

DESCRIPCIÓN DE LA MICROBIOTA DE LOS CIPRÍNIDOS (*Cyprinus carpio*) DE LA LAGUNA DE SALINILLAS, ANÁHUAC, NUEVO LEÓN, MÉXICO

Molina Garza ZJ, Pérez Treviño KC, Iruegas Buentello FJ y Galaviz Silva L*
Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Universidad SN, Cd. Universitaria, Facultad de Ciencias Biológicas, Unidad B San Nicolás de los Garza, N.L. CP 66451. *

lucio.galavizsl@uanl.edu.mx

RESUMEN

La carpa por su volumen se encuentra posicionada en el lugar 11 de la producción pesquera en México; la tasa media de crecimiento anual en los últimos 10 años es de -1.78%. Se han reportado diversos microorganismos patógenos de carpas, por lo que el presente estudio se centra en describir la microbiota de los ciprínidos de la región. Las muestras de piel, aletas, branquias y órganos internos (riñones, hígado e intestino), se inocularon agar soya tripticasa, agar McConkey y medio Rimler-Shotts. Los aislados se identificaron con API 20E y NFT. La patogenicidad se determinó en lotes de 10 carpas asintomáticos en el laboratorio, como controles se usaron peces no inoculados y peces inoculados con cultivo estéril. La microbiota aislada correspondió a enterobacterias (100%), *Pseudomonas* sp. (100%), *Aeromonas* sp. (100%), *Alcaligenes* sp. (25%), *Moraxella* sp. (21.4%), *Plesiomonas* sp. (17.8%), *Xanthomonas* sp. (39.28%), *Acinetobacter calcoaceticus* (17.85%) y *Achromobacterium anitratus* (3.57%). De las cepas analizadas *Aeromonas sobria*, *A. caviae*, *A. hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes* sp y *Plesiomonas* sp presentaron un 100% de mortalidad en los bioensayos.

ABSTRACT

Carps is positioned in 11th place of fish production in Mexico, the average annual growth rate over the past 10 years was -1.78 %. Several reports of pathogenic microorganisms from carpas have been reported, the aim of the present study focuses on the description of the microbiota of cyprinids in the region. Samples of skin, fins, gills and internal organs (kidney, liver and intestine) were inoculated on Trypticase soy agar, McConkey agar and Rimler – Shotts medium. Microorganisms isolates were identified with API 20E and NFT. Pathogenicity was determined in batches of 10 asymptomatic carpas with at laboratory facilities; controls included fish inoculated and inoculated with sterile culture. The microbiota were identified as *Enterobacterias* (100%), *Pseudomonas* sp. (100%), *Aeromonas* sp. (100%), *Alcaligenes* sp. (25%), *Moraxella* sp. (21.4 %), *Plesiomonas* spp. (17.8 %), *Xanthomonas* sp. (39.28 %), *Acinetobacter calcoaceticus* (17.85%) and *Achromobacterium anitratus* (3.57 %). *Aeromonas sobria*, *A. caviae*, *A. hydrophila* , *Pseudomonas fluorescens* , *Alcaligenes* sp y *Plesiomonas* sp showed 100% of mortality in bioassays.

Palabras clave: *Cyprinus carpio*, patógenos, acuacultura.

Área: Microbiología y biotecnología.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de carpas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) en México inició en 1889. La gran adaptabilidad y el fácil manejo de esta especie en estanques, propició nuevas importaciones de parte del gobierno federal con el objeto de mejorar la calidad en la dieta proteica de la población humana y propiciar fuentes de trabajo a núcleos rurales, situándose en la actualidad como uno de los principales productos de la acuacultura mexicana (DOF, 2012). En el año 2010, la acuicultura aportó el 16.71% de la producción pesquera total (1, 619,982 Tm) (SAGARPA-CONAPESCA, 2011); la Carta Nacional Pesquera cita que en México se cultiva un total de 61 especies, de las cuales 40 son nativas y 21 son de origen exótico (DOF, 2012). La carpa por su volumen se encuentra posicionada en el lugar 11 de la producción pesquera en

México; la tasa media de crecimiento anual en los últimos 10 años es de -1.78% (SAGARPA-CONAPESCA, 2011).

La introducción de peces, particularmente de las familias Cyprinidae, Cichlidae y Clupeidae, como fuente de alimento para consumo humano, en sistemas lacustres tropicales y subtropicales ha crecido a un ritmo acelerado (Fernando, 1991). La mayoría de las carpas prevalece en zonas rurales de México, como resultado de su alta capacidad de supervivencia y crecimiento en aguas de calidad pobre (Maitland & Campbell, 1992). Los estados del país donde se produce mayor cantidad de carpas son Sonora, Chihuahua, Durango, Jalisco, Michoacán, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Puebla y Estado de México (DOF, 2012).

