et al.* (2010) evaluaron la frecuencia de aislamientos bacterianos en la trucha arco iris de cultivo (*O. mykiss*) de México. Se incluyeron en el estudio 65 fincas distribuidas en siete estados de México. En total, se recuperaron 371 aislados bacterianos de peces muestreados. Identificaron aislados de los géneros *Aeromonas*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas* y *Yersinia*. *Aeromonas* fue el género de bacterias más frecuentemente aislado. Los resultados mostraron presencia de bacterias que son patógenos potenciales tanto de la trucha arco iris como de los humanos.

El efecto terapéutico y profiláctico de por lo menos 40 productos vegetales en especies acuáticas, tanto de consumo como de ornato, está aprobado y validado con los estudios experimentales hechos por investigadores en varios países y existen aproximadamente otros 30 cuyo potencial terapéutico para la acuicultura está en vías de prueba. La mayor parte de las plantas son comunes a los países tropicales y subtropicales y actualmente ya existen marcas registradas que están comercializando productos para el control de enfermedades infecciosas o invasivas en peces y camarones, tanto en Japón como en México (Prieto *et al.*, 2005).

Smaldone *et al.* (2014) evaluaron la presencia de residuos y resistencia antimicrobiana en especies de bacterias aisladas de diferentes peces y productos pesqueros de agua de mar capturados en el medio silvestre. Detectaron tres sustancias antibióticas (oxitetraciclina, sulfametoxazol y trimetoprima) en *Octopus vulgaris*, *Sepia officinalis* y *Thais hemematoso*. Todas las cepas de *Vibrio* aisladas de peces fueron resistentes a vancomicina y penicilina. En *Vibrio anginolyticus* aislado de *Octopus vulgaris* se observó resistencia contra nueve antibióticos.

Por otra parte, en un artículo realizado por Citarasu (2010) afirma que los productos biológicos a base de hierbas son una alternativa en las actividades de acuicultura ya que tienen como características aumentar la capacidad de crecimiento y mejorar el sistema inmunológico, actúan como estimuladores del apetito, aumentan el consumo, inducen la maduración, tienen capacidad antimicrobiana y también características antiestrés que serán de gran utilidad en el cultivo de camarones y otros peces de aleta sin ningún problema ambiental o peligroso.

(Bulfon, Volpatti y Galeotti, 2014) examinaron quince extractos etanólicos comerciales de plantas medicinales *in vitro* para determinar su actividad antibacteriana frente a *Listonella anguillarum* (serotipos O1 y O2), *Yersinia ruckeri*, *Photobacterium damsela* sub. *Piscicida* y *Lactococcus garvieae*. El potencial antimicrobiano se evaluó mediante el ensayo de difusión de disco, luego se estableció la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) mediante el método de microdilución en caldo. Se detectaron diferencias significativas en el potencial antimicrobiano de los extractos de plantas, según la fuente herbal y la cepa bacteriana.

(Abutbul *et al.*, 2004) utilizaron *Rosmarinus officinalis* como tratamiento contra *Streptococcus iniae* en *Oreochromis* sp. Se utilizaron dieciséis fracciones del extracto de *R. officinalis* por varios solventes y se probaron *in vitro* frente a *S. iniae* mediante un ensayo de difusión de disco. Todos los extractos fueron efectivos para inhibir el crecimiento bacteriano. También se encontró que *R. officinalis* tiene un efecto bacteriostático en un ensayo de dilución en caldo, ya que el crecimiento bacteriano inhibido se recuperó después de 48 h.

La acuicultura es una de las actividades que ha tenido un auge en los últimos años, debido a que la crianza de peces ha ayudado a diversas culturas a mitigar la pobreza, la falta de empleos y la desnutrición. Sin embargo, la crianza de animales en cautiverio no es sencilla, se deben de afrontar riesgos y problemas relacionados con esta actividad. Uno de estos problemas es la calidad del agua debido a que la mayoría de los peces de crianza necesitan condiciones específicas para llevar a cabo sus funciones metabólicas con normalidad. Otro problema al que se enfrentan los productores son las enfermedades, ya que los peces en cautiverio suelen ser más propensos a ellas cuando están en cautiverio debido al estrés que representa la manipulación, los espacios reducidos, la calidad del agua o la competencia. Las enfermedades en peces pueden ser propiciadas por diversos tipos de organismos ya sea virus, hongos, parásitos o bacterias. Para reducir el impacto de las enfermedades se recurre a la terapia utilizando medicamentos, siendo los antibióticos los más utilizados en las últimas décadas. No obstante, el uso desmedido e indiscriminado de antibióticos ha llegado a ser un problema aún mayor, pues se ha demostrado que varios microorganismos generan resistencia a estos, siendo cada vez más necesario incrementar las dosis o recurrir a nuevos medicamentos que ponen en riesgo al ecosistema. Esto nos da hincapié de la problemática actual relacionada con el uso indiscriminado de antibióticos como parte del tratamiento de enfermedades y el interés de proponer alternativas que ayuden a disminuir estos riesgos. El uso de extractos naturales ha demostrado ser una alternativa para el tratamiento de enfermedades relacionadas a infecciones de microorganismos, sin embargo, los estudios en ova de trucha arco iris (*O. mykiss*) son limitados. El presente estudio tuvo como objetivo central dar a conocer las bacterias presentes en el agua y ovas de *O. mykiss* y evaluar la capacidad antimicrobiana de extractos de *Allium sativum* sobre las cepas.

