

2008

Efectos patológicos de las infestaciones branquiales por el copépodo *Pseudochondracanthus* sp., parásito del pez botete *Diana Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1842

Leslie Guzmán Beltrán
Universidad de La Salle, Bogotá

Walter Camilo Zárate Rodríguez
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Citación recomendada

Guzmán Beltrán, L., & Zárate Rodríguez, W. C. (2008). Efectos patológicos de las infestaciones branquiales por el copépodo *Pseudochondracanthus* sp., parásito del pez botete *Diana Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1842. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/327

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**EFFECTOS PATOLÓGICOS DE LAS INFESTACIONES BRANQUIALES POR EL
COPÉPODO (*Pseudochondracanthus* sp.), PARÁSITO DEL PEZ BOTETE
DIANA *Spherooides annulatus* (Jenyns, 1842)**

**LESLIE GUZMÁN BELTRÁN
WALTER CAMILO ZÁRATE RODRÍGUEZ**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTA D.C.
2008**

**EFFECTOS PATOLÓGICOS DE LAS INFESTACIONES BRANQUIALES POR EL
COPÉPODO (*Pseudochondracanthus* sp.), PARÁSITO DEL PEZ BOTETE
DIANA *Spherooides annulatus* (Jenyns, 1842)**

LESLIE GUZMÁN BELTRÁN

Código: 14002093

WALTER CAMILO ZÁRATE RODRÍGUEZ

Código: 14002086

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de
Médico Veterinario**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTA D.C.**

2008

DIRECTIVOS

RECTOR

Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo

VICERRECTOR ACADÉMICO

Hno. Fabio Humberto Coronado P.

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Dr. Mauricio Fernández Fernández

VICERRECTOR DE PROMOCIÓN
Y DESARROLLO HUMANO

Hno. Carlos Alberto Pabón Meneses

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN
Y TRANSFERENCIA

Hno. Manuel Cancelado Jiménez

DECANO DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA

Dr. Pedro Pablo Martínez Méndez

SECRETARIA ACADÉMICA

Dra. Maria Teresa Uribe Mallarino

DIRECTOR CLÍNICA VETERINARIA

Dr. Juan Pablo Pineda Méndez

ACEPTACIÓN

DIRECTORA



Dra. Emma Josefina Fajer Ávila

JURADO

Dra. Iovana Castellanos Londoño

JURADO

Biol. Esp. Julio González Acosta

SECRETARIA ACADÉMICA

Dra. María Teresa Uribe Mallarino

COMPROMISO

Las ideas aquí expuestas no son responsabilidad del director del proyecto de investigación, de los jurados ni de la Universidad de La Salle, son opiniones de libre expresión de los autores directos responsables del escrito.

DEDICATORIA

A mi mamá por su apoyo y dedicación para que saliera adelante, a mi papá que desde el cielo me cuidó y ayudó, a los dos que con su amor y ejemplo me han enseñado el valor de la vida. Gracias por darme las alas que necesitaba para volar.

A Karen mi hermana y cómplice. Gracias por esperar lo mejor de mí.

A Cami por enseñarme a soñar y creer en mí, aunque yo en ocasiones deje de hacerlo.

A mis amigas del colegio Dalis, Pao y Sandra por estar a mi lado durante estos largos diez años.

A Vane por su confianza y su alegría.

A mi familia, en especial a mi abuelita porque detrás de cada abrazo dado a lo largo de mi vida, siempre me ha dado la fuerza para ser mejor.

A Marce, Pao, Dianis, Erika, Andreuchis por acompañarme en este largo camino. Por compartir sonrisas y lágrimas, pero sobre todo, sus vidas.

Y a todos los amigos y personas que estuvieron pero que por circunstancias de la vida se han ido, gracias por los buenos y malos momentos.

Lestie Guzmán

A la vida inmensamente por haber reunido en un sin fin de causalidades a mis padres, Maria Esther y Alfonso, quienes con gran firmeza y envidiable desenfreno, han luchado siempre por hacer de mi hermana y de mi las personas que mejor habremos de imitar sus vidas.

A Lina, por su ayuda y por ser más que la hermanita, la mejor amiga.

A mis abuelitos, los ángeles que a diario guían mis pasos y avivan mis sueños, a mi abuelito Polo por aun regalarme sus eternas historias y llenarme de esa fuerza luchadora y perseverante, por recordarme que siempre he de andar “con la cincha apretada”.

A mi tío Ciro, quien continúa siendo un gran apoyo en mis proyectos y un gran aliado en mis triunfos.

A mi tío Willys, por formar parte de un gran sueño.

A Les por acompañarme, compartirme sus sueños y por enseñarme a vivir.

A mi familia ¡a mi gran familia!

A mi Auris.

Camilo Zárate

AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Emma Fájér por abrirnos las puertas de su laboratorio, por creer y depositar su confianza en nosotros.

Al CIAD y el equipo que lo conforma por permitirnos descubrir el mundo científico marino.

A la Biol. Rosa María Medina Guerrero, al MC Oscar Basilio Del Río Zaragoza, a la MC Selene Abad Rosales, a la MC Noemí García Aguilar, al M.V. Rodolfo Lozano, a la MC Ana Puello Cruz, al Dr. Fernando García Vargas y al Dr. Pablo Almazán Rueda por su tiempo, apoyo y su compromiso con nuestro proyecto.

Al Dr. Samuel Gómez Noguera por envolvernos maravillosamente en ese pequeño y vasto mundo de los copépodos.

Al Dr. José Fernández M., a la Dra. Iovana Castellanos y al Biol. Julio González, quienes nos apoyaron en el desarrollo de este proyecto.

A Janneth, Esmeraldita y Freddy por seguirnos, apoyarnos y facilitarnos lo esencial en la elaboración de este proyecto.

A la Señora Tita por el techo y el calor de hogar.

A la Doctora Gabriela del Valle por hacernos la vida más amigable.

A los pescadores de la Bahía de Santa María de La Reforma, Navolato, Sinaloa, México, por su tiempo, su esmero y sus valiosas enseñanzas.

A la MC Catherine Soler Jiménez, por su gran apoyo y por sus brazos de esperanza.

A Evis, MaFe, Eric, Beto, Daniel, Sauma, Nuri, Rosalina, Gus y Martha por dejarnos descubrir sus almas y ser parte infinita de nuestra existencia.

A los Botetes diana, por sus vidas.

¡A México por ponerle chile a nuestras metas!

Leslie Guzmán y Camilo Zárate

A Martín, Jesús, Andrea, Karen, Sofi, Marce y a todos los buenos amigos que me han acompañado durante este camino.

Camilo Zárate

RESUMEN

EFFECTOS PATOLÓGICOS DE LAS INFESTACIONES BRANQUIALES POR EL COPÉPODO (*Pseudochondracanthus* sp.), PARÁSITO DEL PEZ BOTETE DIANA *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1842)

Mediante el uso de la hematología y la histopatología se estudiaron los efectos patológicos del copépodo *Pseudochondracanthus* sp., sobre las branquias del pez marino botete diana (*Sphoeroides annulatus*), especie promisoría para el cultivo en el noroeste de México. Para realizar esta investigación se capturaron un total de 80 botetes diana procedentes de la Bahía de Santa María de La Reforma, Navolato, Sinaloa, México; durante los meses de Agosto y Septiembre de 2007. Los peces se colocaron vivos en un tanque de traslado con agua de mar y aireación hasta su arribo al área de bioensayos del Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.. Se distribuyeron en cuatro grupos homogéneos compuestos de 14 individuos por tanque a la temperatura de 28 ± 2 °C con aireación constante y se aclimataron durante 15 días. Finalizado este periodo se realizó la extracción de sangre de 12 peces, para determinar el hematocrito (Ht), hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y caracterizar los grupos celulares de la serie leucocitaria (linfocitos, granulocitos, monocitos y trombocitos). Inmediatamente se sacrificaron los peces para extraer las branquias y realizar el conteo de los parásitos, luego las branquias con y sin presencia del parásito fueron procesadas para histopatología. Se describieron los cambios morfológicos asociados a la presencia del parásito. Este muestreo se repitió siete días después. Los datos de tipo cuantitativos: número de parásitos y parámetros sanguíneos de los peces muestreados, fueron comparados estadísticamente mediante un análisis de ANOVA con un nivel de confiabilidad del 95%. Los estudios de histopatología, fueron evaluados bajo variables cualitativas. El ciclo de vida de *Pseudochondracanthus* sp., está compuesto por 4 fases y 6 estadios: un estadio

naupliar, cuatro estadios de copepodito, un preadulto y un adulto que se colectó a los 20 días posteriores a su eclosión a una temperatura de 22 °C. En los niveles de infestación 1 (1-4), 2 (5-9) y 3 (10-13) parásitos/pez; los valores promedio de los parámetros sanguíneos fueron: Ht (32, 33.66 y 27.5%), Hb (5.90, 5.74 y 4.59 g/dl), CHCM (18.71, 16.88 y 16.81 g/dl), eritrocitos (93.44, 92.83 y 94.20%), leucocitos (4.37, 4.46 y 3.26 %), linfocitos (83.80, 89.69 y 83.88%), granulocitos (13.07, 9.91 y 13.76%), monocitos (3.04, 0.37 y 2.34%) y trombocitos (2.17, 2.69 y 2.61%). Se encontraron diferencias significativas entre los diferentes niveles de infestación y los porcentajes de leucocitos y monocitos ($P > 0.05$). Los cambios a nivel histopatológico se caracterizaron por una infiltración celular con predominio de tipo mononuclear en la lamela primaria y en lamelas secundarias; atrofia y necrosis del epitelio lamelar; hipertrofia de células caliciformes, hiperplasia del epitelio lamelar y fusión de lamelas secundarias. Los cambios patológicos indican la importancia de considerar el grado y la severidad de las lesiones ocasionadas por *Pseudochondracanthus* sp., ya que es un parásito que en altas densidades de siembra, puede generar un impacto negativo en los sistemas de cultivo. La estandarización de los parámetros hematológicos de *Sphoeroides annulatus*, permitirá detectar cualquier anomalía que se presente a nivel patológico, fisiológico y nutricional en esta especie de pez.

Palabras clave: *Sphoeroides annulatus*, *Pseudochondracanthus* sp., hematología, histopatología de branquias.

ABSTRACT

PATHOLOGICAL EFFECTS OF GILL INFESTATIONS BY THE COPEPOD (*Pseudochondracanthus* sp.), PARASITE OF “BOTETE” BULLSEYE PUFFER FISH *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1842)

Through the use of hematology and histopathology were studied the pathological effects of copepod *Pseudochondracanthus* sp., on the gills of marine “botete” bullseye puffer fish (*Sphoeroides annulatus*), a very promising species to be planted in the northwest of Mexico. To make this investigation were caught a total of 80 *S. annulatus* from the Bay of Santa María de La Reforma, Navolato, Sinaloa, México, during the months of August and September 2007. The fish were placed alive in a tank of seawater movement and aeration until their arrival to the bioassays area of Parasitology Laboratory of the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.. They were distributed in four homogeneous groups with 14 organisms in each tank, with a temperature of 28 ± 2 °C with a constant aeration and acclimated for 15 days. After this period was the blood of 12 fish to determine the hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and to characterize the cellular groups of the series leukocyte (lymphocytes, granulocytes, monocytes and thrombocytes). Immediately sacrificed to extract fish gills and make counting of parasites, then the gills with and without the presence of the parasites were processed for histopathology. It described the morphopathological changes associated with the presence of the parasites. This sampling was repeated seven days later. The quantitative data type: number of parasites in blood parameters of the fish sampled were statistically compared by ANOVA analysis with a level of reliability of 95%. The histopathology studies were evaluated under qualitative variables. The life cycle of *Pseudochondracanthus* sp., consists of phases 4 and 6 stages: one naupliar stadium, four copepodid stages, one preadult and one adult to be collected within 20 days after hatching at a temperature of 22 °C. In infestation levels 1 (1-4), 2 (5-

9) and 3 (10-13) parasites / fish; mean levels of blood parameters were: Ht (32, 33.66 and 27.5%), Hb (5.90, 5.74 and 4.59 g / dl), CHCM (18.71, 16.88 and 16.81 g / dl), erythrocytes (93.44, 92.83 and 94.20%), leukocytes (4.37, 4.46 and 3.26%), lymphocytes (83.80, 89.69 and 83.88%), granulocytes (13.07, 9.91 and 13.76%), monocytes (3.04, 0.37 and 2.34%) and thrombocytes (2.17, 2.69 and 2.61%). Significant differences were found between the different levels of infestation, and the percentages of white blood cells and monocytes ($P > 0.05$). The changes at histopathology were characterized by cellular infiltration with a predominance of type mononuclear in the primary lamellae and secondary lamellae; atrophy and necrosis of lamellar epithelium; hypertrophy of goblet cells, hyperplasia of lamellar epithelium and fusion of secondary lamellae. The pathological changes indicate the importance of considering the degree and severity of injuries caused by *Pseudochondracanthus* sp., because it is a parasite that in high density plantings could generate a negative impact on farming systems. The standardization of hematological parameters of *Sphoeroides annulatus*, will detect any abnormality that is present at the pathological, physiological and nutritional this species of fish.

Keywords: *Sphoeroides annulatus*, *Pseudochondracanthus* sp., hematology, histopathology of gills.

INTRODUCCIÓN

La pesca y acuicultura a nivel mundial suministraron alrededor de 106 millones de toneladas de pescado para consumo humano en 2004, que es el valor más alto registrado en la historia (FAO, 2006). De este total, la acuicultura representó el 43 por ciento.

La producción mundial de la pesca de captura se ha mantenido relativamente estable en el último decenio, el total de las capturas marinas, que ascendió a 85.8 millones de toneladas en 2004 no ha variado sensiblemente. China, Perú y Estados Unidos de América siguen siendo los principales países productores. (FAO, 2006).

La acuicultura sigue creciendo más rápidamente que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal y su tasa de crecimiento en el mundo fue del 8.8% al año desde 1970, mientras que la pesca de captura ha crecido solamente a razón del 1,2%. La producción declarada de la acuicultura en 2004 fue de 45.5 millones de toneladas. En todas las regiones aumentó la producción de 2002 a 2004, especialmente en las del Cercano Oriente y África del Norte; y en América Latina y el Caribe, donde el crecimiento anual medio fue del 14 y 10%, respectivamente. Continuaron predominando en este sector los cultivos de agua dulce, seguidos de la maricultura y el cultivo en aguas salobres. Aparte de camarones marinos, la mayor parte de la producción de la acuicultura en los países en desarrollo en 2004 consistió en peces omnívoros/herbívoros o especies filtradoras. En cambio, las tres cuartas partes aproximadamente de la producción acuícola de peces de los países desarrollados consistieron en especies carnívoras (FAO, 2006).

Para México el crecimiento acuícola en volumen entre 1993 y 2003, de acuerdo a las últimas cifras oficiales (CONAPESCA, 2005), fue del 22%, para alcanzar en

este último año 207.780 toneladas. En ese periodo la producción de camarón creció significativamente, hasta llegar a 62.361 toneladas en 2003, esto es casi seis veces el volumen de 1993.

La producción por cultivo en 2003 fue sólo el 15% de la producción pesquera total nacional (pesca + acuicultura), y está concentrada en dos especies: camarón (62.361 Ton) y tilapia (61.516 Ton), principalmente en sistemas de pesquerías. Por otra parte, en los últimos años se han establecido en el noroeste de México empresas que efectúan el engorde de peces marinos de gran valor comercial como atún aleta amarilla, en ranchos de maricultura. La producción de estos ranchos se exporta a mercados lucrativos como el japonés, donde han logrado diferenciarse con base en su calidad (FAO, 2006). Existe una creciente demanda de la industria, especialmente en el sector social, por nuevas biotecnologías de cultivo, principalmente con especies marinas.

En años recientes se ha incrementado la preocupación por la inocuidad de los alimentos para el consumo humano, y en la industria acuícola, por los aspectos sanitarios en la producción, procesamiento y comercialización. Actualmente en México existen programas orientados al control y/o erradicación de enfermedades del camarón, tilapia, bagre, trucha, peces ornamentales, moluscos bivalvos y otras especies de importancia económica. Además hay campañas de manejo integral contra las patologías del camarón y los patógenos de peces, así como contra las patologías de moluscos bivalvos y de peces dulceacuícolas (CONAPESCA, 2005).