Actualmente se han reportado microorganismos causantes de enfermedades en carpas; entre las cuales destacan los virus (viremia primaveral de las carpas), bacterias (*Aeromonas hydrophila* y *A. sobria*), protozoarios (*Ichthyophthyrus multifilis*), helmintos (*Dactylogyrus* sp.) y artrópodos (*Lernea cyprinaceae*, *Ergasilus* spp. y *Argulus* spp). (DOF, 2012). Además con la introducción de especies exóticas, la transmisión de microorganismos introducidos representan riesgos sanitarios para las especies endémicas, como es el caso de *Bothriocephalus acheilognathi* (cestodo) parásito introducido junto con la carpa herbívora, procedente de la República Popular China y que ha sido reportada en algunas especies nativas (Arredondo y Lozano, 2003), por lo que el presente estudio se centra en describir por primera vez en el país, la microbiota de la carpa común (*Cyprinus carpio*) procedente de la Laguna de Salinillas, Anáhuac, Nuevo León.

METODOLOGÍA

El muestreo de los peces se realizó en la Laguna de Salinilla (Figura 1; localizado entre las coordenadas 27°26'10" Latitud Norte y 100°23'4" Longitud Oeste (INEGI, 2013). Las colectas se realizaron de enero a diciembre del 2010, mediante redes de arrastre o trasmallos, las muestras se tomaron a partir de peces de 40 cm y con peso promedio de 1.42 Kg, capturándose en total 28 peces. El análisis bacteriológico se realizó en el Laboratorio de Patología Molecular y Experimental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL.

Análisis bacteriológico.

Se realizó un análisis bacteriológico en las muestras de piel, aleta y branquias, así como de órganos internos (riñones, hígado e intestino) con hisopos estériles que posteriormente se transfirieron a tubos con caldo soya tripticasa. También se realizaron frotis los cuales se tiñeron con la técnica de Gram (Finegold y Martin, 1982). Los ejemplares se disectaron siguiendo la metodología indicada por Austin y Austin (1989). Los hisopos se introdujeron a tubos estériles de caldo soya tripticasa, los tubos inoculados se incubaron a 35°C por 24 horas, concluida la incubación se sembraron por estría cruzada en placas Petri con agar soya tripticasa, agar McConkey y medio Rimler-Shotts, se incubaron a 35°C por 24 horas. Las cepas aisladas se identificaron mediante morfología y comportamiento en pruebas bioquímicas con el sistema API 20E y NFT.

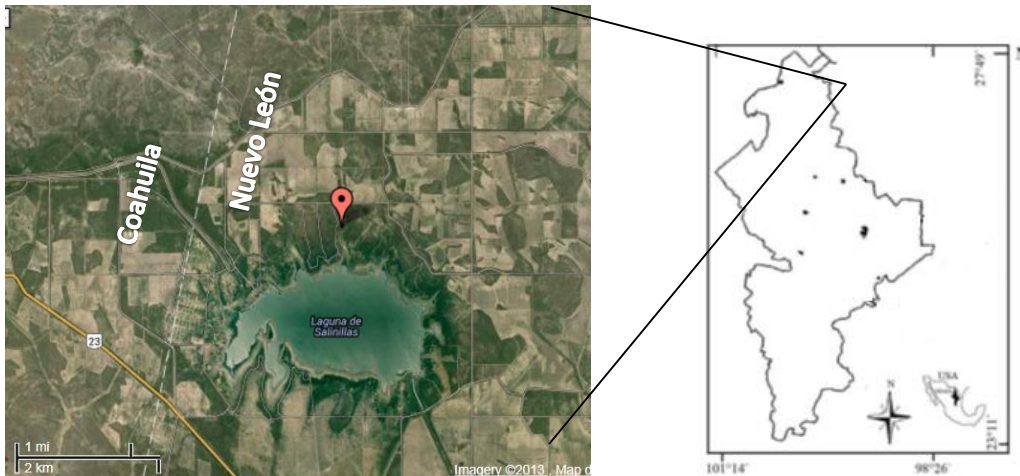


Figura 1. La Laguna de Salinillas, localizada al Norte del estado de Nuevo León, México.

Pruebas de patogenicidad.

La patogenicidad se determinó en las bacterias aisladas e identificadas mediante inoculaciones experimentales en peces de granja, asintomáticos. De las cepas identificadas se seleccionaron 10 que han sido asociadas como causantes de patologías en peces (*Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. cepacia*, *P. diminuta*, *Plesiomonas* sp., *Alcaligenes* sp. y *Moraxella* sp.). Las cepas se inocularon en caldo soya tripticasa a 35°C por 24 horas, se diluyeron hasta obtener una turbidez comparable con el nefelómetro de MacFarland y se determinó el número de células/ml por siembra por diluciones en agar soya tripticasa.

Evaluación de la patogenicidad.