3. Marco teórico

3.1. Importancia de la truticultura

La acuicultura es una actividad que en los últimos años ha cobrado importancia. El cultivo de trucha arcoíris se ha venido desarrollando de manera importante desde la década de 1950 especialmente en Europa. La cría de truchas constituye un importante renglón de la actividad piscícola del país debido a que es una actividad considerada como rentable, sin embargo, ésta es afectada por diferentes enfermedades en los cultivos y en algunos casos por la falta de una buena calidad y volumen de agua. La actividad trutícola se realiza principalmente en zonas con climas de templado a frío y en sitios con altitud superior a los

1200 m sobre el nivel del mar (Rosado Puccini y Erazo Keller, 2010; Instituto Nacional de Pesca, 2018).

3.2. Enfermedades

Las enfermedades de los organismos acuáticos tienen diferentes orígenes, enfermedades de naturaleza infecciosa: son aquellas provocadas por patógenos, tales como virus, bacterias, hongos y parásitos (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008). Las enfermedades de las truchas son ocasionadas principalmente por contagios directos o indirectos. Están las provocadas por virus: septicemia hemorrágica viral, necrosis pancreática infecciosa o necrosis hematopoyética infecciosa; causadas por hongos: ictiofoniasis, saprolegniasis o branquiomycosis y enfermedades causadas por parásitos como: costiasis, trichodina, enfermedad del punto blanco, enfermedad del torneo, girodactilosis, entre otras (Ghezzi Solis *et al.*, 2014).

Mientras que las enfermedades de naturaleza no infecciosa son las causadas por las condiciones del ambiente, tales como: contaminación por plaguicidas, metales pesados, detergentes, entre otros, y las causadas por condiciones extremas del ambiente como: temperatura, oxígeno, pH, salinidad, dureza, niveles altos de compuestos tóxicos como amonio, dióxido de carbono, entre otros.

Enfermedades de naturaleza nutricional son causadas por desbalances en la composición de los alimentos (vitaminas, proteínas, entre otros) o por sustancias tóxicas presentes en el alimento tales como: aflatoxinas, venenos, plaguicidas, metales pesados, ingestión o exposición a los tóxicos, y enfermedades de naturaleza hereditaria: provocadas por un manejo genético inadecuado de los reproductores, así como por deficiencias en los procesos biotecnológicos (Jiménez, 2006).

Las enfermedades infecciosas y ambientales suelen originarse y ser un factor silencioso de perturbación y pérdidas en las granjas trutícolas y pueden llegar a ser un problema cuando no se da un buen manejo en el cultivo de la trucha (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008).

El pez enfermo puede reconocerse por su comportamiento y por las alteraciones morfológicas externas o internas como natación lenta, errática, con balanceo lateral del cuerpo y con ascenso a la superficie, nado independiente del movimiento de cardumen de peces sanos, el pez enfermo se frota contra el fondo y paredes del estanque, deja de comer, boquea en la superficie del estanque, muestra ojos salientes, hundidos y blancos y presenta alteraciones externas alrededor de la piel, branquias y aletas (Ghezzi Solis *et al.*, 2014).

3.2.1. Enfermedades bacterianas en truchas

Las enfermedades bacterianas son las que más mortalidades generan en los cultivos de peces y en la truticultura no es la excepción (Pridgeon y Klesius, 2012). Las bacterias son organismos microscópicos que atacan a los peces cuando estos se encuentran bajo condiciones de estrés y las enfermedades que producen generan importantes pérdidas

económicas en los sistemas productivos acuícolas (Mattiello, 2008). Las lesiones generalmente son provocadas por bacilos Gram negativos, Gram positivos o por ácido alcohol resistentes y éstas pueden ocurrir en órganos internos, músculos, piel, branquias o aletas (Jimenez, 1992).

Furunculosis: la bacteria causante de esta enfermedad es *Aeromonas salmonicida*, siendo el periodo de incubación para casos agudos de dos o cuatro días. La furunculosis se puede manifestar clínicamente en muchos grados. La forma aguda se parece bastante a la fibrosis, con pequeñas hemorragias en todas las vísceras. Las crónicas desarrollan los típicos forúnculos. Los peces enfermos presentan ampollas en su piel, aislamiento del grupo, pérdida de apetito, inflamación del intestino y pequeñas hemorragias en el hígado (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008; Ghezzi Solis *et al.*, 2014).

Enfermedad columnar: causada por *Flexibacter columnaris*, se han detectado cepas de alta y baja virulencia, la forma muy virulenta ataca el tejido branquial y la menos virulenta causa generalmente infecciones cutáneas. El primer signo de la enfermedad suele ser la aparición de placas en la zona de aleta dorsal, estas lesiones aumentan de tamaño exponiendo el tejido muscular. Son notables en las regiones de boca y cabeza, tornándose a amarillas y adquiriendo forma de cráter (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008).

Síndrome del alevín de la trucha-Enfermedad del agua fría de los salmónidos: Es causada por *Flavobacterium psychrophilum*. Los síntomas varían dependiendo el tamaño de los peces, en ocasiones cursa sin presentar síntomas. Externamente puede provocar graves lesiones en piel, aletas y branquias. Internamente puede provocar hipertrofia el bazo, anemia hepática y en algunos casos septicemias generalizadas (Arregui, 2013).

Enfermedad entérica de la boca roja (EBR): el agente causal de esta enfermedad es la bacteria *Yersinia ruckeri*, que se transmite de un pez a otro por contacto y a través del agua. Los peces afectados presentan oscurecimiento de la piel, letargo y dejan de comer, presentan exoftalmia, pequeñas hemorragias e inflamación en la boca, también suelen presentarse pequeñas hemorragias en el vientre y en la base de las aletas. En alevines puede provocar mortalidades sin síntomas (Hernandez y Aquino-Martínez, 2008).

