

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



**PARASITOSIS EN *Nacella deaurata* (Gmelin, 1971)
EN EL ESTRECHO DE MAGALLANES**

Nicolás Ignacio Cofré González

Director Tesis: Sylvia Oyarzún Godoy

UNIVERSIDAD DE MAGALLANES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO CIENCIAS Y RECURSOS NATURALES



**PARASITOSIS EN *Nacella deaurata* (Gmelin, 1971)
EN EL ESTRECHO DE MAGALLANES**

Nicolás Ignacio Cofré González

Director Tesis: Sylvia Oyarzún Godoy

Parasitosis en *Nacella deaurata* (Gmelin, 1791) en el Estrecho de Magallanes

Por: Nicolás Ignacio Cofré González

Departamento de Ciencias y Recursos Naturales

Fecha : 19 de Agosto de 2013

Víctor Díaz Huentelicán
Decano Facultad Ciencias

Nelso Navarro Martínez
Jefe de Carrera

Aprobado por Comisión de Calificación

Sylvia Oyarzún Godoy
Director Tesis

Valeria Latorre Reyes
Evaluadora

Pablo Gallardo Ojeda
Evaluador

Tesis entregada como requerimiento para obtener el Título de
Biólogo Marino en la Facultad de Ciencias

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	i
Abstract.....	ii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Generalidades de parasitología.....	1
1.2. Phylum Haplosporidia.....	3
1.3. Subclase Digenea.....	5
1.4. Parasitosis en <i>Nacella deaurata</i>	6
2. HIPÓTESIS.....	8
2.1. Hipótesis de investigación.....	8
2.2. Hipótesis nula.....	8
3. OBJETIVOS.....	9
3.1. Objetivo general.....	9
3.2. Objetivos específicos.....	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
4.1. Áreas de muestreo.....	10
4.1.1. Muestreo estacional.....	10
4.1.2. Muestreo extensivo.....	10
4.2. Obtención de ejemplares.....	13
4.3. Determinación de variables morfométricas.....	15
4.4. Clasificación de las etapas de infección haplosporidiosis.....	17
4.5. Otros parásitos.....	18
4.6. Tratamiento de las muestras.....	18

4.6.1. Descalcificación de la valva.....	18
4.6.2. Tratamiento histológico de las muestras.....	19
4.6.3. Deshidratación e impregnación.....	19
4.6.4. Inclusión.....	19
4.6.5. Desparafinado, hidratación y tinción de las placas.....	20
4.6.6. Deshidratación, aclarado y montaje de cortes.....	20
4.7. Análisis a microscopía electrónica.....	21
4.7.1. Microscopía electrónica de barrido.....	21
4.7.1.1. Tratamiento de las muestras.....	21
4.7.1.2. Deshidratación.....	22
4.7.2. Microscopía electrónica de transmisión.....	22
4.7.2.1. Tratamiento de las muestras.....	22
4.7.2.2. Deshidratación.....	23
4.8. Análisis estadísticos.....	24
5. RESULTADOS.....	25
5.1. Temperatura y salinidad.....	25
5.2. Variables morfométricas de ejemplares recolectados.....	25
5.3. Visión general de parasitosis.....	26
5.4. Prevalencia estacional de parasitosis.....	27
5.4.1. Estacionalidad de haplosporidiosis según sexo.....	27
5.4.2. Estacionalidad de haplosporidiosis según etapas de infección.....	29
5.5. Haplosporidiosis.....	32
5.5.1. Análisis macroscópico.....	32
5.5.2. Análisis microscopía óptica (LM).....	36
5.5.3. Histología corriente de ejemplares con haplosporidiosis.....	37
5.5.4. Análisis microscopía electrónica de barrido (SEM) y de transmisión (TEM).....	42
5.5.5. Posible ciclo de vida de haplosporidio en <i>N. deaurata</i>	45
5.6. Trematodos digeneos.....	48

5.6.1. Estacionalidad de parasitosis por digeneos según sexo.....	48
5.6.2. Estacionalidad de parasitosis por digeneos según taxón.....	49
5.6.3. Digeneos <i>Gymnophalloides nacellae</i>	50
5.6.3.1. Análisis macroscópico.....	50
5.6.3.2. Análisis estereomicroscopía y microscopía óptica.....	51
5.6.3.3. Análisis microscopía electrónica de barrido.....	53
5.6.3.4. Análisis de valva descalcificada.....	55
5.6.4. Digeneos de la familia Pronocephalidae.....	56
5.6.4.1. Análisis macroscópico.....	56
5.6.4.2. Análisis estereomicroscopía y microscopía óptica.....	57
5.6.4.3. Histología corriente para ejemplares con digeneos Pronocephalidae.....	60
5.6.5. Digeneos de la familia Rencolidae.....	61
5.6.5.1. Análisis macroscópico.....	61
5.6.5.2. Análisis microscopía óptica.....	62
5.6.5.3. Histología corriente para ejemplares con digeneos Rencolidae.....	63
5.6.5.4. Análisis microscopía electrónica de barrido.....	64
5.7. Muestreo extensivo de verano.....	65
5.7.1. Parasitosis según talla y localidad.....	70
5.7.1.1. San Gregorio.....	70
5.7.1.2. Chabunco.....	71
5.7.1.3. Punta Santa María.....	72
5.7.1.4. Punta Santa Ana.....	73
5.8. Otros parásitos.....	74
6. DISCUSIÓN.....	78
6.1. Phylum Haplosporidia.....	78
6.2. Subclase Digenea.....	83