Cada uno de los cultivos, se utilizó para inocular experimentalmente lotes de 10 peces de *Cyprinus carpio*. Para la inoculación se administraron 0.5 mL del cultivo mediante inyección con jeringas estériles de 1mL con aguja despuntada. Como controles se usaron peces no inoculados y peces inoculados con cultivo estéril. Se observó el comportamiento por 10 días para determinar presencia de signos clínicos y mortalidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La microbiota aislada de las carpas procedentes de la laguna de Salinillas correspondió a enterobacterias (100%), *Pseudomonas* sp. (100%), *Aeromonas* sp. (100%), *Alcaligenes* sp. (25%), *Moraxella* sp. (21.4%), *Plesiomonas* sp. (17.8%), *Xanthomonas* sp. (39.28%), *Acinetobacter calcoaceticus* (17.85%) y *Achromobacterium anitratus* (3.57%). De las especies reportadas como patógenas se aislaron: *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida* y *Citobacter freundii* (Tabla 1).

Tabla 1 Número y porcentaje de peces en que se aislaron bacterias Gram positivas, *Alcaligenes sp*, *Moraxella sp* y *Plesiomonas sp*. (N/Prevalencia) de la carpa común (*Cyprinus carpio*) procedentes de la laguna Salinillas.

Colec ta	Pec es (N)	Gram +	Micro- cocos	Estafil o- cocos	Estrept o- cocos	<i>Sarcin a</i>	<i>Alcaligen es sp.</i>	<i>Moraxel la sp.</i>	<i>Plesiom o-nas sp.</i>
1	1	1/10 0	1/100	1/100	NP	NP	NP	1/100	NP
2	9	9/10 0	8/88. 8	6/66. 6	5/55.5	NP	4/44.4	3/33.3	2/22.2
3	3	3/10 0	2/66. 6	2/66. 6	2/66.6	NP	1/33.3	NP	NP
4	6	6/10 0	6/100	5/83. 3	6/100	NP	1/16.6	2/33.3	1/16.6
5	3	3/10 0	2/66. 6	2/66. 6	1/33.3	2/66. 6	NP	NP	1/33.3
6	2	2/10 0	1/50	1/50	1/50	NP	NP	NP	NP
7	2	2/10 0	1/50	2/100	2/100	1/50	1/50	NP	1/50
8	2	2/10 0	1/50	1/50	1/50	NP	NP	NP	NP
Total :	28	28/1 00	22/78 .6	20/71 .4	18/64. 2	3/10. 71	7/25.0	6/21.4	5/17.9

NP: La bacteria no se presentó en la muestra.

Al estar presentes las aeromonas móviles en los peces existe un riesgo potencial de que al ocurrir un cambio en el medio acuático, se presenten mortalidades severas. Estos estudios coinciden con los de Nieto, Toranzo y Barjas (1984) (Tabla 2).

Las cepas patógenas fueron utilizadas para inocular los ciprínidos sanos a fin de evaluar la mortalidad después de 10 días; de las cepas analizadas *Aeromonas sobria* (72×10^6 col/mL), *Aeromonas caviae* (70×10^6 col/mL), *Aeromonas hydrophila* (81×10^6 col/mL), *Pseudomonas fluorescens* (36×10^6 col/mL), *Alcaligenes sp* (97.5×10^6 col/mL) y *Plesiomonas sp* (65.6×10^6 col/mL) presentaron un 100% de mortalidad en los ciprínidos examinados (Tabla 3).

CONCLUSIÓN

En el total de los peces examinados se aislaron enterobacterias de las cuales *Citobacter freundii* fue aislada en 82% de los peces, la cual ha sido reportada como patógeno en otros países (Karunasagar y Pai; 1992). Así mismo *Aeromonas sp.* y *Pseudomonas sp.* se detectaron en el 100% de los individuos analizados. Además se aislaron bacterias de los géneros *Alcaligenes sp.* en 25% de los casos; *Moraxella sp.* (21%) y *Plesiomonas sp.* (18%). De las *Aeromonas sp.*, la especie que predominó fue *A. caviae* en un 93%, mientras que para *Pseudomonas sp.* la principal fue *P. fluorescens* en un 25% de las carpas estudiadas.

Tabla2. Número y porcentaje de peces (N/Prevalencia) en que se aislaron especies del género *Aeromonas*.

Colecta	Peces examinados	<i>Aeromonas caviae</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Aeromonas sobria</i>
1	1	1/100	NP	NP
2	9	8/88.8	1/11.1	3/33.3
3	3	3/100	1/33.3	NP
4	6	5/83.3	2/33.3	NP
5	3	3/100	1/33.3	NP
6	2	2/100	NP	NP
7	2	2/100	NP	1/50
8	2	2/100	2/100	NP
Total	28	26/92.85	7/25	4/14.3

NP: La bacteria no se presentó en la muestra.

