



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

 **Facultat de Ciències Biològiques**

**PROGRAMA DE DOCTORADO 119 A BIODIVERSITAT I
BIOLOGIA EVOLUTIVA**

**ESTUDIO PARASITOLÓGICO DEL PEZ LUNA,
MOLA MOLA (L.), EN EL MEDITERRÁNEO
OCCIDENTAL**

TESIS DOCTORAL

Por

Ana Elena Ahuir Baraja

DIRECTORES

FRANCISCO E. MONTERO ROYO

JUAN ANTONIO RAGA ESTEVE

VALENCIA, JULIO 2012

D. JUAN ANTONIO RAGA ESTEVE, Catedrático de Zoología de la Facultat de Ciències Biològiques de la Universitat de València y D. FRANCISCO E. MONTERO ROYO, Profesor Ayudante Doctor de Zoología de la Facultat de Ciències Biològiques de la Universitat de València

CERTIFICAN que D^a Ana Elena Ahuir Baraja ha realizado bajo nuestra dirección, y con el mayor aprovechamiento, el trabajo de investigación recogido en esta memoria, y que lleva por título: “ESTUDIO PARASITOLÓGICO DEL PEZ LUNA, *MOLA MOLA* (L.), EN EL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL”, para optar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas.

Y para que así conste, en cumplimiento de la legislación vigente, expedimos el presente certificado en Valencia a 2 de julio de 2012.

Firmado: Juan Antonio Raga Esteve

Firmado: Francisco E. Montero Royo

A mis padres y hermanos y a Mario. En memoria de mi tío “*Ramonsín*” en cuyo chalet pasé tantos y tan buenos veranos disfrutando de la naturaleza.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores, Juan Antonio Raga Esteve y Francisco E. Montero Royo, la confianza y el apoyo que he recibido desde el primer momento que pisé la Unidad de Zoología Marina del *Institut Cavanilles* de la *Universitat de València*. Gracias por creer en mí y por vuestro esfuerzo.

Pues sí, todo llega y aunque parecía que esto era eterno, por fin he llegado a la luz del final del túnel. Claro que, por suerte, en este tortuoso, y a veces indomable camino, no he estado sola (¡menos mal!).

Quiero agradecer a todos los colegas, compañeros y amigos de la Unidad que me han acompañado por este largo sendero: a Javi A., Merche, Juan Antonio, Carmen, Chati, Vicky y Javi B., por haber estado ahí siempre para cualquier duda, consulta y, sobre todo, buen consejo. ¡Mil gracias!

A los compañeros de fatigas “tesiles”: Aigües, que podría decirte que tu no sepas...lo que hemos pasado, vivido, sentido, llorado, reído juntas...todo eso estará conmigo para siempre. ¡Neusetes!, ¡mi compi de despacho! Gracias por aguantarme y darme cariño en los últimos coletazos de esta travesía (¡menos mal que me animabas con *Supersubmarina!*) y ¡venga que te queda poquito! Isa A., gracias por tu ayuda con los muestreos y por tu ayuda siempre que lo he necesitado, además de por tu amistad y apoyo. ¡Isa B., carinyeeeeeeeeeeet! Mil gracias por tu ayuda, consejos y por tu dulzura, y por ser tan buena investigadora como persona. Ana P., gracias por tu ayuda y dedicación y sobre todo, por tus buenos consejos, siempre es un placer consultar algo contigo. Paco, que decirte hijo mío, lo que ha llovido desde aquel 22 de diciembre de 2002...cuando te conocí como “el chico del bacalao”. Gracias por tus enseñanzas y perdón por los dolores de cabeza que te he podido causar. Celia, ¡contigo hice mi primera necropsia!, también ha llovido mucho desde entonces, gracias mil por tu apoyo y serenidad. ¡Diana y Euge! ¡Muchachas! ¡Que os conocí por el bacalao! Diana, aunque ahora lejos, siempre tan dulce y siempre con unas sabias palabras, gracias por todo; ¡Euge! gracias por llenar de alegría y ritmo los momentos que parecían difíciles y por tus ánimos. Gema, ya doctora y Jesús H., ¡casi ya también! Gracias a los dos por los buenos momentos, los cafés, charlas y por compartir tantas vivencias. Margaaaaaa...que aunque ya no estás aquí, fuiste mi gran ayuda con las branquias, ¡gracias por todo perla fina! Raúl, gracias por tus palabras de apoyo y por tu amistad, seguro que te va a ir

fenomenal como investigador. Paula, gracias por los ánimos y por el apoyo, y ¡ánimo que ya queda menos! ¡Ana B., ays! ¡Que decirte maja! Me has hecho reír mucho y me has dado mucho ánimo. Suerte con los caracolitos. Nataliaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa, mil gracias por tu dedicación con la genética, por tus abrazos curativos y ¡por ser tan buenillaaaaaaa! Ohiana, la tortuguera, espero que te vaya fenomenal y gracias por los ánimos y el apoyo y ¡adelante que ya queda menos! Abril, gracias por tu apoyo y ánimo con tu tesis. Y Patriiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiiii, no por ser la última la menos querida, ¡ojo, que también hemos pasado “aventurillas” juntas! Gracias por tu afecto, simpatía y ánimos, es un honor contar con tu amistad.

También quiero agradecer a toda la gente que ha pasado en la Unidad desde que empecé: Aneta (thanks for all), David (tiiiooo), Elena (¡a sus pies!), Carlitos, María Jo, Juanma, Azahar, Pascual, Alejandra, Tamara, Barbi, Sole, Mar, Amparo, Gabi, Mónica, Gabriela, Ana Juan, Carlos, Sara, Chiara, Irene, Vicent, Astrid y Carlos, Lucas y Silvia, Gessica, Ana Darós, Vanesa y a todos aquellos que, de alguna u otra forma, me han ayudado.

Quiero agradecer a mi “segunda unidad”, el *Departament de Biologia Animal i Vegetal de la Universitat Autònoma de Barcelona*, la gran ayuda recibida para completar esta tesis. Mil gracias a Silvia, Sito, Maite, Queta, María (Pimpinela power), Marta, Montse, Ana, Roger, Lluís Puig, Lluís Dopazo, Encarna, Aitzar...no sé si me falta alguien, pero gracias por haberme hecho sentir parte del departamento cada vez que he ido por allí.

Gracias a Fernando de la Gándara, ¡vital para conseguir los peces! y a todo el equipo del I.E.O. de Puerto de Mazarrón por la ayuda prestada para las necropsias, sobre todo a Tomás por montarnos la mesa de disección en un plis-plas.

Gracias también a los pescadores de la almadraba de La Azohía, por la gran ayuda y la atención prestada para conseguir los “botes”.

I would like to express my sincere thanks to my friends and colleagues Lukas Kubicek and Etsuro Sawai, sunfish experts, for sharing their knowledge and good advices. It is always a pleasure to meet and work with other “sunfish lovers”!

Gracias al personal del Servicio de Microscopia Electrónica del S.C.S.I.E. (*Servei Central de Suport a la Investigació Experimental*) de la Universidad de Valencia sin cuya labor las imágenes de M.E.T y M.E.B. no hubieran sido posibles.

Mil gracias a los compañeros, amigos y colegas del *L'Oceanogràfic*: Paco Torner, Javier León, Pablo Areitio, Pipo, José Antonio, Juan Eymar, David, Susi, Alenar, Ortiz, Padi, Dani, Teresa, Mónica, José Luis, Carlos Taurá, Marga, Manu, Rocío, José Calvet, Miguelón, Rosi, Diana, que también me han apoyado para conseguir mi objetivo y me han facilitado los peces luna del acuario.

Gracias a mis amigos: Amparo, César y Ana, Sandra, Pepe, Pilar y Javi (y Pablito), María del Mar, Ani, María “la páhara”, Alberto (galletas), Roa y Olivia, Juanan e Isabel (¡y toda la purrela!), Ruto y Rocío (+ nene), Fulvio y Leire, Akira, Irene y Raúl (¡y Mafalda!), María Gutiérrez, Amparo Girós, Borja, que han compartido mis preocupaciones y siempre me han animado.

Por último, pero no por ello menos importante, quiero agradecer a mi familia el apoyo incondicional que he recibido a lo largo de todos estos años: a mi madre, Ana María, y a mi padre, Ramón, gracias por haberme dado la vida, por haberme amado y protegido, por haber cuidado tan bien de mi y por haberme enseñado unos valores con los que creo que podré llegar a ser tan buena persona como vosotros. Vuestro amor infinito ha sido el inagotable combustible que ha movido mi motor. Gracias a mis hermanos Ramón, Jaime y Edu, por vuestro amor, apoyo y muestras de cariño, por las risas, riñas (esa músicaaaa), aventuras y experiencias compartidas.

Gracias a mis tíos/tías y primos/primas que también se han preocupado mucho, mucho por mí.

A mí, espero futura, familia política (¡los de Madrid!): Mariano, Inmaculada, Cristi y Elvis (¡y a mi futuro sobrinito!), ¡gracias por hacerme sentir una más!

Y...como no...a la luz que ilumina mi vida...a mi mapa del mundo...perdona por haberte robado tantos sábados, tantos domingos, festivos, horas de sueño...gracias por soportarme y no dejarme caer en los momentos más duros. Mario: tú me has dado color

cuando estaba en blanco y negro, haces que todo sea más fácil. Gracias por quererme. Esta tesis es tan tuya como mía.

Este trabajo ha sido posible gracias a una beca F.P.U. concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia del Gobierno de España (dependiente del Ministerio de Economía y Competitividad en la actualidad) y a los proyectos: “Realización de programas de investigación para *L’Oceanogràfic*”, Ciudad de las Artes y las Ciencias S.A., Generalitat Valenciana; "*Parasite pathogens in new species of Mediterranean aquaculture: an experimental approach EU*" FP6-MTKD-CT-2004-003175; “PARATUN: parásitos del atún rojo atlántico oriental (*Thunnus thynnus*) en poblaciones naturales y en cautividad” AGL 2012-20892 y “Red Valenciana de Investigación y Desarrollo sobre Patología en Acuicultura (REVIDPAQUA)”, Generalitat Valenciana nº ISIC/2012/003.

ÍNDICE

ÍNDICE

| | |
|---|-----------------|
| SUMMARY | XI-XV |
| RESUMEN | XVI-XXII |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL | 1-16 |
| 1.1. RELEVANCIA DEL ESTUDIO DE LA PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA..... | 3-4 |
| 1.2. INTRODUCCIÓN A LA FAMILIA MOLIDAE BONAPARTE, 1832..... | 5-6 |
| 1.3. EL PEZ LUNA, <i>MOLA MOLA</i> (L.): GENERALIDADES..... | 7-13 |
| 1.3.1. ANATOMÍA..... | 8-10 |
| 1.3.2. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT..... | 10-11 |
| 1.3.3. NATACIÓN..... | 11 |
| 1.3.4. ALIMENTACIÓN..... | 11 |
| 1.3.5. REPRODUCCIÓN..... | 12 |
| 1.3.6. DEPREDACIÓN Y PESCA..... | 12-13 |
| 1.4. ASPECTOS SANITARIOS Y PARASITOLÓGICOS DEL PEZ LUNA..... | 14-16 |
| 1.4.1. CONSIDERACIONES SOBRE LA SALUD DE LOS PECES LUNA..... | 14-15 |
| 1.4.2. CONOCIMIENTOS PREVIOS SOBRE PARASITOFAUNA..... | 15-16 |
| CAPÍTULO 2. OBJETIVOS | 17-20 |
| CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES | 21-34 |

| | |
|--|---------------|
| 3.1. MUESTREO DE LOS PECES DEL MEDIO NATURAL..... | 23–26 |
| 3.2. EXAMEN DE PECES LUNA EN CAUTIVIDAD..... | 27–28 |
| 3.3. RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE LOS PARÁSITOS..... | 29–31 |
| 3.4. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS..... | 32 |
| 3.5. TERMINOLOGÍA EMPLEADA..... | 33–34 |
| | |
| CAPÍTULO 4. PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA | 35–220 |
| | |
| 4.1. PLANTEAMIENTO DEL CAPÍTULO..... | 37–40 |
| | |
| 4.2. COMPOSICIÓN DE LA PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA EN EL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL..... | 41–48 |
| | |
| 4.3. ESPECIES NUEVAS PARA LA CIENCIA..... | 49–70 |
| | |
| 4.3.1. DESCRIPCIÓN DE UN NUEVO GÉNERO Y ESPECIE DE LA SUBFAMILIA GONAPODASNIIMAE ISHII, 1935 (TREMATODA: DIDYMOZOIDAE)..... | 51–64 |
| 4.3.2. DESCRIPCIÓN DE <i>NOGAUS</i> SP. N. (MAXILLOPODA: PANDARIDAE).. | 65–70 |
| | |
| 4.4. REDESCRIPCIONES Y COMENTARIOS TAXONÓMICOS DE ESPECIES PARÁSITAS DEL PEZ LUNA..... | 71–160 |
| | |
| 4.4.1. REDESCRIPCIÓN DE <i>ACCACOELIUM CONTORTUM</i> (RUDOLPHI, 1819) LOOSS, 1899 (TREMATODA: ACCACOELIIDAE)..... | 73–84 |
| 4.4.2. REDESCRIPCIÓN DE <i>RENIFORMA SQUAMATA</i> POZDNYAKOV, 1994 (TREMATODA: DIDYMOZOIDAE)..... | 85–100 |

| | |
|--|----------------|
| 4.4.3. REDESCRIPCIÓN DE <i>LEPEOPHTHEIRUS NORDMANNI</i> (MILNE EDWARDS, 1840) (MAXILLOPODA: CALIGIDAE)..... | 101–110 |
| 4.4.4. DESCRIPCIÓN DE LAS FASES DE DESARROLLO DE <i>LEPEOPHTHEIRUS NORDMANNI</i> (MILNE EDWARDS, 1840) (MAXILLOPODA: CALIGIDAE) CON NUEVOS DATOS SOBRE EL CICLO VITAL Y LA BIOLOGÍA..... | 111–150 |
| 4.4.5. ESTUDIO COMPARATIVO, MORFOLÓGICO Y MOLECULAR, DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO <i>ACCACLADOCOELIUM</i> ODHNER, 1928 (TREMATODA: ACCACOELIIDAE): <i>A. NIGROFLAVUM</i> Y <i>A. MACROCOTYLE</i> | 151–160 |
| 4.5. PRIMEROS HALLAZGOS DE ESPECIES PARÁSITAS..... | 161–180 |
| 4.6. ESPECIES PREVIAMENTE CITADAS..... | 181–212 |
| 4.7. DISCUSIÓN..... | 213–220 |
| CAPÍTULO 5. EFECTO PATOLÓGICO DE LOS PARÁSITOS DE LA CÁMARA BRANQUIAL | 221–248 |
| CAPÍTULO 6. PARASITOSIS DE <i>MOLICOLA HORRIDUS</i> (GOODSIR, 1841) DOLLFUS, 1935 (CESTODA: TRYPANORHYNCHA) | 249–296 |
| 6.1. INTRODUCCIÓN: <i>MOLICOLA HORRIDUS</i> (GOODSIR, 1841) DOLLFUS, 1935 | 251–256 |
| 6.2. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA CARGA PARASITARIA DE <i>MOLICOLA HORRIDUS</i>..... | 257–268 |
| 6.3. EFECTO PATOLÓGICO DE <i>MOLICOLA HORRIDUS</i>..... | 269–282 |

6.4. ESTUDIO PRELIMINAR DE TRATAMIENTOS CONTRA *MOLICOLA HORRIDUS* EN PEZ LUNA CON DERIVADOS DEL BENZIMIDAZOL; EFECTO EN LA ULTRAESTRUCTURA TEGUMENTARIA.....283–294

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES 295–302

CAPÍTULO 8. APÉNDICE 303–314

CAPÍTULO 9. BIBLIOGRAFÍA 315–344

SUMMARY

The present thesis shows, for the first time, the study of the parasite fauna from sunfish, *Mola mola* (L.) in the Spanish Mediterranean. To date, this is also the most comprehensive study on the parasites of this fish species worldwide. One hundred and six fish have been collected and analyzed during 2005–2008: 104 from four consecutive samples in La Azohía (Cartagena, Murcia, Spain) and 2 fish stranded in Canet de Berenguer and Almazora (Valencian Community, Spain). Furthermore, 61 fish reared in the *L'Oceanogràfic* aquarium of the City of the Arts and Sciences, Valencia, captured in La Azohía too, were analyzed during 2004–2009 through the collaborative agreement between the University of Valencia and City of the Arts and Sciences.

This study is aimed at the revision of the parasite species identified at taxonomical, developing studies at pathological, ecological and prophylactic level obtaining three sections: (1) to increase the knowledge of **the parasite fauna of the sunfish**; (2) to study the **pathologies** associated to the parasites **in gill chamber**; and (3) to evaluate the **effect** of the larval cestode *Molicola horridus* on fish.

(1) The study of **the parasite fauna of the sunfish** revealed that all fish were parasitized with an average of 8 species per fish. Seven species were found in more than 50 % of the fish: (in prevalence order) *M. horridus*, *Cecrops latreilli*, *Anchistrocephalus microcephalus*, *Lepeophtheirus nordmanni*, *Accacladocoelium nigroflavum*, *Dihemistephanus lydiae* and *Accacladocoelium petasiporum*. Six species (larvae) are, apparently, accidental, with 8.7 % of maximum prevalence. In the majority of the parasite species found the sunfish acts as definitive host. Eight species were found only as larval stage, although sunfish can act as intermediate host in 7 of these species, because *Gnathia* sp. has a monoxenous life-cycle. More than 60 % of species are specific from the Molidae family or from *M. mola*. The non-specific species are generalist and cited in a lot of teleosts species.

Twenty seven species of metazoan parasites from four phyla, Platyhelminthes, Nematoda, Acanthocephala and Arthropoda, have been identified: 10 trematodes, 1 monogenean, 4 cestodes, 1 acanthocephalan, 3 nematodes, 7 copepods and 1 isopod. The diversity of the parasite fauna of *M. mola* is remarkably increased with this study, as evidenced the

identification of 10 species previously not recorded in sunfish. Two of these species are new to science: *Gonapodasmiinae* n. gen. n. sp. (Trematoda) and *Nogaus* n. sp. (Copepoda). The other 8 species (*Bolbosoma capitatum* (Acanthocephala); *Anisakis* sp. Tipus I, *Anisakis* sp. Tipus II, *Ascarophis* sp. (Nematoda); *Caligus* sp., *C. bonito*, *C. pelamydis* (Copepoda) and *Gnathia* sp. (Isopoda)) are new host records.

Gonapodasmiinae n. gen. n. sp. shows traits of the *Gonapodasmiinae* Ishii, 1935 subfamily but has generic and exclusive traits: *i*) more than two fused individual, trait not observed in the other species from the Didymozoidae family and *ii*) ventral sucker present, despite the absence of this structure is, supposedly, a diagnostic character of the subfamily. With *Gonapodasmiinae* n. gen. n. sp. there are 9 species of didymozoids cited in sunfish. Due to the subtissular locations of the parasites, the egg dispersion would happen through traumatic ruptures of the fish's skin by predators, cleaner species or scavengers.

Nogaus n. sp. shows traits (size and proportions) that do not agree with other species of the same genus, the presence of a rounded-shaped cephalothorax standing out. Only 2 specimens were collected so, for the establishment of a new species, it is necessary to find and to examine more specimens. This is the first record of a species of the genus *Nogaus* in sunfish.

Three species previously recorded in sunfish, *Reniforma squamata*, *Accacoelium contortum* and the adult stages of *L. nordmanni*, have been redescribed:

The redescription of the gill didymozoid *R. squamata* intensifies the validity of the genus *Reniforma*. This shows traits of the *Gonapodasmiinae* Ishii, 1935 subfamily, tribe *Gonapodasmiini* Ishii, 1935, but has exclusive traits: *i*) complete hermaphroditic individuals fused for the posterior body region, folded in reniform capsules and with neovascularisation; *ii*) ventral sucker present and *iii*) ovary and vitellarium not branched. Some of these traits do not appear in the original description and are different from the rest of the species of the genus *Gonapodasmius*. Additionally, the examination of histological sections of this didymozoid has revealed the presence of tegumentary microvilli not described previously in other species.

The redescription of *A. contortum* adds new contributions to the original description. *A. contortum* can possess short (1:0.1–0.4) or long (1:1.3–3.5) ventral sucker peduncle, depending on the relaxation level of the specimens, condition that has an influence in the

arrangement and location of the vitellarium too. The parasites were located in gills, and digestive tract, as previously reported, and in pharynx too, among the pharyngeal teeth.

The redescription of the adult stages of *L. nordmanni* differs from some traits in the original description: *i*) proximal segment of the antennules with 25 setae in females and 29 in males; *ii*) endopod of leg 1 with 2 short setae on distal end; *iii*) the second segment of leg 3 of females can have 4 setae; *iv*) cephalothorax of males with dorsal projections; *v*) internal branch of the apical bifurcation of the male's antenna half the size of the external branch; *vi*) basal end of male's maxilliped with an apical spine; and *vii*) leg 6 present in males.

New information about the biology and ecology of *L. nordmanni* is provided. Moreover, the parasitic larval stages are described for the first time, finding some interesting peculiarities of these larvae compared with those from other species of the genus *Lepeophtheirus*. Prevalence and intensity of *L. nordmanni* are higher than in other species of the genus in natural conditions. Adult females (ovigerous and non ovigerous) of *L. nordmanni* are mainly located in the bucal cavity and juveniles and adult males on the skin. These adult males showed the "mate guarding" behaviour, also described in many other copepod species. This behaviour consists in the "kidnapping" of larvae by the adult males to guarantee the copulation. Males hold down larvae from all the stages as well as preadult females. This is the first record of copepodids and *chalimi* I to III held in mate guarding in this genus. The haematophagous feeding habits, mainly in adult ovigerous females, and in adult males and *chalimi*, has been proved.

Morphological and molecular comparisons of two species of acacelid trematodes from the digestive system, *Accacladocoelium macrocotyle* and *A. nigroflavum*, have been developed. According to their descriptions, the only difference between them is the extension of the vitellarium but, this difference is controversial because it depends on the contraction level of the specimens. It is suggested, a change of the specific description of *A. nigroflavum* pointing out that the vitellarium can reach the postovarian region, and that the main difference between the species would be the degree of vitellarium ramification from the pretesticular area. Furthermore, other differences, such as the size of ventral sucker and ovary, can help in the identification of the specimens, especially when the uterus is full of eggs and the vitellarium cannot be observed. Molecular study revealed interspecific divergences that support the separation of both species according to their morphological differences.

With the analysis of the sunfish from *L'Océanogràfic* aquarium, the different anthelmintic routine treatments have been evaluated. The effectiveness of the treatments is affected with the location of the parasites: *i*) parasites located within the digestive system are easily removed with the oral administration of anthelmintic (praziquantel, fenbendazole and albendazole); *ii*) the ectoparasites from gills and skin are removed with fresh water baths; and *iii*) *A. contortum*, *Molicola horridus* and *R. squamata* are not removed with the anterior methods, because they are sheltered among the host tissues and are not directly exposed to the treatment (oral or bath).

(2) The section on **pathologies of the gill chamber**, explains the study of the pathological effects of three parasitic species cohabiting this fish site. In this location *A. contortum*, *Cecrops latreilli* and *R. squamata* are located. The tissues close to the capsules of *R. squamata* were not observed to be related to noticeable in histological alterations. The damage related to *C. latreilli* depended on the stage and sex of the copepod with a more extensive inflammatory response in gills parasitized by adult females. The parasite with more serious injuries was *A. contortum*, trematode located in gills and pharynx. This fact seems to be due to the adaptation of *A. contortum* to the external parasitism, despite belonging to the class Trematoda that is mainly composed of endoparasitic species. The specimens of *A. contortum* would provoke a high inflammatory response that covers and holds them in gills and pharynx.

(3) The last section deals with the **evaluation of the effect of plerocerci larvae of *M. horridus***, mainly, in liver, but also in muscle and kidney. Due to the great size of the larvae, with long body projections, different estimators of parasite load were used considering not only the intensity but the biomass (total and relative). Furthermore, a new parasite load estimator was used, “the percentage of hepatic parasitized surface”. This percentage was correlated with the other estimators. This measure makes it possible to estimate the parasitic charge examining the exterior part of the liver, so other studies where the whole liver is necessary are permitted.

To detect the harmful effect of *M. horridus* in fish different estimators of the parasite load (intensity, biomass, density and percentage of hepatic parasitized surface) were correlated with fish condition indexes (hepatosomatic index and condition factor). The

hepatosomatic index was calculated in two ways: *i*) with the whole liver weight (including the parasite weight) and *ii*) without the parasite weight (named as “healthy hepatosomatic index”). As the mainly location of *M. horridus* is the liver, a crucial organ in vertebrate physiology, the study was focused in this organ. Significant negative correlations between the condition factor and the percentage of hepatic parasitized surface and between the “healthy” hepatosomatic index and the density of parasites were observed. These results could indicate that the parasite takes up a great part of the liver mass and can decrease the amount of functional hepatic tissue. However, this decrease appears not to affect this organ so much as a higher loss of functional liver would be necessary to cause a noticeable damage. The histological studies realized in the organs affected by *M. horridus* did not show a great inflammatory response related to the presence of the parasite. Only in kidney the inflammatory response was more patent than in liver and muscle. The preliminary analysis of the effect of the presence of the parasite on the glycogen level at liver revealed that more parasitized fish had slightly lower levels of this polysaccharide.

The experimental test of anthelmintic treatments with derivatives from benzimidazole, albendazole and fenbendazole, against *M. horridus* in liver from sunfish from the *L’Oceanogràfic* aquarium, revealed that the higher doses of albendazole are effective for removing the microtriches from the surface of the larval cestodes, but not causing the death of the parasite. The fenbendazole doses did not seem effective for removing the microtriches. Fish survival, however, was higher for the low doses of albendazole. Furthermore, this study made it possible to observe, for the first time, bifurcate microtriches in the caudal extensions of the blastocyst of *M. horridus*, using transmission electron microscopy (TEM).

RESUMEN

En el presente trabajo se ha realizado, por primera vez, un estudio de la parasitofauna del pez luna, *Mola mola* (L.), del Mediterráneo español. Hasta la fecha, se trata del estudio más detallado y completo sobre los parásitos de este pez en todo el mundo. Se han analizado 106 peces durante el período 2005–2008: 104 procedentes de cuatro muestreos consecutivos en la almadraba de La Azohía (Cartagena, Murcia) y 2 varados en Canet de Berenguer y Almazora (Comunidad Valenciana). Además, también se ha tenido acceso a 61 peces luna, de la misma procedencia, mantenidos en el acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia durante el periodo 2004–2009, gracias al convenio de colaboración entre la Universitat de València y Ciudad de las Artes y las Ciencias S.A., vigente desde 2004 hasta 2010.

En este estudio se ha llevado a cabo una revisión de las especies parásitas identificadas a nivel taxonómico, realizándose estudios patológicos, ecológicos y profilácticos dando lugar a tres apartados: **(1) parasitofauna del pez luna**, **(2) patologías de la cámara branquial** y **(3) efecto de las larvas del cestodo *Molicola horridus***.

(1) Durante el estudio de la parasitofauna del pez luna, se observó que todos los peces luna analizados presentaron parásitos, con una media de 8 especies de parásitos por pez. Siete especies se encontraron en más del 50 % de los peces: (por orden de prevalencia) *M. horridus*, *Cecrops latreilli*, *Anchistrocephalus microcephalus*, *Lepeophtheirus nordmanni*, *Accacladocoelium nigroflavum*, *Dihemistephanus lydiae* y *Accacladocoelium petasiporum*. Seis especies (todas ellas encontradas en estado larvario) son, aparentemente, accidentales, con un máximo de 8,7 % de prevalencia. En la mayoría de las especies parásitas encontradas, el pez luna actúa como hospedador definitivo. Ocho especies se encontraron solo en fase larvaria, aunque el pez luna podía ejercer de hospedador intermediario en todas menos en *Gnathia* sp., ya que su ciclo es monoxeno. Más del 60 % de las especies encontradas son específicas de la familia Molidae o de la especie *M. mola*. Los parásitos no específicos de la especie *M. mola* o de su familia, son generalistas, citados en muchas otras especies de teleósteos.

Se han identificado 27 especies de parásitos metazoos pertenecientes a los filos Platyhelminthes, Nematoda, Acanthocephala y Arthropoda: 10 especies de trematodos, 1 monogeneo, 4 cestodos, 1 acantocéfalo, 3 nematodos, 7 copépodos y 1 isópodo. Se ha incrementado la diversidad parasitaria conocida del pez luna en 10 especies. Dos de estas 10 nuevas citas son nuevas especies para la ciencia: *Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n. (Trematoda) y *Nogaus* sp. n. (Copepoda). Las 8 citas restantes (*Bolbosoma capitatum* (Acanthocephala); *Anisakis* sp. Tipo I, *Anisakis* sp. Tipo II, *Ascarophis* sp. (Nematoda); *Caligus* sp., *C. bonito*, *C. pelamydis* (Copepoda) y *Gnathia* sp. (Isopoda)) son nuevas citas de hospedador.

Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. presenta características propias de la subfamilia *Gonapodasmiinae* Ishii, 1935, tribu *Gonapodasmiini* Ishii, 1935, pero, presenta características genéricas y específicas exclusivas: *i*) puede presentar más de dos individuos fusionados, carácter no observado en ninguna otra especie de la familia *Didymozoidae*, y *ii*) ventosa ventral presente, a pesar de que, supuestamente, esta estructura está ausente en toda la subfamilia. El hallazgo de *Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n. aumenta a 9 las especies de didimozoidos conocidas de pez luna. Debido a su ubicación subtisular, la dispersión de los huevos de esta especie podría ser mediada por rupturas traumáticas de la piel de los peces, tanto por especies depredadoras o limpiadoras como por especies carroñeras.

Nogaus sp. n. presenta características (tamaño y proporciones) que no corresponden con las de otras especies del mismo género, destacando la morfología redondeada del cefalotórax. Debido a que solo se recolectaron 2 ejemplares sería conveniente obtener y revisar un mayor número de ellos para poder realizar la erección de una nueva especie. Es la primera vez que se cita a una especie del género *Nogaus* en pez luna.

Se han redescrito 3 especies previamente documentadas en pez luna: *Reniforma squamata*, *Accacoelium contortum* y los estadios adultos de *L. nordmanni*.

La redescrición del didimozoido branquial *R. squamata*, refuerza la validez del género *Reniforma*. Esta especie presenta características propias de la subfamilia *Gonapodasmiinae* Ishii, 1935, tribu *Gonapodasmiini* Ishii, 1935, con características exclusivas: *i*) individuos completamente hermafroditas, fusionados por la parte posterior, plegados en cápsulas reniformes e irrigados por neovascularización; *ii*) presencia de ventosa ventral; y *iii*) ovario y glándulas vitelógenas no ramificados. Algunos de estos

caracteres no aparecen en la descripción original de la especie y difieren de del resto de especies del género *Gonapodasmius*. Se han encontrado, además, microvellosidades en el tegumento de estos didimozoidos no descritas previamente en otras especies.

Con la redescrición de *A. contortum* se han realizado nuevas aportaciones a su descripción original. *A. contortum* puede tener un pedúnculo de la ventosa ventral “corto” (1:0,1–0,4) o “largo” (1:1,3–3,5), dependiendo del estado de relajación de los especímenes, lo que también influye sobre la posición de las glándulas vitelógenas. Además de encontrar a los parásitos en las localizaciones previamente descritas (branquias y sistema digestivo) se han encontrado algunos ejemplares en faringe, entre los dientes faríngeos.

La redescrición de los estadios adultos de *L. nordmanni* difiere en algunos caracteres respecto a la descripción original: *i*) las hembras presentan 25 setas en el segmento proximal de las anténulas y los machos 29; *ii*) hay 2 setas cortas en el extremo distal del endópodo del primer apéndice; *iii*) las hembras pueden presentar 4 setas en el segundo segmento del exópodo del tercer apéndice; *iv*) los machos tienen proyecciones dorsales en el cefalotórax; *v*) la rama interna de la bifurcación apical de la antena del macho es la mitad de grande que la rama externa; *vi*) hay una espina apical en la zona basal del maxilípedo del macho; y *vii*) el sexto apéndice está presente en los machos.

Se aportan también nuevos datos sobre la biología y ecología de *L. nordmanni*, describiendo además, por primera vez, sus fases larvarias parásitas. Se han encontrado algunas diferencias con las fases de desarrollo de otras especies congénéricas. Los valores de prevalencia e intensidad de *L. nordmanni* en la zona de muestreo superan los alcanzados por otras especies del género en medio natural. Las hembras adultas (ovígeras y sin huevos) de *L. nordmanni* se ubican mayoritariamente en la cavidad bucal, mientras que el hábitat de los juveniles y los machos adultos es, casi exclusivamente, la piel. En estos machos adultos se ha observado el comportamiento de vigilia de pareja (*mate guarding*), descrito en muchas especies de copépodos, consistente en el “secuestro” de larvas por parte de machos adultos para asegurar la cópula. Los machos mantenían en vigilia a larvas de todos los estadios y a hembras preadultas, siendo ésta la primera vez que se citan copepoditos y *chalimi* I, II y III, en vigilia de pareja en una especie del género *Lepeophtheirus*. También se ha demostrado la alimentación hematófaga, principalmente en hembras ovígeras, aunque también en machos adultos y estadios *chalimi*.

Se ha realizado el estudio morfológico y molecular de dos especies de trematodos acacélidos del sistema digestivo, *Accacladocoelium macrocotyle* y *A. nigroflavum*, cuya única diferencia documentada era la diferente extensión de las glándulas vitelógenas. Esta diferenciación es confusa porque depende del grado de contracción de los ejemplares. Se sugiere cambiar la descripción específica de *A. nigroflavum*, indicando que las glándulas vitelógenas de esta especie sí pueden alcanzar la región postovárica y que la diferencia principal entre ambas especies sería la mayor o menor ramificación de las glándulas vitelógenas desde la zona pretesticular. Además, existen otras diferencias, como las referentes a las dimensiones de la ventosa ventral o del ovario, que pueden ayudar a su identificación en el caso de que el útero esté lleno de huevos y las glándulas vitelógenas no sean observables. El estudio molecular mostró divergencias interespecíficas suficientes para apoyar la separación de estas especies según su morfología.

Tras el análisis de los peces luna del acuario *L'Océanogràfic* se han podido evaluar los distintos tratamientos antihelmínticos rutinarios. La efectividad de los tratamientos parece verse afectada por la localización de los parásitos: *i)* los localizados en el sistema digestivo se eliminan fácilmente con la administración oral de antihelmínticos (pracuante, fembendazol y albendazol); *ii)* los ectoparásitos de branquias y piel se eliminan con baños de agua dulce; y *iii)* *A. contortum*, *Molicola horridus* y *R. squamata* no se eliminan con ninguno de los dos métodos anteriores (oral o baño), ya que están cobijados entre los tejidos del pez y es difícil que queden expuestos a los tratamientos.

(2) En el apartado sobre **patologías de la cámara branquial**, se ha desarrollado el primer estudio del efecto patológico de las tres especies parásitas ubicadas en esta localización: *A. contortum*, *Cecrops latreilli* y *R. squamata*. Los tejidos próximos a las cápsulas del trematodo didimozoido *R. squamata* apenas mostraban alteraciones histológicas notables. El daño ejercido por el copépodo *C. latreilli* dependía del grado de maduración y del sexo, observándose una respuesta inflamatoria más extendida en las branquias parasitadas por hembras adultas. El parásito que llevaba asociadas lesiones de mayor gravedad es el trematodo *A. contortum*, ubicado tanto en branquias como en faringe. Este hecho podría deberse a la adaptación de *A. contortum* al parasitismo externo, a pesar de pertenecer a la clase Trematoda, compuesta casi exclusivamente de especies endoparásitas. Los ejemplares de *A. contortum* provocarían una amplia respuesta inflamatoria en los tejidos circundantes, lo que acabaría por cubrirlos y sujetarlos a dichos tejidos.

(3) El último apartado de la presente tesis doctoral es el dedicado a la **evaluación del efecto de las larvas *plerocerci* de *M. horridus***, ubicadas principalmente en hígado y, en menor medida, en músculo y riñón. Debido al gran tamaño de las larvas de *M. horridus*, con largas prolongaciones corporales, se utilizaron diferentes estimadores de la carga parásita que integraban no solo la intensidad sino también la biomasa (total y relativa). Además, se utilizó un nuevo estimador de la carga del parásito, “el porcentaje de superficie hepática parasitada”, que resultó estar correlacionado con los otros estimadores. Este último método permite estimar la carga parasitaria examinando el exterior del hígado, por lo que permite desarrollar otros estudios que requieran el órgano intacto.

Para detectar el posible efecto nocivo de *M. horridus* en la salud de los peces se correlacionaron diferentes estimadores de la carga del parásito (intensidad, biomasa, densidad y porcentaje de superficie hepática parasitada) con índices de condición (“salud”) de los peces (índice hepatosomático y factor de condición). El índice hepatosomático se calculó de dos formas: *i*) teniendo en cuenta todo el peso del hígado (incluyendo al parásito) y *ii*) excluyendo el peso parásito (este último llamado “índice hepatosomático sano”). Debido a que la ubicación principal de *M. horridus* es el hígado, un órgano de vital importancia en la fisiología de los vertebrados, el estudio se enfocó primordialmente en este órgano. Se observaron correlaciones significativas negativas entre el factor de condición y el porcentaje de superficie hepática parasitada y entre el “índice hepatosomático sano” y la densidad de parásito. Estos resultados parecen indicar que el parásito ocupa gran parte de la masa del hígado y puede disminuir la cantidad de tejido hepático funcional. Sin embargo, esta disminución podría no afectar de forma sensible a este órgano ya que sería necesaria una pérdida mucho mayor de hígado funcional para que el efecto fuera notable. Los estudios histológicos realizados en los órganos parasitados por *M. horridus* no mostraron una gran respuesta inflamatoria asociada a la presencia del parásito. Solamente en el riñón se observó una respuesta algo más elevada que en el caso del hígado y del músculo. El análisis preliminar del efecto de la presencia de *M. horridus* sobre el nivel de glucógeno en los hígados de los peces luna, reveló que los peces más parasitados presentaban una cantidad ligeramente menor de este polisacárido.

La prueba experimental realizada con peces luna del acuario *L’Oceanogràfic* utilizando tratamientos antihelmínticos con derivados del benzimidazol, albendazol y fembendazol,

frente a *M. horridus* del hígado mostró que las dosis más altas de albendazol son efectivas para la eliminación de los microtricos de la superficie de las larvas *plerocerci* del cestodo, pero no para causar la muerte de dichas larvas. Las dosis empleadas de fembendazol no parecieron ser efectivas para la eliminación de los microtricos. La supervivencia de los peces, sin embargo, era algo mayor para las dosis más bajas de albendazol. Además, este estudio permitió observar por primera vez microtricos bifurcados en las extensiones caudales del blastoquiste de *M. horridus*, utilizando microscopía electrónica de transmisión (M.E.T).

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. RELEVANCIA DEL ESTUDIO DE LA PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA

La mayoría de estudios exhaustivos relativos a la parasitofauna de peces han estado enfocados a especies pesqueras comerciales, principalmente las de consumo humano (ver p. ej.: arenque, Arthur y Arai, 1980; salmón del Pacífico, Boyce *et al.*, 1985; merluza argentina, Mackenzie y Longshaw, 1995; anguila, Barker *et al.*, 1996; salmón del Atlántico, Bakke y Harris, 1998; fletán, Blaylock *et al.*, 2003; o bacalao del Atlántico norte, Perdiguero-Alonso *et al.*, 2008). También, a medida que han disminuido los recursos pesqueros, han ido apareciendo un número creciente de estudios de parásitos de las especies de peces cultivadas en acuicultura, incluyendo información sobre sus posibles efectos negativos en la supervivencia de los peces (ver p. ej.: Wootten *et al.*, 1982; Thoney y Hargis, 1991; Montero *et al.*, 2004; Sitjà-Bobadilla *et al.*, 2005; Álvarez-Pellitero *et al.*, 2006; Hutson *et al.*, 2007). Sin embargo, las especies de peces que no son de consumo humano no suelen recibir tanta atención, aunque existen numerosos estudios aislados. Estos estudios están orientados tanto al análisis de la parasitofauna de peces de agua dulce (p. ej.: Poulin, 1991; Bake *et al.*, 2004; Koyun y Altunel, 2007; Tang y Zao, 2010; Chanda *et al.*, 2011) como de peces marinos (p. ej.: Nigrelli y Breder, 1934; Bullard *et al.*, 2003; Hernández-Orts *et al.*, 2010). Este grado desigual de conocimiento implica que se tenga una noción limitada de la diversidad parasitaria, especialmente en el medio marino, y que la mayoría de datos se extrapolen desde lo que se conoce de los peces con una mayor relevancia comercial (Lloret *et al.*, 2012). Sin embargo, visto en conjunto, y dado que de entre toda la diversidad de peces el número de especies de interés comercial es proporcionalmente ínfimo, el grado de conocimiento real que existe sobre la diversidad parásita en peces es relativamente bajo (Brian, 2005; Lloret *et al.*, 2012).

En esta situación resulta especialmente importante conocer los detalles de la parasitofauna de cualquier especie marina, aunque su valor no sea tanto comercial como ecológico. Además, cuando existe acceso a una cantidad importante de individuos para poder llevar a cabo un trabajo parasitológico amplio y detallado de peces poco conocidos, conviene desarrollar el mayor número de estudios a todos los niveles posibles (p. ej.: taxonómicos, ontogenéticos, ecológicos, patogénicos, etc.). Siguiendo esta premisa, la

Capítulo 1

presente tesis doctoral pretende profundizar en el conocimiento de diferentes aspectos del pez luna, una especie de poca importancia económica pero única desde un punto de vista biológico. La particularidad biológica de esta especie se refleja también en su fauna parásita, muy diversa y, casi siempre, singular.

Antes de desarrollar los diferentes apartados de la presente tesis doctoral se ha incluido una pequeña síntesis sobre datos biológicos relevantes de los mólidos y *Mola mola* (L.), la especie hospedadora de estudio, así como sobre los conocimientos parasitológicos previos sobre esta especie.

1.2. INTRODUCCIÓN A LA FAMILIA MOLIDAE BONAPARTE, 1832

La familia Molidae Bonaparte, 1832, perteneciente al orden Tetraodontiformes, está compuesta por 4 especies pertenecientes a 3 géneros (fig. 1.2.1): *Mola* Koelreuter, 1763, con dos especies, *M. mola* (L.) y *M. ramsayi* (Giglioli, 1883); *Masturus* Gill, 1884, que incluye a la especie *M. lanceolatus* (Liénard, 1840); y *Ranzania* Nardo, 1840, que incluye a la especie *R. laevis* (Pennant, 1776). Aunque la mayoría de autores solo consideran a estas cuatro especies (Parenti, 2003), existen algunas controversias sobre la taxonomía de este grupo. Por ejemplo, en 1873, Bleeker describió la especie *Orthagoriscus oxyuropterus*, posteriormente sinonimizada con *M. lanceolatus*. Algunos autores reconocen solo una especie por género (Tyler, 1980; Yamanoue *et al.* 2004; Nelson, 2006) pero, estudios más recientes indican, por ejemplo, que en aguas de Japón existirían hasta tres especies diferentes, solo del género *Mola* (Yoshita *et al.*, 2009). Santini y Tyler (2002) advierten que aunque existe un rango de entre tres y cinco especies de mólidos, se necesitan estudios genéticos y morfológicos más detallados para apoyar cualquiera de estas opciones.

Las relaciones filogenéticas existentes entre las especies de la familia Molidae tampoco se conocen con claridad. Los estudios morfológicos y moleculares indican que las especies de los géneros *Mola* y *Masturus* están más próximas entre sí que la especie del género *Ranzania* (fig. 1.2.2) (Bonaparte, 1841a y b; Gill, 1897; Fraser-Brunner, 1951; Tyler, 1980; Yamanoue *et al.*, 2004), lo que parece estar corroborado por su mayor similitud morfológica. Lo que sí parece estar asumido es que esta familia es monofilética y que sus grupos hermanos dentro del orden Tetraodontiformes son aún desconocidos, aunque se baraja a los componentes de las familias Diodontidae, Tetraodontidae y Ostraciidae como especies más próximas (Yamanoue *et al.* 2004).

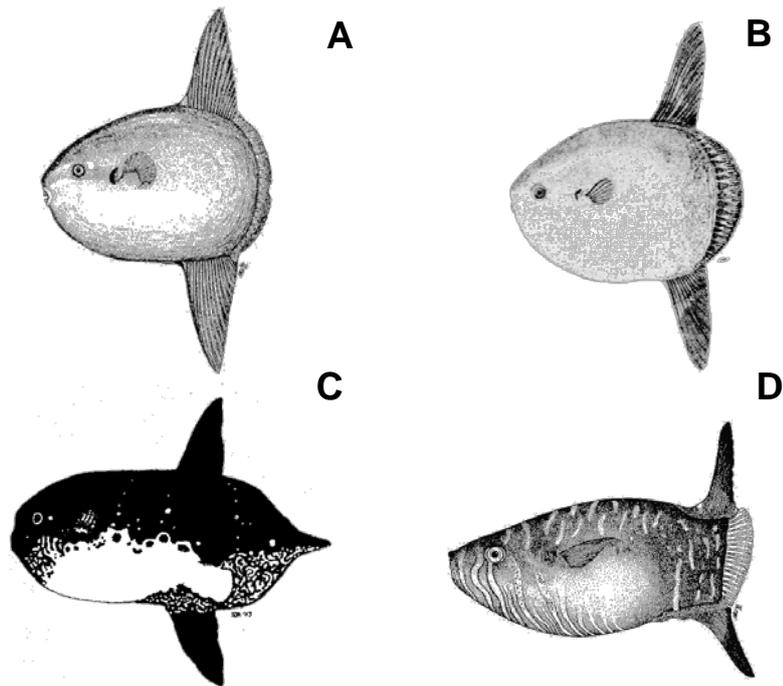


Figura 1.2.1. Dibujos de las cuatro especies aceptadas que componen la familia Molidae. A, *Mola mola*; B, *M. ramsayi*; C, *Masturus lanceolatus*; D, *Ranzania laevis*. (Extraídos de <http://www.fishbase.org>).

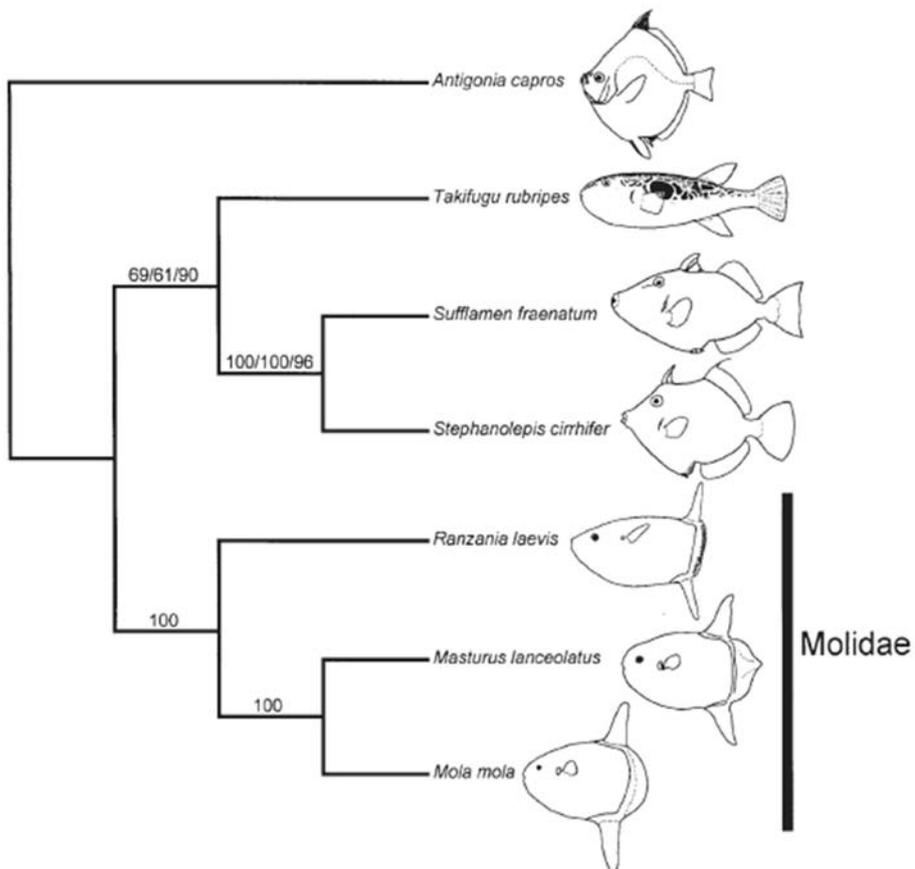


Figura 1.2.2. Filogenia de la familia Molidae según Yamanoue *et al.* (2004). (Extraído de Yamanoue *et al.*, 2004).

1.3. EL PEZ LUNA, *MOLA MOLA* (L.): GENERALIDADES

El nombre científico del pez luna proviene del latín *mola* que significa “muela” o “piedra de molino” debido a su aspecto rugoso y gris con forma redondeada (fig. 1.3.1). De hecho los peces luna (todos los peces de la familia Molidae, en sentido amplio) presentan una serie de rasgos morfológicos, biológicos y ecológicos que los convierten en especies únicas dentro de la biología, al mismo tiempo que resultan llamativos para la opinión pública, considerándolos “especies carismáticas”. Este tipo de interés se ha traducido en que estas especies, y en concreto el pez luna, *Mola mola* (L.), han interesado, por un lado, a científicos y naturalistas desde hace cientos de años y, por otro lado, la han convertido en una de las especies de teleósteos que más interesa a los grandes acuarios de todo el mundo (p. ej.: *Acquario di Genova* (Génova), *Oceanário* (Lisboa), *Monterey Bay Aquarium* (Monterey), *Two Oceans Aquarium* (Ciudad del Cabo), *Georgia Aquarium* (Georgia), *Osaka Kaiyukan Aquarium* (Osaka), *L'Aquarium* (Barcelona) y *L'Oceanogràfic* (Valencia)). Incluso existen páginas web en internet dedicadas a recoger



Figura 1.3.1. Ejemplar de pez luna, *Mola mola*, en la instalación de “Océanos” del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia (C.A.C.S.A.), acompañado por un banco de carángidos (*Caranx hippos*) (Fotografía cortesía de Javier Yaya, C.A.C.S.A.).

y divulgar datos sobre los peces luna y que, además, fomentan su protección (<http://www.oceansunfish.org> y <http://www.mbayaq.org>).

Los estudios de la presente tesis doctoral se han centrado exclusivamente en el pez luna, *M. mola*, la especie de mólido, con diferencia, de mayor distribución mundial y de la que se tiene un mayor conocimiento.

1.3.1. Anatomía

Los peces luna son los teleósteos más grandes del planeta pudiendo alcanzar más de 3 m de longitud y más de 2 t de peso (Freedman y Noakes, 2002; Froese y Pauly, 2012). Su cuerpo es alto y ancho, aplanado lateralmente y truncado en la región caudal (fig. 1.3.2). Los ojos se encuentran a los lados de la cabeza. Las aletas dorsal y ventral, responsables de la natación, son alargadas y apuntadas, mientras que las aletas pectorales son muy reducidas y las pélvicas han desaparecido. Una de las características más remarcables de esta especie, y del resto de los integrantes de la familia Molidae, es la pérdida de gran parte de los elementos osteológicos de las estructuras de la aleta caudal cuyos radios están unidos con los radios posteriores de las aletas dorsal y anal formando una única aleta alargada, llamada *clavus* (timón en latín), que se extiende del dorso al vientre y que parece desarrollar una función de timón (ver fig. 1.3.2) (Yamanoue *et al.*, 2004). Además, estos peces no poseen costillas y tienen el menor número de vértebras de todos los peces teleósteos (Bass *et al.*, 2005), estando la primera vértebra fusionada con el hueso basioccipital (Britz y Johnson, 2005).

La piel es rugosa, muy similar a la piel de los elasmobranquios, y externamente no se observan escamas ni línea lateral distinguible (Nelson, 2006). Su coloración varía desde gris oscuro a plateado brillante y algunos presentan marcas o manchas más oscuras o más claras que su tono general. El tegumento de esta especie es extremadamente grueso, con una composición singular, descrita por Turner (1862) y Rosen (1913). Posteriormente, Logan y Odense (1974) dieron nomenclatura a las diferentes zonas del tegumento, distinguiendo los siguientes elementos (organizados desde el exterior a la capa más interna): *i*) tubérculos, estructuras dérmicas que equivaldrían a las escamas; *ii*) epidermis, epitelio estratificado fino compuesto por células glandulares; *iii*) *stratum spongiosum*, región dérmica constituida por una matriz vascularizada de finas fibras donde

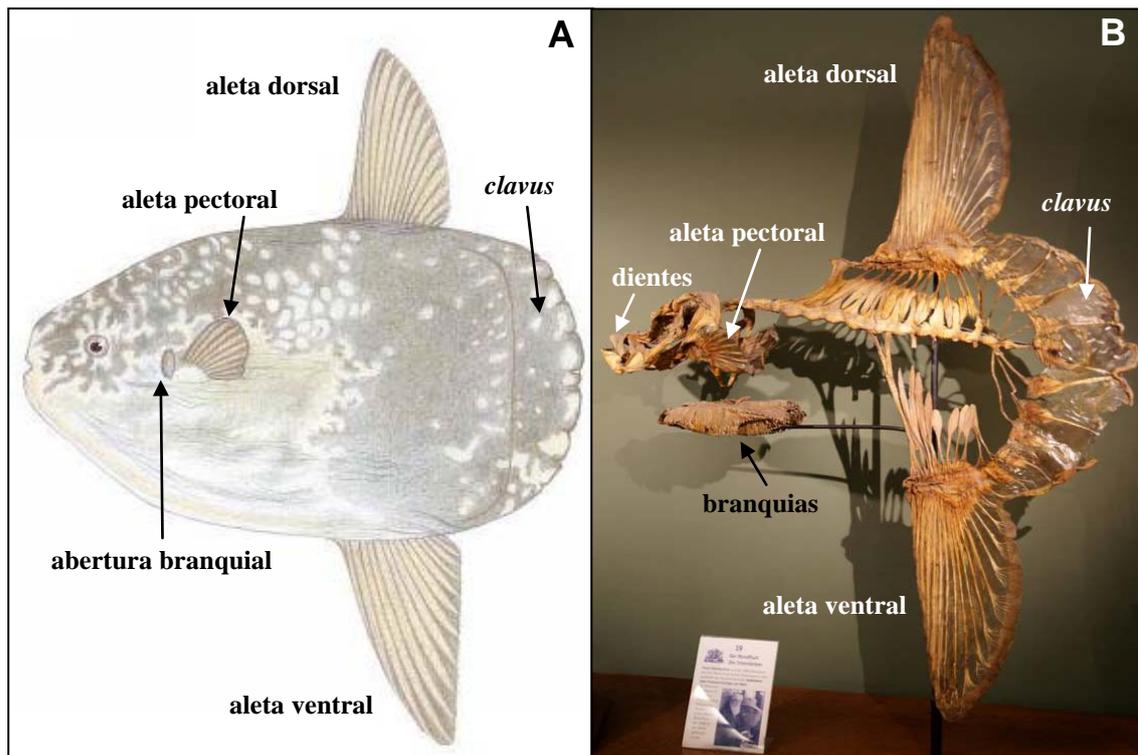


Figura 1.3.2. Morfología del pez luna, *Mola mola*. A, dibujo esquemático donde se destaca las aletas (dorsal, ventral y pectoral), el *clavus* y la abertura branquial; B, imagen del esqueleto de un pez luna donde se destaca las aletas (dorsal, ventral y pectoral), el *clavus*, las branquias y los dientes. (Figura A extraída de <http://www.efishalbum.com> y figura B de <http://es.wikipedia.org>).

encontramos los cromatóforos; y *iv) stratum compactum*, región más gruesa y densa, formada por una matriz de fibras de colágeno.

Sobre los ojos existe una membrana conjuntiva protectora. La boca recuerda a un pico y presenta típicamente cuatro dientes, similares a los de otros tetraodontiformes como los tetraodóntidos (Nelson, 2006). No presentan opérculo y la abertura branquial es una abertura muy pequeña situada entre el ojo y la aleta pectoral (ver fig. 1.3.2). Tienen cuatro branquias de diferente tamaño, cuyos arcos branquiales confluyen y están unidos anteriormente, y pseudobranquias. La faringe presenta tres filas de dientes afilados y largos, característica típica de una alimentación gelatinosa, para prevenir la regurgitación (Grassé, 1958; Nelson, 2006). El sistema digestivo es un tubo largo y enrollado, sin regionalización externa aparente entre estómago e intestino. Internamente se puede distinguir una cierta zonación, siendo los extremos anterior y posterior más musculados y con mayor número de pliegues que la zona intermedia. No presentan ciegos pilóricos. El hígado es grande y lobulado, de color ocre amarillento, y suele ocupar una parte considerable de la cavidad visceral. La vesícula biliar es redondeada y de color verde brillante. El bazo es de color marrón oscuro o rojizo, redondeado, más pequeño que la

vesícula biliar y se encuentra por debajo de ésta. Los riñones son alargados y gruesos, con una coloración rosada, y están localizados detrás del occipucio, extendiéndose hasta la altura de la inserción de la aleta dorsal. Las gónadas están ubicadas junto a la última porción de digestivo. El ovario, único, suele ser redondeado y anaranjado, mientras que los testículos son cilíndricos alargados y blanquecinos. Externamente, esta especie no presenta dimorfismo sexual. La vejiga urinaria, alargada y transparente, está situada entre las gónadas y la musculatura dorsal. No presentan vejiga natatoria (Gregory y Raven, 1934; Grassé, 1958; McCann, 1961; Nelson, 2006).

1.3.2. Distribución y hábitat

El pez luna presenta una distribución circunglobal (fig. 1.3.3) (Myers y Wales, 1930; McCann, 1961; Lee, 1986; Tortonese, 1986; Grijalba-Bendeck *et al.*, 2004; Pope *et al.*, 2010; Froese y Pauly, 2012), es pelágico y realiza movimientos estacionales horizontales (Cartamil y Lowe, 2004; Sims *et al.*, 2009a).

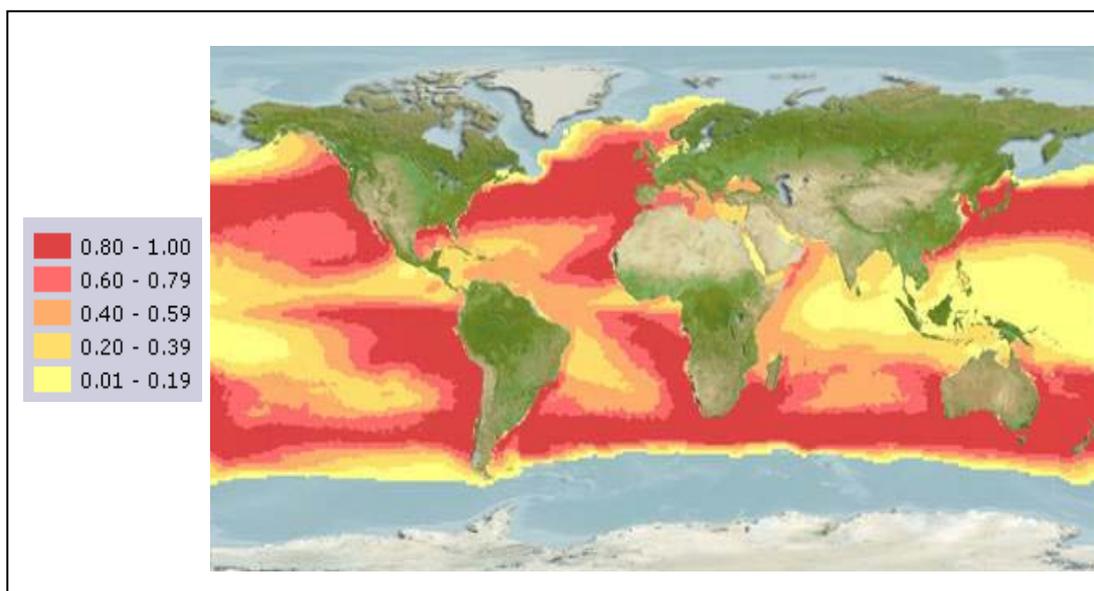


Figura 1.3.3. Mapa de distribución del pez luna, *Mola mola*. Los distintos colores de la leyenda muestran las probabilidades relativas de incidencia. (Extraído de Froese y Pauly, 2012).

Se han realizado estudios de marcaje con satélite de diversos ejemplares con los que se ha observado que sus tasas de movimiento son comparables a las de los tiburones pelágicos y que, a menudo, nadan a través de las corrientes marinas (Cartamil y Lowe, 2004; Sims

et al., 2009a y b). Además, estos estudios han mostrado que existen períodos intermitentes en los que los peces reducen sus tasas de movimiento, permaneciendo en determinadas áreas en las que existiría un elevado número de presas potenciales (Sims *et al.*, 2009b).

1.3.3. Natación

Al contrario de lo que sucede con los otros grandes peces cartilaginosos y óseos, que necesitan una natación constante y rápida para respirar, los peces luna son nadadores generalmente lentos, en parte por su morfología no fusiforme, que realizan períodos de descanso en los que se mantienen inmóviles en la superficie del agua (Fraser-Brunner, 1951). Sin embargo, son capaces de bajar hasta 600–800 m de profundidad varias veces al día para alimentarse (Steinberg, 2002; Potter, 2007; Sims *et al.*, 2009a y b) y se tiene constancia de que realizan movimientos migratorios a gran escala llegando a recorrer 3000 km en 130 días (Potter, 2007). La ausencia de vejiga natatoria hace que la flotabilidad de estos peces dependa en gran medida de la densidad del resto del organismo, en especial del hígado, que presenta una elevada proporción de lípidos (Ackman *et al.*, 1973; Watanabe y Sato, 2008).

1.3.4. Alimentación

Existen pocos estudios sobre la alimentación de los peces luna. Por lo que se conoce, ésta se basa principalmente en presas gelatinosas como cnidarios o urocordados (Fraser-Brunner, 1951; Tortonese, 1986; Froese y Pauly, 2012). Existen incluso estudios de cromatografía de gases de tejidos del pez luna donde se ha obtenido un ácido graso perteneciente a la medusa *Aurelia aurita* L. (Hooper *et al.*, 1973). Algunos autores incluyen también algas, crustáceos, moluscos, ofiuroideos y peces como parte de su dieta (Norman y Fraser, 1949; Clemens y Wilby, 1961; Hart, 1973). Según estudios recientes los peces luna podrían estar también alimentándose de descartes de pesca en las áreas donde existe dicha actividad (Syväranta *et al.*, 2011).

1.3.5. Reproducción

Los peces luna depositan más de 300 millones de huevos de muy pequeño tamaño en diferentes puestas (Nakatsubo *et al.*, 2007), de hecho, es el animal que más huevos deposita (Breder y Rosen, 1996). Son, por tanto, “estrategas de la r” produciendo una gran cantidad de larvas planctónicas (fig. 1.3.4) de muy elevada mortandad, continuada por juveniles pelágicos muy expuestos a depredadores, tan solo protegidos por una defensa pasiva (p. ej.: superficie corporal recubierta de espinas y dermis muy gruesa).

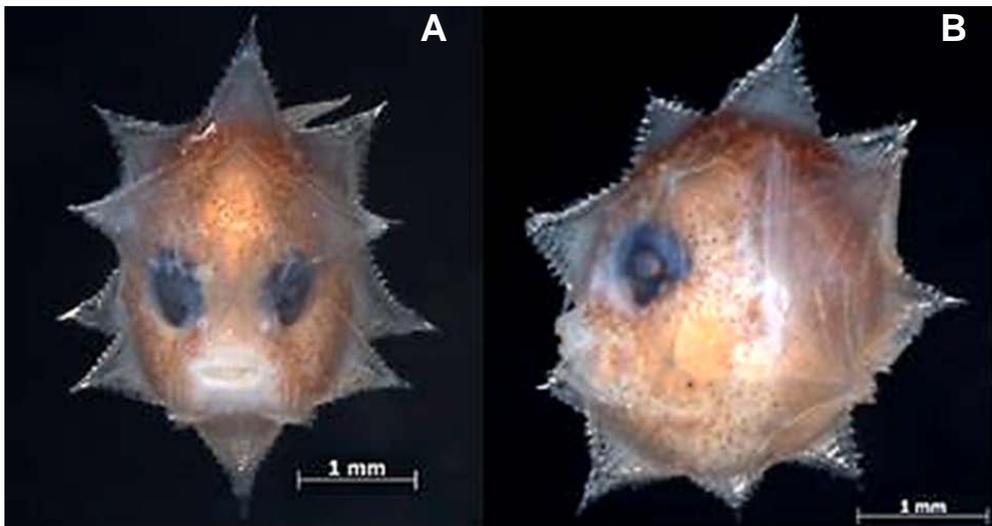


Figura 1.3.4. Imágenes de una larva planctónica de pez luna, *Mola mola*. A, vista frontal; B, vista lateral. (Extraídas de Froese y Pauly, 2012).

1.3.6. Depredación y pesca

El gran tamaño alcanzado por estos peces en estado adulto hace que no sean una presa fácil para posibles depredadores. Sin embargo, los estadios larvario y juvenil, con un tamaño accesible a un mayor rango de hospedadores, forman parte de la alimentación de numerosas especies marinas. En concreto, existen numerosas citas de depredación de peces luna juveniles por atunes, leones marinos (Powell, 2001; Froese y Pauly, 2012) y tiburones, como la tintorera, *Prionace glauca* (L.) (Garibaldi y Orsi Relini, 2000; Pope *et al.*, 2010). Como ya se ha comentado, su defensa es principalmente pasiva, basándose, además de en la posesión de espinas y de un grueso tegumento, en la existencia de tetraodotoxinas en los tejidos. Estas toxinas, típicas del orden Tetraodontiformes, pueden contribuir a disuadir a los depredadores (Halsted, 1988; Saito *et al.*, 1991), incluido el

ser humano. Las orcas y los tiburones blancos son los únicos depredadores conocidos que pueden alimentarse de los peces luna adultos grandes (Gladstone, 1988; Fergusson *et al.*, 2000; Ryan y Holmes, 2012).

Respecto al efecto de la pesquería sobre estos animales, se han citado, principalmente, muertes por pesca accidental (Silvani *et al.*, 1999; Cartamil y Lowe, 2004; De la Serna *et al.*, 2004; Macías *et al.*, 2004), ya que, generalmente, no son peces con valor comercial. Existen algunas excepciones, donde estos peces sí son consumidos, como en algunas regiones tanto de España (Murcia y Cádiz), como del resto del mundo (Japón). Las pescas accidentales vienen a menudo ligadas a la pesquería del pez espada (*Xiphias gladius* L.), en las que hasta un 90 % de las capturas accidentales ocurridas durante su pesca en el Mediterráneo occidental están constituidas por peces luna (Silvani *et al.*, 1999). También, como evidencia la presente tesis doctoral, existe una importante interacción con las pescas en almadraba.

1.4. ASPECTOS SANITARIOS Y PARASITOLÓGICOS DEL PEZ LUNA

1.4.1. Consideraciones sobre la salud de los peces luna

Gran cantidad de información sobre la biología de los peces luna procede de la observación de ejemplares mantenidos en grandes acuarios. Existen algunos estudios sobre la rehabilitación de los peces luna, varados o atrapados en redes, que posteriormente han sido mantenidos en cautividad (Garrat, 2001). Con estas experiencias se ha evidenciado que se trata de una especie delicada y difícil de mantener en cautividad por su complicada aclimatación y su elevada mortandad, debido al estrés, la alimentación o la deshidratación (fig. 1.4.1) (Garrat, 2001).



Figura 1.4.1. Pez luna, *Mola mola*, con la piel visiblemente arrugada por un problema de deshidratación.

Solamente existen conocimientos parciales sobre su biología, existiendo aún numerosas preguntas por contestar sobre aspectos como el desarrollo y la reproducción, demografía, comportamiento o patologías (Garrat, 2001; Potter, 2007; Pope *et al.*, 2010). A pesar del conocimiento de muchas causas de mortandad en cautiverio no se conoce como éstas afectan a las poblaciones salvajes o si existen otros factores limitantes, como los patógenos, que puedan explicar cómo de 300 millones de huevos por puesta solo sobrevivan unos pocos adultos maduros (Froese y Pauly, 2012). Precisamente, respecto a los patógenos, el pez luna presenta una gran diversidad de especies parásitas (ver Apéndice I). Algunos parásitos podrían tener un elevado potencial patogénico, como el caso del cestodo *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935, que podría afectar a su supervivencia, tanto en cautividad como en el medio natural, ya que afecta a órganos vitales como el hígado y el riñón. Además existen otros parásitos en ubicaciones también importantes, como las branquias, de los cuales tampoco se conoce el efecto de sus infecciones sobre los peces y que podrían estar presentando, también, un efecto patogénico.

1.4.2. Conocimientos previos sobre parasitofauna

A pesar de su amplia distribución, no existen demasiados estudios que incluyan toda la parasitofauna del pez luna (Dollfus, 1946; Hillis y O’Riordan, 1960; Threfall, 1967; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). La mayoría de trabajos existentes se centran en una sola especie de parásito o en un grupo taxonómico en concreto (ver Timon-David y Musso, 1971; Gibson y Bray, 1979 y otras referencias en el Apéndice I). Estos estudios se justifican por la singularidad de la parasitofauna de los peces luna. De hecho más del 60 % de las 27 especies encontradas en el presente estudio son específicas de *Mola mola* o de otras especies de mólidos (ver Tablas 4.2.1 y 4.2.2 del apartado 4.2 del *Capítulo 4*). Este reducido número de estudios existentes sobre la parasitofauna total del pez luna puede deberse a la dificultad de obtener un número significativo de ejemplares para realizar trabajos representativos ya que los peces luna, como anteriormente se ha comentado, no suelen tener importancia pesquera. Además, sus grandes dimensiones dificultan su procesado y la realización de análisis parasitológicos exhaustivos. De hecho, muchos de los estudios están basados en ejemplares que aparecieron varados o que fueron

capturados de manera accidental (Hewitt, 1968; Aureli, 2004; Barreiros y Teves, 2005; Gustinelli *et al.*, 2006).

Existen estudios sobre peces luna en los que se citan especies parásitas, indicando su localización (Dollfus, 1946; Hillis y O’Riordan, 1960; McCann, 1961; Threfall, 1967; Cooper *et al.*, 1982; Gustinelli *et al.*, 2006) y, en ocasiones, algunos datos morfológicos (p. ej., Aureli, 2004). Estos trabajos proceden de un número reducido de peces (7 como máximo, ver Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006) y no realizan una revisión taxonómica de las especies recolectadas.

Por último, resulta interesante comentar que también existen registros de epibiontes, como *Lepas anatifera* L. (Crustacea, Cirripedia) localizado en la piel de un pez luna varado en las Azores (Barreiros y Teves, 2005). Otros epibiontes utilizan a parásitos de pez luna como punto estable de fijación, como es el caso de *Conchoderma virgatum* Splenger, 1789 (Crustacea, Cirripedia), encontrado fijado a una hembra del copépodo parásito *Cecrops latreilli* Leach, 1816 (Copepoda) en las branquias de un pez luna de Irlanda (Cooper *et al.*, 1982). Existen, además, citas de comensales, como las rémoras, *Echeneis naucrates* L. (Perciforme, Echeneidae), ubicadas en la cámara branquial tanto de *M. mola* (McCann, 1961), como de *Masturus lanceolatus* (Schwartz y Lindquist, 1987).

En total, se han citado, previas al presente estudio, 59 especies parásitas en peces luna de todo el mundo: 2 especies de protozoos, 24 trematodos, 3 monogeneos, 8 cestodos, 1 acantocéfalo, 3 nematodos, 15 copéodos y 3 isópodos (ver Apéndice I). En peces luna del Mediterráneo han sido citadas, hasta el presente estudio, 20 especies: 10 trematodos, 1 monogeneo, 2 cestodos, 1 nematodo, 5 copéodos y 1 isópodo (ver Apéndice I).

2. OBJETIVOS

Los objetivos de la presente tesis doctoral son:

1. Incrementar el conocimiento sobre la parasitofauna de los peces luna en el Mediterráneo occidental. Para ello se han examinado, recolectado e identificado todos los parásitos, externos e internos, de los peces. Las nuevas especies halladas han sido descritas y algunas especies ya conocidas se han redescrito para mejorar, en lo posible, la calidad de las descripciones previas disponibles. Por último se han aportado nuevos hallazgos de parásitos para este hospedador o para la localidad de estudio.

2. Analizar el efecto patológico de los parásitos de una de las partes más infectadas del pez luna, la cámara branquial, realizando un estudio histológico y describiendo las alteraciones patológicas asociadas.

3. Realizar un estudio de la capacidad patogénica del parásito potencialmente más dañino para el pez luna, la larva *plerocercus* del cestodo *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935. Para ello se ha cuantificado su carga parasitaria en los diferentes órganos y se han estudiado los posibles efectos sobre el estado de condición de los peces, los cambios histológicos en los órganos afectados y las posibles alteraciones químicas asociadas a la actividad del parásito. Atendiendo a esa capacidad patogénica se ha realizado la primera prueba experimental para la eliminación de las larvas de este cestodo con dos antihelmínticos diferentes.

3. MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES

3.1. MUESTREO DE LOS PECES DEL MEDIO NATURAL

Los peces utilizados en el presente estudio han sido obtenidos mediante la realización de 4 muestreos consecutivos en el mes de mayo de los años 2005, 2006, 2007 y 2008. Los muestreos se realizaron en estas fechas para aprovechar las capturas accidentales de peces luna en la almadraba situada en La Azohía, Cartagena, en la Región de Murcia ($37^{\circ} 33' 14,82''$ N y $01^{\circ} 10' 10,81''$ O) (fig. 3.1.1). Adicionalmente, también se analizaron 2 ejemplares obtenidos a través del servicio del “teléfono de atención de varamientos de cetáceos y tortugas marinas de la Comunidad Valenciana” del cual es coordinadora la Unidad de Zoología Marina (U.Z.M.) del *Institut Cavanilles de Biodiversitat i Biologia Evolutiva* (I.C.B.i.B.E.) de la *Universitat de València* (U.V.). Estos ejemplares fueron encontrados varados en el Club Náutico de Canet de Berenguer, Valencia, ($39^{\circ} 40' 26,75''$



Figura 3.1.1. Mapa de la Península Ibérica con la localización de las dos áreas de las que se han obtenido los peces luna, *Mola mola*, para el presente estudio: I) La Azohía, Cartagena, en la Región de Murcia y II) Canet de Berenguer y Almazora, Comunidad Valenciana. (Extraído de earth.google.com)

N y 0° 12' 09,60'' O) en junio de 2006 y en la playa de Benafeli en Almazora, Castellón, (39° 56' 38,85'' N y 0° 03' 44,41'' O) en febrero de 2007 (fig. 3.1.1).

La almadraba es un arte fijo de pesca tradicional que se utiliza, principalmente, para la captura de túnidos. Se trata de un laberinto de redes (fig. 3.1.2), colocado en una gran extensión de mar (varios kilómetros), que conducen hasta una trampa en su extremo final, copo, donde se acumula la pesca que es finalmente recolectada. Éste es un tipo de pesca de peces pelágicos no selectiva: independiente de la especie de pez o de su estado físico (Anónimo, 2003). En la almadraba de La Azohía de Cartagena, se pescan accidentalmente gran cantidad de peces luna. Estos peces quedan acumulados en el copo de la almadraba y son descartados y retirados fuera de la red por los pescadores (fig. 3.1.2) ya que estos peces no tienen un gran valor comercial. De esta forma las actividades se centran en las capturas de mayor importancia y que son el objetivo real de la pesca:

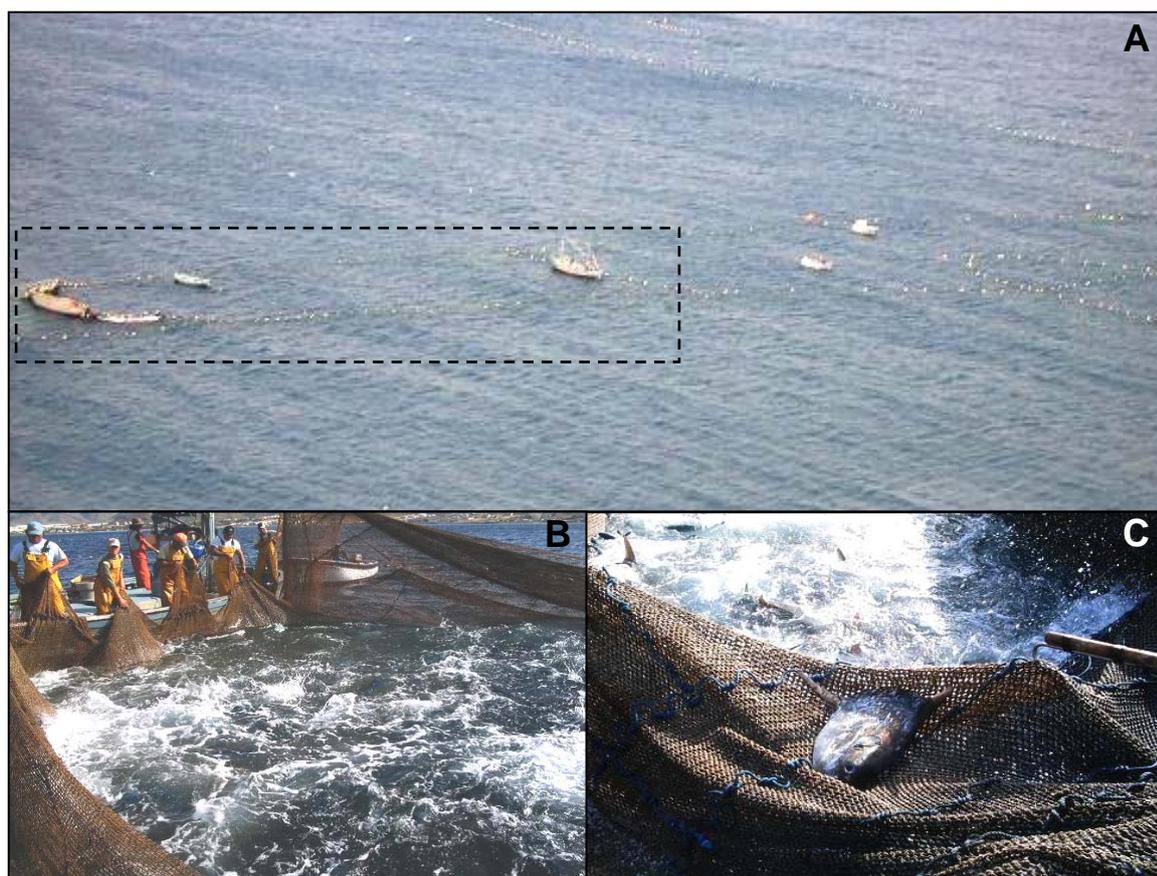


Figura 3.1.2. Fotografías de la almadraba de La Azohía (Cartagena). A, Fotografía en vista panorámica de la almadraba donde se observa la distribución de las redes y de los barcos que se utilizan (la cuadrícula señala la trampa del final); B, instante en el que los pescadores suben el copo; C, detalle de un pez luna atrapado en la red.

principalmente, peces espada (*Xiphias gladius* L.), bonitos (*Sarda sarda* (Bloch, 1793)), bacoretas (*Euthynnus alletteratus* (Rafinesque, 1810)) y otros atunes (*Thunnus* spp.) y peces limón (*Seriola dumerili* (Risso, 1810)).

Una vez los pescadores levantaban el copo de la almadraba para sacar el pescado, éstos extraían los peces luna que habían quedado atrapados. Los peces de este estudio eran trasladados por los pescadores a una barca auxiliar, donde eran sacrificados por sección medular inmediatamente después de su extracción, y se guardaban en bolsas independientes. También se obtenía, en la propia barca, la branquia izquierda que era depositada en formol 10 % tamponado para su posterior estudio histopatológico.

Los peces sacrificados eran transportados rápidamente a las instalaciones del Instituto Español de Oceanografía (I.E.O.) de Puerto de Mazarrón ubicado a, aproximadamente, 11 km de la almadraba. Una vez allí, se pesaban con una balanza (precisión: 1 g) y se medían las dimensiones con una cinta métrica (ver fig. 3.1.3). Para los peces obtenidos de varamientos se siguió el mismo proceso, aunque el tiempo desde la muerte hasta el procesado de los peces fue mayor. En total, se recolectaron 104 peces de la almadraba (20 en el primer año, 42 en el segundo, 22 en el tercero y 20 en el cuarto) y 2 peces varados. Los pesos, longitud total, altura total y longitud del *clavus* de los peces luna muestreados en La Azohía están indicados en la Tabla 3.1.1, y los de los 2 peces luna que aparecieron varados en la Comunidad Valenciana en la Tabla 3.1.2. Los dos peces varados, más tres peces procedentes de la almadraba medían más de un metro de longitud. A estos peces (denominados “peces grandes” en este texto) se les ha considerado de forma independiente a los peces de menos de un metro (denominados “peces pequeños” en este texto) en algunos estudios (ver apartado 3.3 y *Capítulo 6*).

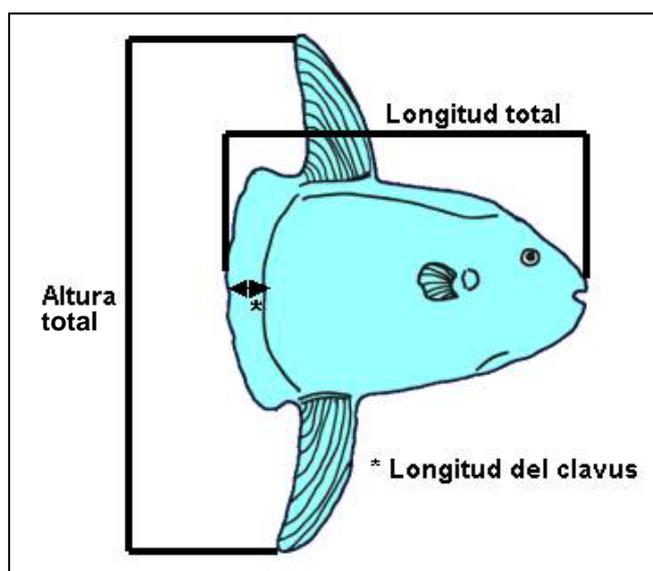


Figura 3.1.3. Esquema de las medidas tomadas con cinta métrica a cada uno de los peces luna, *Mola mola*, analizados: longitud total, altura total y longitud del *clavus*.

Tabla 3.1.1. Datos biológicos de los peces luna, *Mola mola*, muestreados en la almadraba de La Azohía (Cartagena). El número total de peces analizados por muestreo (N), así como los rangos y la media de su peso, longitud total, altura total y longitud del *clavus* están indicados para cada año de muestreo y para el total. Los valores medios aparecen entre paréntesis junto a la desviación típica (\pm D.T.).

| Muestreo | N | Peso (g) | Longitud total (cm) | Altura total (cm) | Longitud <i>clavus</i> (cm) |
|--------------|------------|--|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| 2005 | 20 | 3038,9–8391,8 (4133,2 \pm 1431,4) | 33–54 (39,6 \pm 5,1) | 53–85 (60,3 \pm 10,9) | 5–10 (6,6 \pm 2,3) |
| 2006 | 42 | 1832–38319 (4811,1 \pm 5855,6) | 33,5–107 (44,6 \pm 12,5) | 48–133 (64,3 \pm 14,2) | 4–17 (6,4 \pm 1,9) |
| 2007 | 22 | 2900–35145 (6239,3 \pm 8442,5) | 38,5–101 (46,6 \pm 15,1) | 56–120 (65,9 \pm 16,4) | 5–19 (6,9 \pm 2,9) |
| 2008 | 20 | 2644–6597 (3809,5 \pm 940,0) | 37–54 (41,7 \pm 3,8) | 51–74 (58,9 \pm 4,9) | 5–9 (6,2 \pm 1,1) |
| Total | 104 | 1832–38319 (4790,4 \pm 5430,2) | 33–107 (43,5 \pm 11,0) | 48–133 (63,5 \pm 13,5) | 4–19 (6,5 \pm 2,2) |

Tabla 3.1.2. Datos biológicos de los peces luna, *Mola mola*, varados en Canet de Berenguer, Valencia y en Almazora, Castellón. El número de peces varados (N), así como su peso, longitud total, altura total y longitud del *clavus* están indicados para cada varamiento.

| Varamiento | N | Peso (g) | Longitud total (cm) | Altura total (cm) | Longitud <i>clavus</i> (cm) |
|--|---|----------|---------------------|-------------------|-----------------------------|
| Canet de Berenguer, Valencia (2006) | 1 | 27786 | 103 | 140 | 14 |
| Almazora, Castellón (2007) | 1 | >300000 | 240 | 260 | 38 |

3.2. EXAMEN DE PECES LUNA EN CAUTIVIDAD

En el presente trabajo, junto con los peces luna muestreados extraídos directamente de su medio natural, también han sido analizados 61 peces luna mantenidos en las instalaciones del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias (C.A.C.S.A.) de Valencia que, igualmente, habían sido obtenidos de la almadraba La Azohía (Cartagena), desde el año 2004 al 2009. Este estudio fue posible gracias al convenio de colaboración entre la U.V. y C.A.C.S.A. vigente desde 2004 a 2010. Los peces habían sido obtenidos por el personal del acuario, extrayéndolos manualmente de las redes de la almadraba, para después disponerlos en cubas redondas de transporte, de 1000 l de capacidad, en las cuales eran trasladados hasta las instalaciones del acuario en Valencia (342 Km aproximadamente). Los peces eran mantenidos en los tanques de cuarentena de *L'Oceanogràfic*, durante diferentes periodos de tiempo, hasta ser trasladados a los acuarios de exhibición, donde eran tratados normalmente con antihelmínticos rutinarios, excepto cuando los peces morían antes de llegar al período de cuarentena (Tabla 3.2.1). La efectividad de estos tratamientos contra los diferentes tipos de parásitos de los peces luna también se ha estudiado en esta tesis. Cuando morían por causas naturales, eran retirados inmediatamente del agua para ser procesados en el laboratorio veterinario de *L'Oceanogràfic*, pocas horas después de la muerte. El procesado inicial de estos peces fue el mismo que el empleado en los peces luna capturados en medio natural. Los pesos, longitud total, altura total y longitud del *clavus* de los peces de las instalaciones del acuario están indicados por año en la Tabla 3.2.2.

Tabla 3.2.1. Listado de los tratamientos de rutina que reciben los peces luna, *Mola mola*, durante su ubicación en el área de cuarentena del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia (datos cedidos por el personal veterinario de *L'Oceanogràfic*).

| Medicamento/Tratamiento | Administración | Prescripción |
|-------------------------|----------------|---------------------------------------|
| Ciprofloxacina | Oral | Antibiótico |
| Praciquantel | Oral | Erradicar cestodos y nematodos |
| Fembendazol | Oral | Erradicar cestodos y nematodos |
| Luferunón | Oral | Erradicar copépodos e isópodos |
| Triclorfón | Baño | Erradicar ectoparásitos (generalista) |
| Agua dulce | Baño | Erradicar ectoparásitos (generalista) |

Tabla 3.2.2. Datos biológicos disponibles de los peces luna, *Mola mola*, de las instalaciones del acuario *L'Oceanogràfic*, procedentes de La Azohía (Cartagena). El número total de peces analizados (N), así como los rangos y la media de su peso, longitud total, altura total y longitud del *clavus* están indicados para cada año y para el total. Los valores medios aparecen entre paréntesis junto a la desviación típica (\pm D.T.).

| Año | N | Peso (g) | Longitud total (cm) | Altura total (cm) | Longitud <i>clavus</i> (cm) |
|--------------|-----------|---|--|--|--|
| 2004 | 9 | 3928–6000 (4805,6 \pm 832,2) | 40–57 (45,8 \pm 6,6) | - | 5–7 (5,9 \pm 0,9) |
| 2005 | 13 | 2459–100000 (16709,7 \pm 32358,4) | 36–110 (47,0 \pm 21,1) | - | - |
| 2006 | 1 | 76000 | 119 | - | - |
| 2007 | 18 | 2930–32860 (8069,6 \pm 7584,0) | 41–82 (51,4 \pm 11,6) | 57–116 (70,1 \pm 15,3) | 6–18 (8,7 \pm 3,1) |
| 2008 | 11 | 3790–101870 (23479,1 \pm 32064,7) | 43–109 (61,8 \pm 27,5) | 50,4–124 (83,0 \pm 24,7) | 5–24 (11,2 \pm 7,9) |
| 2009 | 9 | 4970–37000 (17130,0 \pm 12441,9) | 43–85 (60,4 \pm 16,0) | 61–97 (77,8 \pm 12,8) | 5–16 (8,8 \pm 4,3) |
| Total | 61 | 2459–101870 (15223,5\pm23822,0) | 36–120 (55,1\pm20,9) | 57–121 (75,1\pm18,8) | 4–24 (9,1\pm5,0) |

3.3. RECOLECCIÓN Y PROCESADO DE LOS PARÁSITOS

En el caso de los peces recolectados en la almadraba, tras ser pesados y medidos en las instalaciones del I.E.O. en Puerto de Mazarrón, eran examinados externamente y diseccionados, antes de ser congelados para su traslado a la U.V. En primer lugar, se buscaban y localizaban a los parásitos de piel en las diferentes zonas de cuerpo: cavidad bucal, piel, aletas pectorales, aleta dorsal, aleta ventral y *clavus*. En el último muestreo, en 2008, no se realizó un estudio sistemático de la superficie externa y los peces fueron congelados directamente tras su captura para ser analizados más tarde, con lo que los parásitos externos pudieron desprenderse o desplazarse. Lo mismo sucedió con los peces aparecidos varados.

Después de la recolección de los parásitos de la superficie externa se realizaba la disección y evisceración de los peces. Tras acceder a la cavidad orobranquial, se retiraba la branquia derecha (como ya se ha comentado, la izquierda ya había sido retirada y fijada en formol previamente en la almadraba) y se guardaba en etanol 70 % para su posterior análisis parasitológico que, como en el caso de la localización de los parásitos de la piel, también se realizó solamente con los peces de los tres primeros muestreos (2005–2007). Seguidamente, se ejecutaba una incisión desde la zona del opérculo hasta la zona ventral del pez para levantar toda la pared lateral y dejar al descubierto el paquete visceral (fig. 3.3.1).

El aparato digestivo se extraía cortando a nivel de esófago y alrededor del ano. El conjunto se extraía entonces con delicadeza, atándose con un cordel ambos extremos para evitar la pérdida de contenido y de parásitos. Después, se extraían y pesaban hígado, riñón y gónadas. El sexo de los peces se determinaba en este momento. Como se detalla en el apartado 6.2 del *Capítulo 6*, se realizaron fotografías de las caras laterales del hígado, para el posterior análisis de la superficie hepática parasitada por la larva *plerocercus* del cestodo *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935. Este estudio del hígado se realizó en los 101 “peces pequeños” (menos de 1 metro de longitud total). En los 5 ejemplares de más de 1 metro de longitud total, “peces grandes”, no se tomaron las fotografías de las dos caras del hígado. Tras retirar las vísceras se examinaba la carcasa, diseccionando la piel y troceando el músculo para localizar sus parásitos.

Finalmente se guardaban trozos de los órganos afectados por *M. horridus* de 1 cm³ aproximadamente, en formol 10 % tamponado para realizar posteriormente el estudio histopatológico (ver apartado 3.4).

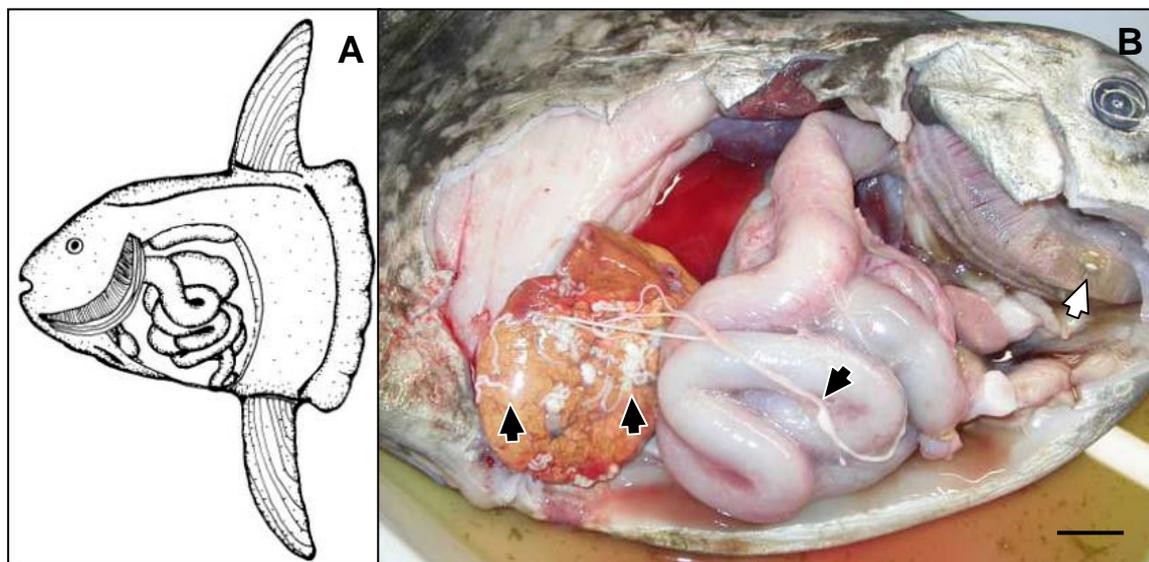


Figura 3.3.1. Proceso de evisceración de los peces luna, *Mola mola*. A, dibujo esquemático de un pez luna con la cavidad visceral al descubierto; B, fotografía en detalle del paquete visceral. Las flechas negras señalan al cestodo *Molicola horridus* en hígado y la flecha blanca al copépodo *Cecrops latreilli* en branquias. Escala: 2 cm.

Todas las vísceras recogidas eran etiquetadas, guardadas en bolsas y congeladas a -20 °C para su traslado a la U.V. En las instalaciones de la U.Z.M., los peces eran descongelados para terminar el análisis parasitológico. Los diferentes órganos fueron diseccionados y examinados en solución salina utilizando lupa binocular de hasta 100x de aumento. El detalle del procesamiento de los hígados de los peces será explicado en el *Capítulo 6*.

Los parásitos eran recogidos independientemente según el hábitat que ocupaban y, tras ser limpiados con solución salina, fueron examinados con lupa binocular (10–100x) para ser preidentificados y conservados en etanol 70 %, excepto cuando se indique otra metodología. Para su identificación, los trematodos y monogeneos fueron teñidos con aceto-carmín férrico (Georgiev *et al.*, 1986), deshidratados a través de una serie de etanol con concentración ascendente (70 % – 80 % – 90 % – 96 % – 100 %), aclarados mediante dimetil ftalato y montados en preparaciones permanentes en bálsamo de Canadá. Cestodos, acantocéfalos, nematodos, copépodos e isópodos fueron examinados en preparaciones en solución salina o en preparaciones temporales con glicerina. Todos los parásitos se examinaron con lupa binocular (10–100x) o microscopio óptico

(40–1000x), para posteriormente ser identificados utilizando bibliografía especializada (ver Apéndice I). Los parásitos fueron identificados hasta el nivel taxonómico más bajo posible, en la mayor parte de los casos, hasta nivel de especie.