7. CONCLUSIÓN.....	88
8. FINANCIAMIENTO.....	90
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de individuos recolectados estacionalmente desde el Estrecho de Magallanes.....	13
Tabla 2. Ejemplares recolectados en cuatro áreas del Estrecho de Magallanes para el muestreo extensivo durante el verano 2013.....	14
Tabla 3. Talla y proporción sexual de individuos recolectados estacionalmente desde el intermareal de Punta Santa María.....	25
Tabla 4. Prevalencia de parasitosis por haplosporidios, digeneos, y con poliparasitismo en ejemplares de <i>N. deaurata</i> según sexo.....	26
Tabla 5. Prevalencia estacional de haplosporidiosis en <i>N. deaurata</i> según rango de talla, etapa de infección y sexo.....	30
Tabla 6. Coeficiente de Correlación de Spearman entre talla e intensidad de infección de organismos con haplosporidiosis según la estación del año.....	31
Tabla 7. Prevalencia de ejemplares de <i>N. deaurata</i> con digeneos por sexo en Punta Santa María.....	48
Tabla 8. Prevalencia de ejemplares con infestación por digeneos en <i>N. deaurata</i> por estación.....	49
Tabla 9. Prevalencia de haplosporidiosis en <i>N. deaurata</i> en cuatro localidades del Estrecho de Magallanes durante el verano 2013, clasificado de acuerdo a la etapa de infestación.....	67
Tabla 10. Prevalencia de parasitosis por digeneos en <i>N. deaurata</i> en cuatro localidades del Estrecho de Magallanes durante el verano 2013.....	68
Tabla 11. Coeficiente de correlación de Spearman entre talla e intensidad de la infección de organismos con haplosporidiosis según localidad.....	69
Tabla 12. Comparación de variables características de la metacercaria <i>G. nacellae</i> presentadas en otras investigaciones.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de las áreas de muestreo a lo largo de la costa del Estrecho de Magallanes.....	11
Figura 2. Intermareal de las áreas de muestreo.....	12
Figura 3. Morfología valvar de <i>N. deaurata</i>	13
Figura 4. Esquema de determinación de variables morfométricas.....	15
Figura 5. Coloración gonadal de ejemplares de <i>N. deaurata</i>	16
Figura 6. Escala de observación macroscópica externa de la presencia de haplosporidiosis de acuerdo al grado de infección sobre el manto.....	17
Figura 7. Prevalencia estacional de haplosporidiosis en ejemplares de <i>N. deaurata</i> por sexo, provenientes del intermareal de Punta Santa María.....	28
Figura 8. Prevalencia estacional de haplosporidiosis en <i>N. deaurata</i> según su intensidad por etapas.....	29
Figura 9. Etapa I de infección.....	32
Figura 10. Etapa II de infección.....	33
Figura 11. Etapa III infestación.....	34
Figura 12. Etapa IV de infección.....	35
Figura 13. Squash de masa parasitaria utilizando LM.....	36
Figura 14. Tejido epitelial del tubo digestivo con histología corriente.....	37
Figura 15. Corte histológico de masa visceral vista a LM.....	38
Figura 16. Efecto de haplosporidiosis sobre gónadas de <i>N. deaurata</i>	39
Figura 17. Tejido muscular a LM.....	40
Figura 18. Respuesta inmune de organismo huésped ante haplosporidiosis.....	41
Figura 19. SEM de haplosporidios en <i>N. deaurata</i>	42
Figura 20. Espora de haplosporidio a TEM.....	44
Figura 21. Posible ciclo de haplosporidio a través de histología.....	46
Figura 22. Formación de esporas por gemación a SEM.....	47
Figura 23. Vista dorsal de ejemplares de <i>N. deaurata</i> infectado por digeneos en la parte anterior del manto.....	50