TABLA DE CONTENIDO

1. MARCO TEÓRICO	1
1.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL BOTETE	1
1.3 BIOLOGÍA DEL BOTETE DIANA (<i>Sphoeroides annulatus</i>)	1
1.3.1 Descripción	1
1.3.2 Taxonomía	2
1.3.3 Distribución	3
1.3.4 Hábitat	3
1.3.5 Alimentación	3
1.4 COPÉPODOS PARÁSITOS DE PECES	3
1.5 SISTEMA RESPIRATORIO DE LOS PECES	5
1.6 ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS	6
1.6.1 Timo	6
1.6.2 Riñón	6
1.6.3 Bazo	7
1.7 SISTEMA INMUNOLÓGICO DE LOS PECES	7
1.7.1 Células y Complejos Celulares Inmunocompetentes	7
1.7.1.1 Linfocitos	8
1.7.1.1.1 Subpoblaciones Linfoides	8
1.7.1.2 Granulocitos	8
1.7.1.2.1 Neutrófilos	9
1.7.1.2.2 Eosinófilos	9
1.7.1.2.3 Basófilos	10
1.7.1.3 Monocitos/Macrófagos	10
1.7.2 Centros melanomacrófágicos (CMM's)	11
1.8 HISTOPATOLOGÍA	11
1.9 HEMATOLOGÍA	11
1.9.1 Técnicas de muestreo de sangre	12
1.9.1.1 Anticoagulantes	12
1.9.1.2 Métodos de evaluación de eritrocitos	12
1.9.1.3 Métodos de evaluación de leucocitos	12
1.9.1.4 Métodos de evaluación de trombocitos	12
1.9.1.5 Citología	12
2. ANTECEDENTES	14
2.1 ENFERMEDADES PARASITARIAS DE LOS PECES MARINOS	14

2.2 ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS OCASIONADAS POR PARÁSITOS	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. OBJETIVOS	18
4.1 OBJETIVO GENERAL	18
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
5. MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1 FASE DE MUESTREO Y MANTENIMIENTO DE LOS PECES	19
5.2 FASE DE LABORATORIO	20
5.2.1 Ciclo de vida del parásito	20
5.2.2 Extracción de sangre	20
5.2.3 Frotis sanguíneo	21
5.2.4 Caracterización celular	21
5.2.5 Hematocrito (Ht)	22
5.2.6 Determinación de Hemoglobina (Hb)	22
5.2.7 Determinación de la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)	22
5.2.8 Obtención de los arcos branquiales	22
5.2.9 Índices parasitológicos	23
5.2.10 Factor de condición	23
5.2.11 Histología	23
5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
5.3.1 Variables cuantitativas	24
5.3.2 Variables cualitativas	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1 DISTRIBUCIÓN DEL PARÁSITO	27
6.2 ASPECTOS GENERALES DEL CICLO DE VIDA	28
6.3 HEMATOLOGÍA	31
6.3.1 PARÁMETROS SANGUÍNEOS	31
6.3.1.1 Hematocrito (Ht)	32
6.3.1.2 Hemoglobina (Hb)	32
6.3.1.3 Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)	32
6.3.1.4 Porcentaje de eritrocitos	32
6.3.1.5 Porcentaje de leucocitos	33
6.3.1.6 Recuento diferencial de los diferentes tipos de leucocitos	33
6.3.1.7 Porcentaje de trombocitos	33
6.3.1.8 Diferenciación de los diferentes tipos celulares	33
6.3.1.8.1 Los eritrocitos	33
6.3.1.8.2 Los tipos de leucocitos	34

6.3.1.8.2.1 Los linfocitos	34
6.3.1.8.2.2 Los granulocitos	35
6.3.1.8.2.2.1 Los neutrófilos	35
6.3.1.8.2.2.2 Los eosinófilos	36
6.3.1.8.2.3 Los monocitos	36
6.3.1.8.3 Los trombocitos	37
6.4 FACTOR (K) CONDICIÓN CORPORAL	39
6.5 HISTOLOGÍA	40
6.5.1 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO	41
6.5.1.1 Categorización tisular	42
7. CONCLUSIONES	47
8. RECOMENDACIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

TABLA DE FIGURAS

Figura 1. Botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	1
Figura 2. Distribución geográfica del pez Botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	3
Figura 3. A. Hembra adulta, y B. Hembra ovígera, de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	5
Figura 4. Punción intraperitoneal. Botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	21
Figura 5. Fotomicrografía de arteria aorta abdominal de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	21
Figura 6. Esquema de división de los arcos branquiales.	23
Figura 7. Localización del parásito en el filamento branquial de <i>Sphoeroides annulatus</i> .	27
Figura 8. Sitio de preferencia de <i>Pseudochondracanthus</i> sp., por segmentos y por arcos branquiales de <i>Sphoeroides annulatus</i> infestados naturalmente.	27
Figura 9. Huevos de hembra <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	29
Figura 10. Primer estadio naupliar de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	29
Figura 11. Copepodito II, de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	30
Figura 12. A. Copepodito III, y B. Copepodito IV de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	30
Figura 13. A. Preadulto, y B. Adulto, de <i>Pseudochondracanthus</i> sp. (Hembra ovígera).	31
Figura 14. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando algunos eritrocitos maduros e inmaduros de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	34

Figura 15. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando linfocitos de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	35
Figura 16. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando un neutrófilo de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	35
Figura 17. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando un eosinófilo de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	36
Figura 18. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando monocitos de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	36
Figura 19. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando trombocitos de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	37
Figura 20. Correlación entre los niveles de infestación y el factor de condición (K), y la longitud total del botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	39
Figura 21. Corte histológico que muestra la apariencia característica de un filamento branquial normal de botete diana (<i>Sphoeroides annulatus</i>).	41
Figura 22. Proceso crónico en el cual se observa la presencia de células de tipo mononuclear en la lamela primaria la obstrucción del flujo sanguíneo por el método de fijación de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	42
Figura 23. Fotomicrografía que exhibe una lesión tisular leve o grado 1 asociada a la presencia de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	43
Figura 24. Fotomicrografía que exhibe una lesión tisular moderada o grado 2 asociada a la presencia de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	43
Figura 25. Fotomicrografía que exhibe una lesión tisular severa o grado 3 asociada a la presencia de <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	44
Figura 26. Fotomicrografía que exhibe una lesión tisular severa o de grado 3 asociada a la presencia de <i>Pseudochondracanthus</i> sp., en fase de copepodito IV.	45

TABLA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Spherooides annulatus</i> .	2
Tabla 2. Grados de severidad y extensión para las lesiones.	24
Tabla 3. Valores hematológicos de botete diana con diferentes niveles de infestación ocasionados por el ectoparásito branquial <i>Pseudochondracanthus</i> sp.	32

TABLA DE ANEXOS

Anexo 1. Pesca de botete diana *S. annulatus*.

Anexo 2. Sala de Bioensayos del Laboratorio de Parasitología. CIAD A.C.

Anexo 3. Material para extracción de branquias.

Anexo 4. Arcos branquiales de botete diana *S. annulatus*.

BIBLIOGRAFÍA

AGIUS, C. AND ROBERTS, R. J. 2003. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*. 26: 499 – 509.

AMEZCUA, F. 1996. Peces demersales de la plataforma continental del Pacífico central de México. México. UNAM, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. 187 pp.

BENNETT, S. M. 1999. Egg development, hatching and early life-history of *Dissonus manteri* (Copepoda) parasitic on the gills of coral trout, *Plectropomus leopardus*. *International Journal for Parasitology*. 29: 267 – 274.

BENNETT, S. M. AND BENNETT, M. B. 1994. Pathology of attachment and vascular damage associated with larval stages of *Dissonus manteri* Kabata, 1966 (Copepoda: Dissonidae) on the gills of coral trout, *Plectropomus leopardus* (Lacépède) (Serranidae). *Journal of Fish Diseases*. 17: 447 – 460.

BENNETT, S. M. AND BENNETT, M. B. 2001. Gill pathology caused by infestation of adult and preadult *Dissonus manteri* Kabata (Copepoda: Dissonidae) on coral trout, *Plectropomus leopardus* (Lacépède) (Serranidae). *Journal of Fish Diseases*. 24: 523 – 533.

BENZ, G. W. AND ADAMSON, S. A. M. 1990. Disease caused by *Nemesis robusta* (van Beneden, 1851) (Eudactylinidae: Siphonostomatoida: Copepoda) infections of gill filaments of thresher sharks (*Alopias vulpinus* (Bonnaterre, 1758) with notes on parasite ecology and life history. *Canadian Journal of Zoology*. 68: 1180 – 1187.

BERNET, D., SCHMIDT, H., MEIER, W., BURKHARDT – HOLM, P. AND WAHLI, T. 1999. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal Fish Diseases*. 22: 25 – 34.

BERNSTEIN, R. M., SCHLUTER, S. F. AND MARCHALONIS, J. J. 1998. The physiology of fishes. *Immunity*. 215 – 242.

BIOMAR CHILE, S.A. 2004. Manual de alimentos para peces. 125 pp.

BOXSHALL, G. AND DEFAYE, D. 1993. Pathogens of wild and farmed fish: sea lice G.A. Ellis Horwood Limited. Chichester, U.K. 378 pp.

BOXSHALL, G., HALSEY, S. H. 2004. An Introduction to copepod diversity. The Ray Society Series. Ray Society: London. 966 pp.

BOWERS, J. M., MUSTAFA, A., SPEAR, D. J., CONBOY, G. A., BRIMACOMBE, M., SIMS, D. E. AND BURKA, J. F. 2000. The physiological response of Atlantic salmon *Salmo salar* L., to a single experimental challenge with sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*. Journal of Fish Diseases. 23: 165 – 172.

BUSSING, W. A. 1995. Tetraodontidae: 1629-1637. En : Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter y V. H. Niem (Redactores Técnicos). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. Vol. III. Vertebrados-Parte 2: 1201 – 1813.

BUSH, A., LAFFERTY, K. D., LOTZ J. M. AND SHOSTAK, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology. 83: 575 – 583.

CAMPBELL, T. AND MURRU, F. 1990. An Introduction to fish hematology. The Compendium Small Animal. 12: 525 – 533.

CAMPBELL, T. W. 1988. Fish cytology and hematology. Veterinarian Clinics of North America. (Small Animal Practice). 18: 349 – 364.

CELIK, E. S. AND AYDIN, S. 2006. Efect of *Trachelobdella lubrica* (Hirudinea: Piscicolidae) on biochemical and haematological characteristics of black scorpion fish (*Scorpaena porcus*, Linnaeus 1758). Fish Physiology and Biochemistry. 32: 255 – 260.

CONAPESCA. 2005. Comisión de Pesca de la Cámara de Diputados. Fortalezas y debilidades de la Acuicultura en México.

DE MEEÚS, T., RAIBAUT, A. AND RENAUD, F. 1993. Comparative life history of two species of sea lice. In: Pathogens of Wild and Farmed fish: Sea Lice (ed. by G.A. Boxshall & D. Defaye). Ellis Horwood, New York. pp 61 – 67.

DEL RÍO ZARAGOZA, O. B. 2004. Efecto del estrés térmico sobre los parámetros sanguíneos de la tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). Ensenada Baja California. Trabajo de grado (Maestro en Ciencias). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 112 pp.

DELUCA, D., WILSON, M. AND WARR, G. W. 1983. Lymphocyte heterogeneity in the trout, *Salmo gairdneri*, defined with monoclonal antibodies to IgM. European Journal of Immunology. 13: 546 – 551.

ELLIS, A. E. 1977. The leucocytes of fish: A review. Journal Fish Biology. 11: 453 – 491.

ELLIS, A. E. 1981. Ontogeny of the immune system on teleost fish. Fish Vaccination. Academic Press. England. pp 20 – 31.

ELLSAESSER, C. F. AND MILLER, N. W. 1985. Monocytes as accessory cells in fish immune responses. Developmental and Comparative Immunology. 9: 803 – 809.

EZEASOR, D. N. AND STOKOE, W. M. 1980. A cytochemical, light and electron microscopic study of the eosinophilic granule cells in the gut of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Journal Fish Biology. 17: 619 – 634.

FAO. 2006. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura.

FAO 2007. Departamento de Pesca y Acuicultura de la. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.

FAWC. Farm Animal Welfare Council. 1996. Report on the Welfare on Farmed Fish. London, Great Britain.

FERGUSON, H. W. 1989. Systemic pathology of fish. A text and atlas comparative tissue response in diseases of teleost. Iowa State University Press. Ames. pp: 5 – 103.

FERGUSON, H. W. 2006. Systemic pathology of fish. A text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease. Second Edition. Scotian Press. 368 pp.

FERNÁNDEZ, A. B., BLAS, I Y RUIZ, I. 2002. El sistema inmune de los teleósteos (I) Células y Órganos. Revista Aquatic, 16.

GEETS, A., COENE, H. AND OLLEVIER, F. 1997. Ectoparasites of whitespotted rabbitfish, *Siganus sutor* (Valenciennes, 1835) off the Kenian Coast: Distribution withn the host population and site selection on the gills. Parasitology. 115: 69 – 79.

HIBIYA, T. 1994. An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. 5: 125.

HINE, P. M.1992. The granulocytes of fish. Fish Shellfish Immunology. 2: 79 – 88.

HO, J., GÓMEZ, S., AND FÁJER, E. 2001. *Lepeophtheirus simplex* sp.n., a caligid copepod (Siphonostomatoida) parasitic on “botete” (bullseye puffer, *Sphoeroides annulatus*) in Sinaloa, Mexico. Folia Parasitologica. 48: 240 – 248.

HOGANS, W. E. 1989. Mortality of cultured atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr caused by an infection of *Ergasilus labracis* (Copepoda: Poecilostomatoida) in lower St. John's River, New Brunswick, Canada. Journal of Fish Diseases. 12: 529 – 531.

HRUBEC, T. C., CARDINALE, J. L. AND SMITH, S. A. 2000. Haematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). Veterinary Clinical Pathology. 29: 7 – 12.

HUGHES, G. M. 1970. Morphological measurements on the gills of fishes in relation to their respiratory function. Folia Morphologica. Prague. 18: 78 – 95.

IRWIN, M. J. AND KAATTARI, S. L. 1986. Salmonid B lymphocytes demonstrate organ dependent functional heterogeneity. Veterinary Immunology and Immunopathology. 12: 19 – 45.

IZAWA, K. 1986. On the Development of parasitic copepoda. IV. Ten species of poecilostome cyclopoids; Belonging to Taeniacanthidae, Tegobomolochidae, Lichomolgidae, Philoblennidae, Myicolidae, and Condracanthidae. Publications of the Seto Marine Biological Laboratory. 31: 81 – 162.

JOHNSON, S. C., TREASURER, J., BRAVO, S., NAGASAWA, K. AND KABATA, Z. 2004. A Review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. Zoological Studies. 43: 229 – 243.

JONES, C. M. AND GRUTTER, A. S. 2005. Parasitic isopods (*Gnathia* sp.) reduce haematocrit in captive blackeye thicklip (Labridae) on the Great Barrier Reef. Journal of Fish Biology. 66: 860 – 864.

KABATA, Z. 1984. A contribution to the knowledge of Chondracanthidae (Copepoda: Poecilostomatoida) parasitic on fishes on British Columbia. Canadian Journal of Zoology. 62: 1703 – 1713. g

KANAZAWA, A.; KOSHIO, S. AND TESHIMA, S. Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20, Shimoarata, Kagoshima 890 Japan. 1989. Growth and survival of larval red sea bream *Pagrus major* and japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, fed microbound diets. Journal of the World Aquaculture Society. 20: 31 – 37.

KIKUCHI, K., IWATA, N., KAWABATA, T. AND YANAGAWA, T. 2006. Effect of feeding frequency, water temperature, and stocking density on the growth of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Journal of the World Aquaculture Society. 37: 12 – 20.

KIKUCHI K. 2006. Presents status of research and production of tiger puffer *Takifugu rubripes* in Japan. *Avances en nutrición acuícola VIII*. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 15 – 17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León. México.

LAGLER, K. F., BARDACH, J. E., MILLAR, R. R. AND PASSINO MAY, D. R. 1984. *Ictiología*. Ed. AGT editor, S.A. Mexico. 489 pp.

LEE, K. M., TOYOJI, K. AND KATSUMI, A. 2005. Low-salinity tolerance of juvenile fugu *Takifugu rubripes*. *Fisheries Science*. 71: 1324 – 1331.

LLEWELLYN, L. C. 1966. Pontobdellinae (Piscicolidae: Hirudinea) in the British Museum (Natural History) with a review of the subfamily. *Bulletin of British Museum. (Natural History) Comparative Zoology*. 14: 389 – 439.

LIN, C. L., HO, J. S. AND CHEN, S. N. 1994. Two species of *Caligus* (Copepoda: Caligidae) parasitic on black sea bream (*Acanthopagrus schlegel*) cultured in Taiwan. *Fish Pathology*. 29: 253 – 264.

LIN, C. L. AND HO, J. S. 1998. Two species of ergasilid copepods parasitic on fishes cultured in brackish water in Taiwan. *Proceedings Biological Sciences Washington*. 111: 15 – 27.

Mac ARTHUR, J. I. AND FLETCHER, T. C. 1985. Phagocytosis in fish. En : *Fish Immunology*. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres. 29 – 46.

MAYORGA, M. 1992. Biología reproductiva y alimentación de las poblaciones de capitán de la sabana (*E. mutisii*) en la laguna de Fúquene. Tesis Biol. Mar. Universidad Jorge Tadeo Lozano. 120 pp.

MUROGA, K., KAWATOW, K. AND ICHIZONO. 1981. Infestation by *Alella macrotrachelus* (Copepoda) of cultured black sea-bream. *Fish Pathology*. 16: 139 – 144.

NUÑEZ-VÁZQUEZ E. J., YOTSU-YAMASHITA, M., SIERRA-BELTRÁN, A. P., YASUMOTO, T. AND OCHOA, J. L. 2000. Toxicities and distribution of tetrodotoxin in the tissues of puffer fish found in the coast of the Baja California Peninsula, Mexico. *Toxicon*, 38: 729 – 34.

OGAWA, K. AND INOUE, K. 1997. *Heterobotrium* infection of cultured tiger puffer, *Takifugu rubripes* – infection experiments. *Fish Pathology*. 32: 21 – 27.

OLDEWAGE, W. H. AND Van AS, J. G. 1987. Observations on the attachment of a piscine gill parasitic ergasilid (Crustacea: copepoda). *South African Journal of Zoology*. 22: 313 – 317.

PAPERNA, I. AND ZWERNER, D. E. 1982. Host- parasite relationship of *Ergasilus labracis*, Kroyer (Cyclopidae, Ergasilidae) and the striped bass *Morone saxatilis* (Walbaum) from the lower Chesapeake Bay. *Annales de Parasitologie (Paris)*. 57: 393 – 405.

PAVLIDIS, M., FUTTER, W. C., KATHARIOS, P. AND DIVANACH, P. 2007. Blood cell profile of six mediterranean mariculture fish species. *Journal of Applied Ichthyology*. 23: 70 – 73.

PELETEIRO, M. C. 1990. Phagococytic cells in the epidermis of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Richardson. *Journal of Fish Diseases*. 8: 161 – 172.

PELETEIRO, M. C. AND RICHARDS, R. H. 1985. Identification of lymphocytes in the epidermis of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Richardson. *Journal of Fish Diseases*. 13: 225 – 232.

PERNA, S. A. AND FERNANDES, M. N. 1996. Gill morphometry of facultative air-breathing loricariid fish, *Hypostomus plecostomus* (Walbaum) with special emphasis on aquatic respiration. *Fish Physiology and Biochemistry*. 15: 213 – 220.

PIASECKI, W. AND MACKINNON, B. M. 1995. Life cycle of sea louse, *Caligus elongatus* von Nordmann, 1832 (Copepoda: Siphonostomatoida, Caligidae). *Canadian Journal of Zoology*. 73: 74 – 82.

POWELL, M. D., WRIGHT, G. M. AND BURKA, J. F. 1991. Degranulation of eosinophilic granule cells induced by capsaicin and substance P in the intestine of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss walbaum*). *Cell and Tissue Research*. 266: 469 – 474.

PLYZYCZ, B., FLORY, C. M., GALVAN, I. AND BAYNE, C. J. 1989. Leucocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros: cell types producing superoxide anion. *Dev. Compendium Immunology*. 13: 217 – 224.

RAMASAMY, P., RAMALINGAM, K., HANNA R. E. B. AND HALTON, D. W. 1985. Microhabitat of gill parasites (Monogenea and copepoda) of teleosts (*Scomberoides* spp.). *International Journal for Parasitology*. 15: 385 – 397.

RAZQUIN, B. E., CASTILLO, A., LÓPEZ-FIERRO, P., ÁLVAREZ, F., ZAPATA, A. AND VILLENA, A.J. 1990. Ontogeny of IgM-producing cells in the lymphoid organs of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: an immuno and enzyme-histochemical study. *Journal of Fish Biology*. 36: 159 – 173.

RIVAS SALAS, A. J. 2003. Ciclo de vida de *Lepeophtheirus simplex*, Ho, Gómez y Fájér Ávila. 2001. (Copepoda: Caligidae) parásito de botete diana *Sphoeroides*

annulatus (Jenyns, 1842). Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias, CIAD, A.C.: 128 pp.

ROBERTS, R. J. 1981. Patología de los peces. España. Neografis, S. L. 366 pp.

ROBERTS, R. J. 1989. The immunology of Teleost. En: Fish Pathology. Baillière Tindall. London. 135 – 150.

ROBERTS, R. J. 2001. Fish Pathology. Third Edition. W. B. Saunders. London. 472 pp.

ROUBAL, F. R. 1986. The Histopathology of the copepod, *Ergasilus lizae* Kroyer, on the pseudobranchs of the teleost, *Acanthopagrus australis* (Günther) (Family Sparidae). Zoologisches Anzeiger. 217: 65 – 74.

ROUBAL, F. R. 1989a. Comparative pathology of some monogenean and copepod ectoparasites on the gills of *Acanthopagrus australis* (Family Sparidae). Journal of Fish Biology. 34: 503 – 514.

ROUBAL, F. R. 1989b. Pathological changes in the gill filaments of *Acanthopagrus australis* (Family Sparidae) associated with postsettlement growth of lernaepodid copepod, *Alella macrotrachelus*. Journal of Fish Biology. 34: 333 – 342.

ROUBAL, F. R. 1999. Extent of gill pathology in the toadfish *Tetractenos hamiltoni* caused by *Naobranchia variabilis* (Copepoda: Naobranchiidae) Diseases of Aquatic Organism. 35: 203 – 211.

ROUGH, K. M., NOWAK, B. F. AND REUTERS, R. E. 2005. Haematology and leucocyte morphology of wild caught *Thunnus maccoyii*. Journal of Fish Biology. 66: 1649 – 1659.

SILVEIRA, R. Y RIGORES, C. 1989. Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* en cultivo. Revista Latinoamericana Acuicultura. 39: 54 – 56.

SLAUSON, O. D. AND COOPER, J. B. 2002. Mechanisms of diseases. A textbook of comparative general pathology. Third Edition. Mosby. United States of America. 445 pp.

SLIERENDRECHT, W. J., LORENZEN, N., GLAMANN, J., KOCH, C. AND ROMBOUT, J. H. W. M. 1995. Immunocytochemical analysis of a monoclonal antibody specific for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) granulocytes and thrombocytes. Veterinary Immunology and Immunopathology. 46: 349 – 360.

SMITH, P. D. AND BRAUN-NESJE, R. 1982. Cell-mediated immunity in the salmon: lymphocyte and macrophage stimulation, interactions lymphocyte/macrophage and the production of lymphokine-like factors by stimulated lymphocytes. Dev. Compendium Immunology. 2: 233 – 238.

SMITH, J. L. WOOTTEN, R. AND SOMMERVILLE, S. 2007. The pathology of the early stages of the crustacean parasite, *Lernaeocera branchialis* (L.), on Atlantic cod, *Gadus morhua* . Journal of Fish Diseases. 30: 1 – 11.

STOSKOPF M. K. 1993. Fish Medicine. W. B. Saunders Company.

SUYDAM E. C. 1971. The microecology of three species of monogenetic trematodes of fishes from the Beafort-Cape Hatters Area. Proc. Helminthological Society Washington. 38: 240 – 246.

WEATHERLEY, A. H. AND GILL, H. S. 1985. Nutrition and feeding in fish: C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell (Eds.). Academic Press, London, 489 pp.

WEDEMEYER, G. A., BARTON, B. A AND MCLEAY, D. J. 1990. Stress and acclimation, In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Ed), Methods for fish biology. American Fisheries Society.

WILLIAMS, W.; BEUTLER, E., ERSLEY, A., AND LICHTMAN, M. 1992. Hematology. Fourth Edition. Ed. Mc Graw-Hill. United States of America. 1882 pp.

ZIEGENFUSS, M. C. AND WOLKE, R. 1991. The use of fluorescent microspheres in the study of piscine macrophage aggregate kinetics. Dev. Compendium Immunology. 15: 165 – 171.

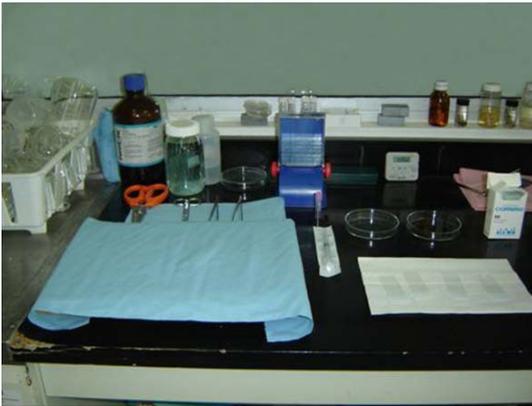
ANEXOS



Anexo 1. Pesca de botete diana *S. annulatus*, mediante el método de "robador".



Anexo 2. Sala de Bioensayos del Laboratorio de Parasitología. CIAD A.C.



Anexo 3. Material para extracción de branquias.



Anexo 4. Arcos branquiales de botete diana *S. annulatus*.

1. MARCO TEÓRICO

1.2 IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL BOTETE

El botete diana *S. annulatus* pertenece a los peces globo de la familia Tetraodontidae (Tabla 1), importantes para la alimentación en Asia, especialmente en China, Corea y Japón. Aunque estos peces sintetizan una toxina (tetradotoxina) en sus vísceras, piel y gónadas, en Japón son considerados como un plato exquisito en el mercado (Kanazawa, 1989), con un precio de venta de US\$ 22/Kg., durante los últimos 15 años (FAO, 2006). Más de 4000 Ton de pez globo han sido capturadas anualmente durante los últimos 10 años (FAO, 2006).

La especie más estudiada de esta familia es *Takifugu rubripes*, cuya tecnología de producción masiva se ha logrado en Japón desde 1962 (Kanazawa, 1989). La producción total anual en el 2004 de pez globo fue de 20.424 Ton de las cuales el 78.88% fue producido en China (FAO, 2006). Las técnicas de cultivo en Japón se basan en jaulas flotantes; dentro de los principales problemas es la baja productividad, debido a las altas mortalidades por enfermedades parasitarias (Kikuchi *et al.*, 2006). En México, *S. annulatus* (Jenyns, 1842), es un pez de importancia comercial, ya que en varias regiones del Pacífico Mexicano se sostiene una pesquería artesanal, y en la Península de California la pesca del botete aumentó de 33 Ton en 1993 a 198 Ton en 1997. En los supermercados y restaurantes de los estados del noroeste el precio del pescado entero varía de 5 – 7 US\$/Kg y 7 – 9 US\$/Kg en filete, y su toxicidad al consumo es más baja o nula en relación a las especies asiáticas. Además tienen gran importancia como peces ornamentales, una demanda y precios altos de alrededor US\$ 20 cada uno. (Núñez-Vázquez *et al.* 2000).

1.3 BIOLOGÍA DEL BOTETE DIANA (*Sphoeroides annulatus*)

1.3.1 Descripción



Figura 1. Botete diana (*Sphoeroides annulatus*)

El botete diana también es conocido como tamboril anillado, botete tamborín o pez globo (Fig. 1). La descripción original fue realizada por Jenyns, L. en 1842. Su cuerpo es relativamente alargado, grueso, robusto y subcilíndrico. Tiene una considerable capacidad de inflarse por una adaptación muy notable del estómago en el pez ya que pueden inflarlo con aire o agua hasta tomar la forma de un globo. El estómago o



bien una evaginación de su porción anterior, se llenan mediante la acción de los esfínteres cardíaco y pilórico y por otro esfínter, durante la evaginación misma. Se puede observar que la presencia de un estómago dilatado en estas familias se relaciona con la ausencia de aletas pélvicas; también faltan los huesos pélvicos y principalmente esta adaptación está relacionada con la defensa ante los predadores (Lagler *et al.*, 1984).

El promedio de sus dimensiones es: altura del cuerpo de 3.3 a 4.0 cm. de la longitud patrón. Cabeza larga de 2.7 a 3 veces en la longitud patrón. Hocico moderadamente romo, de 2 a 2.5 veces en la longitud cefálica poseen dientes moledores (molariformes) en las cavidades oral y faríngea en asociación con su tipo de dieta. Ojos pequeños de 5 a 7 veces en la longitud cefálica. Pequeñas espinas en el lomo desde la nuca hasta la aleta dorsal y en el abdomen desde la faringe hasta la aleta anal. Aleta dorsal 0-1 espina y 7-8 radios. Aleta anal 0-1 espina y 6-8 radios blandos. Aletas pectorales con 16 radios blandos; 8 branquiespinas en la rama inferior del primer arco branquial. La aleta caudal es ligeramente convexa. Tiene 18 a 19 vértebras.

La coloración del dorso es negruzco a café-olivo, con un característico patrón de anillos concéntricos pálido-amarillento en forma de diana, capaz de mimetizarse; su vientre es pálido. La cabeza y los costados están cubiertos por numerosas manchas pequeñas de color café oscuro sobre un fondo café claro. Aletas y vientre sin manchas. Su longitud total máxima es de 44 cm. y habita en los fondos y parches arenosos de los arrecifes; los juveniles viven en los sistemas lagunares-estuarinos (Bussing, 1995).

1.3.2 Taxonomía

Tabla 1. Clasificación taxonómica (Amezcuca, 1996)

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Osteichthyes
Clase	Actinopterygii
Infraclase	Teleostei
Superorden	Acanthopterygii
Orden	Tetraodontiformes
Suborden	Tetraodontoidei
Familia	Tetraodontidae
Género	<i>Sphoeroides</i>
Especie	<i>Sphoeroides annulatus</i> (Jenyns, 1842)



1.3.3 Distribución

El botete diana se distribuye desde San Diego, California, Estados Unidos hasta Pisco, Perú y en las Islas Galápagos (Fig. 2).



Figura 2. Distribución geográfica del pez Botete diana (*Sphoeroides annulatus*)

1.3.4 Hábitat

Algunos de estos peces viven en agua salada, pero otros son salobres o especies de agua dulce y algunos son tolerantes a las bajas salinidades como el *Takifugu rubripes* (Lee *et al.*, 2005).

1.3.5 Alimentación

Sus hábitos alimenticios son de consumidor secundario puesto que son preferentemente carnívoros, pero incluyen también detritos en su dieta; en la naturaleza su alimento habitual lo constituyen animales de concha dura, mayormente caracoles. También ingiere otros alimentos de origen marino como cangrejos, jaibas, camarones, artemia, mejillones y toda clase de moluscos. (Amezcu, 1996).

1.4 COPÉPODOS PARÁSITOS DE PECES

Los copépodos son el mayor grupo de pequeños crustáceos, incluye unas 11500 especies en su mayoría marinas, algunas dulceacuícolas y terrestres. Son generalmente planctónicas y representan un gran eslabón en la cadena trófica, ya



que se alimentan de fitoplancton y son base de alimentación de muchos peces, por lo que han sido muy estudiados como reguladores de fitoplancton.

También existen unas 1000 especies que son parásitos de branquias, aletas y piel de peces, y en el intestino de equinodermos y bivalvos, cuyo cuerpo presenta modificaciones debido al estilo de vida. En los ectoparásitos aparecen modificados los apéndices anteriores para la sujeción y alimentación. Son de tamaño pequeño entre 1 y 5 mm., algunos pueden alcanzar entre 2 y 32 cm. (Boxshall, *et al.*, 2004).

Cerca de 30 familias de copépodos son parásitos que utilizan a los peces como hospederos intermediarios y algunas de éstas se encuentran exclusivamente en peces como hospederos únicos. Pueden causar daño directo por el mecanismo de ataque o por sus actividades de alimentación. En piel pueden causar daños como necrosis, erosión e hiperplasia de la epidermis, provocando la proliferación de fibroblastos, producción de fibrina e infiltración celular y en algunos casos pueden hacer susceptible al pez a infecciones secundarias. La hiperplasia es un fenómeno mucho mas generalizado en la epidermis de los peces que en otras especies mayores generando proliferación de todos los estratos y con frecuencia acompañado por espongiosis (Roberts, 2001). En los filamentos branquiales se produce hipertrofia y fusión de la lamela secundaria, con consecuente pérdida del área respiratoria. Los miembros de la familia Caligidae, son los mas comúnmente encontrados en el mar y en agua salobre, constituyendo un 61% de todos los trabajos (Johnson *et al.*, 2004).

El ciclo de vida comprende dos fases: naupliar y copepodito. Existe un máximo de seis estadios de nauplio (NI-NVI) y todos son de vida libre y algunos de vida parásita. Los estadios de copepodito son máximo cinco y una extremidad se va adicionando en cada muda de esta fase, la quinta muda es la última, y la hembra empieza a ser receptiva sexualmente (Boxshall, *et al.*, 2004). El ciclo de vida de *Lepeophtheirus simplex*, parásito del botete diana, *Sphoeroides annulatus*, fue descrito por Rivas (2003) bajo condiciones de laboratorio, el cual consta de dos estadios naupliares plantónicos, un copepodito, tres estadios calimus, dos estadios preadultos semifijos y el estadio adulto. En la actualidad no existe información sobre del ciclo de vida de la familia Chondracanthidae, solamente se han descrito tres parásitos copépodos de esta familia *Pseudocanthopsis apogonis*, *Praeciochondria setoensis* y *Acanthochondria yui* (Izawa, 1986).

La hembra de *Pseudochondracanthus* sp., que se encontró en las branquias del botete diana tiene las siguientes características (Wilson, 1908):

Región anterior consistente de un cefalosoma, cuello no muy prolongado; las partes de la boca se localizan en la región anterior y el cefalosoma lleva dos pares de apéndices ventrolaterales. Tronco recubierto con una serie de escamas; sin ramificaciones en el tronco, con un par de apéndices posterolaterales. Abdomen muy corto fusionado con las ramificaciones caudales, estas últimas convergentes, lobuladas, con extremo alargado y puntiagudo distalmente. Segmento genital mas



largo que ancho, oval, con un área de adhesión dorsal para los sacos de huevos a cada lado del segmento. Anténula tipo E (Kabata, 1984) con parte distal pequeña y cilíndrica con 7 setas, cuatro de ellas más largas. Antena bisegmentada; segmento proximal sin armadura, segmento distal fuerte, en forma de gancho y estriado. Mandíbula característica de Poecilostomatoida; segmento distal curvado, con hilera con cerca de 200 dientes en el lado cóncavo y de más de 200 dientes en el lado convexo (Fig. 3 A y B).

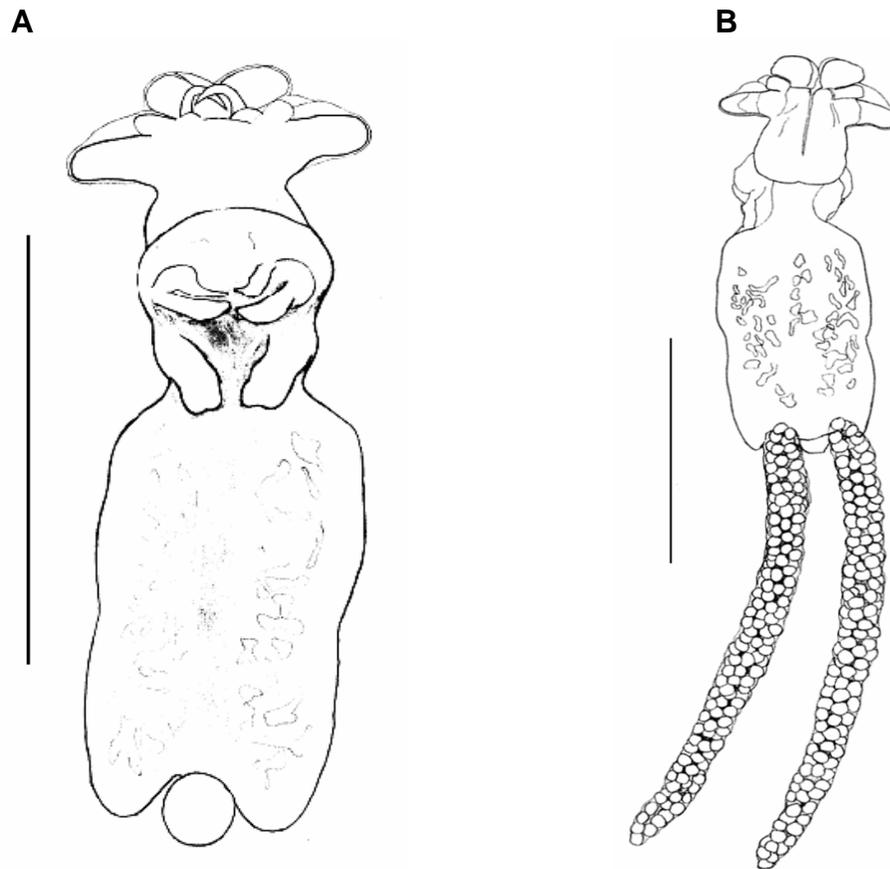


Figura 3. A. Hembra adulta, ventral, y **B.** Hembra ovígera, dorsal, de *Pseudochondracanthus* sp. Escala de barras 2 mm.

1.5 SISTEMA RESPIRATORIO DE LOS PECES

La superficie del epitelio de las branquias es comparable en extensión a la superficie total de la piel e incluso mayor en algunas especies, y su estructura tiene gran importancia en la homeostasis del pez. El epitelio es delgado para permitir el intercambio gaseoso, lo que lo hace muy sensible a los patógenos. También las branquias son responsables de la regulación de los intercambios de

sal y agua, que juegan un papel importante en la excreción de productos residuales nitrogenados (Roberts, 1981).

La estructura de un pez teleósteo típico comprende dos series de cuatro holobranquias que forman las paredes de la faringe, el arco branquial está recubierto por un tejido epidérmico, mucho más espeso en el origen de las lamelas primarias y generalmente provistas de células mucosas. Por debajo se encuentra generalmente una red de tejido linfoide con numerosos linfocitos y en muchas especies gránulos eosinófilos (Roberts, 1981).

En las lamelas secundarias se llevan a cabo los intercambios gaseosos, estas lamelas están formadas por una envoltura de células epiteliales simples planas dispuestas en una capa espesa, sostenidas y separadas por células de sostén. Se ha demostrado que estas células tienen en su composición una proteína contráctil similar a la encontrada en las amebas. También la contracción de estas células puede servir para el control de la tasa de flujo sanguíneo por medio de las superficies de intercambios gaseosos (Roberts, 1981).

1.6 ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS

Carecen de ganglios linfáticos, y en general de cavidad ósea medular. El tejido hematopoyético se localiza en el estroma esplénico y en los intersticios renales. En menor proporción se encuentra en los espacios periportales hepáticos, en la submucosa intestinal y en el timo, órgano linfoide por excelencia (Roberts, 1989)

1.6.1 Timo

Es un órgano par, homogéneo, representado por unas delgadas láminas ovales de tejido linfoide, dispuesto subcutáneamente en la comisura dorsal del opérculo, revestido por tejido mucoso del epitelio faríngeo (Ellis, 1988). El timo constituye en estos peces uno de los principales lugares de diferenciación de estos tipos celulares. Puesto que los linfocitos T o linfocitos B aparecen en el timo más tarde de lo que lo hacen en riñón y bazo, se cree que no es el timo el principal órgano de diferenciación de células B, pero sí de desarrollo y maduración de linfocitos T (Bernstein *et al.*, 1998).

1.6.2 Riñón

Macroscópicamente es un órgano homogéneo, pero puede diferenciarse un segmento anterior o riñón craneal, derivado del pronefros y constituido fundamentalmente por tejido linfo-hematopoyético, y un segmento medio y/o posterior o riñón troncal derivado del mesonefros, en el que el tejido



hematopoyético forma una matriz entre las nefronas y estructuras del sistema excretor (Ferguson, 1989).