En el caso de las larvas *plerocerci* del cestodo *M. horridus*, y debido a su importancia taxonómica, se realizó un estudio concreto del diseño de la espinación de los tentáculos utilizando microscopía electrónica de barrido (M.E.B.). Para ello, se seleccionaron 5 individuos con los tentáculos completamente evaginados, previamente limpiados en solución salina y fijados en etanol 70 %. Los ejemplares se deshidrataron en serie de etanoles con concentración ascendente, se desecaron por punto crítico con CO₂ y se montaron en soportes con la ayuda de cinta adhesiva de carbono de doble cara. Se recubrieron con una fina capa de 25–30 nm de oro-paladio en un recubridor Bio-Rad Sc 500 y se examinaron en Microscopio Electrónico de Barrido de vacío S-4100 a 10 Kv del *Servei Central de Suport a la Investigació Experimental* de la U.V. (S.C.S.I.E.).

Para realizar los dibujos de los ejemplares y tomar los datos morfométricos, algunos ejemplares fueron dibujados con un tubo de dibujo acoplado a una lupa binocular o a un microscopio óptico. Para medir las diferentes estructuras, los dibujos fueron posteriormente escaneados y sus medidas fueron tomadas con *Image Tool 3.00* (desarrollado por la *University of Texas Health Science Center at San Antonio* y disponible en <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Todas las medidas están expresadas en milímetros, salvo que se indique otra medida. Todas las especies recolectadas han sido depositadas en la colección parasitológica del I.C.B.i.B.E. de la U.V.

3.4. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Las muestras histológicas, previamente fijadas en formol 10 % tamponado (tampón fosfato, pH=7,2), fueron procesadas por el *Servei de Diagnòstic Patòlogic de Peixos* de la *Universitat Autònoma de Barcelona* o por el Servicio de Microscopía del S.C.S.I.E. Los protocolos de fijación, deshidratación, inclusión en parafina y tinción fueron los mismos para todas las muestras tomadas analizadas histológicamente. Las muestras se deshidrataron con una serie de etanol de concentración ascendente (50 % – 70 % – 96 % – 100 %), se transparentaron en xilol y se incluyeron en parafina (58–60 °C). Posteriormente se realizaron series de cortes histológicos de 5–6 µm de distancia con micrótopo HM330. Para la tinción Hematoxilina Eosina (H.E.) las muestras se desparafinaron con xilol, se rehidrataron sumergiéndolas en una serie de etanol de concentración decreciente (100 % – 96 % – 70 % – 50 %). Posteriormente las muestras se tiñeron con Hematoxilina de Mayer y Eosina, limpiando las muestras con agua corriente entre ambas tinciones, finalmente se deshidrataron primero con etanol 96 % y después con etanol 100 % y, tras sumergirlas en xilol, fueron montadas en ENTELLAN®.

3.5. TERMINOLOGÍA EMPLEADA

Todas las medidas están expresadas con el rango, indicado como los valores mínimo y máximo separados por un guión, y la media acompañada de la desviación típica (\pm D.T.) entre paréntesis. Las dimensiones totales están indicadas como la longitud y anchura máximas (separados por “x”) de los especímenes, órganos o estructuras a los que se hace referencia en cada caso. Para los valores descriptivos de infección parasitaria se ha utilizado la terminología indicada en Bush *et al.* (1997):

i) *Prevalencia* (P.): número de peces infectados dividido por el número de peces examinados, expresado como porcentaje (%).

ii) *Abundancia total* (A.T.): número total de parásitos de una especie o taxón.

iii) *Abundancia media* (A.M.): número total de parásitos de una especie o taxón dividido por el número total de peces examinados.

iv) *Intensidad media* (I.M.): número total de parásitos de una especie o taxón dividido por el número de peces infectados por esta especie o taxón.

4. PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA

4.1. PLANTEAMIENTO DEL CAPÍTULO

En el presente capítulo se aportan los datos obtenidos del análisis de los 106 peces luna procedentes del medio natural, recolectados del Mediterráneo occidental durante 4 años consecutivos. Este elevado número de peces ha permitido tener acceso a una gran cantidad de información novedosa sobre aspectos poco conocidos de la parasitofauna del pez luna: morfología, taxonomía, biología, ecología y patología. En los siguientes apartados se indica, en primer lugar, los parámetros parasitológicos generales de las especies parásitas encontradas en todos los muestreos, varamientos y peces del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia y, a continuación, se muestran datos particulares de cada una de las especies parásitas recolectadas ordenados según se trate de las especies nuevas para la ciencia, redescrpciones, primeros hallazgos en pez luna y, por último, aquellas especies que han sido citadas previamente. En estos casos se indican datos relevantes en cuanto a su morfología, taxonomía, ecología y distribución geográfica. En el Apéndice I, además, se ha incluido un listado de citas previas de parásitos en pez luna con información de su localización geográfica, incluyendo el resultado de una revisión bibliográfica y las nuevas aportaciones del presente estudio.

La discusión general del presente apartado repasa y resume los datos presentados en cada sección, incluyendo datos sobre el análisis de los 61 peces mantenidos en el acuario. El examen de estos peces ha permitido observar el efecto de la cautividad y las prácticas de rutina sobre los parásitos.

4.2. COMPOSICIÓN DE LA PARASITOFAUNA DEL PEZ LUNA EN EL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL

Todos los peces luna de los muestreos y los varamientos analizados en el presente estudio estaban parasitados. Se ha recolectado un total de 21703 parásitos metazoos en los 106 peces analizados. La abundancia fue de 31–11145 ($205,7 \pm 1074,8$) parásitos por pez. La riqueza media fue de 8 especies de parásitos por pez. El menor número de especies recolectadas por pez fue 4 y el mayor 15, y el 65,1 % de los peces tenían 8 o más especies de parásitos.

Se han identificado un total de 27 especies: 10 trematodos, 1 monogeneo, 4 cestodos, 1 acantocéfalo, 3 nematodos, 7 copépodos y 1 isópodo (Tablas 4.2.1. y 4.2.2.). Siete especies de parásitos se encontraron en más del 50 % de los peces: *i*) el parásito más frecuente, recolectado en un 99,0 % de los peces, fue la larva *plerocercus* del cestodo *Molicola horridus*, encontrada en hígado, músculo y riñón; *ii*) el 96,2 % de los peces presentó al copépodo *Cecrops latreilli*, en branquias; *iii*) el cestodo adulto *Anchistrocephalus microcephalus* se encontró en el sistema digestivo en el 92,5 % de los peces; *iv*) el 91,8 % presentaron a otro copépodo, *Lepeophtheirus nordmanni*, en piel y cavidad bucal; tres especies de trematodos fueron muy frecuentes en el sistema digestivo: *v*) *Accacladocoelium nigroflavum* (en el 82,1 % de los peces), *vi*) *Dihemistephanus lydiae* (73,6 %) y *vii*) *A. petasiporum* (57,5 %). De todas las especies parásitas identificadas, 19 presentaban individuos adultos (el 70,3 % de las 27 especies) y 8 solo presentaban larvas (29,6 %). En algunos casos, además de los adultos se encontraron larvas (*L. nordmanni* y *C. latreilli*) o juveniles (*Accacoelium contortum* y *Reniforma squamata*). Respecto a la localización en el pez y su ciclo vital, 18 de las especies identificadas son endoparásitas heteroxenas y 9 ectoparásitas monoxenas.

La mayoría de las especies parásitas encontradas (25) se hallaron en los peces de La Azohía (Cartagena). En los dos peces luna que aparecieron varados en la Comunidad Valenciana se encontraron un total de 13 especies de parásitos (8 en Canet de Berenguer y 11 en Almazora). Solamente uno de los ejemplares varados presentó un ectoparásito. Esta baja abundancia de ectoparásitos puede explicarse por el tiempo que permanecieron varados y que pudo hacer que los ectoparásitos se desprendieran. El pez luna varado en Almazora (el más grande analizado) fue el único pez en el que se han recolectado ejemplares de la especie del trematodo acacélido *Rhynchopharynx paradoxa*, así como

del nuevo género y especie del trematodo didimozoido Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. En general, la información sobre peces luna “grandes” (más de 1m de longitud total) obtenida en el presente estudio ha sido muy reducida, debido al bajo número de ejemplares examinados (5). Sería necesario ampliar el tamaño muestral para poder realizar un estudio comparativo con los peces “pequeños”.

A continuación se incluyen las Tablas 4.2.1 y 4.2.2 que presentan, detalladamente, los datos de parasitación de todas las especies encontradas en los peces luna procedentes de la almadraba de La Azohía (Cartagena) y en los dos peces encontrados varados en playas de la Comunidad Valenciana (Canet de Berenguer, en 2006, y Almazora, en 2007). Los datos de los muestreos de La Azohía se han indicado separadamente para cada muestreo anual y los valores totales. En las tablas de los muestreos de la almadraba y de los peces varados se ha incluido también información sobre la especificidad de los parásitos según las citas en la bibliografía disponible. De las especies identificadas, 10 presentaron baja especificidad (parásitos generalistas), frente a 9 especialistas de mólidos y 8 especialistas estrictas de *Mola mola*.

También se incluye en este apartado la Tabla 4.2.3, sobre los peces del acuario *L'Oceanogràfic* que indica, separadamente, (i) los peces analizados que no habían sido tratados con antihelmínticos, (ii) los peces que se analizaron después de menos de un mes de recibir los tratamientos y (iii) los peces que se analizaron después de más de un mes de recibir los tratamientos.

Tabla 4.2.1. Parásitos de pez luna, *Mola mola*, la almadraba de La Azohía (Cartagena). Se indica prevalencia (P. %), abundancia media (A.M.±D.T.) e intensidad media (I.M.±D.T.) anual (2005–2008) y total. Abreviaturas: G., generalista; M.E., especialista de mólidos; y Mm.E., especialista de *M. mola*.

| Parásito | Especificidad | 2005 | | | 2006 | | | 2007 | | | 2008 | | | TOTAL | | |
|--|---------------|-------|-----------|-----------|-------|-----------|------------|-------|-----------|------------|-------|-----------|-----------|-------------|------------------|------------------|
| | | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. |
| Filo Platyhelminthes | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Trematoda | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Accacoelidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Accacoelium contortum</i> | M.E.* | 65,0 | 6,2±7,9 | 9,5±8,0 | 64,3 | 5,0±8,3 | 7,6±9,2 | 27,3 | 8,1±24,1 | 29,8±40,7 | 15,0 | 1,8±7,4 | 11,7±18,5 | 49,0 | 5,6±13,4 | 11,4±17,4 |
| <i>Accacladium serpentulum</i> | M.E.* | 20,0 | 0,3±0,6 | 1,3±0,5 | 11,9 | 0,3±1,1 | 2,2±7 | 13,6 | 0,2±0,5 | 1,3±0,6 | 20,0 | 0,5±1,1 | 2,5±0,6 | 15,4 | 0,3±0,9 | 1,9±1,5 |
| <i>Accacladocoelium macrocotyle</i> | M.E. | 35,0 | 8,3±13,8 | 23,6±13,5 | 23,8 | 9,6±53,2 | 40,5±107,3 | 9,1 | 8,6±39,2 | 95,0±125,9 | - | - | - | 18,3 | 7,3±38,6 | 40,0±84,5 |
| <i>A. nigroflavum</i> | Mm.E. | 60,0 | 13,0±15,2 | 21,6±14,0 | 83,3 | 16,1±26,5 | 19,3±28,0 | 81,8 | 2,4±1,7 | 2,9±1,5 | 100 | 5,8±5,2 | 5,8±5,2 | 81,7 | 10,6±19,0 | 13,0±20,3 |
| <i>A. petasiporum</i> | Mm.E. | 75,0 | 12,3±22,8 | 16,4±25,2 | 69,0 | 7,3±11,8 | 10,5±13,0 | 36,4 | 1,2±2,2 | 3,4±2,4 | 35,0 | 1,3±2,3 | 3,6±2,7 | 51,9 | 5,8±13,1 | 10,2±16,1 |
| <i>Odhnerium calyptrocotyle</i> | M.E. | 40,0 | 2,0±4,2 | 5,0±5,5 | 42,9 | 1,6±3,5 | 3,7±4,6 | 50,0 | 2,2±4,5 | 4,4±5,7 | 40,0 | 2,4±4,6 | 5,9±5,8 | 43,3 | 1,9±4,0 | 4,5±5,2 |
| Didymozoidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Leiforma squamata</i> | Mm.E. | 15,0 | 0,4±1,0 | 2,7±1,2 | 14,3 | 0,8±2,6 | 5,3±5,3 | 13,6 | 0,7±2,6 | 5,3±5,8 | 15,0 | 0,5±1,4 | 3,3±2,3 | 15,4 | 0,7±2,2 | 5,4±6,0 |
| Lepocreadiidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Dihemistephanus lydiae</i> | Mm.E. | 70,0 | 37,1±46,5 | 53,0±47,5 | 69,0 | 15,7±21,1 | 22,7±22,1 | 63,6 | 17,1±21,6 | 26,9±21,6 | 75,0 | 8,1±7,7 | 10,8±7,0 | 69,2 | 18,6±27,8 | 26,9±30,0 |
| Monogenea | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Capsalidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Capsala martinieri</i> | M.E. | 15,0 | 0,3±0,8 | 2,0±1,0 | 11,9 | 0,3±1,1 | 2,4±2,6 | 18,2 | 0,3±0,8 | 1,8±1,0 | 5,0 | 0,1±0,2 | 1,0 | 12,5 | 0,3±0,9 | 2,0±1,0 |
| Cestoda | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gymnorhynchidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Molicola horridus</i> † | M.E.* | 100 | 5,6±3,9 | 5,6±3,9 | 100 | 6,4±4,6 | 6,4±4,6 | 95,0 | 3,3±2,1 | 3,4±2,0 | 100 | 9,3±6,1 | 9,3±6,1 | 99,0 | 6,3±5,0 | 6,4±4,9 |
| Lacistorhynchidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Floriceps saccatus</i> † | G. | - | - | - | 9,5 | 0,1±0,3 | 1,0±0,0 | - | - | - | 15,0 | 0,3±0,7 | 1,7±1,2 | 6,7 | 0,1±0,4 | 1,3±0,8 |
| Tetraphyllidea incertae sedis | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Plerocercoides tetrafilideos</i> † | G. | - | - | - | 11,9 | 0,1±0,4 | 1,2±0,4 | 18,2 | 0,2±0,4 | 1,0±0,0 | - | - | - | 8,7 | 0,1±0,3 | 1,1±0,3 |
| Triaenophoridae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Anchistrocephalus microcephalus</i> | M.E. | 100 | 32,5±35,3 | 32,5±35,3 | 85,7 | 10,7±11,6 | 12,5±11,6 | 86,4 | 6,0±7,4 | 7,0±7,6 | 95,0 | 22,0±25,3 | 23,1±25,4 | 90,4 | 16,1±22,5 | 17,8±23,0 |
| Filo Acantocephala | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Palaeacanthocephala | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Polymorphydae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Bolbosoma capitatum</i> † | G. | 5,0 | 0,1±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| Filo Nematoda | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Secernentea | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Anisakidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Anisakis</i> Tipo I, <i>sensu</i> , Berland, 1961† | G. | 30,0 | 0,3±0,5 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 5,8 | 0,1±0,2 | 1,0±0,0 |
| <i>Anisakis</i> Tipo II, <i>sensu</i> , Berland, 1961† | G. | - | - | - | 2,4 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| <i>Ascarophis</i> sp. † | G. | 5,0 | 0,1±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |

(*)Con citas esporádicas, aparentemente accidentales, en otras especies o familias de peces.

(†)Encontrado sólo en fases larvarias

Tabla 4.2.1. (cont.) Parásitos de pez luna, *Mola mola*, la almadraba de La Azohía (Cartagena). Se indica prevalencia (P. %), abundancia media (A.M.±D.T.) e intensidad media (I.M.±D.T.) anual (2005–2008) y total. Abreviaturas: G., generalista; M.E., especialista de mólidos; y Mm.E., especialista de *M. mola*.

| Parásito | Especificidad | 2005 | | | 2006 | | | 2007 | | | 2008 | | | TOTAL | | |
|---------------------------------|---------------|-------|------------|------------|-------|------------|------------|-------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-------|------------|------------|
| | | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. |
| Filo Arthropoda | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Maxillopoda | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Caligidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Caligus bonito</i> | G. | - | - | - | - | - | - | 5 | 0,1±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| <i>C. pelamydis</i> | G. | - | - | - | 2,4 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| <i>Caligus</i> sp. | Mm.E. | - | - | - | 4,8 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - | 1,9 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| <i>Lepeophtheirus nordmanni</i> | M.E. | 100 | 34,1±30,7 | 34,1±30,7 | 97,6 | 22,6±17,9 | 23,2±17,8 | 100 | 28,4±23,0 | 28,4±23,0 | 80,0 | 7,4±7,8 | 9,3±7,7 | 95,2 | 23,1±22,3 | 24,3±22,2 |
| Cecropidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Cecrops latreilli</i> | M.E.* | 95,0 | 4,8±4,4 | 5,0 ± 3,9 | 95,2 | 4,2±2,9 | 4,5±2,8 | 90,9 | 5,5±4,2 | 6,0±4,1 | 95,0 | 5,0±3,2 | 5,3±3,1 | 94,2 | 4,8±3,5 | 5,1±3,4 |
| Pandaridae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Nogaus</i> sp. n. | Mm.E. | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 5,0 | 0,1±0,2 | 1,0±0,0 | 1,0 | 0,0±0,1 | 1,0±0,0 |
| Pennellidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Pennella filosa</i> | G. | 45,0 | 0,7±1,0 | 1,6±0,9 | 16,7 | 0,2±0,5 | 1,1±0,4 | - | - | - | - | - | - | 15,4 | 0,2±0,6 | 1,4±0,7 |
| Malacostraca | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gnathiidae | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>Gnathia</i> sp.† | G. | 25,0 | 1,1±2,5 | 4,4±3,5 | 2,4 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | 4,5 | 0,1±0,6 | 3,0±0,0 | 15,0 | 0,3±0,7 | 1,7±1,2 | 9,4 | 0,3±1,2 | 3,1±2,8 |
| TOTAL | | 100 | 159,3±74,3 | 159,3±74,3 | 100 | 101,8±67,1 | 101,8±67,1 | 100 | 85,1±64,0 | 85,1±64,0 | 100 | 63,8±29,8 | 63,8±29,8 | 100 | 102,0±69,2 | 102,0±69,2 |

(*)Con citas esporádicas, aparentemente accidentales, en otras especies o familias de peces.

(†)Encontrado sólo en fases larvárias

Tabla 4.2.2. Parásitos de los dos peces luna, *Mola mola*, procedentes de varamientos en Canet de Berenguer (Valencia) y Almazora (Castellón). Se indica abundancia por especie parásita, riqueza de especies parásitas y el número total de parásitos de cada pez luna varado. Abreviaturas: G., generalista; M.E., especialista de mólidos; y Mm.E., especialista de *M. mola*.

| Parásito | Especificidad | Canet de Berenguer (2006) | Almazora (2007) |
|---|---------------|---------------------------|-----------------|
| Filo Platyhelminthes | | | |
| Trematoda | | | |
| Accacoelidae | | | |
| <i>Accacoelium contortum</i> | M.E.* | 7 | 15 |
| <i>Accacladium serpentulum</i> | M.E.* | - | 68 |
| <i>Accacladocoelium macrocotyle</i> | M.E. | 5 | 564 |
| <i>A. nigroflavum</i> | Mm.E. | 8 | 289 |
| <i>A. petasiporum</i> | Mm.E. | 2 | 266 |
| <i>Rhynchopharynx paradoxa</i> | Mm.E. | - | 10 |
| Didymozoidae | | | |
| Gonapodasmiinae n. gen. n. sp. | Mm.E. | - | 822 |
| Lepocreadiidae | | | |
| <i>Dihemistephanus lydiae</i> | Mm.E. | - | 33 |
| Cestoda | | | |
| Gymnorhynchidae | | | |
| <i>Molicola horridus</i> † | M.E.* | 1** | 1** |
| Triaenophoridae | | | |
| <i>Anchistrocephalus microcephalus</i> | M.E. | 16 | 9342 |
| Nematoda | | | |
| Secernentea | | | |
| Anisakidae | | | |
| <i>Anisakis</i> Tipo I, <i>sensu</i> Berland, 1961† | G. | - | 1 |
| Arthropoda | | | |
| Maxillopoda | | | |
| Cecropidae | | | |
| <i>Cecrops latreilli</i> | M.E. | 7 | - |
| Pandaridae | | | |
| <i>Nogaus</i> n. sp. | Mm.E. | 1 | - |
| Riqueza especies | | 8 | 11 |
| Nº Total parásitos | | 47 | 11411 |

(*)Con citas esporádicas, aparentemente accidentales, en otras especies o familias de peces

(**)Se indica presencia de *Molicola horridus*, no su abundancia

(†)Encontrado sólo en fases larvarias

Tabla 4.2.3. Parásitos de los peces luna, *Mola mola*, de las instalaciones del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia procedentes de la almadraba de La Azohía (Cartagena). Se indica prevalencia (P. %), abundancia media (A.M.±D.T.) e intensidad media (I.M.±D.T.). Hay tres grupos de peces: el primer grupo (“no tratados”) lo forman peces que no llegaron a recibir ningún tratamiento antihelmíntico, el segundo grupo (“<1 mes desde el tratamiento”) lo forman peces que fueron analizados después de menos de un mes de haber recibido los tratamientos antihelmínticos y el tercer grupo (“>1 mes desde el tratamiento”) lo forman peces que fueron analizados después de más de un mes de haber recibido tratamientos antihelmínticos. El número de peces luna de cada grupo (N) se indica entre paréntesis.

| Parásito | No tratados (3) | | | < 1 mes desde el tratamiento (29) | | | > 1 mes desde el tratamiento (29) | | |
|--|-----------------|-----------|-----------|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------------------------------|-----------|-----------|
| | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. | P.(%) | A.M.±D.T. | I.M.±D.T. |
| Filo Platyhelminthes | | | | | | | | | |
| Trematoda | | | | | | | | | |
| Accoelidae | | | | | | | | | |
| <i>Accoelium contortum</i> | 66,7 | 18,3±16,1 | 27,5±3,5 | 48,3 | 10,1±17,1 | 20,9±19,6 | 31,0 | 5,5±10,5 | 17,8±12,0 |
| <i>Accacladocoelium nigroflavum</i> | 33,3 | 9,7±16,7 | 29,0±0,0 | 72,4 | 9,6±11,8 | 13,2±12,0 | - | - | - |
| <i>A. petasiporum</i> | - | - | - | 6,9 | 0,2±0,8 | 3,0±1,4 | - | - | - |
| <i>Odhnerium calyptrocotyle</i> | 33,3 | 2,3±4,0 | 7,0±0,0 | 6,9 | 0,2±0,8 | 3,0±1,4 | - | - | - |
| Didymozoidae | | | | | | | | | |
| <i>Reniforma squamata</i> | - | - | - | 31,0 | 0,4±0,9 | 1,4±1,0 | 10,3 | 0,1±0,4 | 1,3±0,6 |
| Lepocreadiidae | | | | | | | | | |
| <i>Dihemistephanus lydiae</i> | 33,3 | 3,7±6,4 | 11,0±0,0 | 10,3 | 3,6±11,1 | 34,7±10,4 | - | - | - |
| Monogenea | | | | | | | | | |
| Capsalidae | | | | | | | | | |
| <i>Capsala martinieri</i> | 66,7 | 1,3±1,2 | 2,0±0,0 | 3,4 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - |
| Cestoda | | | | | | | | | |
| Gymnorhynchidae | | | | | | | | | |
| <i>Molicola horridus</i> † | 100 | 13,0±7,0 | 13,0±7,0 | 100 | 4,1±2,7 | 4,1±2,7 | 100 | 6,1±2,9 | 6,1±2,9 |
| Lacistorhynchidae | | | | | | | | | |
| <i>Floriceps saccatus</i> † | 33,3 | 0,3±0,6 | 1,0±0,0 | 3,4 | 0,0±0,2 | 1,0±0,0 | - | - | - |
| Triaenophoridae | | | | | | | | | |
| <i>Anchistrocephalus microcephalus</i> | 100 | 7,0±7,0 | 7,0±7,0 | 24,1 | 2,4±5,7 | 9,9±8,2 | - | - | - |
| Arthropoda | | | | | | | | | |
| Maxillopoda | | | | | | | | | |
| Caligidae | | | | | | | | | |
| <i>Lepeophtheirus nordmanni</i> | 100 | 8,7±7,4 | 8,7±7,4 | - | - | - | - | - | - |
| Cecropidae | | | | | | | | | |
| <i>Cecrops latreilli</i> | 66,7 | 4,7±4,0 | 7,0±0,0 | 41,4 | 1,8±2,9 | 4,3±0,3 | - | - | - |
| Pennellidae | | | | | | | | | |
| <i>Pennella filosa</i> | 66,7 | 0,7±0,6 | 1,0±0,0 | - | - | - | - | - | - |

(†)Encontrado sólo en fases larvarias

4.3. ESPECIES NUEVAS PARA LA CIENCIA

**4.3.1. DESCRIPCIÓN DE UN NUEVO GÉNERO Y ESPECIE
DE LA SUBFAMILIA GONAPODASMIINAE ISHII, 1935
(TREMATODA: DIDYMOZOIDAE)**

4.3.1.1. Introducción

La familia Didymozoidae Monticelli, 1888 está formada por trematodos cuyos adultos son parásitos intratisulares de peces. Esta familia incluye dos tipos de didimozoidos, dependiendo de la forma del cuerpo (terminología según Pozdnyakov y Gibson, 2008): i) “tipo Nematobótrido”, filiformes y con una sola región corporal y ii) “tipo Didimozoido”, con el cuerpo dividido en dos regiones, una región anterior alargada y estrecha y otra posterior más ancha o globular. La clasificación de este grupo de trematodos resulta particularmente complicada ya que se trata de parásitos de morfología compleja con un tamaño y/o longitud relativamente grande, lo que dificulta el estudio y reconstrucción morfológica de los ejemplares completos y sus estructuras. En el caso de los parásitos de “tipo Didimozoido” esta problemática se agrava aún más por tener una región posterior globular en la que resulta complicado interpretar la disposición tridimensional de sus estructuras. Por este motivo, existen multitud de citas de didimozoidos de peces no identificadas hasta nivel de especie. Por ejemplo, el 22 % de las 1199 citas de didimozoidos indicadas en la base de datos parásito-hospedador del Museo de Historia Natural de Londres no están identificadas a nivel específico (Gibson *et al.*, 2005). Por este motivo, existen numerosas revisiones y reestructuraciones de la taxonomía de los didimozoidos a todos los niveles (subfamilias, tribus, géneros y especies) (ver ejemplos en Yamaguti, 1963; Lester, 1980; Pozdnyakov, 1996; Pozdnyakov y Gibson, 2008).

La mayoría de especies de didimozoidos se han citado en peces pelágicos piscívoros, como los escómbridos (Lester, 1980). En el caso del pez luna, especie objeto del presente estudio, se han citado 8 especies de didimozoidos (ver Apéndice I): *Didymozoon molae* (Rudolphi, 1819) Dollfus, 1946 y *D. taenioides* Monticelli, 1883, en músculo; *Nematobithrioides histoidii* Noble, 1974 en tejido subcutáneo y en músculo; *Koellikeria filicollis* (Rudolphi 1819) Cobbold 1860, en intestino y *K. benedenii* (Monticelli, 1893) MacCallum et MacCallum, 1916, *Nematobothrium benedeni* (Monticelli, 1893) Maclaren, 1904, *N. molae* Maclaren, 1904 y *Reniforma squamata* Pozdnyakov, 1994, en branquias (Nicoll, 1914; Dollfus, 1946; Noble, 1975; Pozdnyakov, 1994). Durante el estudio de peces luna de la almadraba de La Azohía (Cartagena) sólo se han encontrado ejemplares de una de estas especies previamente citadas, *R. squamata*, parásito de “tipo Didimozoido”, de branquias y pseudobranquias descrito en detalle en el apartado 4.4.2. Sin embargo, en el pez luna varado en Almazora (Castellón) se

encontraron numerosos didimozoidos de una especie diferente, dentro de voluminosos abultamientos en la piel. Estos parásitos, también de “tipo Didimozoido”, mostraron caracteres morfológicos exclusivos, diferentes a los de otros géneros y especies conocidos. En este apartado se describe el resultado del estudio morfológico de estos ejemplares, ubicándolos en un nuevo género y especie. Además, se discute sobre el sistema de dispersión de los huevos de estos parásitos.

4.3.1.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Los parásitos fueron recolectados de la piel de un único pez luna varado en la playa de Benafeli, Almazora, en Castellón, con 2,4 m de longitud total y 2,6 m de altura total. Los especímenes recolectados se limpiaron con solución salina. Algunos ejemplares fueron sacrificados en etanol 70 % caliente y, posteriormente, conservados en etanol 70 %, para estudios morfológicos, o en formol 10 % salino, para estudios histológicos.

Debido al gran volumen y complejidad de los parásitos, el estudio morfológico se realizó diseccionando bajo lupa binocular a 10 de los ejemplares guardados en etanol 70 %. Se trataba de ejemplares “tipo Didimozoido”, con la región posterior globular formada por una madeja intrincada y frágil. Por este motivo las regiones filiformes anteriores fueron diseccionadas e independizadas junto con tramos contiguos, lo más largos posible, de la zona globular posterior. El resto de la zona globular posterior se disgregó en fragmentos. Cada una de las partes independizadas fueron teñidas, montadas y medidas según se ha explicado en *Material y Métodos generales*.

4.3.1.3. Resultados

Todos los parásitos fueron localizados en el *stratum compactum* de la piel del pez luna produciendo abultamientos muy numerosos (n= 822) y evidentes en la superficie corporal, con un diámetro de 4 a 9 cm, que podían sobresalir 1 o 2 cm en la piel del pez. Los abultamientos se distribuían por ambos lados del cuerpo, principalmente cerca del *clavus* y en las zonas dorsales (fig. 4.3.1.1A-C). Dentro de cada abultamiento, los parásitos formaban cápsulas amarillentas, globosas e irregulares (4,4–13,2 x 2,4–3,3 cm; n= 40) envueltas por tejido conectivo del hospedador (fig. 4.3.1.1D y E) y con una importante vascularización (fig. 4.3.1.1F y G). Por debajo de los parásitos más

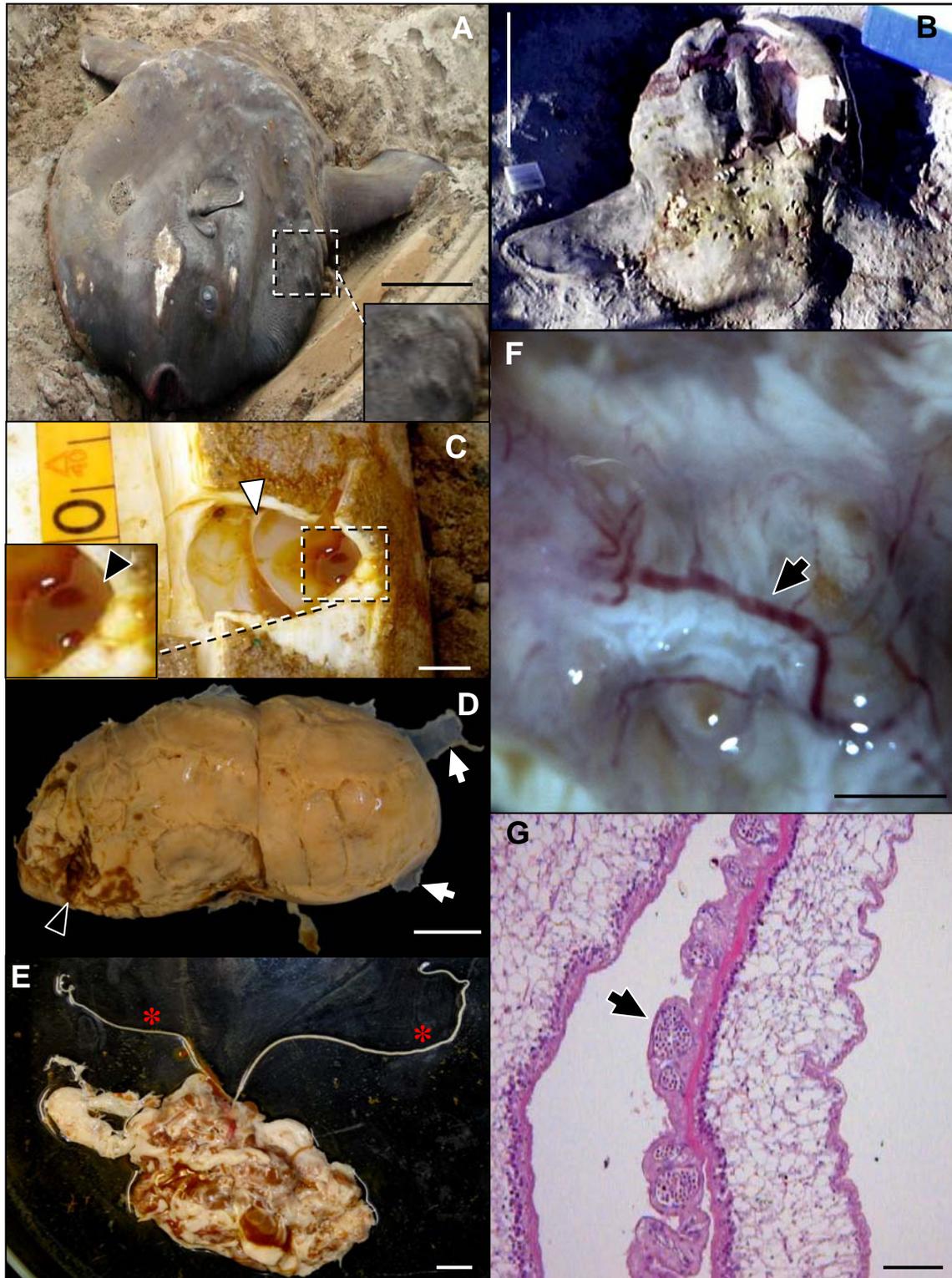


Figura 4.3.1.1. Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. parasitando a un pez luna, *Mola mola*, varado en Almazora (Castellón). A, vista lateral del pez luna con abultamientos en la superficie corporal (recuadro en línea discontinua y detalle); B, vista lateral del cuerpo del pez luna con cavidades tras la extracción de los parásitos; C, cavidades en el *stratum compactum* del pez producidas por los parásitos tras la extracción de dos cápsulas (la punta de flecha blanca señala el tabique entre dos cápsulas), con detalle de fluido con huevos (punta de flecha negra); D, cápsula de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. extraída de los abultamientos (las flechas blancas señalan el tejido conectivo del hospedador que envuelve las cápsulas y la punta de (continúa en página siguiente)

Fig.4.3.1.1. (cont.) flecha negra señala los huevos del parásito de color marrón); E, cápsula de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. desplegada (los asteriscos marcan las regiones anteriores filiformes); F, detalle macroscópico de la superficie de la cápsula donde se observan vasos sanguíneos (flecha negra); G, corte histológico teñido con H.E. de una cápsula donde se observan cortes transversales de los vasos sanguíneos (flecha negra). Cortes teñidos con H.E. (fig. G). Escalas: 30 cm, en A; 1 m, en B; 2 cm, en C y D; 1 cm, en E; 2 mm, en F, y 40 μ m, en G.

superficiales se encontraron otros más profundos en cavidades, en ocasiones, interconectadas. Estas cápsulas estaban conectadas con el hospedador por pequeñas prolongaciones de tejido conjuntivo. Al retirar a los didimozoides quedaban amplias cavidades en el *stratum compactum* llenas de un fluido marrón amarillento que, cuando se analizó en microscopio, se observó que estaba formado por huevos (fig. 4.3.1.1C).

Al analizar las cápsulas de parásitos se observó que la región posterior globular del didimozoido, más o menos lobulada, se plegaba formando la cápsula, de la que partían de 2 a 5 las regiones anteriores filiformes o “cefálicas” del didimozoido. La superficie externa de las cápsulas estaba formada principalmente por lóbulos de tejido vivo del parásito de aspecto esponjoso y blanquecino, que se encajaban entre sí formando una estructura con aspecto de puzle. Una capa de tejido conjuntivo del hospedador muy vascularizado envolvía toda la cápsula.

El estudio detallado de los especímenes mostró la presencia de caracteres morfológicos exclusivos y diferentes a otros géneros de didimozoides conocidos por lo que estos ejemplares parecen pertenecer a un nuevo género y especie.

-Diagnosis de Gonapodasmiinae gen. n.

Con las características de la subfamilia Gonapodasmiinae Ishii, 1935, tribu Gonapodasmiini Ishii, 1935. Varios individuos hermafroditas fusionados y plegados en una cápsula globosa de morfología variable, con una red de vasos sanguíneos del hospedador asociada. Región anterior alargada. Región posterior ancha, alargada, sin forma definida, con proyecciones laterales lobuladas que pueden presentar tejido con material fibroso. Ventosa oral y faringe presentes. La ventosa ventral puede estar presente. Esófago relativamente largo. Los ciegos penetran en la parte posterior del cuerpo. Un testículo en cada uno de los individuos fusionados en la zona posterior del cuerpo. Poro genital ventral. Ovario y glándulas vitelógenas tubulares, ocupando la zona posterior del cuerpo. Receptáculo seminal presente. Sistema excretor en forma de “Y”, bifurcado a la altura de la separación de los ciegos. Parásito tisular de teleósteos.

-Descripción de *Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n.

(figs. 4.3.1.2 y 3)

Basado en 10 individuos. Parásitos completamente hermafroditas fusionados por la región posterior en grupos de 2 o más individuos (fig. 4.3.1.2). Regiones posteriores fusionadas gruesas, alargadas, con proyecciones lobuladas. Regiones posteriores plegadas en cápsulas compactas de morfología globular de tamaño y forma variable (4,4–13,2 (7,7±3,9) x 2,4–3,3 (2,9±0,4) cm). Superficie externa de la cápsula formada por un tejido parenquimatoso blanquecino. Este tejido parenquimatoso tiene proyecciones laterales con material fibroso que encajan entre sí, dando al conjunto un aspecto de puzle. Cápsula recubierta de una envoltura de tejido conjuntivo del hospedador profusamente vascularizada. Regiones anteriores del cuerpo filiformes y largas (94,1–156,0 (197,8±43,0) x 0,4–0,7 (0,6±0,1)) (fig. 4.3.1.3A). No existe atrio por donde emerjan las regiones anteriores del parásito. Ventosa oral terminal elipsoidal (0,07–0,09 (0,08±0,01) de diámetro mínimo y 0,09–0,10 (0,09±0,01) de diámetro máximo) (fig. 4.3.1.3A). Ventosa ventral muy tenue, elíptica (0,07 (0,07±0,00) de diámetro mínimo y 0,10 (0,10±0,01) de diámetro máximo) (fig. 4.3.1.3A). Distancia entre ventosa oral y ventosa ventral de 1,5–2,4 (1,9±0,5). Faringe cupuliforme (0,1 (0,1±0,0) de diámetro). Esófago largo y curvado (0,6). Ciegos que finalizan al penetrar en la región posterior del cuerpo (fig. 4.3.1.2A). Conductos excretores en forma de “Y” bifurcándose cerca del comienzo de los ciegos. Un único testículo tubular, muy enredado (tramos más largos medidos de 8,4–10,7 (9,6±1,7) x 0,1 (0,1±0,0)) (figs. 4.3.1.2B y 4.3.1.3D), que termina en la región distal de la región posterior. Vaso deferente alargado, que desemboca en un conducto hermafroditico muy corto. Poro genital ventral, a la altura de la base de la faringe. Ovario lobulado formado por ramificaciones lobulares que ocupan zonas de la región posterior globular (figs. 4.3.1.2C y 4.2.1.3B). Receptáculo seminal uterino amplio (fig. 4.3.1.3C) próximo a la inserción de la región anterior en el cuerpo, a la altura del tramo anterior del testículo. Unión genital no observada. Glándulas vitelógenas tubulares localizadas en la región posterior globular, penetrando en las proyecciones laterales. Útero extendido por la región posterior globular, formando multitud de curvas y penetrando en las proyecciones laterales. Metratermo muscular de 5,7–5,8 (5,7±0,1) de longitud. Huevos elipsoidales (0,02 x 0,01–0,02 (0,01±0,01), n= 20).

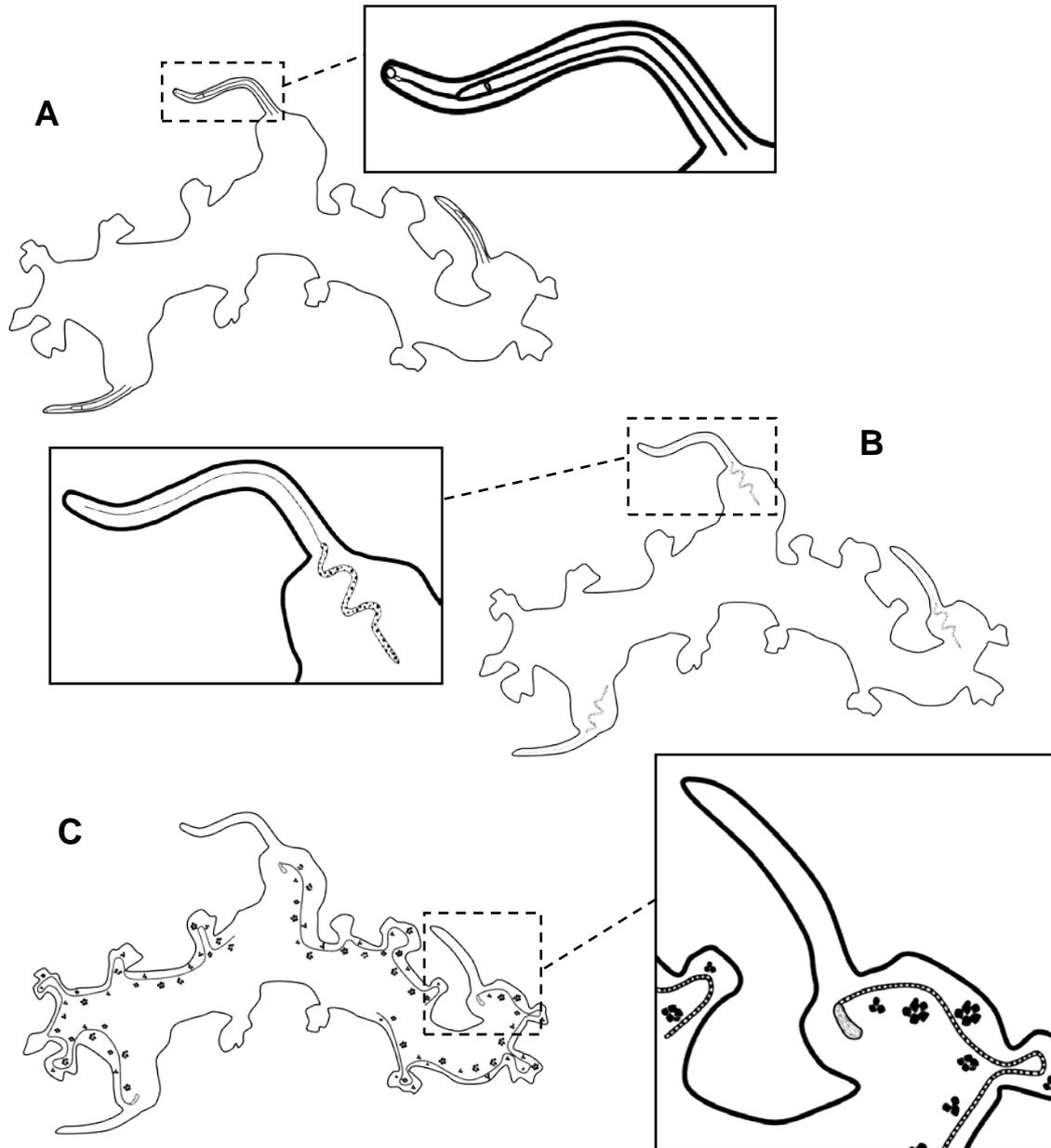


Figura 4.3.1.2. Representaciones esquemáticas de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. de piel de pez luna, *Mola mola*. A, representación del sistema digestivo y la ventosa ventral; B, representación del sistema reproductor masculino; C, representación del sistema reproductor femenino (ovario en negro y glándulas vitelógenas con entramado blanco y negro).

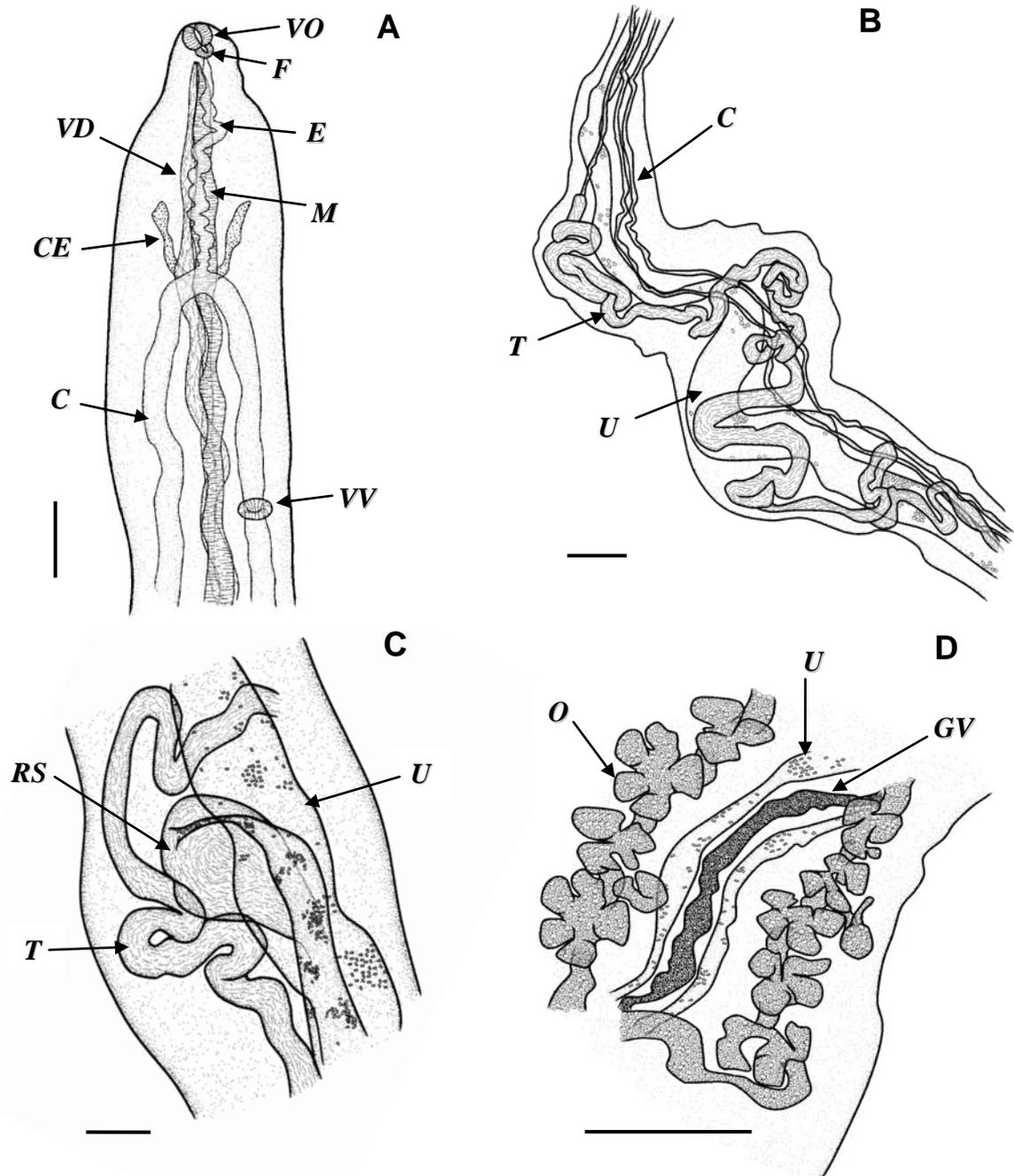


Figura 4.3.1.3. Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. de piel de pez luna, *Mola mola*. A, región anterior del parásito en vista ventral; B, detalle de la región posterior del cuerpo a la altura del final del testículo; C, detalle de la región posterior del cuerpo a la altura del receptáculo seminal; D, detalle de la región posterior del cuerpo a la altura del ovario. Abreviaturas: C, ciegos intestinales; CE, conductos excretores; E, esófago; F, faringe; GV, glándulas vitelógenas; M, metratermo; O, ovario; RS, receptáculo seminal; T, testículo; U, útero; VD, vaso deferente; VO, ventosa oral; VV, ventosa ventral. Escalas: 0,25 mm, en A; y 1 mm, en B-D.

-Resumen taxonómico

Localidad: Almazora (Castellón, España).

Hospedador: *Mola mola*.

Tamaño del hospedador: (longitud total x altura total) 240 x 260 cm.

Lugar de infección: Piel (subcutáneo).

Parámetros de infección: Encontrado en el único pez analizado de esta localidad, A.T.= 822 (estimación realizada para ambos costados del cuerpo contando sólo las cápsulas y no los individuos por cápsula). Datos calculados con todos los peces luna de este estudio (n= 106): P.= 0,9 %; A.M.±D.T.= 7,8±79,9; I.M.±D.T.= 822.

-Consideraciones morfológicas

Los parásitos aquí descritos presentan combinaciones de caracteres exclusivos que no se ajustan a las del resto de especies de los géneros de la subfamilia Gonapodasmiinae conocidos. Los géneros más similares son *Allodidymocodium* Yamaguti 1970, *Opepherocystis* Yamaguti 1970 y *Syncorpozoum* Ku & Shen, 1965 (fig. 4.3.1.6), todos ellos pertenecientes a la tribu Gonapodasmiini Ishii, 1935. La característica más definitoria de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. es la morfología general y de las regiones posteriores del cuerpo: de dos a cinco individuos fusionados con las regiones posteriores fusionadas, irregulares, alargadas, anchas y con lobulaciones que se pliegan en una cápsula globular. Esta disposición general es similar a la de la única especie descrita del género *Syncorpozoum*, *S. hainanense*, (fig. 4.3.1.4B). Esta especie, a diferencia de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n., se encuentra en las branquias y las cápsulas están formadas por dos individuos (Ku y Shen, 1965). Además, *S. hainanense* tiene dos testículos tubulares, en vez de uno. Las especies de otros géneros como *Allodidymocodium* (fig. 4.3.1.4C) y *Opepherocystis* (fig. 4.3.1.4D) también presentan un único testículo, pero la morfología de la región posterior del cuerpo de estas especies es muy diferente, aplanada en el primer género y globular y sin proyecciones lobuladas en el segundo (Pozdnyakov y Gibson, 2008). La especie aquí descrita presenta además algunas características exclusivas como la presencia de ventosa ventral. Este carácter no sólo sería exclusivo del género, si no que sería una excepción dentro de la subfamilia Gonapodamiinae (Pozdnyakov y Gibson, 2008). Por todas estas características exclusivas,

los especímenes aquí descritos representarían una nueva especie y nuevo género dentro de la subfamilia Gonapodasmiinae.

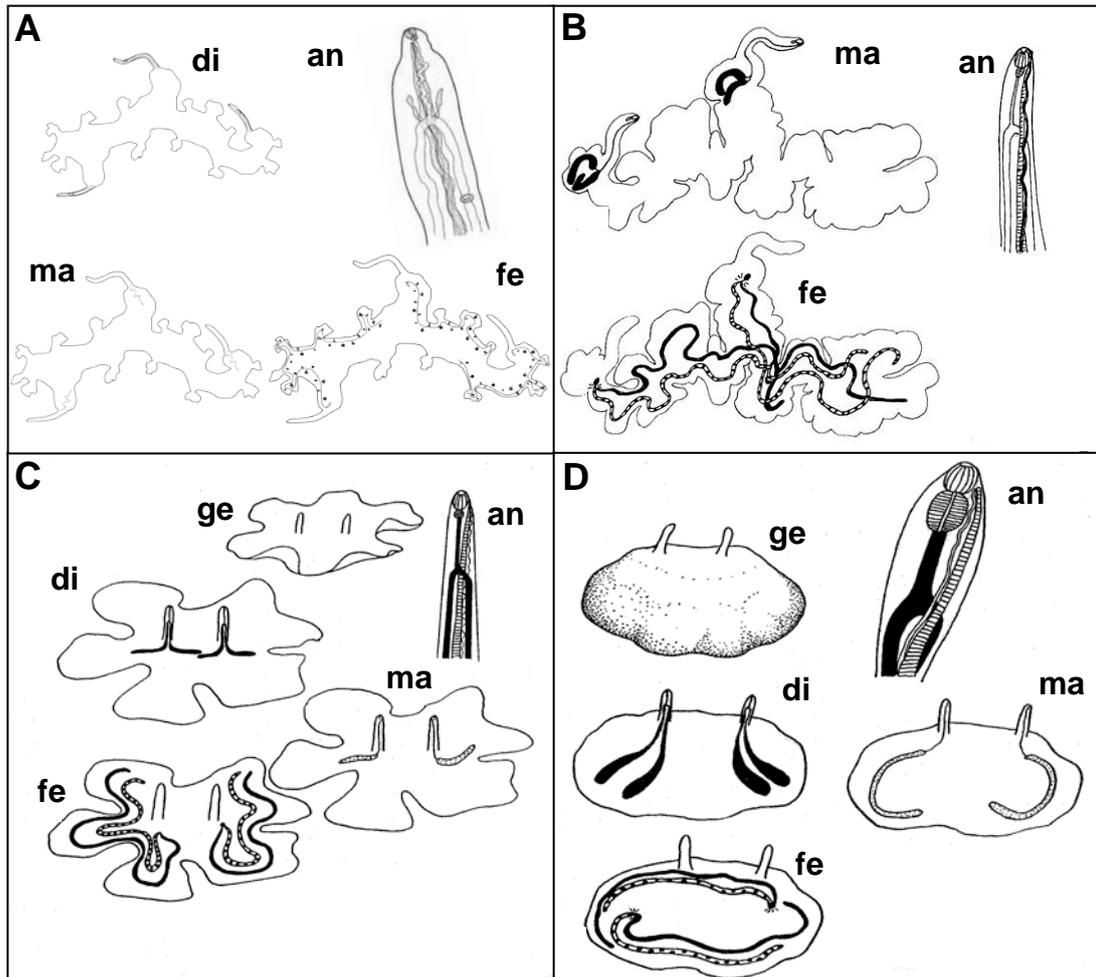


Figura 4.3.1.4. Dibujos esquemáticos de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. y de didimozoidos con características similares. A, Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. (presente estudio); B, género *Syncorpozoum* Ku & Shen, 1965; C, género *Allodidymocodium* Yamaguti 1970; D, género *Opephercystis* Yamaguti 1970. Abreviaturas: an, extremo anterior; di, esquema del digestivo; fe, esquema del aparato genital femenino; ge, aspecto general del parásito; y ma, esquema del aparato genital masculino (Figuras B-D extraídas de Pozdnyakov y Gibson, 2008).

4.3.1.4. Discusión

Los didimozoidos son una de las familias de digeneos más controvertidas y, al mismo tiempo, desconocidas, tanto por la complejidad de su morfología y taxonomía, como por la falta de conocimientos que se tiene sobre ellos a todos los niveles: ciclos de vida, hospedadores, distribución, etc. Por este motivo resulta difícil adscribir las nuevas formas que se van descubriendo a las subfamilias y géneros ya erigidos y caracterizados (Pozdnyakov y Gibson, 2008).

El hallazgo de Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. eleva a 9 las citas de didimozoidos en el pez luna, aunque algunas de estas citas son especies dudosas (ver, p. ej., los comentarios sobre *Nemathobothrium molae* en Yamaguti, 1963). De las 8 especies que se conocían previamente, solamente una de ellas pertenecía a la subfamilia Gonapodasmiinae Ishii, 1935, *Reniforma squamata* Pozdnyakov, 1994 (ver redescrición morfológica en apartado 4.4.2 del presente capítulo). Además, sólo *Didymozoon taenioides* Monticelli, 1883, ubicado en el músculo y *Nematobothrium molae* Maclaren, 1904, ubicado en las branquias, habían sido citadas previamente en el Mediterráneo (Timon-David y Musso, 1971; Pozdnyakov, 1996). Resulta interesante el hecho de que, a pesar de la existencia de numerosos estudios sobre los parásitos del pez luna, no se haya encontrado previamente a este llamativo parásito (ver Apéndice I). Gonapodasmiinae gen. n. sp. n. es la única especie de didimozoido de pez luna encontrado en la piel, localización superficial que, junto a su gran tamaño, hace que este parásito difícilmente pase desapercibido. Además, la elevada abundancia de esta especie, no hallada previamente en otros hospedadores, hace muy poco probable que se tratara de una infección accidental. El hecho de que estas cápsulas solamente se detectaran en el más grande de los peces luna analizados en el presente estudio (más de 2 m de longitud total), hace pensar que quizás esta especie sólo se encuentre en los peces de gran tamaño. Sin embargo, existen otros trabajos parasitológicos de peces luna grandes del Mediterráneo (más de 2,2 m; n= 3) en los que tampoco se halló esta especie (Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006).

El género y la especie descrita presentan características propias de la subfamilia Gonapodasmiinae Ishii, 1935, tribu Gonapodasmiini Ishii, 1935 (hermafroditas con regiones posteriores diferenciadas y parcialmente fusionadas). Sin embargo, según la bibliografía disponible, no existe ningún otro caso en que más de dos individuos se puedan fusionar, ni en la subfamilia Gonapodasmiinae, ni en la familia Didymozoidae, en general (Yamaguti, 1963; Pozdnyakov y Gibson, 2008). Este género y especie presenta además ventosa ventral, a pesar de que la ausencia de esta estructura es un carácter diagnóstico de la subfamilia. Resulta destacable que, como se indica en el apartado 4.4.2, la especie *R. squamata*, de la misma subfamilia, también presenta ventosa ventral, a pesar de que su presencia fue omitida en su descripción original, por lo que posiblemente este carácter pueda haber pasado desapercibido en otros gonapodásmenos. En cualquier caso, los presentes hallazgos implican que la diagnosis de la subfamilia Gonapodasmiinae y la tribu Gonapodasmiini debería ser corregida.

A pesar de que se han descrito muchas especies de didimozoidos parásitos de peces, el modo de transmisión y dispersión de la mayoría de especies es desconocido y los estudios experimentales resultan complicados ya que sus hospedadores son, principalmente, grandes peces pelágicos difíciles de mantener en condiciones controladas (Lester, 1980). Los didimozoidos presentan un ciclo indirecto, en el que los miracidios eclosionados de los huevos han de infectar a un hospedador intermediario. Curiosamente, los adultos de las especies de esta familia producen gran cantidad de huevos dentro de los tejidos en los que habitan, sin que, aparentemente, exista una salida para ellos. Algunos autores sugieren que muchos adultos de didimozoidos liberan los huevos al exterior cuando se produce una ruptura traumática tisular, frecuentemente por depredación (Noble, 1975; Lester, 1980). Los abultamientos observados en la superficie corporal del pez luna estarían bajo una gran presión debido a la producción continua de huevos de *Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n., lo que conllevaría una creciente tensión en la capa de piel que separa los quistes del medio externo. Esta tensión implicaría una mayor fragilidad de los abultamientos. Además, es conocido que los peces luna se colocan horizontalmente en la superficie del agua permitiendo a gaviotas y otras aves marinas recolectar ectoparásitos (Abe *et al.*, 2012). Algo parecido sucede con los peces limpiadores, como *Pomacanthus imperator* (Bloch, 1757), los cuales limpian a los peces luna alimentándose de sus ectoparásitos (Konow, 2006). Estos animales desparasitadores pueden llegar a ulcerar la piel que rodea a las cápsulas (especialmente las aves marinas). De la misma forma, la acción de animales carroñeros sobre los peces luna muertos podrían contribuir a la liberación de huevos al medio. Esta última posibilidad podría estar facilitada por la propia acción patógena del parásito (especialmente en abundancias tan elevadas como la observada en el presente estudio) que podría contribuir a la muerte del pez luna.

**4.3.2. DESCRIPCIÓN DE *NOGAUS* SP. N. (MAXILLOPODA:
PANDARIDAE)**

4.3.2.1. Introducción

Nogaus Leach, 1816 (en ocasiones erróneamente nombrado como *Nogagus*, ver Kabata, 1979 o Oldewage, 1990) es un género de crustáceos controvertido, descrito desde una serie de hallazgos puntuales, con un bajo número de especies. Las hembras de las especies de este género son desconocidas en la mayoría de los casos y algunas especies previamente incluidas en el género *Nogaus* han sido posteriormente asignadas a otros géneros (p. ej., *Pandarus affinis* Van Beneden, 1892 previamente conocido como *Nogagus tenax* Steenstrup & Lütken, 1861 (Oldewage, 1990)). Además, existen citas de especies del género *Nogaus* de vida libre y parásitas de peces (Kabata, 1979).

Durante el transcurso del presente estudio se recolectaron dos especímenes del género *Nogaus* que no pudieron ser adscritos a ninguna especie previamente conocida. A continuación se describen las principales características morfológicas de estos especímenes.

4.3.2.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Los especímenes han sido examinados, medidos y fotografiados en preparaciones temporales en etanol 70 % con microscopía óptica estándar (50–1000x).

4.3.2.3. Resultados

Los parásitos se recolectaron en dos peces luna diferentes, uno de La Azohía (Cartagena) y otro de Canet de Berenguer (Valencia), en dos hábitats distintos, branquias y piel. Ambos ejemplares eran machos adultos.

-Descripción de *Nogaus* sp. n.

(fig. 4.3.2.1.)

Basado en 2 especímenes machos adultos. Cuerpo claviforme, con cefalotórax redondeado y resto del cuerpo estrecho y relativamente corto 2,3–2,5 x 1,4–1,6 (fig. 4.3.2.1A). Parte dorsal del cefalotórax caligiforme (1,1–1,3 de largo) con 2 proyecciones postero-laterales marcadas por profundas depresiones en el caparazón. Ojos relativamente

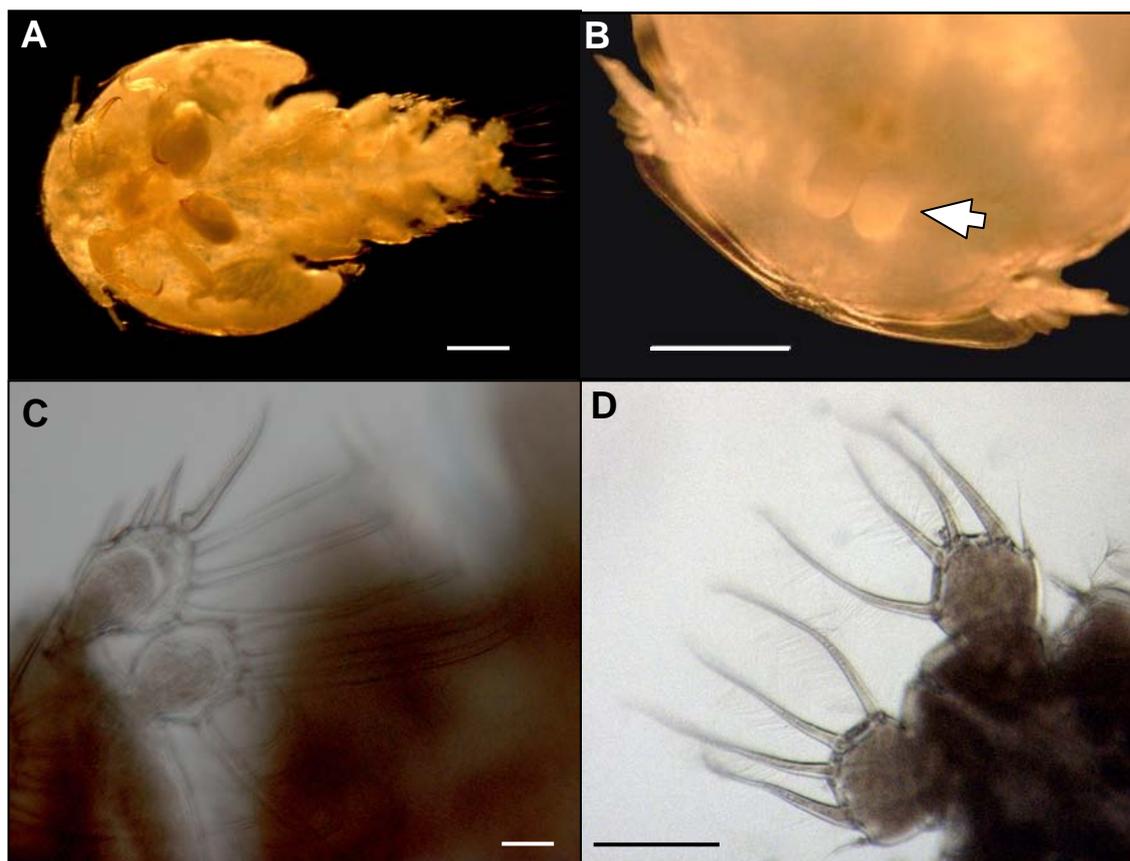


Figura 4.3.2.1. *Nogaus* sp. n. recolectado en piel de pez luna, *Mola mola*. A, espécimen completo en vista ventral; B, detalle de la parte anterior del cefalotórax, la flecha blanca señala los ojos; C, detalle del cuarto apéndice. D, detalle de las lamelas caudales. Escalas: 0,5 mm, en A y B; 0,1 mm, en C; y 0,2 mm, en D.

grandes, elípticos, unidos entre sí (fig. 4.3.2.1B). El resto del cuerpo con cuatro segmentos: primero de 0,4–0,5 x 1,4, segundo y tercero de la misma longitud que el primero pero anchura diferente (0,9 para el segundo y 0,7–0,8 para el tercero). El cuarto segmento, el genital, de 0,3–0,4 x 0,7–0,8. Anténula con dos segmentos de la misma anchura y longitud (0,2 x 0,1): segmento proximal con 13 setas pinnadas y segmento distal con 8 setas, 5 de ellas pinnadas. Antena con tres segmentos: segmento proximal corto de 0,1 x 0,1–0,2; segmento medio, más largo y ancho (0,3 x 0,2–0,3); y segmento distal, más largo pero más estrecho (0,3–0,5 x 0,1). Proceso postantenal no observado. Maxílula formada por un proceso redondeado con una espina curvada en su ápice. Maxila con dos segmentos: segmento proximal más corto y ancho (0,2–0,3 x 0,2) y segmento distal más largo y estrecho (0,3–0,6 x 0,1). Maxilípido con dos segmentos: segmento proximal más ancho (0,4–0,7 x 0,3–0,5) y segmento distal más estrecho y terminado en gancho, (0,6–0,7 x 0,1–0,2). Los cuatro primeros apéndices birrámeos; los tres primeros con exópodo y endópodo de dos segmentos y el cuarto apéndice con exópodo y endópodo

de un segmento. Exópodos y endópodos de todos los apéndices birrámeos de la misma longitud y anchura (0,1–0,2 x 0,1). Primer apéndice con simpodio más pequeño que los otros apéndices (0,1–0,2 x 0,2 en el primer apéndice y 0,3–0,5 x 0,2–0,4 en los otros apéndices), con una corta espina aserrada en su margen lateral interno. Segmento proximal del exópodo del primer apéndice con una espina aserrada en el margen lateral externo. Segmento distal con 3 espinas aserradas en el margen lateral externo, una seta distal con una membrana aserrada en el lado externo y pinnada en su lado interno y 3 setas laterales internas, largas y pinnadas. Endópodo del primer apéndice con 3 setas distales pinnadas en el margen del segmento distal. Segundo apéndice con un simpodio con una seta pinnada en el margen lateral interno y una corta espina aserrada en el margen lateral externo. Segmento proximal del exópodo con una espina aserrada en el margen lateral externo y segmento distal con 3 espinas aserradas en el margen lateral externo, una seta distal con una membrana aserrada en el lado externo y pinnada en su lado interno y 5 setas distales internas, largas y pinnadas. Segmento proximal del endópodo con una larga seta pinnada en el margen lateral interno y segmento distal con 7 setas distales largas pinnadas. Tercer apéndice igual que el segundo apéndice salvo en que el segmento distal del endópodo presenta 4 setas pinnadas y una espina aserrada. Cuarto apéndice (fig. 4.3.2.1C) no armado. Exópodo con 3 espinas aserradas en el margen lateral externo, una seta distal con una membrana aserrada en el lado externo y pinnada por su lado interno y 3 setas laterales externas, largas y pinnadas. Endópodo con 3 largas setas pinnadas distales y una en el margen lateral interno. Quinto apéndice vestigial, con una espina aserrada ventral y una corta seta pinnada en el margen distal. Lamelas caudales de 0,2–0,3 x 0,2 con 4 setas largas pinnadas en el margen distal y una seta pinnada más corta en el margen lateral externo (fig. 4.3.2.1D).

-Resumen taxonómico

Localidades: La Azohía (Cartagena, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España).

Hospedador: *Mola mola*.

Tamaño del hospedador: (longitud total x altura total) 42,5 x 103 y 58,4 x 140 cm.

Lugar de infección: Branquias y piel.

Parámetros de infección: Datos calculados con todos los peces luna de este estudio (n=106): P.= 1,9 %; A.T.= 2; A.M.±D.T.= 0,0±0,1; I.M.±D.T.= 1,0±0,0.

-Consideraciones morfológicas

Los especímenes recolectados se parecen a los machos de *N. ambiguus* T. Scott, 1908 en el tipo de segmentación, pero no en las proporciones y tamaño (longitud 5,5 mm en *N. ambiguus*; 2,4 mm de media en *Nogaus* sp. n.). Además, el cefalotórax de *N. ambiguus* es apuntado, mientras que en los ejemplares analizados en la presente tesis doctoral es más redondeado. El tamaño y disposición de los ojos de *N. ambiguus* tampoco coincide con los de *Nogaus* sp. n. (más pequeños y separados en *N. ambiguus*).

4.3.2.4. Discusión

Los especímenes recolectados parecen pertenecer a una nueva especie del género *Nogaus* Leach, 1816, ya que no existe ninguna especie conocida con sus proporciones y su tamaño. Sin embargo, sería necesario examinar más ejemplares para poder realizar descripciones adecuadas para la erección de una nueva especie. Respecto a su localización, se han recolectado en piel y branquias pero, por su bajo número, no se pueden descartar que sean de vida libre y que se hayan encontrado accidentalmente sobre el pez luna. Esta es la primera vez que se cita a una especie del género *Nogaus* en pez luna.

**4.4. REDESCRIPCIONES Y COMENTARIOS
TAXONÓMICOS DE ESPECIES PARÁSITAS DEL PEZ
LUNA**

**4.4.1. REDESCRIPCIÓN DE *ACCACOELIUM CONTORTUM*
(RUDOLPHI, 1819) LOOSS, 1899 (TREMATODA:
ACCACOELIIDAE)**

4.4.1.1. Introducción

La familia Accacoeliidae Odhner, 1911 incluye especies de trematodos hemiuroides, encontrados habitualmente en el digestivo de los peces luna (Bray y Gibson, 1977; Gibson, 2002). *Accacoelium contortum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 es la única especie del género *Accacoelium* Monticelli, 1893. Esta especie ha sido encontrada habitualmente como ectoparásita branquial, siendo una excepción notable no sólo dentro de la familia Accacoeliidae, si no en toda la clase Trematoda. La especie ha sido citada principalmente en *Mola mola* y *M. ramsayi* (Molidae) (Linton, 1940; Dollfus, 1946; Threfall, 1967; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Cooper *et al.*, 1982; Villalba y Fernández, 1985; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). Existe además una cita en *Spicara maena* (L.) (Sparidae) (Naidenova y Mordvinova, 1997), especie de teleósteo también planctívora como el pez luna (Froese y Pauly, 2012). Como ya se ha comentado anteriormente, esta especie ha sido descrita previamente en las branquias del pez luna (ver Linton, 1940; Dollfus, 1946; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Cooper *et al.*, 1982) aunque, otras localizaciones citadas son la cavidad oral (Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006), la faringe (Threfall, 1967), el esófago (Linton, 1940; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006) y el tubo digestivo (Dollfus, 1946; Bray y Gibson, 1977).

Durante el examen parasitológico de los peces luna realizado en la presente tesis doctoral se obtuvieron un gran número de especímenes de *A. contortum*. El examen de los ejemplares recolectados mostró caracteres morfológicos que no concuerdan con las descripciones previamente realizadas de esta especie (Rudolphi, 1819; Olsson, 1868; Monticelli, 1893; Linton, 1898 y 1940; Looss, 1899; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977) ya que no coincide ni la longitud del pedúnculo de la ventosa ventral ni la posición relativa de los órganos sexuales. El objetivo del presente estudio es analizar la causa de dichas diferencias, ampliando o matizando la información descriptiva previa. Para ello se han comparado las dimensiones de los parásitos indicadas en la bibliografía con las de los ejemplares recolectados en este estudio.

4.4.1.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Los especímenes proceden de los 106 peces luna procedentes del medio natural analizados en el presente estudio. Los parásitos recolectados (previamente congelados o procedentes de material fresco) se limpiaron con

solución salina, para después preservarlos en etanol 70 %. Los parásitos recolectados vivos fueron sacrificados en etanol 70 % caliente, por lo que su tegumento quedó liso y el cuerpo aparentemente extendido (ejemplares denominados a partir de ahora como “relajados”). Los recolectados muertos tras la congelación podían ser del tipo “relajado” o con el cuerpo contraído y el tegumento arrugado (ejemplares denominados a partir de ahora como “contraídos”). Para el estudio morfológico, 20 de los ejemplares “relajados” (10 de ellos procedentes de material fresco y sacrificados en etanol caliente y 10 de ellos procedentes de material congelado) y 20 “contraídos” fueron teñidos, montados, medidos y dibujados según metodología previamente explicada en *Material y métodos generales*.

4.4.1.3. Resultados

Casi un 50 % de los peces recolectados de medio natural presentaban *Accacoelium contortum* (Tabla 4.4.1.1). Los parásitos estaban localizados más frecuentemente en los filamentos branquiales (82,0 % de los peces infectados) y, con menor frecuencia, en la faringe, concretamente entre los dientes faríngeos (38,0 % de los peces infectados) (fig. 4.4.1.1). En ambas localizaciones, los ejemplares se encontraban en agrupaciones asociadas a lesiones, concavidades y a importantes procesos inflamatorios de los tejidos (para la descripción de las lesiones ver *Capítulo 5*). A pesar de la mayor prevalencia en filamentos branquiales, la abundancia total fue similar en branquias y faringe (280 y 262 parásitos respectivamente), ya que las agregaciones de parásitos presentaban más especímenes en la faringe (hasta 93 por agregación, I.M.±D.T.= 13,8±25,2) que en branquias (hasta 36 por agregación, I.M.±D.T.= 7,2±8,0). Además, 30 especímenes fueron recolectados en la parte anterior del sistema digestivo de 9 peces luna (4 de estos peces solamente presentaron *A. contortum* en sistema digestivo). Cuatro de estos especímenes de la parte anterior del sistema digestivo de uno de los peces luna analizados, eran juveniles inmaduros, sin gónadas ni glándulas vitelógenas distinguibles (medidas en Tabla 4.4.1.2). Los ejemplares relajados recolectados midieron 8,9–20,5 (15,6±3,1) x 0,6–1,9 (1,2±0,3) y los contraídos 5,5–15,6 (10,05±3,0) x 0,7–2,1 (1,2±0,3).

Tabla 4.4.1.1. Datos ecológicos de *Accacoelium contortum* del pez luna, *Mola mola*. Los valores parasitológicos se indican para el total y para cada una de las localizaciones del parásito. La prevalencia (P.) se expresa en porcentajes. La abundancia media (A.M.) y la intensidad media (I.M.) van acompañadas de la desviación típica (\pm D.T.). N, número de parásitos.

| | N | P.(%) | A.M. \pm D.T. | I.M. \pm D.T. |
|---|------------|-------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Branquias | 280 | 36,1 | 2,6 \pm 5,9 | 7,2 \pm 8,0 |
| Dientes faríngeos | 262 | 17,6 | 2,4 \pm 11,6 | 13,8 \pm 25,2 |
| Parte anterior del sistema digestivo | 30 | 8,3 | 0,3 \pm 1,2 | 3,3 \pm 2,8 |
| Total | 572 | 47,2 | 5,3\pm12,9 | 10,8\pm16,8 |

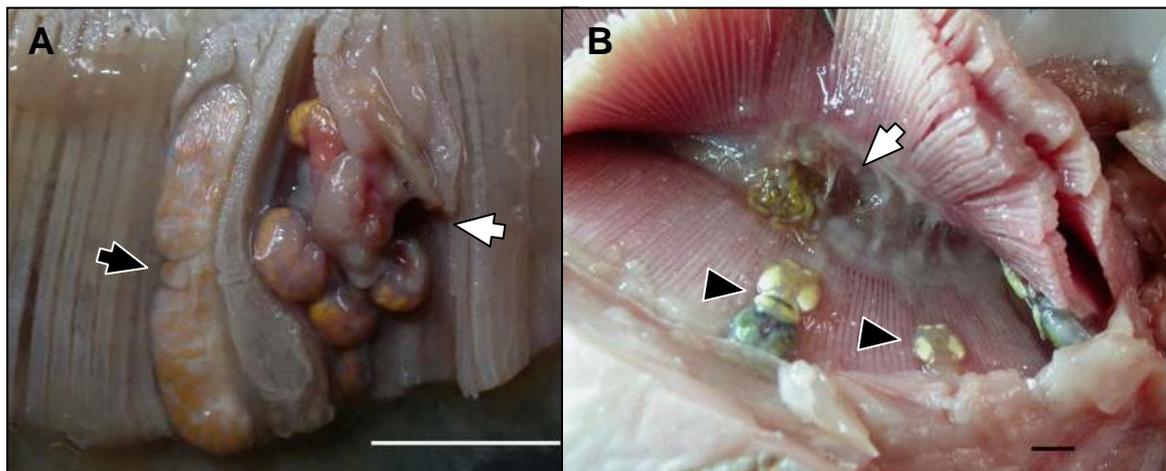


Figura 4.4.1.1. Localizaciones más habituales de *Accacoelium contortum* en pez luna, *Mola mola*. A, *A. contortum* en filamentos branquiales; B, *A. contortum* entre los dientes faríngeos. Nótese la cohabitación con otras especies parásitas. Las flechas blancas señalan a los grupos de acacélidos, la negra al didimozoido *Reniforma squamata* y las puntas de flecha negra señalan dos ejemplares de *Cecrops latreilli*. Escalas: 1 cm.

Tabla 4.4.1.2. Datos morfométricos de ejemplares inmaduros de *Accacoelium contortum* recolectados en la parte anterior del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*.

| | <i>Accacoelium contortum</i> inmaduros (n= 4) |
|----------------------------|---|
| Longitud | 1,6–1,9 (1,8 \pm 0,1) |
| Anchura máxima | 0,1–0,2 (0,1 \pm 0,01) |
| Ventosa oral | 0,1 x 0,1–0,2 (0,1 \pm 0,0 x 0,2 \pm 0,0) |
| Ventosa ventral | 0,2–0,3 x 0,2–0,3 (0,2 \pm 0,0 x 0,2 \pm 0,0) |
| Faringe | - |
| Testículo anterior | - |
| Testículo posterior | - |
| Ovario | - |
| Huevos | - |

-Redescripción de *Accacoelium contortum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899

Sinónimos: *Distoma contortum* Rudolphi, 1829

Podocotyle contortum (Rud.) Stossich, 1898

(fig.4.4.1.2, Tabla 4.4.1.3)

Basado en 20 ejemplares relajados (10 sacrificados en etanol 70 % caliente y 10 procedentes de material congelado) y 20 contraídos (procedentes de material congelado). Comentarios a las descripciones previas realizadas por Rudolphi (1819) y Bray y Gibson (1977) (ver también Olsson (1868), Monticelli (1893), Linton (1898), Looss (1899), Linton (1940), Timon-David y Musso (1971)). Zona ventral de la parte anterior del cuerpo deprimida o cóncava, desde la ventosa oral hasta la base del pedúnculo de la ventosa ventral. La longitud de la depresión depende de la longitud total de la región anterior. Las papilas tegumentarias de la región anterior están más dispersas en los ejemplares relajados que en los contraídos. La ventosa ventral se encuentra sobre un pedúnculo “largo” ($1:1,3-3,5(2,7\pm 0,9)$) (“corto” ($1:0,1-0,4(0,3\pm 0,1)$) sólo en ejemplares contraídos) y presenta un gran número de papilas tegumentarias. La *pars prostatica* se extiende desde el pedúnculo de la ventosa ventral hasta la base de la faringe y es moderadamente ondulada en individuos relajados, y muy sinuosa en ejemplares contraídos. Las glándulas vitelógenas empiezan a nivel del final del testículo posterior y terminan a nivel anterior del último quinto de la parte posterior del cuerpo en los ejemplares relajados. En los ejemplares contraídos, las glándulas vitelógenas se extienden desde la parte posterior del testículo anterior hasta cerca del final del cuerpo.

-Resumen taxonómico

Localidades: Suecia, Massachussets (EE.UU.), Golfo de Marsella (Francia), Dinamarca; presente estudio: La Azohía (Cartagena, España), Canet de Berenguer (Valencia, España) y Almazora (Castellón, España).

Hospedadores: *Mola mola*, *M. ramsayi* y *Spicara maena*.

Tamaño del hospedador: (longitud total x altura total) 33,0–240,0 ($48,9\pm 30,0$) x 51,0–260,0 ($72,2\pm 36,3$) cm.

Lugar de infección: Branquias, cavidad oral, faringe, esófago y parte anterior del sistema digestivo.

Parámetros de infección (presente estudio): Total: P.= 47,2 %; A.T.= 572; A.M. \pm D.T.= $5,3\pm 12,9$; I.M. \pm D.T.= $10,8\pm 16,8$. El 82,0 % de los peces infectados tenían parásitos en branquias; A.M. \pm D.T.= $2,6\pm 5,9$; I.M. \pm D.T.= $7,2\pm 8,0$; el 38,0 % de los peces infectados

tenían parásitos en faringe; A.M. \pm D.T.= 2,4 \pm 11,6; I.M. \pm D.T.= 13,8 \pm 25,2 y el 18,0 % de los peces infectados tenían parásitos en la parte anterior del sistema digestivo; A.M. \pm D.T.= 0,3 \pm 1,2; I.M. \pm D.T.= 3,3 \pm 2,8.

-Consideraciones morfológicas

Según se ha podido constatar en este estudio, la longitud general del cuerpo, las proporciones relativas y la posición de los órganos de *A. contortum* varían notablemente según el grado de contracción de los ejemplares. En los especímenes relajados analizados (figs. 4.4.1.2A y 4.4.1.3A), el pedúnculo de la ventosa ventral llega a alcanzar los 3,8 mm (1:1,3–3,5) (ver Tabla 4.4.1.3). En los especímenes contraídos analizados (figs. 4.4.1.2B y 4.4.1.3B), la longitud máxima del pedúnculo de la ventosa ventral es de 0,4 mm (1:0,1–0,4). Otro aspecto a tener en cuenta, según se deduce de las observaciones morfológicas, es la disposición de la genitalia (posición relativa de glándulas vitelógenas y gónadas), que también depende de la contracción de los ejemplares. Esta variabilidad de los caracteres morfológicos debería tenerse en cuenta a la hora de clasificar esta especie para evitar confusiones o identificaciones erróneas.

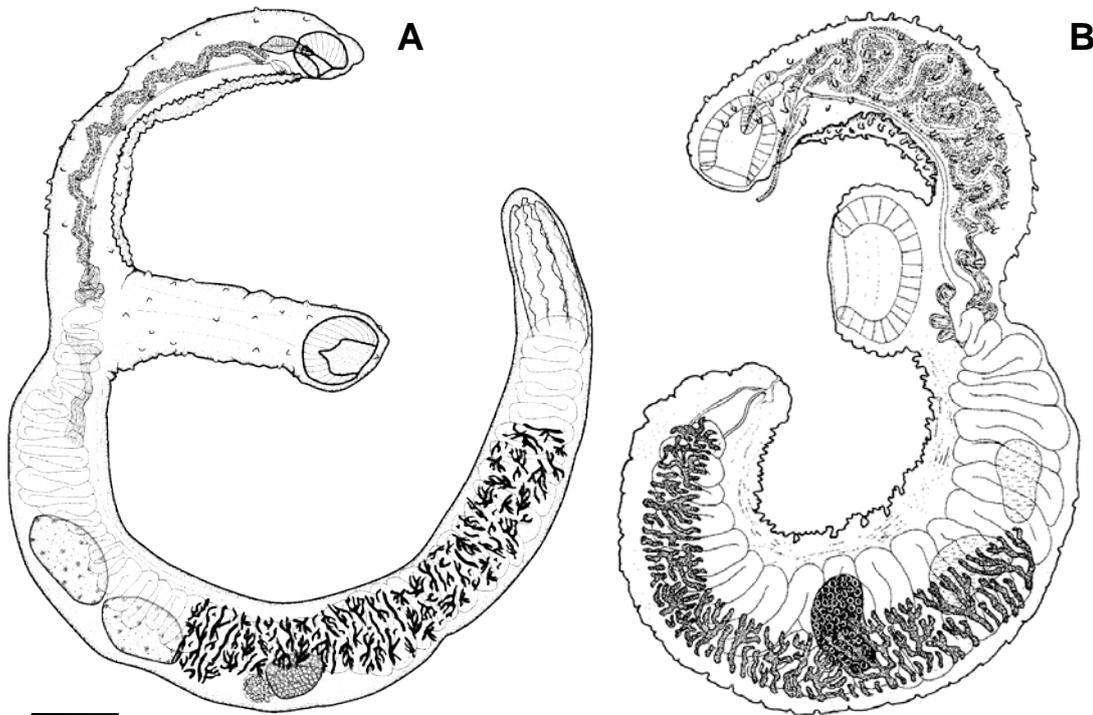


Figura 4.4.1.2. *Accacoelium contortum* de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, dibujo de un ejemplar de *A. contortum* con el cuerpo relajado; B, dibujo de un ejemplar de *A. contortum* con el cuerpo contraído. (Figura B extraída de Bray y Gibson, 1977). Escalas: 0,5 mm, en A; y 1 mm, en B.



Figura 4.4.1.3. Fotografías de ejemplares relajados y contraídos de *Accacoelium contortum* de branquias de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen relajado; B, espécimen contraído a la misma escala que el ejemplar de la figura A; C, ampliación del espécimen de la figura B. Escalas: 0,5 mm.

Tabla 4.4.1.3. Datos morfométricos de *Accacoelium contortum* de pez luna, *Mola mola*, según diferentes autores en distintas localidades comparadas con las medidas de los ejemplares analizados en este estudio.

| | Olsson, 1868 | Monticelli, 1893 | Linton, 1898 | Linton, 1940 | Timon-David y Musso, 1971 | Bray y Gibson, 1977 | Presente trabajo: Especímenes relajados (n=20) | Presente trabajo: Especímenes contraídos (n=20) |
|--------------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------------------|---|---|
| Localidad | Suecia | Desconocido | Desconocido | Massachusetts, EE.UU. | Golfo de Marsella, Francia | Dinamarca y desconocido | Murcia, España | Murcia, España |
| Longitud | 17 | 15-25 | 8 | 10-15 | 16-18,5 | 5-17 | 8,9-20,5 (15,6±3,1) | 5,5-15,6 (10,0±3,0) |
| Anchura máxima | 3 | - | 0,7 | 1-2 | 1,3-2 | 1,3-2 | 0,6-1,9 (1,2±0,3) | 0,7-2,1 (1,2±0,3) |
| Ventosa oral | - | - | 0,6 | 0,5-0,7 x 0,4-0,9 | 0,71-1 x 0,6-0,9 | 0,4-0,7 x 0,6-0,9 | 0,4-0,6 (0,5±0,1) x 0,4-0,6 (0,5±0,1) | 0,5-0,6 (0,5±0,1) x 0,4-0,7 (0,5±0,1) |
| Ventosa ventral | - | - | 0,7 | 0,6-1,1 x 0,6-1,4 | 0,9-1,4 x 1-1,5 | 0,9-1 x 0,9-1,1 | 0,6-0,8 (0,7±0,1) x 0,7-1,1 (0,8±0,1) | 0,4-0,7 (0,6±0,1) x 0,7-1,2 (0,8±0,2) |
| Pedúnculo ventosa ventral | - | - | - | - | - | - | 0,9-3,8 (2,2±0,9) x 0,6-1,2 (0,7±0,2) | 0,1-0,4 (0,2±0,1) x 0,8-1,3 (1,1±0,2) |
| Faringe | - | - | - | 0,3-0,4 x 0,1-0,2 | 0,3 x 0,2-0,4 | 0,2-0,3 x 0,3 | 0,5-0,8 (0,6±0,1) x 0,2-0,3 (0,2±0,0) | 0,4-0,5 (0,5±0,0) x 0,1-0,3 (0,2±0,0) |
| Testículos | - | - | - | - | 1,5-1,9 x 1,2-1,7 | 0,5-1,1 x 0,9-1,3 | Testículo anterior: 0,7-1,5 (1,1±0,2) x 0,4-1,1 (0,8±0,2) Testículo posterior: 0,8-1,4 (1,1±0,2) x 0,4-1,1 (0,8±0,2) | Testículo anterior: 0,5-0,8 (0,7±0,1) x 0,3-0,5 (0,5±0,1) Testículo posterior: 0,6-0,9 (0,8±0,1) x 0,3-0,7 (0,5±0,2) |
| Ovario | - | - | - | - | 0,9-1 x 0,8-0,9 | 0,5-0,9 x 0,5 | 0,4-1,0 (0,7±0,2) x 0,3-0,7 (0,5±0,1) | 0,3-0,6 (0,4±0,1) x 0,2-0,6 (0,4±0,1) |
| Huevos | - | - | 0,03-0,04 x 0,02 | 0,03 x 0,02 | 0,03 x 0,02 | 0,03 x 0,02 | 0,02-0,03 (0,03±0,00) x 0,01-0,02 (0,02±0,00) | 0,02 x 0,01-0,02 (0,02±0,00) |

4.4.1.4. Discusión

En general, se considera muy importante que los parásitos, especialmente los platelmintos, se encuentren extendidos en estado de relajación cuando son fijados (Dailey, 1996). Lógicamente, esta consideración es fundamental para los estudios taxonómicos y morfológicos. En el caso de los acacélidos la taxonomía genérica está basada, entre otros caracteres, en la longitud del pedúnculo de la ventosa ventral (en ocasiones ausente) o la posición relativa de la genitalia (Bray y Gibson, 1977; Gibson, 2002). Por ejemplo, según las claves genéricas sugeridas por Bray y Gibson (1977) y Gibson (2002), la disposición de las glándulas vitelógenas respecto a los testículos es uno de los caracteres distintivos del género *Accacoelium* (“*vitellarium posterior to anterior testis*”). Sin embargo, después del análisis de los especímenes recolectados en el presente trabajo, esta disposición ha resultado ser diferente en los individuos relajados, comenzando las glándulas vitelógenas en la zona posterior del testículo posterior.

El presente estudio, además, proporciona información adicional sobre la biología de esta especie parásita. La habitual localización en las branquias y faringe de los peces luna de *A. contortum* hacen de ésta una especie fundamentalmente ectoparásita, lo que la diferencia del resto de acacélidos que viven dentro del digestivo (Linton, 1940; Dollfus, 1946; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Cooper *et al.*, 1982; Villalba y Fernández, 1985; Gibson, 2002; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). *A. contortum* viviría en un hábitat entre abundantes corrientes de agua y para el que no parecen estar diseñados al presentar una “morfología de endoparásito” (dos ventosas, como el resto de acacélidos y la mayoría de trematodos). Bray y Gibson (1977) destacan, además, la potente musculatura de la parte posterior del cuerpo, exclusiva de este género, indicando que puede estar asociada a una función prensil. Sin embargo, *A. contortum* no suele estar completamente expuesto al flujo del agua de la cámara branquial, ya que se dispone en grupos numerosos en concavidades horadadas en los tejidos del hospedador. Los parásitos utilizarían sus estructuras de fijación no sólo para anclarse al hospedador, si no para agruparse entre sí y formar masas de parásitos compactas que quedarían atrapadas en las concavidades. Estos espacios guarecidos servirían de cobijo parcial para los especímenes de *A. contortum* en este hábitat con abundantes corrientes de agua y para el que no parecen estar diseñados. En estas localizaciones, como se comentará más adelante en el *Capítulo 5*, se observan importantes alteraciones histológicas en el tejido, con notables procesos inflamatorios (ver fig. 5.3, del *Capítulo 5*). La adaptación de esta especie a la

parasitación fuera del digestivo consistiría en su capacidad de alterar y erosionar el hábitat en el que vive, lo que queda patente en la gran inflamación asociada a los tejidos en los que habita. En futuros trabajos sería interesante realizar estudios histoquímicos para conocer si existe alguna glándula o estructura lacerante en el parásito que pueda provocar estas lesiones. En cualquier caso, cabe destacar que la faringe presenta concavidades mayores que albergan mayor cantidad de parásitos, por lo que parecen más adecuadas para la erosión que las branquias. Sin embargo, no podemos decir que las branquias no sean un lugar conveniente para los parásitos ya que presenta una mayor prevalencia, siendo el hábitat más frecuente para *A. contortum* en el presente estudio.

En la bibliografía existen citas de esta especie en el esófago y el estómago (Linton, 1940; Dollfus, 1946; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). En estos estudios o no se indica su número exacto (Linton, 1940; Dollfus, 1946) o se indica también un número bajo (16 individuos, ver Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). De la misma forma, en este estudio también se ha observado *A. contortum* en esta localización, aunque con muy baja prevalencia y abundancia. Estos bajos índices de parasitación podrían indicar que se trata de una localización accidental, subóptima, o que se encuentran allí por haberse desprendido de las branquias o de faringe. Además, los únicos individuos inmaduros de *A. contortum* recolectados se encontraban en digestivo, pudiendo indicar que se trata de una zona poco apropiada para los parásitos donde se reclutan pero solamente maduran algunos individuos. Sin embargo, en cuatro de los peces en los que se han recolectado parásitos en la parte anterior del sistema digestivo no se detectaron parásitos ni lesiones asociadas en branquias ni faringe, lo que parece descartar la posibilidad del desprendimiento de estos ejemplares desde una región anterior. Este hecho, unido a que muchos de estos parásitos del digestivo fueran parásitos grávidos, con tamaño y apariencia normal, implica que el sistema digestivo debería ser considerado como un hábitat natural. En resumen, consideramos que este género y especie puede encontrarse no sólo en branquias, como indican Bray y Gibson (1977) y Gibson (2002), sino también en la faringe y, con menor frecuencia, en el sistema digestivo. Por este motivo incluimos estos hábitats entre las localizaciones tipo de género y especie. Esta observación conviene ser tomada en cuenta, por ejemplo en las claves de identificación de los géneros de acacélidos que caracterizan, entre otras cosas, al género *Accacoelium* por su ubicación en branquias, lo que puede llevar a confusiones.

En base a las nuevas observaciones realizadas en el presente estudio proponemos la siguiente diagnosis taxonómica corregida para el género *Accacoelium*:

-Diagnosis corregida del género *Accacoelium*

Concuerta con la descripción original de Rudolphi (1819) y la revisión de Bray y Gibson (1977) salvo en: pedúnculo de la ventosa ventral “corto” (1:0,1–0,4) o “largo” (1:1,3–3,5) y glándulas vitelógenas posteriores al testículo anterior o al posterior, dependiendo del estado de relajación de los especímenes. Parásitos de branquias, faringe y sistema digestivo de peces.