Tabla 3. Números y porcentajes de peces (N/Prevalencia) en que se aislaron *Pseudomonas* sp. aisladas en la carpa común (*Cyprinus carpio*) procedentes de la Laguna Salinillas.

Colec ta	Pece s	<i>P. stutzer ii</i>	<i>P. cepaci a</i>	<i>P. diminu ta</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. maltophil ia</i>	<i>P. fluoresce ns</i>	<i>P. alcaligen es</i>
1	1	NP	NP	NP	NP	1/100	NP	NP
2	9	2/22.2	2/22.2	1/11.1	2/22.2	3/33.3	4/44.4	1/11.1
3	3	2/66.6	2/66.6	2/66.6	3/100	3/100	1/33.3	NP
4	6	NP	4/66.6	1/16.6	3/50	3/50	NP	NP
5	3	3/100	2/66.6	NP	2/66.6	1/33.3	NP	1/33.3
6	2	1/50	1/50	1/50	2-7100	1/50	1/50	NP
7	2	1/50	2/100	NP	NP	2/100	2/100	NP
8	2	NP	2/100	1/50	2/100	NP	1/50	NP
Total	28	7/25	15/53.	6/21.4	16/57.	14/50	7/25	2/7.14
			57	3	14			

NP: No se presentó en el muestreo.

Este es el primer reporte para *Aeromonas sobria*, *Aeromonas caviae*, y *Aeromonas hydrophila* en carpas de México, subrayando la patogenicidad comprobada del 100 % mediante bioensayos experimentales. Los escasos reportes a nivel nacional e internacional, respaldan la patogenicidad de *A. salmonicida* y *A. veronii* (63-79 %), según lo reporta Kozińska y cols. (2002), quienes aislaron cinco especies de *Aeromonas* en carpas (*C. carpio*), *A. bestiarum*, *A. salmonicida*, *A. veronii*, *A. sobria* y *A. encheleia*. La mayoría de las cepas de *A. bestiarum* (80%) y *A. salmonicida* (85%) lograron separarse mediante incubación entre 4 a 42 °C, autoaglutinación, reacción por lipasas (C14) y naftol-AS-BI-fosfohidrolasas. Todas las cepas de *A. veronii* correspondieron al biotipo *sobria*. Por otra parte, Karunasagar y Pai (1992) también reportan a *Citrobacter freundii* como patógeno de carpas, siendo este también un nuevo reporte para el país. Los resultados del presente estudio, indican que son necesarios monitoreos microbiológicos más frecuentes en las granjas piscícolas del país, debido a los escasos reportes encontrados, así como subrayar la necesidad de realizar bioensayos experimentales para confirmar y cuantificar la patogenicidad de las cepas de microorganismos que pueden convertirse en un elevado factor de riesgo para la inversión del sector acuícola y debilitar la

sustentabilidad del recurso pesquero, además del riesgo que significan algunas de ellas para la inocuidad alimentaria y por lo tanto, para la salud pública.

BIBLIOGRAFIA

- Arredondo, J.L y Lozano, S.L. 2003. La acuicultura en México. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa, México. 266 pp.
- Austin, B. and D. Allen-Austin. 1989. Methods for the microbiological examination of fish and shellfish. Chichester, England, U.K. Ellis Horwood Ltd. 317 pp.
- DOF (2012) Carpa. en: Carta Nacional Acuícola. Diario Oficial de la Federación. Miércoles 6 de junio de 2012. Segunda Sección. México, pp 48–51
- Fernando, C.H., 1991. Impacts of fish introductions in Tropical Asia and America. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 24–32.
- Finegold, S.M. y W.J. Martin. 1982. Diagnóstico Microbiológico. 6ta edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- INEGI. Marco Geoestadístico, 2000. INEGI-DGG. Superficies Nacionales y Estatales. 1999. Acceso 8 de agosto 2013. http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/basicos/estados/nl_geo.cfm
- Karunasagar, I. & R. Pai. 1992. Systemic *Citrobacter freundii* infection in common carp, *Cyprinus carpio* L., fingerlings. J. Fish Dis. 15: 95-98.
- Kozińska, A.; M.J. Figueras, M.R. Chacon and L. Soler. 2002. Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas genomospecies* isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). J. App. Microbiol. 93: 1034–1041.
- Maitland, P.S. and Campbell, R.N. (1992) Freshwater Fishes of the British Isles. Harper Collins, London
- Nieto T.P.; T.E. Toranzo & J.L. Barjas. 1984. Comparison between the bacterial flora associated with fingerling rainbow trout cultured in two different hatcheries in the North-West of Spain. Aquaculture. 42:193-200.
- SAGARPA-CONAPESCA. 2011. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2011. (Acceso 8 de agosto 2012) http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca