

# Infección por *Saprolegnia* y hallazgos clínicos en granjas de truchas (*Oncorhynchus mykiss*) Nota técnica

## *Saprolegnia* infection and clinical findings in trout farms (*Oncorhynchus mykiss*) Technical note

Filiz Özcan 

Dicle University, Veterinary Faculty, Fisheries and Fisheries Diseases Department. Diyarbakır, Türkiye.

Autor para correspondencia: [felizozcan@gmail.com](mailto:felizozcan@gmail.com)

### RESUMEN

La propagación de *Saprolegnia* spp. puede aumentar las tasas de mortalidad en las piscifactorías, el entorno y las poblaciones naturales; por lo tanto, es fundamental realizar estudios detallados para rastrear la propagación de *Saprolegnia* patógena y su distribución desde las piscifactorías al entorno natural y deben realizarse con regularidad. En este estudio, se detectaron *Saprolegnia* spp. en muestras de peces recolectadas de piscifactorías de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) en la región del sudeste de Anatolia. Se visitaron 40 piscifactorías de trucha en diferentes provincias de la región y se examinaron 1000 muestras. Se recolectaron 25 peces con un peso vivo promedio de 100–150 g de cada piscifactoría y se estableció el cuadro clínico después del examen macroscópico de las muestras de peces en el laboratorio. Para detectar e identificar el crecimiento de *Saprolegnia* en el entorno de cultivo, el hongo se cultivó sembrando en agar Anacker-Ordal (AO) 18°C durante 5–7 días. Como resultado de la investigación; en 798 muestras de piel se detectó erosión, formación de úlceras, aumento de mucosidad y hongos (*Saprolegnia* spp.). En 341 muestras se detectó anemia en las branquias, anemia, hiperemia, edema en las láminas secundarias y hongos (*Saprolegnia* spp.). Como resultado, se encontró *Saprolegnia* spp. en las granjas ubicadas en esta región. Se ha establecido que para protegerse de esta infección, las granjas de la región deben tener cuidado de no dañar los cuerpos de los peces, eliminar los peces muertos y enfermos, no dejar exceso de alimento, evitar daños mecánicos, prestar atención al deterioro de la capa mucosa y minimizar los factores de estrés evitando la sobrepoblación.

**Palabras clave:** *Saprolegnia* spp.; enfermedades fúngicas; *Oncorhynchus mykiss*

### ABSTRACT

The spread of *Saprolegnia* spp. can increase mortality rates in fish farms, the surrounding environment and natural populations; therefore, detailed surveys to track the spread of pathogenic *Saprolegnia* and their distribution from fish farms to the natural environment are critical and should be conducted regularly. In this study, *Saprolegnia* spp. were detected in fish samples collected from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) farms in the Southeast Anatolian region. 40 trout farms in different provinces of the region were visited and 1000 samples were examined. 25 fish with an average live weight of 100–150 g were collected from each farm and the clinical picture was established after macroscopic examination of the fish samples in the laboratory. In order to detect and identify *Saprolegnia* growth in the culture environment, the fungus was grown by seeding on Anacker-Ordal (AO) 18°C agar for 5–7 days. As a result of the research, erosion, ulcer formation, increased mucus and fungus (*Saprolegnia* spp.) were detected in 798 skin samples. Anaemia in the gills, anaemia, hyperemia, oedema in the secondary lamellae and fungus (*Saprolegnia* spp.) were found in 341 samples. As a result, *Saprolegnia* spp. was found in farms located in this region. It has been established that in order to protect themselves from this infection, farms in the region must take care not to damage the fish bodies, remove dead and sick fish, not leave excess feed, avoid mechanical damage, pay attention to the deterioration of the mucoid layer, minimise stress factors by avoiding excessive stocking.