**4.4.2. REDESCRIPCIÓN DE *RENIFORMA SQUAMATA*
POZDNYAKOV, 1994 (TREMATODA: DIDYMOZOIDAE)**

4.4.2.1. Introducción

(ver también *Introducción* del apartado 4.3.1)

Reniforma squamata (Gonapodasmiinae Ishii, 1935, tribu Gonapodasmiini Ishii, 1935) fue descrito originalmente por Pozdnyakov (1994), localizado en las branquias de un pez luna, *Mola mola*, del Pacífico norte. Se trata de la segunda especie incluida dentro del género *Reniforma* Yamaguti, 1970, un taxón cuya validez es controvertida ya que, en la clave de didimozoidos realizada por Pozdnyakov y Gibson (2008), este género fue sinonimizado con el género *Gonapodasmius* Ishii, 1935. Sin embargo, estos autores no explicaron dicha sinonimización. Durante el examen parasitológico de los peces luna analizados en la presente tesis doctoral se ha tenido acceso a ejemplares adultos y juveniles de didimozoidos de branquias y pseudobranquias. Los ejemplares adultos fueron identificados como *R. squamata* y su examen mostró caracteres morfológicos no incluidos en la descripción original, por lo que en este estudio se redescrive a esta especie. En este apartado, además, se indica cómo las diferencias exclusivas de las especies del género *Reniforma* parecen avalar su identidad genérica independiente, refutando la sinonimización con el género *Gonapodasmius*.

4.4.2.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Todos los especímenes recolectados en branquias y pseudobranquias fueron obtenidos de peces luna procedentes de La Azohía (Cartagena). Los especímenes recolectados se limpiaron y diseccionaron con solución salina. Algunos ejemplares fueron sacrificados en etanol 70 % caliente y conservados en etanol 70 %, para estudios morfológicos. Cuatro ejemplares vivos fueron fijados en formol 10 % salino junto con el tejido branquial al que estaban adheridos, para realizar estudios histológicos.

Igual que la especie anteriormente descrita (Gonapodasmiinae gen. n. sp. n.), *R. squamata* es una especie de morfología “tipo Didimozoido” (terminología según Gibson y Pozdnyakov, 2008): con una región anterior filiforme, estrecha, y con la región posterior también alargada y gruesa. Por este motivo, debido a la complejidad morfológica de estos parásitos, primero se diseccionaron bajo lupa binocular 10 de los ejemplares fijados en etanol 70 % y, después, las regiones anteriores fueron independizadas junto con los tramos más largos posibles, contiguos de la región posterior. El resto del parásito se

disgregó en fragmentos. Todas las porciones fueron teñidas, montadas y medidas según se ha explicado en *Material y Métodos generales*.

4.4.2.3. Resultados

Todos los parásitos fueron localizados en las laminillas primarias y arcos de las branquias y de las pseudobranquias de los peces luna formando cápsulas amarillentas de forma alargada o reniforme rodeadas por tejido branquial del hospedador (figs. 4.4.2.1A y B). Las cápsulas situadas en los arcos de branquias y pseudobranquias y en las laminillas primarias de las pseudobranquias eran más grandes que las de las laminillas primarias de las branquias con una media de diámetro máximo $16,6 \pm 9,0 \times 6,7 \pm 5,9$ y $9,9 \pm 1,4 \times 4,1 \pm 3,0$ respectivamente. Las regiones posteriores de los parásitos formaban asas intrincadas con proyecciones tegumentarias que quedaban plegadas e intrincadas entre sí dentro de la cápsula, dándole un aspecto externo escamoso (fig. 4.4.2.1B). En cada cápsula se encontraron dos individuos hermafroditas maduros y grávidos enrollados entre sí, con las regiones anteriores del cuerpo libres y las regiones posteriores fusionadas. Estas cápsulas se unían a la branquia a través de un pedúnculo alargado y estrecho por el que penetraban vasos sanguíneos del pez (ver fig. 4.4.2.1A, flechas negras).

En los cortes histológicos realizados a las cápsulas de parásitos (fig. 4.2.2.1C) se observó que el pedúnculo que unía a los parásitos a la branquia estaba formado por interdigitaciones del tejido branquial del pez luna y del parásito (fig. 4.4.2.1D) entre las cuales se observó una importante vascularización (fig. 4.4.2.1E). En estas secciones, además, se detectó la presencia de un gran número de microvellosidades en el tegumento de los parásitos (figs. 4.4.2.1F-H). Estas microvellosidades eran más largas en las zonas de contacto con el tejido branquial del hospedador (fig. 4.4.2.1G). El *Capítulo 5* contiene un estudio histopatológico sobre estos didimozoides, donde se incluye información morfológica adicional.

En el *Capítulo 5* se describe la presencia de post-larvas de didimozoides localizados bajo la epidermis branquial (ver figs. 5.5J). Estos ejemplares sólo se hallaron en cortes histológicos, por lo que no se dispone de ejemplares completos para su descripción morfológica. A pesar de ello, los cortes realizados en planos frontales revelan que se trataba de una post-larva tardía, ya que se distinguía una regionalización del “tipo Didimozoido”, con una región anterior filiforme (fig. 4.4.2.2A) y una posterior más

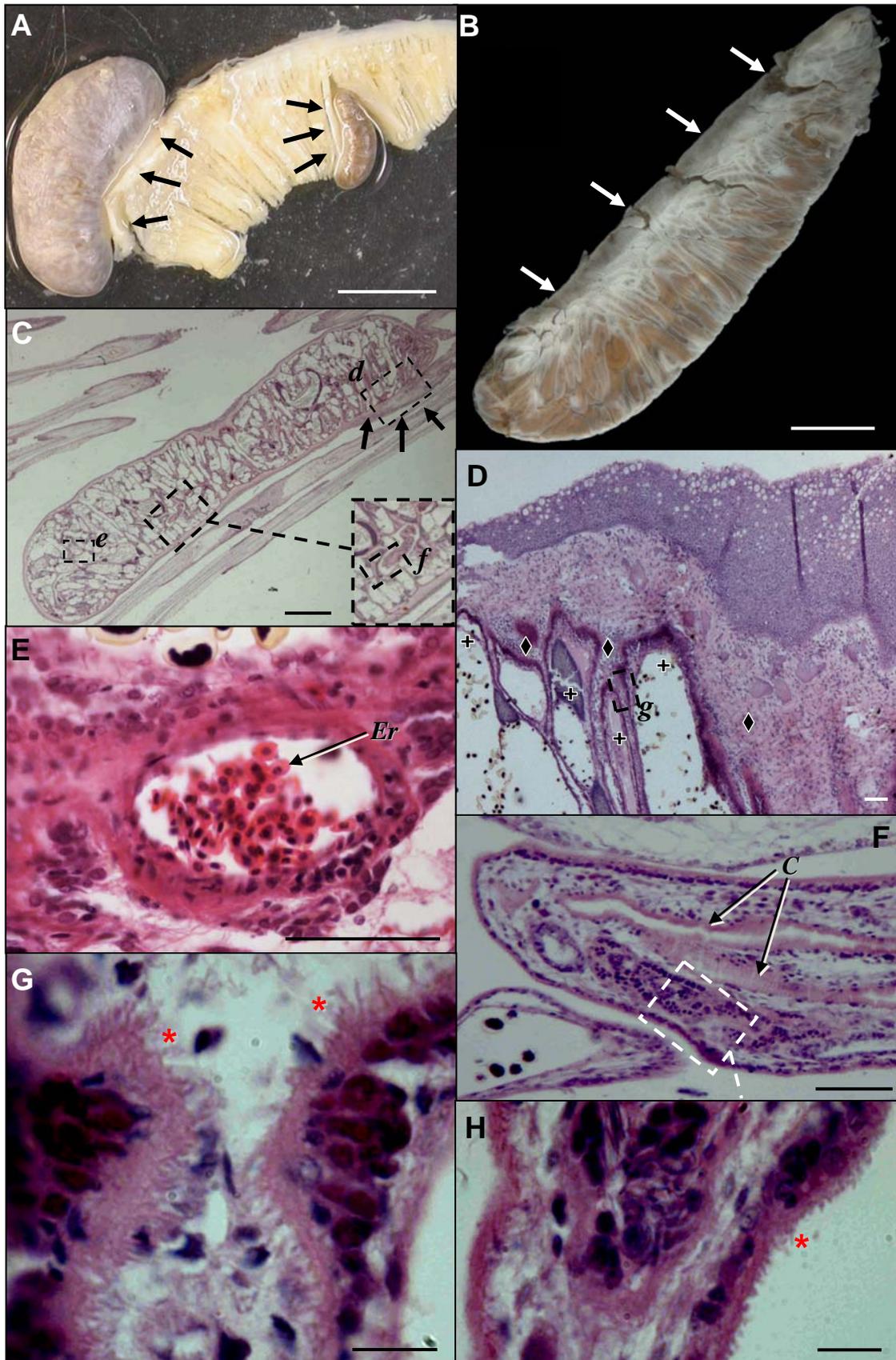


Figura 4.4.2.1. *Reniforma squamata* en branquias de pez luna, *Mola mola*. A, dos cápsulas de *R. squamata* en pseudobranquias (las flechas negras indican el pedúnculo mediante el cual la cápsula se une a la branquia); B, cápsula completa extraída de la branquia (las flechas blancas indican la zona del parásito próxima a la branquia); C, corte histológico de una cápsula de *R. squamata* en una laminilla primaria (las flechas negras indican la zona del **(continúa en página siguiente)**)

Fig. 4.4.2.1. (cont.) pedúnculo de unión de la cápsula a la branquia), incluyendo indicaciones de las zonas fotografiadas en detalle en las figuras D (d), E (e) y F (f); D, interdigitaciones de tejido del hospedador (rombos negros) y del parásito (cruces negras) en el pedúnculo, incluyendo indicaciones de la foto de detalle de la figura G (g); E, vascularización; F, sección de la región anterior filiforme de *R. squamata*; G, microvellosidades (asteriscos) del tegumento de *R. squamata* de la zona de contacto con el tejido branquial del hospedador; H, microvellosidades (asteriscos) del tegumento de *R. squamata* de la región anterior filiforme. Abreviaturas: C, ciegos intestinales; Er, eritrocitos. Cortes teñidos con H.E. (figs. C-H). Escalas: 1 cm, en A; 2 mm, en B y C; 0,1 mm, en D; 50 μ m, en E y F; 20 μ m, en G y H.

engrosada, con principios de lobulación (fig. 4.4.2.2B). Los ciegos de estas post-larvas presentaban un aspecto tubular, más o menos sinuoso y sin cámaras (fig. 4.4.2.2C). En los cortes realizados no se pudieron apreciar las zonas de las ventosa oral, ventral, faringe, esófago o bifurcación intestinal, por lo que no se han podido aportar datos morfológicos sobre estas estructuras ni determinar si están o no presentes en esta post-larva. Si que queda patente la presencia de microvellosidades en su tegumento al igual que en los adultos (fig. 4.4.2.2D). El estudio detallado de los especímenes aporta nuevos datos sobre la morfología de *Reniforma squamata*, evidenciando además, algunas incongruencias

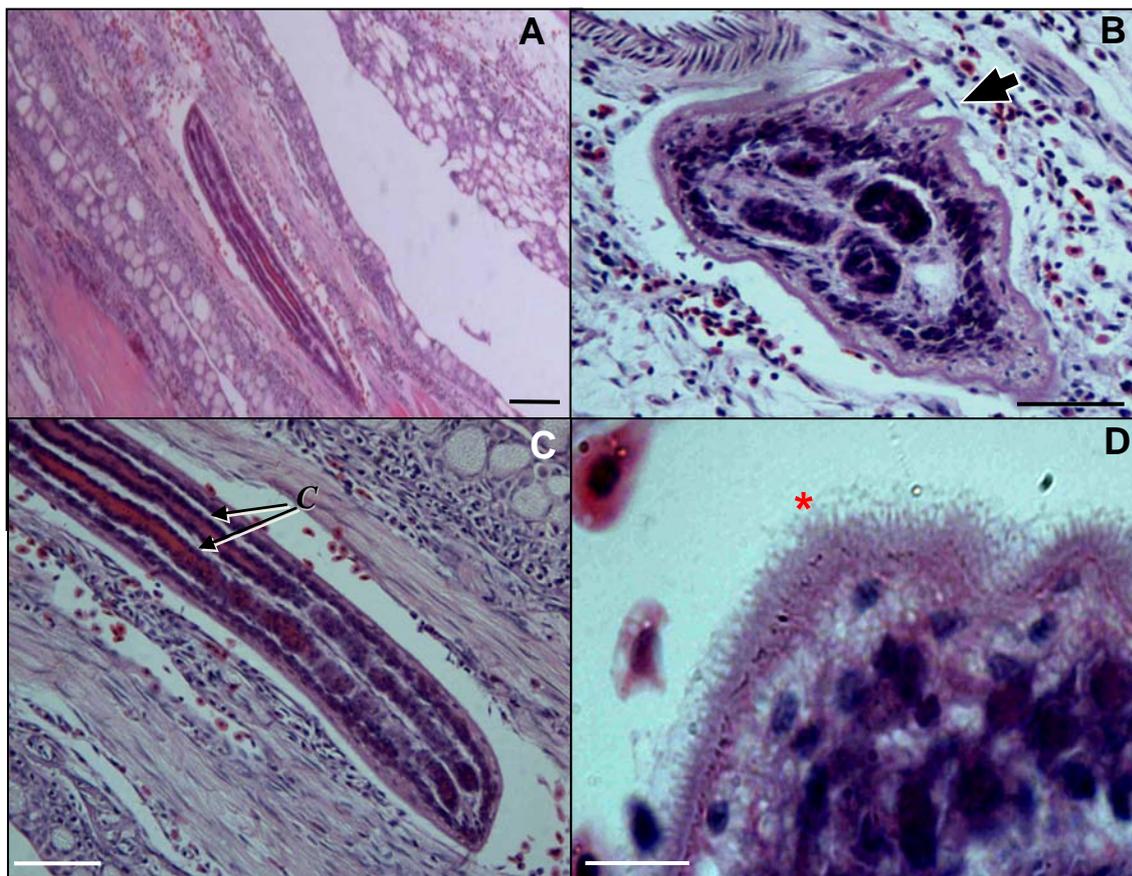


Figura 4.4.2.2. Post-larvas de *Reniforma squamata* en branquias de pez luna. A, región anterior filiforme; B, región posterior con engrosamientos (flecha negra); C, detalle de la post-larva donde se observan los ciegos tubulares (flechas negras), sin cámaras aparentes; D, microvellosidades (asterisco) del tegumento de las post-larvas. Abreviaturas: C, ciegos intestinales Cortes teñidos con H.E. Escalas: 50 μ m, en A-C; y 20 μ m, en D.

respecto a la descripción morfológica original.

-Redescripción de *Reniforma squamata* Pozdnyakov, 1994

(figs. 4.4.2.3 y 4.4.2.4)

Basado en 10 individuos. Parásitos de cuerpo muy alargado, completamente hermafroditas fusionados en parejas por la región posterior (fig. 4.2.2.3). Cada individuo presenta una región anterior del cuerpo filiforme ($1,7-22,1$ ($11,2\pm 10,2$) \times $0,2-0,5$ ($0,3\pm 0,2$)) (fig. 4.4.2.4A) y una región posterior muy alargada pero más gruesa que la región anterior ($0,7-1,4$ ($1,2\pm 0,4$) de anchura), con engrosamientos irregulares y algunas proyecciones lobuladas o escamosas (fig. 4.4.2.4B). Individuos plegados en una madeja muy intrincada que conforma cápsulas de morfología reniforme o elipsoidal ($7,8-30,0$ ($13,2\pm 6,9$) \times $0,9-14,0$ ($5,4\pm 4,5$); $n=8$) unidas a la branquia o pseudobranquia a través de un pedúnculo alargado y estrecho por el que penetran vasos sanguíneos del pez. Conjunto con aspecto externo escamoso debido a las proyecciones tegumentarias de las asas del cuerpo que quedan encajadas en las cápsulas. Con tejido parenquimatoso blanquecino externo especialmente abundante en el pedúnculo de la cápsula. Cápsulas recubiertas por tejido branquial del hospedador muy vascularizado.

Tegumento cubierto de microvellosidades, más alargadas en las zonas de contacto con el hospedador. Ventosas oral y ventral presentes, redondeadas y de tamaño similar ($0,04-0,06$ ($0,01\pm 0,00$) de diámetro para las dos) (fig. 4.4.2.5A y B). Distancia de ventosa oral a ventosa ventral de $7,0-7,9$ ($7,4\pm 0,5$). Faringe piriforme más o menos alargada ($0,02-0,03$ ($0,01\pm 0,00$)). Esófago sinuoso ($0,2$) bifurcado antes de la ventosa ventral. No se observó *drüsenmagen* ni glándulas asociadas a esta región. Los ciegos penetran en la región posterior del cuerpo (fig. 4.4.2.3A). Conductos excretores en forma de “Y” bifurcándose cerca de la separación de los ciegos. Dos testículos tubulares sinuosos localizados a diferentes niveles dentro de la región posterior (figs. 4.4.2.3B y 4.4.2.4C). Vasos eferentes que confluyen en un vaso deferente, dentro de la región anterior. El poro genital masculino desemboca ventralmente junto al metratermo en un poro genital situado a la altura de la base de la ventosa oral. Ovario y glándulas vitelógenas tubulares localizadas en la parte posterior del cuerpo (fig. 4.4.2.3C). Unión genital no observada. Útero extendido por todo el cuerpo, especialmente engrosado en la parte posterior. Metratermo muscular alargado ($0,6$). Huevos elipsoidales ($0,01-0,02$ ($0,02\pm 0,01$) \times $0,01$,

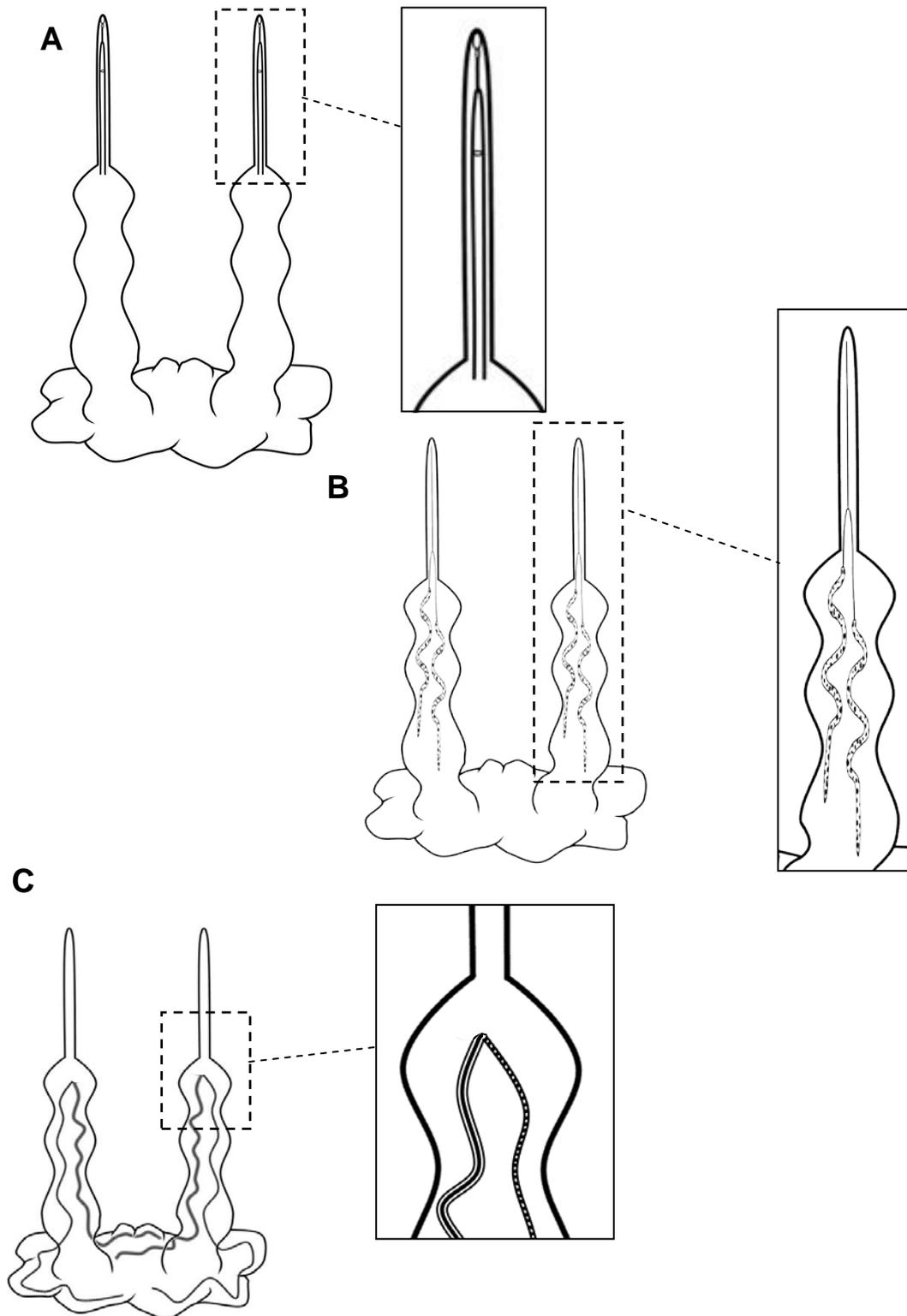


Figura 4.4.2.3. Representaciones esquemáticas de *Reniforma squamata* de branquias y pseudobranquias de pez luna, *Mola mola*. A, representación del sistema digestivo y la ventosa ventral; B, representación del sistema reproductor masculino; C, representación del sistema reproductor femenino proximal (ovario con bandas longitudinales blancas y negras y glándulas vitelógenas con entramado blanco y negro transversal).

n= 20).

-Resumen taxonómico

Localidad: Pacífico norte; La Azohía (Cartagena, España).

Hospedador: *Mola mola*.

Tamaño del hospedador: (longitud total x altura total) 33,5–83 (44,1±14,1) x 48–110 (62,1±18,8) cm.

Lugar de infección: Branquias y pseudobranquias (laminillas primarias y arcos).

Parámetros de infección (presente estudio): total: P.= 16,0 %; A.T.= 56 (contando a los dos individuos de dentro de las cápsulas); A.M.±D.T.= 0,7±2,2; I.M.±D.T.= 4,4±4,0. El 76,5 % de los peces infectados tenían parásitos en branquias; A.M.±D.T.= 0,5±1,9; I.M.±D.T.= 4,6±3,6 y el 35,3 % de los peces infectados tenían parásitos en pseudobranquias; A.M.±D.T.= 0,2±0,8; I.M.±D.T.= 3,0±1,7.

-Consideraciones morfológicas

En el presente estudio se ha podido constatar que el cuerpo de *Reniforma squamata* presenta las características descritas para la subfamilia Reniforminae Yamaguti, 1970, cuyo único género es *Reniforma* Yamaguti, 1970: individuos completamente hermafroditas con cuerpo dividido en dos regiones distintas, fusionados completamente por la parte posterior y plegados en cápsulas reniformes, irrigados por neovascularización. Las características observadas también coinciden con las descritas por Pozdnyakov (1994) para *R. squamata*, con algunos matices. Pozdnyakov (1994) describe en *R. squamata* (al igual que *R. multilobularis* Yamaguti, 1970) que la región posterior del cuerpo presenta una serie de proyecciones que le confieren un aspecto escamoso cuando se pliegan (ver figs. 4.4.2.1B y 4.4.2.6). Sin embargo, estos autores no advierten que estas proyecciones parten de una región posterior muy alargada y enmadejada (ver fig. 4.4.2.4). Otra diferencia notable es la presencia de una ventosa ventral, no citada previamente en ninguna de las dos especies del género *Reniforma*, ni en la subfamilia Gonapodasmiinae. Esta estructura puede pasar desapercibida fácilmente, ya que tiene una musculatura muy tenue y su encuentro depende de la posición del ejemplar en el montaje. Este hallazgo debe de ser considerado para la diagnosis de los géneros de la subfamilia (incluido el nuevo género descrito en la presente tesis doctoral Gonapodasmiinae gen. n. que también presenta ventosa ventral; ver apartado 4.3.1 de

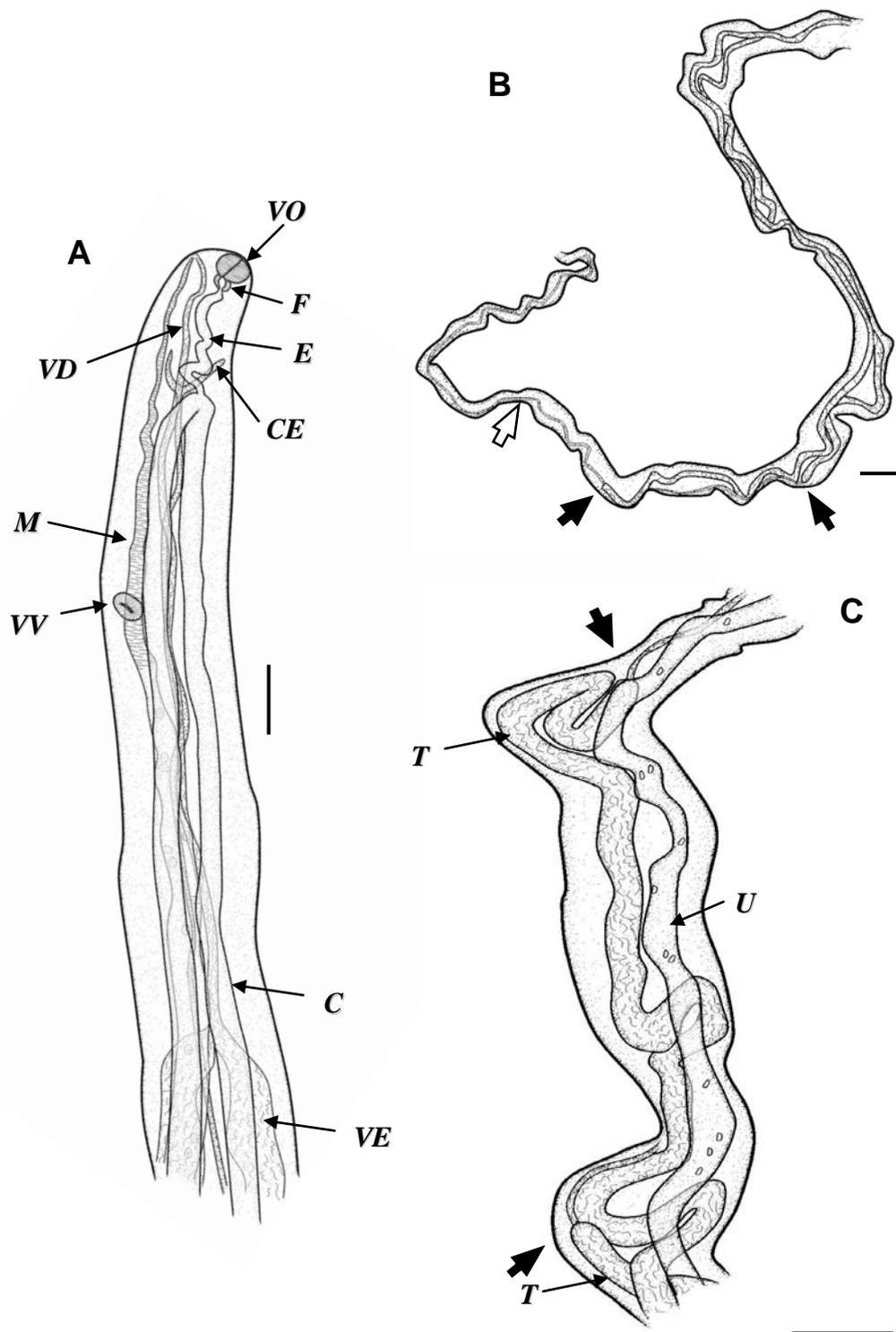


Figura 4.4.2.4. *Reniforma squamata* de branquias de pez luna, *Mola mola*. A, región anterior del parásito en vista ventral; B, detalle de la parte anterior de la región posterior del cuerpo (útero omitido) (la flecha blanca señala la separación entre las regiones anterior y posterior del cuerpo); C, detalle de la región posterior del cuerpo a la altura de los extremos distales de los testículos tubulares. Las flechas negras señalan el extremo distal los testículos. Abreviaturas: C, ciegos intestinales; CE, conductos excretorios; E, esófago; F, faringe; M, metratermo; T, testículo; VE, vaso eferente; VD, vaso deferente; VO, ventosa oral; VV, ventosa ventral. Escalas: 0,1 mm, en A; 0,5 mm, en B y C.

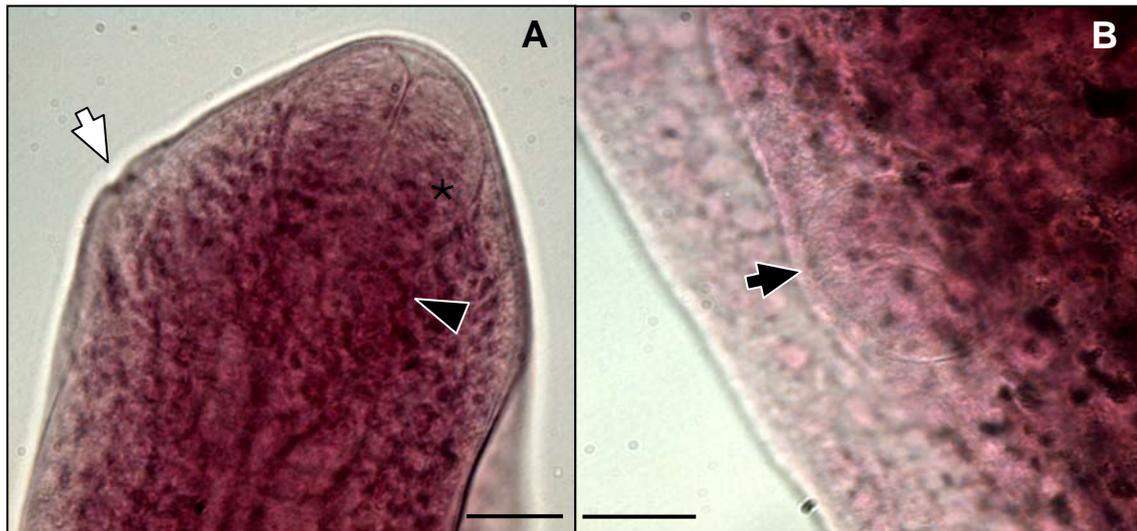


Figura 4.4.2.5. Ventosas y faringe de *Reniforma squamata* de branquias de pez luna, *Mola mola*. A, ventosa oral (asterisco) y faringe (punta de flecha negra) (la flecha blanca señala la posición del poro genital); B, ventosa ventral (flecha negra). Cortes teñidos con H.E. Escalas: 50 μ m.

este capítulo). También conviene destacar que en los ejemplares de este estudio no se han observado ramificaciones en el ovario ni en las glándulas vitelógenas, mientras que Pozdnyakov (1994) indica que estas estructuras presentan ramificaciones en *R. squamata*. La complejidad estructural de esta especie implica que sea muy difícil realizar preparaciones completas de individuos colocados de forma óptima, por lo que podría ser que existiera alguna ramificación de estas estructuras no apreciada en este estudio. Sin embargo, hay que indicar que las descripciones del género *Reniforma* y de su especie tipo, *R. multilobularis*, tampoco indican la presencia de ramificaciones en estos órganos (Yamaguti, 1971). Por último indicar que el tegumento está cubierto de microvellosidades, característica no observada hasta la fecha.

Como se puntualizó en la descripción, el género *Reniforma* fue sinonimizado con *Gonapodasmius* por Pozdnyakov y Gibson (2008), aunque los autores no justificaron dicha decisión. Sin embargo, tanto las descripciones de las especies de *Reniforma* existentes, como las observaciones aquí reportadas, indican que los parásitos analizados presentan caracteres exclusivos notables que confieren a las especies de este género una identidad definida separada de las especies de *Gonapodasmius* Ishii, 1935. Las especies de *Reniforma* tienen individuos completamente hermafroditas, mientras que en las de *Gonapodasmius*, éstos pueden ser hermafroditas o parcialmente gonocóricos (Ishii, 1935; Yamaguti, 1963; Yamaguti, 1971; Pozdnyakov, 1996). Este carácter genérico, incluido en la diagnosis inicial del género *Gonapodasmius* realizada por Ishii (1935), fue excluido por Pozdnyakov y Gibson (2008) cuando sinonimizaron los géneros, a pesar de que

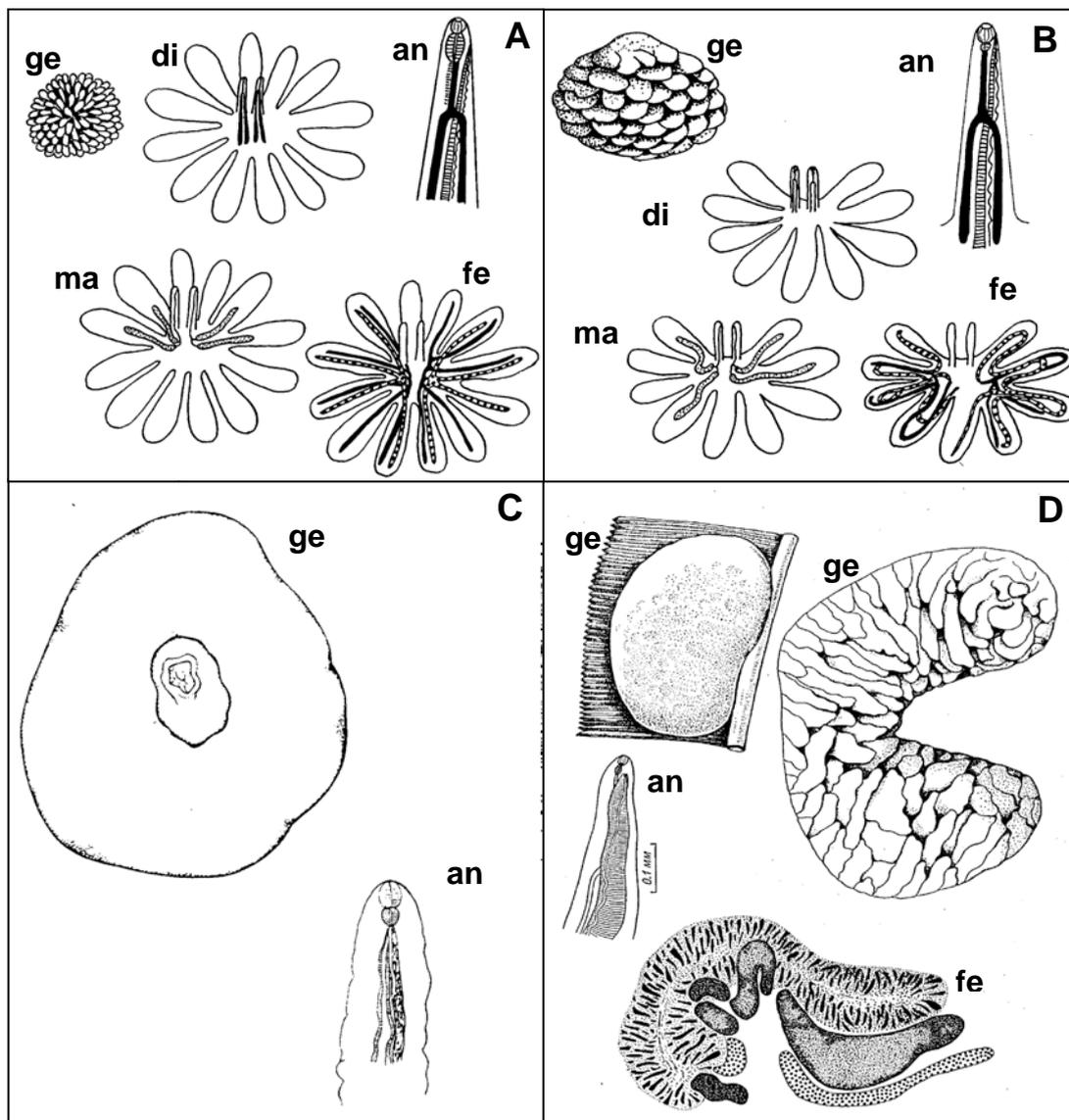


Figura 4.4.2.6. Representaciones originales de *Reniforma* Yamaguti, 1970 y *Gonapodasmius* Ishii, 1935. A, esquema de *Gonapodasmius* spp.; B, esquema de *Reniforma* spp.; C, dibujo original de *R. multilobularis* Yamaguti, 1970; D, dibujo original de *R. squamata* Pozdnyakov, 1994. Abreviaturas: an, extremo anterior; di, esquema del digestivo; fe, esquema del aparato genital femenino; ge, aspecto general del parásito; y ma, esquema del aparato genital masculino (figuras extraídas de Yamaguti 1971; Pozdnyakov, 1994 y Pozdnyakov y Gibson, 2008).

existen especies de *Gonapodasmius* hermafroditas y parcialmente gonocóricas. Por otra parte las especies del género *Gonapodasmius* tienen ovario y glándulas vitelógenas ramificadas, mientras que las del género *Reniforma* no parecen estarlo. Finalmente, *R. squamata* presentaría ventosa ventral, estructura ausente en las especies del género *Gonapodasmius*. Sin embargo, como se ha comentado, esta estructura puede pasar fácilmente desapercibida, con lo que convendría revisar ejemplares de especies de ambos géneros para confirmar dicha diferencia. Todas estas observaciones resaltan las

características exclusivas de las especies del género *Reniforma*, reforzando su separación del género *Gonapodasmius*.

4.4.2.4. Discusión

Según lo indicado previamente, en el apartado 4.3.1, los didimozoidos son complicados de identificar y clasificar dentro de familias conocidas, existiendo numerosas revisiones y correcciones taxonómicas en este grupo (Yamaguti, 1963; Lester, 1980; Pozdnyakov, 1996; Pozdnyakov y Gibson, 2008). Como se ha comentado en este apartado la historia taxonómica de las especies del género *Reniforma* también refleja estos cambios. Estas discrepancias se deben principalmente a la diferente interpretación de la morfología de individuos estructuralmente complejos y de relativo gran tamaño, con caracteres que pueden pasar desapercibidos como la ventosa ventral. Resulta especialmente curioso el hecho de que las microvellosidades tegumentarias no hubieran sido descritas previamente, a pesar de que la mayoría de publicaciones de estas especies incluyen estudios histológicos (ver, p. ej., Yamaguti, 1971; Pozdnyakov, 1994). En cualquier caso, en base a las observaciones previamente expuestas, se sugiere la separación de las especies del género *Reniforma* fuera de *Gonapodasmius* para, al menos, contribuir a organizar un grupo de parásitos tan numeroso y heterogéneo, según la diagnosis incluida en Pozdnyakov y Gibson (2008).

Aparte de *R. squamata*, existen otras tres citas de especies de didimozoidos en branquias de pez luna: *Koellikeria benedenii* (Monticelli, 1893) MacCallum et MacCallum, 1916, *Nematobothrium benedeni* (Monticelli, 1893) Maclaren, 1904 y *N. molae* Maclaren, 1904. La identidad de estas tres especies es controvertida ya que sus descripciones son confusas, con ilustraciones inexistentes, poco claras o incompletas. Además, no existen ejemplares tipo depositados en museos para su revisión. Según Yamaguti (1971), *K. benedenii* podría también pertenecer al género *Didymozoon* Taschenberg, 1879, pero la descripción original, según el autor, “es inadecuada” y “no va acompañada de ilustración”. En cualquier caso, esta especie no debería de ser confundida con *R. squamata* ya que las especies de los géneros *Koellikeria* Cobbold, 1860 y *Didymozoon* tienen individuos no fusionados ni lobulados. Mucho más controvertida aún es la posición taxonómica de las otras dos especies: *N. benedeni* fue una especie de identidad dudosa desde su creación, ya que Monticelli (1893) la clasificó como *Didymozoon benedeni* y,

posteriormente, Maclaren (1904) la incluyó en el género *Nematobothrium* Beneden, 1858. Esta especie es, además, muy similar a *N. molae* ya que, como advierte Dawes (1947), Maclaren “mostró ejemplares de *N. benedeni* a Monticelli creyendo que eran *N. molae*” y éste último “expresó la opinión de que representaban otra especie diferente”. *N. molae* fue asignada al subgénero *Nematobothrium* (*Maclarenozoum*) por Ishii (1935) para diferenciarlo del resto de especies del género, incluidas en el subgénero *Nematobothrium* (*Benedenozoum*). La única especie del primer subgénero se diferenciaría del resto de especies del género *Nematobothrium* por la presencia de ventosa ventral. Yamaguti (1971) duda, sin embargo, de la validez de esta clasificación, afirmando que esta especie podría pertenecer al género *Atalostrophion* MacCallum, 1915, o incluso que no tendría sentido diferenciar a los dos subgéneros. Posteriormente Timon-David y Musso (1971) realizaron una descripción de *N. molae* que se asemeja bastante a *R. squamata*. Estos autores describen a *N. molae* como un “hinchazón” amarillento en las branquias de los peces formado por una pareja de parásitos hermafroditas y alargados enrollados entre sí, con ventosa ventral y con glándulas vitelógenas filiformes.

La morfología de *R. squamata* puede haber dado lugar a confusiones ya que, a pesar de tener dos regiones (“tipo Didimozoido”); ambas son filiformes, aunque la región anterior sea más estrecha que la posterior. Por este aspecto general filiforme, muchos autores podrían haberla clasificado dentro del género *Nematobothrium* (y subgénero *Maclarenozoum*). Por otra parte, *R. squamata* tiene ventosa ventral, presente en *Nematobothrium* spp. Estas dos características, además, se pueden apreciar en las ilustraciones de los cortes histológicos de *N. molae* realizados por Maclaren (1904) (ver figs. D y E). De esta forma, es posible que muchas de estas especies comentadas sean sinónimas. Desgraciadamente, los autores que describieron a estas especies no explicaron claramente en qué se basaban para distinguir ejemplares tan similares y, como ya se ha comentado, no existen ejemplares tipo en museos, por lo que resulta sumamente complicado validar o invalidar su identidad taxonómica. Sería conveniente la búsqueda de nuevos ejemplares de estas especies para su comparación morfológica y molecular.

Como se ha comentado en el apartado de *Consideraciones morfológicas* de este capítulo, se reivindica la validez del género *Reniforma* como taxón independiente de *Gonapodasmius*, según los caracteres allí detallados. Sería recomendable también, revisar las especies del género *Gonapodasmius sensu* Gibson y Pozdnyakov (2008), ya que se trata de un grupo heterogéneo (por ejemplo, hermafrodita o gonocórico) y numeroso, con

17 especies citadas en 39 hospedadores diferentes, según la base de datos parásito-hospedador del Museo de Historia Natural de Londres (Gibson *et al.*, 2005). Conviene destacar, además, que ninguno de los hospedadores aparecido en esta lista es un mólido.

Con respecto a la presencia de post-larvas en la epidermis branquial, desgraciadamente no se han conseguido ejemplares completos para realizar un examen morfológico de los mismos, ya que los individuos sólo se hallaron en cortes histológicos. Aún así, el hecho de que el único didimozoido encontrado en las branquias en el presente estudio es *R. squamata*, implicaría que dichos juveniles pertenecerán muy probablemente a esta especie de didimozoido. Además, como ya se ha comentado en los resultados, estas post-larvas presentan rasgos morfológicos típicos las especies de “tipo Didimozoido”, coincidiendo con *R. squamata*.

**4.4.3. REDESCRIPCIÓN DE *LEPEOPHTHEIRUS*
NORDMANNI (MILNE EDWARDS, 1840) (MAXILLOPODA:
CALIGIDAE)**

4.4.3.1. Introducción

Lepeophtheirus nordmanni (Milne Edwards, 1840) es una de las dos especies de crustáceos del género *Lepeophtheirus* Nordmann, 1832 citadas en *Mola mola* (Dollfus, 1946; Hillis y O’Riordan, 1960; Threfall, 1967; Hewitt, 1971; Cooper *et al.*, 1982; Raibaut *et al.*, 1998; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.* 2006), además de en *M. ramsayi* (Villalba y Fernández, 1985) y en *Masturus lanceolatus* (Kensley y Grindley, 1973). La distribución de esta especie es muy amplia, habiéndose citado en diferentes puntos del Atlántico norte y Mediterráneo, así como a lo largo de todo el Pacífico. La otra especie del género *Lepeophtheirus*, *L. hastatus* Shiino, 1960 (sin. *L. mola* Heegaard, 1962), ha sido citada exclusivamente en *M. mola*, y solo en el Pacífico Norte. A pesar de que existen numerosas citas previas de *L. nordmanni*, el hallazgo de gran cantidad de especímenes adultos en buen estado en el presente estudio ha permitido realizar observaciones que aportan nuevos datos morfológicos que complementan la descripción original de los adultos de la especie.

4.4.3.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Veinte especímenes (10 de cada sexo) fueron montados enteros en glicerina. También se diseccionaron todos los apéndices pares de tres ejemplares de cada sexo y se montaron independientemente en glicerina. Las sinonimias de la especie han sido extraídas de Kabata (1979) y la terminología expresada según Boxshall (1974a) y Madinabeitia y Nagasawa (2011).

4.4.3.3. Resultados

Casi un 92 % de los peces recolectados de medio natural presentaban especímenes adultos de *Lepeophtheirus nordmanni* en piel y cavidad bucal. Las hembras, tanto ovígeras como sin sacos de huevos, se localizaron mayoritariamente en cavidad bucal (ver más detalles de intensidades y prevalencias en el apartado 4.4.4).

-Redescripción de *Lepeophtheirus nordmanni* (Milne Edwards, 1840)

Sinónimos: *Caligus nordmanni* Edwards, 1840

Caligus ornatus Edwards, 1840

Lepeophtheirus ornatus

Lepeophtheirus hippoglossi

Lepeophtheirus insignis Wilson, 1908

(figs. 4.4.3.1 y 4.4.3.2)

Basado en 10 especímenes adultos de cada sexo (a no ser que se indique otro número). Comentarios a las descripciones previas realizadas por Milne Edwards (1840), Baird (1850) y Hewitt (1971). Hembra adulta ovígera, 9,1–12,8 (10,3±1,1) x 4,5–56,0 (5,1±0,4) (sacos ovígeros no incluidos). Cefalotórax 5,4–6,2 (5,8±0,3) de longitud. Ojos de 0,07 (0,07±0,00) de diámetro y distancia entre ellos 0,11–0,12 (0,12±0,01). Complejo genital de 2,2–3,2 (2,6±0,3) x 2,1–3,2 (2,5±0,3). Anténula con 25 setas pinnadas en el segmento proximal. Primer apéndice con 2 setas cortas en el extremo apical del endópodo (fig. 4.4.3.1A) y con 4 setas en el segundo segmento del exópodo del tercer apéndice, excepto en un 5 % de los casos, con 5 setas (n= 30) (fig. 4.4.3.1B). Pueden presentar más de un par de espermatóforos en las aberturas genitales (figs. 4.3.3.1C y 4.3.3.1D): 85 % con 1 par, 10 % con 2 pares y 5 % con 2 pares + 1 (n= 20). 300–360 huevos por saco ovígero. Hembra adulta sin huevos 8,7–11,7 (10,6±1,1) x 4,0–5,9 (5,4±0,6). Cefalotórax 5,1–6,1 (5,6±0,3) de longitud. Ojos de 0,07 (0,07±0,00) de diámetro y distancia entre ellos 0,11–0,12 (0,12±0,01). Complejo genital 1,9–3,0 (2,5±0,4) x 1,6–3,3 (2,4±0,6). Macho adulto 6,3–7,0 (6,6±0,3) x 2,8–3,7 (3,5±0,3) (fig. 4.4.3.2A). Cefalotórax 3,2–3,7 (3,4±0,2) de longitud, con dos proyecciones dorsales gruesas ligeramente apuntadas dirigidas hacia la zona posterior, situadas en la zona medial del cefalotórax, entre las escotaduras posteriores y la inserción con el segmento torácico libre (fig. 4.4.3.1E y F y fig. 4.4.3.2A). Ojos de 0,05–0,06 (0,06±0,01) de diámetro y distancia entre ellos 0,08–0,10 (0,08±0,01). Segmento genital 0,9–1,2 (1,0±0,1) x 0,7–1,0 (0,8±0,1). Anténula con 29 setas pinnadas en el segmento proximal. Segmento distal de la antena bifurcado, con la rama interna de la mitad de tamaño que la externa (fig. 4.4.3.1G y 4.4.3.2B). Maxílpedo similar al del segundo macho preadulto (detallado en el apartado 4.4.4), excepto en que la protuberancia de la zona basal presenta una pequeña espina en su extremo distal (fig. 4.4.3.1H y fig. 4.4.3.2C). Al igual que en las hembras, primer apéndice con 2 setas cortas en el extremo apical del endópodo (ver fig. 4.4.3.1A). Apéndice sexto con 3 setas pinnadas, como en segundo macho preadulto (ver apartado 4.4.4).

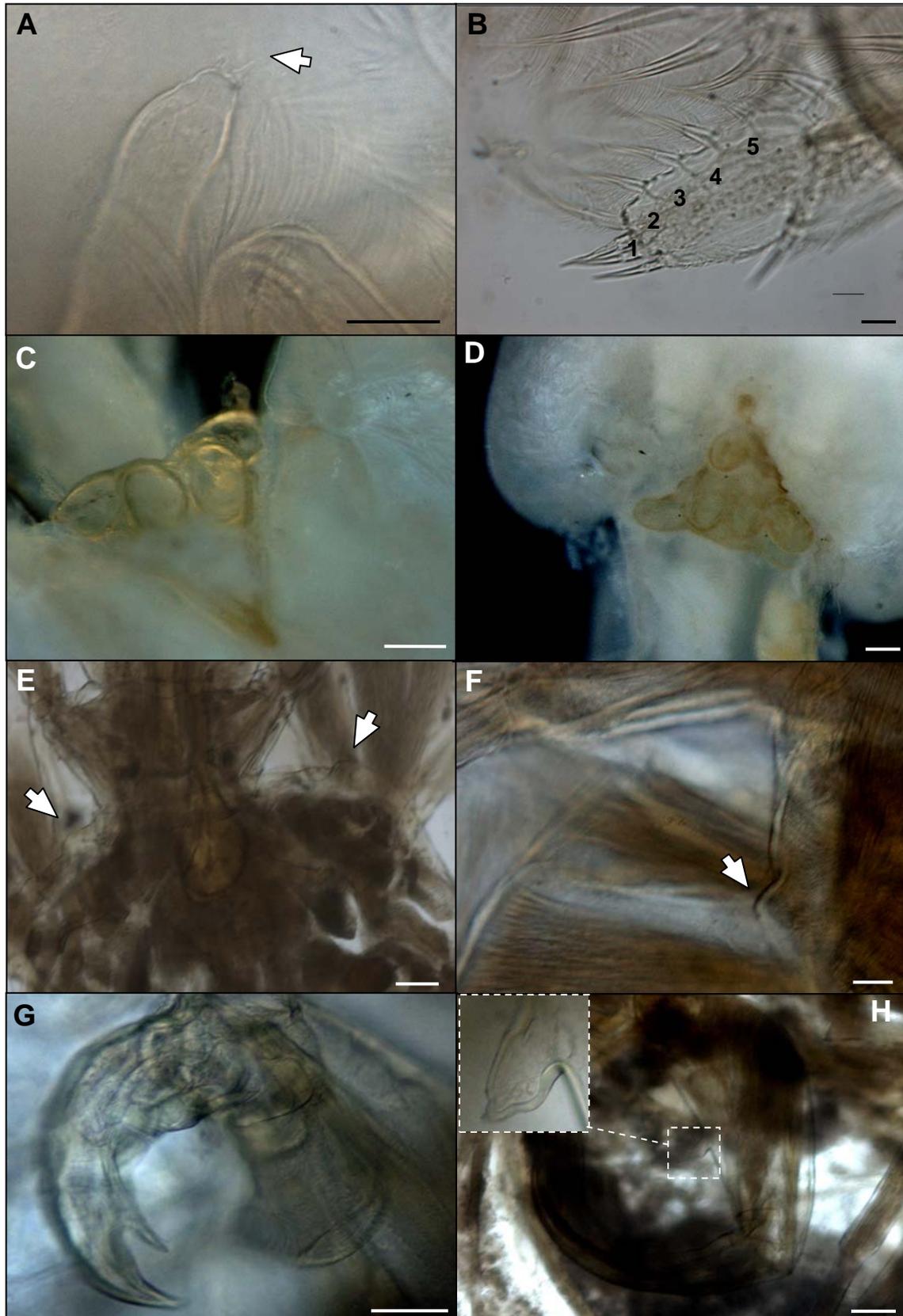


Figura 4.4.3.1. Fotografías de detalles morfológicos de ejemplares de *Lepeophtheirus nordmanni* de piel y cavidad bucal de pez luna, *Mola mola*, con diferencias respecto a las descripciones previas. A, endópodo del primer apéndice de un individuo adulto armado con 2 setas cortas en su ápice (flecha blanca); B, segundo segmento del exópodo del tercer apéndice de una hembra adulta con 5 setas; C y D, segmentos genitales de hembras adultas, (**continúa en la página siguiente**)

Fig. 4.4.3.1. (cont.) con espermátóforos en sus aberturas genitales, en vista ventral, con 4 (C), y con 5 espermátóforos (D); E, zona medial del cefalotórax de un macho adulto con dos proyecciones dorsales apuntadas dirigidas hacia la zona posterior (flechas blancas); F, detalle de una proyección dorsal del cefalotórax (flecha blanca); G, antena de un macho adulto; H, maxilípedo de un macho adulto, con detalle de la protuberancia de su zona basal con una pequeña espina en su extremo. Escalas: 0,5 mm, en A; 0,1 mm, en B y F; 0,2 mm, en C-E y H; y 0,05 mm, en G.

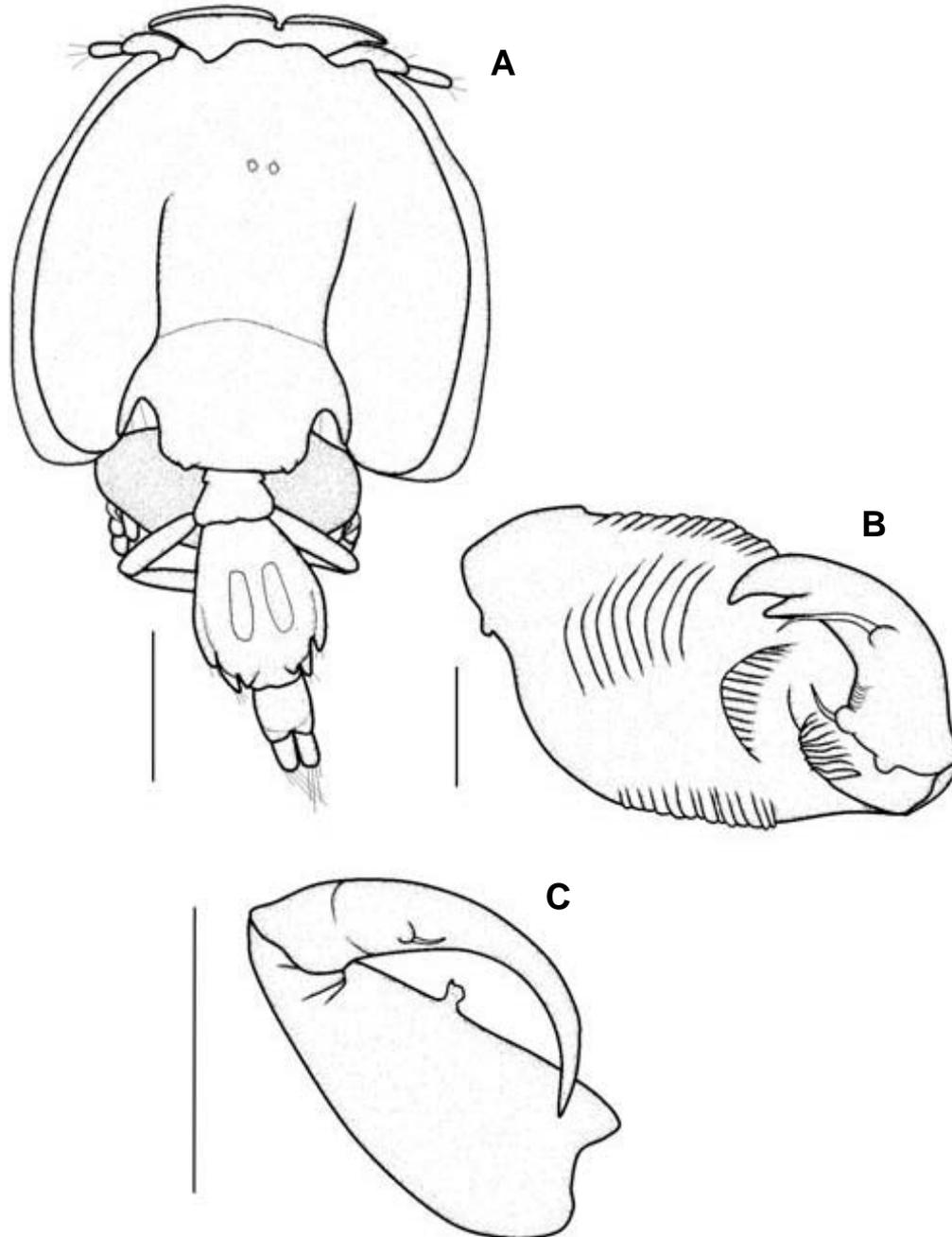


Figura 4.4.3.2. Macho adulto de *Lepeophtheirus nordmanni* de pez luna, *Mola mola*. A, espécimen en vista dorsal; B, antena en vista ventral; C, maxilípedo en vista ventral. Escalas: 1 mm, en A; 0,1 mm, en B; y 0,5 mm, en C.

-Resumen taxonómico

Localidades: Pacífico, Atlántico, Mediterráneo; presente estudio: La Azohía (Cartagena, España).

Hospedadores: *Mola mola*, *M. ramsayi* y *Masturus lanceolatus*.

Tamaño del hospedador: (longitud total x altura total) 33–83 (41,9±5,7) x 48–110 (61,7±7,8) cm.

Lugar de infección: Piel y cavidad bucal.

Parámetros de infección (presente estudio): P.= 91,8 %; A.T.= 2019 (1597 adultos: 740 hembras y 857 machos); A.M.±D.T.= 23,8±23,4; I.M.±D.T.= 25,9±23,3 (ver más detalles en apartado 4.4.4).

-Consideraciones morfológicas

Las características de la especie coinciden con las de la descripción realizada por Hewitt (1971) salvo en algunos detalles morfológicos presentes en hembras y, principalmente, en machos. Según la descripción de Hewitt (1971) los adultos (machos y hembras) presentaban 23 setas en el segmento proximal de las anténulas, sin embargo, en los ejemplares analizados en la presente tesis doctoral se ha observado un número de setas mayor y diferente para hembras (25) y para machos (29). También se observan, en ambos sexos, 2 setas cortas en el extremo distal del endópodo del primer apéndice, no armado según Hewitt (1971). Además se ha observado que, a pesar de que la mayoría de hembras presenta 4 setas en el segundo segmento del exópodo del tercer apéndice, coincidiendo con la descripción de Hewitt (1971), algunas excepciones presentaban 5 setas. Este carácter no parece un artefacto, ya que, en las hembras con 4 setas no parece observarse ningún espacio o fragmento de seta que indique la pérdida de ésta. En el macho fueron observadas unas proyecciones dorsales en el cefalotórax, muy evidentes en los ejemplares analizados que, aparentemente, pasaron desapercibidas en descripciones previas. La rama interna de la bifurcación del extremo del segmento apical de la antena es la mitad de grande que la rama externa, mientras que Hewitt (1971) señala que esta rama interna es un tercio de la otra. También se observó una pequeña espina apical en la protuberancia de la zona basal del maxilípodo del macho, no presente en la descripción de Hewitt (1971). Por último, cabe destacar que Hewitt (1971) denomina como lóbulo posterior del quinto

apéndice (que sería bilobulado según Hewitt (1971)) a lo que es realmente el sexto apéndice.

4.4.3.4. Discusión

Desde la descripción original de *Lepeophtheirus nordmanni* realizada por Milne Edwards, 1840 (descrita como *Caligus nordmanni*), esta especie ha sido redescrita por Baird (1850) y posteriormente por Hewitt (1971). De todas estas descripciones, la que resulta más precisa es la de Hewitt (1971), en donde los adultos de ambos sexos son descritos con detalle. Sin embargo, durante el presente estudio se ha podido recolectar gran cantidad de especímenes, lo que ha permitido encontrar algunas diferencias morfológicas relativas a los adultos de ambos sexos. Además se han podido describir, por primera vez, los diferentes estadios de desarrollo desde el copepodito hasta los adultos (ver apartado 4.4.4). Algunas de las incongruencias con la descripción previa pueden deberse a que la apariencia de los apéndices y otras estructuras varía según la orientación de sus elementos, resultando muchas veces complicado encontrar ejemplares con estos apéndices en verdadera vista ventral o dorsal. Así, por ejemplo, resulta difícil contar el número de setas de las anténulas, ya que muchas de ellas parten desde zonas que no son visibles desde cualquier ángulo. La denominación del sexto apéndice, como lóbulo del quinto apéndice, pueden deberse al tipo de nomenclatura utilizada en la época en la que se realizó la descripción, ya que en los artículos posteriores de calígidos se acepta genéricamente que esta estructura corresponde al apéndice sexto (Voth, 1971; Kabata 1979; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991). Resulta curioso que las hembras y los machos de *L. nordmanni* presenten números de setas diferentes en las anténulas, ya que en las otras especies descritas del género *Lepeophtheirus* el número de setas se mantiene invariable en machos y hembras (Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991). Aunque podemos confirmar que el número de setas es mayor que el de la descripción de Hewitt (1971), sería necesario realizar un estudio utilizando microscopía electrónica de barrido para contabilizar con exactitud el número de setas.

Cabe destacar, por último, el hecho de que se hayan observado hembras adultas con 5 espermatóforos en las aberturas genitales. En otra especie de este mismo género, *L.*

salmonis, en las hembras se han observado de 2 a 4 espermatóforos (Ritchie *et al.*, 1996; Todd *et al.*, 2005), pero nunca 5 (2 pares + 1).

**4.4.4. DESCRIPCIÓN DE LAS FASES DE DESARROLLO DE
LEPEOPHTHEIRUS NORDMANNI (MILNE EDWARDS, 1840)
(MAXILLOPODA: CALIGIDAE) CON NUEVOS DATOS SOBRE EL
CICLO VITAL Y LA BIOLOGÍA**

4.4.4.1. Introducción

La familia Caligidae Burmeister, 1835 comprende 34 géneros con más de 450 especies, la mayoría de ellas pertenecientes al género *Caligus* Müller, 1785 (278) (Walter y Boxshall, 2012). El género *Lepeophtheirus* Nordmann, 1832 también incluye un número bastante elevado de especies descritas (133) (Walter y Boxshall, 2012). Se conoce el ciclo de vida de 16 especies de calígidos: 11 del género *Caligus* y 4 del género *Lepeophtheirus* (Ho y Lin, 2004). También se ha descrito el ciclo vital de 1 especie de otro género próximo, *Pseudocaligus* Scott A., 1901 (Ohtsuka *et al.* 2009). El patrón general del desarrollo de los calígidos, establecido por Kabata en 1972, presenta un ciclo de 10 estadios repartidos en 5 fases: 2 nauplios, 1 copepodito, 4 *chalimi*, 2 preadultos y 1 adulto. Todas las especies presentan un ciclo similar, solo modificado por la existencia de más o menos estadios *chalimi* y la presencia o no de estadios preadultos (Kabata, 1972; Ho y Lin, 2004).

Las especies más estudiadas del género *Lepeophtheirus* son aquellas que afectan a peces de importancia económica, existiendo estudios muy completos sobre sus intensidades de infección, alimentación, localización, etc. (Scott, 1901; White, 1942; Boxshall, 1974b; Johannessen, 1975; Brandal *et al.*, 1976; Wootten *et al.*, 1982). Del ciclo de vida de *L. nordmanni* solo se han descrito los estadios adultos (Hewitt, 1971), desconociéndose el resto de fases de desarrollo. Con el presente trabajo se describen los estadios de *L. nordmanni* en los peces luna analizados y se aportan nuevos datos sobre su biología y alimentación.

4.4.4.2. Material y métodos específicos

Los estadios descritos fueron encontrados en los 106 peces luna procedentes de medio natural, pero solo en los 84 peces de los tres primeros muestreos se registraron de manera sistemática las localizaciones de los parásitos: cavidad bucal, piel, aletas pectorales, aleta dorsal, aleta ventral y *clavus* (ver *Material y métodos generales*). Diez especímenes (si este número estaba disponible) de cada estadio de desarrollo fueron montados enteros en glicerina. También se diseccionaron los apéndices de tres ejemplares de cada estadio y se montaron en glicerina, excepto en los estadios copepodito y *chalimi*, por el bajo número recolectado.

También se ha realizado un estudio comparado del crecimiento de *L. nordmanni*, contrastando las longitudes de los diferentes estadios con las del resto de especies del género *Lepeophtheirus* con datos disponibles (*L. dissimulatus* Wilson, 1905, *L. hospitalis* Fraser, 1920, *L. pectoralis* (Müller, 1776) y *L. salmonis* (Kroyer, 1837) (Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991)).

Para estudiar la alimentación de los copépodos se realizaron cortes histológicos de copépodos adheridos a la piel de los peces luna. Los ejemplares, conservados en etanol 70 %, se incluyeron en parafina en posición ventral y se tiñeron en H.E. De esta forma se pudieron examinar secciones del cono bucal, de su contenido y de las células circundantes. El mismo proceso fue utilizado para examinar células mucosas y sanguíneas en cortes de piel de pez luna. Los ejemplares, apéndices y cortes histológicos se estudiaron con microscopía estándar y de contraste diferencial de interferencia (50–1000x). Los dibujos y medidas se realizaron según se detalla en la sección *Materiales y métodos generales*. El test de Kolmogorov-Smirnov reveló que los parásitos no presentaban una distribución normal ($Z= 2,65$; $p<0,000$) por lo que se utilizaron test estadísticos no paramétricos. La diferencia entre el número de hembras y machos adultos se analizó utilizando el test de Wilcoxon. La terminología se expresa según Boxshall (1974a) y Madinabeitia y Nagasawa (2011).

4.4.4.3. Resultados

-Niveles de infección y hábitat

El 91,8 % de los peces analizados presentaban *Lepeophtheirus nordmanni* (Tabla 4.4.4.1). Las prevalencias e intensidades fueron elevadas en todos los años de muestreo. Los parásitos estaban localizados con una frecuencia muy similar tanto en piel (P.= 88,2 %; 557 especímenes en el lado derecho del cuerpo y 564 en el lado izquierdo) como en cavidad bucal (P.= 84,7 %). Sin embargo, la intensidad media de parasitación fue mayor en piel (19,1) que en cavidad bucal (8,1). A pesar de que la cavidad bucal es un hábitat reducido, de menor tamaño comparado con la piel, presenta más de un cuarto del total de los parásitos recolectados (583 parásitos en cavidad bucal de un total de 2019 parásitos). La prevalencia en piel llegó a ser del 100 % en el primer (2005) y el tercer (2007) muestreo, con unas intensidades medias superiores a 20 parásitos por pez infectado. En el segundo muestreo (2006), la cavidad bucal mostró mayor prevalencia que la piel (90,5 %

en cavidad bucal frente a 85,7 % en piel) revelando unas intensidades de parasitación muy similares (18,7 en piel; 12,0 en cavidad bucal). Sin embargo, en el último muestreo (2008) la prevalencia (72,2 %) y la intensidad total ($9,3\pm 7,7$) fueron notablemente menores (Tabla 4.4.4.2). Las hembras adultas se localizaron fundamentalmente en la cavidad bucal y, en menor medida, en la piel (578 en cavidad bucal frente a 162 en piel, ver Tabla 4.4.4.2). En piel se encontraron 18 hembras adultas ovígeras frente a las 139 ubicadas en cavidad bucal. Por otra parte, en piel se encontraron desde el copepodito hasta ejemplares adultos machos y hembras, pasando por todas las fases y estadios,

Tabla 4.4.4.1. Datos parasitológicos de los estadios de desarrollo de *Lepeophtheirus nordmanni* de pez luna, *Mola mola* conjuntos (todos los años de muestreo). Los valores de cada fase y totales se indican para cada una de las localizaciones del parásito y para el total de los datos. La intensidad media va acompañada de la desviación típica (\pm D.T.). N, número de parásitos.

| Localización | Fases | N | P.(%) | I.M. \pm D.T. |
|---------------|----------------------------|-------------|-------------|---------------------------------|
| Piel | Total individuos larvarios | 419 | 68,2 | 7,2 \pm 7,7 |
| | Hembra adulta | 144 | 64,7 | 2,6 \pm 2,5 |
| | Hembra adulta ovígera | 18 | 15,3 | 1,4 \pm 0,7 |
| | Total hembras adultas | 162 | 65,9 | 2,9 \pm 2,8 |
| | Machos adultos | 855 | 82,4 | 12,2 \pm 12,8 |
| | Total piel | 1436 | 88,2 | 19,1\pm19,0 |
| Cavidad bucal | Total individuos larvarios | 3 | 3,5 | 1,0 \pm 0,0 |
| | Hembra adulta | 439 | 82,4 | 6,3 \pm 6,2 |
| | Hembra adulta ovígera | 139 | 52,9 | 3,1 \pm 2,6 |
| | Total hembras adultas | 578 | 83,5 | 8,1 \pm 8,1 |
| | Machos adultos | 2 | 2,4 | 1,0 \pm 0,0 |
| | Total cavidad bucal | 583 | 84,7 | 8,1\pm8,1 |
| Total | | 2019 | 91,8 | 25,9\pm23,3 |

Tabla 4.4.4.2. Datos parasitológicos totales de *Lepeophtheirus nordmanni* de pez luna, *Mola mola*, para cada año de muestreo por separado. Los valores se indican para cada una de las localizaciones del parásito y para el total. La intensidad media va acompañada de la desviación típica (\pm D.T.). N, número de parásitos.

| Año | Localización | N | P.(%) | I.M. \pm D.T. |
|-------|----------------------|-------------|-------------|---------------------------------|
| 2005 | Piel | 523 | 100 | 26,2 \pm 21,5 |
| | Cavidad bucal | 159 | 85 | 9,4 \pm 11,8 |
| | Total | 682 | 100 | 34,1\pm30,7 |
| 2006 | Piel | 337 | 85,7 | 18,7 \pm 14,6 |
| | Cavidad bucal | 228 | 90,5 | 12,0 \pm 8,6 |
| | Total | 565 | 95,2 | 28,3\pm17,3 |
| 2007 | Piel | 490 | 100 | 22,3 \pm 21,9 |
| | Cavidad bucal | 134 | 95,5 | 6,4 \pm 4,6 |
| | Total | 624 | 100 | 28,4\pm23,0 |
| 2008 | Piel | 86 | 68,2 | 5,7 \pm 5,7 |
| | Cavidad bucal | 62 | 68,2 | 4,1 \pm 2,7 |
| | Total | 148 | 72,7 | 9,3\pm7,7 |
| Total | Piel | 1436 | 88,2 | 19,1\pm19,0 |
| | Cavidad bucal | 583 | 84,7 | 8,1\pm8,1 |
| | Total | 2019 | 91,8 | 25,9\pm23,3 |

mientras que en cavidad bucal se encontró una gran mayoría de hembras adultas y un muy bajo número de otras fases (1 primer macho preadulto, 2 segundos machos preadultos y 2 machos adultos). En la piel los parásitos se localizaron por toda la superficie de los peces excepto las aletas pectorales, la dorsal, la ventral y el *clavus*.

-Sex ratio y vigilia de pareja (mate guarding)

La *sex ratio* era próxima a la unidad (Tabla 4.4.4.3) y, aunque los machos superaban en número a las hembras (857 machos adultos frente a 740 hembras adultas), no se observó diferencia significativa entre el número de machos y hembras ni en valores totales (Wilcoxon, $Z = -0,54$; $p > 0,05$) ni para cada muestreo analizado por separado (2005: Wilcoxon, $Z = -1,66$; $p > 0,05$; 2006: Wilcoxon, $Z = -0,85$; $p > 0,05$; 2007: Wilcoxon, $Z = -1,08$; $p > 0,05$; 2008: Wilcoxon, $Z = -1,26$; $p > 0,05$) (Tabla 4.4.4.3).

Tabla 4.4.4.3. Números totales de *Lepeophtheirus nordmanni* en piel y cavidad bucal de pez luna, *Mola mola* según sexo y estadio de madurez por muestreo.

| <i>L. nordmanni</i> de piel y cavidad bucal | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | Total |
|---|------|------|------|------|-------|
| Total de individuos larvarios | 140 | 81 | 177 | 24 | 422 |
| Hembras adultas | 234 | 268 | 166 | 72 | 740 |
| Machos adultos | 308 | 216 | 281 | 52 | 857 |

Se recolectaron parejas precopuladoras, en vigilia de pareja (*mate guarding*) (Tabla 4.4.4.4 y fig. 4.4.4.1), lo que consiste en machos adultos sujetando a larvas y hembras preadultas, utilizando principalmente las antenas. El 22,2 % de los machos adultos encontrados se hallaba en vigilia de pareja. Los machos en vigilia de pareja sujetaban copepoditos (11,8 %), *chalimi* I (28,0 %), *chalimi* II (7,1 %), *chalimi* III (14,1 %), *chalimi* IV (24,7 %), primeras hembras preadultas (14,1 %) y segundas hembras preadultas (8,2 %). No se encontraron parejas formadas por machos adultos y hembras adultas, ovígeras o sin sacos de huevos. Los laterales del cefalotórax de las larvas y hembras atrapadas quedaban constreñidos, llegando incluso a formarse, en algunos ejemplares, una

Tabla 4.4.4.4. Números totales de parejas en vigilia de pareja en piel de pez luna, *Mola mola*. Se indica su número (N), prevalencia y la intensidad media acompañada de la desviación típica ($\pm D.T.$).

| Vigilia de pareja | N | P.(%) | I.M. \pm D.T. |
|---|----|-------|-----------------|
| Macho adulto con copepodito | 19 | 11,8 | 1,9 \pm 1,0 |
| Macho adulto con <i>chalimus</i> I | 62 | 28,0 | 2,7 \pm 1,9 |
| Macho adulto con <i>chalimus</i> II | 7 | 7,1 | 1,2 \pm 0,4 |
| Macho adulto con <i>chalimus</i> III | 21 | 14,1 | 1,8 \pm 0,8 |
| Macho adulto con <i>chalimus</i> IV | 47 | 24,7 | 2,2 \pm 1,4 |
| Macho adulto con primera hembra preadulta | 21 | 14,1 | 1,8 \pm 1,1 |
| Macho adulto con segunda hembra preadulta | 13 | 8,2 | 1,9 \pm 1,1 |

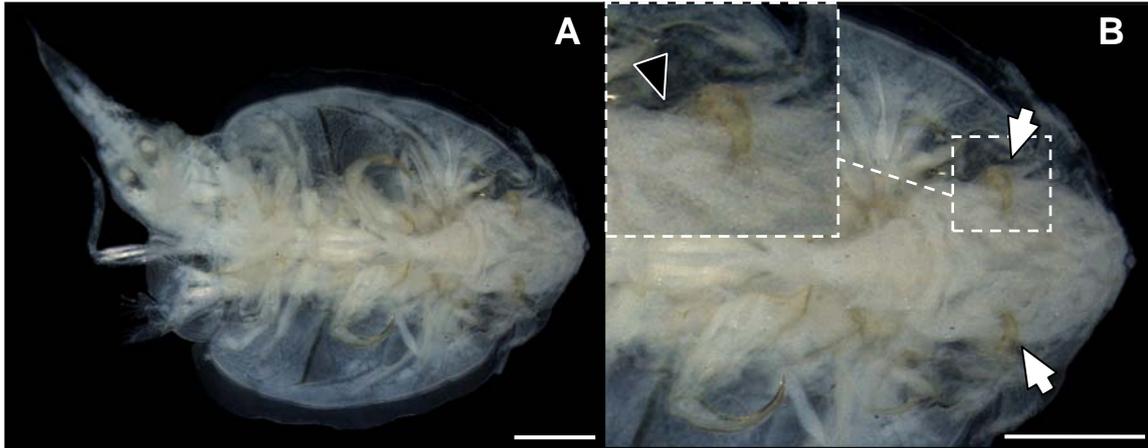


Figura 4.4.4.1. Pareja en vigilia de pareja formada por un macho adulto y un *chalimus* III de *Lepeophtheirus nordmanni* de pez luna, *Mola mola*. A, detalle de los individuos en vista ventral; B, detalle del *chalimus* III sujetado con las antenas (flechas blancas) del macho adulto. En el detalle observamos la constricción (cabeza de flecha negra) producida por acción de la antena del macho adulto en el cefalotórax del *chalimus*. La flecha negra señala al *chalimus* III. Escalas: 1mm.

Tabla 4.4.4.5. Medidas de los estadios larvarios libres y sujetos por un macho en vigilia de pareja de *Lepeophtheirus nordmanni* de pez luna, *Mola mola*. Se indica su número (N), la longitud total y la anchura, indicando de estas últimas el rango \pm D.T.

| Estadios | N | Longitud total | Anchura |
|-------------------------------------|----|-------------------------|-------------------------|
| Copepodito libre | 1 | 0,6 | 0,3 |
| Copepoditos en vigilia | 10 | 0,4–0,5 (0,4 \pm 0,0) | 0,1–0,2 (0,1 \pm 0,0) |
| <i>Chalimus</i> I libre | 4 | 0,7–0,9 (0,8 \pm 0,1) | 0,3 (0,3 \pm 0,0) |
| <i>Chalimus</i> I en vigilia | 10 | 0,6–0,8 (0,7 \pm 0,1) | 0,3–0,4 (0,3 \pm 0,0) |
| <i>Chalimus</i> II en vigilia | 8 | 0,7–0,9 (0,8 \pm 0,1) | 0,3–0,4 (0,3 \pm 0,0) |
| <i>Chalimus</i> III libre | 8 | 1,3–1,8 (1,5 \pm 0,2) | 0,6–0,7 (0,6 \pm 0,1) |
| <i>Chalimus</i> III en vigilia | 10 | 1,2–1,5 (1,3 \pm 0,1) | 0,5–0,7 (0,6 \pm 0,0) |
| <i>Chalimus</i> IV libre | 3 | 2,1–2,6 (2,3 \pm 0,2) | 0,9–1,1 (1,0 \pm 0,1) |
| <i>Chalimus</i> IV en vigilia | 10 | 1,4–1,9 (1,6 \pm 0,1) | 0,6–0,8 (0,7 \pm 0,1) |
| Hembra preadulta primera libre | 10 | 3,8–4,7 (4,2 \pm 0,3) | 1,9–2,6 (2,4 \pm 0,2) |
| Hembra preadulta primera en vigilia | 10 | 2,9–4,3 (3,5 \pm 0,6) | 1,8–2,7 (2,1 \pm 0,3) |
| Hembra preadulta segunda libre | 10 | 5,4–7,4 (6,1 \pm 0,6) | 3,1–3,9 (3,6 \pm 0,3) |
| Hembra preadulta segunda en vigilia | 10 | 5,1–7,1 (5,7 \pm 0,8) | 2,9–4,1 (3,5 \pm 0,5) |

constricción marcada en el cefalotórax (fig. 4.4.4.1B). Los estadios larvarios en vigilia de pareja alcanzaban menores tamaños que aquellos del mismo grado de desarrollo libres sobre la piel del pez, especialmente en las primeras fases (Tabla 4.4.4.5). Estas diferencias quedaban más atenuadas a partir de las primeras hembras preadultas.

-Crecimiento de Lepeophtheirus nordmanni

Los primeros estadios larvarios de *Lepeophtheirus nordmanni* eran relativamente pequeños (ver figuras 4.4.4.2A y 4.4.4.3A) comparándolos con el resto de especies del

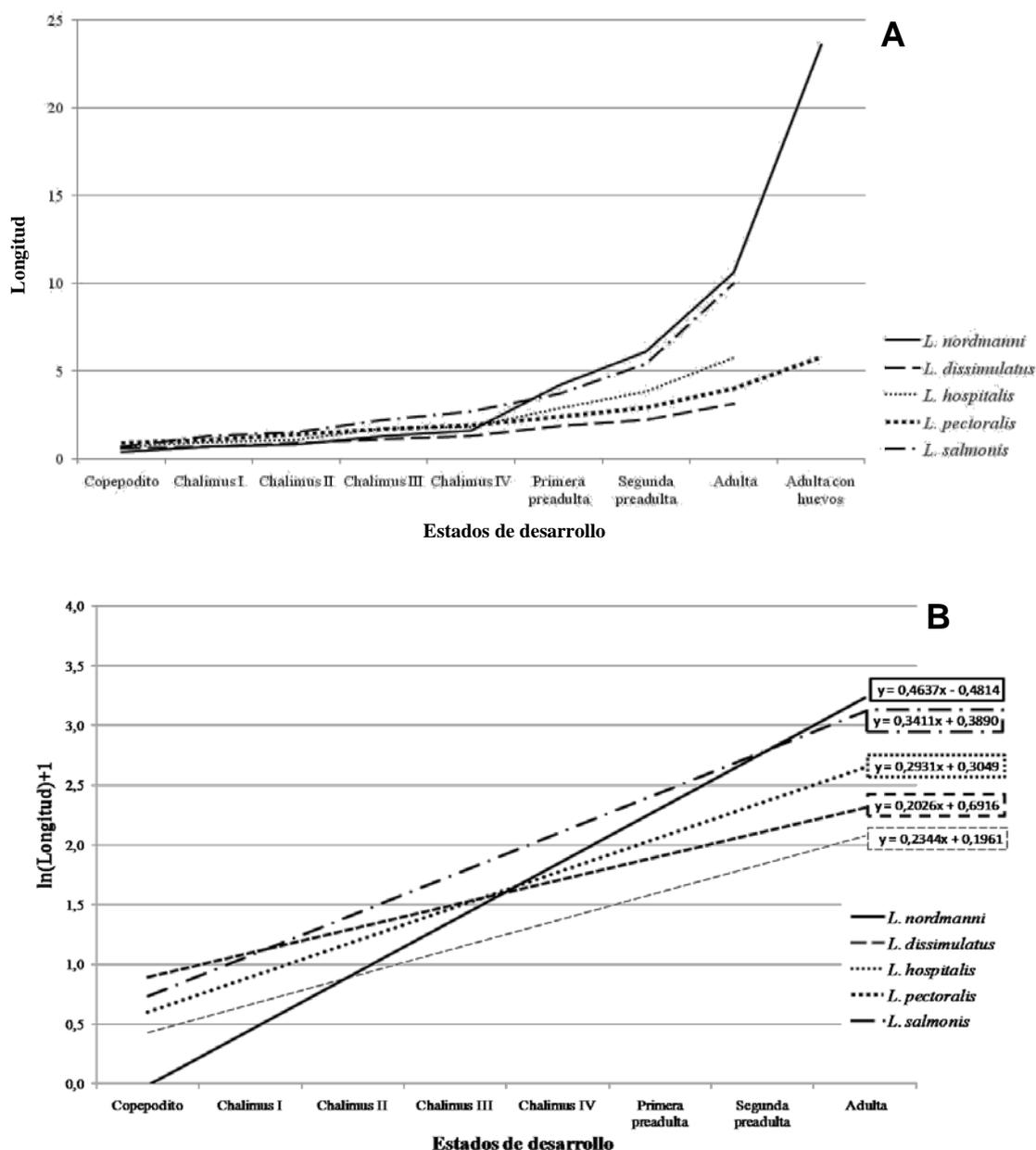


Figura 4.4.4.2. Crecimiento de las hembras de *Lepeophtheirus nordmanni* y de las hembras de otras especies del género *Lepeophtheirus* con datos disponibles. A, longitud media de las fases de desarrollo hasta llegar a hembra adulta (la longitud de la hembra ovígera sólo está disponible en *L. nordmanni* y *L. pectoralis*); B, pendientes de crecimiento obtenidas de las longitudes de las fases de desarrollo transformadas logarítmicamente (hembras adultas ovígeras no incluidas). (Datos de las otras especies del género *Lepeophtheirus* extraídos de Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991). Longitudes en milímetros.

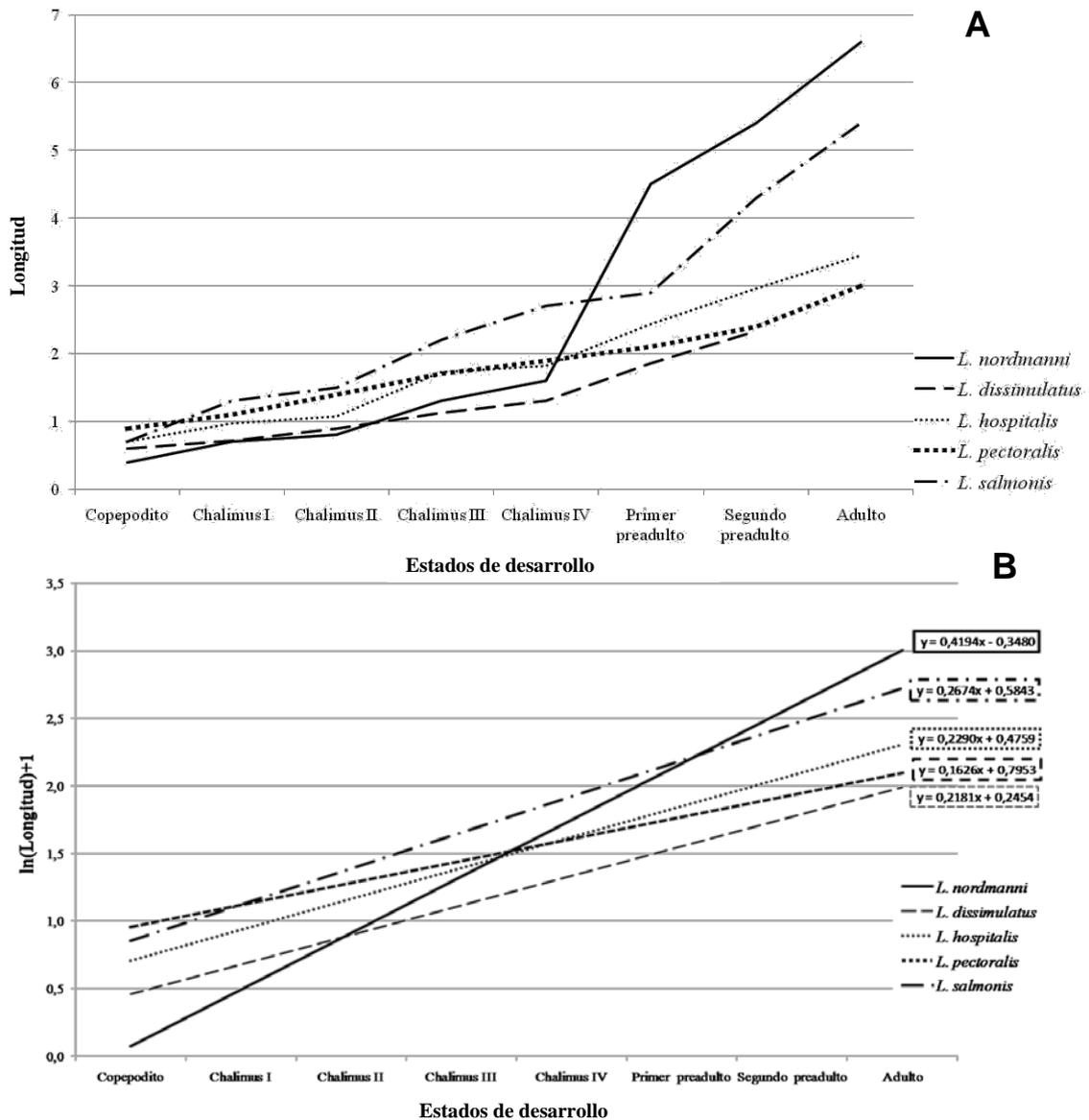


Figura 4.4.4.3. Crecimiento de los machos de *Lepeophtheirus nordmanni* y de los machos de las otras especies del género *Lepeophtheirus* con datos disponibles. A, longitud media de las fases de desarrollo hasta llegar a macho adulto; B, pendientes de crecimiento obtenidas de las longitudes de las fases de desarrollo transformadas logarítmicamente. (Datos de las otras especies del género *Lepeophtheirus* extraídos de Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991). Longitudes en milímetros.

género *Lepeophtheirus* con datos disponibles. Sin embargo, los adultos eran notablemente largos (6,6 mm en machos y 10,6 mm en hembras, sin contar los sacos de huevos), por lo que se apreciaba un crecimiento rápido en las fases de desarrollo sucesivas. Las figuras 4.4.4.2B y 4.4.4.3B muestran las rectas de ajuste de los datos de crecimiento transformados logarítmicamente, con pendiente de 0,4 en machos y de 0,5 en hembras.

A continuación se describen los diferentes estadios de desarrollo de *L. nordmanni* encontrados en los peces luna de La Azohía (Cartagena). Los adultos ya han sido redescritos detalladamente en la descripción de la especie, por lo que no se incluyen en este apartado (ver apartado 4.4.3 para ver algunos comentarios adicionales a la descripción original de los adultos).

Copepodito (fig. 4.4.4.4A) (n= 10): 0,4–0,6 (0,4±0,1) x 0,1–0,3 (0,2±0,0). Cuerpo dividido en cefalotórax que incluye dos segmentos torácicos y una región posterior con los cuatro segmentos restantes. Cefalotórax elíptico alargado (0,2–0,3 (0,3±0,0)) con dos hendiduras marginales postero-laterales muy marcadas. Con 16 sétulas sensoriales dorsales, dispuestas simétricamente, observadas sobre el caparazón. Ojos bien formados, 0,02 (0,02±0,00) de diámetro, y separados (0,05–0,04 (0,06±0,01) de distancia). Rostro con una púa (*tine*, en inglés) en su zona posterior (fig. 4.4.4.4E). Primer apéndice torácico ubicado en el segundo segmento torácico, dentro del cefalotórax. Tagma torácico posterior formado por los segmentos torácicos tercero hasta sexto. Tercer segmento torácico con una anchura de algo menos de la mitad del caparazón y con el segundo par de apéndices torácicos. Cuarto segmento torácico casi tan largo como el tercero, pero más estrecho, con dos proyecciones latero-posteriores de las que parten los vestigios de los apéndices torácicos terceros. Quinto segmento torácico la mitad de largo que el cuarto segmento torácico pero, de anchura similar y sin apéndices. Sexto y último segmento del cuerpo con segmento genital y abdomen, con una marcada hendidura postero-medial. Lamelas caudales partiendo de la zona posterior de este segmento torácico. Anténula con dos segmentos (fig. 4.4.4.4B): segmento proximal, más largo y acodado, con 3 setas no pinnadas en la superficie ventral; y distal corto y recto, con 12 sedas, cinco de ellas ramificadas en su punta. No se han distinguido sedas modificadas (estetascos). Antena con tres segmentos (fig. 4.4.4.4C): segmento proximal pequeño; segmento medio alargado y troncocónico; y segmento distal terminando en forma de uña con una seda en su base. Mandíbulas alargadas (fig. 4.4.4.4D), con segmento proximal corto y más ancho en su base, segmento medial alargado y segmento final corto con 10 dentículos marginales. Maxílula, proceso cónico afilado con un abultamiento antero-ventral con 3 setas de diferente longitud (dos cortas y una larga) (fig. 4.4.4.4F). Maxila con dos segmentos: *lacertus* y *brachium*, de longitud y anchura similar (fig. 4.4.4.4G). *Brachium* con dos artejos apicales, *calamus* y *canna*, de similar longitud. *Calamus* (interno) con una fina membrana en margen interno y *canna* (externo), menos robusta, con margen externo

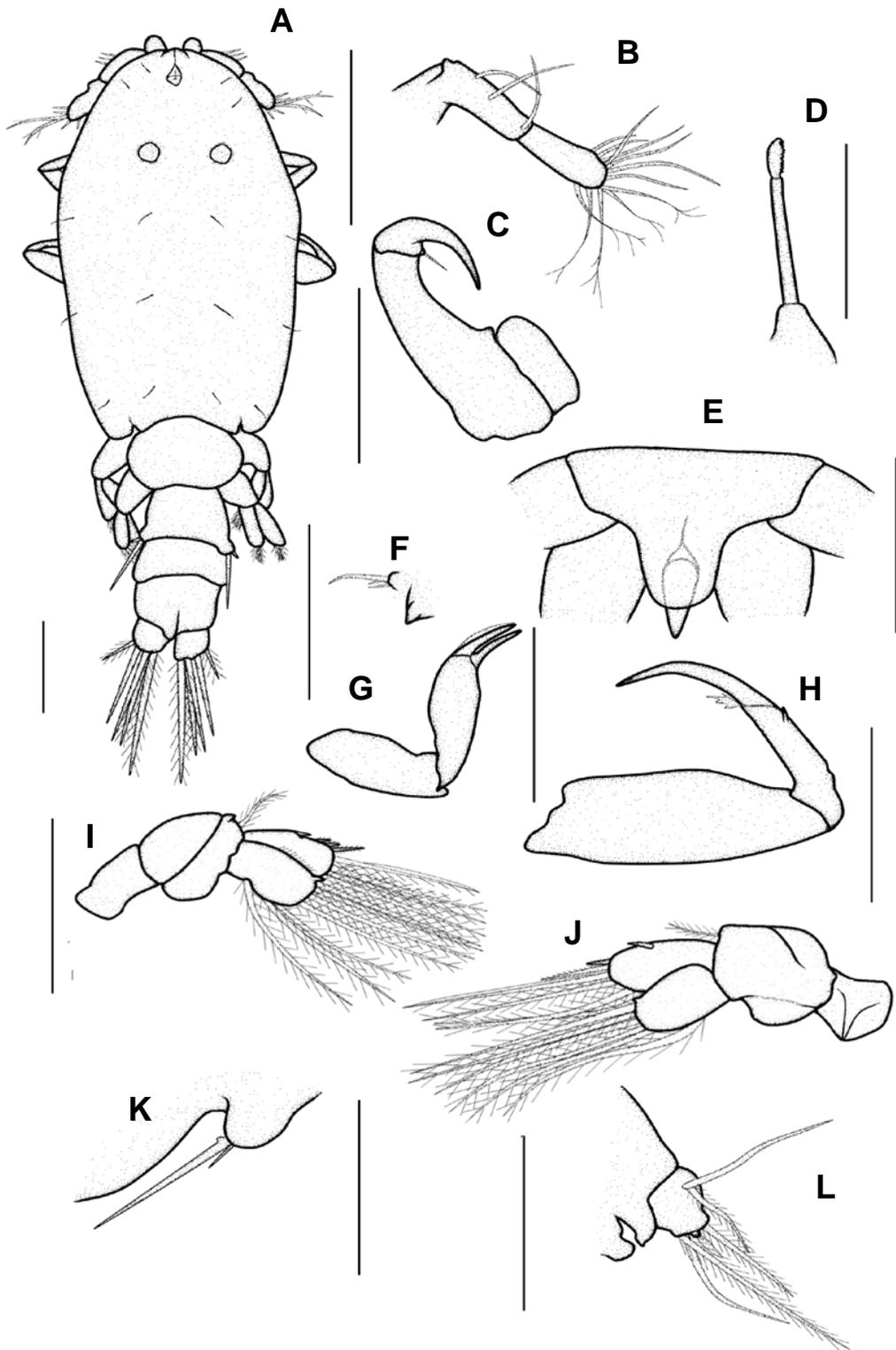


Figura 4.4.4.4. Copepodito de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, mandíbula; E, rostro; F, maxílula; G, maxila; H, maxilípedo; I, primer apéndice; J, segundo apéndice; K, tercer apéndice en vista dorsal; L, lamela caudal. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 0,1 mm.

serrado. Maxilípodo con un segmento proximal ancho y un segmento distal formando una subquela articulada (fig. 4.4.4.4H). Segmento distal dividido en dos porciones, proximal (mango) troncocónico y más largo y robusto que el distal (uña), apuntada y curvada. Extremo distal del mango armado con una proyección espinosa en la cara externa y una espina ramificada en la cara interna. Furca no detectada. Primer apéndice torácico birrámeo (fig. 4.4.4.4I). Apéndices primeros conectados por barra interpodal. Protópodo con coxa y base. Coxa con una seta pinnada en el margen antero-lateral y una pequeña protuberancia apuntada en el segmento basal, por debajo de la seta pinnada. Exópodo unisegmentado y con 8 elementos: una espina corta sencilla en el margen externo, 2 setas cortas pinnadas en el margen externo distal, una seta más larga con margen membranoso serrado distal, una seta semipinnada con margen externo membranoso y 3 setas largas pinnadas distales internas. Endópodo con una proyección con forma de espina disto-lateral y una fila marginal externa de finas sétulas. Segundo apéndice similar al primero (fig. 4.4.4.4J) pero el protópodo no está completamente segmentado y exópodo con 7 elementos al faltar una de las dos setas cortas pinnadas del margen externo distal. Endópodo muy similar al del primer apéndice. Tercer apéndice rudimentario: 2 setas, una más corta y una más larga con un abultamiento en la base (fig. 4.4.4.4K). Lamelas caudales con 5 setas (aparentemente solo tres de ellas pinnadas) y un estetasco corto en el margen distal (fig. 4.4.4.4L).