En el desarrollo del pez, el riñón anterior es el primer órgano en el que aparece la inmunoglobulina IgM, por lo que se le considera un órgano primario en la diferenciación de células B (Irwin *et al.*, 1986). Es considerado como un órgano análogo a la médula ósea de los mamíferos, en el que se produce la eritropoyesis, granulopoyesis y linfopoyesis (Razquin *et al.*, 1990).

1.6.3 Bazo

Es un órgano abdominal, que suele ser único, aunque en ocasiones pueden encontrarse dos o más bazos menores. La determinación de cual es la función inmune del tejido linfoide esplénico ha sido motivo de controversia, principalmente por las diferencias encontradas entre las distintas especies (MacArthur, 1985).

1.7 SISTEMA INMUNOLÓGICO DE LOS PECES

La respuesta inmune de todos los vertebrados, incluidos los peces, puede dividirse en dos tipos. El primero, la respuesta innata o inespecífica, consiste en una serie de mecanismos filogenéticamente muy antiguos que pueden eliminar los patógenos del organismo o bloquear su entrada de forma inespecífica. El segundo constituye la denominada respuesta inmune combinada o específica, que es inducible y requiere la presencia de una serie de células que reaccionan específicamente con el antígeno inductor y que son los linfocitos. La denominación de respuesta combinada se debe a que en ella intervienen dos elementos: la respuesta humoral, mediada por anticuerpos y la respuesta celular, mediada principalmente por linfocitos T (Bernstein *et al.*, 1998).

1.7.1 Células y Complejos Celulares Inmunocompetentes

Las células involucradas en el sistema inmune son los leucocitos o glóbulos blancos, que pueden encontrarse en sangre circulante o en tejidos, y en ocasiones pueden formar complejos como los centros melanomacrofágicos. Su clasificación, al igual que la de los leucocitos de todos los vertebrados, se ha realizado por criterios morfológicos según los cuales se distinguen varios tipos: linfocitos, granulocitos y monocitos o macrófagos (Ellis, 1977).

La cantidad de leucocitos totales circulantes en sangre es muy variable dependiendo de las especies y de las condiciones fisiológicas.



1.7.1.1 Linfocitos

Los linfocitos son células altamente diferenciadas con capacidad de respuesta frente a los estímulos inmunológicos (Ellis, 1977). Los linfocitos maduros, que son la mayoría, son células pequeñas, de borde irregular, cuyo interior está casi en su totalidad ocupado por un núcleo con la cromatina muy agrupada. El citoplasma se dispone como un fino anillo basófilo alrededor del núcleo, con proyecciones pseudopodiales y en él se encuentran mitocondrias, retículo endoplásmico liso y rugoso, ribosomas y aparato de Golgi, lo que demuestra que son células de alto potencial metabólico (Ellis, 1977).

Los linfocitos circulan por todo el cuerpo a través de la sangre y la linfa, y se congregan en los órganos linfoides (Roberts, 1989). También aparecen en otros tejidos del pez, como la epidermis (Peleteiro *et al.*, 1985) y tejidos afectados por procesos inflamatorios (Hibiya, 1994). Los datos sobre la cantidad de linfocitos en sangre encontrados en la literatura son muy variables y dependen de muchos factores, como la especie, las condiciones y técnicas de extracción de la sangre, condiciones fisiológicas del pez, o incluso de las variaciones individuales que habitualmente se presentan.

Son los responsables de la respuesta inmune específica humoral y celular, que se traduce en la producción de anticuerpos, la capacidad citolítica, el proceso de memoria inmunológica y la liberación de factores reguladores de la función inmune, como las linfocinas (Campbell *et al.*, 1990)

1.7.1.1.1 Subpoblaciones Linfoides

Actualmente queda demostrada la presencia de células funcionalmente diferentes, que se asemejan a los linfocitos T y B (Bernstein *et al.*, 1998). La existencia de células equivalentes a linfocitos T y B en los peces se sugirió por diversos estudios, en los que se diferenciaban dos tipos de linfocitos distintos, y que se basaban en la respuesta a mitógenos típicos de los linfocitos T o B. La utilización de anticuerpos monoclonales anti IgM evidenció dos subpoblaciones, que pueden denominarse linfocitos T y B, aunque la clasificación puede no ser totalmente análoga a la de los mamíferos o las aves (De Luca *et al.*, 1983).

1.7.1.2 Granulocitos

En peces teleósteos, se han descrito los tres tipos celulares por su morfología, pero no siempre están presentes todos ellos en la misma especie ni son comparables funcionalmente con sus análogos de mamíferos (Hine, 1992).



1.7.1.2.1 Neutrófilos

Estas células, denominadas también heterófilos, polimorfonucleares (PMN's) o simplemente granulocitos, se caracterizan morfológicamente por un núcleo excéntrico multilobulado (dos o tres lóbulos), con la cromatina densa y agrupada que tiñe púrpura oscuro con la tinción de Giemsa o Wright, y por la presencia de un gran citoplasma pálido en el que se distinguen gránulos que varían desde el gris, al rosa pálido (Campbell *et al.*, 1990). Los gránulos son de forma redonda u ovalada, de tamaño variable y electrónicamente densos (Sliebrecht *et al.*, 1995).

Se asemejan a los neutrófilos de mamíferos por su morfología y por sus características histoquímicas, presentando tinción positiva por reacción al ácido periódico de Schiff (PAS) y sudán negro B, así como reacción positiva a las pruebas de benzidina-peroxidasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina (Roberts, 1989; Hine, 1992). Recientemente se han encontrado anticuerpos monoclonales específicos para este tipo celular, que permiten identificarlos y realizar estudios con las distintas poblaciones leucocitarias; los neutrófilos se localizan en sangre circulante, y en los tejidos inflamados (Campbell, 1990; Hine, 1992). Entre las principales funciones de los neutrófilos se encuentran la fagocitosis (Hine, 1992), y la actividad microbicida mediada por el proceso denominado *explosión respiratoria*, que consiste en la capacidad de convertir el oxígeno molecular en una serie de compuestos o metabolitos debido a la liberación de especies de oxígeno reactivo (ROS, por sus siglas en inglés), entre ellos el anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), potentes microbicidas capaces de dañar moléculas orgánicas (Plyzycz *et al.*, 1989).

Otra de sus funciones estriba en la mediación de la respuesta inflamatoria aguda. A partir del pronefros, los neutrófilos pasan al torrente circulatorio y migran a los lugares de inflamación, en respuesta a estímulos quimiocinéticos, aunque este fenómeno se produce de forma más lenta que en mamíferos. Esto provoca una depleción en los neutrófilos del pronefros (Hine, 1992).

1.7.1.2.2 Eosinófilos

Se han descrito como células redondas que presentan un núcleo a menudo bilobulado y excéntrico, y un citoplasma azul pálido con gránulos de forma alargada o esférica, que se tiñen con colorantes ácidos en medio alcalino (Roberts, 1989). Se han denominado a todos los eosinófilos de teleósteos como HGEs (eosinófilos granulares homogéneos, del inglés Homogeneous Granule Eosinophils). Esta morfología coincide con la de los eosinófilos de mamíferos, pero sin embargo, no ha podido demostrarse una analogía similar respecto a sus funciones (Hine, 1992).



Se encuentran células eosinófilas distribuidas en el tejido conectivo, especialmente en tracto gastrointestinal y branquias, también en piel y corazón, que contienen grandes gránulos, y que se han denominado EGCs (células granulares eosinofílicas, del inglés Eosinophilic Granule Cells) (Ezeasor *et al.*, 1980). Intervienen en los procesos de inflamación y defensa celular mediante degranulación, por lo que se han comparado con los mastocitos o células cebadas de mamíferos, ya que además se distribuyen análogamente (Powell *et al.*, 1991).

1.7.1.2.3 Basófilos

Se describen como células con citoplasma ligeramente basófilo y grandes gránulos redondeados que a menudo ocultan el núcleo y que recuerdan a los basófilos y mastocitos de mamíferos. Sin embargo, se conoce muy poco de ellos y según estudios estructurales y citoquímicos se pueden confundir con eosinófilos (Ellis, 1988).

1.7.1.3 Monocitos/Macrófagos

Los monocitos/macrófagos son grandes leucocitos con citoplasma azul-gris o azul brillante con tinción Giemsa, y ocasionalmente vacuolado, en el que pueden observarse proyecciones pseudopodiales. El núcleo ocupa entre un medio y un tercio del volumen celular y su forma es variable, redonda u ovalada, a menudo con una ligera invaginación, o con forma de riñón. En él, la cromatina aparece dispersa (Campbell, 1988). Estructuralmente, el citoplasma es denso, con formaciones membranosas, gran número de cuerpos heterogéneos (fagosomas), y en ocasiones presenta gránulos de melanina (Peleteiro *et al.*, 1990). Se tiñen positivamente por reacción al PAS y presentan actividad esterasa inespecífica y fosfatasa ácida concentrada en los gránulos (MacArthur *et al.*, 1985).

Se distribuyen por todos los tejidos y cavidades corporales, pero principalmente se localizan en riñón y bazo, donde concentran el material fagocitado y pasan a formar parte de los centros melanomacrófagos, en los que acumulan también una cantidad variable de pigmentos (MacArthur *et al.*, 1985). Así mismo, su presencia es abundante en tejidos inflamados (Campbell *et al.*, 1990).

Los macrófagos constituyen la principal célula fagocítica en los peces, por su capacidad de ingerir y digerir material extraño, inerte o antigénico, así como restos celulares resultantes de la respuesta inflamatoria u otros procesos degenerativos (MacArthur *et al.*, 1985). Al igual que los neutrófilos, también tienen gran capacidad microbicida intra y extracelular, debido al ROS, durante el proceso de explosión respiratoria (Plyzycz *et al.*, 1989).



1.7.2 Centros melanomacrofágicos (CMM's)

Son agregados celulares cuya denominación como centros melanomacrofágicos (CMM's) fue propuesta por Roberts en 1981 por la semejanza estructural de sus células con macrófagos, su alto contenido en melanina y su tendencia a agregarse (Agius *et al.*, 2003). Aparecen en órganos linfoides de todos los teleósteos. Se distribuyen homogéneamente por todo el tejido esplénico y renal, por lo que algunos autores sugieren que están estrechamente relacionados con el sistema vascular y que la entrada de los productos que acumulan se produce vía sanguínea (Ziegenfuss *et al.*, 1991).

Algunas de sus funciones son procesar y acumular los productos de desecho celular provenientes principalmente de la destrucción de eritrocitos y del metabolismo del hierro, así como de tejidos dañados en procesos patológicos. Como consecuencia de ello, se acumulan una serie de pigmentos, como la melanina, lipofucsina y hemosiderina (Agius *et al.*, 2003).

1.8 HISTOPATOLOGÍA

La diversidad de especies, razas y sistemas de alimentación y manejo dificulta la interpretación de los datos del diagnóstico complementario; en este aspecto la medicina veterinaria es a todas luces más complicada que la medicina humana. El diagnóstico diferencial precoz, especialmente en enfermedades orgánicas y metabólicas, difícilmente se lograría sin el auxilio del laboratorio. Además, el cuadro bioquímico variará según el momento evolutivo de la enfermedad y muchas veces coexistirán simultáneamente dos o más afecciones (Roberts, 1981). La histopatología ha sido empleada como instrumento de diagnóstico en la ciencia médica y veterinaria desde las primeras investigaciones celulares llevadas a cabo en siglos pasados. Desde entonces se han producido grandes avances en todos los aspectos de la biología molecular, como resultado muchas técnicas histopatológicas que se utilizan en mamíferos que están ahora disponibles para el ictiopatólogo (Roberts, 1989).

1.9 HEMATOLOGÍA

Son muchas las investigaciones que se han realizado sobre los parámetros hematológicos de un gran número de peces. La ictiohematología puede ser definida como una disciplina que estudia la sangre de los peces; en términos prácticos esta especialidad estudia las células sanguíneas y de ellas su morfología, bioquímica y funcionamiento, así como también los órganos hematopoyéticos, las enfermedades relacionadas con ellos y cualquier fenómeno o patología que relacione las células y/o sus órganos productores (Williams *et al.* 1992).



Por lo tanto, las variaciones de los parámetros hematológicos como hematocrito, leucocitos, recuentos diferenciales celulares y concentración de hemoglobina, entre otros, pueden ser utilizados como indicadores de contaminación, y a su vez también están siendo utilizadas como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Wedemeyer *et al.*, 1990). Las variables hematológicas varían sustancialmente entre especies (Ellis, 1977; Hine, 1992).

1.9.1 Técnicas de muestreo de sangre

1.9.1.1 Anticoagulantes

Al igual que en hematología de animales superiores, se emplean los mismos anticoagulantes estándares. Estos son la heparina y el etilendiamin-tetraacetato (EDTA).

1.9.1.2 Métodos de evaluación de eritrocitos

- Recuento total de eritrocitos
- Recuento total de leucocitos
- Hemoglobina
- Hematocrito o microhematocrito
- Evaluación morfológica de los eritrocitos
- Índices eritrocitarios

1.9.1.3 Métodos de evaluación de leucocitos

- Recuento diferencial de células

1.9.1.4 Métodos de evaluación de trombocitos

Comúnmente, la evaluación de trombocitos en peces se realiza en el conteo total. Para ello se emplea la misma técnica que para glóbulos rojos y blancos con diluciones y solución de Natt-Herrick. Pero también se puede realizar su conteo en el frotis (Stoskopf, 1993).

1.9.1.5 Citología

La citología de la sangre del pez, entre los métodos comunes de tinción para la hematología, se incluye los de Giemsa, ácido periódico de Schiff y sudán negro, entre otras. Sin embargo, una de las causas por las que se produce variación en la



tinción es el uso del anticoagulante empleado que puede alterar significativamente las propiedades de coloración de los granulocitos (Roberts, 1981).



2. ANTECEDENTES

2.1 ENFERMEDADES PARASITARIAS DE PECES MARINOS

La mayoría de peces, tanto en estado silvestre como en cultivo, se encuentran infestados por parásitos cuyas lesiones pasan inadvertidas en la mayoría de los casos. En condiciones de cultivo se rompe el equilibrio hospedero-parásito lo que se genera un incremento en el número de parásitos afectando el crecimiento de los peces, lo cual aumenta la tasa de mortalidad (Boxshall, 2004).

Con el desarrollo de los cultivos marinos semiintensivos e intensivos, la importancia de los parásitos copépodos como agentes causales de enfermedad es evidente (Johnson *et al.*, 2004). Por lo que se ha prestado mayor atención a las enfermedades de tipo parasitario, en especial las causadas por copépodos ectoparásitos como *Lepeophtheirus simplex*, debido a su abundancia y adaptación al medio, éstos pueden fijarse a la piel y aletas de los peces, causando lesiones epidérmicas, anorexia y alta mortalidad (Ho *et al.*, 2001). Otros copépodos branquiales perforan el tejido del hospedero y succionan sangre desencadenando un cuadro de anemia. Es el caso de *Lernaeocera branchialis*, un pennélido que tiene un impacto negativo severo sobre los bacalao silvestres, considerado como una amenaza potencial para su cultivo (Smith *et al.*, 2007).

Existen reportes de copépodos que se presentan en alto número, especialmente en branquias, como el estadio de calimus que puede causar patologías significativas que llegan a dar como resultado mortalidad, infecciones en la cavidad opercular y branquias de *Acantopagrus schlegeli* por adultos y juveniles de *Caligus multispinosus* los cuales fueron reportados como causa de congestión en branquias y proliferación de mucus (Lin *et al.*, 1994). Estas infestaciones son favorecidas por el estrés, la formación de heridas, fallas en la osmorregulación y en el caso de las branquias deterioro en la respiración; causan la muerte debido a la presencia de infecciones secundarias (Johnson *et al.*, 2004).

Los parásitos copépodos de otras familias también han sido reportados en cultivo de peces y también son responsables de enfermedad. Por ejemplo la fijación y actividad de alimentación de *Alella macrotrachelus*, en el besugo del mar negro *Spondyliosoma cantharus*, el parásito causa hiperplasia en branquias (Muroga *et al.*, 1981). Hogans en 1989 reportó serios daños en el salmón del Atlántico por *Ergasilus labracis* caracterizados por hiperplasia del epitelio lamelar en branquias y alta mortalidad. La infestación de branquias del borneo mollet (*Liza macrolepis*), con altos números de *Diergasilus kasaharai*, copépodos de la familia Ergasilidae, provocaron inflamación, necrosis, y alta producción de moco en branquias y finalmente, la muerte del hospedero (Lin *et al.*, 1998). La formación de vacuolas dentro de las branquias fue reportado para el pez cabrilla (*Epinephelus malabaricus*) infectado con *Ergasilus lobus* (Lin *et al.*, 1998).



El cultivo de especies marinas en Japón está basado en cinco especies principales *Seriola quinqueradiata*, *Seriola dumerili*, *Paralichthys olivaceus* y *Takifugu rubripes*. Como se mencionó anteriormente, una de las especies de mayor impacto en la producción de peces del Japón es el pez globo tigre (*Takifugu rubripes*), numerosas especies de copépodos han sido reportadas para esta especie incluyendo: *Caligus fugu*, *Pseudocaligus fugu* y *Neobrachiella fugu* (Johnson *et al.*, 2004).

Los parásitos no son diferentes de otras poblaciones biológicas y una población parásita comprende a todos los individuos de una especie parásita en particular. Los descriptores cuantitativos de poblaciones parásitas como la prevalencia, abundancia media e intensidad entre otros, son puntos estimables basados en las muestras de la población de un hospedero. Estos aspectos son fundamentales para reconstruir los ciclos de vida que permitirán, con una adecuada anticipación, inferir estrategias de mitigación para las parasitosis potencialmente peligrosas en una nueva población de hospedadores. También constituyen uno de los factores más importantes en el control de estas enfermedades parasitarias ya que el estudio de su ecología en poblaciones naturales, es relevante para el entendimiento de las variaciones de la distribución y prevalencia del parasitismo entre los hospedadores (Bush, *et al.*, 1997).

2.2 ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS OCASIONADAS POR PARÁSITOS

Ogawa e Inouye (1997) observaron que el hematocrito y la concentración de hemoglobina en *Takifugu rubripes* infestado experimentalmente con *Heterobothrium* presentó cambios a medida que transcurría el tiempo de infestación. No se observaron variaciones significativas en el hematocrito entre el día 2 y el día 24 post infestación, mientras que la hemoglobina disminuyó significativamente. Tanto el hematocrito (valores por debajo de 30%) como la hemoglobina (valores por debajo del 7 g dl⁻¹) empezaron a disminuir aunque también descendió la intensidad de la infestación.

Por otra parte, investigaciones realizadas por Jones y Grutter (2005) en el pez *Hemigymnus melapterus* parasitado por el isópodo *Gnathia* sp., mostraron que el hematocrito (8.81%) de los peces expuestos al parásito fue significativamente más bajo que en los peces control (32.37 ± 4.90%). Los crustáceos parásitos pueden incrementar (Bowers *et al.*, 2000) o reducir el hematocrito en el pez dependiendo de la severidad de la infestación. Si el parásito actúa como estresor el hematocrito puede aumentar, pero si el ectoparásito es grande o se encuentra parasitando al hospedero en un número considerable, el hematocrito puede reducirse.

Celik y Aydin (2006) observaron los efectos hematológicos de *Trachelobdella lubrica* en el pez *Scorpaena porcus* (escorpión negro), registrando disminución del Ht (19.83 ± 1.17 %) y la Hb (8.87 ± 0.58 g dl⁻¹) en los peces infestados naturalmente comparado con los peces saludables Ht (23.42 ± 0.69%) y Hb (7.70



$\pm 0.23 \text{ g dl}^{-1}$). Esta disminución en el hematocrito puede ser consecuencia de lisis eritrocítica acelerada causada por el estrés que genera el parásito en el hospedero.



3. JUSTIFICACIÓN

La producción mundial de la acuicultura ha crecido notablemente durante los últimos cincuenta años, la demanda constante de alimento ha hecho necesaria la búsqueda de nuevas especies de peces para cultivo (FAO, 2006). La exportación de botete diana (*S. annulatus*), proveniente de capturas ha alcanzado las 595 toneladas, lo que sitúa a México como el segundo país exportador de esta especie en el mundo (Núñez-Vázquez *et al.*, 2000).

El pez botete diana es considerado una especie con gran potencial para cultivo por su alto valor comercial, tolerancia al manejo y a las condiciones ambientales. En la actualidad, el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. A.C., (CIAD), Unidad Mazatlán, Sinaloa, está desarrollando una planta piloto para la producción de juveniles de esta especie. Desde 1996 a la fecha, se han realizado bioensayos con reproductores silvestres y de cautiverio. Una limitante en el desarrollo del cultivo del botete diana, es la aparición de agentes patógenos como bacterias, protozoarios y parásitos.

Sin embargo en el botete diana no existen estudios hematológicos ni histopatológicos, como herramientas diagnósticas que permitan detectar cambios fisiológicos para prevenir y controlar enfermedades parasitarias causantes de elevada morbilidad en el cultivo, por lo que el conocimiento de las infecciones ocasionadas por el copépodo parásito *Pseudochondracanthus* sp., dará la pauta y el inicio de las investigaciones en esta temática y servirán como referencia para futuras investigaciones.



4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes niveles de infestación branquial por copépodos del género *Pseudochondracanthus* sp., sobre la hematología del botete diana (*S. annulatus*) y describir los daños histológicos asociados a su presencia.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir algunos aspectos de morfometría y del ciclo de vida del copépodo parásito *Pseudochondracanthus* sp.
- Caracterizar los diferentes tipos celulares de leucocitos en el botete diana (*S. annulatus*).
- Evaluar el efecto de diferentes niveles de infestación del copépodo *Pseudochondracanthus* sp. sobre algunos parámetros hematológicos del botete diana
- Describir el daño histológico en las branquias del botete diana asociado a la infestación por el copépodo.



5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 FASE DE MUESTREO Y MANTENIMIENTO DE LOS PECES

Durante el período Agosto-Septiembre de 2007, se capturaron 80 individuos de botete diana (*S. annulatus*), por los pescadores de la bahía de Santa María de La Reforma, Navolato, Sinaloa, México, utilizando un “robador”. Este instrumento de pesca consiste en una asociación de piezas de plomo y varios anzuelos unidos por una cuerda de nylon de 10 a 15 m aproximadamente, en el que dos de ellos en la parte superior son cargados de la carnada (jaiba) y los de la parte inferior están libres y sin espuela para que al momento de que el pez muerda la carnada, se hale firmemente el nylon, éstos enganchen al pez provocando solamente la herida por la punción (Anexo 1).

Una vez que los peces fueron capturados, se trasladaron vivos en tanques Sistema Rotoplas® de una capacidad máxima de 450 l, previamente llenos con agua de mar del sitio de pesca con aireación constante, al área de bioensayos del Laboratorio de Parasitología del CIAD., A.C.. El tiempo de traslado fue de 4 horas aproximadamente.

En el área de bioensayos, se seleccionaron peces entre 17 y 22 cm de longitud total que se colocaron en tanques de fibra de vidrio negros de 400 l, con suministro de agua de mar, el cual se realiza por bombeo directo de la playa utilizando dos bombas sumergibles de 10 HP cada una.

El agua bombeada hacia las instalaciones fue almacenada en tres tanques de recepción con capacidad de 40000 l cada uno, filtrada por arena y piedra y luego distribuida por tubería de PVC a las diferentes instalaciones de cultivo. El agua que entró a la sala de bioensayos previamente se pasó por un filtro de cartucho de 20 µm, y el proceso de purificación finaliza con la exposición a radiaciones UV para neutralizar y evitar la presencia y viabilidad de microorganismos patógenos. Adicionalmente en el tubo de suministro de agua se colocó un filtro hecho con malla de 50 µm para evitar la entrada de huevos de otros parásitos y otros microorganismos. Se colocó aireación a los peces, utilizando un aireador compresor de 5 HP (Fuji Electric Co, USA) y recirculación constante de agua, aplicando las condiciones naturales de fotoperiodo 12 horas luz / 12 horas oscuridad.

Los peces se distribuyeron aleatoriamente en 4 tanques de 400 l de volumen útil hasta completar 14 individuos por tanque. Fueron alimentados diariamente dos veces al día, en la mañana y en la tarde con una dieta balanceada de filete de calamar, tilapia y camarón al 5% de su biomasa corporal por un periodo de 30 días. Una vez al día se sifonearon los desechos sólidos y se realizó un recambio del agua del 60% en cada tanque (Anexo 2).



A las 24 horas de haber sido situados los peces, se tomó un ejemplar de cada tanque para realizar un conteo parasitológico con el objeto de conocer el nivel de infestación inicial del copépodo objeto de estudio.

Posterior al periodo de aclimatación (15 días) se tomó una muestra de 3 peces por tanque para análisis hematológico, histológico y parasitológico. Este muestreo se repitió 7 días después. Para un total de 24 peces examinados.

5.2 FASE DE LABORATORIO

5.2.1 Ciclo de vida del parásito

Para obtener los diferentes estadios del copépodo *Pseudochondracanthus sp.*, se disectaron y revisaron branquias del botete diana donde se hallaron las hembras con huevos viables (Fig. 9). Éstas se colocaron en vasos de precipitado de plástico con una capacidad de un litro, que contenía agua de mar estéril para evitar el desarrollo de otros organismos, los vasos de precipitado fueron provistos de aireación constante lo que permitió que las branquias tuvieran un movimiento oscilatorio permanente. Se mantuvieron así hasta que los huevos de las hembras ovígeras eclosionaron y se colectaron los nauplios a las 24 y 48 horas después de iniciada la eclosión, a una temperatura de 23 °C. Posteriormente los nauplios fueron usados para realizar una infestación artificial en alevines de botete diana libres de parásitos que tenían en promedio una talla de 5-6 cm de largo. Los peces estuvieron durante 2 horas, sin oxigenación y a una temperatura de 27 °C, para permitir la infestación y posteriormente se hicieron revisiones diarias de las branquias sacrificando dos peces cada vez para seguir el desarrollo de los nauplios hasta la fase adulta.

5.2.2 Extracción de sangre

Los peces se anestesiaron con 2-fenoxietanol, (Sigma[®], USA), en agua de mar a una concentración de 1 ml/l, se tomaron datos de peso (g.), longitud patrón (cm.), longitud total (cm.), altura (cm.) y sexo. Para la extracción de sangre se utilizaron jeringas de 3 ml. desechables e impregnadas con anticoagulante EDTA, la sangre fue obtenida mediante dos técnicas: 1. Punción de la vena caudal en sentido ventrodorsal de 2 a 3 cm., en dirección caudal de la aleta anal en peces adultos y de 1 a 1,5 cm. en juveniles. 2. Punción vía intraperitoneal de la arteria aorta abdominal, 3 cm. aproximadamente en sentido caudocraneal al ano (Figs. 4 y 5).

La sangre obtenida se colocó en tubos Eppendor[®] con EDTA. De allí se tomó una muestra para los frotis sanguíneos, hematocrito y concentración de hemoglobina.





Figura 4. Punción intraperitoneal. Botete diana (*Sphoeroides annulatus*).

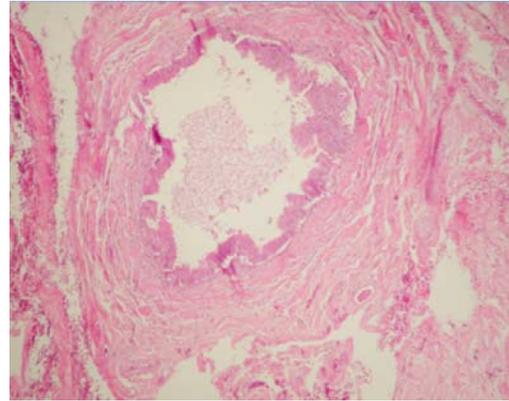


Figura 5. Fotomicrografía de arteria aorta abdominal de botete diana (*Sphoeroides annulatus*). 100X

5.2.3 Frotis sanguíneo

La diferenciación celular se realizó por medio de los frotis sanguíneos. Una gota de sangre de 2 a 3 mm. de diámetro fue colocada en el portaobjetos; con un segundo portaobjetos creando un ángulo entre 30° - 45° , se formó una película de mediano espesor. Se dejó secar al aire, luego fue fijada con metanol y se dejó secar nuevamente. A continuación, fue cubierta con colorante de Wright-Giemsa por 5 minutos y posteriormente se le añadieron 10 gotas de tiosulfato de sodio. Luego de 5 minutos, se lavó con agua destilada y se dejó secar al aire. Se colocaron tres gotas de resina (Cytoseal 60[®]) y se cubrió con un cubreobjetos. Los frotis se realizaron por duplicado, para cada muestra (Del Río, 2004).

5.2.4 Caracterización celular

El frotis se colocó en un microscopio compuesto LEICA DMLB conectado a una cámara digital a color SONY ExwaveHAD y a una computadora; para el procesamiento de imágenes se utilizó el software PINNACLE. Se capturaron de cada frotis 30 campos o imágenes digitales a un aumento de 600x y se obtuvieron los respectivos porcentajes de los diferentes tipos celulares.

Para medir el diámetro de los eritrocitos y leucocitos se usó la escala micrométrica del lente ocular del microscopio óptico OLYMPUS BX 51.

5.2.5 Hematocrito (Ht)

Para el Ht se llenaron aproximadamente 2/3 de un tubo capilar heparinizado de la marca CORNING® sellado en el extremo con fuego y se dejó en posición horizontal por 60 min. El tubo capilar fue colocado en una centrífuga para hematocrito marca SOL-BAS P600, por 10 minutos a 7000 rpm y luego se determinó el porcentaje del paquete celular con respecto al volumen total con una lectora para microhematocrito (Del Río, 2004).

5.2.6 Determinación de Hemoglobina (Hb)

Para la Hb se utilizó el Kit hemogloWiener® de Laboratorios Wiener, el cual es un método colorimétrico que se basa en la formación de cianuro de hemoglobina (o cianometahemoglobina). La coloración obtenida de las muestras se lee en un espectrofotómetro en una longitud de onda de 550 nm.

5.2.7 Determinación de la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

Es el índice eritrocitario que indica el porcentaje del eritrocito ocupado por la hemoglobina se determina utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Hg g/100 ml} \times 100}{\% \text{ Hematocrito}}$$

5.2.8 Obtención de los arcos branquiales

Para la extracción de los arcos branquiales se procedió al sacrificio de los peces mediante el método anestesia, confirmando la muerte destruyendo el cerebro mediante una punción intracraneal. Es considerado un método humanitario de Eutanasia (FAWC, 1996).

Con ayuda de tijeras de acero y pinzas de apoyo, se extrajeron los arcos branquiales; se colocaron en cajas Petri con unas gotas de agua de mar y fueron observados al estereoscopio LEICA MZ 95, para determinar la localización exacta de cada parásito en cada arco branquial. Se realizó un conteo, para ello se enumerarán los arcos del I al III del más externo al más interno, y en zona A, B y C, dorsal, medio y ventral (Fig. 6). Seguidamente se fijaron en formalina neutralizada al 10% y a las 24 horas se cambiaron a alcohol al 70% con el fin de garantizar la preservación de los copépodos (Anexos 3 y 4).



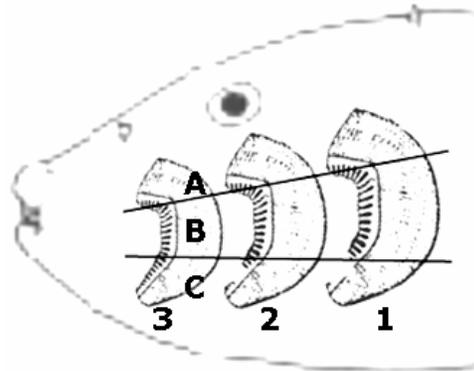


Figura 6. Esquema de división de los arcos branquiales.

5.2.9 Índices parasitológicos

Se calculó la prevalencia (número de hospederos parasitados con una o más especies de parásitos dividido entre el número total de hospederos analizados, expresado en porcentaje), la abundancia media (número total de parásitos de una especie en particular dividido entre el número total de hospederos examinados) y la intensidad media (número de individuos de una especie particular de parásito dividido entre el total de hospedadores infectados) (Bush, *et al.*, 1997).

5.2.10 Factor de condición

Se calculó el factor de condición (K) el cual es un indicador del estado de condición del pez, y es el cociente entre el peso (P) y la longitud del pez (L) elevado al cubo (BIOMAR, 2004) Se calculó usando la siguiente fórmula.

$$K = (P / L^3) \times 100$$

Donde P= peso en gramos

L= longitud total en centímetros

5.2.11 Histología

Las muestras fueron procesadas por la técnica de inclusión en parafina en el Laboratorio de Histopatología del CIAD., A.C. Ésta técnica consiste en un proceso de deshidratación del tejido pasando por diferentes alcoholes de menor a mayor concentración (70% dos baños, 80% dos baños, 96% dos baños), hasta llegar a alcohol absoluto (dos baños), se realizaron dos baños en xilol, para que finalmente se rehidraten con parafina. Este procedimiento tardó de 18 a 20 horas.

Las muestras a continuación pasaron por un segundo baño con abundante parafina, para realizar los cortes en el microtomo entre 3 y 5 μm . Posteriormente se eliminó la parafina con baños de flotación de 35 a 37 °C. Luego se procedió a realizar una pesca del tejido y se colocaron en láminas portaobjetos y se trasladaron a la incubadora, la cual está a 40 °C para eliminar los restos de agua por 30 minutos y se tiñen con Hematoxilina – Eosina – Floxina.

Posteriormente se realizó el análisis descriptivo de las láminas histológicas. Se determinaron los grados de severidad a partir de las observaciones en el microscopio OLYMPUS BX51.

La evaluación de los tejidos se derivó conforme a los parámetros formulados por Bernet *et al.* (1999) modificados para este estudio (Tabla 2).

Tabla 2. Grados de severidad y extensión para las lesiones.

GRADO	SEVERIDAD Y EXTENSIÓN DE LA LESIÓN
1	Leve: El dinamismo celular y la integridad de los tejidos lesionados son ligeros y visibles con poca dificultad.
2	Moderado: Tanto las células como la integridad de los tejidos lesionados muestran una actividad reducida evidente.
3	Severo: La actividad celular se torna agresiva y la pérdida de la integridad de los tejidos lesionados es evidente, la arquitectura de la unidad funcional respiratoria (filamento branquial), se ve seriamente alterada dificultando su identificación.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.3.1 Variables cuantitativas

Los datos obtenidos de los valores hematológicos en los niveles de infestación del copépodo *Pseudochondracanthus* sp., fueron analizados a través de la prueba de Friedman en un ANOVA factorial, en la que se incluyeron variables independientes como abundancia total del parásito para cada branquia y segmento; y como factores, el porcentaje de hematocrito y la hemoglobina. Se realizaron pruebas de Tukey para conocer cuál o cuáles de las variables son las que presentan las diferencias significativas. Dentro del análisis se incluyeron factores para comprobar las diferencias existentes entre el nivel de parasitación por pez y el conteo diferencial para cada tipo celular (eritrocitos, leucocitos y trombocitos), incluyendo el tamaño de cada tipo celular para conocer si existen alteraciones a este nivel relacionadas con la presencia del parásito; todo lo anterior seguido por la correspondiente prueba de Tukey. Adicionalmente se realizó un análisis de correlación de Pearson entre la longitud total y el número de parásitos, para



determinar si el grado de parasitación depende del tamaño del pez. Además para conocer si existe una correlación entre el bienestar nutricional y el nivel de infestación (Correlaciones de Spearman, para datos no paramétricos).

5.3.2 Variables cualitativas

Se realizaron análisis descriptivos de los cambios histológicos que se presentaron en los filamentos branquiales por la presencia del copépodo.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 24 peces con un peso promedio de 223.22 ± 35.81 g., una longitud promedio de 21.04 ± 1.21 cm. y una altura de 4.42 ± 0.34 cm. Los parámetros del agua registrados diariamente mostraron: Temperatura del agua entre 25- 29 ° C, pH de 7.7 a 7.9, oxígeno disuelto 5 a 7 mg/l y salinidad de 29 a 35 ppm.

Se encontraron un total de 208 copépodos, con una prevalencia del 100% y una abundancia e intensidad media de 7.42 parásitos/pez con un intervalo de 1 a 13. Se observó mortalidad al inicio del periodo de estudio (3 peces), estos organismos mostraron placas blanquecinas (similares a abscesos) y desgarramiento ocasionado por mordidas que se hicieron entre ellos mismos durante el periodo de aclimatación.

Los peces no mostraron cambios de comportamiento (natación lenta, nado errático, disminución del apetito). Ingirieron el alimento que se les suministró. Externamente se encontraron normales con respecto a coloración y peso. Sin embargo, algunos de los peces muestreados presentaron hemorragias petequiales en la aleta caudal y aletas anales debido a procesos de cicatrización después de una infestación por parásitos de la familia Caligidae (*Lepeophtheirus* y *Caligus*) que se presentó durante el periodo de aclimatación.

Aunque los parásitos crustáceos no son tan numerosos como los protozoos o los helmintos, algunos son importantes patógenos y causan pérdidas económicas considerables. Los copépodos parásitos *Ergasilus sieboldi* y *Lernaea cyprinacea* han generado problemas veterinarios en peces ciprínidos. *Lernaeocera branchialis* es probablemente el parásito más serio del bacalao (*Gadus morhua*) (Boxshall *et al.*, 1993) ya que afecta la reproducción, retardando el desarrollo de las gónadas y la madurez sexual, ejercen una negativa influencia en la conversión de alimento, resultando en un efecto significativo en el factor de condición, también pueden causar mortalidad asociada con la pérdida de sangre, lesiones abiertas y posible oclusión de vasos o aorta. También se han reportado diferentes especies de copépodos de la familia Chondracanthidae en peces que están siendo explotados o potencialmente explotados, como es el caso del pez globo tigre japonés parasitado por el copépodo *Neobrachiella fugu*. En Australia *Chondracanthus* (Delaroche, 1811), que parasita a *Latris lineata*; en el lenguado de California *Paralichthys californicus*. Sin embargo, investigaciones publicadas sobre los daños ocasionados por representantes de la Familia Chondracanthidae en los peces están ausentes.