**Key words:** *Saprolegnia* spp.; fungal diseases; *Oncorhynchus mykiss*

## INTRODUCCIÓN

La acuicultura es un sector de rápido crecimiento en todo el mundo y desempeña un papel importante en la seguridad alimentaria [1]. La producción acuícola en Turquía aumentó un 6,2 % en 2022 en comparación con el año anterior. El 30 % de la producción consiste en pescado marino obtenido mediante la caza, el 5,6 % en otros productos del mar obtenidos mediante la captura el 3,9 % en productos de aguas continentales obtenidos mediante la captura el 60,6 % en productos de la acuicultura [2]. Los vertebrados acuáticos, al igual que otros vertebrados, son susceptibles a una variedad de organismos patógenos, incluidos los hongos. La primera infección fúngica documentada en vertebrados se registró en peces [3]. La Saprolegniasis es una infección fúngica externa que afecta a los peces marinos y de agua dulce al igual que sus huevos [4]. La taxonomía actual identifica a *Saprolegnia* como un género de la familia Saprolegniaceae en el orden Saprolegniales, clase Oomycetes. Los oomicetos son organismos formadores de micelio que se parecen a los hongos pero están más estrechamente relacionados con las algas pardas y las diatomeas [5]. Las caídas rápidas de temperatura, que provocan niveles altos de amoníaco y estrés, pueden inhibir el sistema inmunológico y causar enfermedades. La enfermedad ocurre especialmente cuando la temperatura del agua desciende por debajo de los 15°C. La morbilidad y la mortalidad aumentan a medida que se extiende su propagación en la piel y tejido branquial afectados. En las infecciones agudas, los peces suelen morir a los pocos días, pero pueden recuperarse al cabo de unas pocas semanas [6]. El hongo *Saprolegnia* se multiplica en los peces mediante hifas ramificadas y se disemina en el agua principalmente a través de zoosporas [7]. La infección suele comenzar en la cabeza o en las aletas y luego se propaga a través de un micelio ramificado en círculos o patrones curvilíneos por todo el cuerpo. En el peor de los casos, la infección mata las células y destruye la piel, que queda completamente dañada. Finalmente, la infección invade el tejido muscular y los vasos sanguíneos, provocando infecciones avanzadas que son incurables [8].

Se identifica por manchas visibles de micelio gris o blanco que pueden penetrar la piel, las aletas, las branquias y los músculos [9]. Los hongos tienen hifas largas, ramificadas y sin septos y forman grumos con apariencia de algodón en el agua. Todas las hifas contienen celulosa. Estos hongos se reproducen asexualmente, principalmente formando zoosporangios en las puntas de las hifas. La parte reproductiva está separada de las hifas somáticas por un tabique. Se observa que la reproducción asexual produce zoosporas con dos flagelos dentro de los zoosporangios. Son largas, delgadas y tienen un diámetro ligeramente mayor que las hifas a las que están unidas. Descargan sus zoosporas en el agua, permaneciendo adheridas a las hifas. Estos hongos, que se reproducen de esta forma, se propagan muy rápidamente en el medio acuático en el que se encuentran y forman parásitos al cubrir peces vivos o huevos en el medio ambiente. Estos hongos vivos se pueden encontrar en todas las fuentes de agua dulce y continuarán reproduciéndose excesivamente a menos que exista un factor detonante en la fuente de agua [10]. En los peces, puede ser causado por una enfermedad o fricción que se haya producido previamente en una parte del cuerpo del animal. Si hay heridas en los peces, como una enfermedad previa o daños mecánicos (causados por la fricción) en una parte del cuerpo de la criatura, los hongos pueden adherirse fácilmente a estas heridas y multiplicarse. Generalmente viven aferrándose a la piel, branquias y aletas [11]. El micelio de los hongos se puede ver fácilmente cuando