Primer *chalimus* (fig. 4.4.4.5A) (n= 10): 0,6–0,9 (0,7±0,1) x 0,3–0,4 (0,3±0,0). Cuerpo dividido en dos tagmas. Cefalotórax de forma subtriangular 0,3–0,5 (0,4±0,0), con filamento frontal saliendo de su ápice anterior. Presenta dos abultamientos latero-dorsales hacia la parte posterior. Algunas suturas dorsales del cefalotórax bien marcadas. Ojos de 0,02 (0,02±0,00) de diámetro a 0,05–0,08 (0,07±0,02) de distancia entre ellos. Tagma posterior con subdivisiones poco definidas en comparación con el copepodito. Segundo segmento torácico (primer segmento pedígero) imbricado en cefalotórax, pero, no parece estar fusionado a él. En general, todos los elementos de la armadura de los apéndices son más cortos que en el copepodito. Segmento proximal de la anténula con 7 setas y segmento distal con 13 (fig. 4.4.4.5B). Antena con dos segmentos (fig. 4.4.4.5C): proximal corto y ancho; y distal alargado, acabado en un gancho con una leve protuberancia basal con una pequeña seta. Proceso postantenal, formado por un pequeño abultamiento con una seta (fig. 4.4.4.5D). Mandíbula de cuatro segmentos (fig. 4.4.4.5E); el distal, ligeramente arqueado y apuntado, presenta 12 denticulos. Maxílula formada por

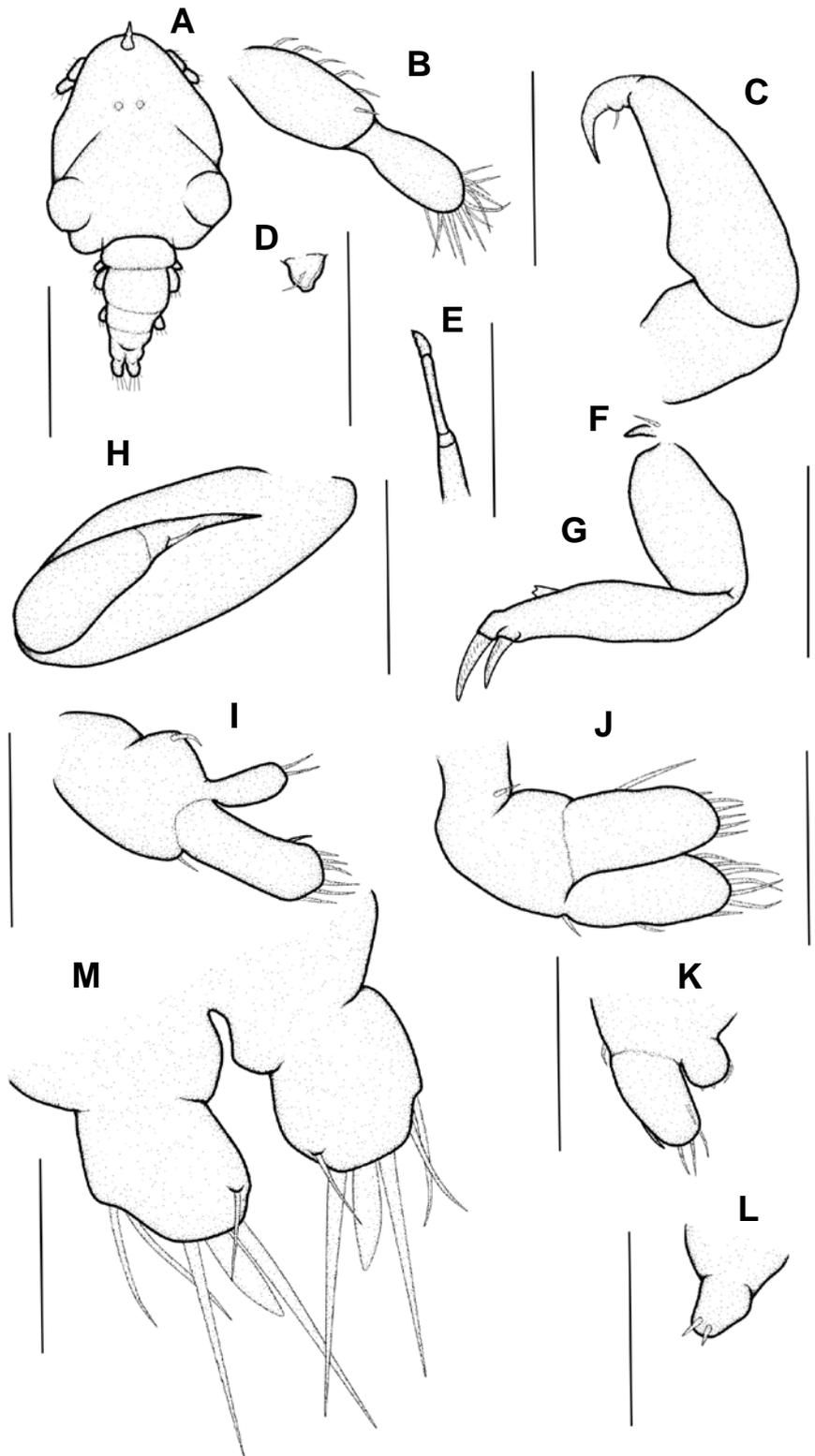


Figura 4.4.4.5. Primer *chalimus* de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, mandíbula; F, maxílula; G, maxila; H, maxilípedo; I, primer apéndice; J, segundo apéndice; K, tercer apéndice en vista dorsal; L, cuarto apéndice; M, lamelas caudales. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 0,1 mm; excepto figura A, 0,5 mm.

una corta protuberancia con forma de garfio con una seta no pinnada cercana a su base (fig. 4.4.4.5F). Maxila similar al estadio anterior, salvo que el *brachium* es más largo y estrecho y con una pequeña membrana recortada en su margen interno distal (fig. 4.4.4.5G). Maxilípodo subquelado (fig. 4.4.4.5H), con dos segmentos: segmento proximal más robusto y largo que el distal; y segmento distal acabado en una uña con una espina corta próxima a su base. Primer apéndice sin barra interpodal (fig. 4.4.4.5I). Simpodio con una seta corta no pinnada en su margen lateral interno y otra seta corta no pinnada en su margen disto-lateral externo. Endópodo redondeado y más corto que el exópodo, con 2 setas no pinnadas en su ápice. Exópodo con 7 setas no pinnadas en el margen distal. Segundo apéndice (fig. 4.4.4.5J) con una seta corta no pinnada en la cara interna de su zona basal y otra seta corta en el extremo externo-distal del simpodio. Endópodo y exópodo con una longitud y anchura similar. Endópodo con una seta no pinnada en la zona media y 6 setas no pinnadas en su extremo. Exópodo con una seta a nivel externo-medial y 7 setas no pinnadas en su extremo distal. Tercer apéndice con simpodio con una seta lateral cercana a la base del exópodo (fig. 4.4.4.5K). Endópodo redondeado, menos de la mitad de largo que el exópodo, con 3 setas no pinnadas en su margen distal. Exópodo con una espina en su margen lateral externo y 3 setas en su margen distal. Se observa una seta más en desarrollo bajo la cutícula. Cuarto apéndice (fig. 4.4.4.5L) formado por una protuberancia corta sin segmentación evidente y con 2 setas no pinnadas en su ápice. Setas de lamelas caudales no pinnadas, con estetasco ligeramente mayor que el estadio anterior (fig. 4.4.4.5M).

Segundo *chalimus* (fig. 4.4.4.6A) (n= 8): 0,7–0,9 (0,8±0,1) x 0,3–0,4 (0,3±0,0). Similar al estadio anterior. Restos del filamento frontal en cefalotórax. Cefalotórax de 0,4–0,5 (0,4±0,0) de longitud, incorpora el segundo segmento pedígero. Ojos de 0,02 (0,02±0,00) de diámetro a 0,08–0,12 (0,10±0,03) de distancia entre ellos. Límites de los segmentos de la región posterior poco definidos. La mayoría de los apéndices similares a los del primer *chalimus* excepto: antena, gancho articulado con una espina corta en la zona latero-dorsal (fig. 4.4.4.6C) con un abultamiento apuntado en la zona distal del segmento proximal, por debajo de la articulación; maxílula (fig. 4.4.4.6E), proyección con una pequeña prolongación apuntada en su ápice y con un abultamiento con 2 setas no pinnadas, una más larga que la otra; maxila como el estadio anterior salvo que la *canna* se reduce respecto al *calamus* (fig. 4.4.4.6F); segundo apéndice con exópodo con 8 setas distales (figs. 4.4.4.6I); tercer apéndice con endópodo y exópodo de longitud y anchura similar

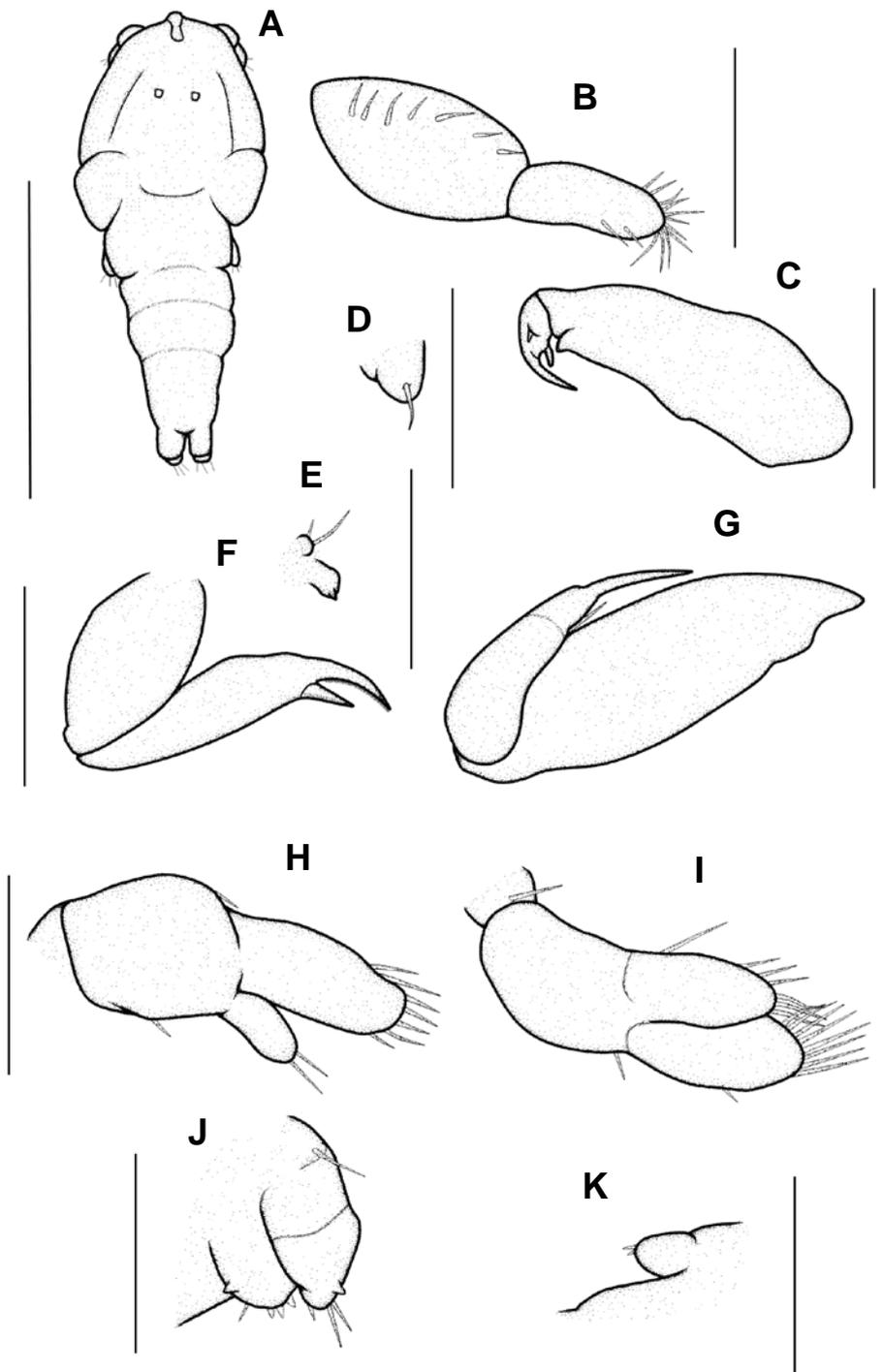


Figura 4.4.4.6. Segundo *chalimus* de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, maxílula; F, maxila; G, maxilípido; H, primer apéndice; I, segundo apéndice; J, tercer apéndice en vista dorsal; K, cuarto apéndice. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 1 mm, en A; y 0,1 mm, en B-K.

(fig. 4.4.4.6J), exópodo con principio de segmentación y una seta no pinnada en su base. Extremo distal con 3 setas no pinnadas, dos más largas y una más corta y una prominencia acabada en punta en la zona latero-ventral. Endópodo con 3 espinas y una seta no pinnada en su margen proximal y una prominencia apuntada en la zona latero-ventral.

Tercer *chalimus* (fig. 4.4.4.7A) (n= 10): 1,2–1,8 (1,4±0,2) x 0,5–0,7 (0,6±0,1). Cefalotórax incluyendo al tercer segmento torácico, con suturas más marcadas que en estadios anteriores (0,5–1,0 (0,7±0,1)). Filamento frontal presente. Ojos de 0,03 (0,03±0,00) de diámetro a 0,07–0,12 (0,10±0,04) de distancia entre ellos. Tagma posterior con subdivisiones más marcadas que en el estadio anterior. Segmento proximal de la anténula con 13 setas no pinnadas más largas que en los estadios anteriores y segmento distal con 13 setas en el margen apical y una en el margen lateral (fig. 4.4.4.7B). Antena con segmento proximal ancho y algo más largo que el distal y segmento distal apuntado y con 2 setas (fig. 4.4.4.7C). Proceso postantenal formado por una protuberancia con forma apuntada con penachos de setas pequeñas en su base y cerca de la inserción (fig. 4.4.4.7D). Maxílula, formada por una protuberancia más larga que en el estadio anterior y terminada en punta, presenta en su base 3 setas no pinnadas, dos más largas y una más corta (fig. 4.4.4.7E). Maxila similar a la de estadios anteriores, con articulación de *canna* y *calamus* más marcada y con los márgenes aserrados (fig. 4.4.4.7F). Ambos segmentos son, en este estadio, más largos y apuntados que en estadios anteriores. Maxilípedo sin cambios notables desde estadios anteriores (fig. 4.4.4.7G). Furca no observada. Simpodio del primer apéndice no segmentado, con una seta ligeramente pinnada a nivel de la base del exópodo y otra por debajo del endópodo (fig. 4.4.4.8A). Endópodo mucho más reducido que el exópodo y con 2 setas cortas en su ápice. Exópodo bisegmentado: primer segmento con una pequeña seta en el margen disto-lateral y segundo segmento con 3 setas gruesas y 4 setas ligeramente pinnadas repartidas en su margen distal. Simpodio del segundo apéndice sin segmentación marcada (fig. 4.3.4.8B), con una seta más larga y robusta en la zona medial y una seta más corta y fina en margen distal externo. Endópodo y exópodo de la misma longitud y anchura pero con segmentación más marcada. Margen interno del primer segmento del endópodo con una seta larga ligeramente pinnada y segundo segmento con 7 setas ligeramente pinnadas en el margen distal. Primer segmento del exópodo con 2 setas no pinnadas, disto-lateral y disto-mediales y segundo segmento con 4 espinas y 5 setas ligeramente pinnadas.

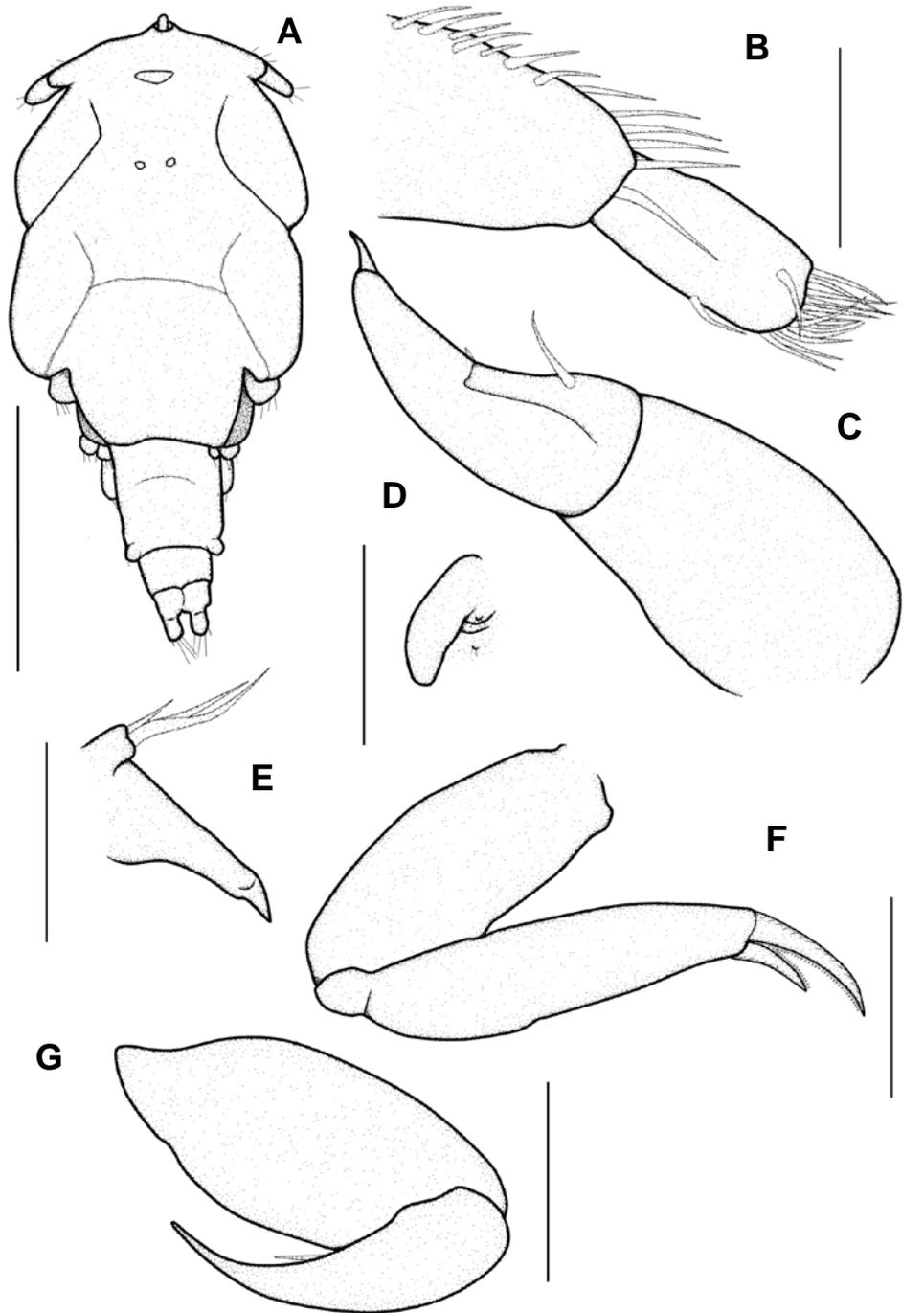


Figura 4.4.4.7. Tercer *chalinus* de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, maxílula; F, maxila; G, maxilípedo. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 1 mm, en A; y 0,1 mm, en B-G.

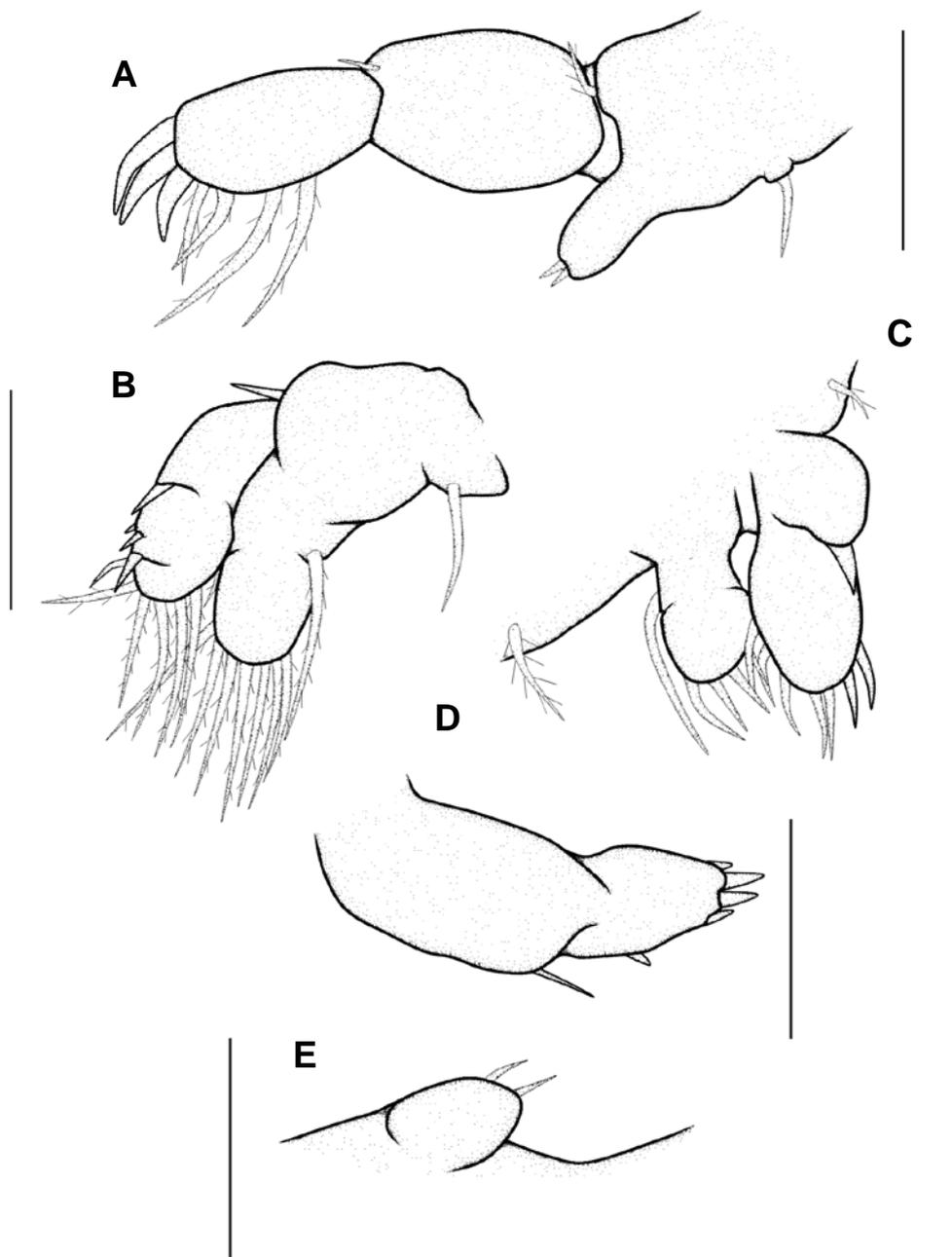


Figura 4.4.4.8. Tercer *chelimus* de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont.). A, primer apéndice; B, segundo apéndice; C, tercer apéndice; D, cuarto apéndice; E, quinto apéndice. Todas las figuras en vista ventral menos el tercer apéndice. Escalas: 0,1 mm.

Simpodio del tercer apéndice sin segmentación, con una pequeña seta pinnada en el margen lateral y otra en el margen medial, cerca de la barra interpodal (fig. 4.4.4.8C). Endópodo y exópodo más desarrollados que en estadios anteriores, pero sin segmentación marcada. Endópodo con una larga seta no pinnada en el margen medial y 4 más cortas, no pinnadas, en el ápice. Exópodo con una espina robusta y 7 setas no pinnadas en el ápice, las dos laterales más gruesas. Cuarto apéndice con dos segmentos poco marcados (fig. 4.4.4.8D): proximal más largo, con una seta en su margen antero-lateral y distal más corto con una pequeña seta lateral cerca de su base y 4 setas cortas y gruesas en su ápice. Aparece en este estadio el quinto apéndice como un proceso redondeado situado en el margen postero-lateral del complejo genital y con 2 setas no pinnadas en su ápice (fig. 4.4.4.8E). Lamelas caudales sin cambios.

Cuarto *chalimus* (fig. 4.4.4.9A) (n= 10): 1,4–2,6 (2,0±0,4) x 0,6–1,1 (0,8±0,2). Parecido al estadio anterior, más grande. Cefalotórax 0,7–1,4 (0,9±0,3) con suturas dorsales y hendiduras posteriores bien marcadas. Filamento frontal presente. Ojos de 0,03 (0,03±0,00) de diámetro a 0,05–0,08 (0,07±0,02) de distancia entre ellos. Se diferencia la lámina frontal (*frontal plate*). Anténula como en el estadio anterior pero con setas del segmento proximal ligeramente pinnadas (fig. 4.4.4.9B). Primer apéndice como en el estadio anterior pero con una fila de pequeñas sétulas en el margen interno del primer segmento del exópodo (fig. 4.4.4.10A). Apéndices segundo y tercero con divisiones de los segmentos más marcadas (figs. 4.4.4.10B y C). Apéndice cuarto con tres segmentos más definidos (fig. 4.4.4.10D). Apéndice quinto como en el estadio anterior pero más grande (fig. 4.4.4.10E).

Primera hembra preadulta (fig. 4.4.4.11A) (n= 10): 2,9–4,7 (3,8±0,6) x 1,8–2,7 (2,2±0,3). Similar en morfología a la hembra adulta. Cefalotórax 2,0–2,8 (2,4±0,0) con restos del filamento frontal. Ojos de 0,04 (0,04±0,0) de diámetro, a 0,07–0,11 (0,09±0,03) de distancia entre ellos. Membrana marginal presente en placa frontal y caparazón. Líneas de sutura bien marcadas. Complejo genital (0,5–0,8 (0,6±0,1) x 0,6–0,9 (0,8±0,1)), más largo que el segmento torácico libre, (0,4–0,5 (0,5±0,0) x 0,5–0,7 (0,6±0,1)). Abdomen más largo y más estrecho que segmento genital. No se han distinguido sétulas o sensores dorsales. Anténula con 20 setas pinnadas en segmento proximal y una proyección apuntada en la cara lateral externa cerca de la inserción y 14 setas no pinnadas en el segmento distal, una de ellas en zona latero-medial interna y el resto en el extremo apical

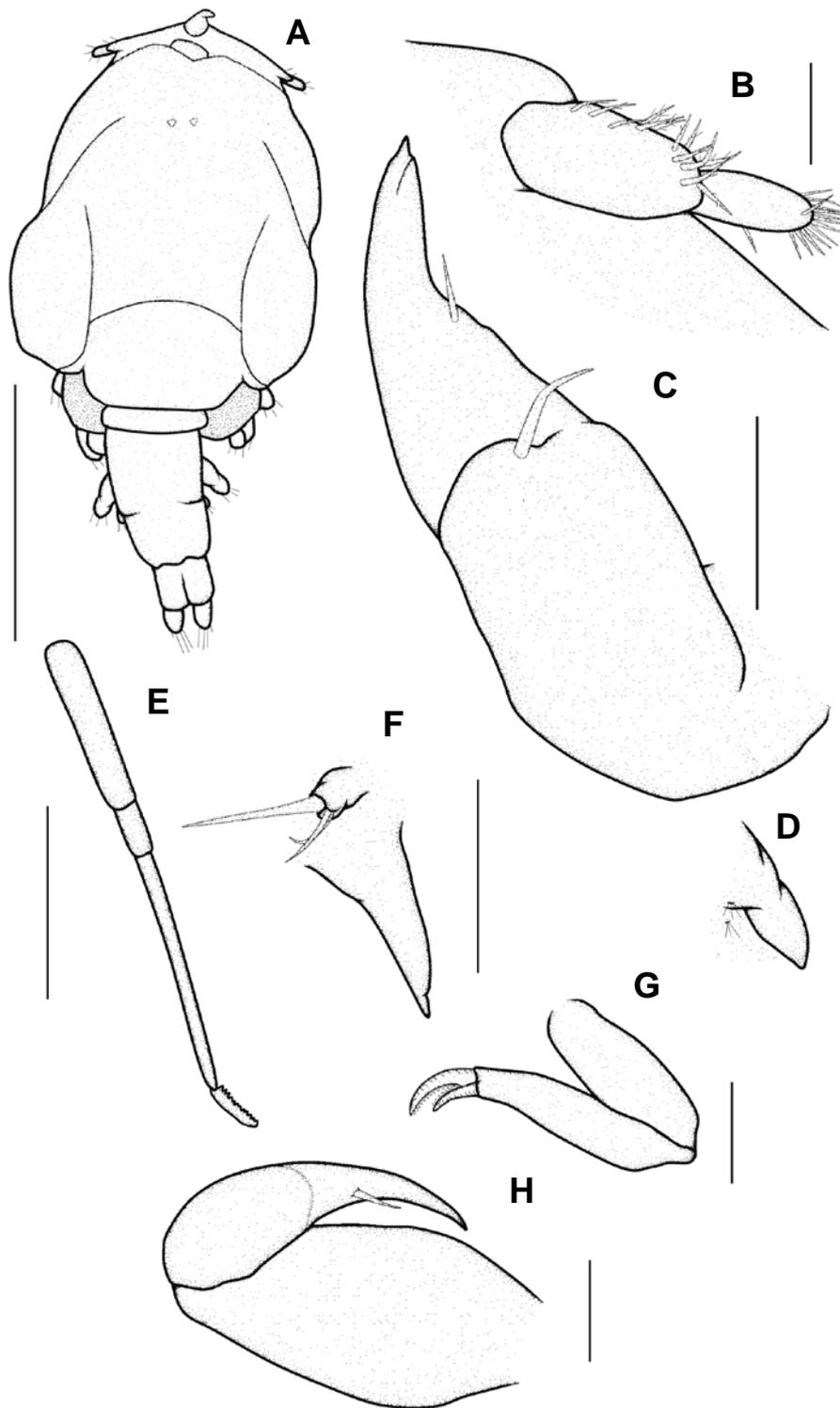


Figura 4.4.4.9. Cuarto *chalimus* de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, mandíbula; F, maxílula; G, maxila; H, maxilípido. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 1 mm, en A; y 0,1 mm, en B-H.

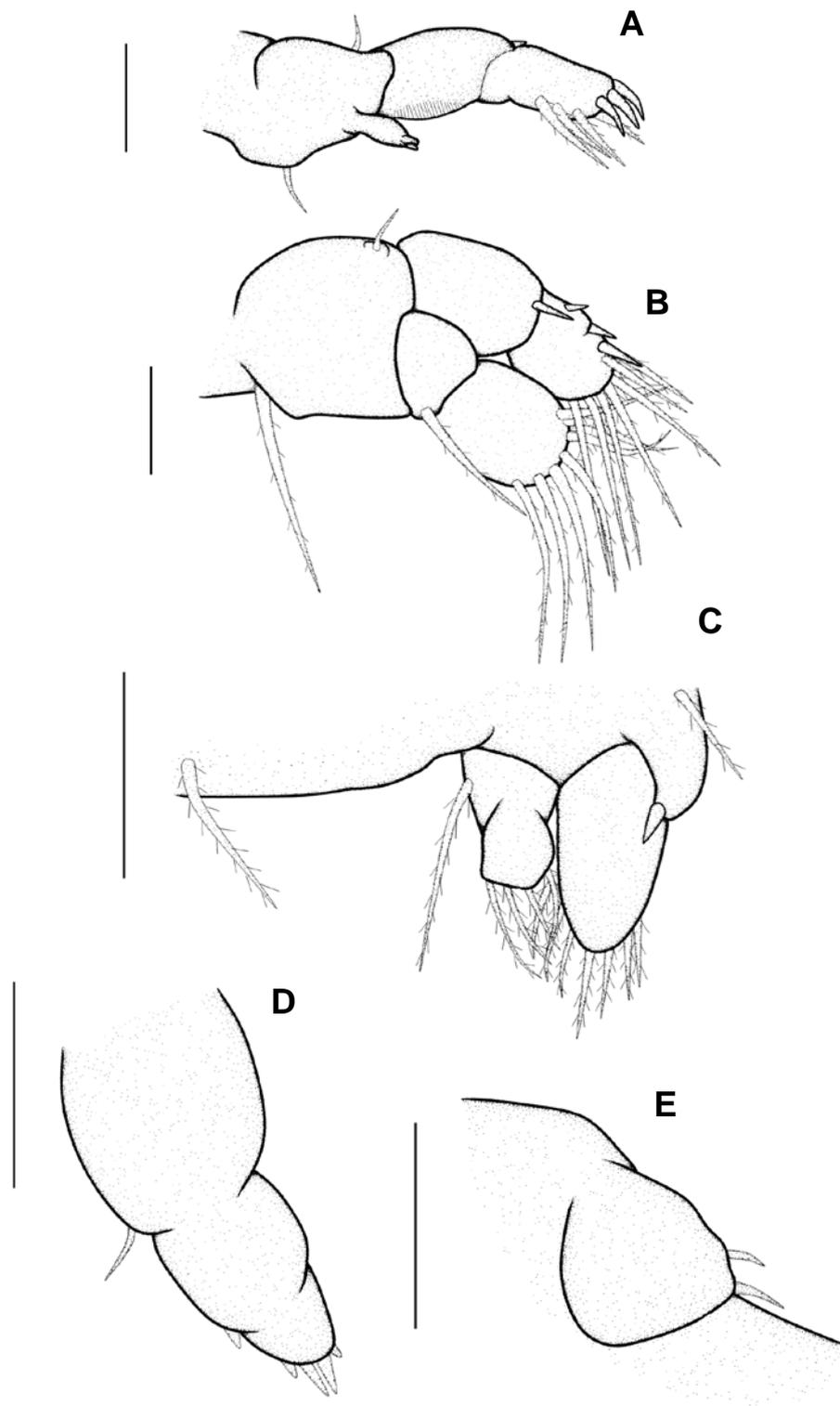


Figura 4.4.4.10. Cuarto *chalimus* de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont.). A, primer apéndice; B, segundo apéndice; C, tercer apéndice; D, cuarto apéndice; E, quinto apéndice. Todas las figuras en vista ventral menos el tercer apéndice. Escalas: 0,1 mm.

(fig. 4.4.4.11B). Antena con tres segmentos (fig. 4.4.4.11C): segmento proximal pequeño con una proyección posterior en su inserción, segmento medio más alargado y ancho que el segmento proximal; segmento distal más largo, acabado apicalmente en forma de garfio muy puntiagudo, con una seta no pinnada cerca de la articulación, sobre una protuberancia dirigida posteriormente, y otra seta no pinnada en la mitad de su longitud. Proceso postantenal formado por una espina curvada con punta redondeada con una protuberancia apuntada en la zona basal interna y dos protuberancias en la zona basal externa (fig. 4.4.4.11D) y con dos penachos de sétulas cerca de su inserción. Maxílula formada por una espina bífida con la punta exterior más pequeña y fina que la punta interior (fig. 4.4.4.11E) y con 3 setas no pinnadas que emergen de un saliente cercano a su base. Maxila con *brachium* más largo que *lacertus* pero de anchura similar (fig. 4.4.4.11F). *Calamus* marcadamente articulado y *canna* con articulación más tenue, ambos artejos rodeados de membranas aserradas. Maxilípedo muy similar al del estadio anterior (fig. 4.4.4.11G), segmento distal más ganchudo y segmento proximal con pequeñas proyecciones en su cara interna. Furca visible (fig. 4.4.4.11H) con dientes pequeños y redondeados dispuestos en un ángulo de 20°–30° y con crecimientos cuticulares a ambos lados. Primer apéndice con protópodo ancho de segmentación marcada con 2 setas dorsales pinnadas; una en margen distal y otra mayor en margen proximal (fig. 4.4.4.12A). Exópodo similar al estadio anterior pero segmento proximal notablemente más largo y ancho que el distal. Ornamentación y espinación similar, con membranas y setas más largas y con 3 setas apicales no pinnadas con borde aserrado en su cara externa. Endópodo más pequeño que en el estadio anterior. Segundo apéndice con protópodo segmentado, con una larga seta pinnada en el ángulo proximal interno de la coxa y con una pequeña seta pinnada en el ángulo distal externo y una membrana en el margen interno de la base (fig. 4.4.4.12B). Incipiente segunda segmentación en la zona distal de exópodo y endópodo. Setas pinnadas con sétulas más largas y numerosas que en el estadio anterior. Aparecen filas de sétulas en los márgenes laterales internos de exópodo y Endópodo, así como en el margen externo del endópodo. Segmento distal del exópodo con 6 setas pinnadas distales y 3 espinas laterales externas. Endópodo con 8 setas pinnadas distales. Tercer apéndice con un amplio simpodio con una seta pinnada grande en la zona media y otra corta cerca de la base del exópodo (fig. 4.4.4.12C). Endópodo y exópodo de longitud y anchura similar. Primer segmento del exópodo con una seta pinnada en su margen interno y una espina segmentada ganchuda muy gruesa. Segundo

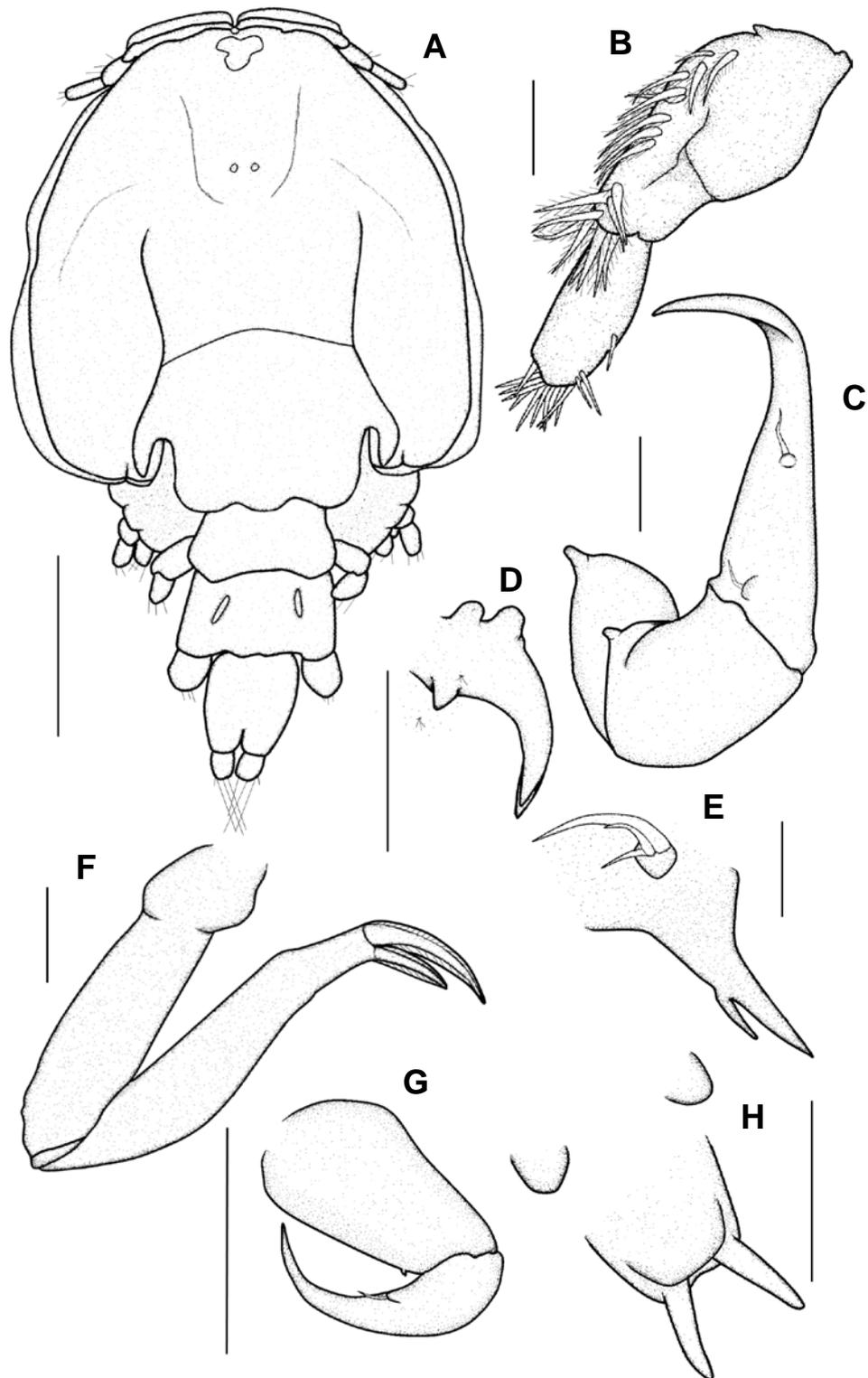


Figura 4.4.4.11. Primera hembra preadulta de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, maxílula; F, maxila; G, maxilípedo; H, furca. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 1 mm, en A; 0,5 mm, en G; y 0,1 mm, en B-F y en H.

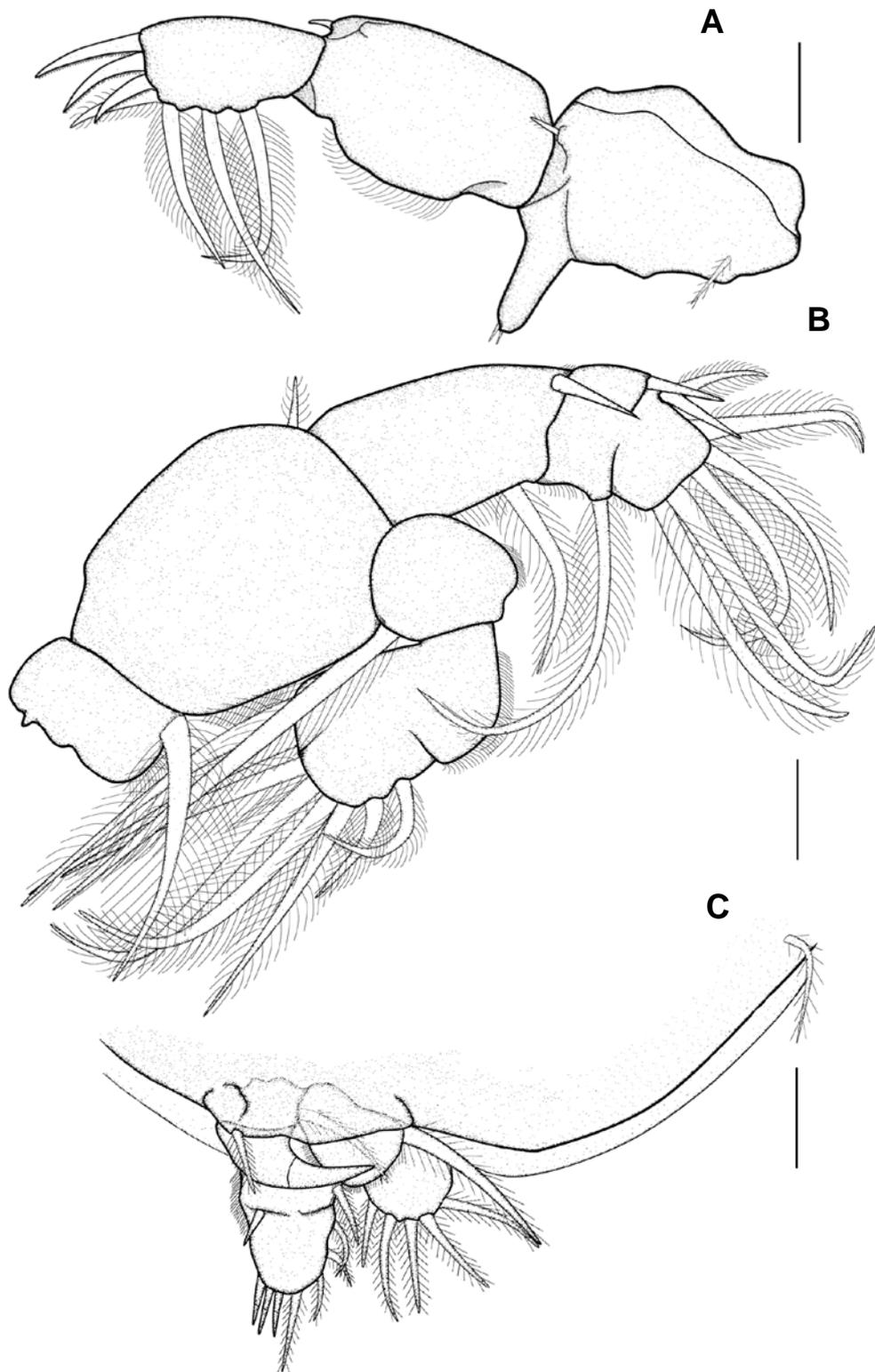


Figura 4.4.4.12. Primera hembra preadulta de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont. 1). A, primer apéndice; B, segundo apéndice; C, tercer apéndice. Todas las figuras en vista ventral menos el tercer apéndice. Escalas: 0,1 mm.

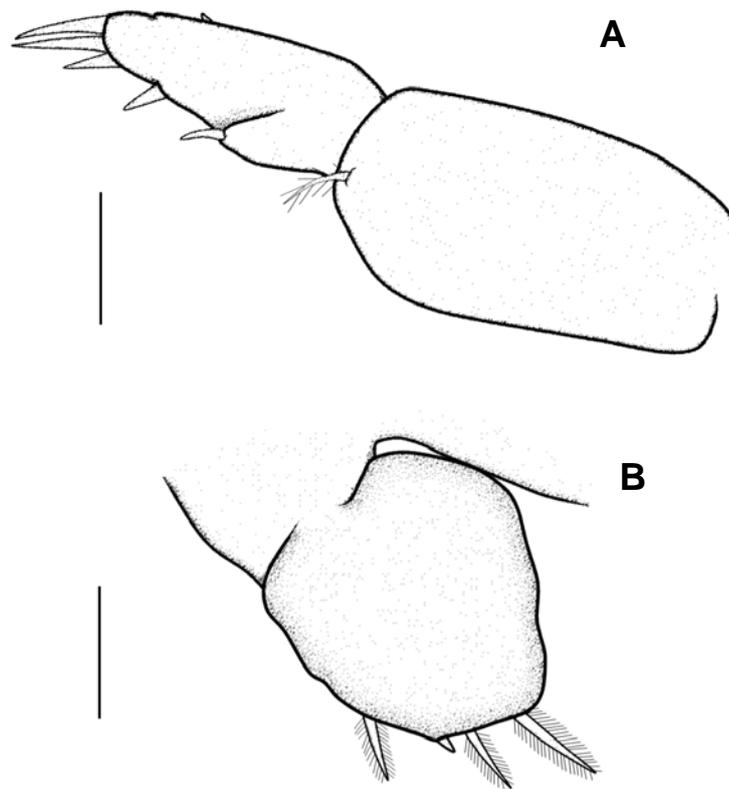


Figura 4.4.4.13. Primera hembra preadulta de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont. 2). A, cuarto apéndice; B, quinto apéndice. Todas las figuras en vista ventral. Escalas: 0,1 mm.

segmento con 4 setas con forma de espina no pinnadas, 5 setas pinnadas repartidas a lo largo del margen interno hasta la zona distal y una fila de sétulas en su margen lateral externo. Endópodo bisegmentado con un segmento proximal con una fila de sétulas en el margen y una larga seta pinnada interna. Margen distal del último segmento con 5 setas pinnadas y una pequeña fila de sétulas en su margen externo. Simpodio del cuarto apéndice tan largo como el exópodo (fig. 4.4.4.13A) con una seta pinnada en el extremo distal interno. Exópodo con 5 setas no pinnadas, 2 laterales internas y 3 distales y una pequeña espina en su margen externo. Quinto apéndice globular y con 3 setas pinnadas de similar longitud, dos en su extremo apical y una en la zona externa, y una seta no pinnada muy corta al lado de las dos setas apicales (fig. 4.4.4.13B). Lamelas caudales sin cambios notables.

Segunda hembra preadulta (fig. 4.4.4.14A) (n= 10): 5,1–7,4 (5,9±0,7) × 2,9–4,1 (3,6±0,4). Similar a la hembra adulta. Cefalotórax 3,2–4,6 (3,8±0,5) con suturas bien

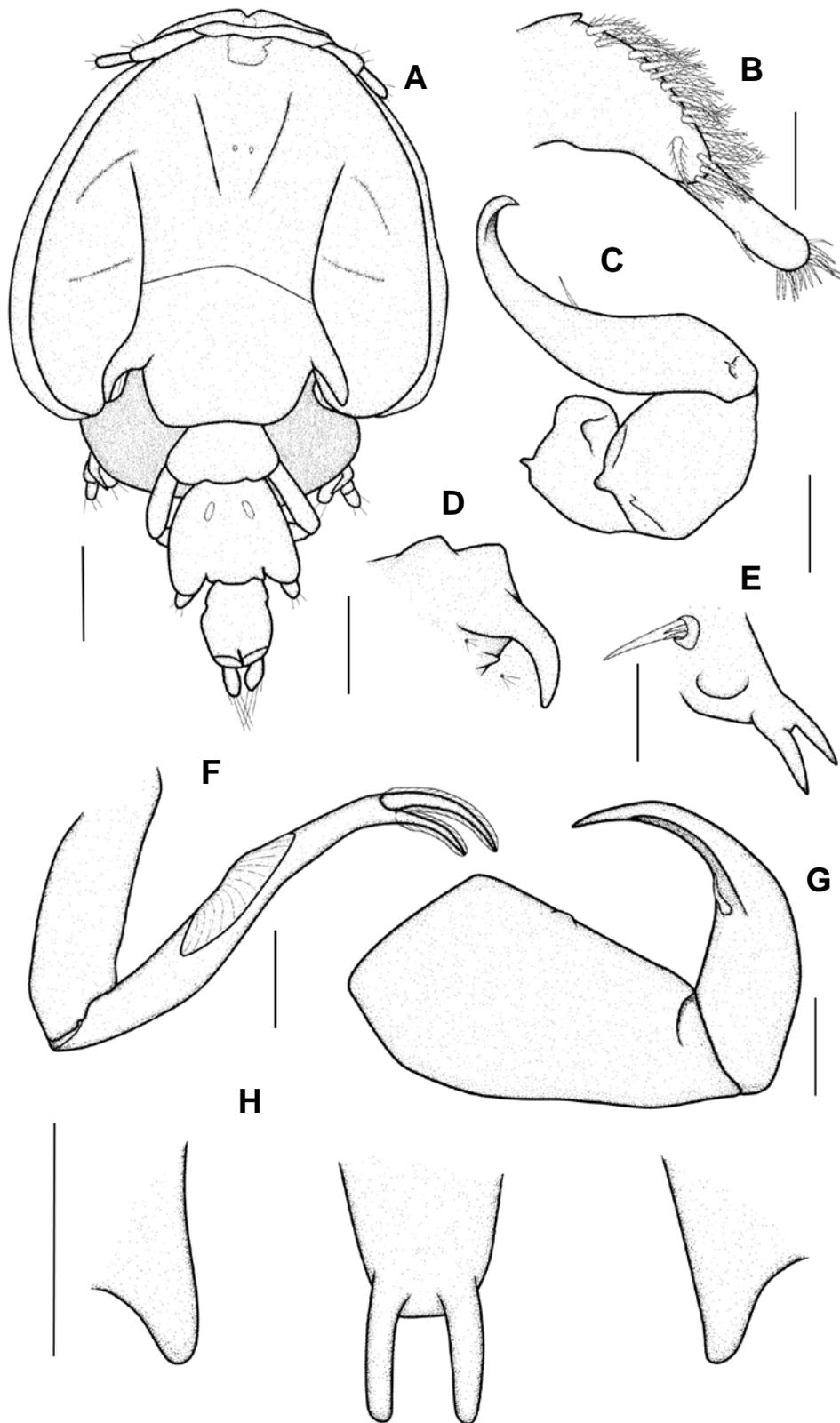


Figura. 4.4.4.14. Segunda hembra preadulta de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, maxílula; F, maxila; G, maxilípido; H, furca. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 1 mm, en A; 0,5 mm, en B-G; 0,1 mm, y en H.

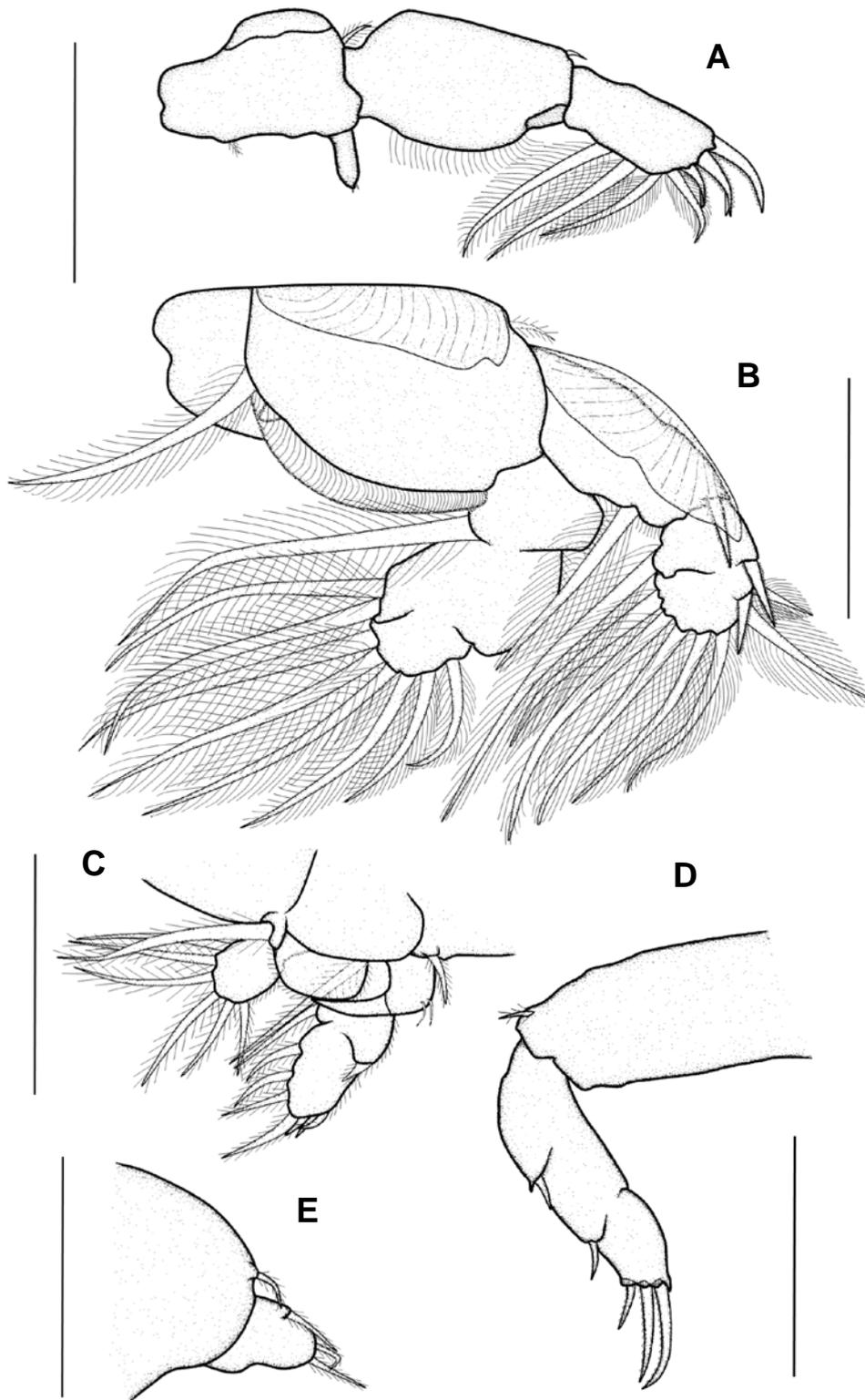


Figura. 4.4.4.15. Segunda hembra preadulta de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont.). A, primer apéndice; B, segundo apéndice; C, tercer apéndice; D, cuarto apéndice; E, quinto apéndice. Todas las figuras en vista ventral excepto el tercer apéndice. Escalas: 0,5 mm.

marcadas. Ojos de 0,05 (0,05±0,00) de diámetro a 0,11–0,12 (0,12±0,01) de distancia entre ellos. Complejo genital 0,5–1,0 (0,7±0,1) x 0,9–1,2 (1,1±0,1) más largo y ancho que el abdomen y el segmento torácico libre. Segmento torácico libre y segmento abdominal con región anterior algo escotada. Anténula como en los otros estadios, con 27 setas pinnadas en el segmento proximal (fig. 4.4.4.14B). Maxílula con las dos puntas de la espina de similar longitud y anchura (fig. 4.4.4.14E). Maxila como en el estadio anterior pero, segmento proximal con repliegue membranoso en la zona interna medial (fig. 4.4.4.14F). Furca más grande que en el estadio anterior y con los crecimientos cuticulares más grandes (fig. 4.4.4.14H). Primer apéndice como en el estadio anterior salvo por la espinación del segundo segmento del exópodo con espina accesoria distal y aserradas por ambas caras y la más externa solo aserrada en cara interna (fig. 4.4.4.15A). Segundo apéndice similar al estadio anterior salvo por el tercer segmento del exópodo, con 7 setas pinnadas y 3 espinas marginales externas ligeramente aserradas y por la cara externa de la base y el exópodo con membrana (fig. 4.4.4.15B). Tercer apéndice similar al estadio anterior salvo por la fila de sétulas en el margen lateral externo del primer segmento del exópodo (fig. 4.4.4.15C). Segmentos del cuarto apéndice más definidos que en el estadio anterior (fig. 4.4.4.15D), con sus 3 setas distales ligeramente pectinadas en su base y su margen externo ligeramente aserrado. Quinto apéndice bilobulado con un lóbulo proximal con una seta pinnada y lóbulo distal más pequeño y alargado, con 3 setas pinnadas (fig. 4.4.4.15E). Lamelas caudales sin cambios.

Primer macho preadulto (fig. 4.4.4.16A) (n= 10): 3,8–4,9 (4,5±0,3) x 2,3–2,6 (2,4±0,1). Similar a primera hembra preadulto pero, abdomen más largo y estrecho. Cefalotórax de 1,8–2,7 (2,4±0,3) de longitud. Con restos del filamento frontal. Ojos de 0,05 (0,05±0,00) de diámetro a 0,08 (0,08±0,00) de distancia entre ellos. Segmento genital 0,4–1,0 (0,7±0,2) x 0,5–0,7 (0,6±0,1), más estrecho que en la primera hembra preadulto y con segmentación anterior. La mayoría de los apéndices como en primera hembra preadulto aunque en alguno de ellos hay alguna ligera variación. Maxila con una membrana en zona distal del *brachium* (fig. 4.4.4.16F). Furca más pequeña que en la primera hembra adulta (fig. 4.4.4.16H). Primer apéndice similar a la primera hembra preadulto salvo por las 2 espinas distales del segmento distal del exópodo con márgenes externo e interno con membrana aserrada (fig. 4.4.4.16I) y el endópodo relativamente menor. Segundo apéndice con las 3 espinas laterales externas de los tres segmentos del exópodo con membrana aserrada (fig. 4.4.4.17A). Quinto apéndice más alargado que en la primera

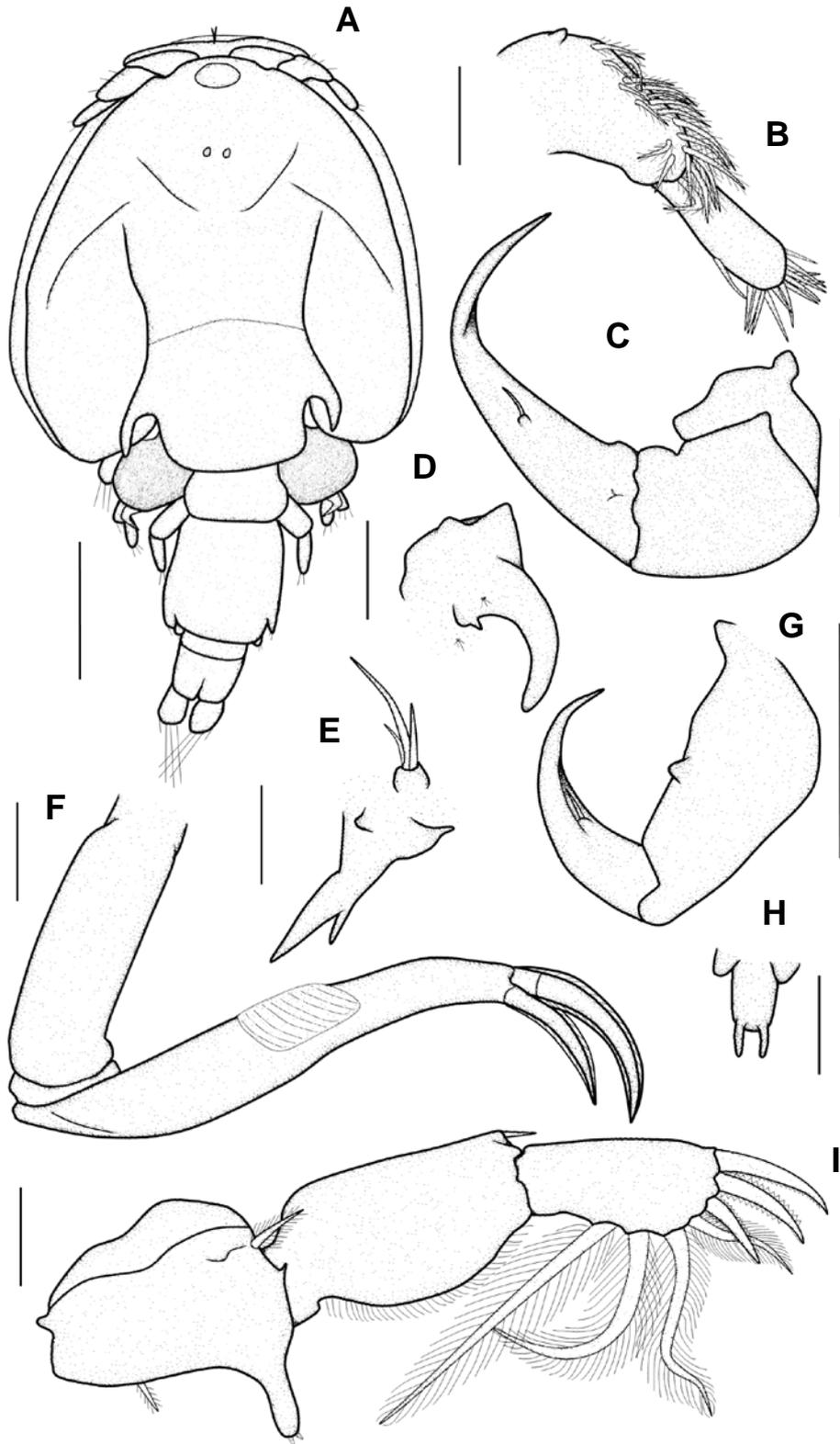


Figura 4.4.16. Primer macho preadulto de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, anténula; C, antena; D, proceso postantenal; E, maxílula; F, maxila; G, maxilípido; H, furca; I, primer apéndice. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 0,5 mm, en A y G; y 0,1 mm, en B-F, H e I.

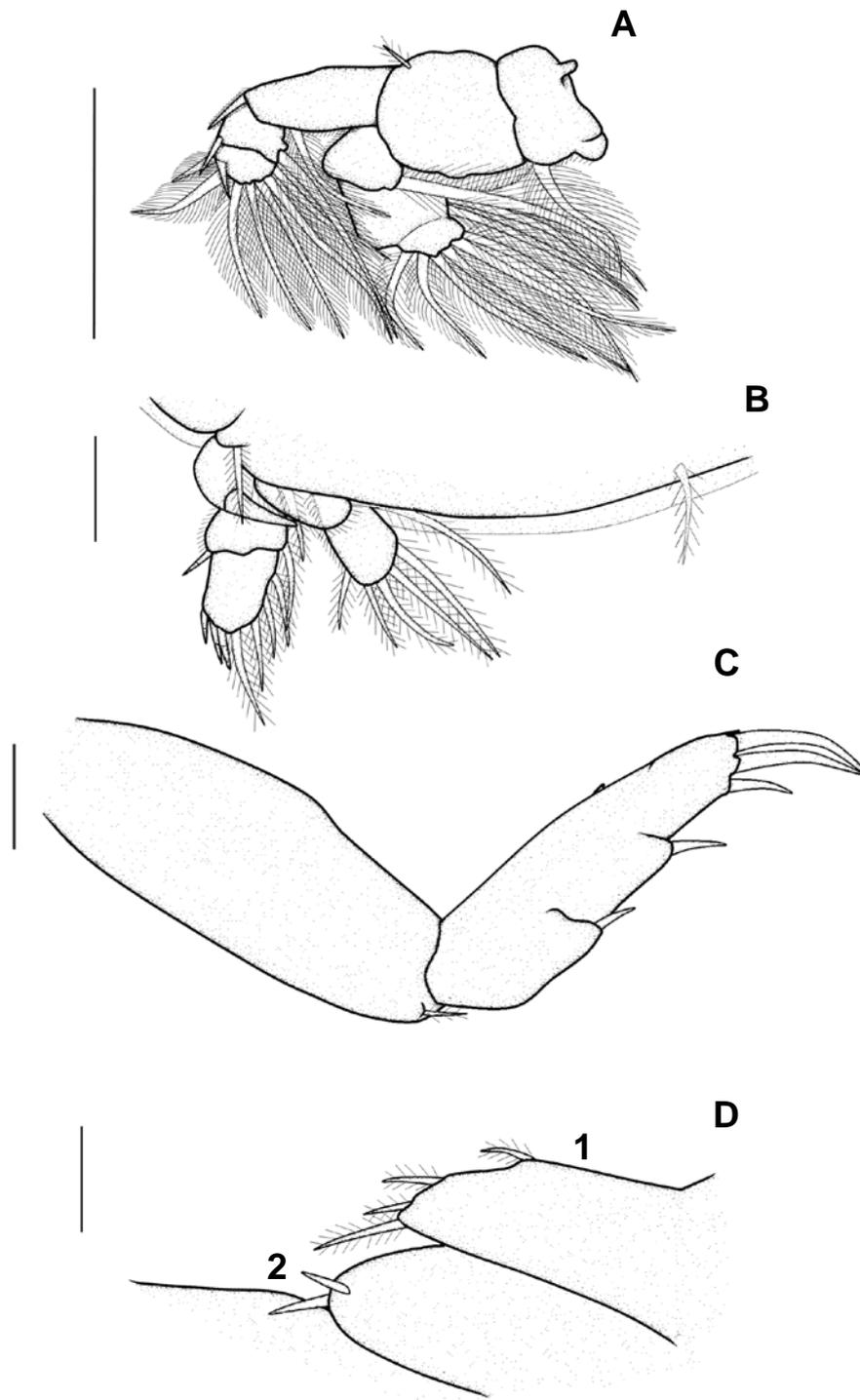


Figura 4.4.17. Primer macho preadulto de *Lepeophtheirus nordmanni* (cont.). A, segundo apéndice; B, tercer apéndice; C, cuarto apéndice; D, quinto (1) y sexto (2) apéndice. Todas las figuras en vista ventral excepto tercer apéndice. Escalas: 0,5 mm, en A; y 0,1 mm, en B-D.

hembra preadulta y con todas sus setas pinnadas (fig. 4.4.4.17D1). Aparece el sexto apéndice con 2 setas no pinnadas en su ápice (fig. 4.4.4.17D2). Lamelas caudales sin cambios.

Segundo macho preadulto (fig. 4.4.4.18A) (n= 10): 5,1–5,9 (5,4±0,3) x 2,7–3,6 (3,0±0,3). Similar al primer macho preadulto. Cefalotórax (3,0–3,9 (3,4±0,3)), con suturas muy marcadas. Ojos de 0,04–0,05 (0,05±0,01) de diámetro a 0,06–0,08 (0,07±0,01) de distancia entre ellos. Complejo genital (0,8–1,1 (0,9±0,1) x 0,7–0,9 (0,7±0,1)), más largo que segmento torácico libre y abdomen. Apéndices como en la segunda hembra preadulto y el primer macho preadulto. Furca más grande que en el estadio anterior (fig. 4.4.4.18B). Apéndice sexto con 3 setas pinnadas (fig. 4.4.4.18C).

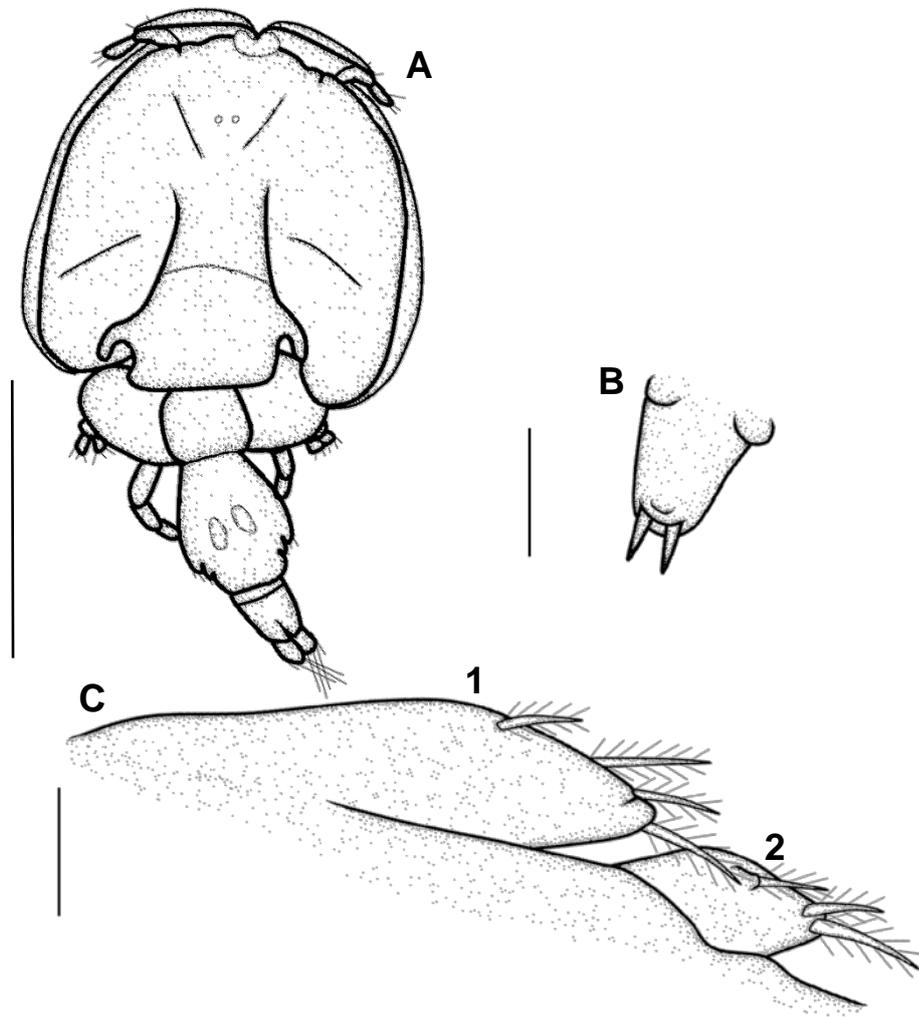


Figura 4.4.4.18. Segundo macho preadulto de *Lepeophtheirus nordmanni*. A, individuo completo en vista dorsal; B, furca; C, quinto (1) y sexto (2) apéndices. Todas las figuras en vista ventral menos cuando se indique lo contrario. Escalas: 2 mm, en A; y 0,1 mm, en B y C.

-Alimentación

El estudio de los cortes histológicos de ejemplares ubicados en la piel de los peces reveló la presencia de células del hospedador en el interior de los conos bucales de algunos parásitos. Estas células se encontraron en *chalimus* III (en vigilia de pareja), hembras adultas ovígeras, y machos adultos (ver fig. 4.4.4.19 y Tabla 4.4.4.6.). Todas las células del interior de los conos bucales eran nucleadas, más o menos elípticas y refringentes, con aspecto y tamaño similar a los eritrocitos de los peces luna (ver fig. 4.4.4.19B). Los núcleos de estas células también eran similares a los de los eritrocitos. Estas células se encontraban tanto en los cortes más distales como en los más proximales de los conos bucales.

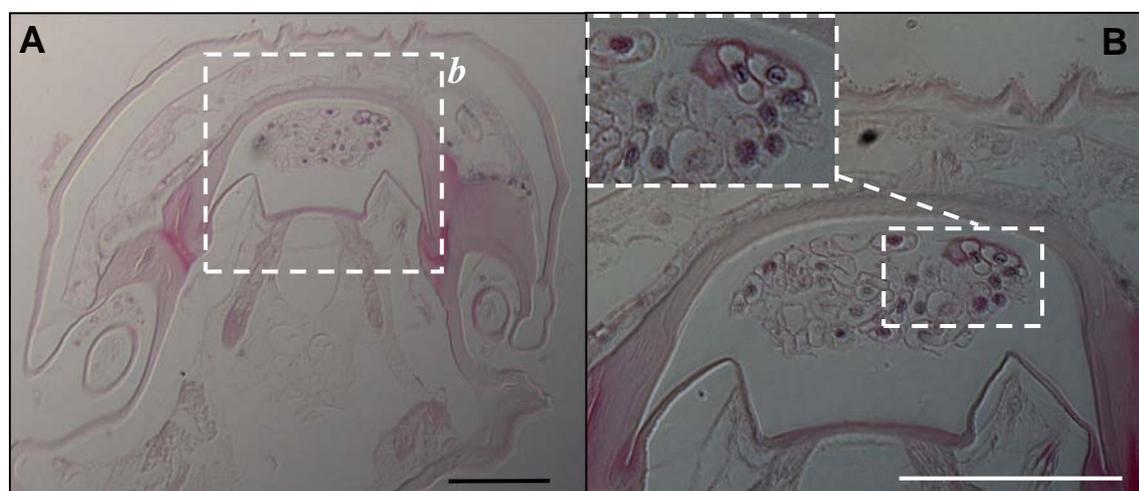


Figura. 4.4.4.19. Corte histológico de cono bucal de *Lepeophtherius nordmanni* de pez luna, *Mola mola*. A, detalle de la sección del cono bucal entero (el recuadro señala la figura B, el interior del cono.); B, interior del cono bucal donde se observan las células reconocidas como eritrocitos del pez luna (en el recuadro se observa un ampliación de los eritrocitos). Escalas: 100 μ m, en A; y 50 μ m, en B.

Tabla 4.4.4.6. Tamaño de las células mucosas y los eritrocitos del pez luna, *Mola mola*, y de las células de los conos bucales de *chalimus* III, hembra adulta ovígera y macho adulto de *Lepeophtheirus nordmanni* de piel de pez luna. Se indica diámetro máximo (D. máx.) y diámetro mínimo (D. mín.) para la célula y su núcleo.

| Tipo celular | D. máx. célula | D. mín. célula | D. máx. núcleo | D. mín. núcleo |
|--|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Célula mucosa de pez luna | 8,0–10,0 (8,9 \pm 0,8) | 6,4–7,9 (7,5 \pm 0,9) | 4,8–6,8 (5,4 \pm 0,7) | 3,3–5,1 (4,0 \pm 0,7) |
| Eritrocito de pez luna | 6,5–9,3 (8,0 \pm 0,9) | 4,2–5,8 (5,0 \pm 0,6) | 2,4–3,7 (2,9 \pm 0,4) | 2,1–3,4 (2,8 \pm 0,4) |
| Células en cono bucal de <i>chalimus</i> III | 8,1–8,8 (8,4 \pm 0,5) | 4,9–5,6 (5,1 \pm 1,2) | 3,9–4,3 (4,1 \pm 0,3) | 3,4–3,6 (3,5 \pm 0,6) |
| Células en cono bucal de hembra adulta ovígera | 7,3–9,4 (8,7 \pm 1,0) | 3,9–5,9 (4,4 \pm 0,9) | 2,9–3,7 (3,2 \pm 0,3) | 2,0–4,3 (2,8 \pm 0,9) |
| Células en cono bucal de macho adulto | 8,2–9,1 (8,6 \pm 0,5) | 4,8–6,0 (5,4 \pm 1,5) | 4,4–4,7 (4,5 \pm 1,0) | 3,5–3,9 (3,7 \pm 0,8) |

4.4.4.4. Discusión

-Niveles de infección y hábitat

Las prevalencias de infección de *Lepeophtheirus nordmanni* en pez luna han sido muy elevadas, llegando incluso al 100 % en alguno de los muestreos. Las intensidades fueron también en general muy elevadas (ver Tabla 4.4.4.2), excepto en el muestreo del año 2008 que mostró unos valores de parasitación notablemente diferentes y menores, por las limitaciones del muestreo ya explicadas en la sección de *Material y métodos generales*. Los muestreos, conjunta o separadamente, presentaban valores de prevalencia e intensidad de *L. nordmanni* que superan los valores alcanzados por otras especies del género en medio natural (incluso en el muestreo del año 2008; ver Boxshall, 1974b; Wootten *et al.*, 1982). Este dato es más relevante en el caso de la prevalencia, ya que la intensidad ha de ser predeciblemente mayor en los peces luna, al ser mucho mayores de tamaño que las otras especies hospedadoras estudiadas (salmónidos y platija). El estudio del ciclo de vida anual de *L. pectoralis* en platija (*Pleuronectes platessa* L.), en el Mar del Norte inglés (Boxshall, 1974b), reveló que las mayores prevalencias se presentaban en junio, con un 80 %, y en agosto-septiembre llegando al 95 %. El análisis de la estructura en edades de la población de *L. pectoralis* mostró que el aumento de la abundancia coincidía con el comienzo de la estación de apareamiento del copépodo, llegando a sus valores más altos en agosto (4,2–5,3 parásitos por pez; ver Boxshall, 1974b). Todos los muestreos del presente estudio se realizaron a finales del mes de mayo, por lo que no se conoce la evolución anual de *L. nordmanni*. En este mes se encontraron gran cantidad de hembras ovígeras e individuos en vigilia de pareja, lo que indica que los muestreos se encontraban dentro de la época de apareamiento. Además, los elevados niveles de infección encontrados hacen suponer que el periodo de estudio podría encontrarse dentro del pico de máxima infección, coincidiendo con el momento en el que la termoclina estival se empieza a formar en esta zona del Mediterráneo y las temperaturas suben hasta 4 °C (datos de 2007 y 2008, procedentes de Puertos del Estado, Ministerio de Fomento, Gobierno de España). Sería necesario realizar estudios periódicos específicos de la dinámica poblacional de *L. nordmanni* durante todo un año para confirmar estas hipótesis y conocer el ciclo anual de esta especie en el Mediterráneo.

El mayor número de hembras adultas, ovígeras y sin sacos de huevos, recolectadas en la cavidad bucal de los peces (719) frente a las recolectadas en la piel (192), hace suponer que esta ubicación es la más idónea para las hembras adultas. Además, en la boca no

fueron observadas hembras preadultas ni larvas. Esta selección de hábitat puede explicarse por el hecho de que en la cavidad bucal las hembras están protegidas de las corrientes de agua, además, las hembras ovígeras pierden mucho hidrodinamismo por la presencia de los largos sacos de huevos conectados al cuerpo por pequeños istmos. Por otra parte, la mucosa de la boca es más delgada que la de la piel, lo que le permitiría un acceso más fácil a la sangre y mucus para alimentarse durante el desarrollo y maduración de los huevos. En otras especies del género *Lepeophtheirus*, como *L. pectoralis*, existen estudios previos que también han detectado a las hembras ovígeras en zonas más protegidas, concretamente en las caras internas de las aletas pectorales y pélvicas de *P. platessa* (Boxshall, 1974b). En *L. salmonis* también se ha citado la existencia de una selección de hábitat, ya que los estadios adultos son más abundantes en la cabeza y en la superficie dorsal de *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792 y *Salmo salar* L. (Wootton *et al.*, 1982). Curiosamente, en el presente estudio, fueron encontrados muy pocos machos en la cavidad bucal (3,8 % para machos adultos; 1,9 % para segundos machos preadultos y 0,9 % para el único primer macho preadulto), y ninguno en vigilia de pareja, lo que parece indicar que la fecundación sucede básicamente en la piel, antes de entrar en la boca.

-Sex ratio y vigilia de pareja (*mate guarding*)

La sex ratio es próxima a la unidad en todos los muestreos. En otras especies del género *Lepeophtheirus*, el momento en que la sex ratio es cercana a la unidad coincide con la estación de apareamiento de los copépodos (Boxshall, 1974b). Esta observación corrobora la suposición de que los muestreos se realizaron dentro de la época de reproducción. La proporción de juveniles/adultos en piel (419/1017) y en cavidad bucal (3/580 adultos) está claramente sesgada hacia los adultos. Es evidente que el hábitat más adecuado para los juveniles es la piel y es allí donde se encuentran los machos adultos (855 en piel; 2 en cavidad bucal) por lo que, como ya se ha comentado, la cópula ocurriría en la piel y las hembras fecundadas migrarían hacia la cavidad bucal, donde se formarían los huevos.

El comportamiento de vigilia de pareja (*mate guarding*) es desarrollado por especímenes machos adultos de muchas especies de copépodos y consiste en que los machos sujetan a las hembras y a algunos estadios preadultos por un período más o menos extenso antes de

la transferencia de espermátóforos (Anstensrud, 1990; Boxshall, 1990). Este tipo de estrategia sucede en especies en las que la posibilidad de encuentro entre sexos es complicada. En el presente estudio se ha observado que una sexta parte de los machos adultos seguían esta estrategia para asegurar la fecundación de hembras. Los machos adultos sujetaban tan fuertemente a la pareja con las antenas que llegaban incluso a deformar los laterales de su cefalotórax. En *L. pectoralis* se había observado que los machos adultos sujetaban desde *chalimi* IV hasta la hembra adulta, siendo las segundas hembras preadultas el estadio más común para formar estas parejas (Boxshall, 1974b y 1990). En *L. salmonis*, los machos adultos se han citado en vigilia de pareja con primeras y segundas hembras preadultas (Ritchie *et al.*, 1996). En el caso de *L. nordmanni* las parejas en vigilia se observaron con todos los estadios larvarios y de hembras predultas. De hecho, en este estudio se cita por primera vez a copepoditos y *chalimi* I, II y III, los estadios más tempranos observados en vigilia de pareja en especies de este género. Las parejas más frecuentes eran aquellas formadas con *chalimi* I (24,5 %) y las menos frecuentes las de *chalimi* II (7,1 %). Los copépodos, y muchos otros crustáceos (como los isópodos), suelen ser hermafroditas durante el desarrollo, determinando el sexo en fases más tardías (Reinhard, 1949; Charniaux-Cotton *et al.*, 1983). En el caso de *L. nordmanni* no se sabe si los copepoditos y el resto de larvas en vigilia tienen el sexo determinado previamente, o si la vigilia de pareja determina qué sexo van a tener. De todas formas, resulta interesante el hecho de que, si se considera a todos los estadios larvarios en vigilia de pareja como hembras la *sex ratio* se acerca aún más a la unidad (1049 hembras y 964 machos). Además, existe una cierta diferencia morfológica entre los individuos capturados por la vigilia y los encontrados libres, ya que estos últimos suelen ser algo más grandes (ver Tabla 4.4.4.5). No fueron observadas parejas copuladoras formadas por machos adultos y hembras adultas (sí observadas en otras especies, ver Boxshall, 1990), lo que indica que en esta especie la vigilia termina justo después de que se produzca la cópula.

-Crecimiento de *Lepeophtheirus nordmanni*

Los estadios de desarrollo habían sido descritos previamente para 4 especies del género *Lepeophtheirus*: *L. dissimulatus* Wilson, 1905, *L. hospitalis* Fraser, 1920, *L. pectoralis* (Müller, 1776) y *L. salmonis* (Kroyer, 1837) (Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991). Los ciclos de vida más estudiados son los de *L. pectoralis* y

L. salmonis, al parasitar hospedadores de importancia económica (platija y salmónidos, respectivamente) (Scott, 1901; White, 1942; Boxshall, 1974a y b; Johannessen, 1975; Brandal *et al.*, 1976; Wootten *et al.*, 1982; Johnson y Albright, 1991).

Todas las fases parásitas de *L. nordmanni* han podido ser recolectadas y descritas a partir de los peces luna analizados: copepoditos, todos los estadios *chalimi* (del I al IV), machos y hembras preadultos (primeros y segundos) y machos y hembras adultas. Esta especie se ajustaría al patrón general de desarrollo descrito por Kabata (1972) desde el estadio copepodito hasta el adulto (los estadios *nauplii* no han sido encontrados, al ser las fases de vida libre). Las diferencias encontradas con los estadios de las otras especies descritas residen, principalmente, en el tamaño y la tasa de crecimiento. Las figuras 4.4.4.2 y 4.4.4.3 muestran el crecimiento de *L. nordmanni* en comparación con el de otras especies del mismo género, según los datos disponibles. Los individuos larvarios (de copepodito a *chalimi*) de *L. nordmanni* son, en general, más pequeños que los del resto de especies. Solamente, el tamaño de las larvas de *L. dissimulatus* es parecido al de *L. nordmanni*, llegando a ser el *chalimus* IV de esta especie incluso menor. Sin embargo, a partir de los preadultos, *L. nordmanni* es más grande que en las otras especies. Los adultos de esta especie son los de mayor tamaño y solo se asemejan a los de *L. salmonis*, siendo mucho más grandes que en el resto de especies (ver figs. 4.4.4.2A y 4.4.4.3A). El crecimiento de *L. nordmanni* es, por tanto, mucho más rápido que el del resto de especies, presentando una pendiente de crecimiento de 0,5 en el caso de las hembras y 0,4 en el caso de los machos (figs. 4.4.4.2B y 4.4.4.3B). En las otras especies, la pendiente de crecimiento se sitúa en torno a 0,3 para las hembras y 0,2 para los machos. El mayor tamaño de los estadios adultos podría explicarse por un “efecto hospedador”: en muchas ocasiones, se ha observado que los copépodos, y otros grupos parásitos, son mayores en hospedadores de mayor tamaño (Poulin, 1995; Van Damme *et al.*, 1993; Timi y Lanfranchi, 2006), y el pez luna es sin duda el más grande de los hospedadores de todas las especies estudiadas. Sin embargo, para llegar a ese tamaño, estos copépodos parten de copepoditos de tamaños menores. Se desconoce el tamaño de las primeras etapas (larvas *nauplii*, de vida libre), pero se puede predecir su tamaño a partir del tamaño de los huevos: los huevos de *L. nordmanni* (0,34 de diámetro, datos extraídos del material examinado en este estudio) son de tamaño similar a *L. salmonis* (0,30 de diámetro) y a *L. dissimulatus* (0,35 de diámetro), pero son algo más pequeños que los de *L. pectoralis* (0,43 de diámetro) y los de *L. hospitalis* (0,50 de diámetro) (Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Wootten *et*

al., 1982; Johnson y Albright, 1991). Puede suponerse, por tanto, que los *nauplii* de *L. nordmanni* deberían tener un tamaño similar a los de *L. salmonis* y a los de *L. dissimulatus*. Debido a que los copepoditos de *L. nordmanni* son notablemente menores que los del resto de especies, sus estadios libres, *nauplii* I y II (ver Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991) habrían de ser también menores. Este hecho podría explicarse porque los *nauplii* son estadios nadadores infectivos que, en el caso del pez luna, un pez claramente pelágico, han de mantenerse más tiempo en la columna de agua en alta mar para encontrar a los hospedadores, y tener un volumen menor para evitar hundirse es adaptativo entre las fases planctónicas. De hecho, el resto de hospedadores de especies del género *Lepeophtheirus* con desarrollo conocido son bentónicos (pleuronectiformes), bentopelágicos (acantúridos) o de aguas poco profundas (salmónidos, en fases fluviales), por lo que la flotación de los estadios infectivos no es tan determinante como en los parásitos del pez luna. Sería necesario, para comprobar esta hipótesis, comparar el desarrollo de *L. nordmanni* con el desarrollo de otras especies del género *Lepeophtheirus* de peces pelágicos de alta mar. A continuación se exponen las diferencias morfológicas más notables encontradas en cada fase de desarrollo con respecto al resto de descripciones (Lewis, 1963; Voth, 1971; Boxshall, 1974a y b; Johnson y Albright, 1991):

(1) En el copepodito de *L. nordmanni* *i*) no se han distinguido estetascos en la anténula (fig. 4.4.4.4B). Estas estructuras tampoco están presentes en *L. dissimulatus* pero *L. salmonis* y *L. pectoralis* sí que las presentan. *ii*) *Calamus* y *canna* de la maxila son de longitud similar (fig. 4.4.4.4G), no habiendo una diferencia de longitud tan marcada como en las otras especies descritas. *iii*) El maxilípodo presenta una uña relativamente más larga que en las otras especies (fig. 4.4.4.4H). *iv*) El primer y segundo apéndice presentan protópodos con coxa y base separadas, lo que también se ha descrito en *L. dissimulatus* (4.4.4.4.I y J). *v*) No se ha encontrado membrana en la seta larga del tercer apéndice, descrita en *L. salmonis* y en *L. pectoralis* (fig. 4.3.4.4K). En *L. dissimulatus* no hay ningún comentario descriptivo sobre esta seta. Este carácter, sin embargo no es fiable, ya que esta membrana es pequeña y delicada, por lo que su ausencia podría deberse a la condición de los ejemplares. *vi*) Las lamelas caudales presentan 2 de las 5 setas no pinnadas (fig. 4.4.4.4L), como en *L. hospitalis*. En el resto de especies todas estas setas están pinnadas.

(2) El *chalimus* I presenta *i*) dos abultamientos latero-dorsales hacia la parte posterior del cefalotórax (fig. 4.4.4.5A) que no se han descrito en ninguna de las otras especies. *ii*) El segundo segmento torácico no parece estar fusionado con el cefalotórax, como también sucede en *L. dissimulatus* y en *L. hospitalis*. En *L. pectoralis* y *L. salmonis* este segmento sí está fusionado al cefalotórax.

(3) El *chalimus* II no presenta membrana en la maxila (fig. 4.4.4.6F), coincidiendo con *L. dissimulatus* y *L. hospitalis*. No se han observado diferencias importantes en el resto de *chalimi*.

(4) A partir del primer preadulto de ambos sexos *i*) hay una proyección apuntada en la cara lateral externa en el segmento proximal de la anténula (figs. 4.4.4.11B, 4.4.4.14B y 4.4.4.16B) que está presente también en *L. hospitalis*. *ii*) En este estadio se observan crecimientos cuticulares a los lados de la furca (figs. 4.4.4.11H y 4.4.4.16H), característica no observada en las otras especies descritas. *iii*) El cuarto apéndice presenta una espina en el margen externo del exópodo que no se ha descrito en ninguna de las otras especies (figs. 4.4.4.13A y 4.4.4.17C).

(5) Los segundos preadultos de ambos sexos presentan *i*) una membrana en la base y en el exópodo del segundo apéndice, como se ha descrito en *L. pectoralis* (fig. 4.4.4.15B). *ii*) El segundo macho preadulto presenta el segmento torácico libre más grande que las otras especies (fig. 4.4.4.18A).

En general, las diferencias observadas con las fases de desarrollo de las otras especies conocidas del género *Lepeophtheirus* son muy sutiles, y en muchas ocasiones pueden depender de la condición del ejemplar. Por este motivo, la especie se puede distinguir claramente solo a partir de los primeros preadultos, ya que solo desde estas fases, podemos observar crecimientos cuticulares a ambos lados de la furca (figs. 4.4.4.11H y 4.4.4.16H), característica específica de la especie *L. nordmanni* (Kabata, 1979).

-Alimentación

Los tipos celulares sanguíneos encontrados dentro del cono bucal de *L. nordmanni* indican que son parásitos hematófagos. Estudios relacionados con la alimentación de otras especies del género *Lepeophtheirus* muestran diferentes resultados: En *L. pectoralis* se encontró que el principal elemento en su alimentación es el mucus (Scott, 1901). Sin embargo, Voth (1971) encontró mucus y algo de sangre en *L. hospitalis*. En el caso de *L.*

salmonis, White (1942) señaló que comían piel y tejidos subcutáneos pero, posteriormente, Johannessen (1975) observó sangre en el digestivo de hembras adultas, machos adultos y en estadios *chalimi*. En esta misma especie, Brandal *et al.* (1976) demostraron, utilizando métodos espectrofotométricos, que la sangre es el componente principal en el alimento de hembras ovígeras y en menor medida de machos adultos y de estadios *chalimi*. En *L. nordmani* se ha distinguido solamente sangre dentro del cono bucal de hembras ovígeras, machos adultos y estadios *chalimi* III, estos últimos en vigilia de pareja. Curiosamente, los machos que presentan comportamiento de vigilia de pareja presentan en muchas ocasiones su cono bucal tapado por la hembra a la que sujetan, por lo que de algún modo, tendrán que desplazarla, sin liberarla, para poder alimentarse.

El estudio de los calígidos, en general, es especialmente relevante ya que existen muchas especies que provocan importantes patologías en peces, llegando a producir mortandades importantes, principalmente en acuicultura (por ejemplo en salmónidos, Hull *et al.*, 1998; Pike y Wadsworth, 1999; Costello, 2006). Conocer el desarrollo y la morfología de los estadios del ciclo de vida de los calígidos es imprescindible para realizar un diagnóstico temprano adecuado de las especies presentes en unas instalaciones o en una población salvaje. Las diferentes especies de calígidos tienen una virulencia y especificidad diferente en cada hospedador, y, según la especie detectada, hay que tomar diferentes estrategias de tratamiento para poder evitar que los ciclos se cierren y que haya grandes cargas parásitas o transmisión a nuevos hospedadores de la misma o de otras especies de peces (ver Ritchie *et al.*, 1996; Hull *et al.*, 1998; Costello, 2006). En el caso del pez luna, estos datos pueden ser relevantes para tratar problemas patológicos asociados a esta especie durante su mantenimiento en cautividad.

4.4.5. ESTUDIO COMPARATIVO, MORFOLÓGICO Y MOLECULAR, DE DOS ESPECIES DEL GÉNERO *ACCACLADOCOELIUM* ODHNER, 1928 (TREMATODA: ACCACOELIIDAE): *A. NIGROFLAVUM* Y *A. MACROCOTYLE*

4.4.5.1. Introducción

Como se ha comentado anteriormente en el apartado 4.2, la familia Accacoeliidae Odhner, 1911 incluye especies de trematodos parásitos citadas habitualmente en el sistema digestivo de los peces luna (Bray y Gibson, 1977; Gibson, 2002). Dentro de esta familia, el género *Accacladocoelium* Odhner, 1928 cuenta con 4 especies: *A. alveolatum* Robinson, 1934; *A. macrocotyle* (Diesing, 1858) Robinson, 1934; *A. nigroflavum* (Rudolphi, 1819) Robinson, 1934 y *A. petasiporum* Odhner, 1928. *A. alveolatum* y *A. petasiporum* son fácilmente distinguibles debido, principalmente, a la presencia de rasgos morfológicos específicos exclusivos (Bray y Gibson, 1977): extensiones papilares en el extremo final del cuerpo en *A. alveolatum* y alas musculares laterales en la ventosa ventral en *A. petasiporum*. Sin embargo, *A. macrocotyle* y *A. nigroflavum* son muy similares y su única diferencia reside en la extensión de las glándulas vitelógenas a lo largo del eje longitudinal (Bray y Gibson, 1977).

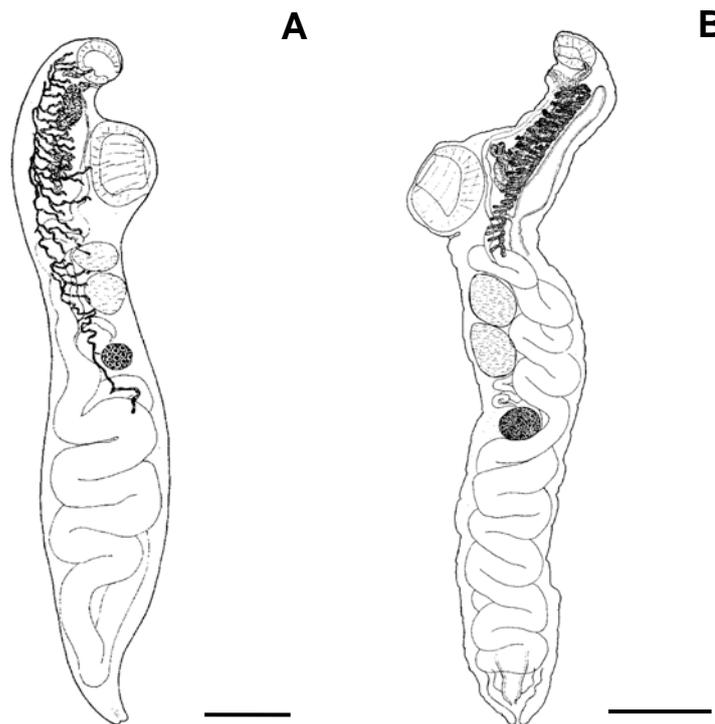


Figura 4.4.5.1. Dibujos de *Accacladocoelium macrocotyle* (A) y *A. nigroflavum* (B) de pez luna, *Mola mola*, donde se aprecia su parecido morfológico. Escalas: 2 mm, en A; y 1 mm, en B. (Extraídos de Bray y Gibson, 1977).

Durante el examen parasitológico de los peces luna analizados en la presente tesis doctoral han sido hallados ejemplares asignables a tres de las cuatro especies del género: *A. macrocotyle*, *A. nigroflavum* y *A. petasiporum*. Las dos primeras especies se encontraron abundantemente tanto en los peces luna analizados de La Azohía (Cartagena), como en el pez luna varado en Almazora (Castellón) (ver Tablas 4.2.1 y 4.2.2), lo que ha permitido tener acceso a una gran cantidad de ejemplares. El examen de estos ejemplares mostró que la diferenciación de estas especies según la extensión de las glándulas vitelógenas resultaba bastante confusa, y que su disposición podría verse afectada por el grado de contracción de los ejemplares. El objetivo del presente apartado es verificar la validez de estas dos especies realizando un estudio morfológico y molecular comparativo detallado de ejemplares de *A. macrocotyle* y *A. nigroflavum*.

4.4.5.2. Material y métodos específicos

-Análisis morfológico

Los especímenes habían sido preservados en etanol 70 %. Diez ejemplares de cuerpo relajado de cada especie fueron teñidos con carmín férrico y montados en bálsamo de Canadá. En todos los casos se comprobó que los ejemplares cumplían las características diagnósticas de las especies y se tomaron las medidas indicadas en la Tabla 4.4.5.1 según la metodología explicada en *Material y métodos generales*. Las medidas fueron elegidas en base a las tablas y textos sobre la taxonomía del género *Accacladocoelium* incluidos en Bray y Gibson (1977).

-Análisis molecular

Se utilizaron 8 ejemplares de cada especie que fueron fijados en etanol 70 % y que fueron transferidos a 300 µl de tampón de extracción TNES urea [10 mM de Tris-HCl (pH 8), 125 mM de NaCl, 10 mM de ácido etilendiaminotetra acético (EDTA), 0,5 % de dodecilsulfato sódico (SDS), 4 M de urea] (Asahida *et al.*, 1996). No existen estudios genéticos previos sobre las diferencias intraespecíficas dentro la familia Accacoeliidae Odhner, 1911 y las únicas especies secuenciadas disponibles en el GenBank® son *Accacoelium contortum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 y *Paraccacladium jamiesoni* Bray & Gibson, 1977 (Blair *et al.*, 1998; Cribb *et al.*, 2001; Littlewood y Olson, 2001; Olson *et al.*, 2003), por este motivo en el presente estudio se han elegido marcadores moleculares

utilizados para estudiar diferencias intraespecíficas en otros trematodos de la superfamilia Hemiuroidea (p. ej., Didymozoidae): ITS2 y CO1 (Anderson y Baker, 1998; Nolan y Cribb, 2005; Vilas *et al.*, 2005). El ADN genómico (ADNg) fue extraído mediante el protocolo de fenol-cloroformo descrito en Holzer *et al.* (2004). Se amplificó parcialmente la región espaciadora interna ITS2 usando los cebadores 3S (5´ GTA CCG GTG GAT CAC GTG GCT AGT G-3´) e ITS22 (5´-CCT GGT TAG TTT CTT TTC CTC CGC-3´) (Blasco-Costa *et al.*, 2010). De igual forma se amplificó el gen mitocondrial codificante para citocromo oxidasa 1 (CO1) con los cebadores JB3 (5´- TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3´) y JB45 (5´-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3´) (Razo-Mendivil *et al.*, 2008). Mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificó cada región en un volumen final de 30 µl, que contenía 0,5 unidades de la enzima polimerasa Thermoprime Plus DNA, tampón a 10X con 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM de cada nucleótido, 0,5 µM de cada cebador y 100 ng de ADNg. El protocolo de PCR para el gen ribosómico consistió en una desnaturalización a 95 °C, 3 minutos, seguida de 35 ciclos de amplificación (94 °C, 50 segundos; 54 °C, 50 segundos; 72 °C, 1 minuto y 20 segundos) y una extensión final a 72 °C, 4 minutos. Para el gen mitocondrial la reacción PCR que se llevo a cabo incluyó una desnaturalización a 94 °C, 5 minutos, seguida de 35 ciclos de amplificación (92 °C, 30 segundos; 45,6 °C, 45 segundos; 72 °C, 90 segundos) y una extensión final a 72 °C, 10 minutos. El producto de PCR fue purificado directamente utilizando el kit *GFX^{MR} PCR DNA and Gel Band* y se secuenciaron ambas cadenas. La reacción de secuenciación se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante en el secuenciador ABI 3730 de 48 capilares (Applied Biosystems), utilizando el Kit de Secuenciación *BIG Dye terminator v3.1 Ready Sequencing Kit* (Applied Biosystems), para ello se utilizaron los mismos cebadores que en la PCR. Las secuencias fueron ensambladas y editadas con el programa Bioedit 7.0.5.3 (©1997-2005, Hall, 1999) y alineadas con Clustal W (Thompson *et al.*, 1994). La matriz de identidad de secuencias, mostrando porcentajes de divergencia se obtuvo con el programa BioEdit.

4.4.5.3. Resultados

-Descripciones

A continuación se incluyen algunas observaciones morfológicas relevantes sobre los ejemplares recolectados en los peces luna analizados en la presente tesis doctoral. Los datos morfométricos de cada especie aparecen en la Tabla 4.4.5.1.

Accacladocoelium macrocotyle: basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Ventosa oral globular, ligeramente alargada y ventosa ventral elipsoidal, ligeramente achatada dorsoventralmente. Relación entre ventosas oral y ventral de 1:2, aproximadamente. Testículos elipsoidales. Relación entre anchura del cuerpo y diámetro máximo de los testículos 1:0,4–0,9, y entre anchura del cuerpo y diámetro mínimo de los testículos 1:0,2–0,6. Ovario subsférico, con relación entre anchura del cuerpo y diámetro máximo de 1:0,2–0,3. Glándulas vitelógenas tubulares, profusamente ramificadas desde la faringe hasta la zona postovárica (fig. 4.4.5.2A).

Tabla 4.4.5.1. Datos morfométricos de especímenes de *Accacladocoelium macrocotyle* y *A. nigroflavum* de los peces luna, *Mola mola*, analizados en el presente trabajo.

| | <i>Accacladocoelium macrocotyle</i> (n=10) | <i>Accacladocoelium nigroflavum</i> (n=10) |
|------------------------|---|---|
| Longitud | 3,6–13,1 (9,7±2,9) | 5,9–12,2 (9,8±1,8) |
| Anchura máxima | 0,7–2,5 (1,5±0,6) | 0,8–1,4 (1,1±0,2) |
| Ventosa oral | 0,3–1,1 (0,7±0,3) x 0,4–1,0 (0,6±0,2) | 0,2–0,7 (0,5±0,1) x 0,3–0,5 (0,4±0,1) |
| Ventosa ventral | 0,4–1,6 (1,1±0,4) x 0,5–1,4 (1,0±0,3) | 0,6–1,4 (0,8±0,2) x 0,6–1,2 (1,0±0,2) |
| Faringe | 0,3–0,8 (0,5±0,2) x 0,1–0,5 (0,2±0,2) | 0,3 x 0,1–0,2 (0,2±0,1) |
| Testículos | Testículo anterior: 0,4–1,0 (0,7±0,2) x 0,3–0,8 (0,5±0,2) | Testículo anterior: 0,6–1,2 (0,9±0,2) x 0,5–0,9 (0,7±0,1) |
| | Testículo posterior: 0,5–1,3 (0,7±0,2) x 0,3–0,9 (0,6±0,2) | Testículo posterior: 0,7–1,3 (0,9±0,2) x 0,5–0,9 (0,8±0,1) |
| Ovario | 0,2–0,7 (0,4±0,2) x 0,2–0,5 (0,3±0,1) | 0,5–1,0 (0,8±0,2) x 0,5–0,9 (0,6±0,2) |
| Huevos | 0,02–0,04 (0,03±0,01) x 0,01–0,02 (0,02±0,00) | 0,02–0,03 (0,03±0,00) x 0,02 |

Accacladocoelium nigroflavum: basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Ventosas orales y ventrales subsféricas. Relación entre ventosas oral y ventral de 1:2 aproximadamente. Testículos elipsoidales. Relación entre anchura del cuerpo y diámetro máximo de los testículos 1:0,5–1,3, y entre anchura del cuerpo y diámetro mínimo de los testículos 1:0,4–1,0. Ovario elipsoidal. Relación entre anchura del cuerpo y diámetro máximo del ovario 1:0,4–1,1, y entre anchura del cuerpo y anchura del ovario 1:0,4–0,9. Glándulas vitelógenas tubulares, con abundantes ramificaciones desde la faringe hasta la zona anterior del testículo anterior (fig. 4.4.5.2B y fig. 4.4.5.3A). Los conductos del vitelo continúan hasta zona postovárica, con algunas ramificaciones cortas (ver fig.4.4.5.2D).

-Consideraciones morfológicas

Los ejemplares estudiados presentan las características descritas por Bray y Gibson (1977), aunque existen algunos rasgos morfológicos adicionales que conviene destacar. Las longitudes mínimas de los ejemplares de ambas especies son las menores obtenidas hasta la fecha (Monticelli, 1893; Linton, 1898 y 1940; Timon-David y Musso, 1971;

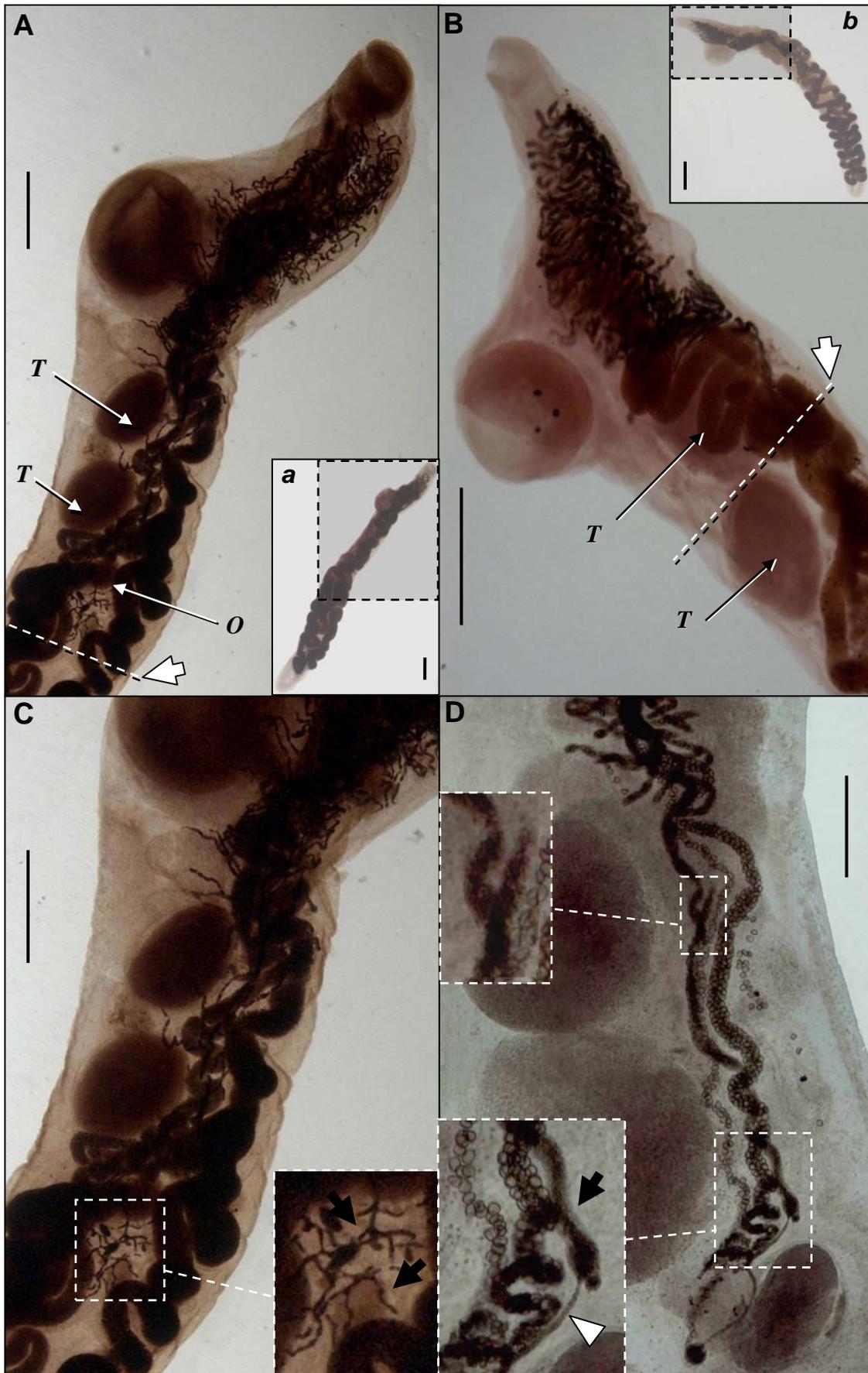


Figura 4.4.5.2. (pie de figura en página siguiente)

Figura 4.4.5.2. Disposición de las glándulas vitelógenas en *Accacladocoelium macrocotyle* y en *A. nigroflavum* de pez luna, *Mola mola*. A y B, región anterior de *A. macrocotyle* y en *A. nigroflavum*, respectivamente (las líneas discontinuas blancas y las flechas blancas indican la zona hasta donde llegan las glándulas vitelógenas en cada especie). Se incluyen miniaturas (a y b) de los ejemplares completos con rectángulos en línea discontinua que indican la regiones fotografiadas en A y B. C y D, detalles de la ramificación de las glándulas vitelógenas en *A. macrocotyle* y en *A. nigroflavum*, respectivamente. Los recuadros en línea discontinua muestran detalles de las ramificaciones proximales (flechas negras), largas y profusas en *A. macrocotyle* y cortas en *A. nigroflavum*. El viteloducto de *A. nigroflavum* está señalado con una punta de flecha blanca. Todos los ejemplares en vista lateral. Abreviaturas: O, ovario; T, testículo. Escalas: 1 mm, en A-C y en a y b; y 0,5 mm, en D.

Bray y Gibson, 1977), a pesar de tratarse de ejemplares grávidos. Además, existen algunas diferencias más o menos marcadas en las dimensiones de algunos órganos. La ventosa ventral parece ser algo más achatada (mayor anchura) en *A. macrocotyle* que en *A. nigroflavum*. Las gónadas de *A. macrocotyle* son, en general, algo más pequeñas que las de *A. nigroflavum*. Sin embargo, todas las medidas se solapan excepto en el caso de del ovario, cuyo diámetro mínimo y medidas relativas son menores en *A. macrocotyle*. Además, el ovario de *A. macrocotyle* tiene una morfología más redondeada, mientras que el de *A. nigroflavum* es más alargado. Sin embargo, este tipo de diferencias han de ser contempladas con cautela, ya que pueden variar con el grado de desarrollo gonadal de los individuos. Resulta mucho más definitoria la diferencia entre la disposición de las glándulas vitelógenas, ya utilizada por Bray y Gibson (1977) como carácter diagnóstico de especie. Según estos autores, las glándulas vitelógenas solo alcanzan la zona postovárica en *A. macrocotyle*, limitándose a la zona pretesticular en *A. nigroflavum*. Sin embargo, a pesar de que las glándulas vitelógenas de *A. macrocotyle* presentan ramificaciones más profusas que se extienden por toda su longitud hasta la zona postovárica, las vitelógenas de *A. nigroflavum* también parecen llegar hasta esta zona, presentando algunas ramificaciones cortas más dispersas (fig. 4.4.5.2D).

-Estudios moleculares

Se aisló el ITS2 en 2 individuos identificados como *A. macrocotyle* (con una longitud de 582 pb y 584 pb) y en 3 individuos identificados como *A. nigroflavum* (562 pb, 573 pb y 586 pb) y, para estos mismos individuos, se aisló el gen mitocondrial codificante para citocromo oxidasa 1 (CO1) en *A. macrocotyle* (446 pb y 449 pb) y en *A. nigroflavum* (446 pb, 447 pb y 449 pb). La matriz de identidad de secuencias para las dos especies de

estudio mostró porcentajes de divergencia entre 2 % y 3,2 % para ITS2 y entre 9,6 % y 10,6 % para CO1 (Tabla 4.4.5.2).

Tabla 4.4.5.2. Matriz de identidad de secuencias para la región espaciadora interna, ITS2, y citocromo oxidasa, CO1, de dos individuos de *Accacladocoelium macrocotyle* y tres individuos de *A. nigroflavum* de pez luna, *Mola mola*. Se muestran los porcentajes de diferencia entre las muestras. Abreviaturas: Ind., individuo.

| | ITS2 | | | | |
|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 1) | <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 2) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 1) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 2) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 3) |
| <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 1) | - | 0,8 | 2 | 2,2 | 2,5 |
| <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 2) | - | - | 2,7 | 2,9 | 3,2 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 1) | - | - | - | 0,9 | 1,3 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 2) | - | - | - | - | 1,5 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 3) | - | - | - | - | - |
| | CO1 | | | | |
| | <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 1) | <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 2) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 1) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 2) | <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 3) |
| <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 1) | - | 1,6 | 10,3 | 10,6 | 10,1 |
| <i>A. macrocotyle</i> (Ind. 2) | - | - | 9,6 | 10,3 | 9,9 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 1) | - | - | - | 0,9 | 0,5 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 2) | - | - | - | - | 0,9 |
| <i>A. nigroflavum</i> (Ind. 3) | - | - | - | - | - |

4.4.5.4. Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio reflejan la notable similitud morfológica que existe entre *Accacladocoelium macrocotyle* y *A. nigroflavum*, lo que puede provocar confusiones en su identificación, especialmente a nivel macroscópico. Las similitudes que presentan ambas especies ya fueron destacadas anteriormente por otros autores como Timon-David y Musso (1971) y, de hecho, la única diferencia entre *A. macrocotyle* y *A. nigroflavum* aparecida en las descripciones y la clave de las especies del género *Accacladocoelium* realizadas por Bray y Gibson (1977) es la diferente extensión de las glándulas vitelógenas. Sin embargo, esta diferenciación entre las dos especies puede llegar a ser confusa, ya que, según las observaciones realizadas en el presente estudio, las glándulas vitelógenas de ambas especies parecen llegar a la misma región (zona postovárica). Por este motivo, y para evitar confusiones, convendría cambiar la descripción específica de *A. nigroflavum*, indicando que las glándulas vitelógenas alcanzan la región postovárica presentando algunas pequeñas ramificaciones poco numerosas a partir de la zona anterior del testículo anterior. De esta forma, la diferencia principal entre ambas especies sería realmente la mayor o menor ramificación de las glándulas vitelógenas desde la zona pretesticular. En muchos ejemplares, las

glándulas vitelógenas pueden quedar ocultas por la gran cantidad de huevos del útero. Por este motivo conviene tener en cuenta a las otras diferencias indicadas en este estudio, las diferentes dimensiones de ventosa oral y del ovario que, aunque son menos concluyentes, pueden reforzar la identificación.

A pesar de haber podido encontrar algunas diferencias entre ambas especies, sigue siendo evidente la gran similitud entre ellas. Además, la extensión de las glándulas vitelógenas podría verse afectada por el grado de contracción de los ejemplares (ver caso similar en apartado 4.4.1 sobre *Accacoelium contortum*). Por estos motivos, la diferente identidad de ambas especies parecería dudosa. Sin embargo, los estudios moleculares parecen confirmar la identidad específica de ambos morfotipos. Tanto para el caso de los trematodos hemiuroideos, como para trematodos en general, se considera que con un 5 % de divergencia en los genes mitocondriales y alrededor de 1 % en los espaciadores internos, ITS, se puede establecer que las especies estudiadas son diferentes (Vilas *et al.*, 2005). Nolan y Cribb (2005) hacen una recopilación de diversos trabajos donde se discriminan varias especies de digeneos, y postulan que en algunos hemiuroideos, como los didimozoidos, individuos con una divergencia en el ITS2 de entre 0,5 % y 8,0 %, se pueden considerar especies diferentes. Las divergencias observadas en el presente estudio entran dentro de estos rangos, siendo siempre más elevadas en las comparaciones “interespecíficas” que en las “intraespecíficas”, por lo que, a pesar de las tenues diferencias a nivel morfológico, *A. macrocotyle* y *A. nigroflavum* deberían continuar considerándose como especies diferentes. En el futuro, para tratar de establecer porcentajes de divergencia específicos para este grupo, se pretende secuenciar al resto de especies de la familia Accacoeliidae obtenidas en el presente estudio.

4.5. PRIMEROS HALLAZGOS DE ESPECIES PARÁSITAS

Filo Acanthocephala Kollhreuther, 1771

Clase Palaeacanthocephala Meyer, 1931

Familia Polymorphydae Meyer, 1931

Género *Bolbosoma* Porta, 1908

***Bolbosoma capitatum* Linstow, 1880 (Cistacanto)**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 1 ejemplar enquistado en la pared del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.5.1)

Basado en 1 espécimen cistacanto montado en preparación temporal de glicerina, 7,8 x 0,5 (fig. 4.5.1A). Cuello de 0,9 x 0,4, con unas 20 filas longitudinales de ganchos cónicos, rodeado por un abultamiento o bulbo. La longitud de los ganchos del cuello es de 0,02–0,03 (0,02±0,00) (fig. 4.5.1B). Probóscide de 0,6 x 0,4, con 14 filas longitudinales de 8–9 ganchos curvados en cada una. Longitud de los ganchos de la probóscide de 0,1 (0,1±0,0) (fig. 4.5.1C). Ganchos anteriores de la probóscide más robustos y curvados que los posteriores, más afilados y rectos.

Observaciones

A pesar de que las descripciones de esta especie se basan en ejemplares adultos, el cistacanto es una fase juvenil muy similar al adulto, por lo que la identificación se ha podido basar en los rasgos característicos de los adultos. La presencia del bulbo en el

cuello, característica de género (Machado Fihlo, 1964), y el número de filas longitudinales de ganchos de la probóscide, así como el de ganchos por fila, coincide con las descripciones de *Bolbosoma capitatum* (Edmonds, 1957; Machado Fihlo, 1964; Hoberg *et al.*, 1993). En estadio adulto esta especie ha sido citada en los cetáceos *Physeter macrocephalus* L., *Globicephala macrorhynchus* (Gray, 1846), *G. melas* Traill, 1809, *Steno bredanensis* Cuvier, 1823 y *Pseudorca crassidens* Owen, 1846 (Hoberg *et al.*, 1993; Gibson *et al.*, 2005). Los estadios juveniles se encuentran en peces de las familias Scombridae, Scorpaenidae, Carangidae, Trichiuridae, Gempylidae, Salmonidae, Berycidae, Lophotidae, Gadidae y Belonidae (Measures, 1992). Ésta es la primera cita de *B. capitatum* en una especie de la familia Molidae.

Solo se recolectó un espécimen cistacanto en uno de los peces analizados del primer muestreo (año 2005), por lo que parece tratarse de una parasitación accidental.



Figura 4.5.1. *Bolbosoma capitatum*, cistacanto, enquistado en la pared del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen entero; B, detalle de los ganchos del cuello; C, detalle de los ganchos de la probóscide. Escalas: 1 mm, en A.; 0,05 mm, en B; y 0,1 mm, en C.

Filo Nematoda Rudolphi, 1808

Clase Secernentea Von Linstow, 1905

Familia Cystidicolidae Skrjabin, 1946

Género *Ascarophis* van Beneden, 1871

***Ascarophis* sp. (Larva 3)**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 1 ejemplar enquistado en la pared del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.5.2)

Basado en una larva 3 montada en preparación temporal de glicerina. Cuerpo filiforme 1,7 x 0,1 (fig. 4.5.2A). Sin dientes en la abertura oral. Pseudolabios estrechos, con una protuberancia cuticular cónica anterior (fig. 4.5.2B). Labios submedianos presentes. Cutícula ornamentada con bandas de anillos transversales. Vestíbulo alargado y bien esclerotizado. Cola apuntada, inclinada dorsalmente (4.5.2C).

Observaciones

Las características observadas coinciden claramente con las de las larvas 3 del género *Ascarophis* van Beneden, 1871 (Ko, 1986; Petter y Radujkovic, 1989), sin embargo el ejemplar no ha podido ser identificado hasta el nivel especie ya que las larvas son complicadas de clasificar (Petter y Radujkovic, 1989) y, además, se trataba de un ejemplar algo degradado. Existen citadas más de 30 especies pertenecientes al género *Ascarophis*, específicas de especies de teleósteos de todo el mundo (Ferrer *et al.*, 2005).

Solo se recolectó un espécimen en uno de los peces analizados del primer muestreo (año 2005). Dada la baja prevalencia (0,9 %) de este nematodo parásito en el pez luna parece tratarse de un hospedador accidental.



Figura 4.5.2. *Ascarophis* sp., larva 3, enquistada en la pared del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen entero; B, detalle de la parte anterior; C, detalle de la parte posterior. La flecha blanca señala una de las protuberancias cuticulares sobre un pseudolabio. Escalas: 0,2 mm, en A; y 0,1 mm, en B y C.

Familia Anisakidae Skrjabin et Karokhin, 1945**Género *Anisakis* Dujardin, 1845*****Anisakis* sp. Tipo I, *sensu* Berland, 1961 (Larva 3)**

P.= 6,6 %

A.M.±D.T.= 0,1±0,2

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España) y Almazora (Castellón, España)

Material recolectado: 7 ejemplares enquistados en la pared del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.5.3)

Basado en 7 especímenes montados en preparaciones temporales de glicerina. Cuerpo alargado 5,0–11,4 (10,3±2,5) × 0,2–0,4 (0,3±0,1) (fig. 4.5.3A). Cabeza con diente perforante anterior (fig. 4.5.3B). Cola redondeada, corta y con mucron terminal (fig. 4.5.3C). Ventrículo alargado, con unión al intestino oblicua (ver fig. 4.5.3A).

Observaciones

Los ejemplares encontrados cumplen las características morfológicas de las larvas 3 de *Anisakis* Tipo I (también llamado *Anisakis simplex sensu lato*, Nascetti *et al.*, 1986). Este morfotipo presenta un ventrículo alargado, acabado en oblicuo y una cola redondeada con mucron (Berland, 1961) y lo componen un complejo de especies que incluye poblaciones genéticamente diferentes como *A. simplex* (Rudolphi, 1809) *sensu stricto*, *A. pegreffii* Campana-Rouget & Biocca, 1955 o *A. ziphidarum* Paggi, Nascetti, Webb, Mattiucci, Cianchi & Bullini, 1988 (Mattiuci y Nascetti, 2008). *Anisakis* Tipo I larva 3 presenta una distribución muy amplia, incluyendo el Mediterráneo. Por su distribución, los ejemplares

encontrados podrían pertenecer a las especies *A. pegreffii*, *A. simplex* s.s. o *A. ziphidarum*, presentes en esta área geográfica (Mattiuci y Nascetti, 2008; Gibson *et al.*, 2005).

Existe una cita previa de *Anisakis* sp. en *M. mola* de Nueva Zelanda pero, no se aportó ningún dato morfológico sobre la especie (Hewitt y Hine, 1972). Por su localización geográfica se ha considerado que, esta cita de *Anisakis* sp., ha de pertenecer a una especie diferente a las del Mediterráneo. También en el presente estudio se ha recolectado un espécimen de *Anisakis* larva 3 Tipo II en un pez luna (ver en este mismo apartado). En total se han recolectado solo 8 ejemplares de las dos especies del género *Anisakis*, un



Figura 4.5.3. *Anisakis* sp. Tipo I, larva 3, enquistado en la pared del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen entero (la flecha señala el final oblicuo del ventrículo); B, detalle de la parte anterior (la flecha señala el diente perforante); C, detalle de la parte posterior (la flecha señala el mucron). Escalas: 1 mm, en A; 0,1 mm, en B y C.

número muy bajo, pero esperable para un animal escasamente piscívoro. Además, su presencia en el pez luna no sorprende ya que las larvas 3 de las especies del género *Anisakis* son muy inespecíficas, pudiéndose encontrar en paratenia en casi cualquier pez (óseo o cartilaginoso), así como en crustáceos y cefalópodos (Mattiuci y Nascetti, 2008).

***Anisakis* sp. Tipo II, *sensu* Berland, 1961 (Larva 3)**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 1 ejemplar enquistado en la pared del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.5.4)

Basado en 1 espécimen montado en preparación temporal de glicerina. Cuerpo alargado 10,0 x 0,2 (fig. 4.5.4A). Cabeza con diente perforante anterior. Extremo posterior del ejemplar ausente. Ventrículo corto, con unión al intestino horizontal (fig. 4.5.4B).

Observaciones

Al igual que sucedía con *Anisakis* Tipo I larva 3, el morfotipo de las larvas 3 de *Anisakis* Tipo II (o *A. physeteris sensu lato*, Berland, 1961) representa a un complejo de especies indistinguibles cuando son fases larvarias (incluye, entre otras especies, a *A. physeteris* (Baylis, 1923) *sensu stricto* o *A. paggiae* Mattiucci, Nascetti, Dailey, Webb, Barros, Cianchi & Bullini, 2005). Este morfotipo presenta un ventrículo corto, acabado en recto, típico de este tipo de larva (Berland, 1961). Desafortunadamente el extremo final del nematodo estaba fragmentado, con lo que la cola no pudo ser observada. Pero, aún así, la forma del ventrículo es suficiente para identificar el tipo de larva. Esta larva ha sido citada en diversas especies de invertebrados, peces y mamíferos marinos (en estos últimos como adulto) (Mattiucci y Nascetti, 2008; Gibson *et al.*, 2005).

Solo se recolectó un espécimen en un pez luna del segundo muestreo (año 2006), por lo que se trataría de una parasitación accidental, todavía menos frecuente que la de la otra especie del género encontrada, *Anisakis* Tipo I larva 3 (ya comentado anteriormente).



Figura 4.5.4. *Anisakis* sp. Tipo II, larva 3, enquistada en el mesenterio del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen completo (extremo final ausente); B, detalle del extremo posterior del ventrículo (flecha blanca). Escalas: 1 mm, en A; y 0,5 mm, en B.

Filo Arthropoda Latreille, 1829

Clase Maxillopoda Dahl, 1956

Familia Caligidae Burmeister, 1835

Género *Caligus* Müller, 1785

***Caligus bonito* Wilson, 1905**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 1 ejemplar de piel.

Descripción (fig.4.5.5)

Basado en 1 espécimen macho adulto, en preparación temporal de glicerina. 3,8 x 1,6 (fig. 4.5.5A). Cefalotórax (2,9 de longitud) con placas frontales bien desarrolladas y con lúnulas bien marcadas. Segmento genital de 0,7 x 0,5. Proceso postantenal bien desarrollado. Furca con dientes de extremos rectos. Cuarta seta del segmento proximal del exópodo del primer apéndice más larga que la segunda y la tercera. Segmento distal con tres largas setas en su margen posterior. Margen lateral del endópodo del segundo apéndice con un gran número de espinas pequeñas. Cuarto apéndice con cuatro segmentos y con 3 setas apicales en el segmento distal.

Observaciones

Las características del espécimen concuerdan con las descritas en Kabata (1979) para *C. bonito*, aunque con una longitud menor que la citada en bibliografía para los machos (5,5 en bibliografía y 3,8 en el ejemplar recolectado en el presente estudio). *C. bonito* ha sido

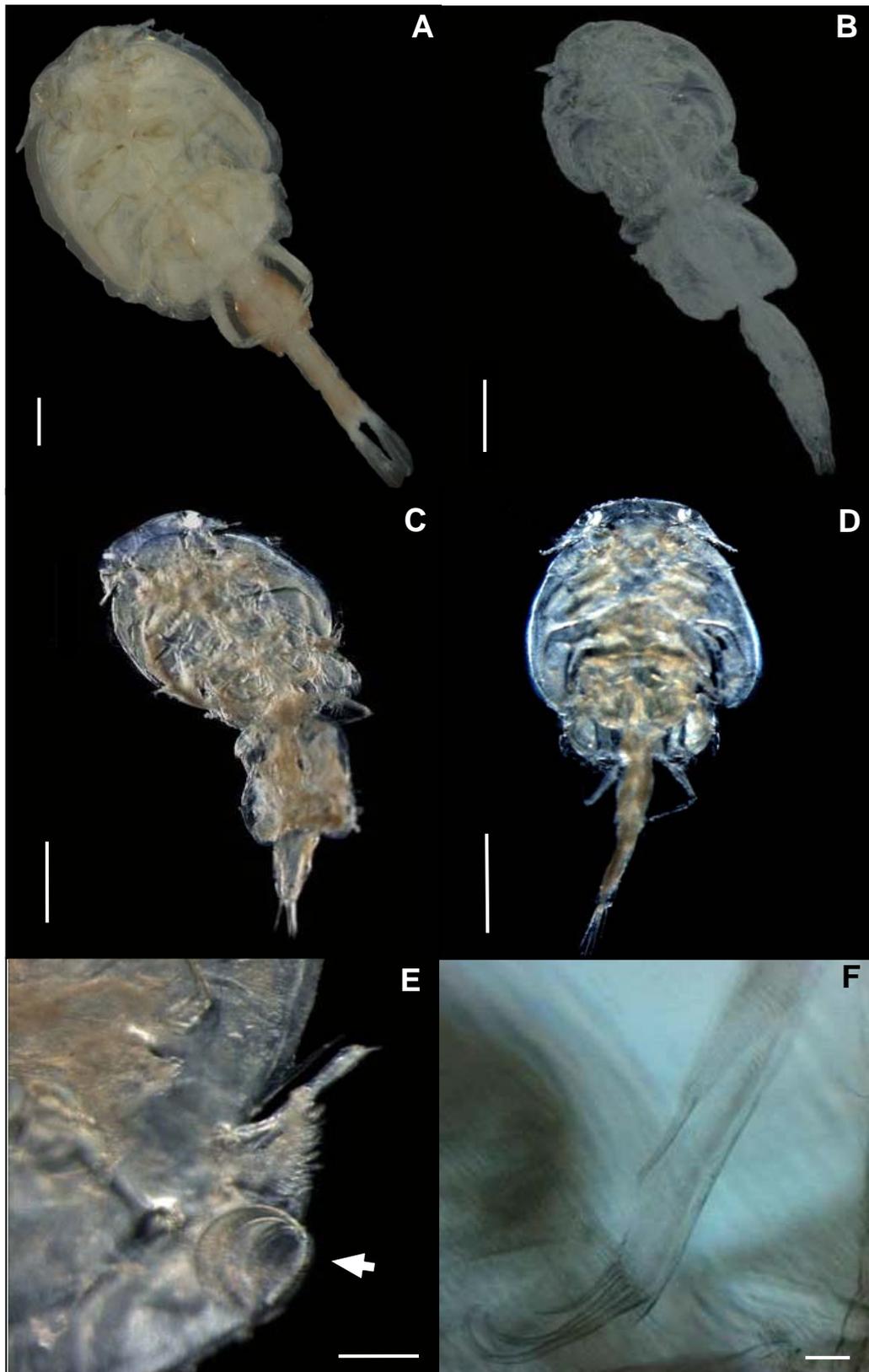


Figura 4.5.5. Especies de *Caligus* citadas por primera vez en pez luna, *Mola mola*. A, *Caligus bonito* macho adulto de piel en vista ventral; B, *Caligus pelamydis* hembra adulta de paladar en vista ventral; C, *Caligus* sp. hembra adulta de piel en vista ventral; D, *Caligus* sp. macho adulto de piel en vista ventral; E, detalle de la parte anterior del cefalotórax de la hembra de *Caligus* sp. La flecha blanca señala la lúnula; F, detalle del extremo distal del cuarto apéndice de la hembra de *Caligus* sp. Escala: 0,5 mm en A; 1 mm, en B-D; 0,2 mm, en E; y 0,1 mm, en F.

citado principalmente en peces pelágicos como escómbridos, *Sarda* spp. o *Euthynnus* spp., y también en *Mugil cephalus* L., *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) o en *Oligoplites saurus* (Bloch & Schneider, 1801) (Kabata, 1979).

Tan solo se ha recolectado un ejemplar de *C. bonito* en piel de un pez luna del tercer muestreo (año 2007) por lo que el pez luna parece un hospedador accidental.

***Caligus pelamydis* Krøyer, 1863**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 1 ejemplar de piel.

Descripción (fig. 4.5.5)

Basado en 1 espécimen de hembra adulta, sin sacos de huevos, en preparación temporal de glicerina. 3,4 x 1,2 (fig. 4.5.5B). Cefalotórax orbicular (1,8 de longitud). Lúnulas de pequeño tamaño. Segmento genital de 0,9 x 0,8. Proceso postantenal bien desarrollado. Furca con dientes curvados. Cuarta seta del segmento proximal del exópodo del primer apéndice tan larga como la segunda y la tercera. Cuarto apéndice de cuatro segmentos, con 3 setas apicales en el segmento distal.

Observaciones

Las características del espécimen concuerdan con las indicadas en Kabata (1979) para *C. pelamydis*. Esta especie ha sido citada principalmente en escómbridos como *Sarda sarda* (Bloch, 1793), *Euthynnus affinis* (Cantor, 1849) o *Scomber scombrus* L. También se ha citado en *Trachurus symmetricus* (Ayres, 1855), *Pogonias cromis* (Linnaeus, 1766) o *Brama brama* (Bonnaterre, 1788) (Kabata, 1979).

Tan solo se ha recolectado un ejemplar de *C. pelamydis* en el paladar de un pez luna del primer muestreo del segundo año (2006). Esta especie parece ser accidental en el pez luna.

***Caligus* sp.**

P.= 1,9 %

A.M.±D.T.= 0,0±0,1

I.M.±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 2 ejemplares de piel.

Descripción (fig. 4.5.5)

Basado en 2 especímenes adultos, macho y hembra (sin sacos ovígeros), montados en preparaciones temporales de glicerina. Especímen hembra de 5,9 x 2,3 (fig. 4.5.5C). Cefalotórax de 2,4 de longitud, ovalado. Segmento genital de 1,5 x 1,1. Especímen macho de 4,7 x 2,3 (fig. 4.5.5D). Cefalotórax de 2,9 de longitud. Segmento genital de 0,7 x 0,4. Ambos sexos con suturas dorsales en forma de “H” sobre el cefalotórax. Lúnulas de gran tamaño (fig. 4.5.5E). Cuarto apéndice de tres segmentos con 3 setas apicales de diferente longitud en el segmento distal: la externa es la más larga, con peine (*pecten*) muy largo y apuntado; la media es un poco más corta que la anterior; y la interna es, aproximadamente, la mitad de larga que la primera seta (fig. 4.5.5F).

Observaciones

Estos ejemplares no han podido clasificarse hasta nivel de especie debido al escaso número de especímenes recolectados en mal estado de conservación. Sin embargo, su aspecto no se ajusta a las descripciones existentes. Esta especie, es parecida a *C. brevicaudatus* A. Scott, 1901 pero el abdomen es más largo (más de ½ de longitud del segmento genital en *Caligus* sp. y ¼ para *C. brevicaudatus*) y el cuarto apéndice es más estilizado.

Solo se encontraron dos ejemplares, macho y hembra, en dos peces luna diferentes, uno del segundo (año 2006) y otro del tercer muestreo (año 2007) por lo que parece una parasitación accidental.

Clase Malacostraca Latreille, 1802

Familia Gnathiidae Harger, 1880

Género *Gnathia* Leach, 1814

***Gnathia* sp. (Larva praniza)**

P.= 9,4 %

A.M.±D.T.= 0,3±1,2

I.M.±D.T.= 3,1±2,8

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 31 ejemplares de piel.

Descripción (fig. 4.5.6)

Basado en 10 especímenes larva praniza montados en preparaciones temporales de glicerina. Longitud total de 2,8–3,5 (3,0±0,2) (fig. 4.5.6A). Cuerpo con seis segmentos más el pleotelson. Anténulas más largas que las antenas (fig. 4.5.6B). Anténulas con la parte distal, flagelo, de 4 artejos: primero, tercero y cuarto pequeños y segundo más largo, y con 3 bastoncillos (*tiges*, en la literatura en francés) sensoriales distales. Antenas con pedúnculo de 4 artejos: el cuarto, mucho más largo que el tercero y con corona de setas distal (*soies*, en la literatura en francés). Flagelo de la antena de 7 artejos, corto, pero más largo que el cuarto artejo del pedúnculo. Mandíbulas con 12 dientes. Gnatópodos ornamentados con escamas semilunares. Urópodos con endópodo más largo que exópodo (fig. 4.5.6C). Endópodo con 6 setas plumosas y 1 no plumosa, en el borde interno, y sin setas, en el borde externo. Exópodo con 4 setas plumosas en el borde interno y 6 setas plumosas en el borde externo con disposición 3+1+1+1.

Observaciones

Todos los ejemplares analizados son larvas pranizas. Las larvas son las fases parásitas de los isópodos gnátidos, ya que los adultos son de vida libre (Davies, 1981; Smit y Davies, 2004). Los ejemplares analizados en la presente tesis doctoral son muy similares a las pranizas de *G. maxillaris* (Montagu, 1804) en *i*) la longitud de las anténulas respecto a la de las antenas, *ii*) el número de dientes en la mandíbula y *iii*) la distribución de las setas plumosas de los urópodos (Monod, 1926; Davies, 1981). Sin embargo no se ha identificado como *G. maxillaris* ya que las dimensiones no corresponden con las de *G. maxillaris* y la clasificación específica de las larvas praniza de la familia Gnathiidae resulta muy complicada por el gran parecido de las fases larvarias entre sí (Smit y Davies, 2004).

Se han recolectado ejemplares de *Gnathia* sp. durante todos los años de muestreo, aunque en el primer muestreo (año 2005) se recolectó a la mayoría de los especímenes (23 de los 31 totales). La presencia de estos isópodos en los análisis parasitológicos depende mucho



Figura 4.5.6. *Gnathia* sp. de piel de pez luna, *Mola mola*. A, espécimen en vista lateral; B, detalle de la anténula (cabeza de flecha blanca) y de la antena (cabeza de flecha negra); C, endópodo (cabeza de flecha negra) y exópodo (cabeza de flecha blanca) de un urópodo. Escalas: 0,5 mm, en A; 0,1 mm, en B; y 50 μ m, en C.

del manejo en la recolección en la almadraba de los peces del estudio, ya que estos parásitos se desprenden muy fácilmente. Por este motivo, la frecuencia real de este parásito en el pez luna es probablemente mucho mayor que la registrada. Estos parásitos presentan una distribución litoral y son muy inespecíficos, estando citados en un gran número de teleósteos y elasmobranquios (Davies, 1981).

4.6. ESPECIES PARÁSITAS PREVIAMENTE CITADAS

Filo Plathyelminthes Gegenbaur, 1859

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Familia Accacoliidae Odhner, 1911

Género *Accacladium* Odhner, 1928

***Accacladium serpentulum* Odhner, 1928**

P.= 16,0 %

A.M.±D.T.= 0,9±6,5

I.M.±D.T.= 5,7±15,9

Localidad: La Azohía (Cartagena, España) y Almazora (Castellón, España)

Material recolectado: 98 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.1)

Basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Cuerpo alargado 22,3–43,8 (36,6±7,3) x 1,1–2,3 (2,0±0,4) (fig. 4.6.1A). Superficie corporal lisa. Ventosas subglobulares: oral de 0,7–1,2 (0,9±0,2) x 0,7–1,3 (1,1±0,2) y ventral de 1,1–1,8 (1,5±0,3) x 1,4–2,2 (1,9±0,4). Ventosa ventral ubicada sobre un pedúnculo y con alas musculares laterales (fig. 4.6.1B). Vesícula excretora en forma de “Y”. *Pars prostatica* bien desarrollada. *Sinus-sac* rodeando la base del atrio genital y *sinus-organ* corto y cilíndrico. Cirro bien desarrollado (1,5 x 0,9). Dos testículos separados, ovalados y alargados en la región media del cuerpo: testículo anterior 1,9–2,8 (2,2±0,4) x 1,0–1,5 (1,2±0,2) y testículo posterior 1,7–2,3 (1,9±0,3) x 1,0–1,3 (1,1±0,1). Ovario postesticular y subsférico. Glándula de Mehlis preovárica. Canal de Laurer presente. Glándulas vitelógenas tubulares ramificadas, situadas entre ventosa ventral y ovario.

Observaciones

Los ejemplares presentan la morfología descrita en Bray y Gibson (1977). Sin embargo, ni estos autores, ni la descripción original de Odhner (1928), describen la presencia de alas musculares laterales en las ventosas ventrales. La importancia de esta observación reside en que estas estructuras están presentes en especies de otros géneros de la familia Accacoeliidae (*Accacladocoelium* Odhner, 1928 y *Odhnerium* Yamaguti, 1934) y se han utilizado como carácter diagnóstico genérico (ver clave de géneros en Bray y Gibson, 1977). Por este motivo, y para evitar confusiones e identificaciones erróneas, conviene enmendar la descripción del género *Accacladium*, incluyendo este carácter:

-Diagnosi corregida del género *Accacladium*

Concuerda con la descripción original de Odhner (1928) y la descripción de Bray y Gibson (1977) salvo en que la ventosa ventral puede estar flanqueada por dos alas musculares laterales.

Se han recolectado ejemplares de *A. serpentulum* durante todos los años de muestreo. Es importante resaltar que la gran mayoría de los ejemplares se recogieron en el pez luna varado en Almazora (68).



Figura 4.6.1. *Accacladium serpentulum* de digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen completo; B, parte anterior del parásito. La flecha blanca señala las alas musculares laterales de la ventosa ventral. Escalas: 1 cm, en A; y 2 mm, en B.

Género *Accacladocoelium* Odhner, 1928

***Accacladocoelium macrocotyle* (Diesing, 1858) Robinson, 1934**

P.=19,8 %

A.M.±D.T.= 12,5±66,2

I.M.±D.T.= 63,3±140,2

Localidad: La Azohía (Cartagena, España), Almazora (Castellón, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 1329 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción

Ver apartado 4.4.5, incluyendo comparación con especies congénéricas.

***Accacladocoelium nigroflavum* (Rudolphi, 1819) Robinson, 1934**

P.= 82,1 %

A.M.±D.T.= 13,2±32,9

I.M.±D.T.= 16,1±35,7

Localidad: La Azohía (Cartagena, España), Almazora (Castellón, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 1400 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción

Ver apartado 4.4.5, incluyendo comparación con especies congénéricas.

***Accacladocoelium petasiporum* Odhner, 1928**

P.= 57,5 %

A.M.±D.T.= 8,2±28,4

I.M.±D.T.= 14,3±36,4

Localidad: La Azohía (Cartagena, España) y Almazora (Castellón, España)

Material recolectado: 871 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.2)

(Ver también apartado 4.4.5, incluyendo comparación con especies congénéricas).

Basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Cuerpo alargado 3,9–9,2 (5,2±1,7) x 0,5–1,4 (0,8±0,3) (fig. 4.6.2A). Superficie corporal lisa. Ventosa oral globular, 0,3–0,4 (0,3±0,1) de diámetro, y ventral, más grande y cupular, de 0,6–1,5 (0,8±0,3) x 0,5–1,0 (0,7±0,2) sobre pedúnculo corto y con alas musculares laterales (fig. 4.6.2B). Vesícula excretora en forma de “Y”. *Pars prostatica* tubular. *Sinus-organ* en un pequeño atrio genital. Testículos en la mitad anterior de la parte posterior del cuerpo: testículo anterior 0,3–0,9 (0,5±0,2) x 0,3–0,5 (0,4±0,1); testículo posterior 0,4–0,6 (0,6±0,2) x 0,3–0,6 (0,5±0,2). Ovario postesticular y subesférico, 0,5–0,2 (0,3±0,2) de diámetro. Glándula de Mehlis entre ovario y testículos. Canal de Laurer presente. Glándulas vitelógenas tubulares localizadas en la zona anterior del cuerpo conectadas por un largo viteloducto que llega hasta la glándula de Mehlis.

Observaciones

Las medidas de los especímenes y las características taxonómicas concuerdan con estudios previos de esta especie parásita (Thulin, 1973; Bray y Gibson, 1977). Algunos de los individuos analizados en el presente estudio muestran las longitudes mínimas más pequeñas descritas hasta la fecha (3,9 mm), comparadas con las longitudes mínimas de la bibliografía previa: 10,4 mm en Thullin (1973) y 8,0 mm en Bray y Gibson (1977). Estos ejemplares pequeños son adultos maduros ya que presentaron el útero lleno de huevos.

Se han recolectado ejemplares de *A. petasiporum* durante todos los años de muestreo.

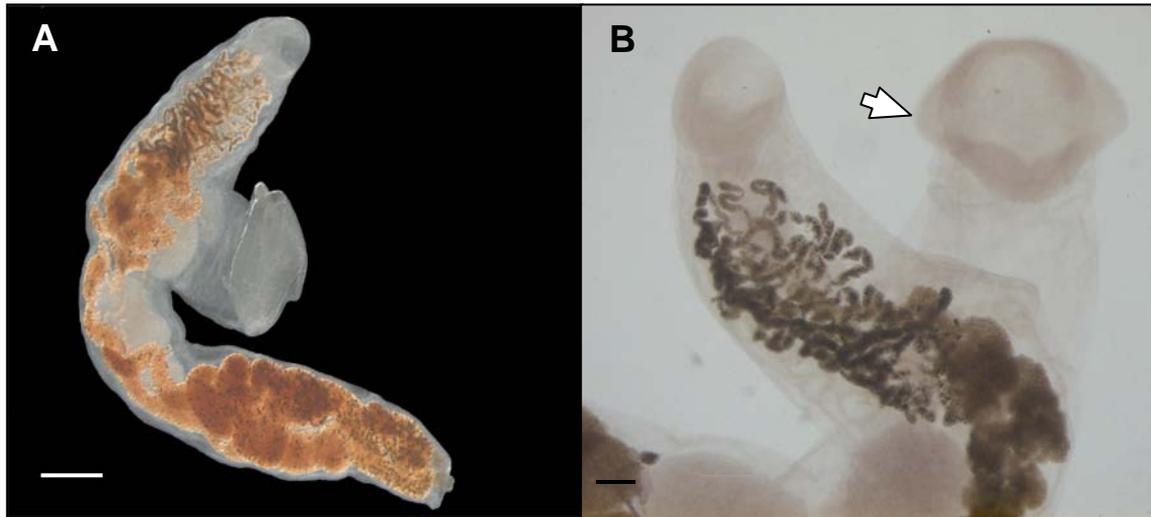


Figura. 4.6.2. *Accacladocoelium petasiporum* de digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral. A, espécimen completo; B, detalle de parte anterior de un espécimen. La flecha blanca señala las alas musculares laterales de la ventosa ventral. Escalas: 0,5 mm, en A; y 0,2 mm, en B.

Género *Odhnerium* Yamaguti, 1934

***Odhnerium calyptrocotyle* (Monticelli, 1893) Yamaguti, 1934**

P.= 42,5 %

A.M.±D.T.= 1,9±4,0

I.M.±D.T.= 4,5±5,2

Localidad: La Azohía (Cartagena, España) y Almazora (Castellón, España)

Material recolectado: 202 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.3)

Basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Cuerpo alargado, 11,8–17,9 (14,7±1,9) x 0,8–1,1 (0,9±0,1) (fig. 4.6.3A). Superficie corporal lisa, con unas almohadillas musculares en la parte antero-dorsal del cuerpo (fig. 4.6.3B). Ventosa oral subglobular de 0,5–0,8 (0,6±0,1) x 0,5–0,9 (0,7±0,1) y ventosa ventral de 1,3–2,1 (1,6±0,3) x 1,2–2,0 (1,6±0,2), con alas musculares laterales (fig. 4.6.3C). Vesícula excretora en forma de “Y”. *Pars prostatica* extendida hasta la mitad posterior de la ventosa ventral. *Sinus-sac* formado por una estrecha funda muscular poco desarrollada que rodea el atrio genital. Sin *Sinus-organ*. Testículos en la parte anterior del cuerpo: testículo anterior de 0,4–0,6 (0,9±0,1) x 0,4–0,6 (0,5±0,1) y testículo posterior de 0,7–1,0 (0,9±0,1) x 0,5–0,7 (0,6±0,1). Ovario postesticular y subsférico, 0,4–0,5 (0,5±0,1) de diámetro. Glándula de Mehlis preovárica. Canal de Laurer presente. Glándulas vitelógenas tubulares ramificadas, distribuidas en ambas partes del cuerpo, extendidas desde el nivel de la faringe hasta el ovario.

Observaciones

Las medidas de los especímenes y las características taxonómicas concuerdan con estudios previos de esta especie parásita (Yamaguti, 1934; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977).

Se han recolectado ejemplares de *O. calyptrocotyle* durante todos los años de muestreo.

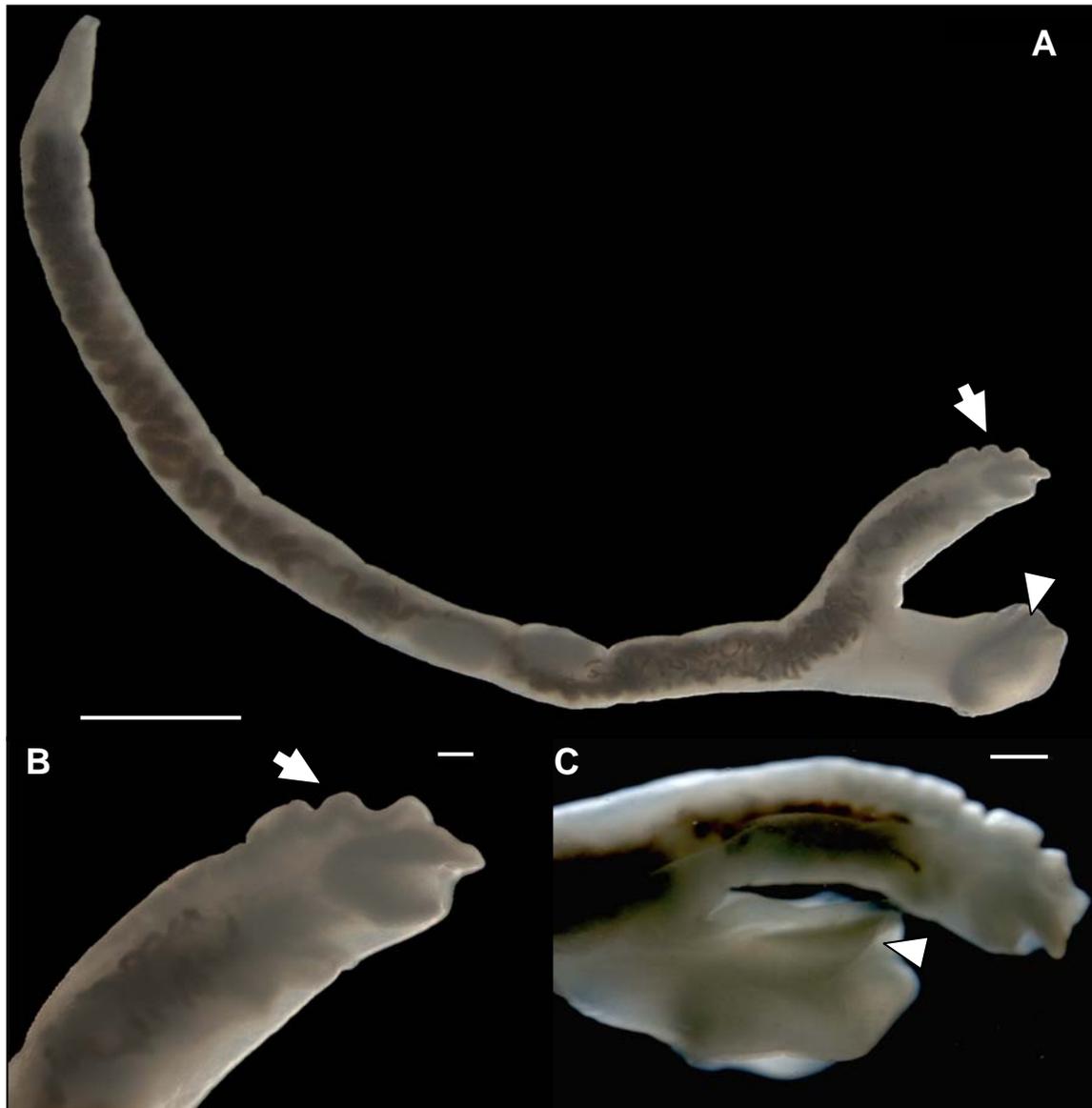


Figura. 4.6.3. *Odhnerium calyptrocotyle* de digestivo de pez luna, *Mola mola* en vista lateral. A, espécimen completo; B, detalle de la región anterior; C, detalle de la región anterior y de la ventosa ventral pedunculada. La flecha blanca señala las almohadillas musculares en forma de ventosa de la parte antero-dorsal y la cabeza de flecha blanca señala las alas musculares laterales de la ventosa ventral. Escalas: 2 mm, en A; 0,2 mm, en B; y 0,5 mm, en C.

Género *Rhynchopharynx* Odhner, 1928

***Rhynchopharynx paradoxa* Odhner, 1928**

P.= 0,9 %

A.M.±D.T.= 0,1±1,0

I.M.±D.T.= 10,0±0,0

Localidad: Almazora (Castellón, España)

Material recolectado: 10 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.4)

Basado en 6 especímenes adultos teñidos y montados. Cuerpo alargado 20,0–60,0 (41,0±11,0) x 2,6–4,0 (2,8±0,6) (fig. 4.6.4A). Ventosa oral globular de 0,2–0,5 (0,3±0,1) de diámetro, y con una extensión glandular posterior en forma de tubo (denominado *rüssel*) (figs. 4.6.4B y C). Ventosa ventral más grande, 1,3–2,9 (2,1±0,6) x 1,1–3,4 (2,1±0,6) y sobre un pedúnculo. Vesícula excretora en forma de “Y”. *Pars prostatica* larga y ondulada. *Sinus-sac* pequeño y ovalado. Dos testículos separados en la parte anterior del cuerpo. Ovario posttesticular. Las gónadas no se pudieron medir en ningún caso debido al grosor de los ejemplares y a que estaban parcialmente cubiertos por huevos. Glándula de Mehlis preovárica. Canal de Laurer presente. Glándulas vitelógenas formando ramificación de túbulos a nivel de ventosa ventral hasta parte anterior de ovario.

Observaciones

Las medidas de los especímenes y las características taxonómicas concuerdan con estudios previos de esta especie parásita (Odhner, 1928; Yamaguti, 1934; Bray y Gibson,

1977), salvo en la presencia de papilas en la parte anterior del cuerpo, que no han sido observadas en los especímenes analizados en el presente estudio. Solo se han encontrado individuos de esta especie en el pez luna que apareció varado en la playa de Almazora, Castellón.



Figura 4.6.4. *Rhynchopharynx paradoxa* de sistema digestivo del pez luna, *Mola mola*, varado en Almazora, en vista lateral. A, espécimen completo; B, parte anterior del parásito donde se observa el *rüssel*; C, detalle del “*rüssel*” emergiendo de la ventosa oral. La flecha blanca señala el *rüssel*. Escalas: 1 cm, en A; 2 mm, en B; y 0,1 mm, en C.

Familia Lepocreadiidae (Odhner, 1905) Nicoll, 1935

Género *Dihemistephanus* Looss, 1901

***Dihemistephanus lydiae* (Stossich, 1896) Looss 1901**

P.= 73,6 %

A.M.±D.T.= 18,6±27,7

I.M.±D.T.= 27,0±29,8

Localidad: La Azohía (Cartagena, España), Almazora (Castellón, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 1972 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.5. y Tabla 4.6.1)

Basado en 20 especímenes adultos teñidos y montados (10 conservados en formol 10 % salino, sin previa congelación, y 10 conservados en etanol 70 % tras congelación). Datos métricos de los especímenes conservados en formol y en etanol en la Tabla 4.6.1. Cuerpo cilíndrico con espinas cuticulares (fig. 4.6.5A) Ventosas oral y ventral globulares. Faringe cilíndrica (fig. 4.6.5C). Vesícula excretora en forma de "I". *Pars prostatica* subglobular. Saco del cirro sinuoso. Dos testículos lobulados. Ovario pretesticular con forma irregular. Útero preovárico. Huevos ovalados. Glándulas vitelógenas extendidas en parte media y posterior del cuerpo.

Observaciones

Las características morfológicas y las medidas coinciden con las descripciones previas de esta especie (Dollfus, 1960; Peters, 1960; Yamaguti, 1968). Los ejemplares que fueron fijados en formol 10 % salino conservaron su espinas cuticulares y su forma original (fig. 4.6.5A y C). Los ejemplares que fueron congelados y después fijados en etanol 70 %

Tabla 4.6.1. Datos morfométricos de ejemplares de *Dihemistephanus lydiae* fijados en formol 10 % salino y en etanol 70 % de sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*. Se indica el rango y la media±D.T., entre paréntesis, de la longitud y anchura de: los especímenes, ventosas oral y ventral, faringe, testículos, ovario y huevos.

| | <i>D. lydiae</i> fijado en formol | <i>D. lydiae</i> fijado en etanol |
|------------------------|--|--|
| Longitud | 0,8–2,0 (1,4±0,3) | 2,5–3,2 (2,8±0,3) |
| Anchura | 0,4–0,6 (0,4±0,1) | 0,5–0,6 (0,5±0,1) |
| Ventosa oral | 0,1–0,2 (0,1±0,0) diámetro | 0,1 (0,1±0,0) x 0,2 (0,2±0,0) |
| Ventosa ventral | 0,2 (0,2±0,0) diámetro | 0,2–0,6 (0,4±0,3) diámetro |
| Faringe | 0,1–0,2 (0,1±0,0) x 0,1 (0,1±0,0) | 0,1–0,2 (0,1±0,0) x 0,1–0,2 (0,2±0,0) |
| Testículos | Testículo anterior 0,1–0,2 (0,1±0,0) x 0,1–0,3 (0,2±0,0) | Testículo anterior 0,2 (0,2±0,0) diámetro |
| | Testículo posterior 0,1–0,2 (0,1±0,1) x 0,1–0,2 (0,2±0,0) | Testículo posterior 0,2–0,3 (0,2±0,1) x 0,1–0,2 (0,2±0,0) |
| Ovario | 0,1 x 0,1 (0,1±0,0) | 0,1 (0,1±0,0) x 0,1–0,2 (0,1±0,1) |
| Huevos | 0,01 x 0,02–0,03 (0,03±0,0) | 0,01 (0,01±0,00) diámetro |

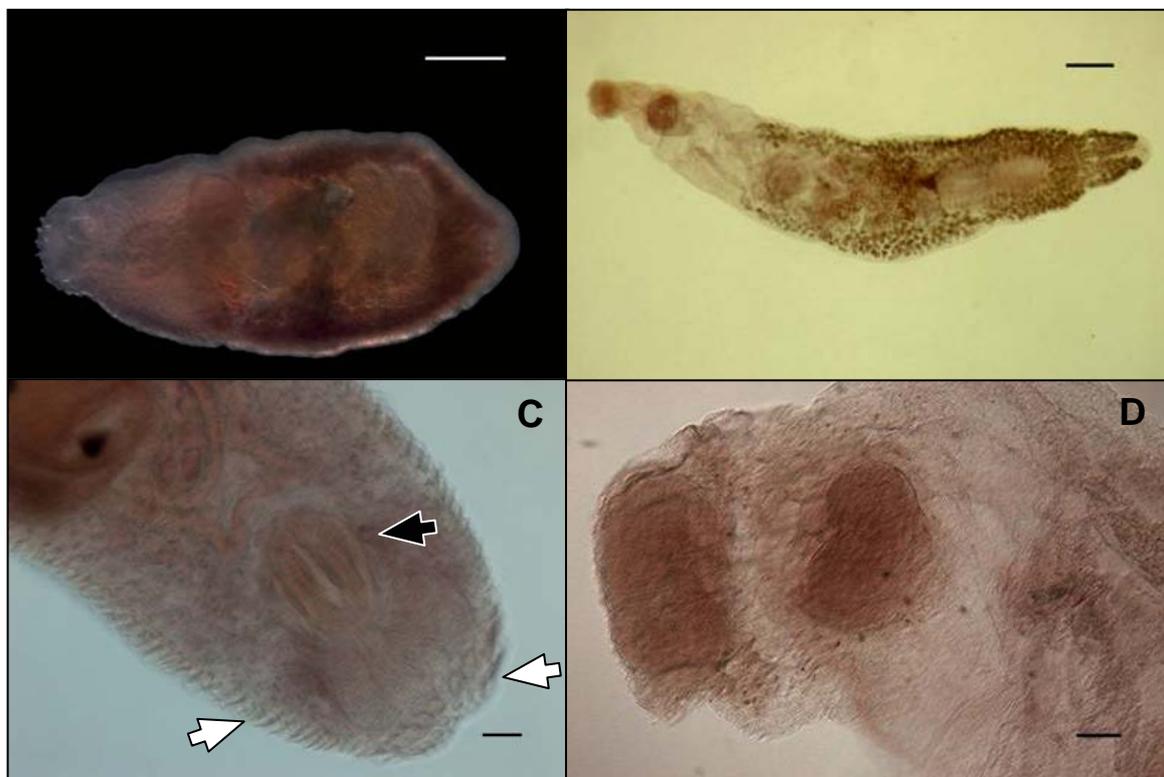


Figura 4.6.5. *Dihemistephanus lydiae*, fijados en formol 10 % salino (A) y en etanol 70 % tras congelación (B), de sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista ventral. A y B, individuos completos en vista ventral; C, parte anterior de *D. lydiae* fijado en formol 10 %, donde se aprecian las espinas cuticulares (flechas blancas) y la faringe (flecha negra); D, parte anterior de *D. lydiae* fijado en etanol 70 % tras congelación sin espinas cuticulares. Escalas: 0,2 mm, en A y B; y 0,1 mm, en C y D.

perdieron sus espinas y su forma, longitud y anchura, varió (fig. 4.6.5B y D; Tabla 4.6.1). Cuando se identifican este tipo de ejemplares sin espinas, con variaciones de forma y dimensiones corporales, su identificación puede ser errónea. De hecho, Dollfus (1960), para indicar la no validez de la especie *Stenocollum fragile* (Edwin Linton, 1900) J. Stafford, 1904, comentó como *D. lydiae* se “transformaba” en *S. fragile* por maceración.

Capítulo 4

Por ello, la correcta fijación y conservación de esta especie de trematodos es fundamental para una identificación correcta.

Se han recolectado un gran número de ejemplares de *D. lydiae* en todos los años de muestreo, por lo que parece una especie habitual en este pez.

Clase Monogenea Carus, 1863
Familia Capsalidae Baird, 1853
Género *Capsala* Bosc, 1811

***Capsala martinieri* Bosc, 1811**

P.= 12,3 %

A.M.±D.T.= 0,2±0,9

I.M.±D.T.= 2,0±1,7

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 26 ejemplares de piel.

Descripción (fig. 4.6.6)

Basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Cuerpo redondeado, 7,0–24,0 (15,0±0,4) x 6,0–24,0 (15,0±0,4), aplanado dorso-ventralmente (fig. 4.6.6A). Ventosas apicales 0,6–1,2 (1,0±0,1) x 0,5–1,1 (0,9±0,3). Haptor redondeado, con 7 septos marginales y un septo central heptagonal 2,3–6,5 (4,5±2,3) x 2,6–6,9 (5,1±2,5) (fig. 4.6.6B). Faringe con constricción. Ovario lobulado. Testículos extendidos lateralmente a los lados del digestivo. Glándulas vitelógenas extendidas por todo el cuerpo, excepto en la región cefálica.

Observaciones

Las características morfológicas coinciden con las señaladas para esta especie por diferentes autores (Sproston, 1946; Yamaguti, 1963; Whittington, 2004). Price (1962) enumeró cuatro especies diferentes de capsálidos en pez luna: *Capsala martinieri*, *Tristomella grimaldii* Guiart, 1938, *Tricotyla cutaneum* Guiart, 1938 y *T. molae* (Blanchard, 1847) Guiart, 1938. Las diferencias entre estas especies estaban basadas,

principalmente, en las dimensiones relativas y totales del cuerpo. Finalmente, todas las especies fueron sinonimizadas con *C. martinieri* por Yamaguti (1963). Las dimensiones relativas del háptor y las ventosas de la parte anterior varían notablemente con el tamaño total, y este varía mucho. De hecho, los ejemplares encontrados en el presente estudio han medido hasta 24 mm de longitud, pero Hernández-Orts *et al.* (2009) encontró ejemplares de *C. martinieri* de longitud mucho mayor (hasta 40 mm) en peces luna de la Patagonia argentina. Además, algunos ejemplares están pigmentados externamente, lo que puede llevar a interpretaciones confusas sobre la morfología o la presencia o ausencia de algunos órganos y, por tanto, a identificaciones erróneas.

Se han recolectado ejemplares de *C. martinieri* en todos los muestreos de la almadraba pero, los peces luna varados en Canet de Berenguer y en Almazora no presentaron a este parásito en piel.

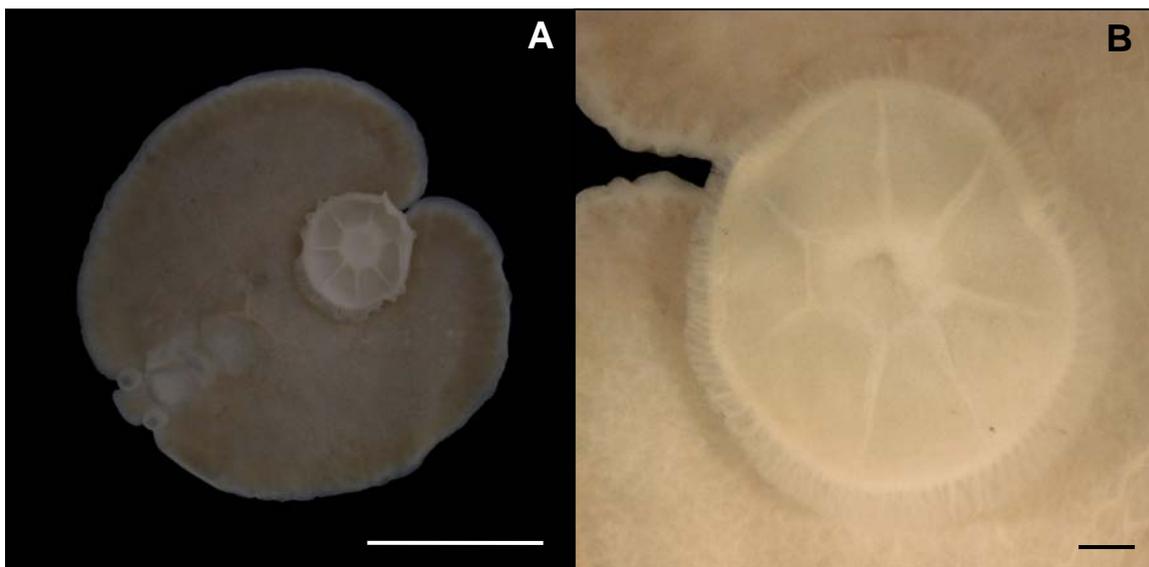


Figura 4.6.6. *Capsala martinieri* de piel de pez luna, *Mola mola*, en vista ventral. A, espécimen completo; B, detalle del háptor. Escalas: 1 cm, en A; y 1 mm, en B.

Clase Cestoda Rudolphi, 1808**Familia Gymnorhynchidae Dollfus, 1935****Género *Molicola* Dollfus, 1935*****Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935**

P.= Total: 99,0 %; A.M. \pm D.T.= 6,1 \pm 4,7; I.M. \pm D.T.= 6,2 \pm 4,7. El 97,0 % de los peces infectados tenían parásitos en hígado; A.M. \pm D.T.= 4,5 \pm 4,3; I.M. \pm D.T.= 4,7 \pm 4,3; el 63,4 % de los peces infectados tenían parásitos en músculo; A.M. \pm D.T.= 1,5 \pm 1,9; I.M. \pm D.T.= 2,4 \pm 1,8 y el 10,9 % de los peces infectados tenían parásitos en riñón; A.M. \pm D.T.= 0,1 \pm 0,4; I.M. \pm D.T.= 1,2 \pm 0,6.

Localidad: La Azohía (Cartagena, España), Almazora (Castellón, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 616 ejemplares de hígado, musculatura dorsal y riñón (datos provenientes de los 101 peces luna “pequeños”, ya que de los 5 peces “grandes” sólo se registró su prevalencia (100%); ver *Material y métodos generales*).

Descripción (fig. 4.6.7)

Basado en 10 especímenes larvas *plerocerci* montadas en preparaciones temporales de glicerina. El diseño de los tentáculos se examinó en 5 ejemplares preparados en M.E.B. Escólex alargado, 6,2–15,8 (9,3 \pm 3,1) x 1,0–2,9 (1,9 \pm 0,7), con cuatro botridios 1,0–3,5 (1,7 \pm 0,9) x 0,5–1,3 (0,7 \pm 0,3) (fig. 4.6.7A). Blastoquiste alargado y ancho 8,1–15,1 (10,3 \pm 3,1) x 2,1–5,3 (3,5 \pm 1,0) (fig. 4.6.7B) (para ver las medidas de los parásitos de cada ubicación ver *Capítulo 6*, apartado 6.2, Tabla 6.2.2). Extensión caudal del blastoquiste de longitud variable, llegando a superar los 10,8 cm en el tramo más largo medido. Tentáculos saliendo desde el borde de la cara anterior de los botridios. Ganchos heteromorfos. Líneas principales de ganchos tentaculares separadas por una banda de

ganchos más pequeños (fig. 4.6.7C). Armadura basal de los tentáculos formada por un grupo de ganchos largos (fig. 4.6.7C).

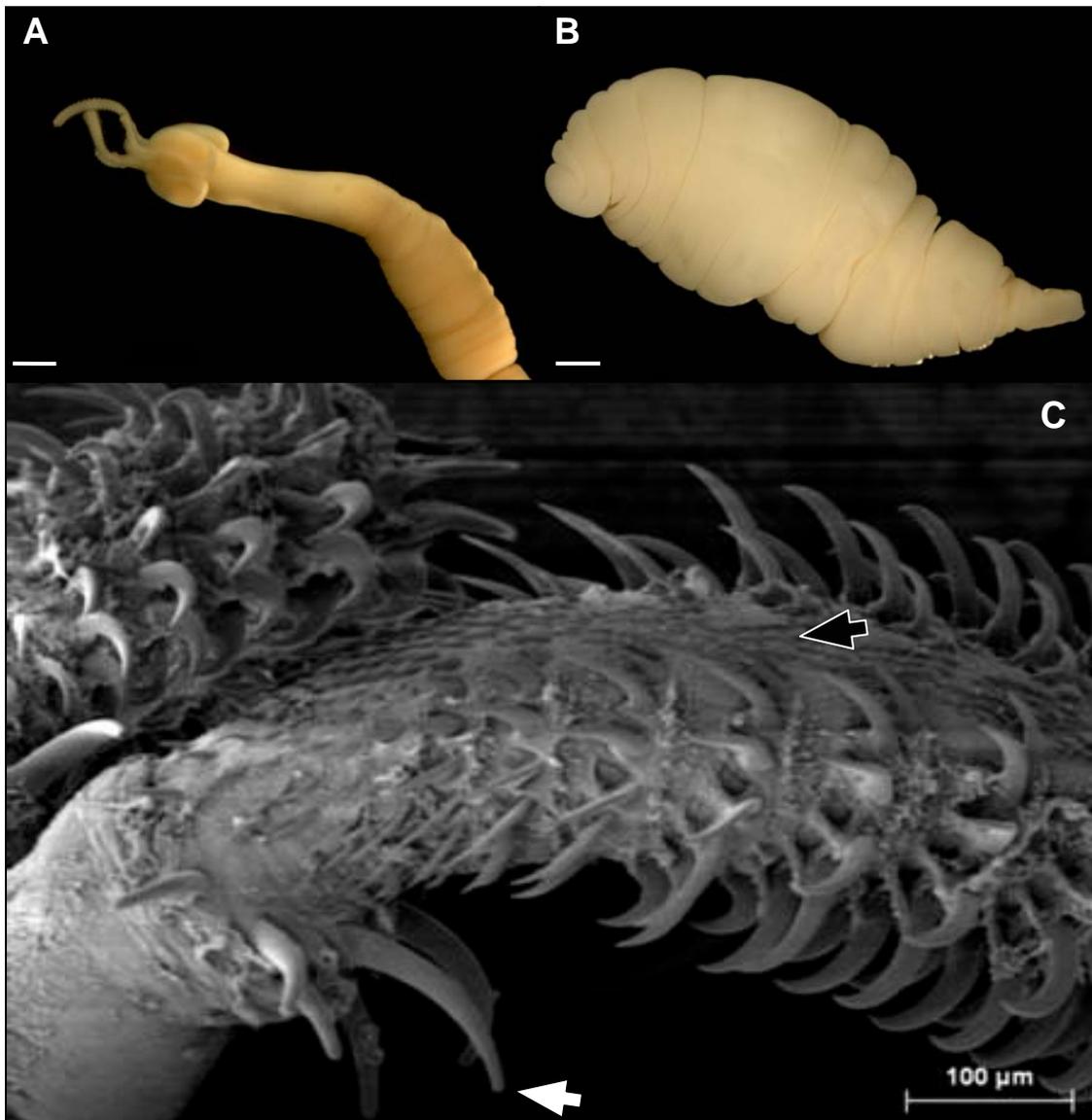


Figura 4.6.7. *Molicola horridus* de hígado de pez luna, *Mola mola*. A, Escólex en vista lateral; B, blastoquiste en vista dorsal; C, fotografía de M.E.B. de uno de los tentáculos. La flecha blanca señala el grupo de ganchos largos de la base del tentáculo y la negra la banda de ganchos cortos. Escalas: 1 mm, en A; 0,5 mm, en B; y 100 μ m en C.

Observaciones

Las características morfológicas y las medidas coinciden con las descripciones previas de esta especie (Goodsir, 1841; Dollfus, 1942; Knoff *et al.*, 2003). El género *Molicola* Dollfus, 1935 fue sinonimizado con el género *Gymnorhynchus* Rudolphi, 1819 (Dollfus, 1942), incluso las especies *M. horridus* y *G. gigas* (Cuvier, 1817) fueron consideradas sinónimas. Sin embargo, Palm (1997) separó definitivamente ambos géneros. Además, esta especie ha sido confundida con otros tripanorincos como *Floriceps saccatus* Cuvier,

1817 (Dollfus, 1929; Guiart, 1935). Actualmente *M. horridus* y *G. gigas* se incluyen en la familia Gymnorhynchidae Palm, 1995 (Beveridge *et al.*, 1999). Estas dos especies son muy parecidas morfológicamente y se diferencian por el tipo de armadura de la cara externa de la región metabasal de sus tentáculos: con varias bandas de numerosos ganchos pequeños entre las líneas principales de ganchos en *M. horridus* y con dos líneas paralelas de ganchos aplanados entre las líneas principales de ganchos en *G. gigas* (Beveridge *et al.*, 1999) (fig. 4.6.8).

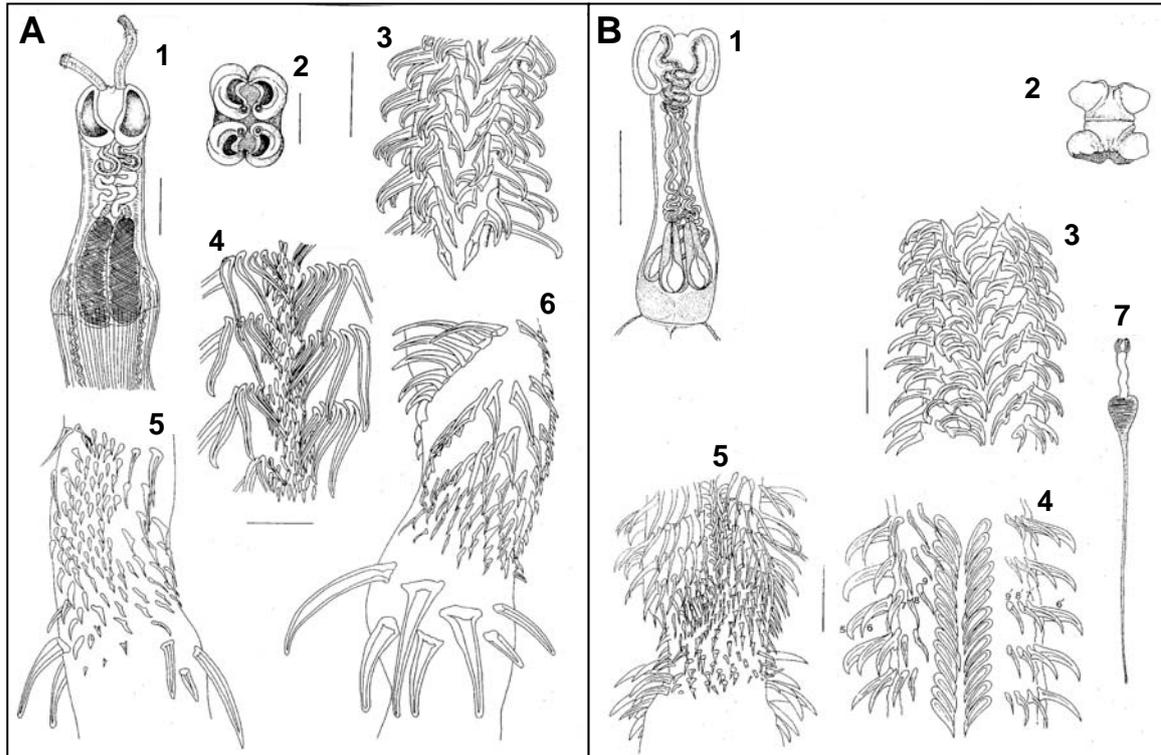


Figura 4.6.8. Plerocerci de gimnorínquidos. A, *Molicola horridus*; B, *Gymnorhynchus gigas*. Numeración: 1, escólex; 2, visión apical del escólex; 3, cara interna de la región metabasal; 4 cara externa de la región metabasal; 5, cara externa de la región basal; 6 cara interna de la región basal; 7, plerocercus completo. Escalas: 1 mm, en A y B1 y, 0,2 mm en B3-B5. (Extraídos de Khalil *et al.*, 1994).

Se han recolectado un gran número de ejemplares de *M. horridus* durante los cuatro años de muestreo y esta especie ha presentado unas prevalencias muy elevadas (100 % en el primer, segundo y cuarto muestreo). El órgano más afectado por esta larva de cestodo ha sido el hígado: dada la importancia funcional de este órgano para la salud de estos peces se ha desarrollado un estudio exhaustivo sobre el efecto de este parásito en el *Capítulo 6* de la presente tesis doctoral.

Familia Lacistorhynchidae Guiart, 1927

Género *Floriceps* Cuvier, 1817

***Floriceps saccatus* Cuvier, 1817**

P.= 6,6 %

A.M.±D.T.= 0,1±0,4

I.M.±D.T.= 1,4±0,8

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 10 ejemplares enquistados en mesenterio y en la pared del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.9)

Basado en 10 especímenes larvas *plerocerci* montadas en preparaciones temporales de glicerina. Escólex alargado y ancho, 22,0–23,3 (22,6±0,9) x 2,0–2,6 (2,3±0,4), con dos botridios, 1,4–2,2 (1,9±0,3) x 1,0–1,8 (1,3±0,3) (fig. 4.6.9A). Orificios de los tentáculos cerca del ápice del escólex. Ganchos heteromorfos. No hay armadura basal ni ganchos intercalados. Las espinas 1 y 1' están recostadas y tienen la misma forma que las 2 (2'). Relación *pars bulbosa: pars vaginalis* es de 1:3. Las larvas aparecen dentro de una especie de quiste vesicular de origen parasitario (fig. 4.6.9B).

Observaciones

Las características morfológicas y las medidas coinciden con las descripciones previas de esta especie (Campbell y Beveridge, 1987; Pinto *et al.*, 2006).

Como se ha comentado anteriormente, en ocasiones, *Floriceps saccatus*, ha sido identificado erróneamente como *Molicola horridus* (Dollfus, 1929). Es Guiart (1935)

quien refuta que la larva de cestodo presente en el hígado de los peces luna sea *F. saccatus*, y lo ubica enquistado en el peritoneo o en la serosa del sistema digestivo (Guiart, 1935).

Solo se han recolectado ejemplares de *F. saccatus* en el segundo y el cuarto muestreo (2006 y 2008 respectivamente).

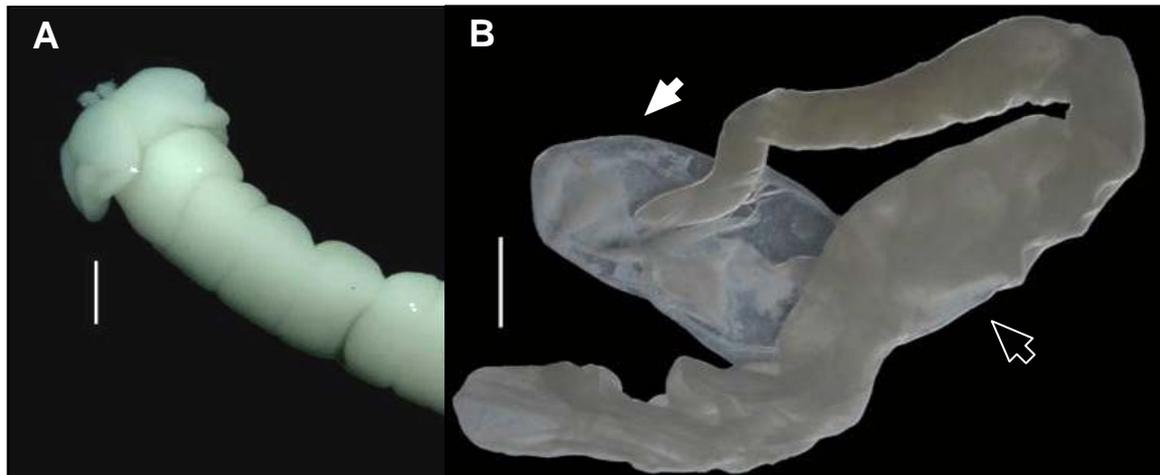


Figura 4.6.9. *Floriceps saccatus* de la pared del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*. A, detalle de la parte anterior del escólex en vista lateral; B, vesícula vacía donde se encontraba el parásito (flecha blanca) y blastoquiste del parásito (flecha negra). Escalas: 1 mm, en A; y 2 mm, en B.

Orden Tetrphyllidea Carus, 1863

Plerocercoides tetrafilídeos (sin. *Scolex pleuronectis*)

P.= 9,4 %

A.M.±D.T.= 0,1±0,3

I.M. ±D.T.= 1,0±0,0

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 10 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.10)

Basado en 10 especímenes montados en preparaciones temporales de glicerina. Plerocercoides de 1,5–3,1 (2,1±0,9) x 0,3–0,4 (0,3±0,0) (fig. 4.6.10A-D). Escólex con cuatro botridios biloculares, 0,2–0,3 (0,2±0,0) x 0,2 (0,2±0,0) y una pequeña ventosa apical (fig. 4.6.10A).

Observaciones

Los estadios adultos de los cestodos del orden Tetrphyllidea se encuentra en la válvula espiral de tiburones, rayas y quimeras. El escólex de los adultos se utiliza para la diagnosis de familias y géneros. Sin embargo las larvas de tetrafilídeos presentan muy poca variación morfológica entre especies por lo que, normalmente, su asignación taxonómica es muy complicada (Testa y Dailey, 1977; Siquier y Le Bas, 2003; Agustí *et al.*, 2005). Estas larvas de tetrafilídeos podemos encontrarlas en multitud de especies de invertebrados, peces y mamíferos marinos que actúan como hospedadores intermediarios (Avdeeva y Avdeev, 1980; Wojciechowska, 1993; Randhawa, 2011). De forma habitual se han empleado los términos *Scolex pleuronectis* y *S. polymorphus* para designar a estos

plerocercoides de especies realmente indeterminadas (Stunkard, 1977; Avdeeva y Avdeev, 1989; Wojciechowska, 1993; Chambers *et al.*, 2000).

Solo se recolectaron ejemplares de plerocercoides tetrafilídeos en el segundo y tercer muestreo (años 2006 y 2007).



Figura 4.6.10. Plerocercoides tetrafilídeos del sistema digestivo de pez luna, *Mola mola*, en vista lateral (A-D). A-C, individuos de escólex evaginado; D, individuo de escólex invaginado. La flecha blanca señala la ventosa apical del escólex evaginada. Escalas: 0,1 mm, en A y B; 0,2 mm, en C; y 0,5 mm, en D.

Familia Triaenophoridae Lönner, 1889

Género *Anchistrocephalus* Monticelli, 1890

***Anchistrocephalus microcephalus* (Rudolphi, 1819)**

P.= 92,5 %

A.M.±D.T.= 104,0±906,1

I.M.±D.T.= 114,9±951,9

Localidad: La Azohía (Cartagena, España), Almazora (Castellón, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 11029 ejemplares del sistema digestivo.

Descripción (fig. 4.6.11)

Basado en 10 especímenes adultos teñidos y montados. Cestodos muy largos de más de 15 cm (fig. 4.6.11A) con escólex de 0,6–1,4 (0,8±0,3) x 0,3–0,4 (0,3±0,1) con dos botridios 0,4–1,1 (0,6±0,2) x 0,2–0,7 (0,4±0,2) (fig. 4.6.11B). Disco apical con hendidura más o menos marcada. Escólex armado con filas de ganchos con forma de espina y base ancha (fig.4.6.11C). Los armados con ganchos organizados en número variable de filas, normalmente diez, alrededor de la base del disco apical (desarmados en algunos individuos, ver *Observaciones*). Algunos especímenes solo presentan escasos ganchos en filas incompletas. Región anterior del estróbilo con proglótides más largas que anchas y, proglótides posteriores más anchas que largas y craspedotas. Doble genitalia en algunas de las proglótides (fig. 4.6.11D).

Observaciones

Las características morfológicas coinciden con las descripciones previas para esta especie (Yamaguti, 1934; Kennedy y Andersen, 1982). *A. microcephalus* presenta más de diez

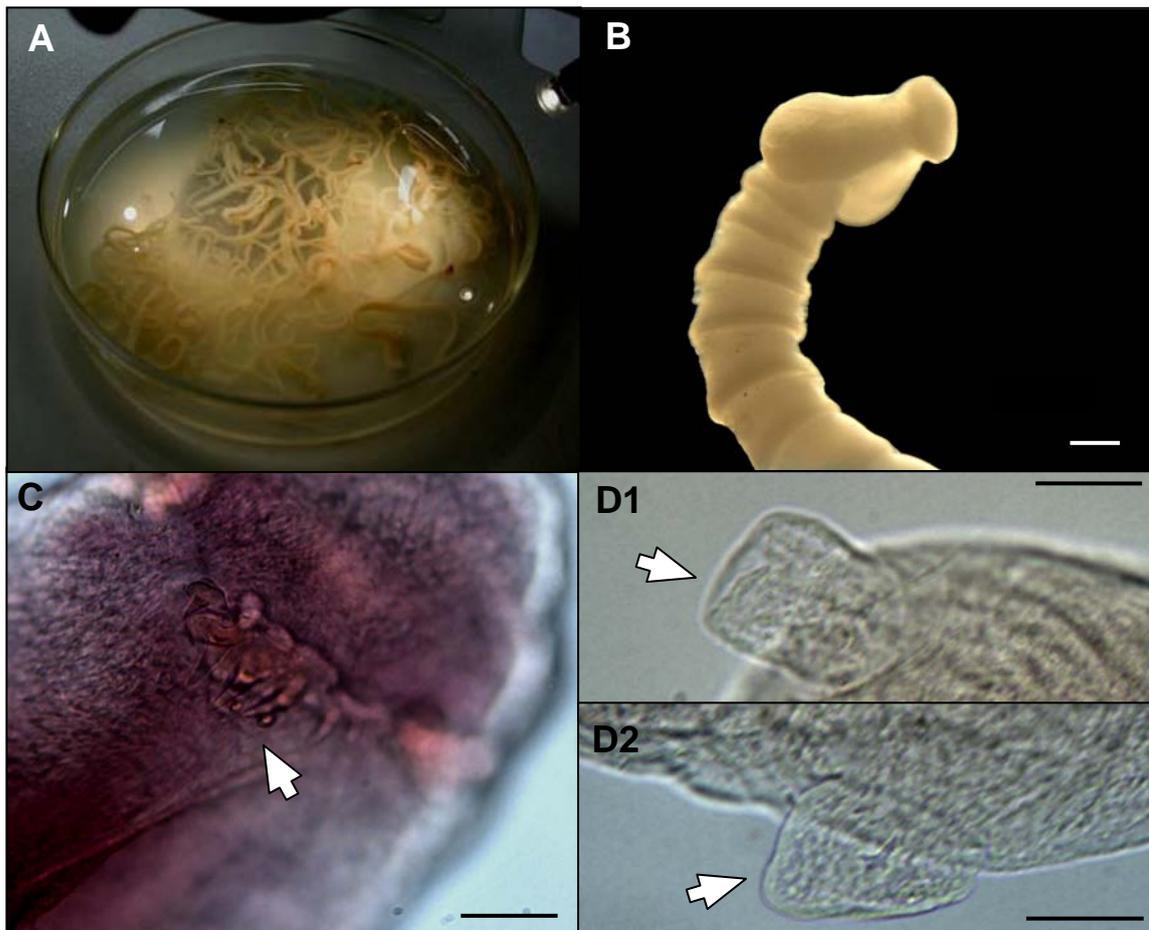


Figura 4.6.11. *Anchistrocephalus microcephalus* de digestivo de pez luna, *Mola mola*. A, especímenes enteros en una placa *petri* después de ser extraídos del intestino de los peces luna; B, detalle de la parte anterior del parásito; C, detalle de los ganchos del róstelo (flecha) de un ejemplar fijado en formol 10 % salino; D, doble genitalia en una proglótide (las flechas señalan cada cirro). Escalas: 0,2 mm, en B; y 50 μ m, en C, D1 y D2.

filas de ganchos en su escólex (Yamaguti, 1934). Muchos ejemplares de los analizados presentaron un menor número de filas de ganchos en el escólex, ya que éstos pueden estar presentes o no dependiendo de la fijación de los ejemplares. Kennedy y Andersen (1982) apuntaron que los ejemplares de *A. microcephalus* fijados en formol salino mantuvieron sus ganchos y los ejemplares que fueron congelados podían presentar sus escólices sin ganchos. Adicionalmente, algunos ejemplares fueron conservados en formol 10 % salino y otros fueron congelados y posteriormente conservados en etanol 70 %. Los ejemplares fijados en formol conservaron la mayoría de sus ganchos, mientras que los congelados y preservados en etanol 70 % los perdieron. La importancia de una correcta fijación, como ya se ha comentado anteriormente, es fundamental para identificar correctamente a los especímenes. De hecho, es destacable que esta especie había sido erróneamente

identificada como *Amphigonophorus carvalhoi* Mendes, 1944 diferenciándola de *A. microcephalus* únicamente por presentar el escólex desarmado (Kennedy y Andersen, 1982).