Vibriosis: Es provocada por la bacteria *Vibrio angillarum*. Los brotes suelen ser agudos y generar grandes mortalidades si no se tratan a tiempo. Presentan síntomas como septicemia generalizada, con congestión y necrosis hepática y renal, peritonitis hemorrágica y exoftalmia (Arregui, 2013)

Lactococosis: causado por la bacteria *Lactococcus garvieae*. Afecta a los peces en todas las edades, pero sobre todo en ejemplares grandes. Causa síntomas como oscurecimiento de la piel, hemorragias en aletas, panoftalmitis, septicemia generalizada, encefalitis, pericarditis y hemorragias extensas en hígado (Arregui, 2013).

Enfermedad bacteriana del riñón (BKD): el patógeno causante de esta enfermedad es *Renibacterium salmoninarum*. Es una enfermedad crónica que genera mortalidad de los peces al final de su ciclo reproductivo. Los peces presentan exoftalmia, oscurecimiento y granulomas grises o blanquecinos en el tejido reticuloendotelial (Arregui, 2013).

3.3. Tratamientos para el control de patógenos en acuicultura y alternativas

La implementación de medidas sanitarias y profilácticas en acuicultura, especialmente en la piscicultura, tienen un papel en la prevención y control de las enfermedades, impidiendo que agentes patógenos ataquen ovas, larvas y peces sanos (Torres y Fajardo, 2011).

Hasta la década de los 90s, la situación de la acuicultura fue el uso generalizado de fármacos para la prevención y tratamiento de las patologías habituales en los centros de cultivo, sin un control riguroso y bajo la responsabilidad exclusiva de técnicos o de los veterinarios que trabajaban con los fabricantes de estos medicamentos (Martínez y Fontanillas, 2017).

La vacunación o la administración de sueros hiperinmunes se ha utilizado generalmente para prevenir las infecciones, pero en ocasiones es necesario actuar cuando los animales presentan la enfermedad y, o bien no existen vacunas, o estas no resultan eficaces una vez instaurada la enfermedad, por lo que, debe recurrirse al uso de fármacos antimicrobianos como tratamiento (Ruiz-Zarzuela *et al.*, 2002).

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar infecciones bacterianas, son de las herramientas más importantes que están disponibles para la medicina y la salud pública (OPS-OMS, 2015; OMS, 2018). El uso indiscriminado de antibióticos y agentes quimioterapéuticos sintéticos ha propiciado el desarrollo de patógenos resistentes y daños considerables al medio ambiente. Esta situación aunada a la necesidad creciente de métodos de control de enfermedades en la acuicultura han dirigido a productores e investigadores a buscar formas alternativas de terapia más rentables económicamente y compatibles ambientalmente (Prieto, 2002).

Una alternativa es el empleo de extractos naturales, los cuales se definen como preparados concentrados, de consistencia sólida, líquida o intermedia que se obtienen al evaporar parcial o totalmente los líquidos extractivos de origen vegetal (Carrión-Jara y García-Gómez, 2010). El conocimiento alcanzado ha permitido comenzar su utilización, la que se consolida progresivamente en la presente década (Prieto, 2002). El uso de plantas medicinales en animales acuáticos va en crecimiento y no son pocos países y especialistas que han incursionado en el tema. No obstante, no existe un programa coherente para la universalización y estandarización de esta forma de terapia, aspecto que debería ser concientizado por los investigadores y clínicos (Prieto *et al.*, 2005). Por lo que, es indispensable que para su aplicación una vez detectadas las bacterias con tendencia patógena más prevalentes en centros de producción, evaluar la capacidad de inhibición de las sustancias naturales que se quieren implementar para su control natural sin repercusiones al ambiente y efectos favorables en la salud de los organismos acuáticos.

4. Objetivos

Identificar bacterias en muestras de agua y ovas durante el desarrollo embrionario de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Evaluar la capacidad antimicrobiana de extractos naturales sobre cepas bacterianas patógenas identificadas en las muestras del centro acuícola.

5. Metodología

5.1. Área de estudio

El estudio se realizó con muestras de agua y ovas del área de incubación de ovas de trucha arco iris obtenidas del Centro Acuícola “El Zarco”, municipio de Ocoyoacac, Estado de México. Se ubica en las coordenadas geográficas 19°17'43.103” N y 99° 21' 14.181” O. Centro Nacional de Referencia, Cultivo y Producción de trucha arco iris.



Figura 1. Ubicación del sitio de muestreo, Centro Acuícola “El Zarco”. Fuente: (GoogleMaps, 2019).

5.2. Muestreo

Se recolectaron muestras de agua y ovas de trucha arco iris del Centro Acuícola “El Zarco”. Las muestras de agua se tomaron en frascos estériles de 500 mL, previamente etiquetados, siendo seis muestras de agua de diferentes áreas: Incubadora Entrada (Inc. Ent), Incubadora Salida (I. S.), Estanque de Adultos (Est. Ad.), Entrada de Adultos (Ent. A.), Estanque de Juveniles (Est. Juv.) y Alevines, los cuales fueron resguardados a temperatura de 4 °C hasta su análisis.

Las ovas fueron recolectadas de dos incubadoras: Incubadora A (Inc. A) e Incubadora B (Inc. B), puestas en Cajas Petri estériles y resguardadas para su posterior análisis en el Laboratorio de Genética, Reproducción y Sanidad Acuícola de la UAM-X.