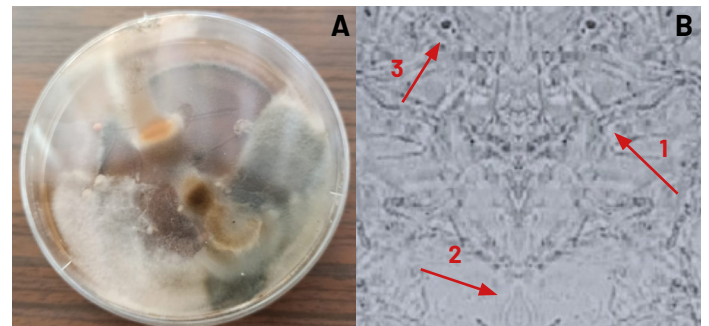
se examinan cuidadosamente las lesiones en la superficie del cuerpo. Además, se puede lograr su reproducción plantándolos en *feedlots*. El objetivo de este estudio es detectar el hongo *Saprolegnia spp.*, uno de los problemas más importantes en los criaderos de truchas, y determinar sus efectos patológicos.

## MATERIALES Y METODOS

Se colectaron muestras de trucha arcoiris (*Onchorhynchus mykiss*) de 40 granjas comerciales diferentes ubicadas en diferentes ciudades de la región sureste de Anatolia. De cada granja se tomaron 25 peces con un peso vivo promedio de 100-150 g que presentaban síntomas como: letargo, desequilibrio, pérdida de apetito, necrosis dérmica, aspecto algodonoso en la piel y branquias y formación de úlceras.

El contenido promedio de proteína de los alimentos comerciales utilizados para la alimentación de los peces es del 45 %, el contenido de grasa cruda es del 19 %, el contenido de fibra cruda es del 2,5 % y el contenido de ceniza cruda es del 8,5 %.

Las temperaturas del agua en las granjas variaron entre 9°C y 11°C. Las muestras recolectadas (n=1000) se llevaron al Laboratorio de Enfermedades y del Departamento de Pesca de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Dicle (Türkiye) en moldes de hielo. En primer lugar, se realizó un examen macroscópico y una necropsia de 1000 muestras llevadas al laboratorio. Para detectar la *Saprolegnia*, se obtuvieron biopsias de la piel, branquias y aletas y se examinaron con un microscopio (Olympus, BX-51, Japan). Se llevó a cabo una técnica de preparación en húmedo para la identificación preliminar, seguida de un examen microscópico directo de la piel, las aletas y las lesiones micóticas de las branquias según Loh [12]. Al microscopio se observaron claramente las hifas y las zoosporas de los hongos. Además, se detectó el crecimiento del hongo mediante siembra en agar Anacker-Ordal (AO) 18°C durante 5-7 días (d) (Figura 1).



**FIGURA 1. A: *Saprolegnia spp.* en agar Anacker-Ordal, B: Características morfológicas de *Saprolegnia spp.* hifa (1), oogonios (2) y zoosporas (3). Aumento: 100x**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio, se detectó *Saprolegnia spp.* entre truchas con sospecha de enfermedad en 40 granjas diferentes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) ubicadas en diferentes provincias de la región sudoriental de Anatolia. El aislamiento y la identificación se realizaron por método de cultivo. Como resultado de la investigación, se muestran los hallazgos clínicos observados se presentan en la TABLA I. En general, los hallazgos detectados en las muestras son erosión, formación de

**TABLA I**  
Hallazgos clínicos detectados en las muestras

Órgano	Resultados	Número de casos
Piel	Erosión, úlceras, hongos, aumento de moco	798
Branquias	Anemia, hiperemia, edema en laminillas secundarias	341
Corazón	Hemorragia, crecimiento anormal	207
Hígado	Hiperemia, sangrado, grasa, necrosis	342
Riñón	Hiperemia, sangrado	298
Bazo	Sangrado, necrosis, crecimiento	149
Ojos	Exoftalmos (unilateral y bilateral)	546



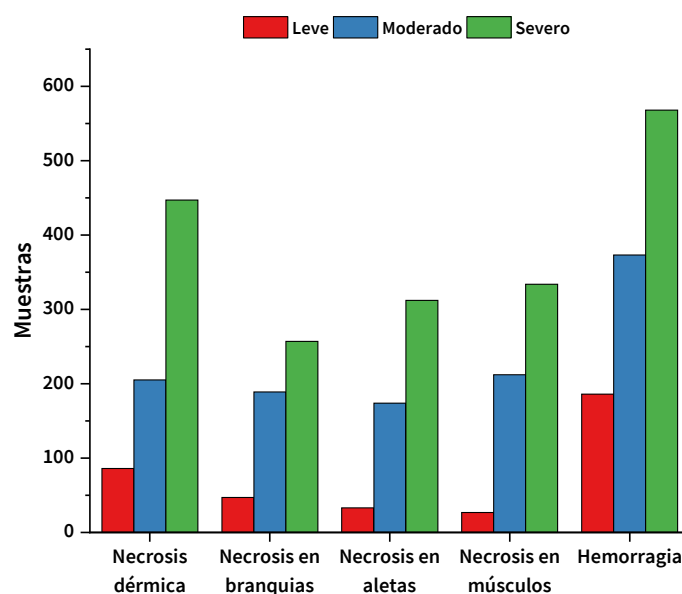
**FIGURA 2. A: Dermatomicosis y formación de úlceras, B: Manchas visibles de micelio gris o blanco en la piel que pueden penetrar en los músculos**

úlceras, aumento de mucosidad en la piel, anemia e hiperemia en las branquias, agrandamiento y hemorragia en el corazón y el hígado. La hiperemia, el sangrado, la lubricación y la necrosis, el agrandamiento del bazo y el sangrado pueden agruparse como exoftalmos. Entre los síntomas generales se detectaron dermatomicosis, necrosis y focos hemorrágicos en el tejido muscular de las aletas y branquias (FIGS. 2 y 3). Además, los peces infectados de forma natural mostraron signos de debilidad, letargo, pérdida de apetito y pérdida del equilibrio, sin reflejos fisiológicos. Las lesiones características de la Saprolegniasis, parecidas a algodones, fueron evidentes en las aletas, ojos y cabeza del pez. En los peces se observó pérdida de escamas y, en casos graves, ulceraciones graves en varias partes de la superficie del cuerpo. Además, se examinaron aislados de *Saprolegnia* cultivados en agar Anacker-Ordal (AO). Se detectaron hifas segmentadas, micelio formado por hifas y zoosporas móviles. El agente se detectó en la piel, branquias, aletas y tejido muscular. En el estudio, se detectó *Saprolegnia* spp en muestras tomadas de 32 de 40 granjas de truchas (80 % de las muestras).

Cuando se examinan las muestras, el primer cuadro clínico que se observa es la dermatomicosis. Destacan las lesiones formadas por focos grises y blancos debidos a esporas de hongos en la piel. Las lesiones están rodeadas por un anillo rojo pálido que progresa desde la epidermis hasta la dermis [13]. Como consecuencia de esta situación, la capa de epidermis se desprendió provocando erosión y ulceración. Se encontraron focos necróticos en las capas subcutánea y muscular. Las branquias pálidas, con formación de hemorragias, edemas y focos necróticos debido a la osmorregulación [14]. El crecimiento de hongos en la piel y las branquias de los peces provoca dificultad respiratoria y daño epidérmico-dérmico, conllevando a la muerte del pez, por trastornos de osmorregulación [15].

Las manifestaciones clínicas y la prevalencia de Saprolegniasis en este estudio son consistentes con trabajos anteriores [16]. En la aparición y propagación de la enfermedad, las condiciones ambientales, el estrés, el entorno del estanque con alimento residual, el pH bajo, el aumento del nivel de nitrógeno, los cambios en las condiciones ambientales y el agua contaminada con sustancias orgánicas pueden predisponer a los peces a la infección [17].

La temperatura, como factor estresante abiótico en los peces, a menudo se cita como un factor crítico que contribuye a la infección por *Saprolegnia*. Los estudios han descubierto que una caída de la temperatura a 16°C en 24 horas provoca la supresión del



**FIGURA 3. Principales hallazgos clínicos, en infección por *Saprolegnia* spp.**

sistema inmunológico y aumenta la susceptibilidad del huésped a *Saprolegnia* spp. Estas infecciones han sido denominadas “mata invernal” [18]. Es bien sabido que la calidad y cantidad de moco en diversas partes del cuerpo pueden influir en la Saprolegniasis. En particular, la concentración de moco en las aletas tiende a ser menor que en el resto del cuerpo del pez, lo que permite que las zoosporas se adhieran a las aletas más rápido que al resto del cuerpo [19]. Además, los cambios de temperatura en el agua, las lesiones resultantes de daños mecánicos, el aumento de la turbiedad en el agua y la presencia de zoosporas son los factores más importantes que contribuyen a la supresión del sistema inmunológico de los peces [20].

Las lesiones que ocurren como resultado de estos factores, especialmente la temperatura del agua y las lesiones mecánicas, aumentan la tasa de moco en la piel del pez y causan que *Saprolegnia* spp. proporciona fácilmente un entorno para su

reproducción en la piel. La densidad de zoosporas en el agua, así como el estado de salud de los peces, juegan un papel vital en la prevalencia de *Saprolegnia* en diferentes partes del cuerpo del pez [21]. La saprolegniosis puede afectar fácilmente a cualquier salmónido. En estudios previos se ha informado que se ha aislado de peces infectados, lo que confirma la importancia de este patógeno como la especie de oomiceto más común que causa saprolegniosis [22]. Los factores predisponentes deben reducirse en el tratamiento. Es necesario corregir las condiciones ambientales, garantizando una buena calidad y circulación del agua, que conlleven a reducir los factores de estrés y se deben proporcionar buenos cuidados y alimentación. Por otro lado, como tratamiento, se ha recomendado a las empresas aplicar NaCl 1-5 mg·L<sup>-1</sup> en forma de baño durante 1-2 min. Si no hay lesiones en la piel del pez causadas por bacterias, virus, protozoos, parásitos, helmintos, mordeduras mecánicas, etc. y la capa mucoide está intacta, la enfermedad no se produce aunque se encuentren esporas de hongos en el agua de calidad. No es posible eliminar los hongos a menos que se eliminen las causas primarias [23]. La proliferación de especies patógenas de *Saprolegnia* en el entorno de las piscifactorías puede elevar las tasas de mortalidad de las poblaciones naturales. Por consiguiente, es fundamental llevar a cabo periódicamente estudios exhaustivos para rastrear la diseminación de *Saprolegnia* patógena y su distribución desde las piscifactorías hasta el entorno natural [24].

## CONCLUSIÓN

En conclusión, en este estudio, se detectaron *Saprolegnia* spp y sus hallazgos patológicos en la mayoría de las granjas de trucha. Cabe destacar que la densidad de población excesiva en las granjas da como resultado daños mecánicos considerables. Otro resultado es que *Saprolegnia* spp. se propaga principalmente en forma de quistes. Se ha observado que el efecto de *Saprolegnia* spp. provoca epidemias, especialmente durante los períodos en que la temperatura del agua es inferior a 10°C. La combinación de baja temperatura del agua, estrés y daños mecánicos compromete la resistencia inmune de los peces y provoca un aumento en la producción de moco en la piel. Por esta razón, es relativamente fácil que *Saprolegnia* se instale en el cuerpo del pez. Por lo tanto, se recomienda un seguimiento clínico periódico de este patógeno de rápida propagación y un seguimiento regular de la calidad del agua (temperatura, oxígeno).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Kebede B, Habtamu T. Isolation and identification of *Edwardsiella tarda* from Lake Zeway and Langanu, southern Oromia, Ethiopia. *Fish. Aquac. J.* [Internet]. 2016 [consultado 20 Abr. 2024]; 7(4):184. Disponible en: <https://goo.su/KqN6Yv>
- [2] Turkish Stastical Institute [Internet]. Çankaya (Ankara, Türkiye): TurkStat; 2024 [consultado 3 Jun. 2024]. Disponible en: <https://goo.su/MSe9j>
- [3] Khoo L. Fungal diseases in fish. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* [Internet]. 2000; 9(2):102-111. doi: <https://doi.org/d4kdwX>
- [4] Shaheen A, El Asely AM, Latif AEL, Moustafa MMA, Elsaied HE. Saprolegniosis in goldfish (*Carassius auratus*) associated with novel strain; molecular characterization and electron scanning. *Egypt. J. Aquac.* [Internet]. 2015 [consultado 3 Jun. 2023]; 5(2):1-12. Disponible en: <https://goo.su/zebXHW>
- [5] Baldauf SL, Roger AJ, Wenk-Siefert I, Doolittle WF. A kingdom-level phylogeny of eukaryotes based on combined protein data. *Science* [Internet]. 2000; 290(5493):972-977. doi: <https://doi.org/cdbd8d>
- [6] Thoen E, Vrålstad T, Rolen E, Kristensen R, Evensen Ø, Skaar I. *Saprolegnia* species in Norwegian salmon hatcheries: Field survey identifies *S. diclina* sub-clade IIIB as the dominating taxon. *Dis. Aquat. Org.* [Internet]. 2015; 114(3):189-198. doi: <https://doi.org/f7ftwg>
- [7] Roberts RJ. The mycology of Teleosts. En: Roberts RJ, editor. *Fish Pathology*. 4<sup>th</sup> ed. Hoboken (NJ, EUA): Blackwell Publishing; 2012. p. 383-401. doi: <https://doi.org/nnq7>
- [8] Jiang RHY, de Bruijn I, Haas BJ, Belmonte R, Löbach L, Christie J, van den Ackerveken G, Bottin A, Bulone V, Díaz-Moreno SM, Dumas B, Fan L, Gaulin E, Govers F, Grenville-Briggs LJ, Horner NR, Levin JZ, Mammella M, Meijer HJG, Morris P, Nusbaum C, Oome S, Phillips AJ, van Rooyen D, Rzeszutek E, Saraiva M, Secombes CJ, Seidl MF, Snel B, Stassen JHM, Sykes S, Tripathy S, van den Berg H, Vega-Arreguin JC, Wawra S, Young SK, Zeng Q, Dieguez-Urbeondo, Russ C, Tyler BM, van West P. Distinctive expansion of potential virulence genes in the genome of the oomycete fish pathogen *Saprolegnia parasitica*. *PLoS Genetics* [Internet]. 2013; 9(6):e1003272. doi: <https://doi.org/f22xvj>
- [9] Mahfouz NB, Moustafa E, Kassab M, Marzouk W. Seasonal screening of the mycotic infections of cultured freshwater fishes in Kafr El-Sheikh governorate. *Slov. Vet. Res.* [Internet]. 2019; 56(22):321-323. doi: <https://doi.org/g8njw5>
- [10] Korkea-aho T, Wiklund T, Engblom C, Vainikka A, Viljamaa-Dirks S. Detection and quantification of the oomycete *Saprolegnia parasitica* in aquaculture environments. *Microorganisms* [Internet]. 2022; 10(11):2186. doi: <https://doi.org/nnq9>
- [11] Sandoval-Sierra JV, Latif-Eugenin F, Martín MP, Zaror L, Diéguez-Urbeondo J. *Saprolegnia* species affecting the salmonid aquaculture in Chile and their associations with fish development stage. *Aquaculture* [Internet]. 2014; 434:462-469. doi: <https://doi.org/f6qdpC>
- [12] Loh R. Wet preparation technique for fish diagnostics. *Comp. Animal* [Internet]. 2014; 19(10):539-540. doi: <https://doi.org/g8njw6>
- [13] Özcan F, Arserim NB. Fungal diseases in fish. *BSJ Agri.* [Internet]. 2022; 5(1):48-52. doi: <https://doi.org/g8njw7>
- [14] Earle G, Hintz W. New approaches for controlling *Saprolegnia parasitica*, the causal agent of a devastating fish disease. *Trop. Life Sci. Res.* [Internet]. 2014 [consultado 3 Jun. 2023]; 25(2):101-109. PMID: 27073602. Disponible en: <https://goo.su/rDCu2z>
- [15] Abou El Atta ME. Saprolegniosis in freshwater cultured tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) and trial for control by using bafry d50/500 [Internet]. En: Elghobashy H, Fitzsimmons K, Diab AS, editors. 8<sup>th</sup> International Symposium on Tilapia in Aquaculture 12 - 14 Oct. 2008; Abbassa, Egypt. Corvallis (Oregon, EUA): AQUAFISH Collaborative Research Support Program: 2008 [consultado 11 Feb. 2024]; 1403-1418. Disponible en: <https://goo.su/t8jAab>
- [16] Touhali IS. Isolation and identification of *Saprolegnia parasitica* and other fungi from farms fishes in the province of Wasit / Iraq. *J. Global Pharma Technol.* [Internet]. 2018 [consultado 3 Jun. 2023]; 10(05):135-142. Disponible en: <https://goo.su/AdHHu>

- [17] Mahboub HH, Shaheen AA. Mycological and histopathological identification of potential fish pathogens in Nile tilapia. *Aquaculture* [Internet]. 2021; 530(7):735849. doi: <https://doi.org/g8njw8>
- [18] El Gamal SA, Adawy RS, Zaki VH, Abdelkhalek A, Zahran E. Prevalence and genetic analyses of *Saprolegnia* strains isolated from Nile tilapia farms at northern Egypt. *Aquaculture* [Internet]. 2023; 563(Pt. 1):738946. doi: <https://doi.org/g5ktdt>
- [19] Gozlan RE, Marshall W, Lilje O, Jessop C, Gleason FH, Andreou D. Current ecological understanding of fungal-like pathogens of fish: what lies beneath? *Front. Microbiol.* [Internet]. 2014; 5(62):1-5. doi: <https://doi.org/g8njw9>
- [20] Sformo TL, de la Bastide PY, LeBlanc J, Givens GH, Adams B, Seigle JC, Kunaknana SC, Moulton LL, Hintz WE. Temperature response and salt tolerance of the opportunistic pathogen *Saprolegnia parasitica*: implications for the broad whitefish subsistence fishery. *Arct. Antarct. Alp. Res.* [Internet]. 2021; 53(1):271-285. doi: <https://doi.org/g8njxb>
- [21] Liu S, Song P, Ou R, Fang W, Lin M, Ruan J, Yang X, Hu K. Sequence analysis and typing of *Saprolegnia* strains isolated from freshwater fish from southern Chinese regions. *Aquacult. Fish.* [Internet]. 2017; 2(5):227-233. doi: <https://doi.org/g8njxc>
- [22] Sarowar MN, Cusack R, Duston J. *Saprolegnia* molecular phylogeny among farmed teleosts in Nova Scotia, Canada. *J. Fish Dis.* [Internet]. 2019; 42(12):1745-1760. doi: <https://doi.org/g8njxd>
- [23] de la Bastide PY, Leung WL, Hintz WE. Species composition of the genus *Saprolegnia* in fin fish aquaculture environments, as determined by nucleotide sequence analysis of the nuclear rDNA ITS regions. *Fungal Biol.* [Internet]. 2015; 119(1):27-43. doi: <https://doi.org/f62bxp>
- [24] Pavić D, Miljanović A, Grbin D, Šver L, Vladušić T, Galuppi R, Tedesco P, Bielen A. Identification and molecular characterization of oomycete isolates from trout farms in Croatia, and their upstream and downstream water environments. *Aquaculture* [Internet]. 2021; 540:736652. doi: <https://doi.org/g8njxf>