Se han recolectado un gran número de ejemplares de *A. microcephalus* en todos los años de muestreo, llegando a recoger del sistema digestivo del pez luna varado en Almazora un total de 9342 ejemplares. Conviene tener en cuenta, para posteriores valoraciones sobre los parásitos del pez luna de este estudio, que el elevado número de ejemplares de *A. microcephalus* recolectados en el pez luna varado de Almazora es el responsable de la muy elevada abundancia media alcanzada por esta especie en los datos totales (104, frente a la media de 16 parásitos por pez, en los muestreos de La Azohía, ver Tabla 4.2.1).

Filo Arthropoda Latreille, 1829

Clase Maxillopoda Dahl, 1956

Familia Cecropidae Dana, 1849

Género *Cecrops* Leach, 1816

***Cecrops latreilli* Leach, 1816**

P.= 96,2 %

A.M.±D.T.= 5,4±4,0

I.M.±D.T.= 5,6±4,0.

Localidad: La Azohía (Cartagena, España) y Canet de Berenguer (Valencia, España)

Material recolectado: 571 ejemplares de branquias.

Descripción (fig. 4.6.12)

Basado en 10 especímenes de cada estadio. Hembras más grandes que machos: hembras adultas ovígeras 14,1–29,0 (24,8±5,5) x 5,3–7,7 (6,4±0,9) (fig. 4.6.12A); hembras adultas sin sacos de huevos 9,5–18,9 (14,8±3,4) x 6,5–11,4 (8,8±1,7) (fig. 4.6.12B); machos adultos 7,6–9,0 (8,2±0,6) x 4,9–6,0 (5,6±0,3) (fig. 4.6.12C); y *chalmus* sin sexo diferenciado 3,2–7,6 (5,6±1,7) x 2,1–4,7 (3,5±1,0) (fig. 4.6.12D). Segmento genital truncado transversalmente en el margen anterior: 3,3–7,3 (4,0±1,2) x 3,1–6,2 (4,6±1,0) en hembras adultas ovígeras; 2,8–5,9 (3,8±1,3) x 2,1–5,9 (4,1±1,3), en hembras adultas sin sacos de huevos; 0,5–0,8 (0,7±0,1) x 1,3–1,5 (1,4±0,1) en machos adultos; y 0,4–2,5 (1,0±0,8) x 0,4–1,8 (1,0±0,5) en *chalmus* sin sexo diferenciado. Hembras con primer y segundo segmentos torácicos libres fusionados. Placas dorso-laterales en el primer, segundo y tercer segmentos torácicos presentes. Machos con márgenes del escudo cefalotorácico y placas dorsales lisas. Placa dorsal del tercer segmento torácico libre del macho con muescas posteriores.

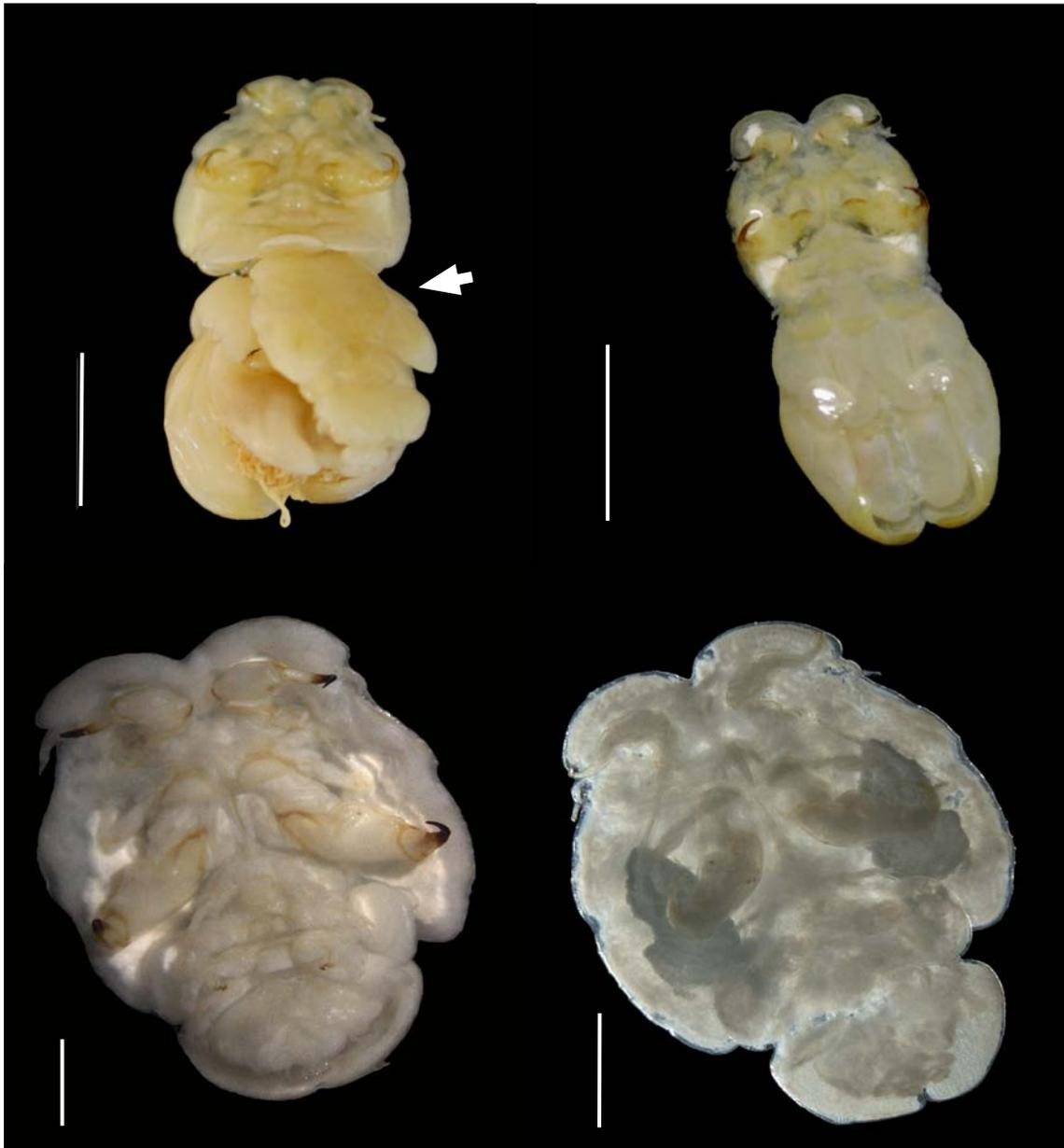


Figura. 4.6.12. *Cecrops latreilli* de pez luna, *Mola mola*, en vista ventral. A, hembra adulta ovígera con un macho adulto en vista dorsal en posición de cópula (flecha blanca); B, hembra adulta sin sacos de huevos. C, macho adulto; D, *chalimus* no sexado. Escalas: 1 cm, en A y B; y 2 mm, en C y D.

Observaciones

Las características morfológicas y las medidas coinciden con las descripciones previas de esta especie (Hewitt, 1968; Kabata, 1979). *C. latreilli* es la única especie que incluye el género *Cecrops* Leach, 1816. Este copépodo parásito branquial ha sido citado principalmente en *Mola mola* y otros mólidos (*M. ramsayi* (Villalba y Fernández, 1985), *Masturus lanceolatus* (ver Kabata, 1979)), pero también en *Thunnus thynnus* (L.), *Psetta maxima* L., *Pleuronectes rombus* L., y *Pristiurus* sp. (Brian, 1912; Hewitt, 1968; Kabata, 1979).

A pesar de que *C. latreilli* se ha citado en numerosas ocasiones en pez luna (ver Apéndice I) ninguno de los trabajos previos hace referencia al efecto patológico de estos copépodos sobre las branquias de los peces luna. En el desarrollo de la presente tesis doctoral se ha realizado el estudio histopatológico de branquias infectadas por *C. latreilli* (ver *Capítulo 5*).

La observación de la diferente posición de las fases de desarrollo ha permitido obtener algunos datos relevantes sobre biología de estos copépodos. Mientras las hembras estaban siempre enganchadas en la zona basal de los filamentos branquiales, los machos y *chalimi* variaban de posición habitualmente. Muchos machos, además, se encontraban enganchados a las hembras mostrando un comportamiento de cópula (Shiino, 1965; Hewitt, 1968). Los machos, por tanto, se desplazarían por la branquia para buscar a las hembras (ver secuencia en fig. 4.6.13) y ubicarse sobre el segmento genital de las hembras, ventralmente (ver fig. 4.6.12A). Las implicaciones patológicas de los diferentes comportamientos de las fases de *C. latreilli* sobre la branquia están discutidos en el *Capítulo 5*, previamente comentado.

Se han recolectado un gran número de ejemplares de *C. latreilli* en todos los años de muestreo.

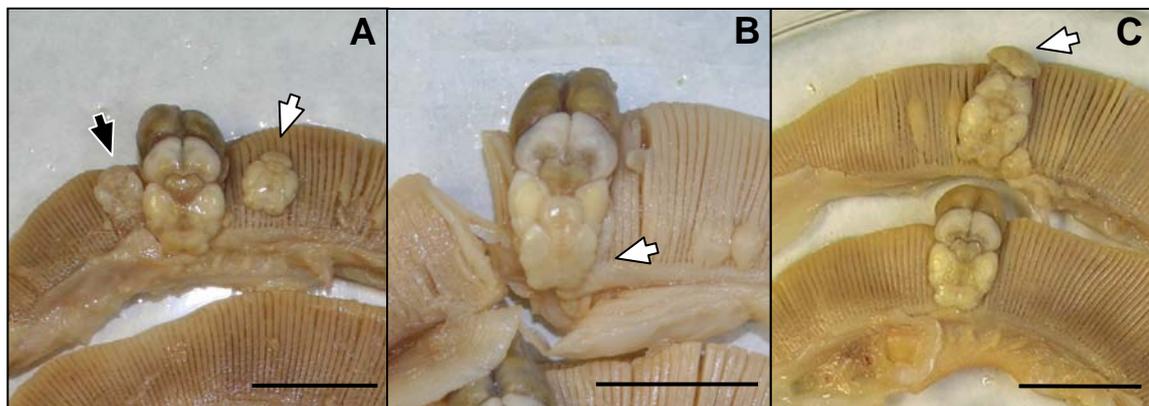


Figura. 4.6.13. *Cecrops latreilli* en las branquias de pez luna, *Mola mola*. A, hembra adulta en medio de un *chalimus* (flecha negra) y un macho adulto (flecha blanca); B, hembra adulta con un macho adulto en su zona dorsal del cefalotórax (flecha blanca); C, hembra adulta con un macho adulto dirigiéndose a la zona ventral del segmento genital de la hembra (flecha blanca). Escalas: 2 cm

Familia Pennellidae Burmeister, 1835

Género Pennella Oken, 1816

***Pennella filosa* (Linnaeus, 1758)**

P.=15,1 %

A.M.±D.T.= 0,2±0,6

I.M.±D.T.= 1,4±0,7

Localidad: La Azohía (Cartagena, España)

Material recolectado: 22 ejemplares de piel.

Descripción (fig. 4.6.14)

Basado en 1 ejemplar juvenil completo. Cuerpo alargado 9,0 cm x 5,0 (fig. 4.6.14A). Cefalotórax subsférico 2,4 x 1,8. Anténula con tres segmentos poco definidos con setas. Antena con dos segmentos y quelada. Cono bucal pequeño (detalle fig. 4.6.14B). Cuatro pares de apéndices cerca del margen posterior del cefalotórax (fig. 4.6.14B). Cuello tres veces más largo que el tronco. Tronco cilíndrico, 2,0 cm x 5,0, y con anillos. Abdomen subcilíndrico 1,0 cm x 5,0.

Observaciones

Las características morfológicas y las medidas coinciden con las descripciones previas de esta especie (Kabata, 1979; Hogans *et al.*, 1985; Hogans, 1987). A pesar de que *P. filosa* ha sido citada como adulto tanto en *M. mola* (Hogans, 1987) como en otros grandes pelágicos como el pez espada (*Xiphias gladius*), en el presente estudio solo se han recolectado individuos juveniles pequeños. Además, tan solo se extrajo uno de ellos completo, ya que se encuentran penetrando la piel de los peces hasta alcanzar zonas bastante profundas complicando su extracción completa.

Se han recolectado ejemplares de *P. filosa* en el primer y segundo muestreo (2005 y 2006).

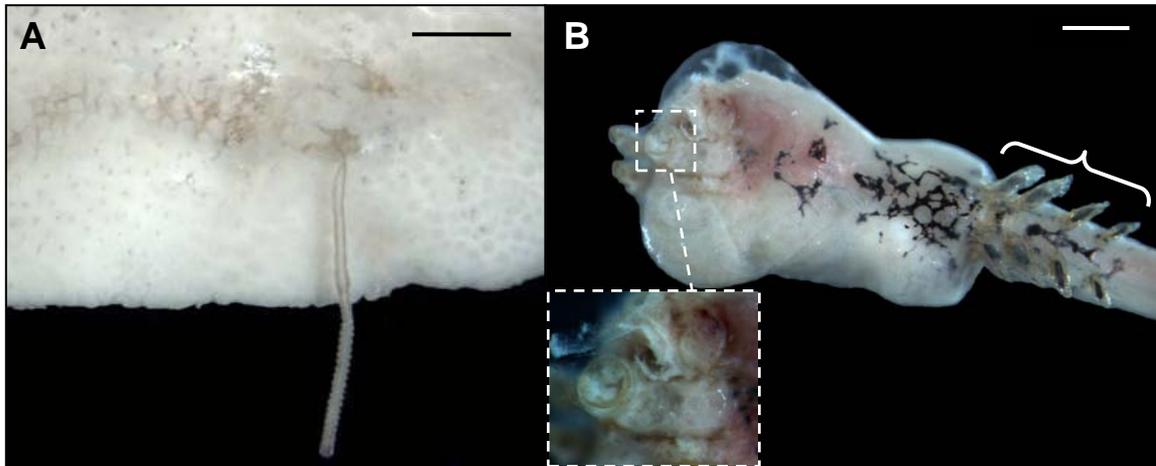


Figura 4.6.14. *Pennella filosa* de piel de pez luna, *Mola mola*. A, espécimen con la parte anterior introducida en la piel del pez; B, parte anterior del cuerpo de un individuo juvenil, en vista ventral, mostrando los cuatro apéndices (llave). En el detalle encuadrado con línea discontinua se observa en cono bucal. Escalas: 2 mm, en A; y 0,5 mm, en B.

4.7. DISCUSIÓN

A pesar de que existen numerosos estudios sobre parásitos de los peces luna desde el siglo XIX, los resultados obtenidos en el presente trabajo amplían notablemente el número de especies parásitas que componen la parasitofauna conocida de *Mola mola*, ya que se aportan 10 nuevas citas a las 59 ya conocidas (ver listado de citas en el Apéndice D). De las 27 especies parásitas encontradas durante el presente trabajo, 2 son nuevas para la ciencia, 3 han sido redescritas y 8 son primeros hallazgos en el pez luna. Además, se ha descrito la morfología de las fases de desarrollo de una especie de copépodo. Por último, se han caracterizado molecularmente 2 especies de acacélidos, muy similares morfológicamente contribuyendo al conocimiento sobre la genética de las especies de esta familia, en la que los datos moleculares existentes son bastante escasos. En futuros estudios, se pretende secuenciar al resto de especies de acacélidos recolectadas en el presente trabajo para conocer más sobre la filogenia de esta familia, aprovechando la gran diversidad encontrada en los peces luna.

En la mayoría de las especies encontradas, el pez luna actúa como hospedador definitivo. Además, sólo 7 de las 8 especies encontradas como larvas podrían tener al pez luna como hospedador intermediario, ya que la larva praniza del isópodo *Gnathia* sp. sigue un ciclo monoxeno, y el estadio adulto de los ejemplares de esta especie es de vida libre. De las 7 especies restantes encontradas como larvas, 6 pertenecen a las especies parásitas menos frecuentes de todo el estudio, habiéndose encontrado con un máximo de 8,7 % de prevalencia (caso del plerocercioide de tetrafilídeo), por lo que parecen ser accidentales. Solo para el caso de los *plerocerci* de *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935 el pez luna parece estar actuando como hospedador intermediario real (616 parásitos encontrados). El papel principal como hospedador definitivo podría deberse a que, a pesar de no ser un depredador apical, existen pocos depredadores para esta especie, especialmente en los peces luna de gran tamaño (ver *Introducción General* y discusión sobre los hospedadores finales de las larvas de *M. horridus* en el apartado 6.3 del *Capítulo 6*). De esta forma el pez luna sería una vía muerta para la transmisión de estos parásitos larvarios de transmisión trófica.

La fauna parásita encontrada es muy específica, con más de un 60 % de las especies específicas de la familia Molidae o de la especie *M. mola*. La prevalencia de las especies generalistas no suele superar el 8,7 %, excepto en especies monoxenas externas (*Gnathia* sp. y *Pennella filosa*, con prevalencias de 9,4 % y 15,4 %, respectivamente). Esta elevada

exclusividad en la fauna parásita podría deberse a la singularidad anatómica y biológica de esta familia de peces que los hace muy diferentes al resto de teleósteos, incluso al resto de familias del orden tetraodontiformes. De hecho, uno de los motivos que podrían explicar esta especificidad parásita es la dieta del pez luna; se cree que muchos de los hospedadores intermediarios por los que se transmiten los parásitos heteroxenos del pez luna (desconocidos en la mayoría de los casos) pueden ser especies del macroplankton gelatinoso (ver comentario sobre acacélidos más abajo), parte fundamental de la dieta de los peces luna (Fraser-Brunner, 1951; Hooper *et al.*, 1973; Tortonese, 1986; Froese y Pauly, 2012).

Como se ha comentado anteriormente, los trematodos han sido el grupo parásito predominante en diversidad, con 10 especies identificadas (ver Tabla 4.2.1) y un total de 7332 individuos recolectados. Entre ellos destacan los trematodos de la familia Accacoeliidae Odhner, 1911, con 7 especies y 4482 individuos. Ya se ha comentado en los apartados 4.4.1 y 4.4.5 que esta familia ha sido citada principalmente en *M. mola* y otros mólidos (Linton, 1940; Dollfus, 1946; Threfall, 1967; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Cooper *et al.*, 1982; Villalba y Fernández, 1985; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006). Algunas especies también se han hallado en otros grupos de peces como la chucla, *Spicara maena* (L.), espárido en el que se ha citado *Accacoelium contortum* (Naidenova y Mordvinova, 1997). Bray y Gibson (1977) comentan la existencia de dos posibles formas de transmisión de acacélidos al hospedador definitivo: *i*) para el pez luna y otros peces que se alimentan de plancton gelatinoso, directamente a través de metacercarias que existen en ctenóforos y cnidarios y *ii*) para peces piscívoros, a través de otro pez de la dieta que actuaría como un posible tercer hospedador intermediario. Pérez-del Olmo (2008) encontró algunos ejemplares de *Accacladium serpentulum* en boga (*Boops boops* (L.)), espárido piscívoro del Atlántico noreste y del Mediterráneo. Los individuos encontrados en la boga eran adultos y maduros pero presentaban un menor tamaño del previamente documentado (7,1–8,2 (7,7±0,8) × 0,7). Resulta interesante el hecho de que tanto la boga (Jukic, 1972; Anato y Ktari, 1983) como la chucla (Khoury, 1984; Mytilineou, 1987) se alimenten, entre otras presas, de plancton y bentos gelatinoso, por lo que la vía de infección podría ser a través del mismo tipo de hospedador intermediario. Aún así no se puede descartar que algunos los acacélidos se transmitan por ingestión de peces, ya que todos estos hospedadores, incluido el pez luna

(Pope *et al.*, 2009), son parcialmente piscívoros. El resto de trematodos encontrados pertenecen a familias (didimozoidos y leprocreádidos), grupos no exclusivos de los mólicos, si no distribuidos entre otras muchas familias de peces, destacando, en el caso de los didimozoidos, los grandes peces pelágicos como los escómbridos (Lester, 1980; Bray, 2005; Madlineo, 2006; Pozdnyakov y Gibson, 2008; Madlineo *et al.*, 2010).

Tan solo se ha localizado una especie de monogeneo, *Capsala martinieri* (ver Tabla 4.2.1) en piel, recolectándose un total de 26 ejemplares. En el pez luna solo se han citado monogeneos capsálidos y, como ya se ha comentado anteriormente, muchas de las especies citadas han sido sinonimizadas con *C. martinieri* (ver Apéndice I). En general las especies de monogeneos pueden llegar a presentar importantes cargas parásitas en sus hospedadores pero, como otros ectoparásitos de piel de este estudio, cabe destacar que las frecuencias y abundancias pueden haberse visto disminuidas durante el manejo de los peces.

Los cestodos están representados por 4 especies, de tres de ellas solo se han recolectado larvas (*M. horridus*, *Floriceps saccatus* y los plerocercoides tetrafilídeos), y de la cuarta especie (*Anchistrocephalus microcephalus*) solo individuos adultos (ver Tabla 4.2.1). A pesar de presentar un número de especies muy inferior a los trematodos, el número de individuos de cestodos recolectados es notablemente superior (11686 ejemplares). La gran mayoría de estos ejemplares pertenecían a las especies *M. horridus* y *A. microcephalus*, ambas con una biomasa también muy notable. En ambos casos se trata de cestodos largos que ocupan un volumen importante en sus localizaciones y cuya elevada intensidad puede inducir alteraciones patológicas. En el caso de *A. microcephalus*, al ser cestodos adultos, se puede considerar que no ejercen un daño muy grave sobre sus hospedadores, salvo por el expolio y por la toxicidad de sus productos de excreción (Dick *et al.*, 2006; Noga, 2010). El potencial patógeno de *M. horridus*, sin embargo, es mayor, ya que se trata de formas larvarias que ocupan gran parte del tejido hepático. Este daño potencial es estudiado con detalle en el *Capítulo 6* de la presente tesis doctoral.

Solamente se encontró una especie de acantocéfalo, *Bolbosoma capitatum* (ver Tabla 4.2.1), en forma de cistacanto, siendo la primera vez que se cita esta especie en el pez

luna. Se recolectó un único ejemplar, por lo que el pez luna parece ser un hospedador accidental. Los cisticantos de esta especie parásita son bastante inespecíficos, encontrándose en muchas familias de peces teleósteos (Measures, 1992), por lo que no resulta extraño que pueda infectar al pez luna. La única especie de acantocéfalo que había sido citada previamente en peces luna del Atlántico norte es *Echinorhynchus gadi* (Linton, 1901).

Los nematodos tienen muy poca representación en este estudio, con 9 individuos larvarios pertenecientes a 3 especies (ver Tabla 4.2.1), por lo que el pez luna no sería un hospedador muy habitual para estas especies. Estas tres especies han sido citadas por primera vez en el pez luna: *Anisakis* sp. larva 3 Tipo I, *Anisakis* sp. larva 3 Tipo II y *Ascarophis* sp. Estas fases larvarias de nematodos son muy inespecíficas (McClelland *et al.*, 1990; Moravec, 1994; Petter y Radujkovic, 1989) por lo tanto, no sorprende encontrarlas en los peces luna. En general existen muy pocas especies de nematodos citadas previamente en esta especie: *Anisakis* sp., en peces de Nueva Zelanda (Hewitt y Hine, 1972) y *Cucullanus orthagorisci* Rudolphi, 1819 y *Agamonema* sp. en peces luna del Atlántico y del Mediterráneo (Rudolphi, 1819; Linton, 1901; Dollfus, 1946; Bruce *et al.*, 1994).

Los copépodos han sido el segundo grupo de parásitos con más especies detectadas, 7, (ver Tabla 4.2.1) y también el tercero en número de ejemplares recolectados (2618 individuos en total). De algunas de las especies encontradas, solo se recolectaron 1 o 2 ejemplares (*Caligus* sp., *C. bonito*, *C. pelamydis* y *Nogaus* sp. n.). Hay que tener en cuenta que, como se ha comentado previamente, a pesar de que el análisis y recolección de éstos se realizaba inmediatamente después su captura (ver *Material y métodos generales*), es muy probable que durante la captura, manejo en barca y posterior manejo en el laboratorio se hayan podido perder algunos ejemplares, sobre todo en el caso de los ejemplares ubicados en la piel, ya que los localizados en el paladar estaban más protegidos. En el caso de *Cecrops latreilli*, ubicado en la cámara branquial, aferrado a las branquias, y de *Pennella filosa*, con la parte anterior de su cuerpo bien anclada dentro de la piel del hospedador, la posible pérdida de ejemplares por el manejo habrá sido mínima o inexistente. La importancia de los copépodos en este estudio va en consonancia con las

citas previas, ya que, en general, se trata de uno de los grupos taxonómicos con mayor cantidad de especies encontradas en el pez luna (13 especies, ver Apéndice I).

Esta es la primera vez que se citan larvas praniza de la familia Gnathiidae Harger, 1880 en pez luna, siendo la única especie de isópodo encontrada en la presente tesis doctoral (ver Tabla 4.2.1). Se recolectaron 31 ejemplares en 10 peces. Resulta peculiar que no existan citas previas de gnátidos en peces luna salvajes o en cautiverio, ya que, como se ha comentado, son especies sumamente inespecíficas, (Monod, 1926; Smit y Davies, 2004). Como en el caso de los otros ectoparásitos, las prevalencias y abundancias son poco fiables. Esta puntualización es especialmente importante en este caso, ya que su fijación es débil y se desprenden con facilidad para poder realizar migraciones verticales desde el fondo marino hasta su hospedador para alimentarse (Smit y Davies, 2004). Otras especies de isópodos previamente citadas en peces luna del Mediterráneo son adultos de la familia Cymothoidae Leach, 1818: *Ceratothoa steindancheri* Koelbel, 1879, *Nerocila orbignyi* (Guérin-Méneville, 1832) Schioedte et Meinert, 1881 y *N. macleayi* White, 1843 (Dollfus, 1946; Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006).

Como se ha indicado en el apartado de *Material y métodos generales* de la presente tesis doctoral, se han podido analizar 61 peces luna del acuario *L'Océanogràfic* de la Ciudad de la Artes y las Ciencias de Valencia. Este análisis nos ha permitido observar el efecto de la cautividad y de los distintos tratamientos rutinarios sobre los parásitos procedentes del medio natural que albergan los peces luna (ver Tabla 3.2.1, tratamientos rutinarios). La diferente efectividad de los tratamientos (ver Tabla 4.2.3) puede explicarse según el hábitat en el que se encuentran los parásitos. La administración oral de antihelmínticos (pracuanteel, fembendazol, albendazol) resultó muy efectiva frente a parásitos del sistema digestivo (Tabla 4.2.3). En cambio, los baños de agua dulce son muy efectivos para la eliminación de los monogéneos y copépodos de branquias y piel (se desprenden, datos no publicados). Ninguno de estos tratamientos han resultado efectivos contra *A. contortum*, *M. horridus* y *R. squamata* (ver Tabla 4.2.3), ya que están total o parcialmente rodeados y protegidos por los tejidos del pez y es difícil que les llegue el tratamiento, tanto en baño como oral. Respecto a los tratamientos administrados por vía oral, éstos resultan particularmente difíciles de utilizar contra parásitos del medio interno, ya que los tratamientos deben ser absorbidos y llevados por el torrente sanguíneo hasta llegar a los

parásitos (Lovell, 1998). En el caso de las larvas *plerocerci* de *M. horridus*, dada su ubicación en órganos tan importantes como el hígado, se ha desarrollado un tratamiento específico experimental que será detallado en el apartado 6.4 del *Capítulo 6* del presente trabajo.

5. EFECTO PATOLÓGICO DE LOS PARÁSITOS DE LA CÁMARA BRANQUIAL

5.1. Introducción

Como se ha advertido en la *Introducción general* de la presente tesis doctoral, existen numerosas lagunas en el conocimiento de la parasitofauna del pez luna. Este desconocimiento es especialmente notable en el caso de las patologías asociadas a parasitosis. Logan y Odense (1974) realizaron uno de los pocos trabajos existentes sobre este aspecto, describiendo las lesiones producidas en la piel por *Capsala martinieri* Bosc, 1811 (Monogenea) y *Philorthagoriscus serratus* (Krøyer, 1863) Horst 1897 (Copepoda). Desde entonces no se registran trabajos que describan lesiones de otros parásitos del pez luna tanto en piel como en otros órganos.

En el presente estudio se han detectado un gran número y diversidad de parásitos, localizados en diferentes ubicaciones. Debido a que el material analizado se pudo fijar poco después de la captura de los peces, se ha podido estudiar el efecto de algunos de estos parásitos en los peces luna, tanto a nivel macroscópico como a nivel microscópico. En este capítulo se muestran los resultados del estudio sobre los parásitos ubicados en la cámara branquial y que pueden conllevar un notable potencial patogénico tanto por su elevado número como por las abundantes lesiones que producen y que pueden reducir notablemente la superficie de intercambio gaseoso. En el *Capítulo 6* se tratará también en detalle el efecto patológico asociado a las larvas del endoparásito visceral *Molicola horridus* (Goodsir 1841) Dollfus, 1935 (Cestoda), el parásito recolectado con mayor potencial patógeno.

Se han analizado las patologías asociadas a las tres especies parásitas localizadas en la cámara branquial de los peces luna: *i) Accacoelium contortum* (Rudolphi, 1819) Looss, 1899, trematodo acacélido ubicado principalmente en branquias, faringe y, en menor medida, en la parte anterior del sistema digestivo; *ii) Reniforma squamata* Pozdnyakov, 1994, trematodo didimozoido parásito tisular de branquias y pseudobranquias; y *iii) Cecrops latreilli* Leach, 1816, copépodo cecrópido ectoparásito branquial. Cada uno de estos parásitos presenta diferentes biología, con formas de anclaje diferentes, lo que ha permitido realizar un estudio comparativo del efecto asociado a cada parásito en la misma localización.

5.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Para este estudio se han examinado branquias, pseudobranquias y faringe. Las branquias se estudiaron de forma especialmente detallada, ya que se trata de los órganos más parasitados de la cámara branquial. Para ello, se realizó un estudio descriptivo de las cuatro branquias derechas e izquierdas y de sus hemibranquias anteriores y posteriores (fig. 5.1A). En total se han analizado los parásitos de la cámara branquial de 84 peces de los tres primeros muestreos (ver *Material y métodos generales*). Las tres especies parásitas están descritas en el *Capítulo 4*. El test de Kolmogorov-Smirnov reveló que los parásitos branquiales no presentaban una distribución normal ($Z= 6,11$; $p<0,000$) por lo que se utilizaron tests estadísticos no paramétricos. La preferencia de los parásitos entre branquias derechas e izquierdas fue analizada utilizando el test de Wilcoxon. Para localizar a los parásitos en zonas específicas, las branquias fueron divididas en diferentes regiones determinadas entre cuatro zonas a lo largo del eje caudo-cefálico y tres sectores según su posición basal, media o apical (ver fig. 5.1B). La preferencia de los parásitos en estas áreas fue analizada estadísticamente utilizando el test de Friedman.

Para estimar la superficie de la branquia ocupada por los parásitos y las lesiones, se realizaron fotografías de la hemibranquia anterior y posterior. Las superficies “sanas” y parasitadas se calcularon utilizando el programa de análisis de imagen *Image Tools 3.00*. En el caso de *Cecrops latreilli* se ha considerado toda la zona cubierta por el parásito como superficie afectada, a pesar de que los órganos de fijación y alimentación, a priori relacionados con la lesión, solo se encuentran en el cefalotórax (fig. 5.1C y D). Este criterio ha sido tomado debido a que los tejidos de toda el área de contacto con el parásito pueden estar dañados por el simple contacto prolongado (p. ej., con hiperplasia, ver *Discusión* de este capítulo) y a que la presencia del parásito obstruye localmente el flujo de agua, pudiendo dificultar el intercambio gaseoso en esa zona.

Se han realizado estudios histológicos de las branquias utilizando protocolos estándar (como H.E., ver *Material y métodos generales*). También se ha utilizado la tinción Giemsa para detectar la presencia de infecciones bacterianas secundarias asociadas a las patologías parasitarias (ver figs. 5.3J y 5.4D). Para esta tinción se desparafinaron las muestras con xilol, se realizó una serie de etanol con concentración descendente (100 %–96 %–70 %–50 %), se tiñeron las muestras con Giemsa 50 %, se limpiaron con agua

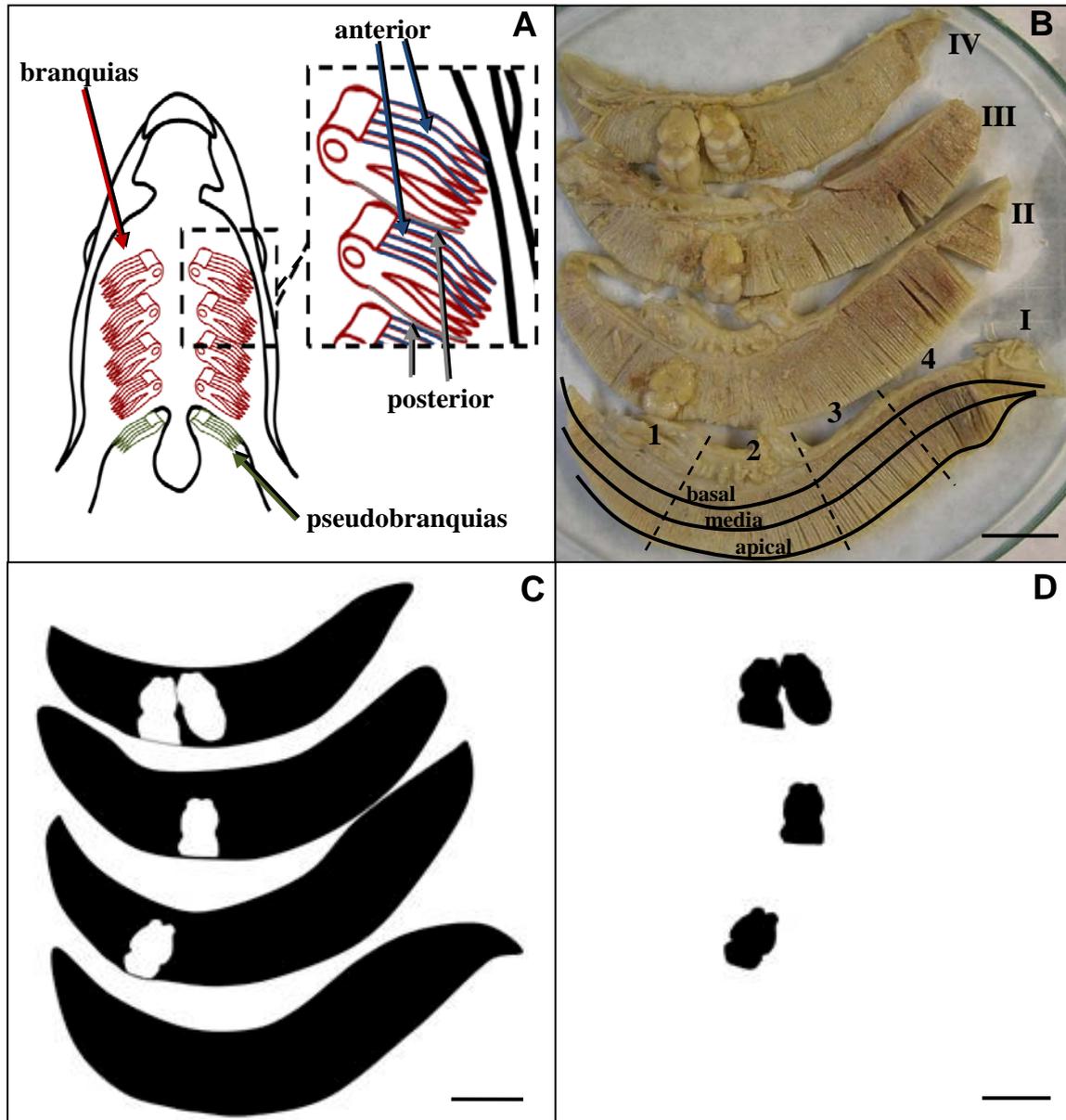


Figura 5.1. Estudio de la localización de los parásitos y de la superficie parasitada en branquias de pez luna, *Mola mola*. A, esquema de la cámara branquial, representando las branquias en rojo, las pseudobranquias en verde y las caras anteriores (azul) y posteriores (gris) de cada branquia; B, las cuatro branquias derechas parasitadas por el copépodo *Cecrops latreilli* en vista anterior numeradas del I al IV, divididas en cuatro zonas a lo largo del eje caudo-cefálico (1–4: 1 más cercana al opérculo, 4 más cercana a la boca) y en tres zonas según la ubicación a lo largo de la laminilla branquial (basal, media o apical). C y D, tratamiento de imagen de la figura B para calcular su superficie: C, dibujo de la superficie branquial no parasitada (en negro) y D, dibujo de la superficie parasitada que ocupan en la branquia los ejemplares de *C. latreilli*. Escalas: 2 cm.

corriente y con agua acética (0,1 %: 100 ml de agua destilada y 2 gotas de agua acética) y se deshidrataron primero con etanol 96 % y después con etanol 100 %.

5.3. Resultados

El 96,2 % de los peces presentó algún parásito en las branquias. El 94,3 % de las branquias derechas estaban parasitadas (I.M.±D.T.= 6,2±6,9) y el 71,7 % de las izquierdas (I.M.±D.T.= 3,4±3,0). Se observó una diferencia significativa entre la parasitación de las branquias derechas e izquierdas (Wilcoxon, $Z=-5,06$; $p<0,05$). El 17,9 % de los peces presentó solamente a *Accacoelium contortum* en faringe (I.M.±D.T.= 13,8±25,2) y el 5,7 % presentó solamente a *Reniforma squamata* en pseudobranquias (I.M.±D.T.= 3,0±1,7). El 49,4 % de los peces presentaban lesiones branquiales sin parásitos (I.M.±D.T.= 2,0±1,2), la mayoría de ellas, atribuibles a algún efecto parasitario antiguo ya finalizado. Hasta un 35 % de la superficie de la branquia podía estar ocupada por los parásitos o por sus lesiones (11±15 %) (figs. 5.2A y B). Las áreas lesionadas por algún parásito (presente o ausente) nunca estaban infectadas por otro. No se observaron parásitos diferentes en una misma laminilla branquial, pero sí en laminillas adyacentes de la misma branquia (figs. 5.2C y D). En ocasiones, una misma lesión podía afectar a varias laminillas branquiales de la misma branquia o de branquias contiguas (ver fig. 5.8A).

La mayoría de parásitos de la cámara branquial se encontraban en las branquias, recolectándose 841 parásitos, sumando ejemplares de las tres especies, frente a los 262 ejemplares de faringe (todos *A. contortum*), y los 4 de pseudobranquias (todos cápsulas de *R. squamata*). El parásito más frecuente y abundante, con diferencia, fue *Cecrops latreilli*.

-Patologías asociadas a *Accacoelium contortum*

El 57,1 % de los peces presentó *Accacoelium contortum* (I.M.±D.T.= 11,4±17,6): el 79,2 % de los peces infectados tenían parásitos en branquias (figs. 5.3A) (I.M.±D.T.= 6,9±8,0) y el 37,5 % de los peces infectados tenían parásitos en faringe (fig. 5.3B) (I.M.±D.T.= 14,5±25,8). Como se comentó en el *Capítulo 4*, apartado 4.3.1, también existen *A. contortum* en el tubo digestivo (el 16,7 % de los peces infectados; I.M.±D.T.= 2,9±2,6), aunque no se distinguieron alteraciones macroscópicas asociadas. No se observaron especímenes en pseudobranquias. Los parásitos branquiales y faríngeos siempre se encontraron en grupos, mientras que los de digestivo estaban separados. En ocasiones se encontró a más de un grupo de *A. contortum* en diferentes zonas de la misma branquia (fig. 5.3C). Se observó diferencia significativa entre la parasitación de las branquias derechas e izquierdas (Wilcoxon, $Z=-4,78$; $p<0,05$; con más parásitos en las branquias

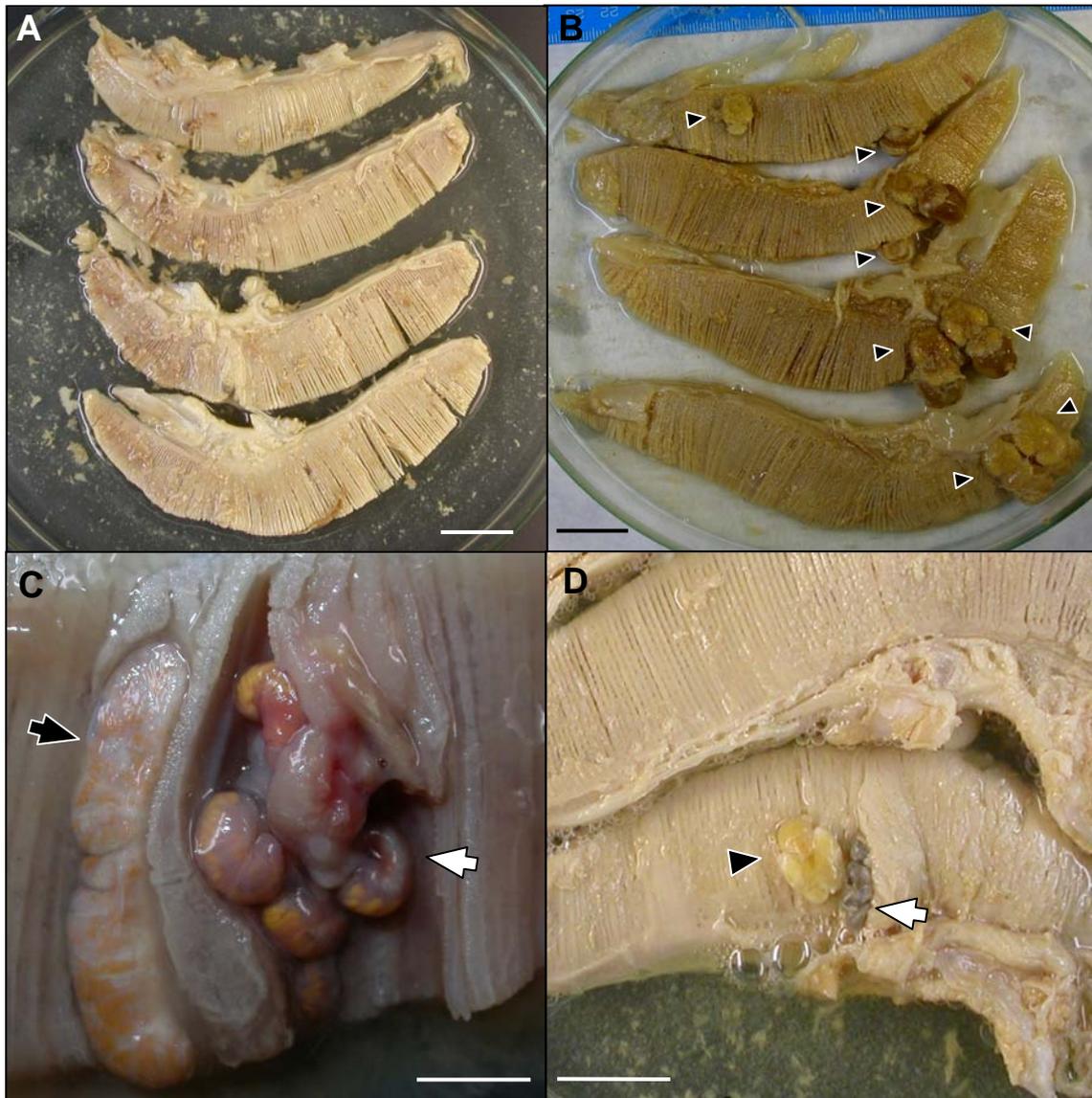


Figura 5.2. Diferentes grados de parasitación de branquias de pez luna, *Mola mola*. A, branquias sin parásitos ni lesiones; B, branquias con ejemplares de *Cecrops latreilli* (cabezas de flecha negras); C, lesión producida por un grupo de *Accacoelium contortum* (flecha blanca) junto a *Reniforma squamata* (flecha negra); D, lesión producida por un grupo de *A. contortum* (flecha blanca) junto a un ejemplar macho de *C. latreilli* (cabeza de flecha negra). Escalas: 2 cm, en A-C; y 0,5 cm, en D.

derechas, ver Tabla 5.1). A nivel macroscópico, las agrupaciones de parásitos producían una desestructuración notable de las branquias y faringe afectadas, provocando alteraciones morfológicas como deformaciones, abultamientos y desviaciones de los filamentos (ver figs. 5.3A y C). Todos los parásitos de branquias y faringe se encontraban agrupados en concavidades formadas dentro de los abultamientos o entre los espacios entre filamentos deformados o desviados (ver fig. 5.3C). Las lesiones causadas por *A. contortum*, visibles a simple vista, tenían una media de $1,9\pm 0,3$ cm de diámetro máximo y $1,3\pm 0,5$ cm de diámetro mínimo en branquias, y $2,8\pm 0,6$ cm de diámetro máximo y

2,3±0,6 cm de diámetro mínimo en faringe. Las agrupaciones en branquias llegaban a albergar hasta un máximo de 36 individuos (I.M.±D.T.= 6,2±7,1), que quedaban parcialmente tapados por el tejido proliferado asociado a la acción de los parásitos. En faringe se observaron concavidades horadadas en el tejido que albergaban hasta un máximo de 93 individuos (I.M.±D.T.= 12,7±20,1) (para más detalles de números totales de parásitos en ambas ubicaciones ver *Capítulo 4*, apartado 4.3.1). En algunos casos, en la faringe el tejido proliferado también cubría parcialmente a los parásitos. Los parásitos se adherían fuertemente tanto a los tejidos circundantes como entre sí utilizando las ventosas. Los parásitos adheridos entre sí formaban grandes masas que quedaban encajadas en las concavidades de tejido y que, al ser retiradas de las concavidades, seguían unidas por las ventosas de los parásitos. Los especímenes recolectados dentro de las concavidades de la cámara branquial eran todos adultos, mientras que los pocos ejemplares juveniles que aparecieron estaban en el tubo digestivo (ver apartado 4.3.1).

Tabla 5.1. Número de agrupaciones de *Accacoelium contortum* en las branquias de pez luna, *Mola mola*. Los datos se indican de forma conjunta y separadamente según el lado de la cámara branquial (derecho o izquierdo) que ocupaban y si se encontraban en las hemibranquias (H.B.) anteriores o posteriores.

| Agrupaciones de <i>A. contortum</i> | Branquias derechas | | Branquias izquierdas | |
|-------------------------------------|--------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | H.B. anterior | H.B. posterior | H.B. anterior | H.B. posterior |
| Branquia I | 3 | 4 | 2 | 0 |
| Branquia II | 2 | 4 | 2 | 2 |
| Branquia III | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Branquia IV | 4 | 0 | 1 | 1 |
| Total hemibranquia | 9 | 8 | 5 | 4 |
| Total branquias | 17 | | 9 | |

A nivel histológico se observaron alteraciones muy llamativas asociadas a la presencia de los parásitos (ver fig. 5.3D-H). Los epitelios branquiales circundantes a los parásitos proliferaban profusamente formando repliegues papilares que llegaban a envolver a los parásitos (fig. 5.3E). En estas zonas afectadas se apreció hiperplasia y necrosis epitelial (ver estrella negra en fig. 5.3G). En algunas zonas la epidermis se desprendía hasta quedar la dermis desnuda (fig. 5.3F). La respuesta inflamatoria asociada al parásito era muy elevada (fig. 5.3G) con notables infiltraciones de células inflamatorias. Alrededor de los parásitos se observaba una película acelular adherida al tegumento que contactaba con los tejidos (fig. 5.3H e I). Además, las tinciones Giemsa evidenciaron la presencia superficial de infecciones secundarias de colonias de bacterias (tipo bacilo o coco) (fig. 5.3J).

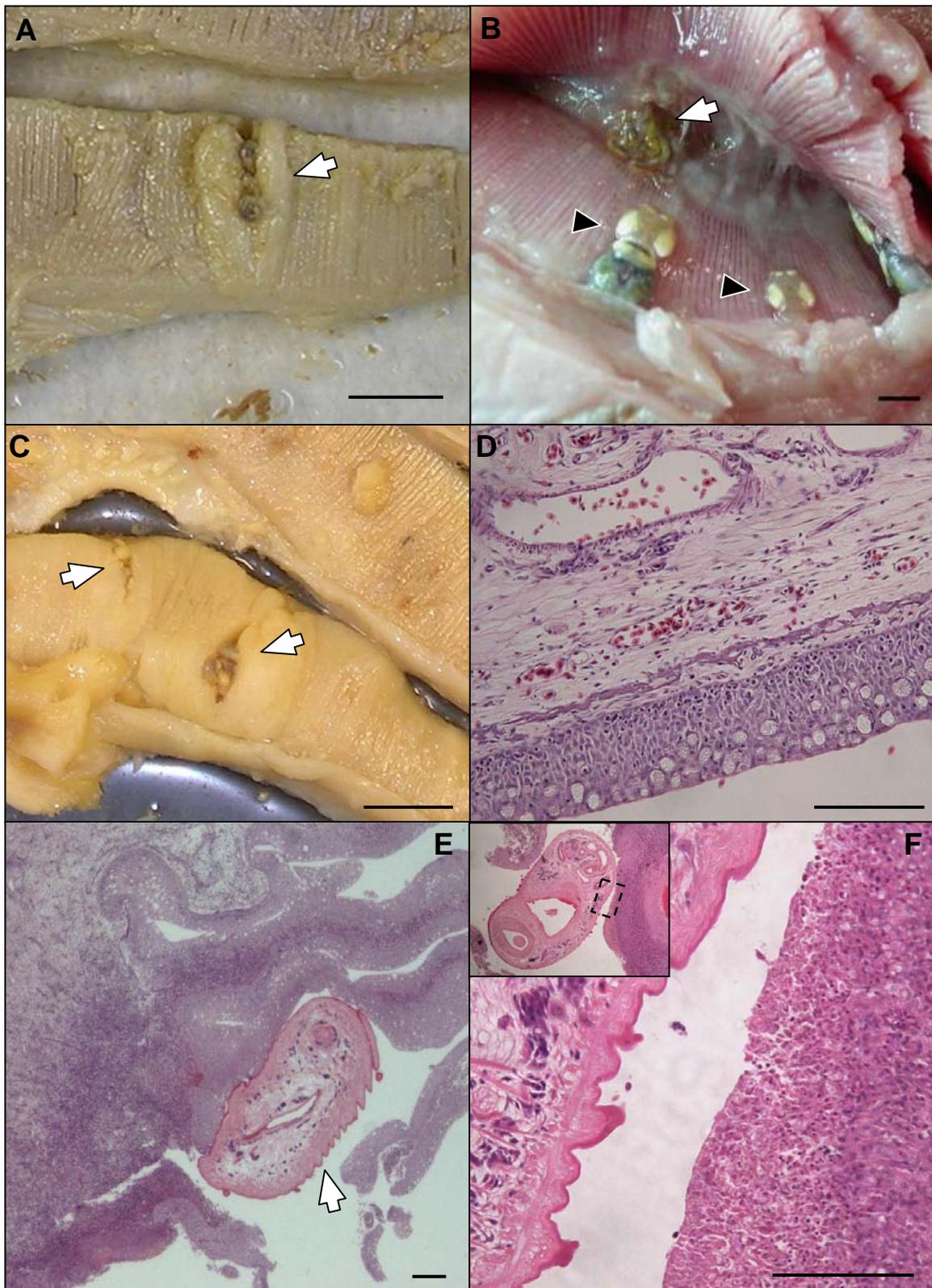


Figura 5.3. Patologías asociadas a *Accacoeilium contortum* en branquias y faringe de pez luna, *Mola mola*. A, agrupación de *A. contortum* en branquias; B, agrupación de *A. contortum* entre los dientes faríngeos (las puntas de flecha negra señalan a *Cecrops latreilli* en branquias); C, dos agrupaciones de *A. contortum* en dos zonas diferentes de la misma branquia; D, branquia “sana” sin parásitos ni lesiones; E, repliegues papilares rodeando a (**continúa en página siguiente**)

Fig. 5.3. (cont.) *A. contortum*; F, zona de contacto entre parásito y branquia sin epidermis. *A. contortum* está señalado con flechas blancas. Cortes teñidos con H.E. (figs., D-F). Escalas: 1 cm, en A; 2 cm, en B y C; 100 μ m, en D y F; y 0,2 mm, en E.

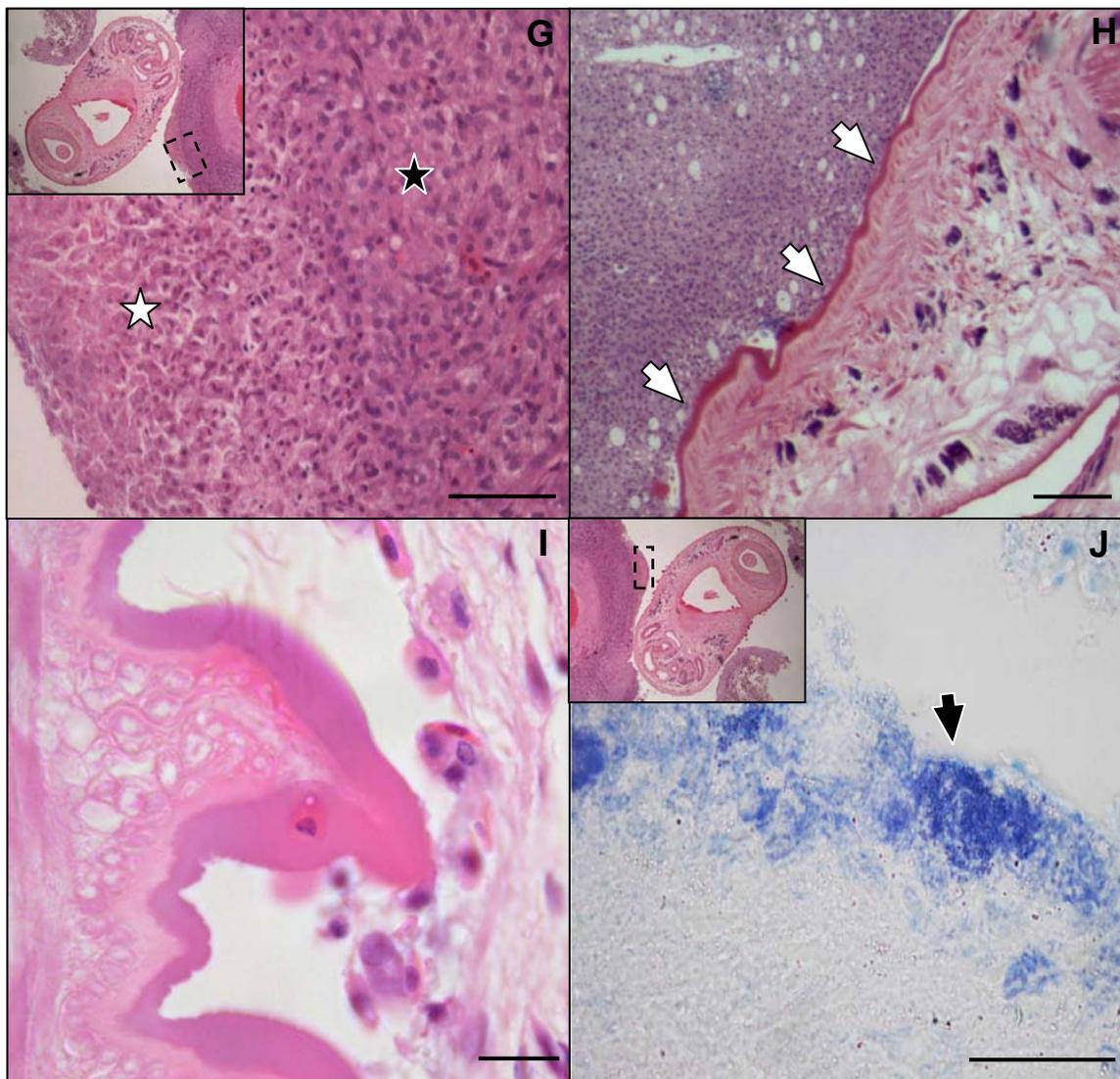


Figura 5.3. (cont. 1) Patologías asociadas a *Accacoeilium contortum* en branquias. G, respuesta inflamatoria (estrella blanca) en la zona de contacto en branquias asociada a *A. contortum*, con zonas de epitelio branquial adyacente necrosadas (estrella negra); H, zona de contacto del parásito con la branquia, con película acelular rodeando al tegumento; I, detalle de la película acelular en una papila tegumentaria del parásito; J, colonias bacterianas (flecha negra) marcadas con tinción Giemsa en la zona de contacto de la branquia con el parásito. Las flechas blancas señalan la película acelular que se encuentra sobre el tegumento del parásito. Cortes teñidos con H.E. (figs., G-I). Escalas: 100 μ m, en H; 50 μ m, en G y J; y 10 μ m, en I.

En el epitelio faríngeo también se observaron notables alteraciones de los tejidos afectados: proliferaciones, erosión y ulceración epitelial (fig. 5.4). El epitelio mostraba hiperplasia y necrosis (ver fig. 5.4B), y los parásitos quedaban encajados entre las proliferaciones del tejido (fig. 5.4B). En el epitelio próximo a los parásitos se apreció

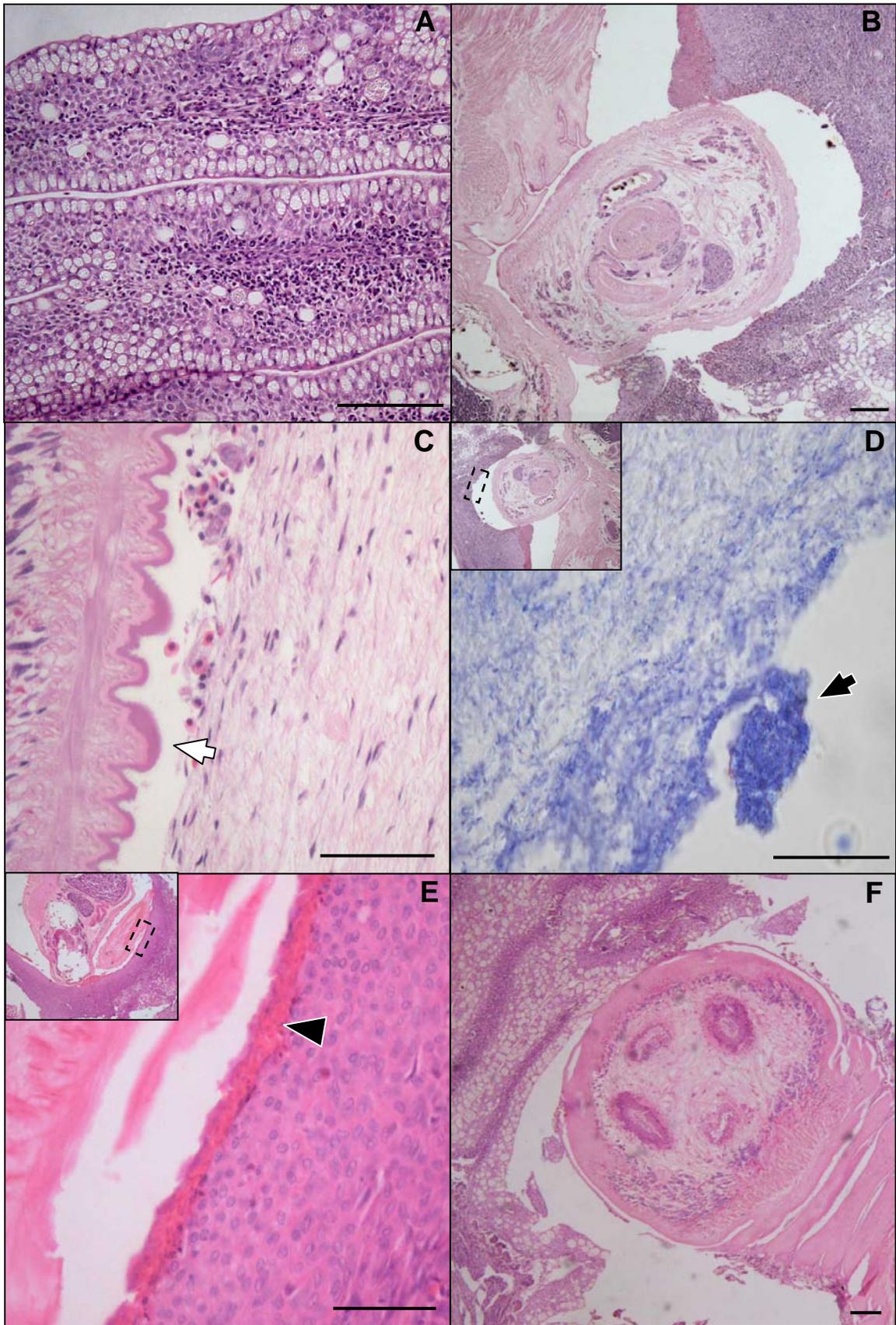


Figura 5.4. Patologías asociadas a *Accacoelium contortum* en faringe de pez luna, *Mola mola*. A, epitelio faríngeo “sano” sin parásitos; B, *A. contortum* encajado en una invaginación de tejido; C, detalle de la zona de contacto entre el parásito y la faringe, con (continúa en página siguiente)

Fig. 5.4. (cont.) película acelular rodeando al parásito (flecha blanca); D, colonias bacterianas (flecha negra) marcadas por tinción Giemsa, en una zona de contacto de la faringe con el parásito; E, paraqueratosis (punta de flecha negra) en algunas zonas de tejido faríngeo en contacto con *A. contortum*; F, zona de contacto de la faringe con la parte posterior del cuerpo del parásito mostrando epitelio normal. Cortes teñidos con H.E. (figs., A-C y E-F). Escalas: 100 μ m, en A; 0,1 mm, en B y F; y 50 μ m, en C y D.

paraqueratosis (fig. 5.4E). Las acumulaciones de queratina fueron más notables en el epitelio que contactaba con la zona anterior y media de los parásitos, mientras que cerca de la zona posterior el epitelio era aparentemente normal (fig.5.4F). Los parásitos de la faringe también presentaban la película acelular sobre el tegumento (fig. 5.4C). También aquí se observaron colonias bacterianas mediante la tinción de Giemsa (fig. 5.4D).

-Patologías asociadas a *Reniforma squamata*

Reniforma squamata estaba presente en el 14,3 % de los peces (I.M. \pm D.T.= 2,3 \pm 2,0): el 83,3 % de los peces infectados tenían parásitos en branquias (fig. 5.5A) (I.M. \pm D.T.= 2,4 \pm 2,1) y el 33,3 % de los peces infectados tenían parásitos en pseudobranquias (fig. 5.5B) (I.M. \pm D.T.= 1,0 \pm 0,0). En algunas ocasiones se encontraron varios individuos en un mismo pez, a veces en las mismas branquias o pseudobranquias (ver fig. 5.5C). Aunque se encontró más *R. squamata* en branquias derechas (Tabla 5.2.), no se observó una diferencia significativa entre la parasitación de las branquias derechas e izquierdas (Wilcoxon, Z=-1,70; p>0,05). En las branquias los parásitos se localizaban en el lado eferente de las laminillas primarias (98 %) (ver fig. 5.5A) y en el arco branquial (2 %) (ver fig. 5.5C).

A nivel macroscópico se observaban a los parásitos en los lados eferentes de las laminillas o en los arcos branquiales, dentro de cápsulas rodeadas de epitelio branquial. El tamaño de las cápsulas era diferente según su ubicación: las cápsulas situadas en los arcos de branquias y pseudobranquias y en las laminillas primarias de las pseudobranquias eran más grandes (16,6 \pm 9,0 x 6,7 \pm 5,9) que las de las laminillas primarias de las branquias (9,9 \pm 1,4 x 4,1 \pm 3,0) (figs. 5.5A-C). Los tejidos del pez próximos a las cápsulas de los parásitos tenían una apariencia y coloración normal. La única alteración observada macroscópicamente era alguna ligera desviación o engrosamiento de las laminillas branquiales afectadas (ver fig. 5.1C). También se podía observar desviación en laminillas contiguas normalmente desplazadas por la presencia del parásito.

El estudio de los cortes histológicos reflejó que dentro de la cápsula del parásito no existía ni la capa interna de secreción acelular del parásito, ni la capa externa fibrosa,

Tabla 5.2. Número de cápsulas de *Reniforma squamata* en las branquias de pez luna, *Mola mola*. Los datos se indican de forma conjunta y separadamente según el lado de la cámara branquial (derecho o izquierdo) que ocupaban y si se encontraban en las hemibranquias (H.B.) anteriores o posteriores.

| Cápsulas <i>R. squamata</i> | Branquias derechas | | Branquias izquierdas | |
|-----------------------------|--------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | H.B. anterior | H.B. posterior | H.B. anterior | H.B. posterior |
| Branquia I | 0 | 2 | 1 | 1 |
| Branquia II | 4 | 0 | 0 | 0 |
| Branquia III | 2 | 1 | 0 | 0 |
| Branquia IV | 3 | 3 | 2 | 1 |
| Total hemibranquia | 9 | 6 | 3 | 2 |
| Total branquias | 15 | | 5 | |

secretada por el hospedador. El epitelio circundante a las cápsulas de *R. squamata* estaba ensanchado, presentando un grosor mayor en la zona del pedúnculo que unía el parásito a la branquia ($54,8 \pm 2,4 \mu\text{m}$; ver fig. 5.5D) y un menor grosor en las zonas más alejadas del pedúnculo ($29,3 \pm 1,9 \mu\text{m}$; fig. 5.5E). El epitelio en estas zonas estaba ligeramente hiperplasiado. En los tejidos branquiales que contactaban con el pedúnculo existían interdigitaciones entre los tejidos del parásito y el epitelio de la branquia del pez, con vasos sanguíneos (fig. 5.5F y G). Los vasos de las interdigitaciones se adentraban en la cápsula, entre las circunvoluciones del parásito, formando una vascularización con venas y arteriolas de $78,2 \pm 3,7$ de diámetro máximo y $46,5 \pm 5,7$ de diámetro mínimo (fig. 5.5G). En algunos casos se observó que la lámina basal de estos vasos estaba fenestrada con muchas perforaciones. En general existía poco tejido parenquimático larvario del parásito, excepto en la zona del pedúnculo donde era ligeramente más abundante. El tegumento del parásito estaba rodeado externamente por una gran cantidad de microvellosidades (fig. 5.5H e I, rasgo morfológico también comentado en el apartado 4.4.2). Se observó poca reacción inflamatoria, tan sólo en zonas del tejido alejadas del parásito. La tinción Giemsa no reveló la presencia de ninguna infección bacteriana secundaria.

Como se describió en el *Capítulo 4*, apartado 4.4.2, en los cortes histológicos también se ha localizado la presencia de ejemplares juveniles de didimozoides, probablemente *R. squamata*, ya que es el único didimozoido encontrado en La Azohía (Cartagena), y ser la única especie de esta familia encontrada en branquias en este estudio. En este caso, como se observa en la figura 5.5J los parásitos se encontraban bajo la epidermis branquial, sin ningún tipo de alteración o respuesta inflamatoria aparente. El tegumento de los juveniles también presentaba microvellosidades externas (ver fig. 4.4.2.2D del apartado 4.4.2).

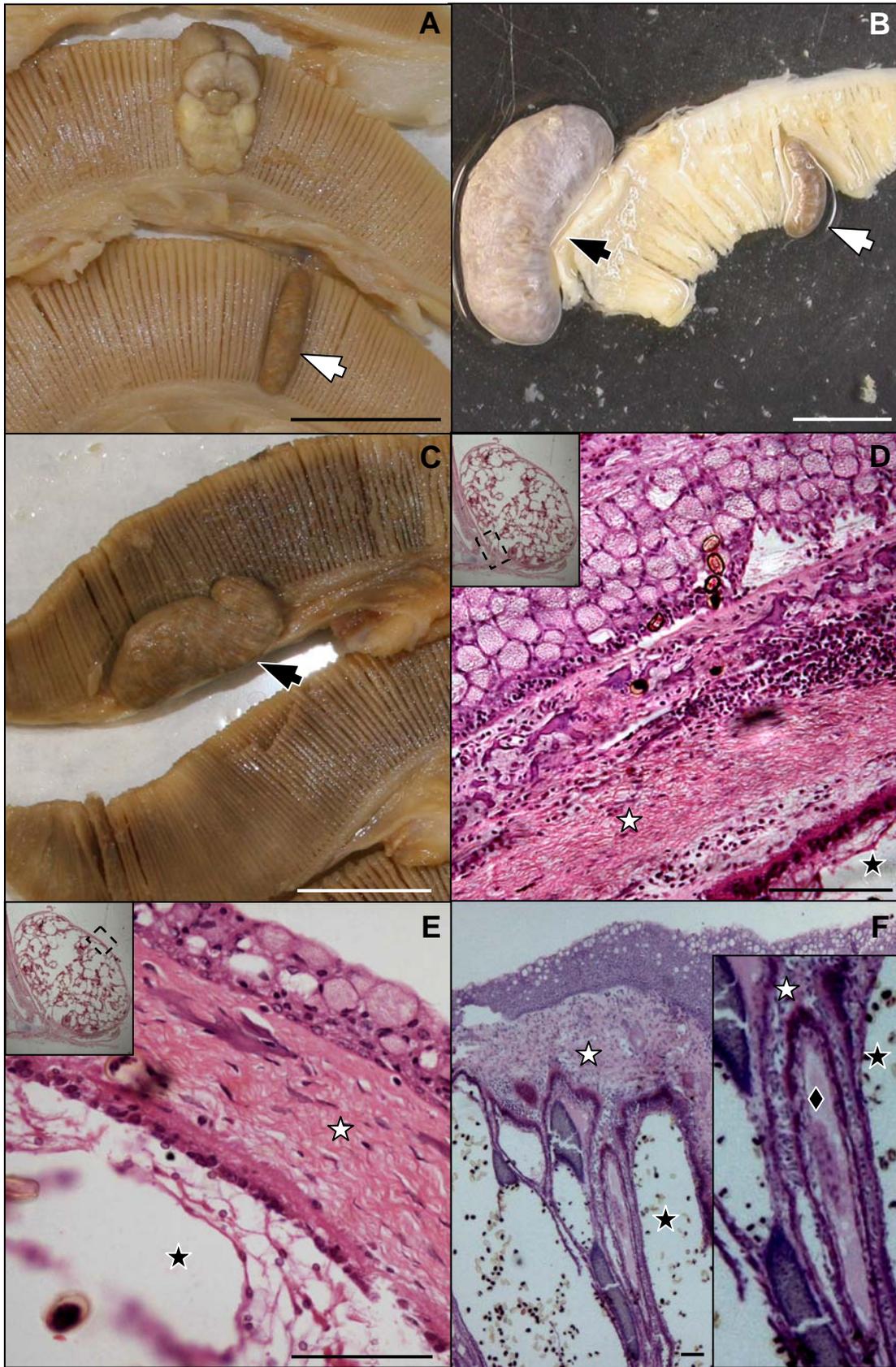


Figura 5.5. (pie de figura en página siguiente)

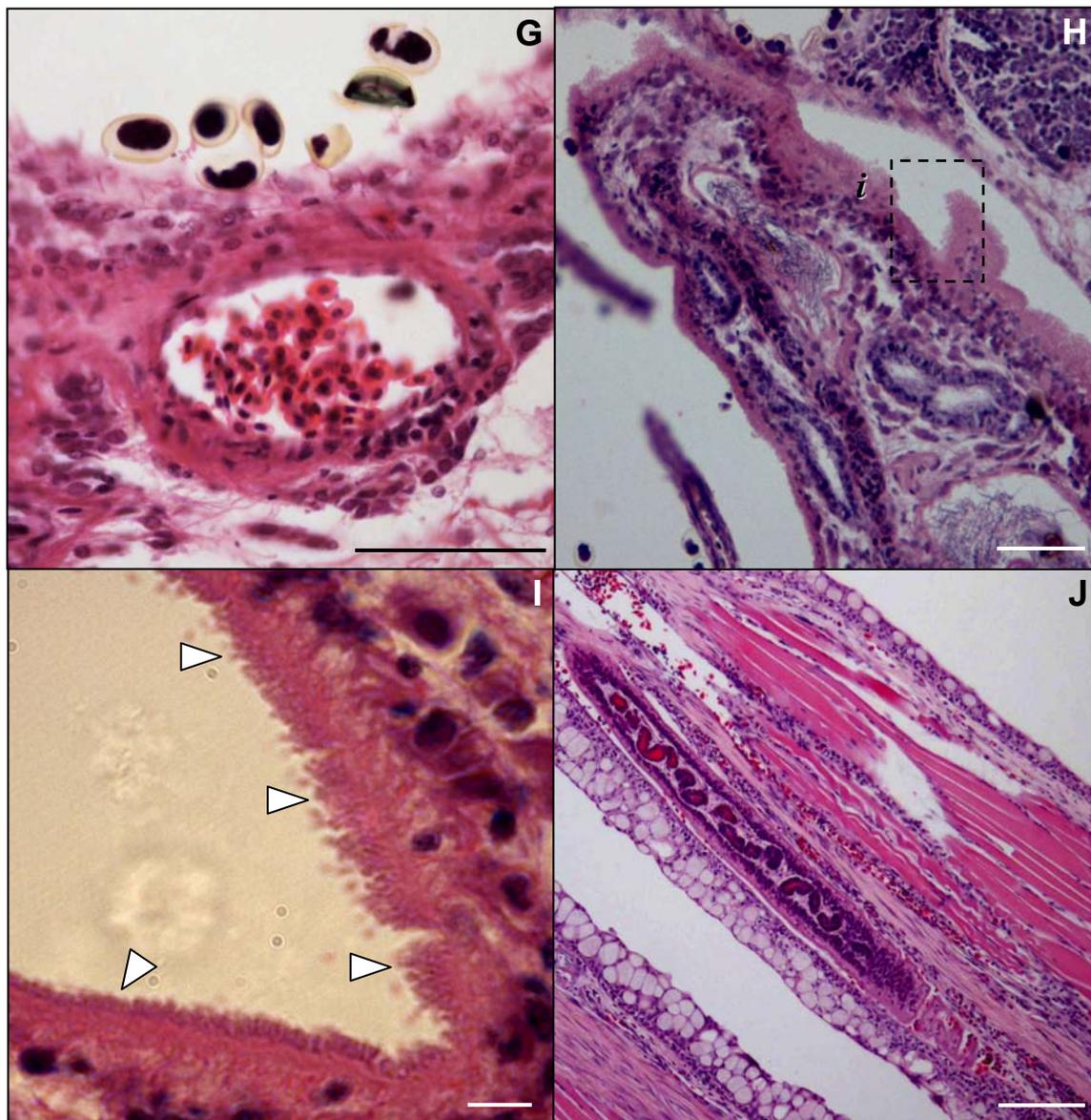


Figura 5.5. Patologías asociadas a *Reniforma squamata* en pez luna, *Mola mola*. A-C, *R. squamata* en filamentos branquiales (flechas blancas) y arcos branquiales (flechas negras): A y C en branquias; B, en pseudobranquias; D, zona de contacto del parásito y la branquia, en la zona del pedúnculo, con epitelio engrosado; E, zona de contacto del parásito y la branquia alejada del pedúnculo, con epitelio más fino; F, interdigitaciones del epitelio de la branquia y el parásito, a la altura del pedúnculo, con detalle de interdigitación vascularizada; G, detalle de vaso sanguíneo entre las circunvoluciones formadas por el parásito; H, detalle región anterior del parásito con el tegumento cubierto de microvellosidades (*i* indica la zona detallada en la figura I); I, detalle de las microvellosidades (cabezas de flecha blancas) del tegumento del parásito; J, post-larva del parásito (cabeza de flecha negra) bajo la epidermis branquial. Las estrellas negras señalan al útero del parásito, las estrellas blancas a los tejidos del hospedador y los rombos negros a los vasos sanguíneos del hospedador. Cortes teñidos con H.E. (figs., D-J). Escalas: 2 cm, en A y C; 1 cm, en B; 50 μ m, en D, E, G y H; 0,1 mm, en F; 10 μ m, en I; y 100 μ m, en J.

-Patologías asociadas a *Cecrops latreilli*

El 93,4 % de los peces presentaba *Cecrops latreilli* en branquias (I.M.±D.T.= 5,1±3,4). No se observaron a los copépodos ni en el arco branquial ni en pseudobranquias. Se recolectaron 251 hembras adultas, 138 machos adultos y 112 *chalimi*. Del total de machos adultos, 38 fueron localizados en postura de cópula con hembras adultas (ver *Capítulo 4*, apartado 4.6, fig. 4.6.12A). La localización de estos parásitos fue, principalmente, el lado eferente de las laminillas primarias (fig. 5.6A), encontrándose solamente 3 *chalimi* en el lado aferente, entre las hemibranquias. Se observó diferencia significativa entre la parasitación de las branquias derechas e izquierdas (Wilcoxon, $Z=-2,58$; $p<0,05$;) (más en branquias derechas, ver Tabla 5.3), pero no se observó diferencia significativa entre la parasitación de las hemibranquias anteriores y posteriores (Wilcoxon, $Z=-1,61$; $p>0,05$). Sí que se observó diferencia significativa entre las cuatro zonas del eje antero-posterior (Friedman, $\chi^2=32,49$; $p<0,05$; g.l.=3, con *post hoc* de Bonferroni), siendo la zona 3 preferente para la fijación de los parásitos. También se observó diferencia significativa entre los tres sectores (basal, media y apical) en los que se dividieron las laminillas branquiales (Friedman, $\chi^2=91,58$; $p<0,05$; g.l.=2 con *post hoc* de Bonferroni) siendo el sector basal preferente. Los copépodos localizados en la zona apical siempre fueron machos adultos o fases *chalimi* (fig. 5.6B). A menudo se encontraron varios individuos juntos en laminillas branquiales adyacentes (fig. 5.6A y B), con el mismo o diferente grado de desarrollo, excepto en el caso de los machos adultos, que nunca se encontraron juntos.

Tabla 5.3. Número de *Cecrops laterilli* en las branquias de pez luna, *Mola mola*. Los datos se indican de forma conjunta y separadamente según el lado de la cámara branquial (derecho o izquierdo) que ocupaban y si se encontraban en las hemibranquias (H.B.) anteriores o posteriores.

| <i>Cecrops latreilli</i> | Branquias derechas | | Branquias izquierdas | |
|---------------------------|--------------------|----------------|----------------------|----------------|
| | H.B. anterior | H.B. posterior | H.B. anterior | H.B. posterior |
| Branquia I | 48 | 10 | 25 | 28 |
| Branquia II | 48 | 26 | 21 | 28 |
| Branquia III | 22 | 51 | 25 | 25 |
| Branquia IV | 14 | 68 | 33 | 29 |
| Total hemibranquia | 132 | 155 | 104 | 110 |
| Total branquias | 287 | | 214 | |

Los parásitos eran muy evidentes a simple vista, con el cuerpo siempre en paralelo a las laminillas branquiales y el cefalotórax orientado hacia el arco branquial, en todos los estadios del copépodo. A nivel macroscópico, al retirar a los copépodos, las branquias parasitadas presentaron perforaciones circulares asociadas a las estructuras de anclaje de

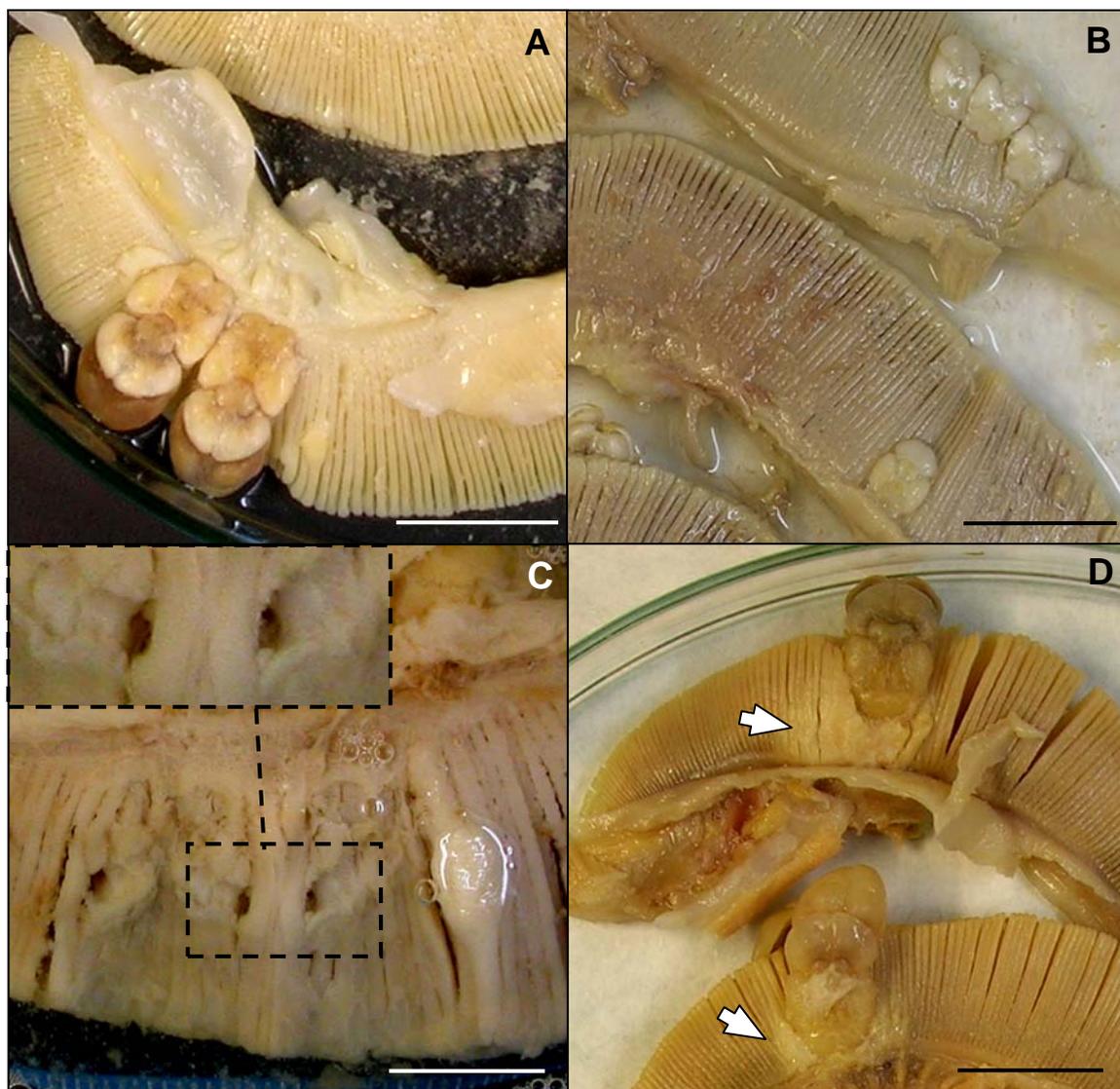


Figura 5.6. Patologías asociadas a *Cecrops latreilli* en branquias de pez luna, *Mola mola*, a nivel macroscópico. A, dos hembras adultas juntas en la misma branquia; B, estadios *chalimi* en diferentes branquias (un ejemplar solo en una branquia y tres ejemplares juntos en otra); C, zona de la branquia afectada por *C. latreilli*, con detalle de las perforaciones observadas al retirar a los parásitos; D, fusión y desorganización lamelar (flechas blancas) en zonas de branquia próximas a hembras adultas. Escalas: 2 cm.

los parásitos: antenas y maxilípedos (fig. 5.6C). Las zonas situadas bajo los parásitos, especialmente bajo las hembras, presentaban una coloración pálida y un epitelio aparentemente engrosado. Solo para el caso de las hembras se pudieron encontrar alteraciones como engrosamiento y desorganización del epitelio de las laminillas primarias, tanto bajo los copépodos como en las zonas próximas (fig. 5.6D).

A nivel histológico, se observaron diferentes alteraciones dependiendo de la zona del parásito próxima a los tejidos del pez y del sexo y grado de desarrollo del parásito. En el caso de las branquias afectadas por los estadios *chalimi* y los machos (figs. 5.7A

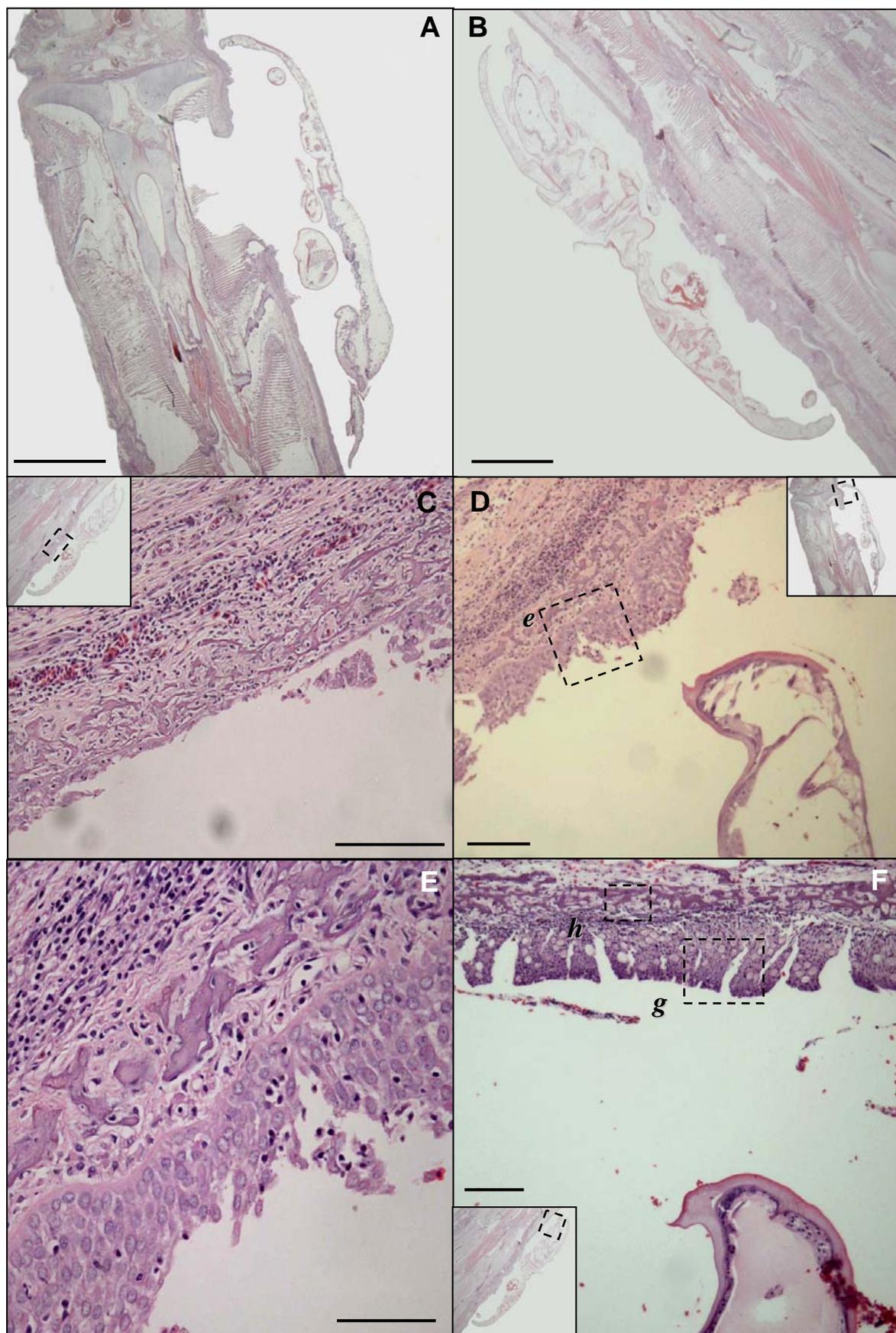


Figura 5.7. (pie de figura en página siguiente).

Figura 5.7. Patologías asociadas a *Cecrops latreilli* en branquias de pez luna, *Mola mola*. A, estadio *chalimus* de *C. latreilli* sobre branquias; B, macho adulto de *C. latreilli* sobre branquias; C, zona de la branquia próxima al maxilípedo de un macho adulto con la dermis descubierta; D, zona de la branquia próxima a la altura del cono bucal de un estadio *chalimus* (*e*, indica la zona detallada en la figura E); E, detalle de la zona del epitelio próxima al cono bucal del estadio *chalimus* donde se observa el desprendimiento de células mucosas; F, zona de la branquia próxima al cono bucal de un macho adulto (*h* y *g* indican las zonas detalladas en las figuras H y G, respectivamente). Cortes teñidos con H.E. Escalas: 4 mm, en A y B; 100 μm , en C, D y F; y 50 μm , en E.

y B, respectivamente) en la zona del cefalotórax, a la altura del maxilípedo, había destrucción de los estratos superiores de la epidermis, quedando la dermis más o menos descubierta (fig. 5.7C). En la zona donde se ubicaría el cono bucal de los estadios *chalimi*, se observó hiperplasia de la epidermis, con zonas de desprendimiento de células mucosas (figs. 5.7D y E). En la zona donde se ubicaría el cono bucal de los machos también se observó hiperplasia de la epidermis, pero con un menor deterioro general (figs. 5.7F y G). En las dermis de las zonas próximas al cono bucal de *chalimi* y machos, se apreciaba una respuesta inflamatoria superficial y localizada, con infiltración mixta (linfocitos y macrófagos; fig. 5.7H). En la zona de contacto con la parte posterior de estos estadios (abdomen y segmento genital), el grosor y aspecto del epitelio braquial era aparentemente normal (fig. 5.7I). En el caso de las regiones afectadas por hembras de *C. latreilli*, existía también destrucción de los estratos superiores del epitelio próximo a los maxilípedos del parásito, con pérdida o ausencia de células mucosas. En la zona del cono bucal (figs. 5.7J y K) existía hiperplasia de la epidermis y respuesta inflamatoria mixta, más potente y extendida que en el caso de los estadios *chalimi* y de los machos (ver fig. 5.7K). En la zona posterior de las hembras se observaba que el epitelio estaba hiperplasiado (grosor de 83,4–166,8 (133,1 \pm 36,8) μm , en el epitelio branquial afectado, respecto a 68,5–81,5 (75,0 \pm 7,7) μm , en epitelio sano) con un gran número de células mucosas (fig. 5.7L). En los cortes a la altura de la zona del digestivo de las hembras pudieron identificarse eritrocitos del pez luna (fig. 5.7M y N). La tinción Giemsa no reveló la presencia de infecciones secundarias en ninguno de los casos.

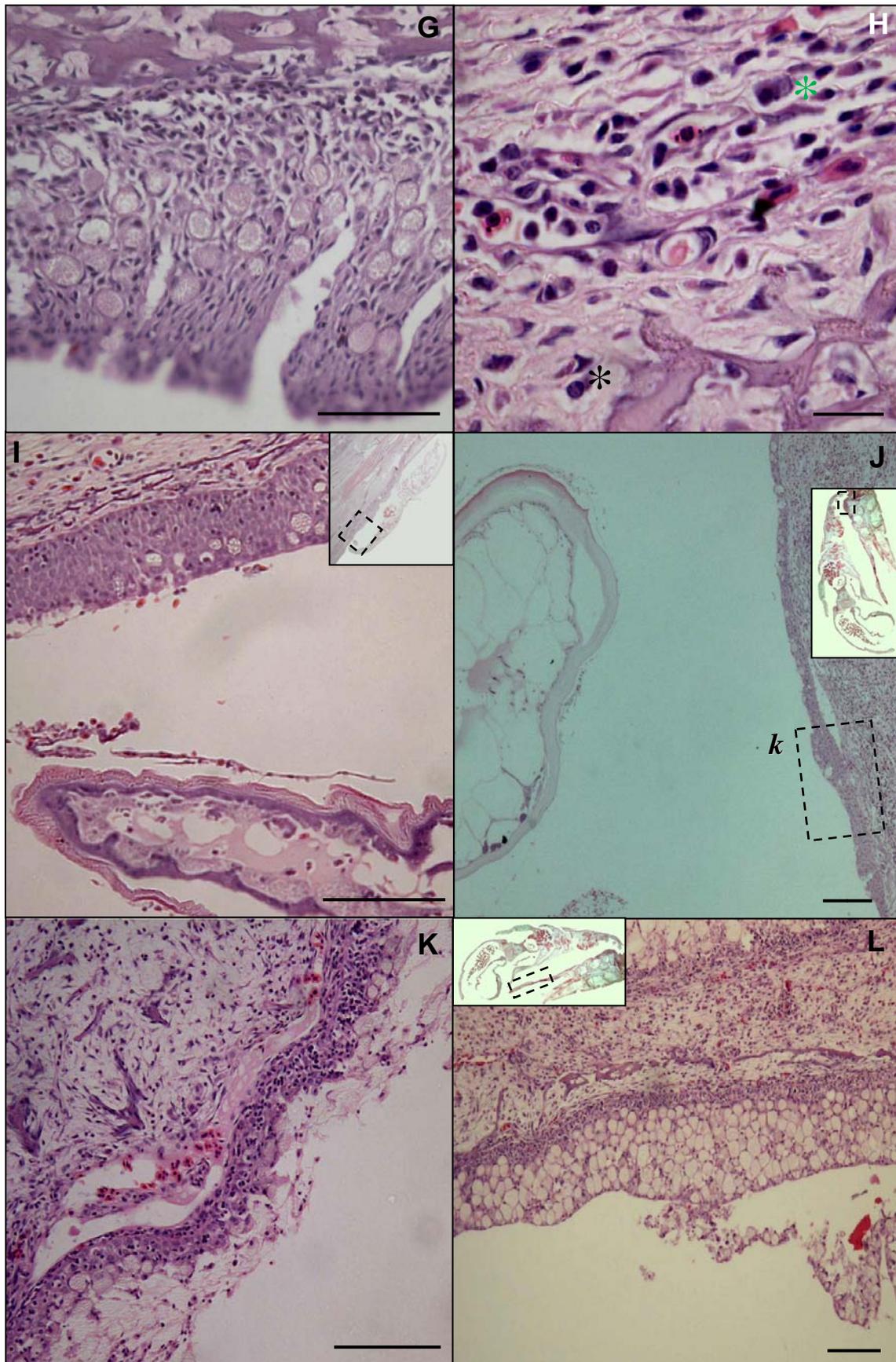


Figura 5.7. (cont. 1). Patologías asociadas a *Cecrops latreilli* en branquias de pez luna, *Mola mola*. G, detalle de la zona de la epidermis próxima al cono bucal (**continua en página siguiente**)

Fig. 5.7 (cont.) de un macho adulto donde se observan células mucosas; H, respuesta inflamatoria mixta asociada a la acción del cono bucal de un macho adulto; I, zona de epitelio branquial normal próxima a la zona posterior de un macho adulto; J, zona de epitelio próxima al cono bucal de una hembra adulta (*k*, indica la zona detallada en la figura K); K, detalle de la zona branquial próxima al cono bucal de la hembra adulta, con hiperplasia y respuesta inflamatoria; L, detalle de la zona branquial próxima a la zona posterior de la hembra, con epitelio engrosado y numerosas células mucosas. Asterisco negro: linfocito; asterisco verde: macrófago. Cortes teñidos con H.E. Escalas: 50 μ m, en G y H; 100 μ m, en I, K y L; y 0,2 mm, en J.

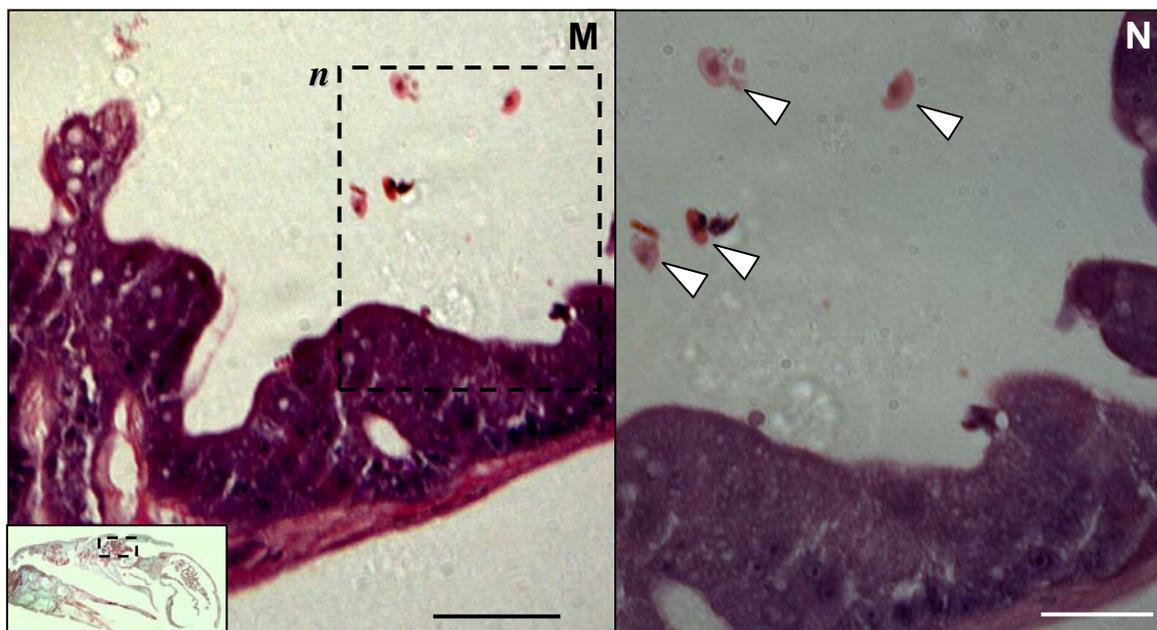


Figura 5.7. (cont. 2). Patologías asociadas a *Cecrops latreilli* en branquias de *Mola mola*. M, sección de los pliegues del digestivo de una hembra adulta con eritrocitos del pez luna (*n*, indica la zona detallada en la figura N); N, detalle de los eritrocitos (cabezas de flecha blancas) del hospedador en el digestivo de una hembra adulta. Cortes teñidos con H.E. Escalas: 50 μ m.

-Patologías sin parásito

En numerosas ocasiones se encontraron lesiones branquiales de diferente magnitud en las que no se hallaron parásitos ni ningún otro agente infeccioso asociado. Macroscópicamente se apreciaron dos tipos de lesiones: *tipo 1*) abultamientos de gran tamaño con notable desorganización tisular y *tipo 2*) áreas con proliferación epitelial poco abultadas. La lesión *tipo 1* era similar a la producida por *Accacoelium contortum*, afectando a varias laminillas branquiales y, en ocasiones, al arco branquial (fig. 5.8A), con malformaciones, perforaciones y desorganización de tejidos. En ocasiones se observó una leve proliferación epitelial y palidez en las áreas próximas de las branquias contiguas (flecha negra en la fig. 5.8A). La lesión *tipo 2*, generalmente de menor tamaño, también presentaba una desorganización y proliferación de tejidos de menor grado (fig. 5.8B), pero sin perforaciones. Las zonas de la branquia afectadas por lesiones sin parásito

medían $1,9 \pm 0,9$ cm x $1,7 \pm 1,0$ cm (n= 10). No se observó diferencia significativa entre el número de lesiones de las branquias derechas y las izquierdas (Wilcoxon, $Z=-1,36$; $p>0,05$, Tabla 5.4).

Tabla 5.4. Número de patologías sin parásito observadas en las branquias de pez luna, *Mola mola*. Los datos se indican conjunta y separadamente según el lado de la cámara branquial (derecho o izquierdo) que ocupaban y si se encontraban en las hemibranquias (H.B.) anteriores o posteriores.

| Patologías sin parásito | Total branquias derechas | | Total branquias izquierdas | |
|-------------------------|--------------------------|----------------|----------------------------|----------------|
| | H.B. anterior | H.B. posterior | H.B. anterior | H.B. posterior |
| Branquia I | 9 | 8 | 8 | 3 |
| Branquia II | 1 | 1 | 2 | 3 |
| Branquia III | 1 | 3 | 2 | 7 |
| Branquia IV | 5 | 4 | 11 | 13 |
| Total hemibranchia | 16 | 16 | 23 | 26 |
| Total branquias | 32 | | 49 | |

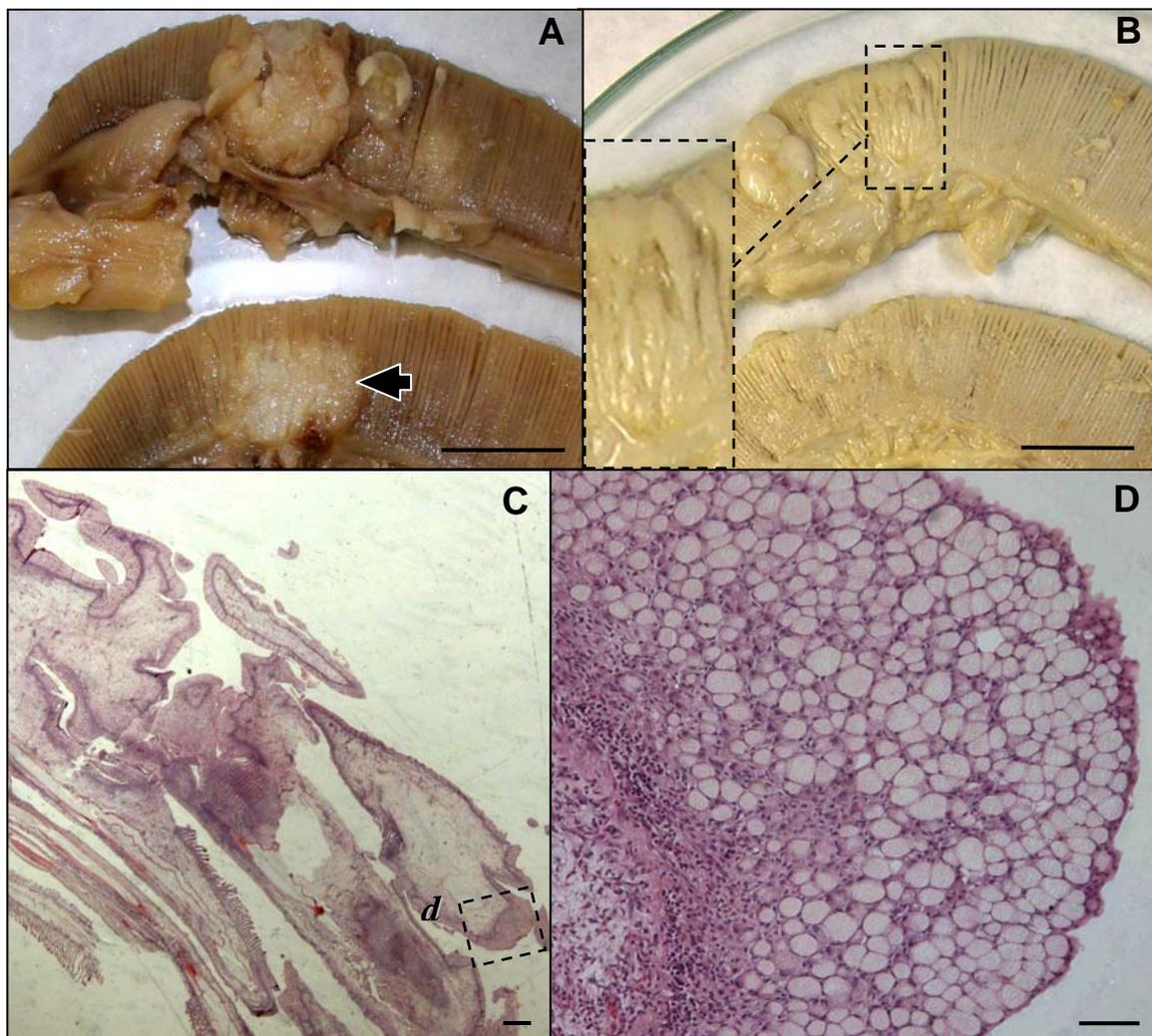


Figura 5.8. Patologías sin parásitos en branquias de pez luna, *Mola mola*. A, abultamientos con malformación y desorganización morfológica de una branquia, que afectan a la branquia contigua (flecha negra); B, lesión (detalle en recuadro) sin abultamiento (**continúa en página siguiente**)

Fig. 5.8. (cont.) pero con desorganización y fusión lamelar; C, vista general de una sección de patologías sin parásito en corte histológico, el recuadro (d) marca una zona hiperplasiada detallada en la figura D; D, detalle de la hiperplasia en el epitelio de una patología sin parásito. Cortes teñidos con H.E. (figs. C y D). Escalas: 2 cm, en A y B; 2 mm, en C; y 0,1 mm, en D.

A nivel histológico, las lesiones presentaban hiperplasias epiteliales y fusión lamelar (más evidente en las lesiones de *tipo 1* pero no se observaban desprendimientos de epitelio ni respuestas inflamatorias (figs. 5.8C y D). La tinción Giemsa no reveló la presencia de infecciones secundarias.

5.4. Discusión

El presente estudio ha evidenciado la notable susceptibilidad de la cámara branquial del pez luna a ser parasitada por numerosos agentes infecciosos, a pesar de que los animales infectados estaban aparentemente sanos. Resulta llamativo el hecho de que se encontrara un mayor número de parasitosis en las branquias derechas (en número total y para *Accacoelium contortum* y *Cecrops latreilli*, por separado). Esta desproporción no es habitual entre los parásitos branquiales de peces, ya que se trata de animales de simetría bilateral. Existen sin embargo algunos casos en los que sí se ha detectado diferentes tipos de parásitos con preferencia por alguno de los lados de la cámara branquial (p. ej., monogéneos, Wootten, 1974, Turgut *et al.*, 2006, o copépodos, Lo y Morand, 2001). Al igual que sucedía en estos estudios, resulta difícil encontrar los motivos anatómicos que pueden llevar a que existan estas preferencias. Una posible explicación podría estar relacionada con el comportamiento de los hospedadores. Los peces luna tienden a inclinar su cuerpo hacia un lado mientras se encuentran en la columna de agua (Schwartz y Lindquist, 1987; Sims y Southall, 2002; Houghton *et al.*, 2006; Houghton *et al.*, 2009) o descansando en la superficie (Schwartz y Lindquist, 1987; Cartamil y Lowe, 2004; Pope *et al.*, 2010). Según Houghton *et al.* (2009) parece además existir una cierta tendencia a inclinarse preferentemente hacia la izquierda. Esta asimetría funcional podría, de alguna manera, afectar de forma diferente a los parásitos branquiales de cada lado. Sin embargo, el hecho de que no se hayan encontrado diferencias entre la abundancia de parásitos del lado izquierdo y derecho de la piel (ver *Capítulo 4*, apartado 4.4.4), no apoyaría esta hipótesis.

-La cámara branquial como hábitat

La particular distribución de cada una de las especies encontradas indica su diferente preferencia por las regiones de la cámara branquial. El hecho de que no aparecieran diferentes especies de parásitos en la misma ubicación parece indicar que la acción parásita provoca alteraciones de los tejidos infectados que los hacían inviables para otras parasitaciones, al menos temporalmente. La mayoría de agrupaciones de *Accacoelium contortum* se encontraban en las branquias, pero los grupos de parásitos eran más numerosos en faringe que en branquias. Esto puede estar relacionado con la diferente capacidad de cada tipo de hábitat para albergar a esta especie. *A. contortum* necesita espacios resguardados, ya que, como se comentó en el *Capítulo 4*, apartado 4.4.1, son parásitos de morfología poco adaptada al anclaje en superficies externas. A pesar de que la superficie branquial es mayor que la faríngea, las laminillas branquiales son estructuras estrechas, no cohesionadas y, a pesar de las malformaciones e hipertrofias, ofrecen cobijos poco espaciosos para *A. contortum*. Por contra, en la faringe hay capas de tejidos más gruesas y amplias, en las que *A. contortum* puede producir abultamientos y erosiones profundas que creen cobijos más amplios que alberguen más individuos. La mayoría de las lesiones sin parásito, por el tipo de lesión observada, parecen deberse a la anterior presencia de grupos de *A. contortum* que, con el tiempo, irían cicatrizando. Respecto a *Reniforma squamata*, como ya se ha comentado previamente, el tamaño que alcanzaron sus cápsulas era mayor en arcos de branquias y pseudobranquias y laminillas primarias de pseudobranquias que en las laminillas primarias de las branquias. Esta diferencia podría deberse a que el parásito tiene más espacio para crecer en las tres primeras ubicaciones, ya que las cuatro branquias y las laminillas branquiales están unidas íntimamente entre sí, lo que podría limitar el crecimiento del didimozoido. Por último, *Cecrops latreilli* fue encontrado exclusivamente sobre las branquias. Se trata del único copépodo encontrado en la cámara branquial, a pesar de que muchos ejemplares de *Lepeophtheirus nordmanni* fueron también recolectados en la cavidad bucal (ver *Capítulo 4*, apartado 4.4.4). *C. latreilli* fue hallado, principalmente, en el lado eferente de las laminillas primarias. Sólo, tres individuos en estadio *chalimi* fueron recolectados entre las dos hemibranchias de una branquia, por lo que esta zona estrecha no parece propicia, excepto para algunos individuos pequeños (ver *Capítulo 4*, apartado 4.6, medidas de *chalimi*). Esta ubicación sería especialmente desfavorable para los machos y hembras adultos, ya que es un sitio demasiado estrecho para la cópula de machos y hembras.

-Estudio comparado de las patologías branquiales

Las tres especies de parásitos ubicadas en la cámara branquial de los peces luna presentan tres modos de anclaje y hábitat diferentes y, por tanto, provocan tres tipos de alteración diferentes. Las lesiones más leves las provocaría *Reniforma squamata*, seguido de *Cecrops latreilli* y por último *Accacoelium contortum* que provocaría una alteración más notable.

R. squamata está ubicado en cápsulas bajo los epitelios branquiales, y no parece provocar respuestas notables en el hospedador. No se trata de un verdadero quiste, ya que los parásitos están en contacto íntimo con los tejidos de los peces y no se aprecia ni la capa externa fibrosa secretada por el hospedador, ni la secreción interna acelular producida por los parásitos que forman quiste verdadero (Perera, 1994). A pesar de formar grandes cápsulas muy vascularizadas, los parásitos están protegidos y sostenidos por los tejidos branquiales. La neovascularización es muy común en los didimozoides (Marino *et al.*, 2003), incluyendo el caso de Gonapodasminae gen. n. sp. n. descrita en el *Capítulo 4*, apartado 4.3.1 de esta tesis. Las venas y arteriolas implicadas presentaban una lámina basal fenestrada que podría favorecer el paso de nutrientes al parásito. Las microvellosidades en el tegumento del parásito, descritas por primera vez en este estudio, incrementarían la superficie de absorción de nutrientes procedentes del hospedador.

Se encontraron algunas lesiones leves en tejidos próximos al pedúnculo que une a *R. squamata* a la branquia, debido seguramente a la presión o tensión que éste ejerce al ir aumentando su volumen. Sin embargo, en general, no se encontraron alteraciones o infecciones bacterianas asociadas. Estudios histológicos en otras especies de didimozoides branquiales como *Didymocistis* spp., *Koellikerioides apicalis* Yamaguti, 1970 y algunas especies de la subfamilia Nematobothriinae Ishii, 1935, tampoco mostraron lesiones asociadas, ni degeneración celular, necrosis o respuesta inflamatoria (Perera, 1992; Madlineo, 2006; Di Maio y Madlineo, 2008). Tan solo Madlineo (2006) describió una descamación en el epitelio de la laminilla branquial, en el caso de *D. wedli* Ariola, 1902 en atún rojo, *Thunnus thynnus* (L.).

C. latreilli provocó lesiones mucho más evidentes que las de *R. squamata* en las branquias de los peces luna. En todos los estadios, las mayores lesiones se observaban en la zona de anclaje del maxilípedo, donde estas estructuras perforan y oprimen las laminillas branquiales, produciendo destrucción de los estratos superiores del epitelio. Estos parásitos se enganchan a la branquia utilizando los maxilípedos y, en menor medida, las antenas (Grabda, 1973), por lo que era esperable que fueran estas estructuras

las que produjeran los daños más notables. La gravedad de lesiones asociadas a estos parásitos varió entre los diferentes estadios, especialmente en las zonas próximas a los conos bucales. En esta zona, los estadios *chalimi* y los machos producían una respuesta inflamatoria superficial y localizada, mientras que en las hembras la respuesta era mucho más extendida y profunda. Además, en los estadios *chalimi* y en los machos, la zona branquial de contacto con el cuerpo del copépodo tenía un aspecto normal, mientras que en las hembras se observa una notable disminución del grosor del epitelio. El diferente grado de daño en cada caso podría estar relacionado con el tiempo que cada fase podría llevar anclada y alimentándose en un área determinada de la branquia. En el caso de los estadios *chalimi*, son larvas de más o menos reciente fijación, por lo que el efecto patógeno ha durado poco tiempo. En el macho, esta levedad en las lesiones podría deberse a que éstos se desplazan buscando activamente a las hembras, cambiando de lugar constantemente (ver *Capítulo 4*, apartado 4.6, comentarios y fig. 4.6.13) (Shiino, 1965; Grabda, 1973). Las hembras, mucho más grandes que los machos, se establecerían desde la fase *chalimus* en una localización determinada de la branquias, cerca de la zona basal, donde irían mudando y madurando sin desplazarse (Shiino, 1965; Grabda, 1973), contactando y ejerciendo una acción prolongada sobre los epitelios.

Las observaciones aquí realizadas también pueden aportar algunos datos sobre los hábitos alimenticios de *C. latreilli* durante su desarrollo. En el caso de los estadios *chalimi*, el epitelio branquial de la zona próxima al cono bucal carecía de células mucosas. Esto no sucedía en el caso de los machos y las hembras, donde solo observamos una pérdida parcial de células mucosas en la epidermis próxima al cono bucal. Esta diferente erosión epitelial parece indicar que los estadios *chalimi* son principalmente mucófagos, mientras que los adultos parecen ser más hematófagos. Esta hipótesis está reforzada por haberse encontrado eritrocitos del pez luna dentro del digestivo de hembras adultas. Como también se ha comentado en el *Capítulo 4*, apartado 4.4.4, algunos copépodos ectoparásitos son hematófagos cuando son adultos, mientras que en las fases larvarias tienen hábitos más mucófagos que hematófagos (Scoot, 1901; White, 1942; Voth, 1972; Johannessen, 1975; Brandal *et al.*, 1976).

El único caso similar de patología asociada a copépodos en pez luna es el del cecrópido *Philorthagoriscus serratus*, ubicado en piel (Logan y Odense, 1974). Este parásito habita en oquedades en la piel, en zonas sin hemorragias y con un aspecto normal a simple vista, a pesar de que las oquedades penetran varios milímetros. En el caso de *P. serratus* Logan

y Odense (1979) encontraron una compresión generalizada del epitelio próximo al parásito, mientras que en *C. latreilli* sólo se observa una disminución del tejido en algunas zonas (maxilípedos, cono bucal y zona posterior del cuerpo de las hembras). Las principales lesiones asociadas a *P. serratus* también estaban asociadas a la alimentación y a los apéndices de anclaje: perforaciones de la piel, con compresión y erosión de epidermis y dermis, y hemorragias. Como en el caso de *C. latreilli*, en *P. serratus* se encontró respuesta inflamatoria exclusivamente en la zona del cefalotórax donde se ubicarían los apéndices de alimentación y anclaje. Cerca del cono bucal de *P. serratus* también se denudaba la capa mucosa de la piel, como sucedía en los estadios *chalimi* de *C. latreilli* en la branquia.

Las alteraciones asociadas a *A. contortum* son las más graves observadas en la cámara branquial. Este hecho podría deberse a que esta especie ectoparásita pertenece a una familia de endoparásitos (Bray y Gibson, 1977; Gibson, 2002), lo que ha implicado que haya desarrollado importantes adaptaciones para poder modificar un hábitat al cual no está morfológicamente adaptado (ver *Capítulo 4*, apartado 4.4.1). La proliferación de los tejidos por hiperplasias y la aparición de paraqueratosis, contribuye a crear infraestructuras estables en las que los parásitos quedan semienterrados entre los tejidos afectados, cobijando a grupos de numerosos individuos protegidos de las corrientes de agua. Este hecho estaría apoyado por la ausencia de lesiones en los casos en que *A. contortum* fue encontrado en el tubo digestivo, en donde las ventosas típicas de los digeneos, son suficientes para anclar al parásito.

Como se comentó en el apartado 4.4.1, la morfología de *A. contortum* es la típica general de cualquier trematodo acacélido, sin estructuras especiales para la fijación en el medio externo. Sin embargo, tanto el contacto íntimo parásito-hospedador, así como la presencia de una fuerte musculatura y pliegues del parásito para apresar a los tejidos del hospedador, parecen ser suficientes como para provocar la respuesta inflamatoria. En histología se observa, además, una película acelular rodeando la superficie del parásito que contacta con los tejidos del hospedador. Esta película, no ha sido descrita previamente, y está en contacto íntimo con los tejidos del pez, por lo que podría tratarse de algún tipo de secreción relacionada con la respuesta inflamatoria. Sin embargo, no se han observado zonas glandulares, ni en el tegumento ni en las papilas tegumentarias, que indiquen que existan este tipo de secreciones. Sería necesario, por tanto, realizar tinciones específicas para corroborar este hecho.

-Efectos sobre el pez de las parasitosis

A pesar de que se ha constatado que la cavidad branquial del pez luna es una región muy susceptible a la parasitación, los peces luna infectados estaban aparentemente sanos, a pesar de tener un gran número de parásitos. La cámara branquial estaría parasitada por una sucesión de parásitos que acaban desapareciendo, dejando como huellas lesiones que perduran. De hecho, las lesiones sin parásito observadas son, claramente, zonas previamente parasitadas. Por la similitud de las lesiones, la mayoría han de pertenecer a antiguas parasitaciones de *Accacoelium contortum* (tipos 1 y 2 de los resultados) o a *Cecrops latreilli* (tipo 2), los dos parásitos que provocan mayores alteraciones estructurales. Esta observación está apoyada por el hecho de que estas “lesiones antiguas” se hayan encontrado exclusivamente en las branquias, y no en pseudobranquias o faringe, ya que la mayoría de *C. latreilli* y algunos *A. contortum* se localizaron en esta zona basal de las laminillas de las branquias. En general, estas lesiones “antiguas” parecen tener signos más leves que las lesiones con parásito, disminuyendo en tamaño y gravedad, al mismo tiempo que desaparecen las infecciones secundarias. Parece, por tanto, que los peces luna consiguen superar estas parasitaciones con el tiempo.

De toda la cavidad branquial, son las branquias las que presentan, con diferencia, un mayor número de parásitos (76% de un total de 1107 parásitos) y todas las lesiones sin parásitos, lo que es esperable debido a que la mayoría de la superficie disponible en la cámara branquial se encuentra en las branquias. En general, las branquias de los peces presentan una elevada cantidad de superficie epitelial muy sensible a las alteraciones infecciosas (Noga, 2010). Además, en las branquias de los peces luna existen numerosas placas dentadas revestidas de epitelio, que se distribuyen desde la zona media de la laminilla primaria hasta el arco (Adeney y Hughes, 1977). Este epitelio es especialmente fino y frágil, por lo que puede fragmentarse y alterarse fácilmente su estructura por acción de los parásitos. Las alteraciones que llegan a provocar son tan importantes que parecen inhibir temporalmente otras parasitosis. De hecho, no se han encontrado diferentes parásitos o focos de parasitación en la misma laminilla ni en áreas de lesiones antiguas, ya que las malformaciones o epitelios engrosados podrían dificultar el anclaje o la alimentación temporalmente. Sin embargo, el hecho de que la mayoría de peces luna, aparentemente sanos, presenten parásitos branquiales en gran número indica que los peces acaban superando estas parasitosis y las lesiones branquiales se van reparando.

6. PARASITOSIS DE *MOLICOLA HORRIDUS* (GOODSIR, 1841) DOLLFUS, 1935 (CESTODA: TRYPANORHYNCHA)

6.1. INTRODUCCIÓN: *MOLICOLA HORRIDUS* (GOODSIR, 1841) DOLLFUS, 1935

La mayor parte de los estudios existentes sobre cestodos en peces se centran en la taxonomía, dinámica poblacional, epizootiología y patología. Por lo general, la mayoría de los cestodos no son considerados como patógenos importantes que afecten a la supervivencia de sus hospedadores (Schaeperclaus, 1992; Dick *et al.*, 2006). Los estadios adultos se encuentran dentro del sistema digestivo de los hospedadores definitivos realizando un cierto efecto de expolio e intoxicación por metabolitos, por lo general leve. Se considera que las formas larvarias de los cestodos se encuentran en un período casi latente dentro del hospedador intermediario a la espera de que éste sea ingerido por el hospedador definitivo, por lo que el grado de interacción metabólica con el hospedador y, consecuentemente, el daño, es aún menor (Schaeperclaus, 1992; Dick *et al.*, 2006; Noga, 2010). La mayoría de estudios sobre el efecto y biología de cestodos que existen son sobre humanos y vertebrados terrestres y, sobre todo, en general, de animales de interés humano (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Sin embargo, en la actualidad, y debido a la fuerte expansión de la acuicultura, se han realizando algunos trabajos en los cuales se analizan con detalle las patologías de peces asociadas a cestodos, tanto adultos como larvas. Concretamente, los metacestodos (larvas) de las especies de los órdenes Pseudophyllidea (Carus, 1813) y Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Dick *et al.*, 2006) han despertado un especial interés debido a que se encuentran enquistados en la musculatura y cavidad visceral de peces de interés comercial, perjudicando el aspecto del pescado y produciendo un cierto rechazo en los consumidores (Linton, 1912; Pulkkinen y Valtonen, 1999). También existen cada vez más estudios asociados a casos de transmisión de diversas especies del género *Diphyllobothrium* (Pseudophyllidea) a humanos, desde peces procedentes de cultivo o semicultivo (Lee *et al.*, 2001; Cabello, 2007).

Molicola horridus (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935 es un cestodo del orden Trypanorhyncha cuya larva *plerocercus* se encuentra en hígado, músculo y riñón de pez luna, y cuyo adulto reside en la válvula espiral de tiburones: *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810 (marrajo) y *Prionace glauca* (L.) (tintorera) (Arru *et al.*, 1991; Gaevskaya y Kovaljova, 1991). Las larvas de *M. horridus* han sido también citadas en otras especies pelágicas de peces teleósteos de gran tamaño como *Luvarus imperialis* Rafinesque, 1810 (emperador), *Coryphaena hippurus* L. (lampuga) o *Xiphias gladius* L. (pez espada), aunque, como se ha comentado anteriormente (Capítulo 4, apartado 4.6) muchas de estas citas son dudosas y la identidad específica de las larvas que parasitan a estas especies de peces debería ser revisada.

El cuerpo de los *plerocerci* de gimnorrínquidos está dividido en 3 zonas: escólex, blastoquiste y la extensión caudal del blastoquiste (fig. 6.1.1A) (Vázquez-López *et al.*, 2001). En estado enquistado, el escólex se encuentra invaginado dentro del blastoquiste, el cual, a su vez, está incluido dentro de una vesícula redondeada (ver fig. 6.2.2G). En el escólex se encuentran los cuatro tentáculos espinados. La armadura de estos tentáculos (fig. 6.1.1B) es utilizada en la taxonomía de las especies de tripanorincos. La extensión caudal del blastoquiste puede ser muy alargada (10,8 cm en el caso más largo medido en este estudio), aunque su longitud real suele ser difícil de obtener porque su extracción completa es muy complicada, ya que estas extensiones forman trayectos entrelazados que penetran por los tejidos del hospedador y que se rompen con mucha facilidad. En lo referido a los ciclos de vida de los cestodos tripanorincos de especies marinas, existe un conocimiento incompleto, ya que presentan ciclos de vida complejos difíciles de reproducir en condiciones experimentales (Kearn, 1998). El ciclo hipotético de un tripanorinco (fig. 6.1.2) comenzaría en los hospedadores definitivos, elasmobranquios, en cuya válvula espiral se encontrarían los adultos. Estos individuos adultos liberan huevos al tubo digestivo y éstos salen al exterior a través de las heces del hospedador. De

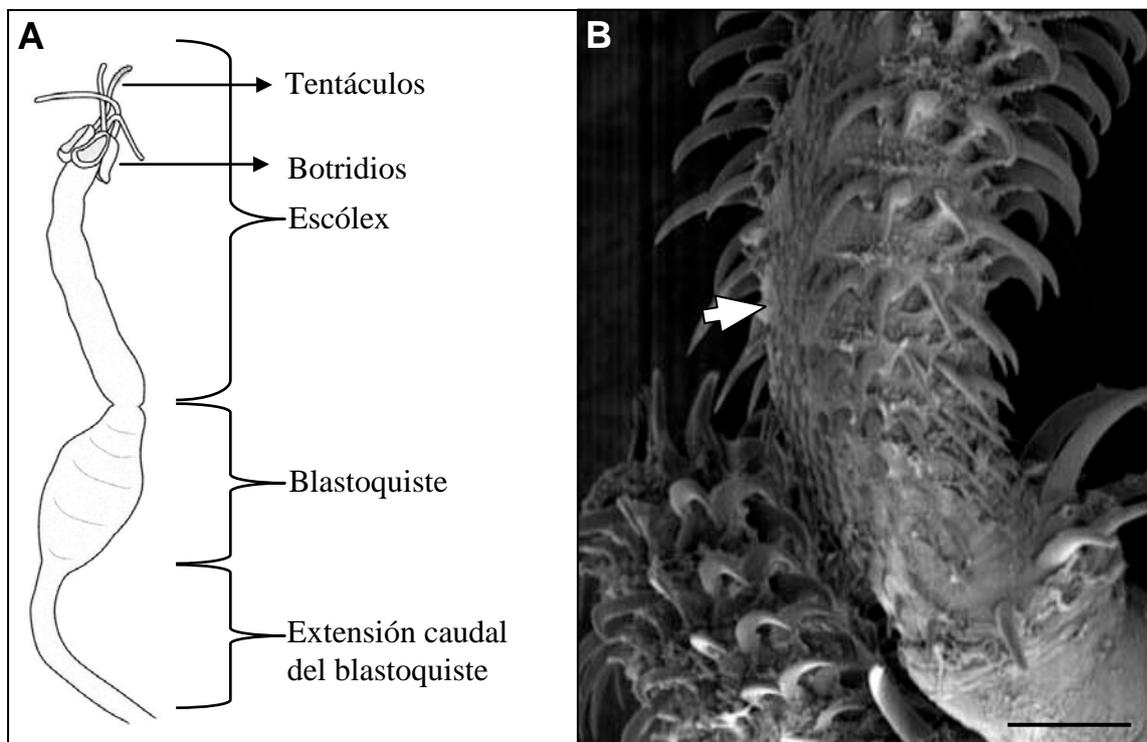


Figura 6.1.1. Características de las larvas *plerocerci* de *Molicola horridus* de pez luna, *Mola mola*. A, esquema de las tres zonas en las que se divide su cuerpo: *i*) escólex, con los botridios y los tentáculos, *ii*) blastoquiste y *iii*) extensión caudal del blastoquiste; B, imagen de microscopía electrónica de barrido (M.E.B.) donde se observa la armadura metabasal (flecha) de los tentáculos. Escala: 100 μ m.

los huevos emergen las larvas coracidio, de vida libre, que serían ingeridas por un primer hospedador intermediario, generalmente un crustáceo o un pez, donde se desarrollaría la larva procercoide. Cuando los primeros hospedadores intermediarios son depredados por peces de mayor tamaño, como el pez luna, éstos ejercen de segundos hospedadores intermediarios en los que se desarrolla la larva *plerocercus*. El ciclo se cierra cuando los tiburones se alimentan de estos peces infectados y las larvas pasan al estadio adulto en su digestivo comenzando de nuevo el ciclo (Dick y Choudhury, 1995).

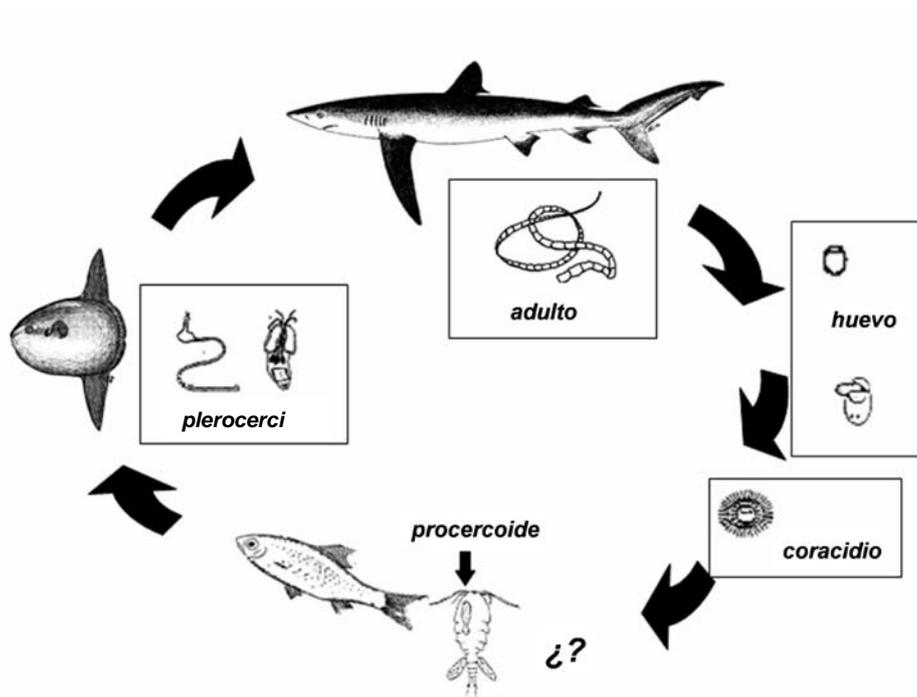


Figura 6.1.2. Ciclo vital hipotético de *Molicola horridus* con el pez luna, *Mola mola*, como segundo hospedador intermediario y con la tintorera como hospedador definitivo (basado en Kearn, 1998).

No existen estudios sobre incidencia de infección, histopatología y bioquímica de los *plerocerci* de *M. horridus*. Sin embargo, sí que existen estudios sobre estos aspectos en el caso de los *plerocerci* de otra especie de tripanorinco próxima filogenéticamente, *Gymnorhynchus gigas* (Cuvier, 1817). Esta especie tiene especial interés ya que se encuentra en peces comerciales como *Brama brama* (Bonnaterre, 1788) (palometa), *Thunnus albacares* (Bonnaterre, 1788) (rabil), *Luvarus imperialis* (emperador) o *Xiphias gladius* (pez espada) y otros peces de interés faunístico como *Diodon hystrix* L. (pez erizo) (Seyda, 1976; Radhakrishnan y Nair, 1980; Radhakrishnan *et al.*, 1983; Bates,

1990; Arru *et al.*, 1991; Palm y Overstreet, 2000; Vázquez-López *et al.*, 2001; Munday *et al.*, 2003). En estos estudios se ha cuantificado y valorado la abundancia del parásito, analizando el daño que ejerce en los órganos donde su ubica. De esta forma, por ejemplo, se ha observado que la actividad del las larvas de *G. gigas* sobre los órganos en los que habita produce los mismos cambios en el hospedador que los que se observan en los procesos de inanición, y se han descrito procesos de necrosis en los órganos infectados por la forma larvaria de este parásito (Seyda, 1976; Radhakrishnan y Nair, 1980; Radhakrishnan *et al.*, 1983; Vázquez-López *et al.*, 2001).

En el presente estudio, la elevada prevalencia, intensidad y, consecuentemente, biomasa de *plerocerci* de *M. horridus* observada en los peces luna del Mediterráneo occidental (ver apartado 6.2), ha permitido la realización de un estudio exhaustivo de los niveles de parasitación y posibles patologías asociadas a este parásito. Para estudiar las alteraciones asociadas a la presencia del parásito se ha analizando su posible influencia en estimadores de la condición de los peces (índice hepatosomático, índice nefrosomático y factor de condición) así cómo su efecto sobre la anatomía e histología en sus órganos diana. Además, dado que el hígado es el órgano más afectado por el parásito (ver apartado 6.2), se ha realizado un análisis experimental de la variación del glucógeno hepático. Por último, se ha desarrollado un ensayo preliminar de tratamientos antihelmínticos contra la infección de este parásito en el pez luna en cautividad.

6.2 MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA CARGA PARASITARIA DE *MOLICOLA HORRIDUS*

6.2.1. Introducción

Molicola horridus (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935 es el parásito más prevalente de los recolectados en este estudio, encontrándose, principalmente, en el hígado de los peces luna y, en menor número, en músculo y riñón (ver apartado 4.6). Las larvas del parásito, ocupaban, aparentemente, gran parte de los órganos infectados. El grado de ocupación de cada órgano conlleva un mayor o menor efecto sobre su funcionalidad (Cordero del Campillo *et al.*, 1999), por lo que conviene hacer una valoración lo más adecuada posible de la carga parasita en órganos tan importantes funcionalmente como el hígado o el riñón. A pesar de la elevada prevalencia y la notable cantidad de trayectos visibles de *M. horridus*, la abundancia media encontrada no ha sido muy elevada en comparación con otras especies menos frecuentes (A.M.= 6, ver tabla 4.2.1). Este hecho se debe a que, en el caso de los *plerocerci* de *M. horridus*, la abundancia y la intensidad no son indicadores adecuados del grado de ocupación de los órganos, debido a que cada una de las larvas describe trayectos más o menos largos, formados por las extensiones caudales del blastoquiste que penetran los tejidos del hospedador (ver apartado 4.6). De esta forma, unos pocos parásitos pueden representar una importante biomasa.

En el presente trabajo se ha analizado detalladamente la presencia de *M. horridus* en los peces luna del Mediterráneo occidental, realizando un estudio comparativo de su carga en los órganos de infección preferentes. Para realizar este estudio de forma adecuada, además de tener en cuenta a los parámetros tradicionales (prevalencia e intensidad), se han utilizado parámetros relacionados con la biomasa total y relativa del parásito. Por último, en el caso del hígado, se ha utilizado un estimador de la biomasa no utilizado hasta la fecha, el porcentaje de superficie hepática parasitada, un método de estima más práctico, ya que no exige la disección del hígado.

6.2.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Debido a la especial morfología de los *plerocerci* de *Molicola horridus* se utilizaron diferentes metodologías para valorar la carga parasita local y global. Por este motivo se valoró no sólo el número de individuos sino también la biomasa de parásito. Tras pesar hígado y riñón independientemente, se realizó una estima del peso de la musculatura, pesando el pez eviscerado sin la cabeza ni la columna

vertebral. Los parásitos se extrajeron de las áreas afectadas (hígado, músculo y riñón) y se calculó la intensidad de parásitos contando el número de vesículas (figs. 6.2.1 y 6.2.2). Los individuos extraídos se limpiaron meticulosamente en solución salina, y se pesaron obteniendo la biomasa de *M. horridus* en cada localización. Se calcularon las densidades de parásito respecto a los pesos totales de hígado, músculo y riñón parasitados. Algunas porciones de las extensiones caudales del blastoquiste de *M. horridus* se encontraban libres en la cavidad abdominal (fig. 6.2.1A). Estas porciones no fueron consideradas en este estudio. La infección de *M. horridus* se estudió de forma independiente en los 101 “peces pequeños” (ver apartado 3.3 de *Material y métodos generales*) y en los 5 “peces grandes” de más de 1 metro de longitud total.

Como se ha comentado previamente, también se ha valorado la cantidad de superficie del hígado, órgano con mayor presencia del parásito, ocupada por *M. horridus*. Se trata de una técnica novedosa cuyo objetivo es intentar cuantificar la presencia del parásito evitando la disección del hígado. Este método se pudo realizar gracias a que el hígado de los peces luna está achatado lateralmente, por lo que, antes de la extracción y pesado de los parásitos, se pudieron realizar fotografías de los lados izquierdo y derecho de los hígados (ver fig. 6.2.2). Posteriormente estas imágenes fueron tratadas digitalmente para definir contornos utilizando el programa *Corel® Photo-Paint vers. 11* (ver secuencia de tratamiento de imagen en fig. 6.2.2) y después se calculó el porcentaje de superficie hepática ocupada por los parásitos utilizando el programa de análisis de imagen *Image Tools 3.00* (Co. 1995-2002, UTHSCSA). Este método sólo se utilizó con los 101 “peces pequeños”.

El test de Kolmogorov-Smirnov reveló que los datos de abundancia y biomasa de los parásitos no presentaban una distribución normal ($Z= 1,96$; $p<0,001$ y $Z= 1,84$; $p<0,001$, respectivamente) por lo que se utilizaron test estadísticos no paramétricos. Para estudiar si había diferencias en el grado de parasitación (abundancia y biomasa) entre órganos se utilizó el test de Friedman. Posteriormente se compararon las abundancias y biomasa de parásito en cada órgano utilizando el test de Wilcoxon. Finalmente, todos los estimadores de la presencia del parásito, incluyendo el porcentaje de la superficie hepática parasitada, fueron comparados entre sí realizando correlaciones de Spearman.

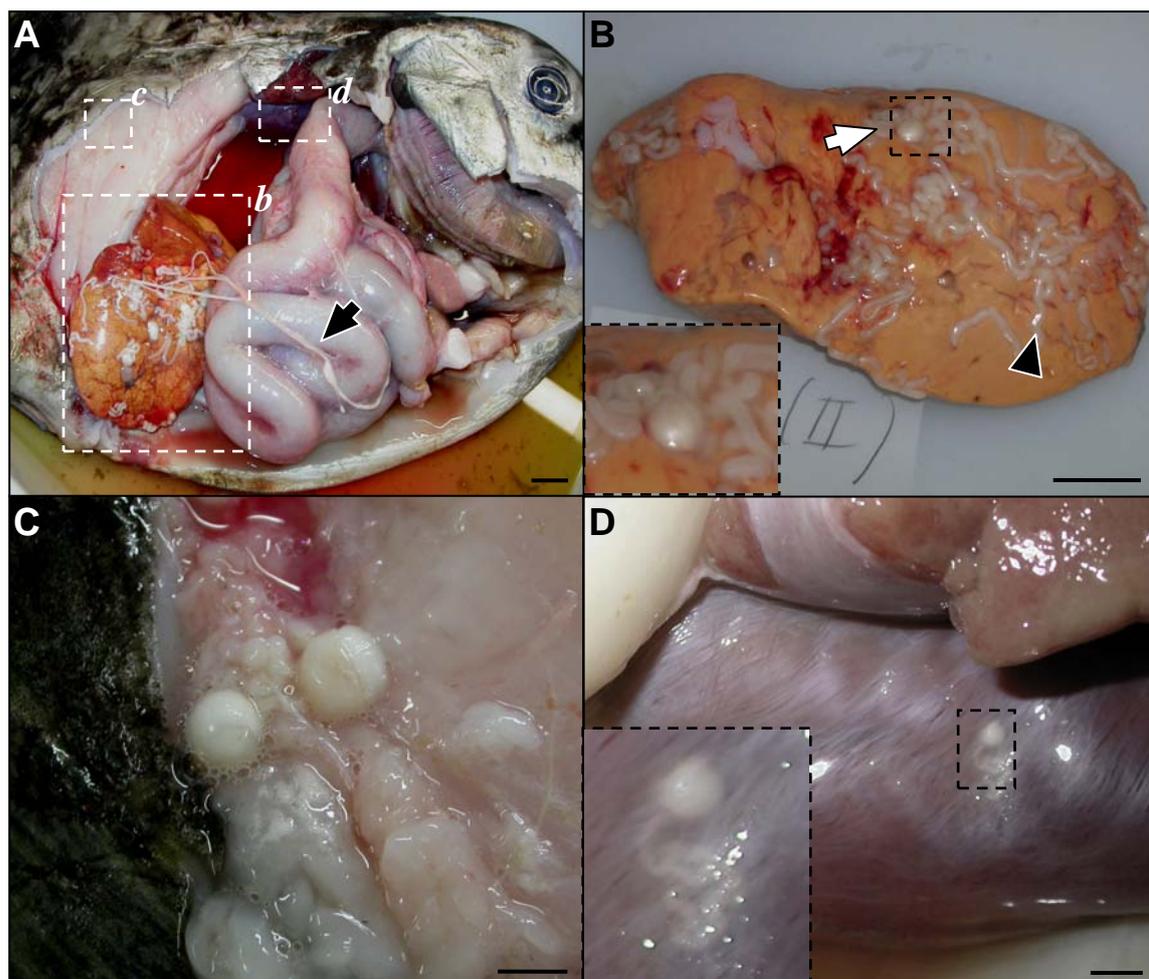


Figura 6.2.1. *Molicola horridus* en diferentes localizaciones de pez luna, *Mola mola*. A, cavidad abdominal de pez luna con *plerocerci* de *M. horridus* en hígado (b), músculo (c) y riñón (d) (flecha negra: extensión caudal del blastoquiste libre en la cavidad abdominal); B, hígado infectado por *M. horridus* (flecha blanca: vesícula con el blastoquiste; punta de flecha negra: extensiones caudales del blastoquiste); C, músculo infectado por *M. horridus*; D, riñón infectado por *M. horridus*. Escalas: 2 cm, en A y B; y 5 mm, en C y D.

6.2.3. Resultados

Se recolectaron un total de 616 *plerocerci* de *Molicola horridus* en los 101 “peces pequeños” analizados. Los valores de parasitación fueron muy elevados (P.= 99,0 %; A.M.±D.T.= 0–25 (6,1±4,7); I.M.±D.T.= 1–25 (6,2±4,7)) y solo uno de los peces analizados no presentó al parásito. 453 parásitos se recolectaron en el hígado, 149 en musculatura y 14 en el riñón. La Tabla 6.2.1 muestra los valores de parasitación de *M. horridus* en sus tres localizaciones, incluyendo además la biomasa y densidad de parásito por peso de cada órgano. Las extensiones caudales del blastoquiste de *M. horridus* en el hígado formaban una madeja que ocupaba tanto las partes más superficiales como el

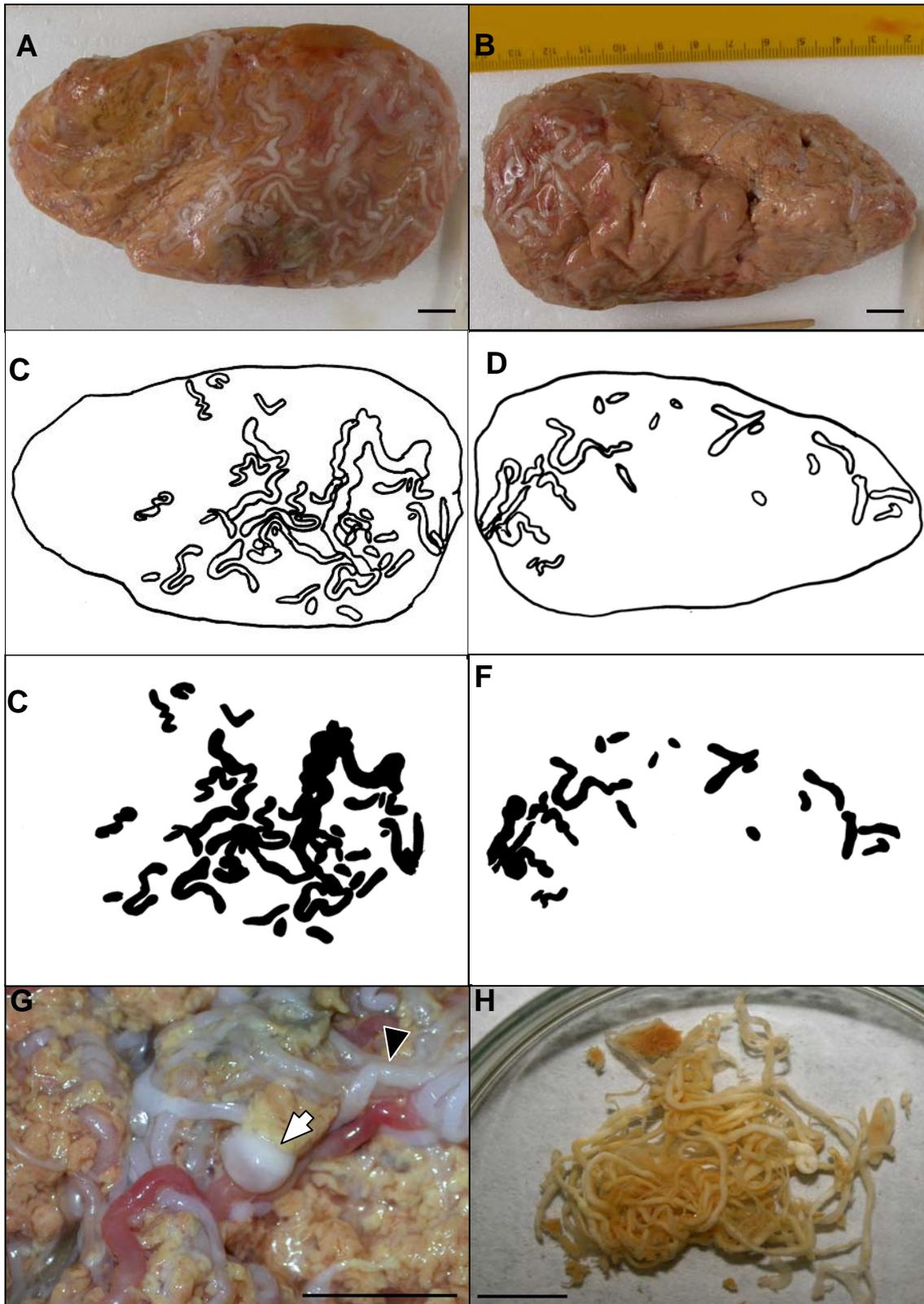


Figura 6.2.2. Estudio de la proporción parasitada por *Molicola horridus* en el hígado de pez luna, *Mola mola*. A-F, estudio del porcentaje de superficie hepática parasitada por *M. horridus*: A, fotografía del lado derecho y B, del lado izquierdo de un hígado parasitado; C-F, tratamiento de las fotografías A y B (C y D, superficie total y parasitada; E y F superficie parasitada en cada lado del hígado). G y H, procesado del hígado infectado para calcular la biomasa de *M. horridus*: G, detalle de hígado disgregado con vesícula con blastoquiste (**continúa en página siguiente**)

Fig. 6.2.2. (cont.) (flecha blanca) y extensiones caudales del blastoquiste de *M. horridus* en hígado (punta de flecha negra); H, *M. horridus* extraído de un hígado y preparado para su pesado y obtención de biomasa. Escalas: 1 cm.

interior (ver fig. 6.2.2G). Las vesículas donde se encontraba el blastoquiste con el escólex invaginado eran más abundantes en la zona superficial del hígado (80,8 %), aunque también se observaron vesículas en su interior (19,2 %). En músculo y en riñón solo se observaron vesículas y extensiones caudales del blastoquiste en zonas superficiales, alcanzando una menor extensión que las analizadas en el hígado (figs. 6.2.1C y D). Las medidas de los *plerocerci* de *M. horridus* en cada localización se encuentran indicadas en la Tabla 6.2.2. La relación entre la intensidad y la biomasa de *M. horridus* en las diferentes localizaciones, representadas en la figura 6.2.3, muestran que la biomasa parece incrementarse ligeramente más rápido con respecto a la intensidad en el hígado que en el músculo. Esta relación no ha sido representada en el riñón por las bajas prevalencias e intensidades encontradas.

Se observaron diferencias significativas entre las intensidades de *M. horridus* en hígado, musculatura y riñón ($\chi^2=128,97$; $p<0,05$; g.l.=2) así como entre las biomásas del parásito en las tres ubicaciones ($\chi^2=139,94$; $p<0,05$; g.l.=2). Comparando los órganos y regiones afectadas entre sí, se observaron diferencias significativas entre los diferentes parámetros de todas las localizaciones: abundancias (hígado-músculo, $Z= -6,02$; hígado-riñón, $Z= -8,52$; musculatura-riñón, $Z= -6,56$) y biomasa (hígado-músculo, $Z= -7,52$; hígado-riñón, $Z= -8,59$; musculatura-riñón, $Z= -5,96$. $p<0,000$).

Todos los peces grandes, de más de un metro de longitud (“peces grandes”) presentaron al parásito en el hígado (P.= 100 %, n= 5) con bajas intensidades (I.M.±D.T.= 1–3 (1,3±1,0)) y densidades de parásito (<0,000 g de parásito/g de hígado) y tan solo uno de los “peces grandes” presentó al parásito en musculatura (A.T.= 20) y en riñón (A.T.= 1).

El porcentaje de superficie hepática parasitada osciló entre el 0 y el 28,3 %, con una media de (9,3±6,6) %. Los estimadores de parasitación del hígado (porcentaje de superficie hepática parasitada, intensidad, biomasa y densidad de parásito) mostraron, en general, una distribución sin patrón definido (fig. 6.2.4), aunque las correlaciones de Spearman resultaron significativas positivas (Tabla 6.2.3).

Tabla 6.2.1. Datos biológicos y parasitológicos de la infección de *Molicola horridus* en hígado, músculo y riñón de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños”, recolectados en La Azohía (Cartagena), indicados según muestreo y en datos globales. Abreviaturas: P., prevalencia; A.M., abundancia media; I.M., intensidad media; S., porcentaje de superficie parasitada (solo del hígado). Los valores medios incluyen el rango de menor a mayor y la media con la desviación típica (\pm D.T.) entre paréntesis.

| Localización | Muestra | Peso de la localización (g) | P. (%) | A.M. | I.M. | Biomasa | Densidad (%) | S. (%) |
|--------------|--------------|--|-------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|--|--|
| Hígado | 2005 | 38,0–171,0 (108,4 \pm 35,3) | 95 | 0–14 (3,4 \pm 3,2) | 1–14 (3,6 \pm 3,2) | 0–14,9 (5,7 \pm 3,7) | 0–8,0 (6,0 \pm 4,0) | 0,0–17,1 (6,7 \pm 4,9) |
| | 2006 | 40,5–203,3 (113,9 \pm 45,1) | 100 | 1–19 (4,2 \pm 3,6) | 1–19 (4,2 \pm 3,6) | 0,4–14,2 (3,8 \pm 3,0) | 1,0–14,0 (3,0 \pm 3,0) | 1,9–28,3 (10,7 \pm 6,7) |
| | 2007 | 77,6–187,0 (122,6 \pm 27,8) | 85 | 0–7 (2,3 \pm 2,0) | 1–7 (2,6 \pm 1,9) | 0,0–8,3 (2,4 \pm 2,4) | 0–7,0 (2,0 \pm 2,0) | 0–27,6 (9,4 \pm 8,3) |
| | 2008 | 78,0–195,0 (139,8 \pm 32,4) | 100 | 1–24 (8,5 \pm 5,9) | 1–24 (8,5 \pm 5,9) | 1,9–13,5 (4,9 \pm 3,1) | 1,0–8,0 (3,0 \pm 2,0) | 2,7–24,0 (9,1 \pm 5,5) |
| | Total | 38,0–203,3 (119,6\pm39,0) | 96 | 0–24 (4,5\pm4,3) | 1–24 (4,7\pm4,3) | 0–14,9 (4,1\pm3,2) | 0–14,7 (3,6\pm2,8) | 0–28,3 (9,4\pm6,6) |
| Músculo | 2005 | 1185,9–5884,2 (3233,2 \pm 1431,4) | 85 | 0–6 (2,1 \pm 1,5) | 1–6 (2,5 \pm 1,3) | 0,0–4,2 (1,3 \pm 1,2) | 0–0,1 (0 \pm 0) | - |
| | 2006 | 932,0–4534,0 (3125,8 \pm 2694,0) | 63,4 | 0–11 (1,9 \pm 2,4) | 1–11 (2,9 \pm 2,4) | 0,0–3,3 (0,9 \pm 1,0) | 0–0,1 (0 \pm 0) | - |
| | 2007 | 2000,0–3460 (2750,0 \pm 438,2) | 50 | 0–5 (0,9 \pm 1,3) | 1–5 (1,8 \pm 1,3) | 0,0–4,8 (0,8 \pm 1,2) | 0–0,2 (0 \pm 0) | - |
| | 2008 | 1744,0–5697,0 (2909,6 \pm 940,0) | 45 | 0–2 (0,7 \pm 0,8) | 1–2 (1,4 \pm 0,5) | 0,0–0,8 (0,2 \pm 0,3) | 0–0 (0 \pm 0) | - |
| | Total | 932,0–5884,2 (3029,8\pm1878,1) | 61,4 | 0–11 (1,5\pm1,9) | 1–11 (1,6\pm1,8) | 0–4,8 (0,8\pm0,1) | 0–0,2 (0\pm0) | - |
| Riñón | 2005 | 21,7–60,5 (41,3 \pm 15,9) | 10 | 0–1 (0,1 \pm 0,3) | 1 (1,0 \pm 0,0) | 0,0–1,2 (0,1 \pm 0,3) | 0–1,1 (0,1 \pm 0,2) | - |
| | 2006 | 22,9–64,0 (48,8 \pm 32,8) | 17,1 | 0–1 (0,2 \pm 0,4) | 1 (1,0 \pm 0,0) | 0,0–1,5 (0,2 \pm 0,4) | 0–2,9 (0,4 \pm 0,9) | - |
| | 2007 | 23,3–58,7 (39,2 \pm 7,1) | 5 | 0–1 (0,1 \pm 0,2) | 1 | 0,0–0,8 (0,0 \pm 0,2) | 0–1,3 (0,1 \pm 0,3) | - |
| | 2008 | 22,0–63,0 (39,2 \pm 11,9) | 10 | 0–3 (0,2 \pm 0,7) | 1–3 (2,0 \pm 1,4) | 0,0–1,9 (0,1 \pm 0,4) | 0–3,0 (0 \pm 1,0) | - |
| | Total | 22,0–64,0 (40,1\pm10,4) | 11,9 | 0–3 (0,1\pm0,4) | 1–3 (0,3\pm0,5) | 0,0–1,9 (0,1\pm0,3) | 0–3,4 (0,3\pm0,7) | - |

Tabla 6.2.2. Datos métricos de ejemplares de *Molicola horridus* de hígado, músculo y riñón de los 101 peces luna *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena). Los valores medios incluyen el rango de menor a mayor y la media con la desviación típica (\pm D.T.) entre paréntesis. Todos los valores están en milímetros excepto cuando se indique otra unidad.

| | Longitud escólex | Anchura escólex | Longitud blastoquiste | Anchura blastoquiste | Diámetro vesículas | Longitud extensiones caudales* (cm) | Anchura extensiones caudales |
|---------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Hígado | 6,2–9,0 (7,4 \pm 1,0) | 1,0–1,7 (1,4 \pm 0,2) | 8,4–13 (9,6 \pm 1,7) | 2,1–4,2 (3,0 \pm 0,7) | 5,1–6,0 (5,4 \pm 0,4) | 10,8 | 1,0–1,8 (1,4 \pm 0,4) |
| Músculo | 6,4–15,8 (12,0 \pm 3,1) | 2,0–2,9 (2,6 \pm 0,5) | 8,1–15,1 (11,2 \pm 2,4) | 2,2–5,3 (4,1 \pm 1,1) | 5,5–6,8 (6,3 \pm 0,6) | 5,2 | 1,4–2,0 (1,7 \pm 0,3) |
| Riñón | 5,9–7,4 (6,5 \pm 1,9) | 1,0–1,2 (1,3 \pm 0,1) | 7,1–10,3 (9,0 \pm 2,7) | 1,8–3,1 (2,9 \pm 0,9) | 4,9–5,4 (5,0 \pm 1,1) | 4,1 | 0,9–1,2 (1,0 \pm 0,3) |

(*)Se indican sólo las longitudes máximas encontradas, ya que la gran mayoría de las extensiones caudales del blastoquiste se fragmentaban durante su análisis.

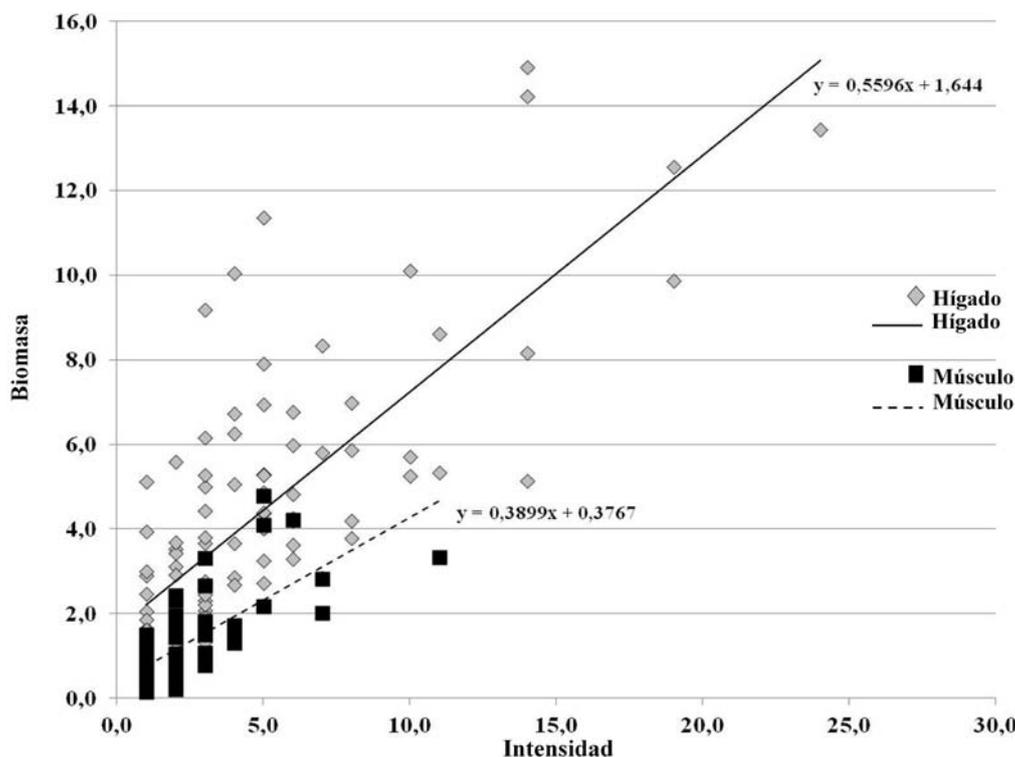


Figura 6.2.3. Diagrama de puntos comparando la relación entre la intensidad y la biomasa de *Molicola horridus* en hígado y músculo de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena): biomasa de parásitos (g); intensidad (nº de parásitos en el órgano parasitado).

Tabla 6.2.3. Correlaciones de Spearman entre los diferentes estimadores de la presencia de *Molicola horridus* en el hígado de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena). ρ , es la Rho de Spearman.

| | | Porcentaje de superficie hepática parasitada | Intensidad | Biomasa | Densidad |
|---|---|--|------------------------|------------------------|----------|
| Porcentaje de superficie hepática parasitada | Coefficiente de correlación (ρ) Sig. (bilateral) N | — | — | — | — |
| Intensidad | Coefficiente de correlación (ρ) Sig. (bilateral) N | 0,57(*) 0,00 101 | — | — | — |
| Biomasa | Coefficiente de correlación (ρ) Sig. (bilateral) N | 0,61(*) 0,00 101 | 0,79(*) 0,00 101 | — | — |
| Densidad | Coefficiente de correlación (ρ) Sig. (bilateral) N | 0,66(*) 0,00 101 | 0,66(*) 0,00 101 | 0,92(*) 0,00 101 | — |

(*)La correlación es altamente significativa al nivel 0,01 (bilateral).

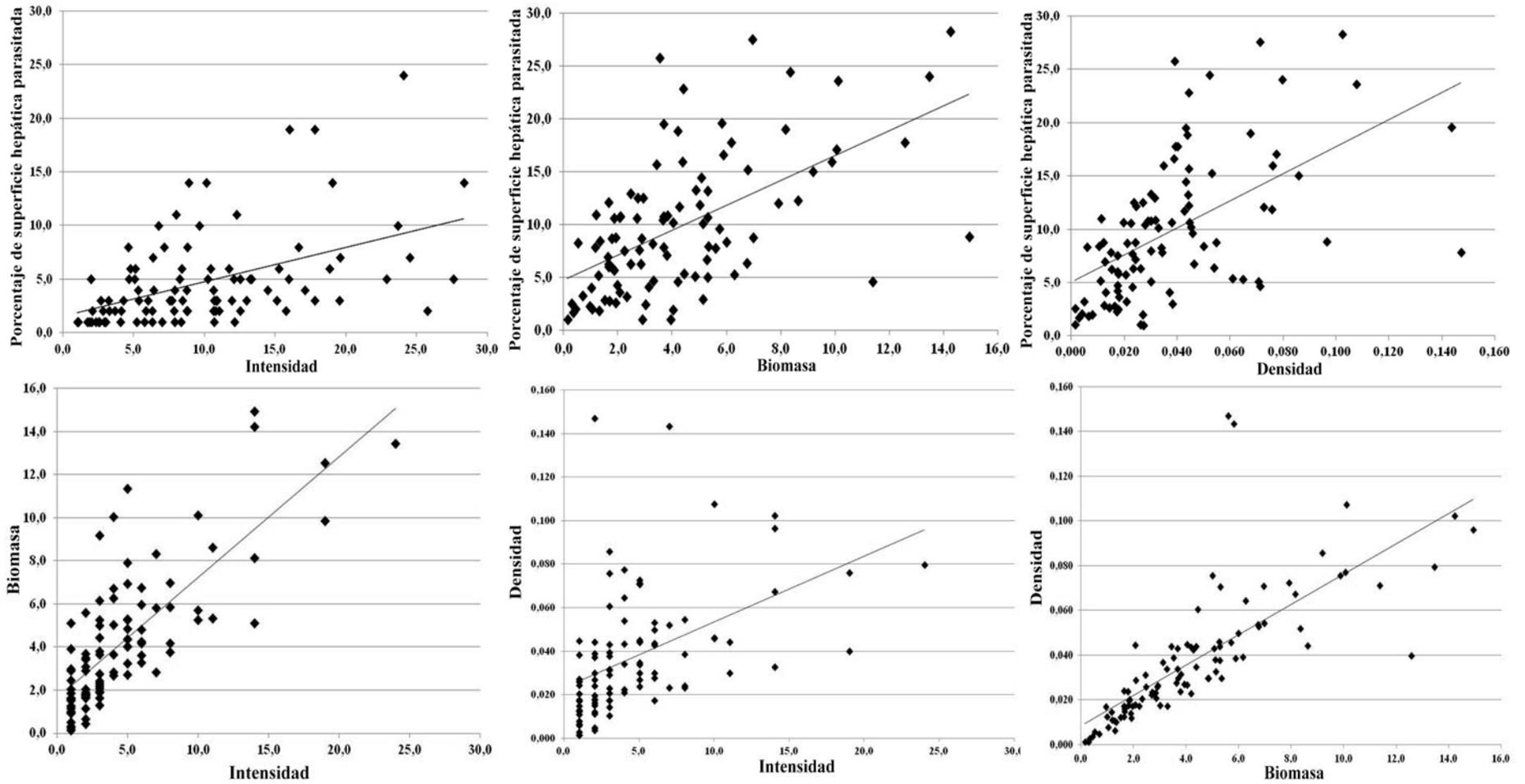


Figura 6.2.4 Diagramas de puntos entre los diferentes estimadores del grado de parasitación en el hígado de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena): Porcentaje de superficie hepática parasitada; intensidad (n° de parásitos en el órgano parasitado); biomasa de parásitos (g); densidad de parásitos (g de parásito/g de órgano).

6.2.4. Discusión

Tanto por su elevada prevalencia (99 %), como por su gran abundancia (616 parásitos recolectados), *Molicola horridus* es uno de los parásitos predominantes en los peces luna “pequeños” (Tabla 6.2.1). No parece probable que esta elevada frecuencia se deba a que el muestreo estuviera sesgado hacia los individuos más parasitados ya que la almadraba, como se ha explicado en el *Capítulo 3*, apartado 3.1, es un método de pesca no selectivo que cubre una gran extensión de mar y que recolecta a los peces que se adentran casualmente en el laberinto de redes.

Sin embargo, los 5 ejemplares de más de un metro de longitud total (los “peces grandes”) presentaron valores de parasitación por *M. horridus* comparativamente muy bajos. Parece, por tanto, que la presencia de *M. horridus* es especialmente mayor en los peces luna más jóvenes. Haría falta un mayor número de ejemplares “grandes” de pez luna para cuantificar correctamente la presencia y abundancia del parásito. Desgraciadamente, estos ejemplares no son tan numerosos ni tan fáciles de conseguir en comparación con los juveniles, ya que la mayoría de ellos se obtienen en varamientos. En el caso de otros cestodos similares, como *Gymnorhynchus gigas* (Cuvier, 1817), se ha observado que las palometas (*Brama brama* (Bonnaterre, 1788)) de mayor tamaño son las que más larvas *plerocerci* presentan en su musculatura (Seyda, 1976; Vázquez-López *et al.*, 2001).

Los *plerocerci* de *M. horridus* se ubican preferentemente en el hígado. Esta preferencia queda patente en los mayores valores de parasitación absolutos (prevalencia, intensidad y biomasa) y relativos (densidad) que se han registrado en este órgano, en comparación con los de musculatura y riñón. La biomasa de los parásitos del hígado fue notablemente mayor que la del resto de órganos, lo que se debe, principalmente, a la gran longitud que llegan a alcanzar las extensiones caudales de los blastoquistes en el hígado (ver fig. 6.2.1 y Tabla 6.2.2). En el hígado se ha observado un mayor entramado de extensiones caudales del blastoquiste y un mayor número de vesículas repartidas por la superficie y en profundidad. Sin embargo, las vesículas y, más claramente los escólices, fueron menores en los ejemplares del hígado y del riñón que en los del músculo (Tabla 6.2.2). La preferencia por el hígado se ha citado en otras especies de parásitos, como los nematodos anisáquidos, cuyas larvas se enquistan a la espera de ser ingeridas por otro hospedador (Smith y Wootten, 1975; Smith, 1984; Cruz *et al.*, 2007). La transmisión de los parásitos, cuando la presa se encuentra dentro del digestivo del hospedador definitivo, queda favorecida por la rápida digestión o degradación *post-mortem* del hígado (Smith, 1984).

La situación de este órgano, dentro de la cavidad abdominal resulta, además, especialmente accesible a depredadores y carroñeros, como se ha citado en otros metacestodos cuyos hospedadores definitivos son los tiburones (Agustí, 2006; Randhawa, 2011). Por otra parte, el hígado es un órgano de almacenaje de reservas del organismo, con lo cual podría resultar más conveniente para la alimentación de la larva, pero, se considera que estas larvas están latentes, con lo que no habría intercambio metabólico con el hospedador (Dick *et al.*, 2006). A pesar de esta asunción generalizada, el mayor tamaño de estas larvas en el hígado implicaría que realmente sí podrían estar alimentándose de los tejidos hepáticos.

A un nivel metodológico, este estudio destaca el hecho de que con parásitos de dimensiones muy variables es importante tener en cuenta a la biomasa tanto como a la abundancia, ya que tienen significados distintos. La importancia de la biomasa de los parásitos de un hospedador ha sido subrayada por diversos autores que recomiendan el uso de este valor en estudios donde coexisten parásitos de diferente tamaño (Mouillot *et al.*, 2003; Poulin y George-Nascimento, 2007), por tanto, el número de individuos de *M. horridus* en un órgano nos está informando de la cantidad de parásitos asentados con éxito, mientras que la biomasa nos indica cuánto han crecido y se han desarrollado estos parásitos en cada órgano. Una gran biomasa también sería indicador de un posible mayor efecto patológico, ya que el parásito, al crecer más, tendrá una mayor superficie de intercambio y mayor volumen, por lo que ejercerá un mayor daño sobre la localización donde se asiente. En el presente estudio, además, se han observado algunos casos en los que 5 parásitos en hígado pesan algo más que 10 parásitos (11,4 g y 10,1 g respectivamente). Por tanto, en estudios con parásitos de diferente tamaño se recomienda el uso de la biomasa parasitaria como estimador de la presencia y efecto del parásito.

El porcentaje de superficie hepática parasitada parece una buena medida para valorar la presencia del parásito y, además, está relacionado positivamente con la intensidad, la biomasa y la densidad parasitaria en el hígado. Este valor, por tanto, podría ser utilizado en casos y estudios similares, para una mayor comodidad o cuando existan restricciones metodológicas con el material disponible, por ejemplo, en muestreos de campo o estudios multidisciplinarios donde se utilice el hígado para otros análisis.

6.3. EFECTO PATOLÓGICO DE *MOLICOLA HORRIDUS*

6.3.1. Introducción

Como se ha comentado en apartados anteriores, los *plerocerci* de *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935, tienen una amplia presencia en músculo, riñón y, sobretodo, hígado de los peces luna juveniles. También se ha comentado previamente que, aunque se desconoce el efecto de estas larvas sobre los tejidos que parasitan, existen indicios de que pueden estar perjudicando la salud de los peces. Por un lado, la gran proporción de hígado que ocupa *M. horridus* reduce la cantidad de órgano viable y, a su vez, su gran crecimiento implicaría que han de tener una actividad metabólica mayor de la que suele otorgarse a las larvas de cestodos (Schaeperclaus, 1992; Dick *et al.*, 2006). Por otro lado, se observa una disminución marcada de la cantidad de *M. horridus* en peces luna “grandes”, lo que unido a la importante reducción demográfica que sufren estos peces hasta llegar a adultos (Powell, 2001; Froese y Pauly, 2012), podría implicar una mayor mortandad de los juveniles infectados.

En este apartado, utilizando como punto de partida otros estudios similares en los que se han observado efectos asociados a tripanorincos de peces (Seyda, 1976; Radhakrishnan y Nair, 1980; Radhakrishnan *et al.*, 1983; Vázquez-López *et al.*, 2001), se valora la existencia de una posible relación entre la presencia del parásito en el hígado y la condición de los peces. Este posible perjuicio provocado es estudiado a nivel macroscópico, histológico y metabólico, prestando especial atención al efecto en el hígado, por ser el órgano más parasitado y por su trascendencia en la fisiología de los peces.

6.3.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y Métodos generales*). Para valorar el posible efecto perjudicial de *Molicola horridus* sobre el estado general del pez luna se utilizaron correlaciones de Spearman entre los diferentes estimadores de la carga parasitaria (ver apartado 6.2) e índices de la condición de los peces: el factor de condición $((\text{peso}/(\text{longitud})^3) \times 100)$, el índice hepatosomático (I.H.= $(\text{peso hígado}/\text{peso pez}) \times 100$) y el índice nefrosomático (I.N.= $(\text{peso riñón}/\text{peso pez}) \times 100$) (ver Fulton, 1904; Arme y Owen, 1967). Debido a que gran parte del peso total del órgano podía deberse al peso de los parásitos (ver Tabla 6.2.1), además de calcular los índices organosomáticos estándares (I.H. e I.N.) se calcularon índices con el peso del órgano tras haber retirado a los parásitos: índice hepatosomático

“sano” (I.H.*) e índice nefrosomático “sano” (I.N.*). Después de la observación de los órganos en fresco, se realizó un estudio histopatológico de las muestras preparadas según lo explicado en *Material y métodos generales*.

Por último, se realizó un estudio preliminar complementario para valorar la actividad metabólica de *M. horridus* en los peces, estudiando la cantidad de glucógeno existente en los hígados según el grado de infección (ver análisis similar en Radhakrishnan *et al.*, 1983). Para este estudio se tomó una submuestra de 14 peces de los recolectados en el tercer y cuarto muestreo (años 2007 y 2008) (ver datos biológicos y parasitológicos en Tabla 6.3.4), de los que, antes de realizar el estudio del hígado explicado en el apartado 6.2 del presente capítulo, se recogió una porción de aproximadamente 1,5 cm³ de tejido que se congeló a -20 °C para su posterior análisis. De estas porciones se utilizaron 200 mg para calcular la cantidad de glucógeno hepático mediante una modificación del método titrimétrico propuesto por Van Der Vies (1954) de la estimación del glucógeno con yodo. El yodo reactivo se preparó con H₂O₂, en vez de con solución de lugol como en el método propuesto por Van der Vies (1954), mezclando 2,25 ml de H₂O₂ con 32 g de yoduro potásico (IK) y 50 ml de agua desionizada. Para la extracción del glucógeno de las muestras de hígado congeladas éstas se descongelaron y trituraron en un mortero al que se le añadió 20 ml de TCA (ácido tricloroacético) al 5 %. Una vez disueltos los 200 mg de hígado en el TCA se dejó reposar durante 20 minutos y se filtró la disolución obtenida con papel de filtro para obtener el analito. Dos mililitros de este analito se mezclaron con 3 ml de yodo reactivo y esta mezcla se analizó con un fotómetro *Multidirect (Lovibond®)* con 650 de longitud de onda. El blanco se obtuvo con 3 ml de yodo reactivo y 2 ml de TCA. Para comparar la cantidad de glucógeno en los hígados según la carga parásita los peces, estos se clasificaron según la densidad de parásitos en el hígado, en 3 grupos: *i*) “poco o nada parasitados” (0–2 %), *ii*) “medianamente parasitados” (3–4 %) y *iii*) “muy parasitados” (5–15 %) (ver Tabla 6.3.4). La cantidad media de glucógeno de cada grupo se comparó utilizando un test ANOVA.

6.3.3. Resultados

-Estudio del efecto de *Molicola horridus* sobre la condición de los peces luna

La Tabla 6.3.2 muestra datos biológicos y los estimadores de la condición de los peces para cada muestreo y para el total. El factor de condición de los peces resultó estar correlacionado significativa y negativamente con el porcentaje de superficie hepática

parasitada (Tabla 6.3.3 y fig. 6.3.4). Del resto de correlaciones con los estimadores de la carga parásita en hígado, tan solo resultó ser significativa (negativa) la existente entre el índice hepatosomático “sano” y la densidad del parásito en el hígado (Tabla 6.3.3 y fig. 6.3.1). Tampoco se observaron correlaciones significativas entre los índices nefrosomáticos (I.N e I.N.*) y los estimadores de la presencia del parásito en el riñón (ver Tabla 6.3.2; no se incluyen diagramas de puntos con los índices nefrosomáticos por la baja cantidad de peces con riñones parasitados, n=12).

-Patologías asociadas a *Molicola horridus*

En el apartado 6.2, se ha descrito la apariencia de los *plerocerci* de *Molicola horridus* en cada uno de las localizaciones en que se detectó. Macroscópicamente, excepto por la notable presencia del parásito, los órganos y localizaciones infectados por *M. horridus* no presentaron alteraciones de color o de textura respecto a los tejidos no parasitados. Tampoco se observaban crecimientos ni alteraciones aparentes en los tejidos que rodeaban a las vesículas o a las extensiones caudales del blastoquiste.

A nivel histológico se observaron algunas diferencias según la localización infectada. En el caso del hígado, el parásito aparece encapsulado por una capa de fibroblastos de 31,3–105,5 (78,8±36,6) μm de grosor (n= 5), con una respuesta inflamatoria asociada muy leve (fig. 6.3.2). En el músculo la capa de fibroblastos que encapsulaba al parásito fue de 7,0–14,0 (10,4±3,0) μm grosor (n= 4), con una respuesta inflamatoria asociada muy leve en la que se observaron algunos macrófagos (fig. 6.3.3). La capa de fibroblastos que rodea a los parásitos en riñón fue de 86,4–142,9 (108,7±17,5) μm de grosor (n= 3). En este caso, se observó una respuesta inflamatoria asociada algo mayor que en las otras localizaciones, observándose células granulares eosinofílicas (fig. 6.3.4).

Tabla 6.3.2. Datos biológicos y estimadores de la condición de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena), indicados según muestreo y en datos globales. Se indica el rango con la media \pm D.T. entre paréntesis. Abreviaturas: Lt., Longitud total del pez luna; I.H., índice hepatosomático; I.H.*, índice hepatosomático “sano”; I.N., índice nefrosomático; I.N.*, índice nefrosomático “sano”.

| Muestreo | Peso <i>Mola</i> (kg) | Lt. (cm) | I.H. | I.H.* | Factor de Condición | I.N. | I.N.* |
|--------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 2005 | 2,1–8,4 (4,1 \pm 1,6) | 33,0–54,0 (39,6 \pm 5,1) | 1,3–4,2 (2,7 \pm 0,8) | 1,2–4,1 (2,6 \pm 0,8) | 4,9–7,7 (6,5 \pm 0,9) | 0,6–1,5 (0,9 \pm 0,4) | 0,6–1,5 (0,9 \pm 0,4) |
| 2006 | 1,8–20,2 (4,0 \pm 2,7) | 36,1–83,0 (43,8 \pm 9,5) | 1,3–4,9(3,0 \pm 0,7) | 1,1–4,8 (2,9 \pm 0,7) | 3,5–6,4 (4,9 \pm 0,5) | 0,7–1,8 (0,6 \pm 0,6) | 0,7–1,8 (0,6 \pm 0,6) |
| 2007 | 2,9–4,4 (3,7 \pm 0,4) | 38,5–46,0 (42,1 \pm 2,4) | 2,2–4,5 (3,4 \pm 0,7) | 2,2–4,5 (3,3 \pm 0,7) | 4,4–5,8 (4,9 \pm 0,4) | 0,7–1,7 (1,1 \pm 0,2) | 0,7–1,7 (1,1 \pm 0,2) |
| 2008 | 2,6–6,6 (3,8 \pm 0,9) | 37,0–54,0 (41,8 \pm 3,8) | 2,1–6,4 (3,8 \pm 1,0) | 2,1–5,9 (3,6 \pm 0,9) | 4,2–5,8 (5,2 \pm 0,4) | 0,7–1,6 (1,0 \pm 0,3) | 0,7–1,6 (1,0 \pm 0,3) |
| Total | 1,8–20,2 (3,9 \pm 1,9) | 33,0–83,0 (41,4 \pm 3,8) | 1,3–6,4 (3,2 \pm 0,9) | 1,1–5,9 (3,1 \pm 0,8) | 3,5– 7,7 (5,3 \pm 0,8) | 0,6–1,8 (0,7 \pm 0,6) | 0,6–1,8 (0,7 \pm 0,6) |

Tabla 6.3.3. Correlaciones de Spearman entre el Índice Hepatosomático, el Índice Hepatosomático “sano” y el Factor de Condición y los diferentes estimadores de la presencia de *Molicola horridus* en el hígado de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena).. Abreviaturas: ρ , es la Rho de Spearman; I.H., índice hepatosomático; I.H.*, índice hepatosomático “sano”.

| | | I.H. | I.H.* | Factor de condición |
|---|--|--------|-----------|---------------------|
| Intensidad | Coefficiente de correlación (ρ) | 0,158 | 0,109 | -0,048 |
| | Sig. (bilateral) | 0,116 | 0,279 | 0,633 |
| | N | 101 | 101 | 101 |
| Biomasa | Coefficiente de correlación (ρ) | 0,015 | -0,050 | 0,117 |
| | Sig. (bilateral) | 0,880 | 0,620 | 0,245 |
| | N | 101 | 101 | 101 |
| Densidad | Coefficiente de correlación (ρ) | -0,163 | -0,230(*) | 0,121 |
| | Sig. (bilateral) | 0,104 | ,021 | 0,226 |
| | N | 101 | 101 | 101 |
| Porcentaje de superficie hepática parasitada | Coefficiente de correlación (ρ) | -0,105 | -0,142 | -0,201(*) |
| | Sig. (bilateral) | 0,297 | 0,157 | 0,044 |
| | N | 101 | 101 | 101 |

(*)La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

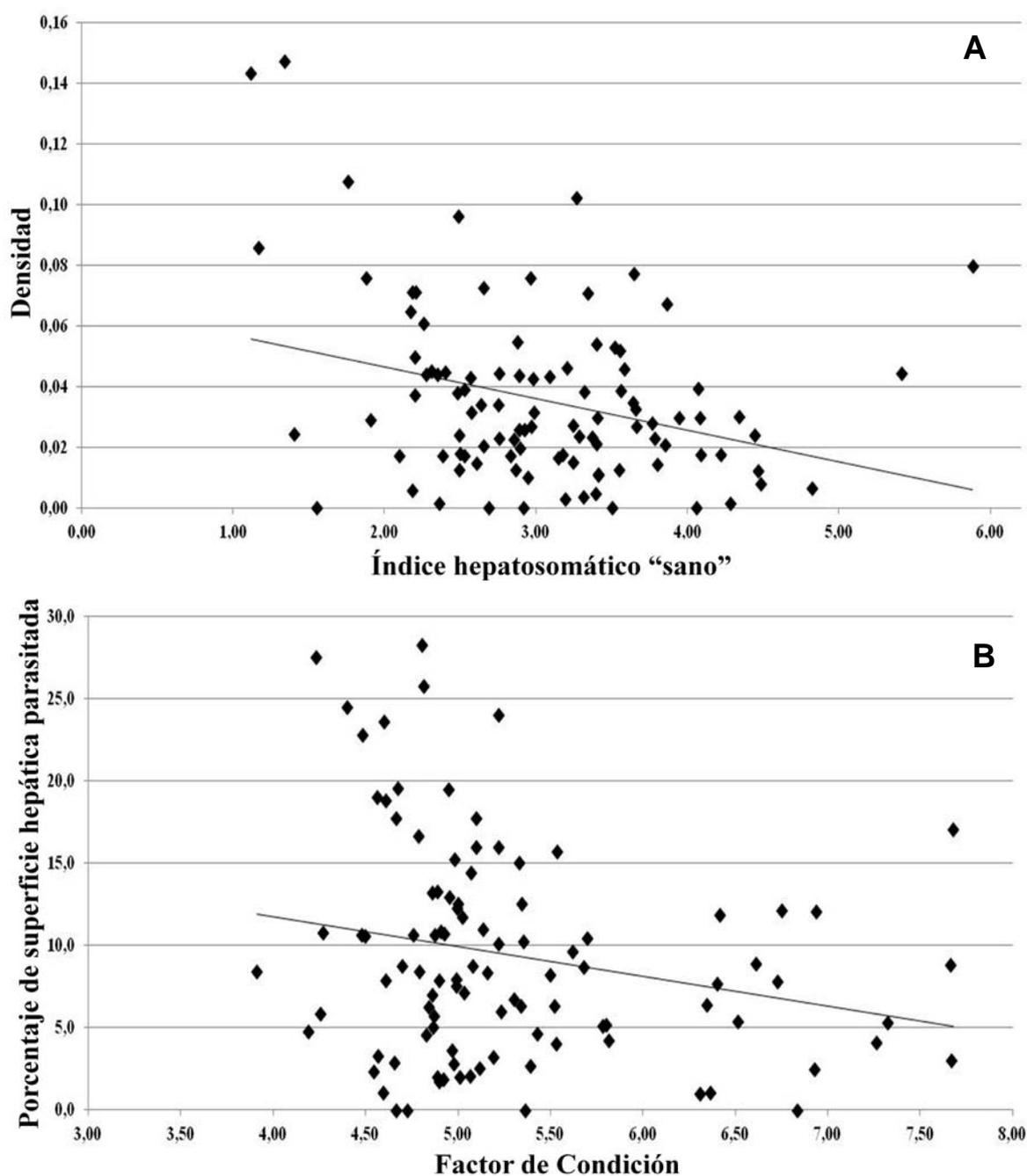


Figura 6.3.1. Diagramas de puntos entre el índice hepatosomático “sano” (I.H.*) y la densidad de parásitos (g de parásito/g de órgano) en el hígado de los 101 peces luna, *Mola mola*, “pequeños” recolectados en La Azohía (Cartagena). (A) y entre el factor de condición y el porcentaje de superficie hepática parasitada (B).

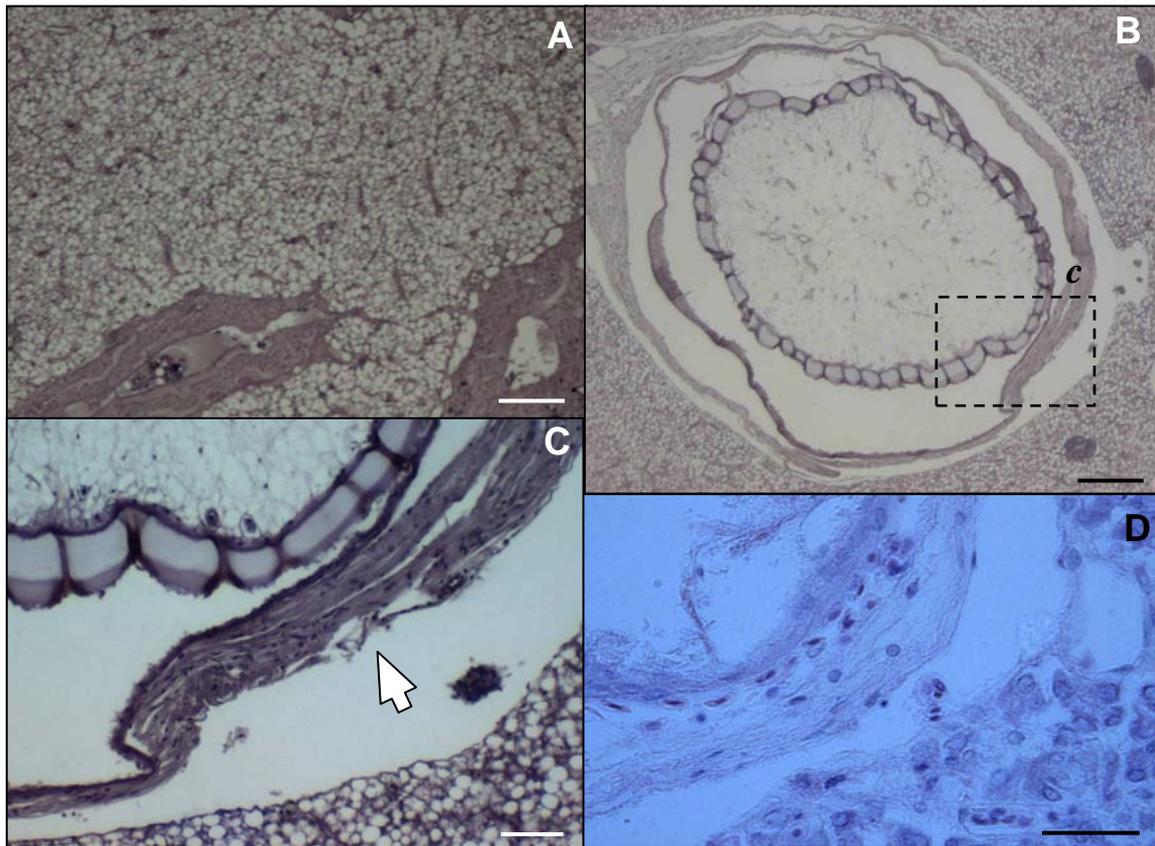


Figura 6.3.2. Lesiones microscópicas asociadas a *Molicola horridus* en hígado de pez luna, *Mola mola*. A, hígado sano, sin infección parasitaria; B, vesícula de *M. horridus* en hígado; C, capa de fibroblastos que encapsula a *M. horridus* en el hígado (flecha); D, detalle de la capa de fibroblastos. Escalas: 200 μm , en A y B; 100 μm , en C; y 50 μm , en D.

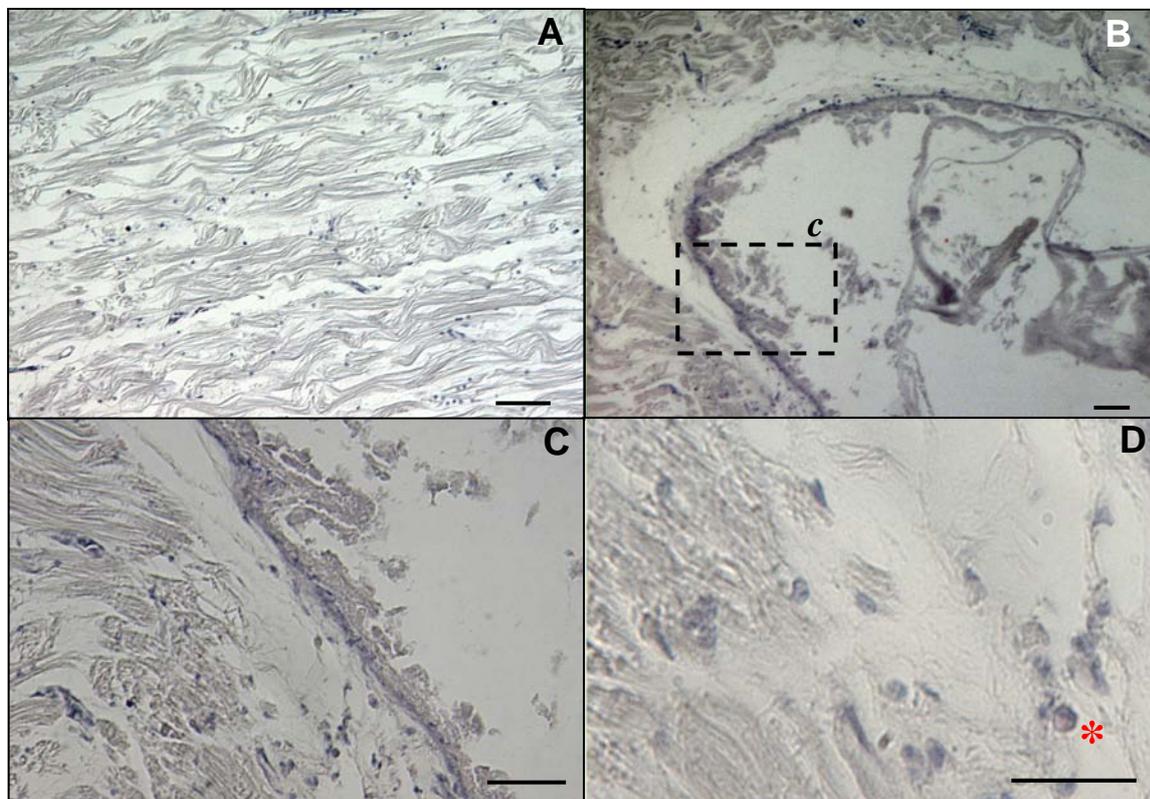


Figura 6.3.3. (pie de figura en la página siguiente)

Figura 6.3.3. Lesiones microscópicas asociadas a *Molicola horridus* en músculo de pez luna, *Mola mola*. A, músculo sano, sin infección parasitaria; B, vesícula de *M. horridus* en músculo; C, capa de fibroblastos que encapsula a *M. horridus* en el músculo (flecha); D, detalle de la capa de fibroblastos con macrófagos (asterisco) infiltrados. Escalas: 0,1, en A y B; y 50 μ m, en C y D.