5.3. Cultivo microbiológico

Se realizaron diluciones decimales para el aislamiento y conteo de UFC's. En cajas petri con medio TCBS (agar tiosulfato citrato bilis sacarosa) se agregaron 200 μ L de cada una de las diluciones y se extendieron en todo el medio con rastrillo de vidrio. El proceso se repitió con los medios BHI (Caldo Infusión Cerebro Corazón) y TSB. Las cajas se incubaron a 32 °C por 24 h. Posterior a la incubación se hizo una identificación morfológica para posteriormente realizar resiembras y purificaciones de bacterias.

5.3.1. Tinción, observación al microscopio y caracterización

Se realizó la tinción de Gram de acuerdo con López Jácome *et al.* (2013). Los frotis se examinaron bajo microscopia de campo claro. Se observaron varios campos hasta encontrar aquél donde las células estaban adecuadamente separadas, para permitir la visualización de la morfología, arreglo de las células, presencia de endosporas y la reacción de la tinción de Gram.

Se utilizó un microscopio marca Olympus®, con objetivo 40x se lograron identificar 4 morfologías diferentes de bacterias: Cocos Gram-, Cocos Gram+, Bacilos Gram- y Bacilos Gram+.

5.4. Identificación bioquímica de aislados bacterianos

Una vez que se aislaron y purificaron las cepas bacterianas, se realizó la identificación bacteriana mediante el uso de pruebas bioquímicas, galerías API 20E y 20NE de acuerdo con las instrucciones del proveedor.

Con hisopo estéril, se tomó muestra de la cepa pura y se disolvió en solución salina al 0.9% estéril, se homogeneizó y con una micropipeta se llenaron los pocillos de las pruebas API con la suspensión de bacterias. Se llenaron las cúpulas de los pocillos CIT, VP, GEL con la suspensión de bacterias. Las cúpulas de los pocillos ADH, LDC, ODC, URE, H₂S se cubrieron con parafina para obtener anaerobios. La tira se colocó en su propia cámara de incubación, en la que los alvéolos de la cámara estuvieron previamente cubiertos con agua para proporcionar una atmósfera húmeda durante la incubación. Se incubó a 34°C durante 24 h. Después de la incubación se anotaron los resultados. La lectura de los resultados de llevó a cabo por la comparación de los colores de cada pocillo con los de las tablas de lectura y anotando el resultado como positivo o negativo (Santos-Martín, 2016).

5.5. Antibiogramas

Los antibiogramas se hicieron mediante el método de Kirby Bauer (Determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos (antibiogramas) (Pedrique de Aulacio, 2002)

Se montaron tres antibiogramas diferentes, uno con extractos acuosos de ajo en 5 concentraciones diferentes, 1, 2.5, 5, 10 y 20 g en 250 mL cada uno. El segundo

antibiograma se montó utilizando extracto de ajo comercial marca “MIXIM®” a 4 diferentes concentraciones: al 100%, 70%, 50% y 25%. En el tercer antibiograma se utilizó un antibiótico comercial (Polimixin B, marca Fluka®) del cual se añadieron 10 µL en cada sensidisco de evaluación.

Para montar el experimento, se tomaron tres bacterias de interés (*Photobacterium damselae*, *Aeromonas* spp y *Brucella* spp). Se ajustaron las cargas bacterianas para obtener una carga de 1.5×10^7 UFC mL⁻¹. Posteriormente, se inocularon 200 µL de la bacteria, se le colocaron tres discos estériles procurando que los discos estuvieran espaciados entre ellos y la pared de la placa de aproximadamente 15 mm y se regaron 15 µL del extracto acuoso de ajo a cada disco a las concentraciones antes mencionadas. Esto se repitió con todas las muestras y todas las bacterias. Para el experimento del antibiótico, se agregaron 10 µL de Polimixin B a cada disco. Se hicieron lecturas de los halos de inhibición utilizando una regla milimetrada a las 24 y 48 h de montado el experimento.

6. Resultados

Se identificaron 16 especies bacterianas diferentes en las muestras de agua y ovas de trucha arco iris entre las cuales *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter bauamannii* fueron los que se identificaron en mayor parte de las muestras. Las muestras que presentaron mayor identificación de bacterias fueron estanque juveniles e incubadora entrada. Se encontró que estas bacterias son patógenas para el ser humano, pero solo algunas de ellas son de importancia para *Oncorhynchus mykiss*. Cabe mencionar que en las muestras que menos se encontraron bacterias fue en el agua de ovas (Tabla 1).

Tabla 1. Bacterias encontradas en agua y ovas de *Oncorhynchus mykiss*.

Número	Referencia	Medio	API	Código	Resultado	Tipo
1	Inc Ent	TSB	20E	204040	<i>Acinetobacter bauamannii/calcoaceticus</i>	Patógeno
2	Inc Ent	TSB	20E	2026123	Posibilidad de <i>Vibrio fluvialis/Erwinia spp</i>	Patógeno
3	Inc Ent	BHI	20E	3226173	Posibilidad de <i>Enterobacter cloacae</i>	Patógeno
4	Est Juv	TSB	20E	7027533	Posibilidad de <i>Vibrio fluvialis/Raoultella terrigena</i>	Patógeno
5	Est Juv	TSB	20E	7304773	<i>Serratia fonticola</i>	Patógeno
6	Est Juv	TSB	20E	7345773	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	Patógeno
7	Est Juv	BHI	20E	7107133	<i>Enterobacter cloacae</i>	Patógeno
8	Est Juv	BHI	20E	7107523	<i>Serratia liquefaciens</i>	Patógeno
9	Est Juv	BHI	20E	6313000	<i>Photobacterium damselae</i>	Patógeno
10	Est Juv	BHI	20E	7007523	<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1</i>	Patógeno
11	Est Juv	BHI	20E	3000	<i>Brucella spp/Bibersteinia trehalosi</i>	Patógeno
12	Est Ad	BHI	20E	205053	<i>Enterobacter amnigeus 1</i>	Patógeno

13	Est Ad	BHI	20E	205053	<i>Acinetobacter bauamannii/calcoaceticus</i>	Patógeno
14	Est Ad	BHI	20E	2004043	<i>Klebsiella pneumoniae spp ozaenae</i>	Patógeno
15	Alevines	BHI	20E	5043	<i>Acinetobacter bauamannii/calcoaceticus</i>	Patógeno
16	Alevines	BHI	20E	2227573	Posibilidad de <i>Erwinia spp</i>	Patógeno
17	Alevines	BHI	20E	2225573	<i>Enterobacter cloacae</i>	Patógeno
18	Alevines	TSB	20E	5327133	<i>Serratia liquefaciens/marcescens</i>	Patógeno
19	Alevines	BHI	20E	6041000	<i>Photobacterium damsela</i>	Patógeno
20	Inc B	TCBS	20E	3005163	<i>Enterobacter cloacae</i>	Patógeno
21	Inc B	TCBS	20E	3000000	<i>Pseudomonas luteola</i>	Patógeno

Como puede observarse en la tabla 2, el extracto de ajo acuoso en cualquiera de sus concentraciones no causó inhibición a las tres bacterias estudiadas.

Tabla 2. Inhibición bacterias patógenas de *Oncorhynchus mykiss* mediante extractos acuosos de ajo.

Especie	<i>Photobacterium damsela</i> <i>Aeromonas spp.</i> <i>Brucella spp.</i>					
	Lectura (mm)					
Concentración (g)	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I
2.5	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I
5	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I
10	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I
20	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I	N/I

NI: No inhibió

El extracto de ajo comercial presentó inhibición tanto en *Photobacterium damsela* como en *Aeromonas spp.* En ésta última la inhibición fue total cuando fue tratada con extracto de ajo en concentración pura. También se encontró que a las 48 h de montado el experimento el extracto de ajo comercial presentó inhibición en *Aeromonas spp.* en todas sus concentraciones a diferencia de *Brucella spp.* en el cual no hubo inhibición en ninguna de las concentraciones y en *Photobacterium damsela*, donde solo inhibió con el extracto puro y no en las diluciones (Tabla 3).

Tabla 3. Inhibición de bacterias patógenas de *Oncorhynchus mykiss* mediante extracto de ajo comercial

Especie	<i>Photobacterium damsela</i>		<i>Aeromonas spp.</i>		<i>Brucella spp.</i>	
	Lectura (mm)					
Concentración (%)	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
100	5	5	Inhibición total	Inhibición total	N/I	N/I
75	N/I	N/I	N/I	3	N/I	N/I
50	N/I	N/I	N/I	2	N/I	N/I
25	N/I	N/I	N/I	1	N/I	N/I

Utilizado un antibiótico comercial (Polimixin B) se pudo hallar que éste inhibe tanto a *Photobacterium damsela* como a *Brucella spp.* Se determinó que *Aeromonas spp* ya no es sensible a Polimixin B por la ausencia total de inhibición (Tabla 4).

Tabla 4. Inhibición de bacterias patógenas de *Onchorhynchus mykiss* mediante antibiótico comercial (Polimixin B).

Antibiótico	Especie					
	<i>Photobacterium damsela</i>		<i>Aeromonas spp.</i>		<i>Brucella spp.</i>	
	Lectura (mm)					
Polimixin B	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
	12 mm	13 mm	N/I	N/I	10 mm	14 mm

7. Discusión

La especie *Photobacterium damsela* se engloba dentro de la familia *Vibrionaceae* y está subdividida en 2 especies: *damsela* (PDD) y *piscicida* (PDP). Ambas bacterias están muy próximas genéticamente, pero al mismo tiempo tienen características diferentes. PDP es el agente causante de la fotobacteriosis en peces, mientras que PDD afecta a gran variedad de animales marinos e incluso es un patógeno oportunista para el ser humano (Lemos Ramos, 2018). En un estudio realizado por (Ramírez-Cando, Guerra-Guevara y Reinoso-Molina, 2017) determinaron que *P. damsela* es capaz de remover hasta 80 ppm de plomo y que pese a ser considerado patógeno en la acuicultura, no es un limitante para aplicarlo en sistemas cerrados o batch para la recuperación de aguas contaminadas con metales pesados.

El género *Aeromonas* incluye bacterias Gram negativas que se encuentran ampliamente distribuidas en ambientes acuáticos. Estos microorganismos afectan a una amplia variedad de animales, incluido el hombre (Zepeda-Velazquez, 2015). Esta bacteria se adquiere principalmente por el consumo de alimentos de origen acuático, como pescado, mariscos y agua de bebida (Suárez y Herrera, 2011). En un estudio realizado por (Suárez y Herrera.,2011), encontraron que las especies de pescado que presentaron mayor presencia de *Aeromonas* spp. fueron trucha y rampuche (100%), seguido por dorada (80%), bagre (73.33%), bocachico (60%), sierra (60%) y mojarra (50%).

El género *Brucella* está formado por bacterias parasitarias intracelulares facultativas, que producen el aborto epizoótico en muchas especies domésticas de animales y una enfermedad febril septicémica o infecciones focalizadas en el hombre (López-Merino, 2006). La brucelosis es considerada la enfermedad zoonótica más importante del orbe, con 500, 000 nuevos casos en humanos al año. En los últimos 25 años ha cambiado el conocimiento en su ecología, afectando también a diversos animales silvestres acuáticos; por ejemplo: *Oncorhynchus mykiss*, *Clarias gariepinus*, *Lithobates atesbeianus*, *Ochrobactrum anthorpi* (Cruz-Aviña, Castañeda-Roldán y Macek, 2015). En el caso de nuestro estudio, se tendría que ver si afecta directamente a *O. mykiss* o fue un hallazgo debido a la contaminación del agua.

En estudios realizados en diferentes laboratorios del mundo se ha visto que el ajo (*Allium sativum*) contiene compuestos como la alicina y la alistatina de comprobada acción antibacteriana y ejerce una acción inhibitoria sobre géneros bacterianos tan diversos como: *Aerobacter* sp., *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp., *Citrella* sp., *Citrobacter* sp., etc (Rojas Camacho y Villca Vega, 2011). En esta investigación podemos ver como el extracto de ajo inhibió el crecimiento de *Aeromonas* spp. y *Photobacterium damsela*, en cambio, en *Brucella* spp. no existió inhibición alguna.

Prieto *et al.* (2005) destacan que pruebas en donde se utilizó el extracto de ajo en concentración de 0.02-5.5 µg mL⁻¹ se inhibió el crecimiento de *Aeromonas hydrophila* y sirvió como bactericida a otros grupos de *Aeromonas* spp. (Franco, 2011). En nuestro caso, el extracto de ajo comercial puro tuvo un efecto bactericida total en *Aeromonas* spp. al inhibir por completo a la bacteria. Las concentraciones del extracto de ajo comercial también presentaron inhibición, pero en menor cantidad que el extracto sin dilución.

En 82 aislamientos de *Aeromonas* obtenidos en tilapia destinados para consumo humano en México, se observó resistencia a polimixin B del 86%. En nuestro caso, obtuvimos una resistencia a este antibiótico de un 100% para *Aeromonas* spp. La resistencia a los agentes antimicrobianos es una respuesta genético-evolutiva y está mediada por la presencia de genes, algunos de los cuales se en los plásmidos, integrones o en el genoma de la bacteria (Vega, 2014).

De acuerdo a un artículo publicado por De la Fuente-Salcido *et al.* (2015), durante milenios las plantas han sido una de las principales fuentes para la obtención de nuevas drogas y se ha comprobado que las infusiones herbales y los aceites esenciales ha contribuido enormemente a preservar la salud humana. Se requiere urgentemente implementar

estrategias de investigación y desarrollo para generar nuevos agentes antimicrobianos y estrategias efectivas para su aplicación.

Los resultados de diferentes estudios son difíciles de comparar, principalmente debido a los diferentes métodos de prueba, cepas bacterianas y fuentes de muestras microbianas utilizadas. Además, la composición de los extractos de plantas del suelo, la temperatura a la que ha sido cultivada, la variedad y el método de extracción (García-Márquez, 2018).

8. Conclusiones

Se identificaron diversas especies de bacterias, lo que nos indica un déficit en la calidad del agua, sin embargo, aquellas que se consideraron de importancia para *O. mykiss* fueron *Photobacterium damsela*, *Aeromonas* spp. y *Brucella* spp. *Aeromonas* spp. demostró ser resistente al antibiótico comercial, sin embargo, se demostró que el extracto de ajo (*A. sativum*) puede ser una buena alternativa para inhibir esta bacteria. *P. damsela* es sensible al antibiótico comercial, pero el ajo también demostró ser una buena alternativa para inhibir esta bacteria. *Brucella* spp. puede ser inhibida por el antibiótico comercial, pero es resistente frente al extracto de ajo, por lo que se deben buscar otras alternativas para tratar las enfermedades causadas por esta bacteria para así disminuir el uso de antibióticos.

9. Referencias

- Abutbul, S., Golan Goldhirs, A., Barazani, O., Zilberg, D. (2004) Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*, 238(1–4), pp. 97–105. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.05.016.
- Armijo, J. A. (2014) Absorción, distribución y eliminación de los fármacos. Disponible en: <http://www.pdcorynthia.sld.cu/Documentos/estudiantes/Absorci%F3n%20distribuci%F3n%20y%20eliminaci%F3n%20de%20los%20f%26%20E1%20r%20m%20a%20c%20o%20s%20.pdf> (Consultado: el 29 de enero de 2019).
- Arregui, M. L. (2013) El cultivo de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Madrid: DiScript Preimpresión, S. L. Disponible en: <http://www.fundacionoesa.es/publicaciones> (Consultado: el 14 de enero de 2020).
- Auró de Ocampo, A. y Ocampo Camberos, L. (1999) Diagnóstico del estrés en peces. *Veterinaria México*, 30(4), pp. 337–344. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/423/42330411.pdf> (Consultado: el 26 de enero de 2019).
- Barandica Cañon, L. (2010) Efectos de las dietas experimentales en la respuesta inmune de los peces. Disponible en: <https://www.peterlang.com/view/product/11959>.
- Bulfon, C., Volpatti, D. y Galeotti, M. (2014) In Vitro Antibacterial Activity of Plant Ethanollic Extracts against Fish Pathogens. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45(5), pp. 545–557. doi: 10.1111/jwas.12151.
- Carrión Jara, A. V. y García Gómez, C. R. (2010) Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Universidad de Cuenca.
- Challenger, Anthony; Dirzo, Rodolfo; Mendoza, Eduardo; López Acosta, Juan Carlos; Lira-Noriega, Andrés; Flores Martínez, Arturo; González Espinoza, Mario. (2009) Tendencias de cambio y estado de la biodiversidad, los ecosistemas y sus servicios. México.
- Citarasu, T. (2010) Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), pp. 403–414. doi: 10.1007/s10499-009-9253-7.
- CONABIO (2009) Capital Natural de México, vol. II : Estado de conservación y tendencias de cambio. México, D. F.
- CONAPESCA (2017) Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2017. Mazatlán.
- Constantino Casas, F., Armijo Ortiz, A., Osorio Sarabia; D. y Chavez Soriano, L. A. (1997) Infección por *Aeromonas hydrophila* e *Ichthyophthirius multifiliis* en trucha (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) y tilapia (*Oreochromis aureus*, L) de un centro de acopio de Morelos, México. Estudio patológico. *Vet. Mex.*, 28(1), pp. 59–62.
- Cruz-Aviña, R., Castañeda-Roldán, E. y Macek, M. (2015) *Brucella* spp. como contaminante potencial en el agua de azalapazos de Puebla, México. *Tendencias de Investigación en Limnología Tropical: Perspectivas Universitarias en Latinoamérica*, p. 480. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Javier_Alcozer/publication/289557163_Tendencias_de_Investigacion_en_Limnologia_Tropical_Perspectivas_Universitarias_en_Latinoamerica/inks/5690682e08aed0aed810f8b2.pdf#page=273.
- Custodio, M. y Pantoja, R. (2012) Impactos antropogénicos en la calidad del agua del río Cunas., *Apuntes de Ciencia & Sociedad*, 02(02), pp. 130–137. doi: 10.18259/acs.2012015.

De la Fuente-Salcido, N. M., Villareal-Prieto, J. M., Díaz León, M. A. y García Pérez, A. P. (2015) Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafíos de la resistencia bacteriana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. Asociación Farmacéutica Mexicana A.C., 46(2), pp. 41–49.

FAO (2011) Manual básico de sanidad piscícola. *Ministerio de agricultura y ganadería. Viceministerio de ganadería*, p. 52.

FAO (2014) Manual práctico para el cultivo de la trucha arcoíris. Guatemala.

FAO (2018) El estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/publications/es> (Consultado: el 14 de febrero de 2020).

Franco, C. L. F. (2011) Evaluación de la productividad de la Tilapia (*Oreochromis niloticus*) alimentada con extracto de ajo (*Allium sativum* L). Guatemala.

Fuentes Rodríguez, J. M. y Pérez Hernández, J. A. (1998) Aislamiento de *Aeromonas hydrophila* en trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Mex.*, 29(1), pp. 117–119. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1998/vm981p.pdf> (Consultado: el 28 de enero de 2019).

García Macías, J. A., Núñez González, F. A., Chacón Pineda, O. Alfaro Rodríguez, R. A. y Espinosa, M. (2004) Calidad de canal y carne de trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, producida en el noreste del Estado de Chihuahua. *Hidrobiológica*, 14(1), pp. 19–26. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v14n1/v14n1a3.pdf> (Consultado: el 27 de enero de 2019).

García Márquez, J. (2018) Selección de extractos vegetales como inhibidores de bacterias patógenas de peces y utilización en acuicultura. Universidad de Cádiz.

García Mondragón, D., Gallego Alarcón, I., Espinoza Ortega, A., García Martínez, A. y Arriaga Jordán, C. M. (2013) Desarrollo de la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el Centro de México. *Revista AcuaTIC*, 38, pp. 46–56. Disponible en: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=264>.

Ghezzi Solís, P., Requejo Alemán, J. C., González Guerrero, S. y Del Valle Ayala, Se. (2014) Manual de crianza de trucha en ambientes convencionales. 1a ed. Editado por Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero-FONDAPES. Lima: EINS PERÚ S. A. C.

Gothwal, R. y Shashidhar, T. (2015) Antibiotic Pollution in the Environment: A Review. *Clean - Soil, Air, Water*, 43(4), pp. 479–489. doi: 10.1002/clen.201300989.

Gutierrez Garaviz, J., Zamora González, H. y Andrade-Sossa, C. E. (2014) Efecto de la actividad antrópica sobre la composición y diversidad de macroinvertebrados acuáticos en el río Cofre (sistema lótico andino colombiano). *Revista Biodiversidad Neotropical*, 4(2), p. 113. doi: 10.18636/bioneotropical.v4i2.137.

Hernandez, M. y Aquino-Martínez, G. (2008) Manual básico para el cultivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). GEM, TIES Cuencas Sanas y Modos de Vida Sustentable Series de Manuales de Capacitación. Oaxaca. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320934783_Manual_basico_para_el_cultivo_de_trucha_arco_iris_Oncorhynchus_mykiis_GEM_TIES_Cuencas_Sanas_y_Modos_de_Vida_Sustentable_Series_de_Manuales_de_Capacitacion (Consultado: el 14 de enero de 2020).

INE-SEMARNAT (2007) Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México. México.

Instituto Nacional de Pesca (2018) Trucha arcoiris, Diario Oficial. Disponible en: <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/acuacultura-trucha-arcoiris> (Consultado: el 8 de febrero de 2020).

Jimenez, G. F. (1992) Parásitos y enfermedades de la trucha. No. 4. San Nicolás de los Garza.

Lemos Ramos, S. (2018) Mecanismos de asimilación de hierro en *Photobacterium damselae*: similitudes y particularidades.

Llerena Daza, T. E. (2012) Asistencia Técnica dirigida en control sanitario en la crianza de truchas. Perú, p. 37. Disponible en: <https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/037-b-piscicultura.pdf> (Consultado: el 28 de enero de 2019).