Figura 24. Agrupaciones de digeneos.....	51
Figura 25. LM de <i>G. nacellae</i>	52
Figura 26. SEM de <i>G.nacellae</i>	53
Figura 27. SEM de regiones características de ejemplares digeneos.....	54
Figura 28. Vista interior de valva de <i>N. deaurata</i> infectada por <i>G. nacellae</i> con depósitos calcáreos.....	55
Figura 29. Vista lateral de ejemplar infectado con masas de redias de digeneos.....	56
Figura 30. Microcercaria de familia Pronocephalidae.....	57
Figura 31. Redias con tubo digestivo sacular con metacercarias enquistadas en su interior.....	58
Figura 32. Metacercaria Pronocephalidae con ventosa oral y poro excretor.....	59
Figura 33. Corte histológico de gónada en hembra de <i>N. deaurata</i>	60
Figura 34. Ejemplar hembra de <i>N. deaurata</i> con masa de digeneos.....	61
Figura 35. Cercaria Rencolidae.....	62
Figura 36. Corte histológico de ejemplares parasitados por gusanos Rencolidae....	63
Figura 37. Xiphidocercaria Rencolidae a SEM con espinas en ventosas.....	64
Figura 38. Prevalencia de parasitosis en <i>N. deaurata</i> en cuatro localidades del Estrecho de Magallanes durante el verano del 2013.....	66
Figura 39. Prevalencia de parasitosis en <i>N. deaurata</i> según intervalo de talla en San Gregorio en verano del 2013.....	70
Figura 40. Prevalencia de parasitosis en <i>N. deaurata</i> según intervalo de talla en Chabunco en verano del 2013.....	71
Figura 41. Prevalencia de parasitosis en <i>N. deaurata</i> según intervalo de talla en Punta Santa María en verano del 2013.....	72
Figura 42. Prevalencia de parasitosis en <i>N. deaurata</i> según intervalo de talla en Punta Santa Ana en verano del 2013.....	73
Figura 43. Digeneo indeterminado 1.....	75
Figura 44. Digeneo indeterminado 2.....	76
Figura 45. Gusano indeterminado 3.....	77

Figura 46. Algunos representantes del phylum Haplosporidia con morfología similar al encontrado en el Estrecho de Magallanes.....79

Resumen

En las comunidades biológicas es común encontrar diferentes tipos de interacciones entre organismos, tales como el parasitismo, el cual es un estado de simbiosis en el que un organismo se beneficia de otro y que puede volverse nocivo. Entre éstos podemos encontrar bacterias, hongos, protozoos, metazoos, etc. En Chile, los estudios en parasitología son escasos, centrándose en el efecto de estos patógenos en especies de interés comercial, entre los cuales se pueden citar *Bonamia sp.* y microcélulas de haplosporidios afectando a *Ostrea chilensis*. Nuevos reportes dan cuenta de la presencia de un protozoo del phylum Haplosporidia y de gusanos tremátodos en el gastrópodo *Nacella deaurata* recolectados en la región de Magallanes. Los primeros estudios en parásitos reportados para esta especie dan cuenta de la presencia de metacercarias de digeneos encontradas entre el manto y la valva de los individuos provenientes de la Patagonia Argentina, parásitos identificados como *Gymnophalloides nacellae*. Posteriormente en Ushuaia, Argentina, se reportó un nuevo parásito digeneo perteneciente a la familia Pronocephalidae. Ejemplares recolectados durante abril de 2005 desde Punta Santa María, Estrecho de Magallanes, mostraron que el 10% de estos organismos ya presentaban haplosporidiosis, un nuevo muestreo realizado en febrero de 2011 reveló que el 30% de los individuos presentaban este parasitismo. Ambos registros fueron obtenidos en distintas estaciones del año. Por lo tanto, este estudio pretende definir el comportamiento de una posible estacionalidad en haplosporidiosis en *N. deaurata*, la prevalencia por estación, sexo e intensidad de la infección, además de generar conocimiento en el área de la parasitología para nuestra región, la cual es inexistente.

Se procedió a realizar un muestreo estacional en Punta Santa María y un muestreo extensivo en distintos puntos de la costa del Estrecho de Magallanes, con el fin de determinar si las parasitosis estaban presentes en otras áreas. Muestras de tejido sano e infectado fueron tratadas con histología corriente para su análisis microscópico y microscopía electrónica para la caracterización del parásito.

Los resultados permiten indicar que el haplosporidio presente en *N. deaurata* correspondía a una nueva especie para el phylum y para el huésped, el cual provoca una infección que se inicia en el tejido epitelial de las glándulas digestivas, con variaciones estacionales marcadas, infectando con mayores prevalencias e intensidades durante las estaciones de verano. El haplosporidio presenta un ciclo de vida con dos tipos de vías de desarrollo, por esporogénesis y gemación, siendo esta última un nuevo reporte para el phylum. Durante los muestreos se encontraron al menos tres digeneos parasitando a la especie de gastrópodo, con mayor prevalencia y biodiversidad en San Gregorio, ya que además de *G. nacellae*, tremátodos de las familias Pronocephalidae y Rencolidae, se encontró la presencia de otros tres gusanos clasificados como indeterminados.