Tampoco existen antecedentes sobre la hematología de *Sphoeroides annulatus* y se desconoce el ciclo de vida de *Pseudochondracanthus* sp., por lo que los resultados obtenidos en el presente estudio serán comparados con especies de teleósteos que comparten preferencias térmicas y osmóticas.



6.1 DISTRIBUCIÓN DEL PARÁSITO

Pseudochondracanthus sp., fue encontrado en la parte media y distal del filamento branquial (Fig. 7); los sitios de preferencia del copépodo por segmentos y arcos branquiales de *Sphoeroides annulatus* infestados naturalmente se observan en la Fig. 8 A y B. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre los segmentos A y C con relación al segmento B indicando la preferencia de los copépodos parásitos por los segmentos branquiales dorsal y ventral de la branquia.

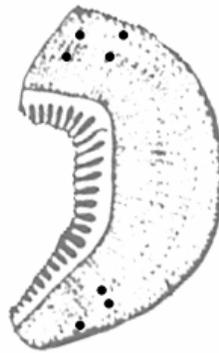


Figura 7. Localización del parásito en el filamento branquial de *Sphoeroides annulatus*. Cada punto representa un parásito individual.

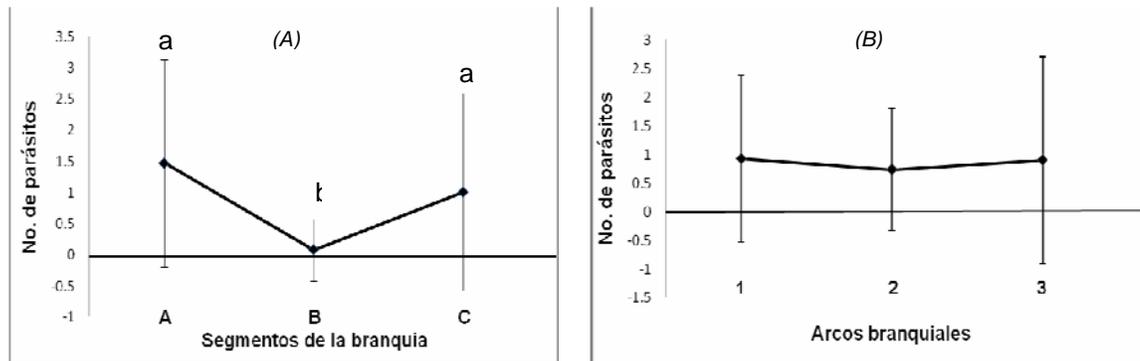


Figura 8. Sitio de preferencia de *Pseudochondracanthus* sp., por segmentos (A) y por arcos branquiales (B) de *Sphoeroides annulatus* infestados naturalmente. Letras diferentes: existe diferencia significativa $P < 0.05$.

La distribución del parásito entre cada uno de los arcos branquiales del botete diana no mostró diferencia significativa ($P > 0.05$).

Diferentes explicaciones han sido dadas para la selección de microhábitats observados para parásitos branquiales. Las diferencias en los volúmenes de agua que pasan por los arcos branquiales de los peces, así como la fuerza y la

dirección de la corriente de agua pueden verse reflejadas en las distintas oportunidades que tiene el parásito para adherirse (Llewellyn, 1966) y distribuirse en los filamentos branquiales (Suydam, 1971). En este estudio se observó que la mayoría de los parásitos en fase adulta se encontraron adheridos en la zona basal y media de los filamentos branquiales; esta preferencia por la porción basal y media del filamento puede estar relacionada con la estabilidad del sitio de fijación del parásito. Las zonas distales son conocidas por ser las más expuestas a las corrientes de agua. En cuanto a la preferencia por los segmentos *Pseudochondracanthus* sp., mostró tendencia a ubicarse en los segmentos A y C, mientras que el segmento central o B fue el menos parasitado. Esta inclinación hacia el final de los arcos branquiales puede estar relacionada con el bajo volumen y caudal, comparado con la región central de la hemibranchia donde la superficie de área lamelar y el flujo de agua son mayores (Hughes 1970; Perna *et al.*, 1996). Ramasamy *et al.* (1985) notaron que los parásitos que viven en la parte media distal de los filamentos branquiales frecuentemente tienen ganchos adicionales y grandes para adherirse.

Existen muchos estudios acerca de la distribución de ectoparásitos en las branquias de los teleósteos, pero las razones fundamentales para la observación de distribución son con frecuencia inexactas. Muchos parásitos copépodos de branquias y cavidad branquial de teleósteos muestran sitios claros de preferencia (Roubal, 1999).

6.2 ASPECTOS GENERALES DEL CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de *Pseudochondracanthus* sp., está compuesto por 4 fases y 6 estadios: Un estadio naupliar, 4 estadios de copepodito, un preadulto y un adulto. El nauplio es nadador de vida libre. El estadio copepodito es de vida parásita y constituye la fase infestiva, se sujeta a la branquia mediante un apéndice modificado y maxilípedos en forma de gancho. Los estadios preadulto y adulto se mantienen fijos con las estructuras nombradas anteriormente.

Se encontró que las hembras de *Pseudochondracanthus* sp. (Fig. 13B) produjeron dos pares de sacos ovígeros, de color blanco casi transparente. Se observó un punto de pigmentación café en cada huevo, conocido como huevos viables y listos para eclosionar (Fig. 9). El saco se rompió por su parte distal sin desprenderse de la hembra.

Izawa (1986), describió tres estadios naupliares presentes en el género *Pseudacanthopsis*, *Praecidochondria* y *Acanthochondria* y 5 estadios de copepodito precediendo al adulto de *Acanthochondria*: sugiere que este patrón de tres nauplios y cinco copepoditos podría ser encontrado en todos los Chondracanthidae.



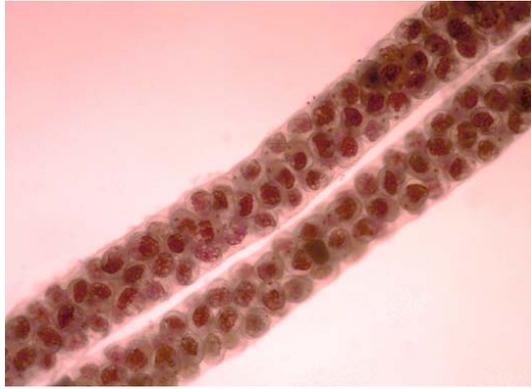


Figura 9. Huevos de hembra *Pseudochondracanthus* sp., en agua de mar, antes de la eclosión. (100X)

El primer estadio naupliar tiene de largo 233 μm y de ancho 180 μm , su cuerpo es ancho y ovoide. Su armadura es simple, consistente en un par de setas velludas. Labrum menos desarrollado e indefenso. Labio indiscernible. Tres pares de apéndices cortos comparados con el tamaño del cuerpo. Mandíbula menos desarrollada (Fig. 10).



Figura 10. Primer estadio naupliar de *Pseudochondracanthus* sp., (400X).

Los primeros copepoditos fueron colectados a las 72 horas a una temperatura de 26° C; los cuales se encontraron sujetos al arco branquial, de acuerdo a descripciones para parásitos copépodos realizadas por Izawa (1986), se estableció que el primer copepodito colectado se encontraba en fase II, compuesto por un cefalotórax, metasoma y urosoma (Fig. 11).



Figura 11. Copepodito II, de *Pseudochondracanthus* sp., ventral (400X)

El copepodito III, fue colectado a los 6 días, a una temperatura de 25° C. Una longitud de 380 μm su cuerpo es más fuerte que el estadio anterior especialmente en la porción meta-urosoma, se incrementaron los segmentos del urosoma en uno (3 segmentos). La porción posterior corresponde a los dos últimos segmentos estrechos, con dos elevaciones transversas cubiertas con espínulas más prominentes que en el estadio anterior (Fig. 12A).

El copepodito IV (Fig. 12B), se colectó a los 11 días, con una temperatura de 23°C, es similar al estadio III en forma, aunque en tamaño es más largo que éste. Hay aumento de un segmento en el urosoma (4 segmentos).

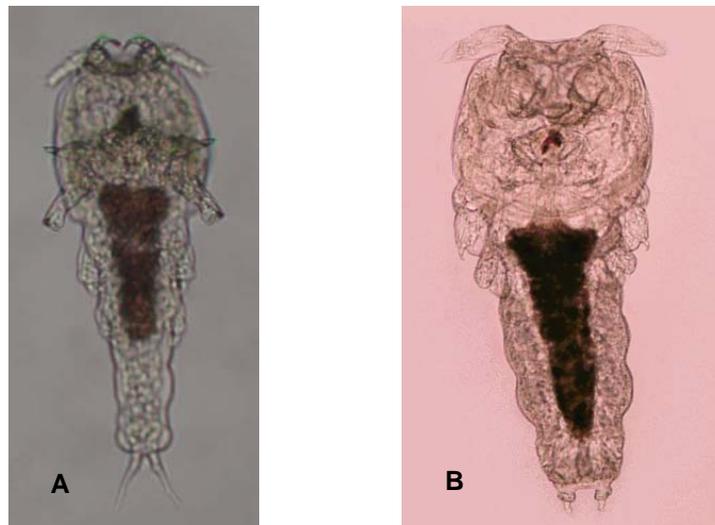


Figura 12. A. Copepodito III, y **B.** Copepodito IV de *Pseudochondracanthus* sp. (600X respectivamente)

El último estadio colectado fue preadulto, su cuerpo tiene de largo 4310 μm y ancho 1150 μm (Fig. 13A). Se colectó a los 20 días a una temperatura de 22 °C. El cuerpo comienza a crecer en la región posterior, la cabeza, el cuello y tronco, junto con el abdomen-genital están bien definidos. Anténula con parte distal pequeña y cilíndrica. Antena bisegmentada, segmento proximal sin armadura, segmento distal fuerte, en forma de gancho y estriado (Wilson, 1908).

La duración de los estadios preadulto y adulto del *Pseudochondracanthus* no es conocida, pero un adulto copépodo calígido puede sobrevivir por semanas o meses (De MeeuËs, *et al.*, 1993; Piasecki *et al.*, 1995).

El adulto hembra tiene su cuerpo dividido en cabeza, un corto cuello y un fuerte tronco. La boca se localiza en la región anterior y el cefalosoma lleva dos pares de apéndices ventrolaterales. Abdomen muy corto, fusionado indistintamente con las ramificaciones caudales, convergentes y lobuladas, con extremo alargado y puntiagudo distalmente, segmento genital mas largo que ancho, oval (Wilson, 1908), y sacos ovígeros ya formados. El largo total fue de 7520 μm (Fig. 13B).

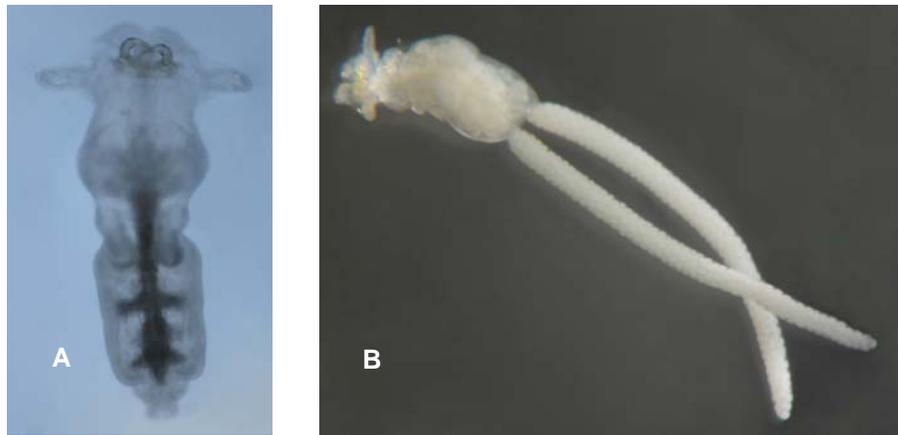


Figura 13. A. Preadulto, ventral (100X), y B. Adulto, de *Pseudochondracanthus* sp., ventral (Hembra ovígera).

6.3 HEMATOLOGÍA

6.3.1 PARÁMETROS SANGUÍNEOS

Se obtuvieron de la sangre de botete diana (*S. annulatus*), infestados con diferentes niveles de parasitación del copépodo *Pseudochondracanthus* sp., los valores del porcentaje de hematocrito, concentración de hemoglobina, concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), porcentaje de eritrocitos, leucocitos y trombocitos los cuales se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores hematológicos de botete diana con diferentes niveles de infestación ocasionados por el ectoparásito branquial *Pseudochondracanthus* sp.

PARÁMETROS	NIVELES DE INFESTACIÓN		
	1*	2*	3*
Hematocrito (%) (n=17)	32 ± 4.12 (26 – 38)	33.66 ± 5.08 (26 – 40)	27.5 ± 7.77 (22 – 33)
Hemoglobina (g/dL) (n=17)	5.90 ± 2.43 (4.12 – 12.07)	5.74 ± 2.23 (4.14 – 10.23)	4.59 ± 1.57 (3.83 – 5.35)
CHCM (g/dL) (n=17)	18.71± 8.31 (12.12- 40.23)	16.88 ± 4.66 (12.60 - 25.58)	16.81 ± 0.85 (16.21 -17.41)
Eritrocitos (%) n=24	93.44 ± 1.10 (91.21- 95.14)	92.83 ± 1.27 (91.1 - 94.59)	94.20 ± 0.73 (93.35 - 95.14)
Leucocitos (%) (n=24)	4.37 ± 0.95 (3.3 - 6.63)	4.46 ± 1.04 (3.45 -6.41)	3.26 ± 0.50 (2.75 -4.04)
Linfocitos (%) (n=24)	83.80 ± 7.18 (69.06 - 95.58)	89.69 ± 3.83 (85.22 - 95.58)	83.88 ± 7.08 (76.25 - 94.61)
Granulocitos (%) (n=24)	13.07 ± 6.47 (3.23 - 25.41)	9.91 ± 3.76 (4.41 – 14.01)	13.76 ± 6.35 (5.38 – 22.3)
Monocitos (%) (n=24)	3.04 ± 2.38 (0.62 - 8.96)	0.37 ± 0.36 (0 – 0.75)	2.34 ± 1.73 (0 – 5.07)
Trombocitos (%) (n=24)	2.17± 0.65 (0.8 – 3.23)	2.69 ± 0.99 (1.32 – 4.46)	2.61 ± 0.71 (1.45 – 3.46)

* Número de copépodos: Nivel 1 (1-4), nivel 2 (5-9) y nivel 3 (10-13).

Todos los valores son medias ± desviación estándar. Los valores entre paréntesis son el valor máximo y mínimo.

6.3.1.1 En el hematocrito (Ht) el valor más alto del **porcentaje** en los peces muestreados fue de 40% y el valor mas bajo fue de 22%, existe una tendencia a disminuir cuando hay un número alto de parásitos como es el caso del nivel 3 (Tabla 3). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres niveles de infestación ($P > 0.708$), (Tabla 3).

6.3.1.2 En la hemoglobina (Hb) el valor mas bajo fue de 3.83 g dl⁻¹ y el más alto 12.07 g dl⁻¹, al igual que en el Ht, en la Hb existe una tendencia a disminuir en el nivel 3 el cual presenta un mayor número de parásitos; pero no hubo diferencias significativas entre los niveles de infestación ($P > 0.515$), (Tabla 3).

6.3.1.3 En la Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) el valor más alto de Hb ocupado en un eritrocito fue de 18.71 g dl⁻¹ y el más bajo 16.81 g dl⁻¹, al igual que en los índices anteriores existe una tendencia a disminuir en el nivel 3, que presenta el número más alto de parásitos y tampoco hubo diferencias significativas ($P = 0.528$), (Tabla 3).

6.3.1.4 En el porcentaje de eritrocitos no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P = 0.09$) entre los tres niveles de infestación, se puede observar



que los valores promedios 93.44%, 92.83% y 94.20%, que corresponden al nivel 1, 2 y 3 respectivamente, se puede afirmar que son muy similares (Tabla 3).

6.3.1.5 En el porcentaje de leucocitos de los peces se observó una disminución en el nivel de infestación 3, que representa 1.21% menos que los valores promedios observados en los niveles 1 y 2. Se encontró que esta diferencia fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$), pero cuando se compararon el nivel 1 con el 2 no hubo diferencias (Tabla 3).

6.3.1.6 En el recuento diferencial de los diferentes tipos de leucocitos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$), al comparar el porcentaje de linfocitos y granulocitos de los peces muestreados con los diferentes niveles de infestación. En el caso de los monocitos se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), en el caso del nivel de infestación 2 cuando se comparó con el nivel 1 (Tabla 3).

6.3.1.7 En el porcentaje de trombocitos no se encontraron diferencias estadísticas ($P = 0.336$), entre los tres niveles de infestación, ya que se puede observar que los valores promedio fueron 2.17%, 2.69% y 2.61% para los niveles 1, 2 y 3, respectivamente (Tabla 3).

6.3.1.8 La diferenciación de los diferentes tipos celulares se realizó en los frotis sanguíneos de *S. annulatus* y los tipos celulares como: eritrocitos, leucocitos (linfocitos, granulocitos y monocitos) y trombocitos se evidenciaron mediante la coloración Wright – Giemsa.

6.3.1.8.1 Los eritrocitos fueron las células predominantes en *S. annulatus* con un porcentaje promedio en general de 93.45 ± 1.15 ; independientemente de los niveles de infestación. Estas células presentan una forma elíptica, núcleo central bien definido y de color violeta, algunas células presentan una cromatina granulosa, otras células con una cromatina condensada y otras con una cromatina vacuolizada y el citoplasma se observa basófilo. Su diámetro promedio es de $7.61 \pm 0.66 \mu\text{m}$. Los eritrocitos inmaduros se observaron de forma redonda en una menor proporción que los eritrocitos maduros (Fig. 14).



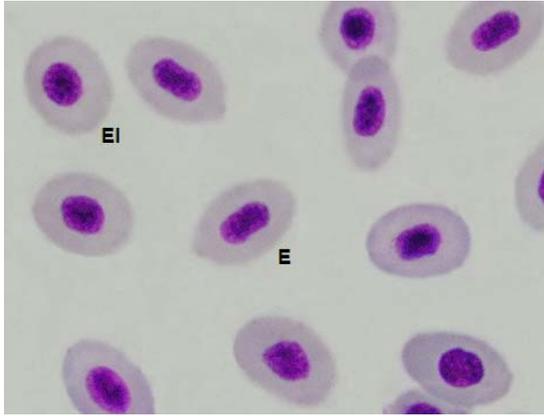


Figura 14. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando algunos eritrocitos maduros (**E**) e inmaduros (**EI**) de botete diana, *Sphaeroides annulatus* teñidos con Wright-Giemsa (1000X).

6.3.1.8.2 Los tipos de leucocitos observados en *S. annulatus*, se caracterizaron como: linfocitos, granulocitos (neutrófilos y eosinófilos), monocitos en ese orden de abundancia. No se observaron basófilos. Los leucocitos presentaron un porcentaje promedio en general de 4.09 ± 1.02 ; independientemente de los niveles de infestación.

6.3.1.8.2.1 Los linfocitos fueron las células más abundantes de los diferentes tipos de leucocitos, ya que presentaron un porcentaje promedio de 85.54 ± 6.67 .

Morfológicamente estas células se observaron de forma redondeada a ovalada, con un núcleo de color violeta que ocupa gran parte del citoplasma, el cual es escaso de color azul oscuro, la cromatina es granulosa del mismo color que el núcleo y presentan pocos gránulos azurófilos. Se pueden observar linfocitos grandes y pequeños, con un diámetro promedio de $5.06 \pm 0.52 \mu\text{m}$; algunas de estas células pueden presentar proyecciones pseudopodiales (Fig. 15).

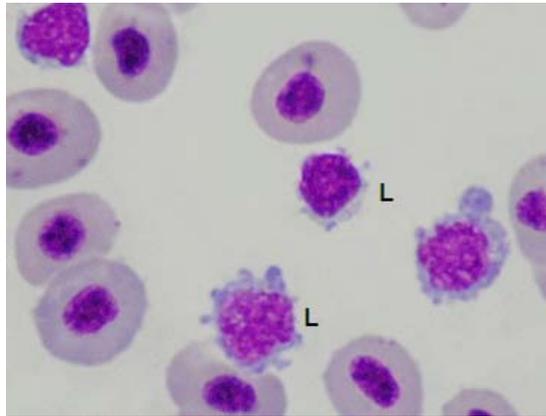


Figura 15. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando linfocitos (**L**) de botete diana, *Sphoeroides annulatus* teñidos con Wright-Giemsa (1000X).

6.3.1.8.2.2 Los granulocitos fueron el segundo tipo de leucocitos más abundantes, ya que se observó un porcentaje promedio general de 12.32 ± 5.76 . Son células más grandes que los linfocitos y más pequeños que los monocitos, con un diámetro promedio de $8.38 \pm 0.80 \mu\text{m}$. Se observaron de forma ovalada a redonda. Dentro de este grupo celular, se observaron dos tipos celulares distintos y fueron clasificados como: neutrófilos y eosinófilos.

6.3.1.8.2.2.1 Los neutrófilos son células redondas u ovaladas, con un citoplasma vacuolado y que presenta una fina granulación de color eosinofílica, con un núcleo excéntrico, redondeado, en ocasiones lobulado y de color violeta, con una cromatina granulosa y gránulos azurófilos (Fig. 16).

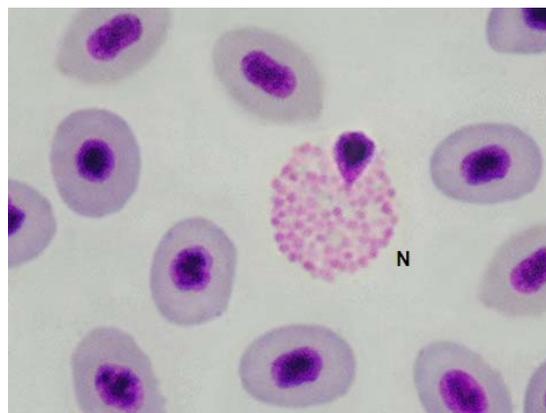


Figura 16. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando un neutrófilo (**N**) de botete diana, *Sphoeroides annulatus* teñidos con Wright-Giemsa (1000X).

6.3.1.8.2.2 Los eosinófilos son células más pequeñas que los neutrófilos de forma elíptica o redondeada, bien definida. Núcleo excéntrico, ovalado, vacuolado y eosinofílico, con una cromatina laxa. El tamaño de la célula puede variar de acuerdo con la cantidad y tamaño de los gránulos eosinófilos acumulados en el citoplasma, cuya coloración se observa ligeramente rosada (Fig. 17).

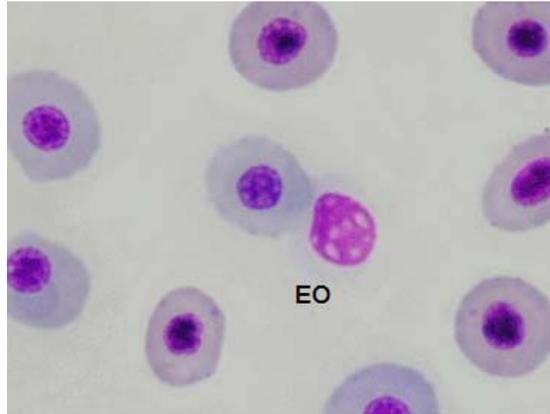


Figura 17. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando un eosinófilo (**EO**) de botete diana, *Spherooides annulatus* teñido con Wright-Giemsa (1000 X).

6.3.1.8.2.3 Los monocitos son el grupo de células menos abundantes comparado con el resto de los leucocitos con un porcentaje promedio en general de 2.09 ± 2.12 . Sin embargo, fueron las células de mayor tamaño, ya que su diámetro promedio fue de $9.82 \pm 0.74 \mu\text{m}$ de forma redonda y en ocasiones irregular, de color azul, con un núcleo grande excéntrico irregular y de color violeta, cromatina poco densa; presencia de vacuolas en el citoplasma y de color azul con gránulos azurófilos pequeños (Fig. 18).

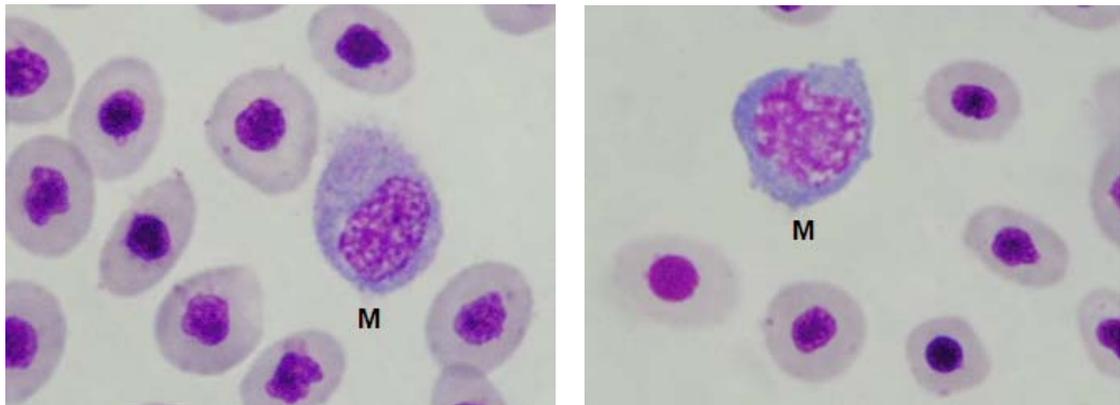


Figura 18. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando monocitos (**M**) de botete diana *Spherooides annulatus* teñidos con Wright-Giemsa (1000X).

6.3.1.8.3 Los trombocitos presentaron un porcentaje promedio general independientemente de los niveles de infestación de 4.67 ± 0.78 y las células se observaron de diferentes formas: largas, redondeadas y ovaladas. Predominaron las formas ovaladas con un núcleo alargado y color púrpura, con poco o nulo citoplasma y sin gránulos. Su diámetro promedio fue de $7.28 \pm 0.59 \mu\text{m}$ (Fig. 19).

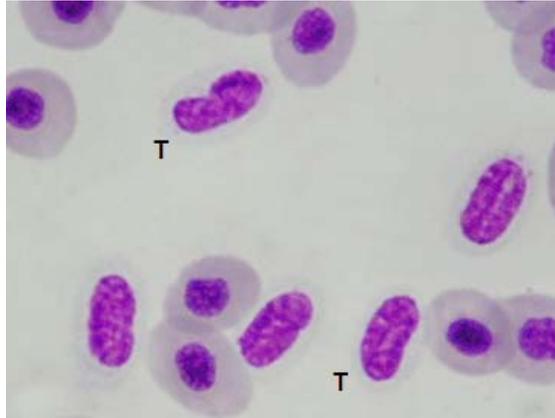


Figura 19. Fotomicrografía de frotis de sangre mostrando trombocitos (T) de forma ovalada de botete diana, *Spherooides annulatus* teñidos con Wright-Giemsa (1000X).

Los parámetros hematológicos de los peces varían dependiendo del medio en el que viven los organismos además de sus características conductuales. Esto provoca que cada especie tenga sus propios parámetros (Roberts, 1981). Por lo cual, los índices hematológicos pueden ser usados como método efectivo para el monitoreo físico y patológico de cambios en el pez. Sin embargo, los resultados pueden variar de un estudio a otro. En el presente trabajo los botetes infestados mostraron un hematocrito similar a peces que no han sido atacados por parásitos como es el caso de los peces *Pagrus pagrus* 36.10%, *Dentex dentex* 34.35% (Pavlidis *et al.*, 2007). Los resultados parecen indicar que el parásito objeto de estudio no es hematófago y su alimentación está compuesta de mucus y células epidérmicas de las branquias del botete diana, en contraste con *Lernaeocera branchialis* que ingiere glóbulos rojos del pez *Gadus gadus* ocasionando desprendimiento celular que da lugar a la formación de trombos (Smith *et al.*, 2007). Un estudio en *Plectropomus leopardus* infestado por adulto y preadulto del parásito *Dissonus manteri* muestra como la penetración de sus maxilípedos en el filamento branquial causan hemorragia focal y extravasación observada en varios cortes histológicos (Bennett *et al.*, 2001).

Los valores de hemoglobina para los tres niveles de infestación en el botete diana 5.90, 5.74 y 4.59 g dl⁻¹ fueron similares a los mostrados por Ogawa e Inouye (1997), en *Takifugu rubripes* con una infestación experimental de *Heterobothrium okamotoi* tomados el día 49, 63 y 81 post infestación (por debajo de 7 hasta 4 g dl⁻¹). Los valores de la concentración de hemoglobina en estas dos especies son

relativamente bajas comparadas con otras especies como en *Thunnus macoyii* 13.25-17.92 g dl⁻¹ (Rough *et al.*, 2005).

En cuanto, al porcentaje de eritrocitos contados para el botete diana se hallan entre los intervalos encontrados para otros peces teleósteos. También la morfología y el diámetro de los eritrocitos y leucocitos coinciden con descripciones morfológicas y de tinción definidos para teleósteos por Roberts (1981), Stoskopf (1993); e Hibiya (1994). Sin embargo, en peces la concentración de leucocitos es muy variable, dependiendo de la especie y de las condiciones fisiológicas (Fernández *et al.*, 2002). En este estudio se observó una disminución en el nivel de infestación 3 (10-13 parásitos), investigaciones realizadas por Celik y Aydin (2006) en el pez escorpión parasitado por *Trachelobdella lubrica*, presentaron una disminución en el número de leucocitos de los peces infestados como resultado del estrés causado por el ataque de penetración del parásito. Siguiendo la línea leucocitaria, se puede decir que son los linfocitos los que se encontraron en mayor porcentaje que el resto de los leucocitos (85.54 ± 6.67) lo que coincide con las descripciones hechas para teleósteos por Stoskopf (1993).

De las características morfológicas de los neutrófilos se puede hablar de la variabilidad en diferentes especies de peces. En este estudio se observaron células redondas u ovaladas, con un citoplasma vacuolado que presenta una fina granulación, lo que concuerda con dos tipos de neutrófilos descritos para peces, gránulos pequeños y homogéneos; y gránulos largos y ovales. En cuanto a su número en sangre es bastante importante, pero no son los leucocitos que predominan en circulación. En este estudio representaron el 13.07%, 9.91% y 13.76 % en los niveles de infestación del 1 al 3 respectivamente en conjunto con los eosinófilos (granulocitos), que están relacionados con la estimulación antigénica en infestaciones parasitarias. En enfermedades infecciosas y condiciones de estrés se eleva su número en sangre (Ellsaesser *et al.*, 1985). Contrario a lo esperado no se presentó un incremento de los granulocitos al mayor nivel de infestación, atribuible a que los niveles de infección logrados en este estudio no fueron lo suficientemente altos como para causar esta variación.

No se encontraron granulocitos de tipo basófilo, la literatura reporta que estos se presentan de forma escasa en la sangre periférica, e incluso la ausencia de estas, es habitual en la mayoría de los teleósteos (Fernández *et al.*, 2002) ya que se encontrarían en otros órganos como dermis, tejido intestinal, branquias, tejido hematopoyético, vejiga natatoria, epitelio nasal, corazón y en general en tejidos inflamados (Ellis *et al.*, 1977; Fernández *et al.*, 2002).

Los monocitos representan el 0.1 % de los leucocitos, y tienden a aumentar tras una infección (Ellis *et al.*, 1981), sin embargo; en el presente trabajo existieron diferencias significativas entre los niveles 1 (3.04 ± 2.38) y 2 (0.37 ± 0.36). Fernández (2002) explica que la concentración de monocitos en tejido sanguíneo es disminuida por enfermedades bacterianas como BKD y vibriosis, su presencia es abundante en tejidos inflamados. Por otro lado, es necesario incluir rutinas de



repetición y tener mas de una persona que realice los conteos diferenciales, para ayudar a que las células sean identificadas correctamente (Hrubec *et al.*, 2000).

La respuesta a la inflamación del tejido por injuria se caracteriza por una acumulación rápida de numerosos neutrófilos y macrófagos en el sitio de la lesión. Aunque ambos empiezan a migrar a los vasos sanguíneos adyacentes, al mismo tiempo los neutrófilos lo hacen más rápido. Los macrófagos alcanzan su máximo nivel un poco más tarde y generalmente participan como células fagocíticas en lesiones crónicas e importantes en los tejidos de granulación. Por lo tanto, tiene una vida más larga, proliferan en sitios de inflamación prolongada, considerando su gran número en reacciones de larga duración (Slauson *et al.*, 2002). La variabilidad de las formas de trombocitos vistas en este estudio es soportado por los encontradas por otros autores, incluyendo Ellis (1977) quien categorizó estas diferentes formas en 4 tipos específicos: alargados, ovoides, huso y núcleo alargado. La estandarización de parámetros hematológicos se dificulta porque estos pueden estar influenciados por deficiencia en la dieta, enfermedad y situaciones de estrés ambiental (Silveira y Rigores, 1989).

6.4 FACTOR (K) CONDICIÓN CORPORAL

Los peces muestreados presentaron un factor de condición (K) de 2.38 ± 0.19 , con valores entre 1.85 – 2.86, lo que indicaría un valor de sobrealimentación de los peces en un medio silvestre, que mantuvieron en condiciones de cautiverio. Los valores de referencia son entre 0,0 y 0,25 (desnutrido); entre 0,25 y 0,75 (bien alimentado) y entre 0,75 y 1 (sobrealimentado), valores mayores a 1 revelan sobrealimentación general. El factor K varía de acuerdo a la edad y al sexo de los individuos (Mayorga, 1992). Los análisis de correlación de Spearman entre el factor de condición y los diferentes niveles de infestación por *Pseudochondracanthus* sp., no fueron significativos ($r=0.25$; $P > 0.173$; $n=17$); sin embargo una de las variables del factor de condición, longitud total, se correlacionó significativamente ($P > 0.009$) con los niveles de infestación (Fig. 20).

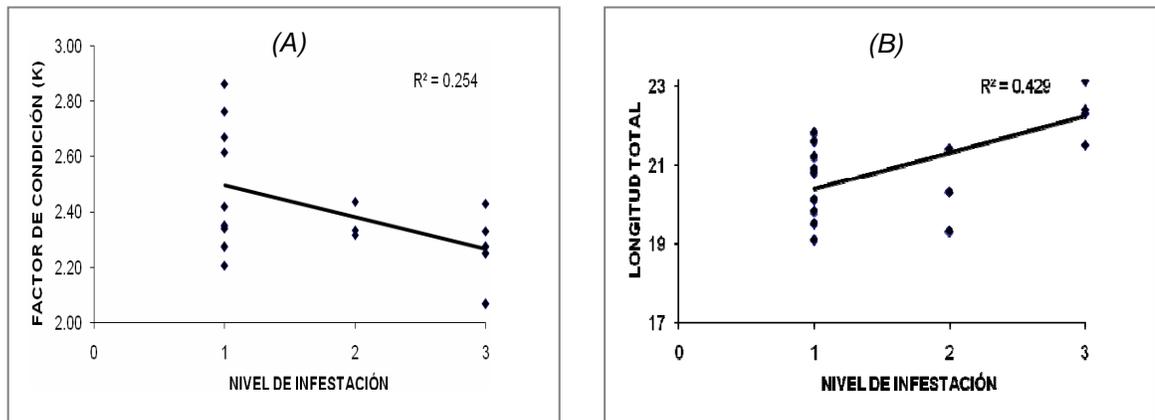


Figura 20. Correlación entre los niveles de infestación y el factor de condición (K), (A) y la longitud total (B) del botete diana, *Sphaeroides annulatus* ($P > 0.05$)



El tamaño de los peces, tiene una gran influencia en el número y ocurrencia de los parásitos branquiales. El promedio de copépodos en peces pequeños es significativamente mas bajo con respecto a peces medianos y grandes, además existe una correlación positiva entre abundancia y la longitud del pez, lo que sugiere que los parásitos branquiales se acumulan durante el tiempo de vida del hospedero (Geets *et al.*, 1997). En este estudio se corroboró que mientras mayor es la longitud del pez mayor es el número de parásitos encontrados como se observa en el nivel 3 en la figura 20.

La determinación del factor de condición ha sido utilizada muy efectivamente para comparar dos o más poblaciones de peces viviendo bajo condiciones similares o diferentes, así como aspectos nutricionales, de densidad en los sistemas de cultivo, alteraciones de los factores ambientales y la salud de los organismos (Weatherley *et al.*, 1985). Se debe considerar que el factor de condición encontrado en este estudio es relativamente alto comparado con otros peces ya que los resultados muestran un factor de condición de 2.38 que podría revelar que los niveles de parasitismo no ocurrieron en tiempo suficiente para afectar la salud de los peces y/o perjudicar el desarrollo del pez.

Sin embargo, al no tener cómo comparar peces infectados de no infectados, y no tener referencias de este factor para esta especie, es necesario realizar estudios que permitan conocer el valor normal.

6.5 HISTOLOGÍA

Cada uno de los arcos branquiales encontrados en los peces teleósteos, es apoyado por un esqueleto óseo (cartilaginoso en peces jóvenes). Desde el arco divergen filamentos o lamelas primarias (**LP**), dispuestos en hileras que albergan una importante cantidad de células productoras de moco o caliciformes (**CC**), las cuales tienen una importancia metabólica, así como barrera inmunológica y mecánica. También en dicha estructura se encuentran las no menos importantes células de cloro (**CCI**), interviniendo principalmente en la secreción de cloruro de sodio y en diversos procesos osmorregulatorios y metabólicos.

En ambos extremos de cada lamela primaria está localizada una serie de lamelas aplanadas o lamelas secundarias (**LS**), en donde se lleva a cabo el intercambio gaseoso, las cuales a su vez están formadas y sujetas por una cadena de células pilares (**CP**), envueltas en un tejido de revestimiento simple plano o epitelio lamelar (**EL**) (Fig. 21). (Ferguson, 2006).



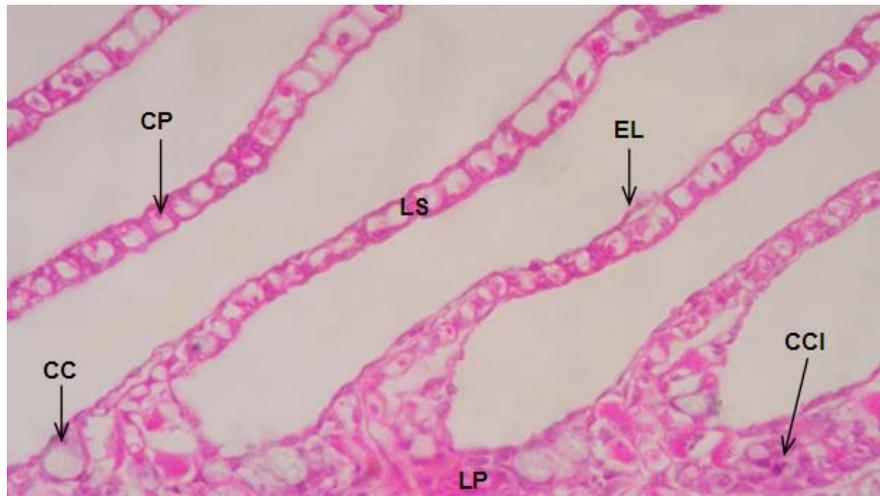


Figura 21. Corte histológico que muestra la apariencia característica de un filamento branquial normal de botete diana, *Spherooides annulatus*, en el cual se aprecian Lamela Primaria (LP), Lamela Secundaria (LS), Epitelio Lamelar (EL), Célula Pilar (CP), Célula Caliciforme (CC) y Célula de Cloro (CCI) (600X).

6.5.1 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO

En las branquias obtenidas y procesadas para histopatología del botete diana que fueron afectadas por la presencia del parásito, se observó una infiltración leucocitaria de predominio mononuclear en la lamela primaria (ILM-P) y en lamelas secundarias (ILM-S), atrofia de epitelio lamelar (AEL), necrosis del epitelio lamelar (NEL), hipertrofia de células caliciformes (HCC), hiperplasia del epitelio lamelar (HEL), fusión de lamelas secundarias (FLS) (Figuras 22-26).

Las lesiones histológicas presentes en este estudio incluyen la alteración del epitelio lamelar y de los filamentos branquiales adyacentes ocasionados por el parásito, las cuales se categorizaron en tres grados de acuerdo a la severidad y extensión (Tabla 2).

Los filamentos branquiales afectados por la presencia del estadio copepodito y el copépodo parásito adulto (*Pseudochondracanthus* sp.), se caracterizaron por mostrar alteración del epitelio lamelar en los tres grados de severidad, manifestando una disminución en la extensión de las lamelas secundarias debido a la pronta hiperplasia y fusión de las mismas, como consecuencia de una respuesta inflamatoria de tipo mononuclear, al efecto mecánico de fijación (aprehensión a la lamela primaria), causando obstrucción del flujo sanguíneo en los vasos lamelares (Fig. 22) y al efecto natatorio que ejerce el copépodo parásito sobre la superficie tisular (Fig. 26). Así como la posterior hipertrofia de las células productoras de moco (caliciformes), concluyendo en un proceso crónico con pérdida de la función de la porción de filamento branquial, atrofia de las lamelas secundarias y posterior formación de tejido necrótico de morfología nodular. Estas

lesiones también se presentan en los filamentos branquiales adyacentes al copépodo parásito.

Muchos copépodos parásitos causan oclusión significativa de la arteria de la lamela o el filamento por constricción o penetración del vaso con sus apéndices o consecuencia de proliferación de tejido local (Oldewage *et al.*, 1987; Roubal 1989a). En ocasiones el ataque que el adulto ejerce sobre el filamento es prolongado, soportando la idea que éste produce efectos en la vasculatura de la branquia. De la misma forma, los estadios de copepoditos podrían afectar la vasculatura provocando daño directo en éstos y proliferación de tejido local que resulta en la pérdida de la estructura lamelar (Bennett *et al.*, 1994). El modo de sujeción de *Pseudochondracanthus* sp., aun no ha sido estudiado, pero estudios preliminares de la boca revelan una estructura parecida a la descrita por Yamaguti y Yamusa (1959), para *Pseudocanthocantopsis apogonis*, perteneciente a la familia Chondracanthidae.

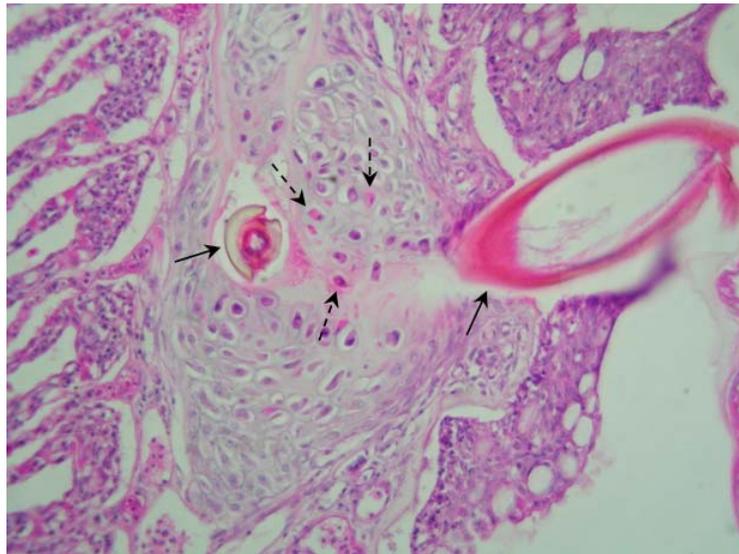


Figura 22. Proceso crónico en el cual se observa la presencia de células de tipo mononuclear en la lamela primaria (ILM-P) (flechas segmentadas), por el método de fijación (flechas continuas), de *Pseudochondracanthus* sp. (400X)

6.5.1.1 Categorización tisular

Las láminas histológicas con grado de severidad leve o grado 1, revelaron una hiperplasia focal del epitelio lamelar, hipertrofia e hiperplasia de las células caliciformes asociadas a la presencia del copépodo adulto (Figura 23).

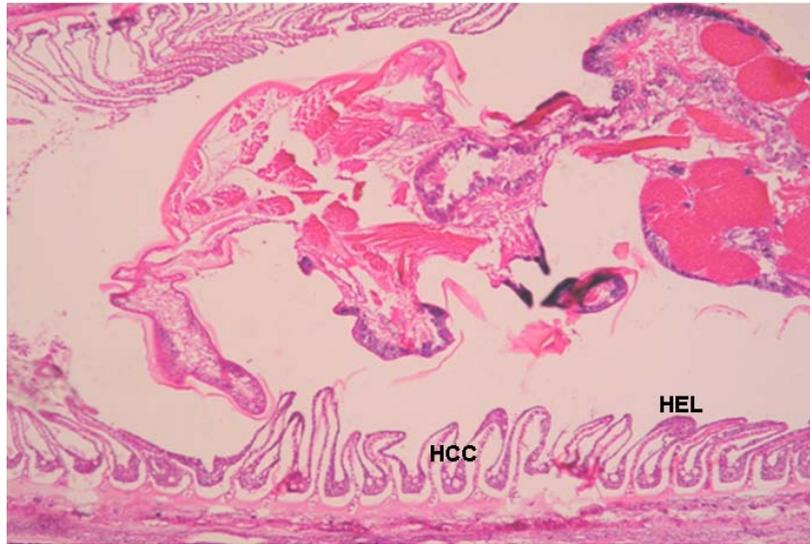


Figura 23. Grado 1. Hiperplasia leve y desprendimiento del epitelio lamelar (**HEL**); hiperplasia e hipertrofia de células caliciformes (**HCC**), asociada a la presencia de *Pseudochondracanthus* sp. (100X).

Los adultos de *Pseudochondracanthus* sp., se fijaron a los filamentos branquiales mediante los órganos de adhesión modificados y los maxilípedos ocasionando inflamación de la lamela primaria y de las lamelas secundarias adyacentes con hipertrofia de las células caliciformes e hiperplasia del epitelio lamelar. La severidad y extensión de las lesiones se consideran moderadas o propias del grado 2 (Fig. 24).

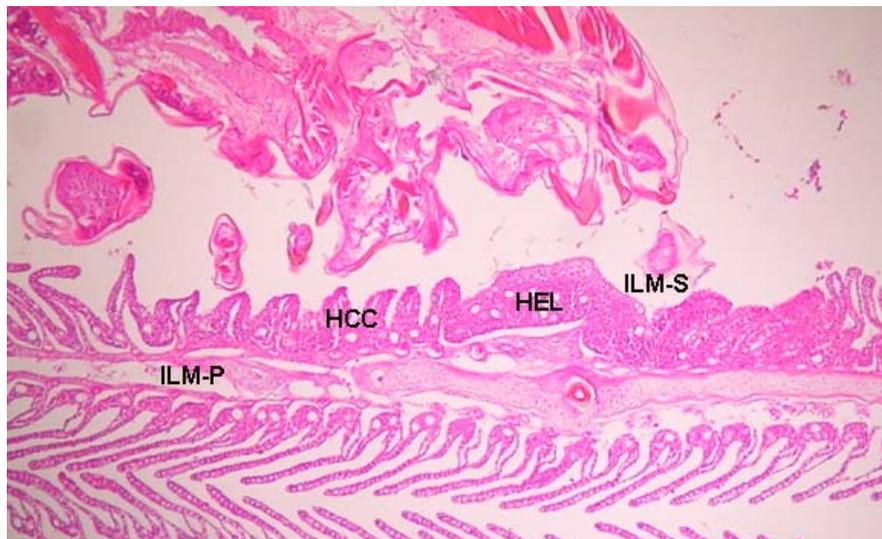


Figura 24. Grado 2. Inflamación de la lamela primaria (**ILM-P**) en el punto de fijación de *Pseudochondracanthus* sp., y de las lamelas secundarias (**ILM-S**) adyacentes. Nótese la hiperplasia del epitelio lamelar (**HEL**) e hipertrofia de las células caliciformes (**HCC**) (100X).

El proceso crónico de la infestación se caracterizó por necrosis y atrofia del epitelio lamelar con pérdida de la función de la unidad respiratoria evaluado como un cambio severo o grado 3 (Figs. 25 y 26). En este estado crónico de la infestación ocurre una infiltración celular con predominio de tipo mononuclear a lo largo del tejido proliferativo. Esta es una característica que ocasionan muchos copépodos branquiales oscilando las lesiones entre niveles bajos de infiltración de leucocitos hasta moderados, vistos en algunos ataques superficiales de ergasíidos, como en el pez *Acanthopagrus australis*, el cual es parasitado por el copépodo *Alella macrotrachelus* que ocasiona inflamaciones severas en branquias (Roubal 1989b). En el caso del *Pseudochodracanthus* sp., la patología asociada con pequeños nódulos en los filamentos branquiales del botete diana es comparable con estadios crónicos y agudos registrados en filamentos branquiales de *Plectropomus leopardos* al ser parasitado por *Dissonus manteri* (Bennett *et al.*, 2001); también se observó la misma patología en *Acanthopagrus Australis* al ser parasitado por el copépodo *Ergasilus lizae*, (Roubal, 1986).

En infestaciones crónicas, especialmente en las de tipo parasitario, se puede encontrar un gran número de células inflamatorias a lo largo del filamento, incluyendo neutrófilos, trombocitos, linfocitos y macrófagos (Ferguson, 2006). En algunas especies, el tejido proliferativo puede resultar en pérdida sustancial de estructura lamelar, especialmente en el sitio de ataque dentro de la zona de la lamela o de la punta del filamento (Paperna *et al.*, 1982; Roubal 1986; Benz *et al.*, 1990), (Fig. 25).

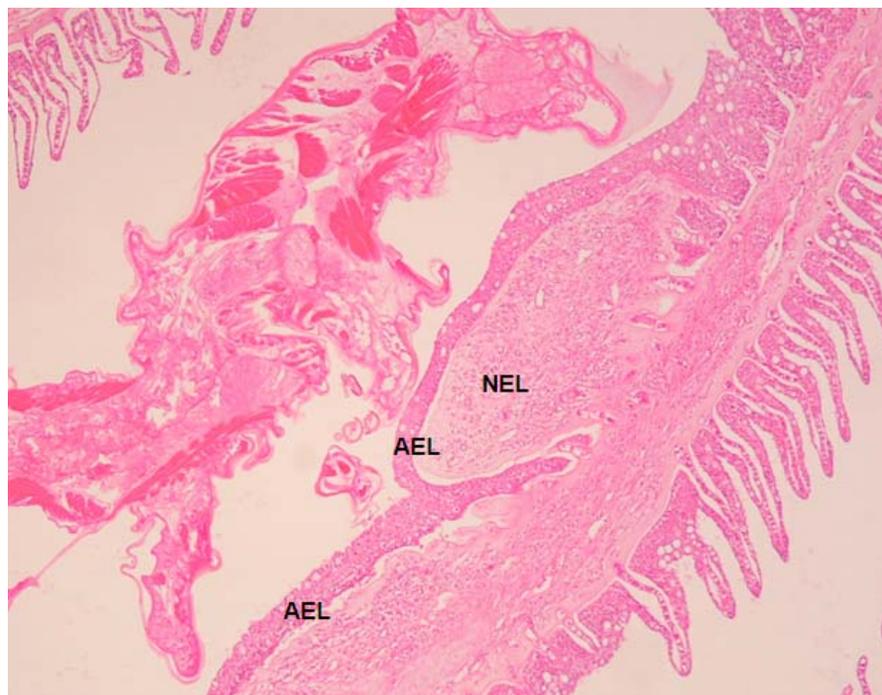


Figura 25. Grado 3. Proceso crónico con pérdida de la función de la unidad respiratoria. Atrofia de epitelio lamelar (**AEL**), necrosis del epitelio lamelar (**NEL**) asociado a *Pseudochondracanthus* sp. (100X)

Durante el desarrollo del ciclo de vida del parásito se observaron en el estadio de copepodito IV de *Pseudochondracanthus* sp., lesiones agudas pertenecientes al grado de severidad 3, las cuales se caracterizaron por presentar hiperplasia y fusión del epitelio lamelar como consecuencia de una reacción inflamatoria aguda (Fig. 26).

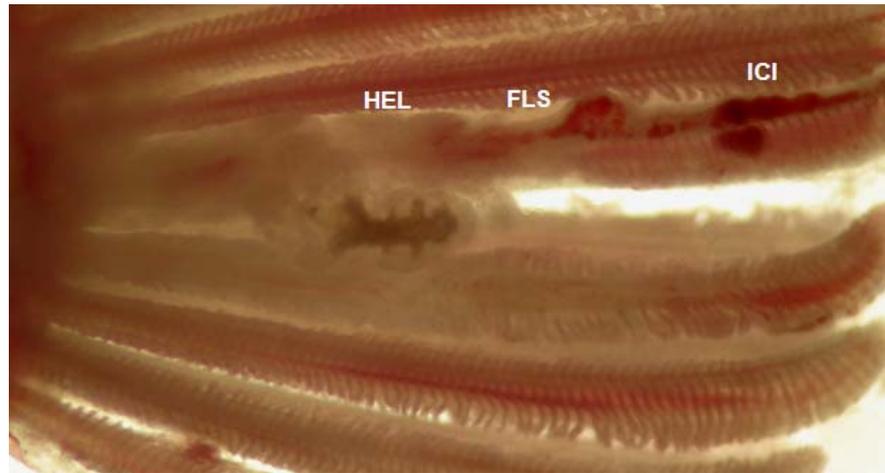


Figura 26. Grado 3. Infiltración de células de inflamación (**ICI**), hiperplasia (**HEL**), y fusión del epitelio lamelar (**FLS**) asociado al estadio de Copepodito IV de *Pseudochondracanthus* sp. (100X).

El parásito penetra el filamento, generando hiperplasia epitelial y tejido de granulación en el sitio de entrada, para finalmente ocasionar necrosis y fibrosis del tejido. Se puede sugerir que la patología local es pequeña estimando el tamaño del parásito, ya que la habilidad para penetrar y alimentarse de tejido es más profunda y mayor en adultos de *Pseudochondracanthus* sp., siendo mayor la respuesta proliferativa al ataque.

Otro aspecto que se debe considerar a nivel patológico es el impacto en la función respiratoria que podría tener la combinación de los estadios de copépodo, preadulto y adulto, en grandes densidades podrían producir altas infestaciones, especialmente porque la reducción de estadios tempranos en vida libre del ciclo del vida del parásito significa que el potencial de reinfección del hospedero es muy alto (Bennett 1999).

También el estudio histopatológico sugiere que la presencia de los parásitos ocasiona proliferación de células calciformes (secretoras de moco), lo cual produce en las branquias ese aspecto mucoso, por lo tanto es probable que los parásitos se alimenten de moco. Aunque este comportamiento alimenticio en parásitos copépodos no se haya reportado.

En general, las características histoquímicas de las células mucosas son similares a las observadas en las células epidérmicas, branquiales, esofágicas e

intestinales, destaca la presencia de mucosustancias neutras/glicoproteínas, aunque difieren en la ausencia de mucinas ácidas poco sulfatadas y muy ionizadas (Ferguson, 2006).



7. CONCLUSIONES

- El ciclo de vida de *Pseudochodracanthus* sp., está compuesto por 4 fases y 6 estadios: un estadio naupliar, 4 estadios de copepodito, un preadulto y un adulto.
- Las morfologías celulares presentes en la sangre de *S. annulatus* como los parámetros hematológicos son similares a otras especies de teleósteos con el mismo preferéndum térmico y osmótico.
- Los porcentajes de leucocitos y monocitos se incrementaron con el nivel de infestación branquial por *Pseudochodracanthus* sp., como consecuencia a la fijación de la boca a la lamela primaria y a la superficie de área con la que establece contacto el resto del cuerpo del parásito.
- Los cambios a nivel histopatológico se caracterizaron por infiltración celular con predominio de tipo mononuclear en la lamela primaria y en lamelas secundarias; atrofia de epitelio lamelar; necrosis del epitelio lamelar; hipertrofia de células caliciformes, hiperplasia del epitelio lamelar y fusión de lamelas secundarias.
- Los porcentajes de leucocitos y monocitos obtenidos en este estudio permiten establecer una correlación entre la hematología y la histopatología, sin embargo no esclarecen la salud y estado inmune del pez, ya que los análisis hematológicos no se encuentran respaldados por un cuadro hemático.



8. RECOMENDACIONES

- Continuar las investigaciones sobre el ciclo de vida de *Pseudochondracanthus* sp., que permitan conocer el periodo de desarrollo de éste parásito, mecanismos de adhesión y alimentación.
- Estandarizar los parámetros hematológicos de *Sphoeroides annulatus*, mediante cuadro hemático lo cual permitirá detectar cualquier anomalía que se presente a nivel patológico, fisiológico y nutricional en el botete.
- Considerar la severidad de las lesiones ocasionadas por *Pseudochondracanthus* sp., en la etapa de alevinaje del botete diana y su potencial patógeno para el cultivo, donde las altas densidades de siembra propician el desarrollo del ciclo de vida de este parásito.