López Merino, A. (2006) Agentes infecciosos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), pp. 146–153. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/289010171_Brucella (Consultado: el 7 de febrero de 2020).

Martínez, L. y Fontanillas, J. (2017) Terapéutica en acuicultura. *Panorama actual del medicamento*, 41(404), pp. 579-588.

Mattiello, R. (2008) Enfermedades bacterianas y parasitarias de importancia en salmónidos. en *Proyecto: Plan Sanitario Organismos Acuáticos. Manual para inspectores sanitarios acuícolas*, p. 30.

Meyer, D. E. (2004) Introducción a la Acuicultura. *Escuela Agrícola Panamericana*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, p. Disponible en: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/con_ac. Disponible en: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/con_acuacultura (Consultado: el 10 de febrero de 2020).

Monteros, J. L. U. (1988) Patología en acuicultura.

OMS (2018) Resistencia a los antibióticos. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos> (Consultado: el 14 de febrero de 2020).

OPS-OMS (2015) OPS/OMS: Los antibióticos deben ser “manejados con cuidado” para preservar su capacidad de salvar vidas. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11446:antibiotic-s-handled-with-care-to-preserve-life-saving-qualities&Itemid=1926&lang=es (Consultado: el 14 de febrero de 2020).

Pedrique de Aulacio, M. (2002) Determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos (antibiogramas). Disponible en: http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/269570/mod_page/content/1/Antimicrobianos/antibiograma.pdf.

Pridgeon, J. W. y Klesius, P. H. (2012) Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 7(048). doi: 10.1079/PAVSNNR20127048.

Prieto, A. (2002) La prevención y el control de enfermedades en el cultivo de peces. *RedVet*, 2002(22), pp. 583–605. Disponible en: www.veterinaria.org (Consultado: el 16 de enero de 2020).

Prieto, A. (2004) La prevención y el control de enfermedades en el cultivo de peces. FUENTE : www.veterinaria.org y RedVet ®”, *RedVet*, p. 22.

Prieto, A., Auró de Ocampo, A., Fernández, A. y Pérez, M. B. (2005) El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol*, 8(1), pp. 38–49.

Ramírez Cando, L. J., Guerra Guevara, S. P. y Reinoso Molina, G. A. (2017) Evaluación in vitro de la remoción de plomo en aguas residuales por *Photobacterium damsela*. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 26(2), pp. 64–71. doi: 10.17163/lgr.n26.2017.06.

Rojas Camacho, P. y Villca Vega, R. (2011) Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del ajo (*Allium sativum*) contra *Streptococcus pyogenes* mediante el método por dilución. *Universidad, Ciencia y Sociedad*, 4, pp. 13–20. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S8888-88882011000200003&lng=en&nrm=iso&tling=es (Consultado: el 7 de marzo de 2020).

Rosado Puccini, R. y Erazo Keller, A. (2010) Aspectos Basicos Para El Cultivo De La Trucha Arcoiris.301-328.

Ruiz Zarzuela, I., Muzquiz Moracho, J. L., Ortega Rodríguez, C., Abadia Valleana, R., Muñoz Gonzalvo, M. J. y Garcés Sanagustin, A. (2002) Repercusión de la legislación comunitaria sobre la acuicultura española. Disponible en: http://www.observatorio-acuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros//repercusion_lc.pdf (Consultado: el 28 de enero de 2019).

Salgado Miranda, C., Palomares, E., Jurado, M., Marín, A., Vega, F. y Soriano Vargas, E. (2010) Isolation and distribution of bacterial flora in farmed rainbow trout from Mexico. *Journal of Aquatic Animal Health*. John Wiley & Sons, Ltd, 22(4), pp. 244–247. doi: 10.1577/H09-004.1.

Smaldone, G., Marrone, R., Cappiello, S., Martin, G. A., Olivia, G., Cortesi, M. L. y Anastasio, A. (2014) Occurrence of antibiotic resistance in bacteria isolated from seawater organisms caught in Campania Region: Preliminary study. *BMC Veterinary Research*, 10(1), pp. 1–7. doi: 10.1186/1746-6148-10-161.

Suárez Q., W. y Herrera A., F. (2011) Aislamiento de *Aeromonas* spp. en muestras de pescado fresco comercializado en Pamplona (Norte de Santander). *Rev. U. D. C. A Act. & Div. Cient.*, 14(2), pp. 7–13.

Torres, J. y Fajardo, C. (2011) Tratamientos profilácticos anti-saprolegniasis para mejorar la sobrevivencia embrionaria en ovas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), *Zootecnia Trop*.

Varela Mejías, A. y Alfaro Mora, R. (2018) Revisión sobre aspectos farmacológicos a considerar para el uso de antibióticos en la camaronicultura. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), pp. 1–14. Disponible en: <http://www.bvsspa.es/papi/ezproxy.php?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edb&AN=129506960&%0Alang=es&site=eds-live&scope=site>.

Vazquez Gallegos, P. A. (2014) Maduración sexual de la trucha de San Pedro Mártir

Oncorhynchus mykiss nelsoni evaluada mediante un método no invasivo. Disponible en: <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/127/1/235961.pdf>
(Consultado: el 28 de enero de 2019).

Vega, S. V. (2014) caracterización fenotípica y genotípica de aislamientos de *Aeromonas* spp. obtenidos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) .

Zepeda Velazquez, A. P. (2015) *Aeromonas* spp.: la infección en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y su aislamiento en México. *AquaTIC*. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/494/494444322001/>
(Consultado: el 28 de enero de 2019).