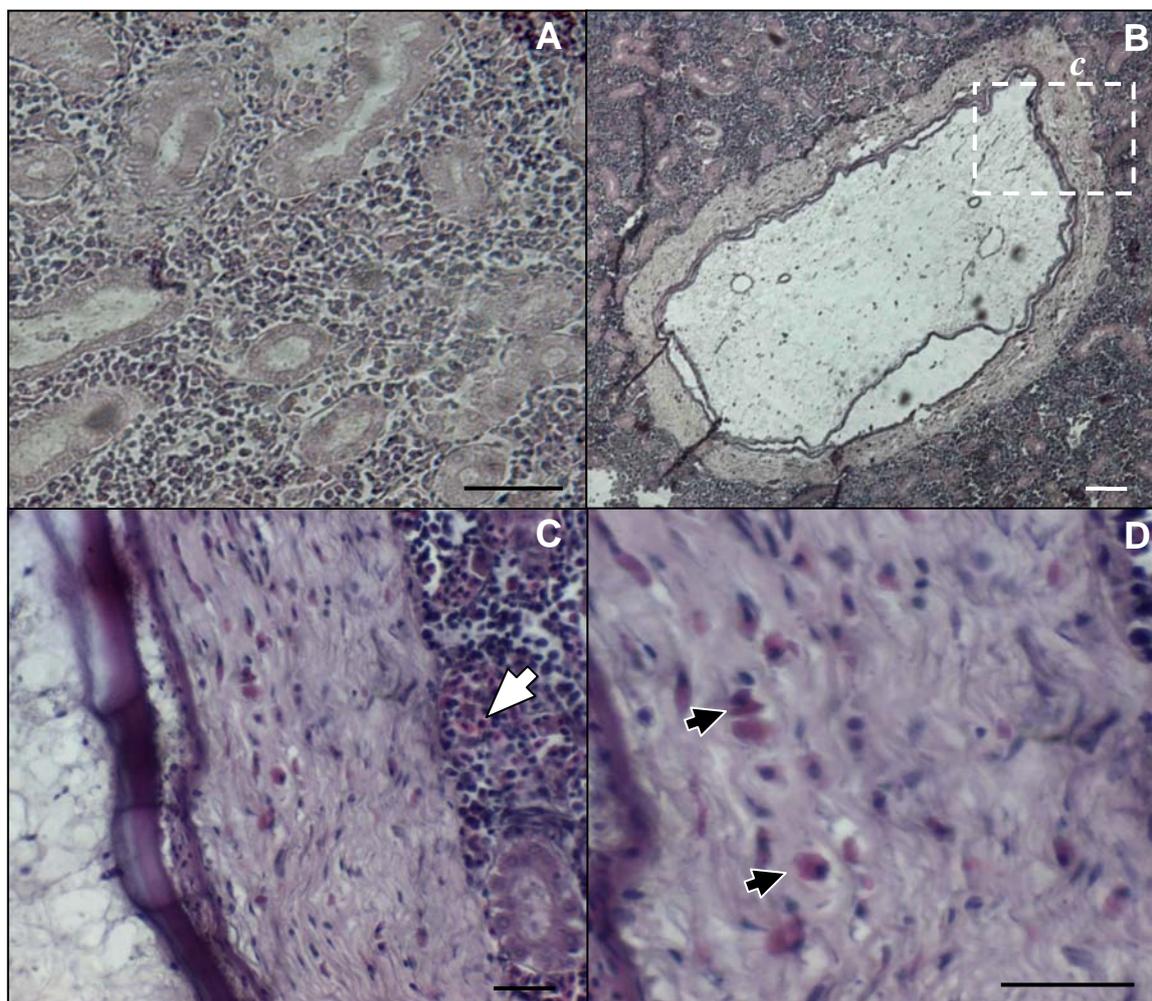


Figura 6.3.4. Lesiones microscópicas asociadas a *Molicola horridus* en riñón de pez luna, *Mola mola*. A, riñón sano, sin infección parasitaria; B, vesícula de *M. horridus* en riñón; C, capa de fibroblastos que encapsula a *M. horridus* en el riñón (flecha); D, detalle de la capa de fibroblastos con células granulares eosinofílicas (flechas negras) infiltradas. Escalas: 50 μ m, en A, C y D; y 200 μ m, en B.

-Estudio de la cantidad de glucógeno en los hígados infectados por *Molicola horridus*

La cantidad media de glucógeno del grupo “poco o nada parasitados” fue ligeramente superior a la de los otros dos grupos, sin embargo, los rangos de medidas de glucógeno se solapaban, y los “muy parasitados” tenían una media de glucógeno muy similar a los “medianamente parasitados” (ver Tabla 6.3.4), sin haber diferencia significativa entre la cantidad media de glucógeno de los tres grupos ($F= 0,056$; $p>0,05$; $g.l.=2$). Además, la cantidad de glucógeno encontrada en el único pez no parasitado que se pudo analizar fue

de 10 mg/ml, bastante inferior a la que se encontró en el pez más parasitado de la submuestra (14 parásitos) que fue de 23 mg/ml.

Tabla 6.3.4. Datos biológicos, parasitológicos y valores de glucógeno hepático de los tres grupos según la densidad de parásitos en hígado de la submuestra de 14 peces luna, *Mola mola*, recolectados en La Azohía (Cartagena) del tercer y cuarto años de muestreo, (2007 y 2008). Abreviaturas: N., número de peces de cada grupo.

| Grupo | N | Densidad de <i>M. horridus</i> | Intensidad <i>M. horridus</i> | Biomasa <i>M. horridus</i> | Glucógeno (mg/ml) |
|----------------------------|---|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------|
| “Poco o nada parasitados” | 4 | 0–2 % (1±1) | 0–6 (2,5±2,6) | 0–3,3 (1,7±1,3) | 2–22 (9,5±9,0) |
| “Medianamente parasitados” | 4 | 3–4 % (3±0) | 1–2 (1,3±0,5) | 2,9–5,1 (3,8±1,0) | 3–18 (7,0±8,6) |
| “Muy parasitados” | 6 | 5–15 % (9±3) | 2–14 (5,5±4,3) | 5,3–14,9 (8,8±3,8) | 3–23 (7,8±7,5) |

6.3.4. Discusión

El conocimiento sobre las patologías asociadas a las larvas de tripanorincos en peces es limitado aunque, en general, se les suelen considerar como fases latentes a la espera de ser ingeridas por el hospedador definitivo, por lo que se les asocia un efecto nocivo sobre el pez muy leve (Dick *et al.*, 2006). Otras larvas de cestodos, como algunos plerocercoides de pseudofilídeos, provocan daños notables en diferentes órganos y localizaciones de los peces. Por ejemplo, los plerocercoides de *Ligula* spp., enquistados en gónadas de ciprínidos y salmónidos, provocan alteraciones gonadales que llegan incluso a inhibir la gametogénesis (Dick *et al.*, 2006). Una de las pocas excepciones conocidas de larvas de tripanorincos asociadas a patologías en peces son los *plerocerci* de *Gymnorhynchus gigas* (Cuvier, 1817), especie ya citada previamente en este trabajo, muy próxima filogenéticamente a *Molicola horridus* (ambas de la familia Gymnorhynchidae). La infección de *G. gigas* en hígado y musculatura del pez erizo *Diodon hystrix* L. (Tetraodontiformes: Diodontidae) y en la musculatura de la palometa *Brama brama* (Bonnaterre, 1788) (Perciformes: Bramidae), produce alteraciones anatómicas, histológicas y fisiológicas notables (Seyda, 1976; Radhakrishnan y Nair, 1980; Radhakrishnan *et al.*, 1983; Vázquez-López *et al.*, 2001). En el presente capítulo se ha evaluado, utilizando diferentes aproximaciones, si *M. horridus* produce patologías similares en sus órganos diana, y los resultados previos apuntan a la existencia de algunos posibles efectos patógenos, aunque poco notables.

Las correlaciones significativas observadas parecen indicar una aparente disminución de

los pesos totales (factor de condición) y hepáticos (índice hepatosomático “sano”) de los peces al aumentar la carga parásita en el hígado. La posible disminución del peso del hígado “sano” indicaría la existencia de menos tejido hepático funcional al incrementar la cantidad relativa de parásitos, lo que podría estar mermando la salud del pez, que de hecho parece tener un menor peso. Estas correlaciones han de ser interpretadas con cautela, ya que estos mismos índices no resultaron estar significativamente correlacionados con el resto de estimadores del grado de parasitación. Cabe destacar que los estimadores parasitológicos que resultaron estar correlacionados (densidad y porcentaje de superficie hepática parasitada) son índices no utilizados tradicionalmente y que son relativos a la biomasa del parásito, lo que confirma el hecho de que, para valorar una infección, conviene tener en cuenta otros valores no relacionados con el número de parásitos. La disminución del tamaño relativo del hígado se ha detectado utilizando un estimador no utilizado previamente, el índice hepatosomático “sano”. Este estimador parece especialmente importante en el caso de las infecciones de *M. horridus*, ya que el parásito ocupa gran parte del hígado y puede disminuir notablemente el peso del tejido hepático funcional.

Otros estudios citan observaciones similares con larvas del orden Pseudophyllidea, en las que el órgano parasitado disminuye de peso por la disminución de poblaciones celulares (hepatocitos, eritrocitos, leucocitos, etc.) y por destrucción del parénquima de diferentes órganos (hígado, Otto y Heckman, 1984; bazo y pronefros, Taylor y Hoole 1989; gónadas, Dick *et al.*, 2006). Según Radhakrishnan y Nair (1980) en el caso del tripanorinco *G. gigas*, anteriormente citado, el peso del hígado de los peces infectados disminuye y, consecuentemente, disminuye el peso de los peces. Curiosamente, la intensidad del parásito en este caso era inferior a las encontradas para *M. horridus* en el hígado del pez luna (1 parásito para *G. gigas* y hasta 24 para *M. horridus*), aunque estos valores resultan difíciles de comparar con el presente estudio ya que los autores no dan información sobre la biomasa de *G. gigas*. En otras especies del orden Pseudophyllidea se ha observado la respuesta contraria en el hígado, hepatomegalia, por la acción del parásito (Joy y Madan, 1989). La hepatomegalia también se ha citado asociada a la infección del tripanorinco *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) en la tintorera (*Prionace glauca* L.), sin embargo, en este caso no se trata de una infección por larva sino por post-larva, y esta no está enquistada sino anclada a la superficie con los tentáculos, con lo que sí provocaría una lesión por anclaje traumático (Campbell y Callahan, 1998).

Tanto en hígado como en músculo observamos que *M. horridus* está encapsulado por capas de fibroblastos que forman una cubierta fina y la respuesta inflamatoria circundante es muy baja. Sin embargo, en riñón, la cápsula de fibroblastos es más gruesa y la respuesta inflamatoria es ligeramente mayor. Esta diferencia puede ser debida a la mayor irrigación del riñón y a la diferencia en la constitución celular de cada órgano, aspectos que influyen en la respuesta que los órganos generan frente a la presencia y acción del parásito (Campbell y Callahan, 1998). A pesar de esta mayor respuesta en riñón, en general se aprecia muy poca interacción parásito-hospedador a nivel histológico. Este hecho contrasta con los estudios histológicos de *G. gigas* en hígado de *Diodon hystrix* que han mostrado la destrucción de parénquima hepático y la existencia de tejido cirrótico alrededor de los blastoquistes del parásito, además de infiltración de células inflamatorias (Radhakrishnan y Nair, 1980).

En cuanto a la relación entre la cantidad de glucógeno y el grado de parasitación de los peces no parece existir un patrón claro, y no existen diferencias significativas entre los diferentes grados de parasitación. Sin embargo, en los estudios realizados con *G. gigas* parasitando *D. hystrix*, se observó que la acción del parásito produce los mismos cambios en la composición de hígado y músculo que los ocurridos en periodos de inanición, es decir; disminución del glucógeno, aumento del contenido de agua y aumento de los ácidos grasos libres (Radhakrishnan *et al.*, 1983). Además, en *B. brama*, *G. gigas* produce un aumento de la cantidad de nitrógeno en musculatura asociada a la liberación de excretas por parte del parásito, haciendo la carne inviable para el consumo, además de aumentar también el contenido en agua y disminuir el glucógeno (Seyda, 1976; Vázquez-López *et al.*, 2001). Conviene tener en cuenta que en este estudio se ha realizado una valoración preliminar con una submuestra pequeña de 14 hígados, con un solo hígado no parasitado. En futuros estudios se pretende ampliar la muestra, analizando el glucógeno y también el nitrógeno de hígado y músculo.

La mayoría de estudios sobre el efecto patológico realizados en este apartado no muestran de forma clara la existencia de un efecto notable de *M. horridus* sobre el pez luna, sin embargo es previsible que este parásito tenga algún tipo de efecto nocivo asociado a su abundante biomasa, especialmente en un órgano de tanta importancia como el hígado. Otras larvas de cestodo y, en general, la gran mayoría de larvas de tripanorrincos, no parecen experimentar crecimientos tan exagerados como los que llega a alcanzar *M. horridus*, llegando a ocupar casi el 10 % de la biomasa del hígado (ver apartado 6.2).

Como se ha comentado, la disminución de la cantidad de hígado funcional y la elevada densidad de parásito (a pesar de la baja respuesta inflamatoria) estaría provocando diferentes alteraciones en la fisiología del pez luna: *i*) la menor cantidad de tejido hepático provocaría una disfunción de este órgano que le obligaría a tener un mayor rendimiento relativo, provocando un estrés fisiológico; y *ii*) al disminuir la masa del hígado, disminuye la cantidad de lípidos corporales, lo que es imprescindible para la correcta natación de este pez, ya que carece de vejiga natatoria (Ackman *et al.*, 1973; Watanabe y Sato, 2008). No parece sin embargo probable que la actividad de estos parásitos tenga un efecto letal directo, sino más bien algún grado de daño subletal, ya que casi todos los peces juveniles estaban parasitados y tenían una apariencia en general sana.

Resulta destacable el hecho de que la elevada carga del parásito no se observe en los grandes individuos adultos de pez luna (Aureli, 2004; Gustinelli *et al.*, 2006; presente estudio). Esta disminución en la presencia del parásito podría deberse a que los adultos son capaces de superar la parasitación o a que muchos de los juveniles más afectados mueran. Existen estudios en los que se ha observado un mayor efecto de larvas de cestodos sobre peces juveniles, actuando así, bien como reguladores de la población (Joy y Madan, 1989) o bien facilitando su depredación por el hospedador definitivo (Heins y Baker, 2011). Los grandes peces luna maduros, de unos 3 m de longitud, tienen muy pocos depredadores, existiendo sólo algunas citas de depredación por animales más grandes como la orca o el tiburón blanco (Gladstone, 1988; Fergusson *et al.*, 2000). Sin embargo, como se comentó anteriormente, existe una gran mortandad de peces luna desde que nacen hasta que llegan a la madurez, lo que es debido en parte a la depredación de juveniles por leones marinos, llampugas o tiburones de pequeño tamaño como marrajos y tintoreras (los hospedadores definitivos) (Garibaldi y Orsi Relini, 2000; Powell, 2001; Pope *et al.*, 2010; Froese y Pauly, 2012). Por este motivo, la infección de los hospedadores definitivos debe de producirse, prioritariamente, en las fases juveniles del pez luna. La posible influencia perjudicial de *M. horridus* sobre estos “peces luna pequeños” estaría debilitándolos y haciéndolos más vulnerables al ataque de tiburones carroñeros o depredadores a los peces luna más parasitados, facilitando la transmisión del parásito a los hospedadores definitivos.

**6.4. ESTUDIO PRELIMINAR DE TRATAMIENTOS
CONTRA *MOLICOLA HORRIDUS* EN PEZ LUNA CON
DERIVADOS DEL BENZIMIDAZOL; EFECTO EN LA
ULTRAESTRUCTURA TEGUMENTARIA**

6.4.1. Introducción

Como se ha comentado en la introducción general de esta tesis doctoral, el pez luna es una especie de elevado interés para los grandes acuarios de todo el mundo, por ello su mantenimiento en cautividad es un objetivo fundamental en este sector. Sin embargo, este objetivo raramente se consigue ya que los peces luna presentan numerosos problemas fisiológicos en cautiverio, aparentemente asociados a su elevada sensibilidad al estrés (Garrat, 2001), lo que les provoca lesiones de diferente gravedad (úlceras, opacidad ocular, natación anormal, etc.). Por este motivo, existen importantes esfuerzos provenientes de los responsables de los acuarios para intentar mejorar la calidad de vida de estos peces, y una de las formas de contribuir a estas mejoras es combatiendo las patologías que puedan aparecer.

Cómo se ha reflejado en este estudio, los peces luna presentan intensidades de parásitos muy elevadas (más de 10000 parásitos en un solo pez, según datos del presente estudio). También se ha comentado, en este mismo capítulo, que algunos parásitos, como *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935, podrían afectar seriamente a la salud de los peces. De hecho, como se ha discutido anteriormente en el apartado 6.3, las larvas de *M. horridus* son uno de los principales potenciales patógenos del pez luna, pudiendo disminuir la viabilidad de los peces, especialmente en cautiverio. Por este motivo el presente apartado está dedicado al estudio de tratamientos contra este parásito realizados en las instalaciones del acuario *L'Océanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia, con el apoyo del personal del acuario en el seno de un convenio de colaboración entre la Universidad de Valencia y C.A.C.S.A.

Existen tratamientos efectivos contra cestodos adultos que parasitan el digestivo de vertebrados (principalmente terrestres), ya que cualquier antihelmíntico aportado en la dieta llega fácilmente a los parásitos a través del tubo digestivo (Sanmartín *et al.*, 1989; Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Sin embargo, existen menos tratamientos contra cestodos larvarios, ya que habitan dentro de tejidos de los hospedadores y han de ser absorbidos en el digestivo e incorporados al torrente circulatorio de los animales infectados (absorbidos por vía oral, inyección, etc.). No existe ningún tratamiento conocido aplicado contra larvas de cestodos de peces, por lo que para el presente trabajo se ha tomado como modelo dos derivados del benzimidazol (BZ): el albendazol (ABZ) y el fembendazol (FBZ), previamente utilizados en vertebrados terrestres (Ammann *et al.* 1994; World Health Organization, 1996). Estos tratamientos están recomendados contra

endoparásitos que no se encuentran en la luz del digestivo y no quedan expuestos directamente a los antihelmínticos aportados en dieta, debiendo ser absorbidos a través del epitelio intestinal (Dawson *et al.*, 1984; Criado-Fornelio *et al.*, 1987). Ambos antihelmínticos (ABZ y FBZ) fueron también seleccionados porque se aplican en infecciones de larvas cistírcercoide de *Echinococcus granularis* Batsch, 1786 (Cestoda, Taeniidae) en vertebrados terrestres (Hinz, 1978; Schantz *et al.*, 1982; Pérez-Serrano *et al.*, 1994), y éstos, de forma parecida a los *plerocerci* de *M. horridus*, están enquistados en los hígados de sus hospedadores. El fembendazol es, además, un antihelmíntico de rutina con el que los peces luna son normalmente tratados en acuarios públicos aunque sus efectos concretos sobre *M. horridus* no han sido probados hasta la fecha y hay que tener en cuenta que la digestión y absorción del digestivo de los peces es mucho menos eficiente que la de vertebrados terrestres (Lovell, 1998), por lo que la efectividad de estas sustancias puede ser menor. En general los derivados del benzimidazol producen la inhibición de la formación de microtúbulos (Lacey, 1988; Jiménez-González *et al.*, 1991) los cuales son necesarios para el desarrollo de los microtricos. Estas estructuras son unas pequeñas proyecciones tegumentarias que cubren la superficie de los cestodos (Smyth *et al.*, 1966; Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Los microtricos están involucrados en diferentes funciones fisiológicas fundamentales incluyendo la absorción de nutrientes y la secreción celular, ya que los cestodos carecen de sistema digestivo (Lacey, 1988). La importancia funcional de estas estructuras ha provocado que muchos de los tratamientos antiparasitarios específicos de cestodos que se han estudiado estén basados en su destrucción o inhibición.

La colaboración con los departamentos de veterinaria y biología del acuario *L'Océanogràfic* ha permitido desarrollar el primer estudio *in vivo* sobre tratamientos enfocados a combatir infecciones de cestodos larvarios en peces luna y, en general, en peces.

6.4.2. Material y métodos específicos

(ver *Material y métodos generales*). Los tratamientos experimentales objetivo del presente estudio han sido probados, desde 2007 hasta 2009, en 8 peces luna mantenidos en las instalaciones del acuario *L'Océanogràfic* (datos biológicos en Tabla 6.4.1). Todos los peces tenían la misma procedencia que el resto de peces muestreados en la presente tesis doctoral (la almadraba de La Azohía (Cartagena)). Los peces fueron recolectados,

trasladados y aclimatados en el área de cuarentena del acuario según se indica en el apartado de *Materiales y métodos generales*, recibiendo tratamientos rutinarios contra ecto y endoparásitos (ver apartado 3.2. y Tabla 3.2.1). Desafortunadamente, no se dispone de peces no tratados para comparar la supervivencia tras la aplicación del tratamiento, ya que todos los peces adquiridos por el acuario han de ser tratados durante su período de cuarentena. Los ejemplares seleccionados para la experimentación con albendazol no recibieron fembendazol.

El diseño experimental incluyó 3 grupos de tratamientos orales, cuyas dosis de antihelmínticos y periodos de aplicación, fueron calculadas según las cantidades que se utilizan para vertebrados terrestres (Schantz *et al.*, 1982). A un grupo de peces (n= 2) se les trató con un solo tipo de dosis y secuencia de aplicación de fembendazol (FBZ1), siguiendo el tratamiento rutinario desarrollado en el acuario *L'Oceanogràfic*. Para el albendazol se aplicaron dos tipos de tratamiento: a un grupo (n= 1) se le trató con las mismas dosis y pautas de aplicación que para el FBZ1 (ABZ1) y, a otro grupo (n= 3), se les trató con la mitad de la dosis (ABZ0,5). La Tabla 6.4.1 contiene más detalles sobre los tratamientos empleados.

Tabla 6.4.1. Datos de los peces luna, *Mola mola*, del acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia sometidos al estudio experimental de tratamientos antihelmínticos contra *Molicola horridus*. Se indica el tratamiento y dosis recibida por cada grupos experimental, número de peces de cada grupo, longitud total (Lt) en cm, el peso de los peces (g), el peso del hígado (g) y la intensidad media con la desviación típica (I.M.±D.T.) de *M. horridus* en el hígado.

| Tratamiento | Dosis (3 días consecutivos) | N | Lt | Peso | Peso hígado | I.M.±D.T. |
|-------------------------|-----------------------------|---|----------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|
| Control (C) | - | 2 | 38–43 (40,5±3,5) | 4206,3–4970 (4588,1±540) | 128–167 (174,5±27,6) | 8–9 (8,5±0,7) |
| Fembendazol (FBZ1) | 10, 20 y 30 mg/kg | 2 | 36–42 (38,9±11,7) | 13870–37000 (25430±16362) | 460–887,2 (673,6±302,1) | 5–7 (6,0±1,4) |
| Albendazol 0,5 (ABZ0,5) | 5, 10 y 15 mg/kg | 3 | 38–39 (38,9±1,3) | 12440–90620 (40650±40390,9) | 448,9–3060 (1605,9±1330,7) | 4–9 (5,7±2,9) |
| Albendazol 1 (ABZ1) | 10, 20 y 30 mg/kg | 1 | 41 | 6300 | 195,8 | 11 |

Para preparar los tratamientos orales las dosis anteriormente citadas, tanto de fembendazol como de albendazol (presentados en polvo), eran introducidas en cápsulas que eran incluidas dentro del alimento de los peces. Los peces eran observados durante todo el proceso para asegurar la ingesta de la comida con las cápsulas en su interior. Después eran monitorizados dentro del tanque de exhibición, registrando su supervivencia. Los peces eran analizados al poco tiempo después de morir de forma

natural (1–2 horas), recolectando y registrando los parásitos de todos los órganos. Se realizó un estudio ultraestructural de los *plerocerci* de *Molicola horridus* de hígado de peces sometidos a los diferentes tratamientos diseñados para este estudio, utilizando microscopía electrónica de transmisión (M.E.T.). Para el estudio de larvas no tratadas se dispuso de muestras adicionales procedentes de 2 peces control (C), que no recibieron ningún tratamiento, ya que murieron tras el traslado, antes de llegar al área de Cuarentena del acuario.

Para realizar el estudio con microscopía electrónica de transmisión, los especímenes de *M. horridus* recolectados de los hígados de estos peces, previamente lavados en solución salina, fueron seccionados recolectando fragmentos de la extensión caudal del blastoquiste ya que se trata, con diferencia, de la parte de mayor longitud que se encuentra en contacto directo con los tejidos del pez. No se estudió el escólex ya que éste está invaginado dentro del blastoquiste y, como se ha explicado anteriormente, ambos se encuentran encapsulados en una vesícula que es la que contacta con los tejidos del hospedador. Cada uno de los fragmentos seleccionados fue fijado en glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato al 0,1 M (pH 7,4) durante 24 horas, después fueron lavados y conservados en tampón fosfato. Durante este período las muestras fueron guardadas en nevera a 19 °C. Después, se fijaron de nuevo con tetróxido de osmio al 1 % en tampón fosfato y se deshidrataron en una serie ascendente de etanoles desde 30 % a 100 % para ser transferidas en epoxypropano. La inclusión fue realizada añadiendo epoxypropano al 60 %/epon-araldita al 40 % y dejando la mezcla en desecación durante 12 horas a 4 °C. Seguidamente, las muestras fueron transferidas a moldes con epon fresco y se secaron durante 48 horas a 60 °C en un horno. Se cortaron secciones ultrafinas que fueron montadas en rejillas y teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las rejillas con las secciones fueron examinadas en microscopio electrónico de transmisión modelo JEOL 1010 de la Unidad de Microscopia Electrónica del S.C.S.I.E. (*Servei Central de Suport a la Investigació Experimental*). Las dimensiones de los microtricos y de las capas del tegumento de los parásitos sometidos a diferentes tratamientos han sido medidas, describiendo además en cada caso su aspecto utilizando la terminología aparecida en Grammeltvedt (1973) y Chervy (2009). Las medidas, realizadas desde las fotografías, proceden de 3 parásitos diferentes de cada tratamiento. En cada caso se midieron 10 estructuras.

6.4.3. Resultados

La media de supervivencia fue de $120,0 \pm 79,2$ días para los peces luna tratados con FBZ; $463,3 \pm 575,9$ días para los tratados con ABZ0,5 y de 89 días para el tratado con ABZ1 (Tabla 6.4.2). Todos los peces analizados presentaron *plerocerci* de *Molicola horridus* que siempre fueron recolectados vivos, independientemente del tratamiento recibido.

Tabla 6.4.2. Supervivencia (expresada en días) de los peces luna analizados en la prueba experimental según el tratamiento antihelmíntico administrado.

| Espécimen | Tratamiento | Supervivencia tras tratamiento |
|------------------|----------------|--------------------------------|
| <i>M. mola</i> 1 | Control | - |
| <i>M. mola</i> 2 | Control | - |
| <i>M. mola</i> 3 | Fembendazol | 64 |
| <i>M. mola</i> 4 | Fembendazol | 176 |
| <i>M. mola</i> 5 | Albendazol 0,5 | 17 |
| <i>M. mola</i> 6 | Albendazol 0,5 | 199 |
| <i>M. mola</i> 7 | Albendazol 0,5 | 1093 |
| <i>M. mola</i> 8 | Albendazol 1 | 89 |

El estudio de M.E.T. mostró que la medida de los microtricos de las extensiones caudales del blastoquiste de los parásitos de hígados de peces control, no tratados, fue de $0,5-0,7$ ($0,6 \pm 0,1$) $\mu\text{m} \times 0,1 \mu\text{m}$. Estos parásitos presentaban un gran número de microtricos bifurcados con una distribución ordenada (figs. 6.4.1A y B, asterisco) cubiertos por una capa fibrosa de grosor variable (fig. 6.4.1B, fecha doble). En el citoplasma distal se observaron vesículas de micropinocitosis (fig. 6.4.1B, flecha) y cuerpos electrodensos (fig. 6.4.1B, punta de flecha). El grosor del citoplasma distal fue de $2,7-9,2$ ($4,8 \pm 2,7$) μm . Las vesículas de micropinocitosis presentaron una medidas de $0,2-0,3$ ($0,3 \pm 0,0$) $\times 0,1$ ($0,1 \pm 0,0$) μm .

Los parásitos de los peces tratados con fembendazol presentaron microtricos bifurcados de $0,5-0,6$ ($0,5 \pm 0,1$) $\mu\text{m} \times 0,1 \mu\text{m}$ (figs. 6.4.1C y D). Su número era, aparentemente, algo menor al de los parásitos de los peces del grupo control. La capa fibrosa que los cubría presentaba un aspecto más disgregado que en el caso de los controles. El grosor del citoplasma distal fue de $1,1-1,4$ ($1,2 \pm 0,4$) μm y las vesículas de micropinocitosis midieron $0,2-0,4$ ($0,3 \pm 0,1$) $\times 0,1-0,2$ ($0,1 \pm 0,1$) μm . Los parásitos de los peces tratados con ABZ0,5 presentaron unos microtricos bifurcados de $0,4-0,6$ ($0,5 \pm 0,1$) $\times 0,1-0,2$ ($0,1 \pm 0,0$) μm en número y distribución similar a los parásitos de los peces del grupo control (figs. 6.4.1E y F). La capa fibrosa estaba disgregada. El grosor del citoplasma

distal fue de 1,5–1,9 ($1,7\pm 0,2$) μm y las vesículas de micropinocitosis midieron 0,2–0,4 ($0,3\pm 0,1$) \times 0,2–0,3 ($0,2\pm 0,0$) μm . La superficie de las extensiones caudales del blastoquiste de los parásitos de los peces tratados con ABZ1 no presentaba microtricos (figs. 6.4.1G y H). Su citoplasma distal presentó un grosor de 8,0–9,3 ($8,5\pm 0,6$) μm y las vesículas de micropinocitosis, aparentemente presentes en mayor número que en el resto de grupos, midieron de 0,2–0,4 ($0,3\pm 0,1$) \times 0,1–0,3 ($0,2\pm 0,1$) μm .

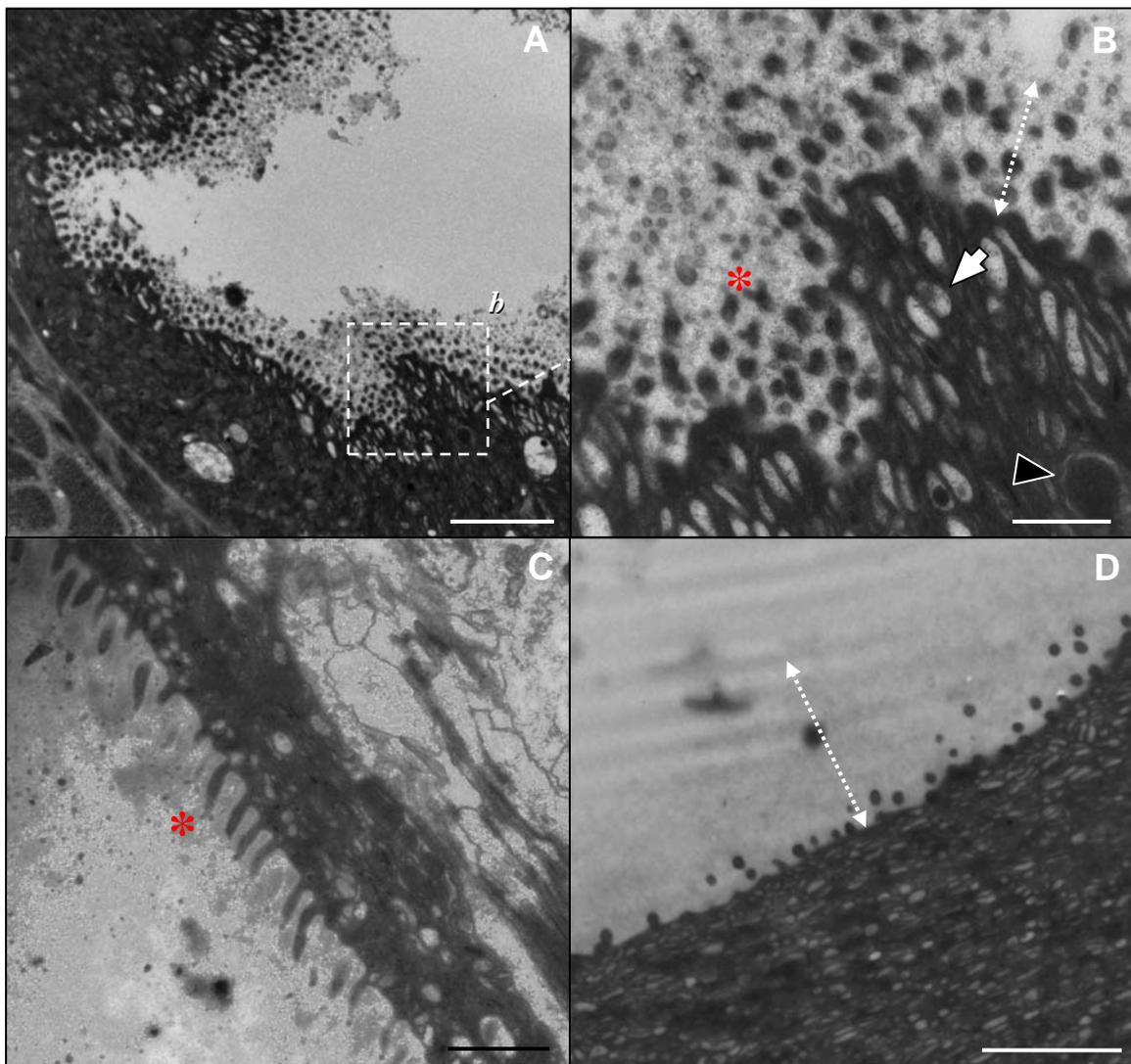


Figura 6.4.1. (pie en página siguiente)

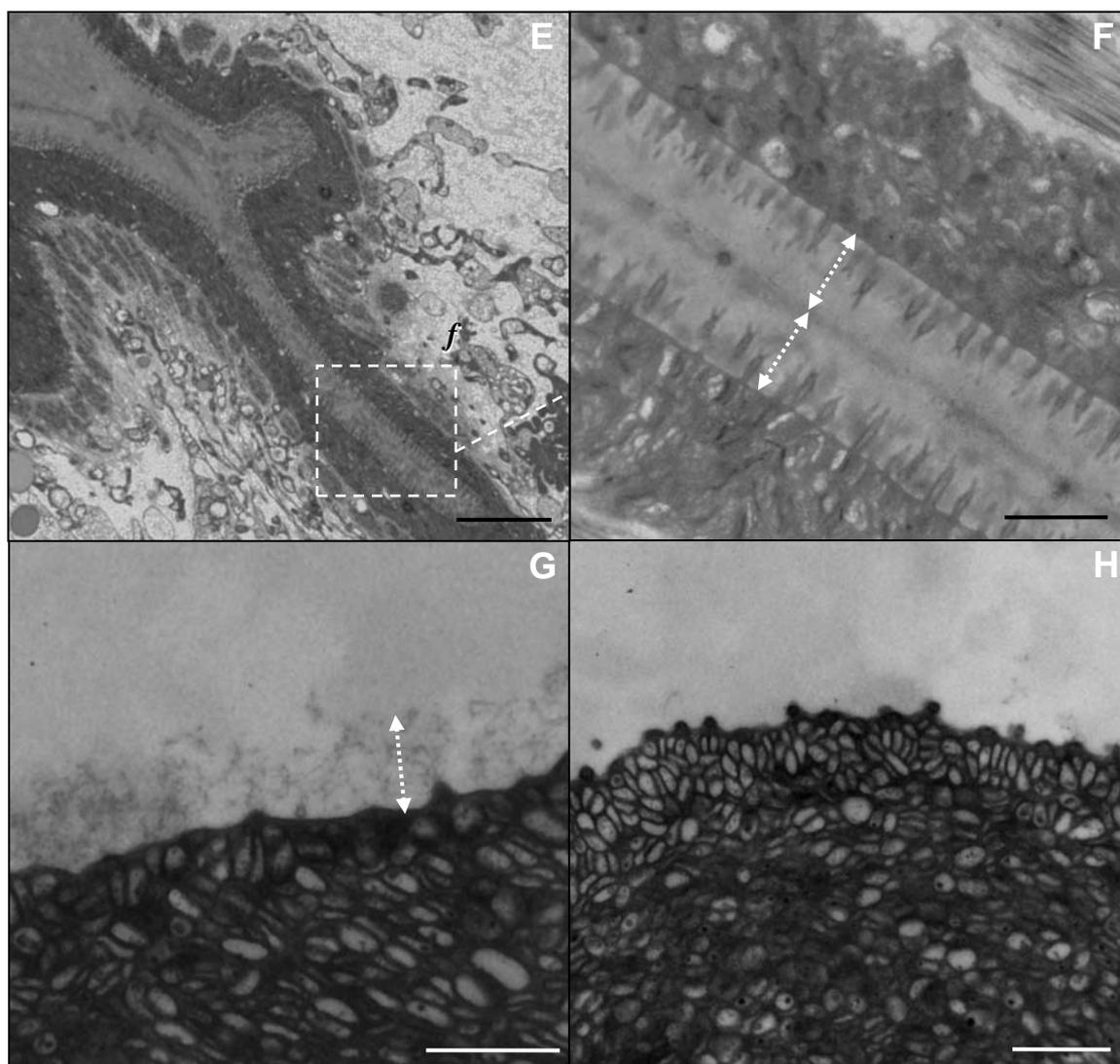


Figura 6.4.1. Imágenes de M.E.T. de los cortes ultrafinos de las prolongaciones caudales del blastoquiste de *Molicola horridus* del hígado de peces luna, *Mola mola*, control o sometidos a diferentes tratamientos. A y B, parásitos en los peces control: A, tegumento con microtricos cortados transversalmente, con recuadro (b) marcando el citoplasma distal; B, detalle del recuadro b de la figura A donde se observa el citoplasma distal con los microtricos (extremo bifurcado marcado por el asterisco rojo), las vesículas de micropinocitosis (flecha blanca) y los cuerpos electrodensos (punta de flecha negra). C y D, parásitos tratado con fembendazol: C, tegumento con microtricos bifurcados (asterisco) cortados longitudinalmente; D, citoplasma distal con microtricos en corte transversal. E y F, parásitos tratado con dosis “ABZ0,5” de albendazol: E, tegumento el que se observan los microtricos, con recuadro (f) marcando los citoplasmas distales de zonas opuestas; F, detalle del recuadro f de la figura E en el que se observan los microtricos bifurcados en corte longitudinal. G y H, parásitos tratados con dosis “ABZ1” de albendazol: G, corte longitudinal y H, corte transversal de los restos de los microtricos. Las flechas blancas dobles marcan el grosor de la capa fibrosa. Escalas: 2 μm , en A, G y H; 0,5 μm , en B; 1 μm , en C y F y 5 μm , en D y E.

6.4.4. Discusión

A pesar de que los resultados obtenidos en este estudio preliminar no son concluyentes, debido a que el tamaño muestral ha sido muy reducido por la dificultad de experimentar con grandes peces en acuarios públicos, la novedad del estudio ha permitido obtener algunos datos que pueden ser útiles en futuros estudios. Éste es, además, el primer estudio que examina la ultraestructura del tegumento de los *plerocerci* de *Molicola horridus*, por lo que se han podido describir aspectos hasta ahora desconocidos de su topografía y composición, observándose que el tegumento de las extensiones caudales del blastoquiste está tapizado por microtricos bifurcados. En otros estudios de topografía tegumentaria de larvas de tripanorincos se ha analizado el escólex y fundamentalmente los botridios de los parásitos (Carvajal *et al.*, 1987; Palm *et al.*, 1998). Solamente en el caso de *plerocerci* de *Gymnorhynchus gigas*, se han descrito microtricos en las extensiones caudales del blastoquiste, pero en este caso los autores los describen como “filiformes” (Casado *et al.*, 1999).

El efecto más notable del antihelmíntico es, aparentemente, la disminución del número de microtricos. Su número parece mayor en el caso de los controles y de la dosis baja de albendazol (ABZ0,5), además de presentar una distribución más homogénea y una capa fibrosa más compacta comparada con la de los otros grupos. El efecto más importante parecía observarse en el caso de los tratados con ABZ1, donde no se observaron microtricos ni capa fibrosa en la extensión caudal del blastoquiste. El mayor grosor observado de citoplasma distal fue el que presentaron los parásitos tratados con ABZ1. Esto puede ser debido a la aparente mayor densidad de vesículas de micropinocitosis (ver figs. 6.4.1G y H). Éstas son un tipo de vesículas llenas de fluido que actúan en los procesos de incorporación de nutrientes y su aumento en número puede ser debido a una disfunción asociada a la pérdida de las estructuras encargadas de la absorción de nutrientes, los microtricos. En el resto de grupos el número de estas vesículas es bastante similar y sus medidas son parecidas en todos los grupos experimentales.

A pesar de estas alteraciones ultraestructurales observadas en la superficie de las extensiones caudales del blastoquiste, hay que destacar que todos los especímenes de *M. horridus* extraídos de los hígados de los peces luna estaban siempre vivos, independientemente del tratamiento recibido, por lo que, a pesar del efecto observable, el tratamiento no consiguió causar la muerte al parásito. Además, el efecto de los antihelmínticos no parece haber mejorado la supervivencia de los peces tratados. Los

peces luna que recibieron el tratamiento de ABZ0,5 son los que sobrevivieron más tiempo (436,3 días de media), comparado con los tratados con FBZ (120,0 días) y con los que recibieron ABZ1 (89 días, solo un pez), resultados que no coinciden con la reducción de los microtricos por el efecto de los tratamientos. Aún así, según lo observado y discutido en apartados anteriores, estos resultados son esperables, ya que se ha observado que el parásito probablemente tiene un efecto subletal leve sobre el pez y, con los tratamientos, sólo esperaríamos un moderado incremento del bienestar de los animales. Harían falta más pruebas de cada grupo experimental, en general, y de peces no tratados, en particular, para poder comparar las supervivencias de peces tratados con peces que no tomaron ningún tratamiento.

En resumen, tras esta primera prueba experimental se ha podido constatar un efecto de los antihelmínticos contra las larvas de cestodos. A pesar de que su efecto en peces luna infectados queda por investigar en más detalle, se han observado evidencias de que el antihelmíntico es absorbido e incorporado al medio interno, con lo que sabemos que pueden utilizarse contra parásitos viscerales en peces, lo que resulta prometedor para otros casos similares, quizás de mayor gravedad, como los citados para pseudofilídeos. Estos tratamientos también tienen interés a nivel sanitario humano ya que, al ser tratamientos permitidos para uso alimentario (Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, Codex Alimentarius, 2011), se podría explorar su uso para combatir la difilobotriasis en humanos. De esta forma, se podrían hacer tratamientos preventivos para evitar las infecciones por las larvas de *Diphyllobothrium* spp. que infectan a peces cultivados de consumo humano (Lee *et al.*, 2001; Cabello, 2007).

7. CONCLUSIONES

Se ha realizado, por primera vez, el estudio de la parasitofauna del pez luna, *Mola mola*, del Mediterráneo español. Se analizaron 106 peces procedentes, en su mayoría, de la almadraba de La Azohía (Cartagena, Murcia) durante el período 2005–2008. Este número incluye 2 ejemplares varados en Canet de Berenguer y Almazora (Comunidad Valenciana). Además, se han analizado 61 peces luna procedentes igualmente de la almadraba de La Azohía, mantenidos en el acuario *L'Oceanogràfic* de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia durante el periodo 2004–2009.

Se han obtenido las siguientes conclusiones extraídas de los capítulos que componen la presente tesis doctoral:

1. Se han hallado 27 especies de parásitos metazoos: 10 trematodos, 1 monogeneo, 4 cestodos, 1 acantocéfalo, 3 nematodos, 7 copépodos y 1 isópodo. Se incrementa en 10 especies la diversidad parasitaria conocida del pez luna: 2 nuevas especies para la ciencia (*Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n. (Trematoda) y *Nogaus* sp. n. (Copepoda)) y 8 nuevas citas (*Bolbosoma capitatum* (Acanthocephala); *Anisakis* sp. Tipo I, *Anisakis* sp. Tipo II y *Ascarophis* sp. (Nematoda); *Caligus* sp., *C. bonito*, *C. pelamydis* (Copepoda), *Gnathia* sp. (Isopoda)).

2. Se encontraron numerosos abultamientos en la piel de uno de los peces luna varados. Estos abultamientos contenían cápsulas formadas por didimozoidos adultos fusionados clasificados como *Gonapodasmiinae* gen. n. sp. n. Esta especie presenta características genéricas y específicas exclusivas: *i*) más de dos individuos fusionados y *ii*) ventosa ventral. La dispersión de los huevos de esta especie podría realizarse mediante rupturas traumáticas (originadas por otras especies) de la piel en la que se encuentran encerrados.

3. Se hallaron, en piel y branquias, 2 machos de la especie *Nogaus* sp. n. (Copepoda: Pandaridae). Parece tratarse de una nueva especie del género, aunque sería necesario revisar más ejemplares para la correcta erección de una nueva especie. Es la primera cita de una especie del género *Nogaus* en pez luna.

4. Se aportan nuevos datos morfológicos del didimozoido branquial *Reniforma squamata* (Trematoda: Dydimozoidae) no citados en su descripción original, al tiempo que se revalida al género *Reniforma* por su combinación de caracteres morfológicos exclusivos: *i*) individuos completamente hermafroditas; *ii*) fusión por la parte posterior formando cápsulas reniformes; *iii*) neovascularización; *iv*) ventosa ventral presente; y *v*) ovario y glándulas vitelógenas no ramificadas. Se observaron microvellosidades en el tegumento de la superficie corporal de los parásitos.

5. Se aportan detalles morfológicos de *Accacoelium contortum* (Trematoda: Accacoeliidae) no citados en su descripción original: *i*) pedúnculo de la ventosa ventral “corto” o “largo” y *ii*) posición de glándulas vitelógenas variable según el grado de relajación de los especímenes. Se encontraron ejemplares entre los dientes faríngeos, ubicación no citada previamente.

6. Se aportan detalles morfológicos de *Lepeophtheirus nordmanni* (Copepoda: Caligidae) no citados previamente: *i*) 25 setas del segmento proximal de las anténulas en las hembras y 29 en los machos; *ii*) 2 setas cortas en el extremo distal del endópodo del primer apéndice; *iii*) hembras con 4 setas en el segundo segmento del exópodo del tercer apéndice; *iv*) machos con proyecciones dorsales en el cefalotórax; *v*) rama interna de la bifurcación apical de la antena del macho mitad de grande que rama externa; *vi*) espina apical en la zona basal del maxilípedo del macho presente; y *vii*) sexto apéndice presente en machos.

7. Se describen por primera vez las fases larvarias parásitas de *Lepeophtheirus nordmanni*. Las larvas son más pequeñas que las del resto de especies del género *Lepeophtheirus* conocidas, sin embargo, a partir de los preadultos, los ejemplares de *L. nordmanni* son más grandes que los de las otras especies. Se encontraron algunas diferencias con el resto de especies congénéricas en las fases copepodito, *chalimi* I, primeros preadultos (machos y hembras) y machos preadultos.

8. La sex ratio de *Lepeophtheirus nordmanni* es próxima a la unidad. La cavidad bucal parece ser la ubicación más idónea para la formación de huevos en las hembras adultas de

L. nordmanni, ya que esta área está protegida de las corrientes de agua. Esta preferencia puede deberse a la mayor adecuación de las mucosas bucales para alimentar a las hembras grávidas. Los valores de prevalencia e intensidad de *L. nordmanni* son superiores a los registrados para otras especies del género. La cópula parece suceder en la piel y, posteriormente, las hembras fecundadas migrarían hacia la cavidad bucal.

9. En el presente estudio se detectó vigilia de pareja (*mate guarding*) en una sexta parte de los machos adultos, que atrapaban a larvas de todos los estadios y a hembras preadultas. Ésta es la primera vez que se citan copepoditos y *chalimi* I, II y III, atrapados en vigilia de pareja en una especie del género *Lepeophtheirus*.

10. Se encontraron eritrocitos del pez luna en los conos bucales de hembras ovígeras, machos adultos y estadios *chalimi* III de *Lepeophtheirus nordmanni*. Este hecho apunta hacia una alimentación hematófaga, coincidiendo con estudios previos con otras especies del género *Lepeophtheirus*.

11. El estudio molecular y morfológico de *Accacladocoelium macrocotyle* y *A. nigroflavum* (Trematoda: Accacoeliidae) revalida la separación de estas especies. La diferencia principal entre ambas especies sería la mayor o menor ramificación de las glándulas vitelógenas desde la zona pretesticular. Contrariamente a lo indicado en su descripción, las glándulas vitelógenas de algunos ejemplares de *A. nigroflavum* pueden alcanzar la región postovárica.

12. Se ha recolectado una media de 8 especies de parásitos por pez. Siete especies de parásitos se encontraron en más del 50 % de los peces: *Molicola horridus*, *Cecrops latreilli*, *Anchistrocephalus microcephalus*, *Lepeophtheirus nordmanni*, *Accacladocoelium nigroflavum*, *Dihemistephanus lydiae* y *A. petasiporum*. El pez luna actuaría como hospedador definitivo en la mayoría de las especies parásitas encontradas. Más del 60 % de las especies recolectadas son específicas de la familia Molidae o de la especie *M. mola*.

13. La efectividad de los tratamientos antihelmínticos aplicados en cautividad se ve afectada por la localización de los parásitos. Los parásitos del sistema digestivo son fácilmente eliminables con antihelmínticos administrados oralmente. Los ectoparásitos se eliminan con baños de agua dulce. *Accacoelium contortum*, *Reniforma squamata*, y *Molicola horridus* están cobijados entre los tejidos del pez y son poco sensibles a los tratamientos.

14. Entre las tres especies parásitas localizadas en la cámara branquial de pez luna (*Accacoelium contortum*, *Cecrops latreilli* y *Reniforma squamata*), el mayor efecto patológico ha sido observado en *A. contortum*. Estos trematodos provocan una amplia respuesta inflamatoria que acaba por recubrirlos y, al mismo tiempo, sustentarlos. Este hecho podría deberse a la adaptación de *A. contortum*, con morfología de endoparásito, al parasitismo externo.

15. Se han utilizado diferentes estimadores de la carga parásita de *Molicola horridus* (Cestoda: Gymnorhynchidae) que consideran no solo su intensidad sino también su biomasa. Este tipo de aproximación es especialmente importante en parásitos de gran tamaño. También se utilizó un nuevo estimador, el porcentaje de superficie hepática parasitada, que permite estimar la carga parasitaria examinando solo el exterior del hígado.

16. A pesar de la abundante cantidad de *Molicola horridus* en hígado no se han observado efectos nocivos relevantes sobre la salud de los peces luna parasitados. Existen correlaciones significativas negativas entre el factor de condición y el porcentaje de superficie hepática parasitada y entre el índice hepatosomático (sin incluir el peso del parásito) y la densidad de parásito. No se observó una notable respuesta inflamatoria en los órganos parasitados, excepto en el riñón, donde la respuesta fue algo más elevada. Además, el nivel de glucógeno de los hígados de los peces luna más parasitados fue ligeramente menor.

17. El tratamiento oral con albendazol ha resultado ser efectivo para la eliminación de los microtricos de la superficie de los *plerocerci* de *Molicola horridus*, pero no causa la muerte de los parásitos. La supervivencia de los peces tratados sí parecía aumentar en los peces con las dosis más bajas de albendazol. Las dosis empleadas de fembendazol no parecieron ser efectivas para la eliminación de los microtricos. Se observan además, por primera vez, microtricos bifurcados en el blastoquiste de esta especie.

8. APÉNDICE

Apéndice I. Listado de los parásitos conocidos de pez luna, *Mola mola*, donde se incluyen los identificados en la presente tesis doctoral. Se indica la especie de parásito, localización geográfica y los autores que lo citaron.

| PARÁSITO | LOCALIZACIÓN | REFERENCIAS |
|---|---|---|
| Filo Amoebozoa (Lühe, 1913) Corliss, 1984 | | |
| Archamoebae (T. Cavalier-Smith, 1983) T. Cavalier-Smith <i>et al.</i>, 2004 | | |
| Entamoebidae Chatton, 1925 | | |
| <i>Entamoeba mola</i> Noble and Noble 1966 | Pacífico norte | Noble y Noble, 1966 |
| Trichomonadea Kirby, 1947 | | |
| Monocercomonadidae Kirby, 1944 | | |
| <i>Monocercomonas mola</i> Noble and Noble 1966 | Pacífico norte | Noble y Noble, 1966 |
| Filo Plathyelminthes Gegenbaur, 1859 | | |
| Trematoda Rudolphi, 1808 | | |
| Acanthocolpidae Lühe, 1906 | | |
| <i>Stephanostomum baccatum</i> (Nicoll, 1907) Manter, 1934 | Atlántico norte | Manter, 1934 |
| <i>S. valdeinflatum</i> Stossich, 1883 | Atlántico norte | Linton, 1940 |
| Accacoelidae Odhner, 1911 | | |
| <i>Accacoelium contortum</i> (Rudolphi, 1819) Looss, 1899 [Sin.: <i>Distomum contortum</i> , Rudolphi, 1819] | Mediterráneo, Francia*, Atlántico norte y Pacífico sur | Olsson, 1868; Monticelli, 1893; Linton, 1898; Johnston, 1909; Linton, 1940; Dollfus, 1946*, Threfall, 1967; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Cooper <i>et al.</i> , 1982; Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i> , 2006; Presente estudio |
| | | [Linton, 1898] |

| | | |
|---|---|---|
| <p><i>Accacladium serpentulum</i> Odhner, 1928 [Sin.: ¹<i>Accacladium nematum</i> Noble & Noble, 1937; ²<i>Accacladium serpentulus</i> Odhner, 1928; ³<i>Distomum nigroflavum</i> Rudolphi, 1819</p> | <p>Mediterráneo, Francia*, Pacífico norte y Atlántico norte</p> | <p>Linton, 1940; Dollfus, 1946*; Dawes, 1947; Bray y Gibson, 1977; Presente estudio</p> |
| | | <p>[¹Noble y Noble, 1937; ¹Timon-David y Musso, 1971; ²Odhner, 1928; ²Yamaguti, 1934, ²Linton, 1940; ³Linton, 1898]</p> |
| <p><i>Accacladium</i> sp. <i>Accacladocoelium alveolatum</i> Robinson, 1934 [Sin.: <i>Guschanskiana alveolata</i> (Robinson) Skrjabin, 1959]</p> | <p>Atlántico norte Atlántico y Pacífico</p> | <p>Threfall, 1967 Robinson, 1934; Manter, 1960; Thulin, 1973; Bray y Gibson, 1977</p> |
| <p><i>Accacladocoelium macrocotyle</i> (Diesing, 1858) Robinson, 1934 [Sin.: ¹<i>Distoma</i> sp. Bellingham, 1844; ²<i>Distomum macrocotyle</i> Diesing, 1858]</p> | <p>Mediterráneo, Atlántico y Pacífico norte</p> | <p>[Tantalean <i>et al.</i>, 1992] Olsson, 1868; Monticelli, 1893; Linton, 1898; Guiart, 1938; Linton 1940; Dawes, 1947; Pratt y McCauley, 1961; Timon- David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Gaevskaya, 2002; Aureli, 2004; Presente estudio</p> |
| <p><i>Accacladocoelium nigroflavum</i> (Rudolphi, 1819) Robinson, 1934</p> | <p>Mediterráneo y Atlántico</p> | <p>[¹Bellingham, 1844; ²Linton, 1898] Dawes, 1947; Timon-David y Musso, 1971; Bray y Gibson, 1977; Presente estudio</p> |
| <p><i>Accacladocoelium petasiporum</i> Odhner, 1928</p> | <p>Mediterráneo, Francia* y Atlántico norte</p> | <p>Dollfus, 1946*; Dawes, 1947; Thulin, 1973; Bray y Gibson, 1977, Gaevskaya, 2002; Presente estudio</p> |
| <p><i>Accacladocoelium</i> sp. <i>Rhynchopharynx paradoxa</i> Odhner, 1928</p> | <p>Atlántico norte Mediterráneo, Francia*, Atlántico norte y Pacífico</p> | <p>Threfall, 1967 Odhner, 1928; Yamaguti, 1934; Manter, 1934; Dollfus, 1946*; Bray y Gibson, 1977; Presente estudio</p> |

(*)Dollfus (1946) no indica, para todas las especies de parásitos, la costa de Francia de donde proceden.

Apéndice I. (cont. 1) Listado de los parásitos conocidos de pez luna, *Mola mola*, donde se incluyen los identificados en la presente tesis doctoral. Se indica la especie de parásito, localización geográfica y los autores que lo citaron.

| PARÁSITOS | LOCALIZACIÓN | REFERENCIAS |
|---|--|---|
| <i>Odhnerium calyptrocotyle</i> (Monticelli, 1893) Yamaguti, 1934 [Sin.: ¹ <i>Distoma foliatum</i> Linton, 1898; ² <i>Distoma nigroflavum</i> Rudolphi, 1819; ³ <i>Distomum fragile</i> Linton, 1901; ⁴ <i>Mneiodhmeria calyptrocotyle</i> (Monticelli, 1891) Dollfus, 1935; ⁵ <i>Mneiodhmeria foliata</i> (Linton, 1898) Dollfus, 1935; ⁶ <i>Orophocotyle foliata</i> (Linton, 1898) Looss, 1902] | Mediterráneo, Pacífico y Atlántico | Yamaguti, 1934; Dollfus, 1935; Lloyd, 1938; Manter, 1934; Montgomery, 1957; McCann, 1961; Bray y Gibson, 1977, Presente estudio [¹ Linton, 1898; ² Olsson, 1868; ³ Threfall, 1967; ⁴ Timon-David y Musso, 1971; ⁵ Guiart, 1938; ⁶ Linton, 1940] |
| <i>Orophocotyle planci</i> (Stossich, 1899) Loos, 1902 | Mediterráneo | Dawes, 1947 |
| Didymozoidae (Monticelli, 1888) | | |
| Gonapodasmiinae gen. n. sp. n.◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Didymozoon mola</i> e (Rudolphi, 1819) Dollfus, 1946 | Atlántico y Francia* | Dollfus, 1946*; No especificado |
| <i>Didymozoon taenioides</i> Monticelli, 1883 | Mediterráneo | Pozdnyakov, 1996 |
| <i>Koellikeria benedenii</i> (Monticelli, 1893) MacCallum et MacCallum, 1916 | Atlántico | No especificado |
| <i>K. fillicollis</i> (Rudolphi, 1819) Cobbold, 1860 | Pacífico sur | Nicoll, 1914 |
| <i>Nematobothrioides histoidii</i> Noble, 1974 | Atlántico y Pacífico norte | Noble, 1975; Thulin, 1980 |
| <i>Nematobothrium benedeni</i> (Monticelli, 1893) Maclaren, 1904 | Atlántico | No especificado |
| <i>N. mola</i> e Maclaren, 1904 | Mediterráneo, Atlántico y Pacífico norte | Dawes, 1947; Timon-David y Musso, 1971; Noble, 1975 |
| <i>Reniforma squamata</i> Pozdnyakov, 1994 | Pacífico norte y Mediterráneo | Pozdnyakov, 1994; Presente estudio |
| Hemiuridae Loos, 1899 | | |
| <i>Lecythochirium</i> sp. | Atlántico sur | Mendes-Ahid <i>et al.</i> , 2009** |
| Macroderoididae McMullen, 1937 | | |
| <i>Cirkennedyia porlockensis</i> Gibson & Bray, 1979 | Atlántico norte | Gibson y Bray, 1979 |

| | |
|---|--|
| <p>Lepocreadiidae (Odhner, 1905) Nicoll, 1935</p> <p><i>Dihemistephanus lydiae</i> (Stossich, 1896) Looss 1901 [Sin.: ¹<i>Dihemistephanus fragilis</i> (Linton, 1900) Stafford 1904; ²<i>Distomum fragile</i> (Linton, 1900)]</p> | <p>Mediterráneo, Francia*, Atlántico y Pacífico sur</p> <p>Linton, 1900; Dollfus, 1946*; Manter, 1960; Peters, 1960; Bray y Gibson 1977; Bray y Gibson, 1996; Presente estudio</p> <p>[¹Stafford, 1904; ²Threfall, 1967]</p> |
| <p>Monogenea Carus, 1863</p> <p>Capsalidae Baird, 1853</p> <p><i>Capsala martinieri</i> Bosc, 1811 [Sin.: ¹<i>C. cephalae</i> (Risso, 1826); ²<i>C. cutanum</i> Guiart, 1938; ³<i>C. grimaldi</i> Guiart, 1938; ⁴<i>C. maculata</i> Martiniere 1787; ⁵<i>C. mola</i> (Blanchard, 1847); ⁶<i>Tricotyla cutanea</i>, Guiart, 1938; ⁷<i>T. mola</i> (Blanchard, 1847) Guiart, 1938; ⁸<i>Tristomella grimaldii</i> Guiart, 1938; ⁹<i>Tristomum rudolphianum</i> Diesing, 1850]</p> <p><i>Capsala pelamydis</i> (Taschenberg, 1878) Price, 1938 [Sin.: <i>Caballerocotyla pelamydis</i> (Taschenberg, 1878) Price, 1938]</p> <p><i>Tristoma papillosum</i> Diesing, 1836 [Sin.: <i>T. coccineum</i> Cuvier, 1817]</p> | <p>Atlántico norte, Pacífico, Mediterráneo y Francia*</p> <p>Dollfus, 1946*; Brinkmann, 1952; Threfall, 1967; Logan y Odense, 1974; Cooper <i>et al.</i>, 1982; Radujkovic y Euzet, 1989; Euzet <i>et al.</i>, 1993; Lamothe-Argumedo, 1997; Egorova, 2000; Olson y Littlewood, 2002; Simková <i>et al.</i>, 2003; Presente estudio</p> <p>[¹Yamaguti, 1963; ²y ³Dawes, 1947; ⁴Timon-David y Musso, 1971; ⁴Dollfus, 1946*; ⁵Linton, 1940; ⁶y ⁷Guiart, 1938; ⁷Robinson, 1934; ⁷Draper, 1941; ⁷Price, 1962; ⁸Guiart, 1938; ⁹Linton, 1898]</p> <p>No especificada</p> <p>Francia*</p> <p>Dawes, 1947 [Gibson <i>et al.</i>, 2005]</p> <p>Dollfus, 1946* [Gibson <i>et al.</i>, 2005]</p> |

(*)Dollfus (1946) no indica, para todas las especies de parásitos, la costa de Francia de donde proceden.

(**)Mendes-Ahid *et al.*, 2009 identifican al hospedador como *Mola mola* cuando en realidad es *Masturus lanceolatus*.

(◊)Especie añadida al listado de especies parásitas conocidas del pez luna, *Mola mola*.

Apéndice I. (cont. 2) Listado de los parásitos conocidos de pez luna, *Mola mola*, donde se incluyen los identificados en la presente tesis doctoral. Se indica la especie de parásito, localización geográfica y los autores que lo citaron.

| PARÁSITOS | LOCALIZACIÓN | REFERENCIAS |
|---|---|--|
| Cestoda Rudolphi, 1808 | | |
| Cyclophyllidea van Beneden in Braun, 1900 | | |
| Taeniidae Ludwig, 1886 | | |
| <i>Cysticercus</i> sp. | Pacífico sur | Johnston, 1909 |
| Proteocephalidea Mola, 1928 | | |
| Proteocephalidae La Rue, 1911 | | |
| <i>Crepidobothrium dollfusi</i> Freze, 1965 | No especificada | de Chambrier, 1989 |
| Pseudophyllidea Carus, 1863 | | |
| Trienophoridae Lönnber, 1889 | | |
| <i>Anchistrocephalus microcephalus</i> (Rudolphi, 1819) Monticelli, 1890 [Sin.: ¹ <i>Bothriocephalus microcephalus</i> Rudolphi, 1819; ² <i>Bothriocephalus monorchis</i> Linstow, 1903] | Mediterráneo, Francia*, Atlántico y Pacífico | Robinson, 1934; Yamaguti, 1934; Dollfus, 1946*; Hillis y O’Riordan, 1960; McCann, 1961; Threfall, 1967; Timon- David y Musso, 1971; Kennedy y Andersen, 1982; Schwartz y Lindquist, 1987; Johnston, 1909; Shimazu <i>et al.</i> , 1996; Olson <i>et al.</i> , 2001; Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i> , 2006; Presente estudio |
| <i>Fistulicola plicatus</i> (Rudolphi, 1819) Lühe, 1899 | Atlántico norte | [¹ Hartwich y Kilius, 1992; ² Dollfus, 1946*] Linton, 1940 |

| | |
|--|--|
| <p>Tetraphyllidea Carus, 1863</p> <p>Plerocercoides tetrafilídeos</p> | Mediterráneo |
| <p>Trypanorhyncha Diesing, 1863</p> | Presente estudio |
| <p>Gymnorhynchidae Dollfus, 1935</p> <p><i>Molicola horridus</i> (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935 [Sin.: ¹<i>Gymnorhynchus horridus</i> Goodsir, 1841; ²<i>Rhynchobothrium</i> sp. (Linton, 1899) Linton, 1909; ³<i>Tetrorhynchus elongatus</i> Wagener, 1901; ⁴<i>Tetrorhynchus reptans</i> Wag.]</p> | <p>Mediterráneo y Atlántico</p> <p>McCann, 1961; Andersen, 1987; Schwartz y Lindquist, 1987; Bates, 1990; Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i>, 2006; Mendes-Ahid <i>et al.</i>, 2009**; Presente estudio</p> <p>[¹ No especificado; ²Threfall, 1967; ³Bates, 1990; ⁴Linton, 1924; ³Threfall, 1967; ⁴Johnston, 1909]</p> |
| <p>Lacistorhynchidae Guiart, 1927</p> <p><i>Floriceps saccatus</i> Cuvier, 1817</p> | <p>Mediterráneo, Francia* y Atlántico norte</p> <p>Guiart, 1935; Dollfus, 1946*; Hillis y O’Riordan, 1960; Timon-David y Musso, 1971; Andersen, 1987; Bates, 1990; Presente estudio</p> |
| <p>Pterobothriidae Pintner, 1931</p> <p><i>Pterobothrium</i> sp.</p> | <p>Mediterráneo</p> <p>Aureli, 2004, Gustinelli <i>et al.</i>, 2006</p> |
| <p>Filo Acantocephala Kolhreuther, 1771</p> | |
| <p>Palaeacanthocephala Meyer, 1931</p> | |
| <p>Echinorhynchidae Cobbold, 1879</p> <p><i>Echinorhynchus acus</i> Rudolphi, 1902 [Sin.: <i>Echinorhynchus gadi</i> Zoega in Muller, 1776]</p> | <p>Atlántico norte</p> <p>Linton, 1901</p> |

(*)Dollfus (1946) no indica, para todas las especies de parásitos, la costa de Francia de donde proceden.

(**)Mendes-Ahid *et al.*, 2009 identifican al hospedador como *Mola mola* cuando en realidad es *Masturus lanceolatus*.

Apéndice I. (cont. 3) Listado de los parásitos conocidos de pez luna, *Mola mola*, donde se incluyen los identificados en la presente tesis doctoral. Se indica la especie de parásito, localización geográfica y los autores que lo citaron.

| PARÁSITOS | LOCALIZACIÓN | REFERENCIAS |
|---|----------------------------|---|
| Polymorphydae Meyer, 1931 | | |
| <i>Bolbosoma capitatum</i> Linstow, 1880 ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| Filo Nematoda Rudolphi, 1808 | | |
| Secernentea Von Linstow, 1905 | | |
| Anisakidae Skrjabin et Karokhin, 1945 | | |
| <i>Anisakis</i> sp. | Atlántico | Hewitt y Hine, 1972 |
| <i>Anisakis</i> sp. Tipo I, <i>sensu</i> Berland, 1961 ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Anisakis</i> sp. Tipo II, <i>sensu</i> Berland, 1961 ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| Cucullanidae Cobbold, 1864 | | |
| <i>Cucullanus orthagorisci</i> Rudolphi, 1819 [Sin.: <i>Ascaris orthagorisci</i> Rudolphi, 1819] | Mediterráneo y Francia* | Rudolphi, 1819 [Dollfus, 1946*; Bruce <i>et al.</i> , 1994] |
| Cystidicolidae Skrjabin, 1946 | | |
| <i>Ascarophis</i> sp. ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Incertae sedis</i> | | |
| <i>Agamonema</i> sp. Diesing, 1851 (nombre larvario) | Atlántico norte | Linton, 1901 |
| Filo Arthropoda Latreille, 1829 | | |
| Maxillopoda Dahl, 1956 | | |

| | | |
|--|--|--|
| Argulidae, Leach 1819 (Branchiura Thorell, 1864) | Pacífico norte y Francia* | Dollfus, 1946*; Yamaguti, 1963 |
| <i>Argulus scutiformis</i> Thiele, 1900 | | |
| Caligidae Burmeister, 1835 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840) | | |
| <i>Caligus elongatus</i> von Nordmann, 1832 | Mediterráneo y Atlántico norte | Parker, 1969 |
| <i>Caligus bonito</i> Wilson, 1905 ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Caligus pelamydis</i> Krøyer, 1863 ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Caligus</i> sp. ◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Lepeophtheirus hastatus</i> Shiino, 1960 [Sin.: <i>L. molae</i> Heegaard, 1962] | Pacífico y Atlántico | Shiino, 1960 |
| <i>Lepeophtheirus nordmanni</i> (H. Milne-Edwards, 1840) Wilson, 1905 [Sin.: <i>L. insignis</i> Wilson, 1908] | Mediterráneo, Francia*, Pacífico y Atlántico norte | [Heegaard, 1962; Hewitt, 1964] Milne Edwards, 1840; Baird, 1850; Heller, 1866; Scott, 1901; Wilson, 1905; Wilson, 1932; Robinson, 1934; Dollfus, 1946*; Stuardo, 1958; Hillis y O'Riordan, 1960; Hewitt, 1971; Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i> , 2006; Presente estudio |
| Dichelesthiidae Milne Edwards, 1840 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840) | | |
| <i>Anthosoma crassum</i> (Abildgaard, 1794) Steenstrup and Lutken, 1861 | Mediterráneo y Francia* | Dollfus, 1946*; Timon-David y Musso, 1971 |

(*)Dollfus (1946) no indica, para todas las especies de parásitos, la costa de Francia de donde proceden.

(◇)Especie añadida al listado de especies parásitas conocidas del pez luna, *Mola mola*.

Apéndice I. (cont. 4) Listado de los parásitos conocidos de pez luna, *Mola mola*, donde se incluyen los identificados en la presente tesis doctoral. Se indica la especie de parásito, localización geográfica y los autores que lo citaron.

| PARÁSITOS | LOCALIZACIÓN | REFERENCIAS |
|---|---|--|
| Cecropidae Dana, 1849 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840) | | |
| <i>Cecrops latreilli</i> Leach, 1816 [Sin.: <i>Cecrops exiguus</i> Wilson, 1923] | Mediterráneo, Francia*, Atlántico y Pacífico norte | Wilson, 1932; Dollfus, 1946*; Hillis y O’Riordan, 1960; McCann, 1961; Threfall, 1967; Hewitt, 1968; Timon-David y Musso, 1971; Grabda, 1973; Bakke, 1981; Cooper <i>et al.</i> , 1982; Raibaut <i>et al.</i> , 1998; Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i> , 2006; Presente estudio |
| <i>Philorthogoriscus serratus</i> (Kroyer, 1863) Horst 1897 | Atlántico, Mediterráneo y Pacífico norte | [Shiino, 1965] Wilson, 1932; Dollfus, 1946; Barnard, 1948; Shiino, 1960; Threfall, 1967; Logan y Odense, 1973; Cooper <i>et al.</i> , 1982; Raibaut <i>et al.</i> , 1998 |
| <i>Orthogoriscicola muricatus</i> (Kroyer, 1837) Poche, 1902 [Sin. <i>Orthogoriscicola wilsoni</i> Schuurm-Stekhoven Jr & Schuurm-Stekhoven, 1956] | Mediterráneo, Francia* y Atlántico | Wilson, 1907; Dollfus, 1946*; Barnard, 1955; Cooper <i>et al.</i> , 1982; Raibaut <i>et al.</i> , 1998 Threfall, 1967 |
| Lernaeopodidae Milne Edwards, 1840 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840) | | |
| <i>Lernaeopoda bidiscalis</i> Kane, 1892 | Atlántico norte | Dollfus, 1946 |
| Pandaridae Milne Edwards, 1840 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840) | | |
| <i>Echthrogaleus coleoptratus</i> (Guérin-Méneville, 1837) Steenstrup & Lütken, 1861 | Francia* | Dollfus, 1946* |
| <i>Nogaus</i> sp. n.◇ | Mediterráneo | Presente estudio |
| <i>Pandarus bicolor</i> Leach, 1816 | Atlántico norte | Dollfus, 1946 |

| | |
|---|--|
| <p>Pennellidae Burmeister, 1816 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840)</p> | |
| <p><i>Pennella crassicornis</i> Streenstrup and Lutken 1861</p> | <p>Pacífico norte Yamaguti, 1963</p> |
| <p><i>Pennella filosa</i> (Linnaeus, 1758) [Sin.:¹<i>P. orthagorisci</i> Wright E.P., 1870; ²<i>P. rubra</i> Brian, 1906]</p> | <p>Mediterráneo Dollfus, 1946*; Atria, 1967; Francia*, Cooper <i>et al.</i>, 1982; Hogans, Atlánticoy 1987; Raibaut <i>et al.</i>, 1998; Pacífico sur Presente estudio</p> |
| <p><i>Pennella instructa</i> Wilson, 1917</p> | <p>[¹Wilson, 1932; ²Wilson, 1932; ² Barnard, 1955]</p> |
| <p>Trebiidae Wison C. B., 1905 (Copepoda H. Milne-Edwards, 1840)</p> | <p>Atlántico norte Hogans, 1985</p> |
| <p><i>Trebius</i> sp.</p> | <p>Francia* Dollfus, 1946*</p> |
| <p>Malacostraca Latreille, 1802</p> | |
| <p>Cymothoidae Leach, 1818 (Isopoda Latreille, 1802)</p> | |
| <p><i>Ceratothoa steindancheri</i> Koelbel, 1879</p> | <p>Mediterráneo Aureli, 2004; Gustinelli <i>et al.</i>, 2006</p> |
| <p><i>Nerocila orbigny</i> (Guérin-Méneville, 1832) Schioedte et Meinert, 1881</p> | <p>Francia* Dollfus, 1946*</p> |
| <p><i>N. macleayi</i> White, 1843</p> | <p>Francia* Dollfus, 1946*</p> |
| <p>Gnathiidae Harger, 1880 (Isopoda Latreille, 1802)</p> | |
| <p><i>Gnathia</i> sp. ◇</p> | <p>Mediterráneo Presente estudio</p> |

(*)Dollfus (1946) no indica, para todas las especies de parásitos, la costa de Francia de donde proceden.

(◇)Especie añadida al listado de especies parásitas conocidas del pez luna, *Mola mola*.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abe T., Sekiguchi K., Onishi H., Muramatsu K. y Kamito T. 2012. Observations on a school of ocean sunfish and evidence for a symbiotic cleaning association with albatrosses. *Marine Biology*, 159 (5): 1173–1176.
- Ackman R.G., Safe L., Hooper N.S., Paradis M. y Safe S. 1973. 7-Methyl-7-hexadecenoic acid: Isolation from lipids of the ocean sunfish *Mola mola* (Linnaeus) 1758. *Lipids*, 8(1): 21–24.
- Adeney R.J. y Hughes G.M. 1977. Some observations on the gills of the oceanic sunfish, *Mola mola*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 57: 825–837.
- Agustí C. 2006. *Papel de los cetáceos mediterráneos en el ciclo vital de los cestodos tetrafilídeos: evidencias morfológicas, ecológicas y moleculares*. Tesis Doctoral, Universitat de València, 149 pp.
- Agustí C., Aznar F.J. y Raga J.A. 2005. Tetracyllidean plerocercoids from Western Mediterranean cetaceans and other marine mammals around the world: a comprehensive morphological analysis. *Journal of Parasitology*, 9(11): 83–92.
- Alvarez-Pellitero P., Sitjà-Bobadilla A., Franco-Sierra A. y Palenzuela O. 2006. Protozoan parasites of gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., from different culture systems in Spain. *Journal of Fish Disease*, 18(2): 105–115.
- Ammann R.W., Ilitsch N., Marincek B. y Freiburghaus A.U. 1994. Effect of chemotherapy on the larval mass and the long-term course of alveolar echinococcosis. *Hepatology*, 19(3): 735–742.
- Anato C.B. y Ktari M.H. 1983. Régime alimentaire de *Boops boops* (Linné. 1758) et de *Sarpa salpa* (Linné. 1758), poissons téléostéens sparides du Golfe du Tunis. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions de la Commission International de l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, 28: 33–34.
- Andersen K. 1987. SEM Observations on *plerocercus* larvae of *Floriceps saccatus* Cuvier, 1817 and *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) (Cestoda; Trypanorhyncha) from sunfish (*Mola mola*). *Fauna Norvegica*, Series A, 8: 25–28.
- Anderson G.R. y Barker S.C. 1998. Inference of phylogeny and taxonomy within the Didymozoidae (Digenea) from the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA. *Systematic Parasitology*, 41: 87–94.
- Anónimo. 2003. *Catálogo de artes, aparejos y utensilios de pesca del litoral andaluz. Andalucía*. Consejería de Agricultura y Pesca (Ed.), 469 pp.

- Anónimo. 2011. *Compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los lmr del codex 1. Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos*, 34^a Reunión de la Comisión del Codex Alimentarius 2011, 39 pp.
- Anstensrud M. 1990. Mating strategies of two parasitic copepods ((*Lernaecera branchialis* (L.) (Pennellidae) and *Lepeophtheirus pectoralis* (Müller) (Caligidae)) on flounder: polygamy, sex-specific age at maturity and sex ratio. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136: 141–158.
- Arne C. y Owen R.W. 1967. Infection of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., with plerocercoid larva of *Schistocephalus solidus* (Müller 1776), with special references to pathological effects. *Parasitology*, 57: 301–313.
- Arru E., Garippa G. y Sanna E. 1991. *Molicola horridus* in *Luvaris imperialis* and *Mola mola*. *Bollettino Societa Italiana di Patologia Ittica*, 5: 92–96.
- Arthur J.R. y Arai H.P. 1980. Studies on the parasite of Pacific herring (*Clupea harengus pallasi* Valenciennes): a preliminary evaluation of parasites as indicators of geographical origin for spawning herring. *Canadian Journal of Zoology*, 58: 521–527.
- Asahida T., Kobayashi T., Saitoh K. y Nakayama I. 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperature using buffers containing high concentration of urea. *Fish Science Tokio*, 62(5): 727–730.
- Atria G. 1967. Un ectoparásito del pez luna (*Mola ramsayi*, Giglioli). *Pennella cf. filosa* L. (Crustacea, Copepoda). *Noticiario Mensual del Museo Nacional de Historia Natural de Chile*, 131: 3–5.
- Aureli G. 2004. *Indagine parasitologica in Mola mola spiaggiati lungo le coste italiane*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria. Corso di Laurea in Acquacoltura ed Ittiopatologia, 79 pp.
- Avdeeva N.V. y Avdeev V.V. 1980. Characteristics of morphogenesis of adhesive organs of some plerocercoids of the collective genus *Scolex* (Tetraphyllidea) and their identification. *Parazitologiya*, 14: 242–250 [en ruso].
- Avdeeva N.V. y Avdeev V.V. 1989. Plerocercoids of the cestodes of order Tetraphyllidea (problems in identification). *Biologo-poshvennyi Institut DVO AN SSSR, Vladivostok, Russia*, 74 pp. [en ruso].
- Baird W. 1850. *The natural history of the British Entomostraca*. Ray Society (Ed.), London, VIII, 364 pp.

- Bake R., Cakić P.D, Hristovski M., Hristovski N., Kulišić Z. y Stojanovski S. 2004. Fauna of monogenean trematodes-parasites of some cyprinid fishes from lake Prespa, Macedonia. *Acta Veterinaria*, 54(7): 73–82 [en serbio].
- Bakke T.A. 1981. Mussel epizootic on sunfish parasite. *Fauna*, 34: 77–79.
- Bakke T.A. y Harris P.D. 1998. Diseases and parasites in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(S1): 247–266.
- Barker D.E., Marcogliese D.J. y Cone D.K. 1996. On the distribution and abundance of eel parasites in Nova Scotia: local versus regional patterns. *Journal of Parasitology*, 82: 697–701.
- Barnard K.H. 1948. New records and descriptions of new species of parasitic Copepoda from South Africa. *Annals and Magazine of Natural History*, 12(1): 242–254.
- Barnard K.H. 1955. Additions to the fauna-list of Southern African Crustacea and Pycnogonida. *Annals of the South African Museum*, 43: 1–107.
- Barreiros J.P. y Teves M. 2005. The sunfish *Mola mola* as an attachment surface for the lepadid cirriped *Lepas anatifera* a previously unreported association. *Aqua, Journal of Ichthyology and Aquatic Biology*, 10(1): 1–4.
- Bass A.L., Dewar H., Thys T., Streelman J.T. y Karl S.A. 2005. Evolutionary divergence among lineages of the ocean sunfish family, Molidae (Tetraodontiforms). *Marine Biology*, 148(2): 405–414.
- Bates R.M. 1990. A checklist of the Trypanorhyncha (Platyhelminthes: Cestoda) of the world (1935–1985). *National Museum of Wales, Zoological Series*. Nº. 1, 218 pp.
- Bellingham O'B. 1844. Catalogue of Irish entozoa, with observations. *Annals and Magazine of Natural History*, 13: 422–430.
- Berland B. 1961. Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*, 2: 1–50.
- Beveridge I., Campbell R.A. y Palm H.W. 1999. Preliminary cladistic analysis of genera of the cestode order Trypanorhyncha Diesing, 1863. *Systematic Parasitology*, 42: 29–49.
- Blair D., Bray R.A y Barker S. 1998. Molecules and morphology in phylogenetic studies of the Hemiuroidea (Digenea: Trematoda: Plathelminthes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1): 15–25.
- Blasco-Costa I., Balbuena J.A., Raga J.A., Kostadinova A. y Olson P.D. 2010. Molecules and morphology reveal cryptic variation among digeneans infecting sympatric mullets in the Mediterranean. *Parasitology*, 137: 287–302.

- Blaylock R.B., Margolis L. y Holmes J.C. 2003. The use of parasites in discriminating stocks of Pacific halibut (*Hippoglossus stenolepis*) in the northeast Pacific. *Fishery Bulletin*, 101: 1–9.
- Bleeker P. 1873. Description et figure d'une espèce insulindienne d'*Orthogoriscus*. *Verlagen Akademie Amsterdam*, 7(2): 151–153.
- Bonaparte C.L. 1841a. Iconografia della fauna Italica per le quattro classi degli animali vertebrati. Tomo III. Pesci. *Tipografia Salviucci*, 1–78: 1–556.
- Bonaparte C.L. 1841b. A new systematic arrangement of vertebrate animals. *Transactions of the Linnean Society of London*, 18: 247–304.
- Boxshall G.A. 1974a. The developmental stages of *Lepeophtheirus pectoralis* (Müller, 1776) (Copepoda: Caligidae). *Journal of Natural History*, 8: 681–700.
- Boxshall G.A. 1974b. The population dynamics of *Lepeophtheirus pectoralis* (Müller): seasonal variation in abundance and age structure. *Parasitology*, 69: 361–371.
- Boxshall G.A. 1990. Precopulatory mate guarding in copepods. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 60(3/4): 209–213.
- Boyce N.P., Kabata Z. y Margolis L. 1985. Investigations of the distribution, detection and biology of *Henneguya salminicola* (Protozoa, Myxozoa), a parasite of the flesh of Pacific salmon. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1405, 55 pp.
- Brandal P.O., Egiduis E. y Romslo I. 1976. Host blood: a major food component for the parasitic copepod *Lepeophtheirus salmonis* Kroyer, 1838 (Crustacea: Caligidae). *Norwegian Journal of Zoology*, 24: 341–343.
- Bray R.A. 2005. Family Lepocreadiidae Odhner, 1905. En: *Keys to the Trematoda. Vol. 2.* Jones A., Bray R.A. y Gibson D.I. (Eds.), CAB International, Wallingford: pp 545–602.
- Bray R.A. y Gibson I.D. 1977. The Accacoeliidae (Digenea) of fishes from the north-east Atlantic. *The Bulletin of the British Museum (Natural History)*, 31(2): 53–99.
- Breder C.M. y Rosen D.E. 1966. Modes of reproduction in fishes. T.F.H. Publications, Neptune City, New Jersey, 941 pp.
- Brian A. 1912. Copépodes parasites des poissons et des échinides provenant des campagnes scientifiques de S.A.S. le Prince Albert 1^{er} de Monaco (1886–1910). *Résultats des Campagnes Scientifiques Prince Albert I de Monaco*, fasc. 38: 58 pp.
- Brian J. 2005. Economic and environmental importance. En: *Marine Parasitology*. Rohde K. (Ed.), Collingwood, CSIRO Publishing, pp. 371–425.

- Brinkmann A. 1952. Some Chilean Monogenetic trematodes. *Reports of the Lund University, Chile Expedition 1948-1949 Lunds Universitets Årsskrift*: 1–26.
- Britz R. y Johnson G.D. 2005. Occipito-vertebral fusion in ocean sunfishes (Teleostei: Tetraodontiformes: Molidae) and its phylogenetic implications. *Journal of Morphology*, 266: 74–79.
- Bruce N.L., Adlard R.D. y Cannon L.R.G. 1994. Synoptic checklist of ascaridoid parasites (Nematoda) from fish hosts. *Invertebrate Taxonomy*, 8: 583–674.
- Bullard S.A., Goldstein R.J., Hocking R. y Jewell J. 2003. A new geographic locality and three new host records for *Neobenedenia melleni* (Maccallum) (Monogenea: Capsalidae). *Gulf and Caribbean Research*, 15: 1–4.
- Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M. y Shostak A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms. Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4): 575–583.
- Cabello J. 2007. Aquaculture and public health. The emergence of diphyllbothriasis in Chile and the world. *Revista Médica de Chile*, 135(8): 1064–1071 [en castellano].
- Campbell R.A. y Beveridge I. 1987. *Floriceps minacanthus* sp. nov. (Cestoda; Trypanorhyncha) from Australian fishes. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 3: 189–194.
- Campbell R.A. y Callahan C. 1998. Histopathological reactions of the blue shark, *Prionace glauca*, to postlarvae of *Hepatoxylon trichiuri* (Cestoda: Trypanorhyncha: Hepatoxylidae) in relationship to scolex morphology. *Folia Parasitologica*, 45: 47–52.
- Cartamil D.P. y Lowe C.G. 2004. Fine-scale movement patterns of ocean sunfish (*Mola mola*) off southern California. *Marine Ecology Progress Series*, 266: 245–253.
- Carvajal J., Barros C. y Whittaker F.H. 1987. Scanning electron microscopy of the scolex of the plerocercus *Callitetrarhynchus gracilis* (Rudolphi, 1819) (Cestoda: Trypanorhyncha). *Journal of Parasitology*, 73(6): 1265–1267.
- Casado N., Urrea-París M.A., Moreno M.J. y Rodríguez-Caabeiro F. 1999. Tegumental topography of the plerocercoid of *Gymnorhynchus gigas* (Cestoda: Trypanorhyncha). *Parasitology Research*, 85: 124–130.
- Chambers C.B., Cribb T.H. y Jones M.K. 2000. Tetrphyllidean metacestodes of teleosts of the Great Barrier Reef, and the use of *in vitro* cultivation to identify them. *Folia Parasitologica*, 47: 285–292.

- Chanda M., Paul M., Maity J., Dash G., Gupta S.S. y Patra B.C. 2011. Ornamental fish goldfish, *Carassius auratus* and related parasites in three districts of West Bengal, India. *Chronicles of Young Scientists*, 2: 51–54.
- Charniaux-Cotton H., Payen G.G. y Ginsburger-Vogel T. 1983. Arthropoda-Crustacea: Sexual differentiation. En: *Sexual Differentiation and Behaviour*. Adiyodi K. G. y Adiyodi R. G. (Eds.), Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, pp. 281–323.
- Chervy L. 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology*, 52: 1–33.
- Clemens W.A. y Wilby A. 1961. *Fishes of the Pacific coast of Canada*, 2nd edition. Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 68, Ottawa, 443 pp.
- Cooper T., McGrath D. y O'Connor B. 1982. Species associated with a sunfish *Mola mola* (L.) from the west coast of Ireland. *Irish Naturalists Journal*, 20(9): 382–383.
- Cordero del Campillo M., Rojo Vázquez F.A., Martínez Fernández A.R., Sánchez Acedo C., Hernández Rodríguez S. Navarrete López-Cozar I., Díez Baños P., Quiroz Romero H. y Carvalho Varela M. (Eds.). 1999. *Parasitología Veterinaria*, McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U., 968 pp.
- Costello M.J. 2006. Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends in Parasitology*, 22(10): 475–483.
- Criado-Fornelio A., Rodríguez-Caabeiro F. y Jiménez-González A. 1987. The mode of action of some benzimidazole drugs on *Trichinella spiralis*. *Parasitology*, 95: 61–70.
- Cribb T.H., Bray R.A., Littlewood D.T.J., Pichelin S. y Herniou E.A. 2001. Relationships of the Digenea-evidence from molecules and morphology. Chapter 16. En: *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Littlewood D.T.J. y Bray R.A. (Eds.), Taylor & Francis, London, pp. 186–193.
- Cruz C., Barbosa C. y Saraiva A. 2007. Distribution of larval anisakids in blue whiting off Portuguese fish market. *Helminthologia*, 44(1): 21–24.
- Dailey M.D. 1996. *Meyer, Olsen, and Schmidt's Essentials of Parasitology*, 6th Edition. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, 289 pp.
- Davies A. J. 1981. A scanning electron microscope study of the praniza larva of *Gnathia maxillaris* Montagu (Crustacea, Isopoda, Gnathiidae), with special reference to the mouthparts. *Journal of Natural History*, 15: 545–554.
- Dawes B. 1947. *The Trematoda of British fishes*. Ray Society (Nº 131), London, 364 pp.

- Dawson P., Gutteridge W. y Gull K. 1984. A comparison of the interaction of anthelmintic benzimidazoles with tubulin isolated from mammalian tissue and the parasitic nematode *Ascaridia galli*. *Biochemical Pharmacology*, 33: 1069–1074.
- De Chambrier A. 1989. Revision du genre *Crepidobothrium* Monticelli, 1900 (Cestoda: Proteocephalidae) parasite d'ophidiens neotropicaux. II. *C. dollfusi* Freze, 1965, *C. lachesidis* (MacCallum, 1921) et conclusions. *Revue Suisse de Zoologie*, 96(2): 345–380.
- De la Serna J.M., Macías D., Ortiz de Urbina J.M., Alot E. y Rioja P. 2004. Análisis de la pesquería española del pez espada (*Xiphias gladius*) en el Mediterráneo. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 56(3): 864–871.
- Di Maio A. y Madlineo I. 2008. Ultrastructure of *Didymocystis semiglobularis* (Didymozoidae, Digenea) cysts in the gills of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*). *Parasitology Research*, 103: 641–647.
- Dick T.A. y Choudhury A. 1995. Cestoidea (Phylum Platyhelminthes). Chapter 10. En: *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan Infections, Vol. 1*. Woo P.K.T. (Ed.), CAB International, pp. 391–414.
- Dick T.A., Chambers C. y Isinguzo I. 2006. Cestoidea (Phylum Platyhelminthes). Chapter 11. En: *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan Infections, Vol. 1*. Woo P.K.T. (Ed.), CAB International, pp. 391–416.
- Dollfus R.P.H. 1929. Sur les Tetrarhynques. *Bulletin de la Société Zoologique*, LIV: 308–342.
- Dollfus R.P.H. 1935. Sur quelques parasites de poissons récoltés à Castiglione. *Bulletin des travaux publiés par la Station d'Aquiculture et de Pêche de Castiglione*, 2: 199–279.
- Dollfus R.P.H. 1942. Etudes critiques sur les Tétrarhynques du Muséum de Paris. *Archives du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 19: 1–466.
- Dollfus R.P.H. 1946. Essai de catalogue des parasites poisson-lune *Mola mola* (L. 1758) et autres Molidae. *Annales de la Société des Sciences Naturelles de la Charente-Maritime*, 7(3): 69–76.
- Dollfus R.P.H. 1960. Transformation de *Dihemistephanus lydiae* (M. Stossich 1896) A. Loss 1901 en *Stenocollum fragile* (Edwin Linton 1900) J. Stafford 1904, par macération. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 35: 528–537.
- Draper H. 1941. A record of trematode parasites from *Mola mola* and *Raniceps raninus* (Linn.). *Parasitology*, 33 (2): 209–210.
- Edmons S.J. 1957. Australian acathocephalan N°10. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 80: 76–80.

- Egorova T.P. 2000. Occurrence of monogeneans of the subfamily Capsalinae (Capsalidae)-parasites of marine fishes. *Parazitologiya*, 34: 111–117.
- Euzet L., Combes C. y Caro A. 1993. A check list of monogenea of Mediterranean fish. *Libro de resúmenes del 2nd International Symposium on Monogenea, Montpellier/Sète, Francia, julio 1993*.
- Fergusson I.K., Compagno L.J.V. y Marks M.A. 2000. Predation by white sharks *Carcharodon carcharias* (Chondrichthyes: Lamnidae) upon chelonians, with new records from the Mediterranean Sea and a first record of the ocean sunfish *Mola mola* (Osteichthyes: Molidae) as stomach contents. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 447–453.
- Ferrer E., Aznar F.J., Balbuena J.A., Kostadinova A., Raga J.A. y Moravec F. 2005. A new cystidicolid nematode from *Mullus surmuletus* (Perciformes: Mullidae) from the western Mediterranean. *Journal of Parasitology*, 9(2): 335–344.
- Fraser-Brunner A. 1951. The ocean sunfishes (family Molidae). *Bulletin of the British Museum*, 1: 89–121.
- Freedman J.A. y Noakes D.L.G. 2002. Why are there no really big bony fishes? A point-of-view on maximum body size in teleosts and elasmobranches. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12: 403–416.
- Froese R. y Pauly. D. 2012. *FishBase World Wide Web electronic publication*. <http://www.fishbase.org>.
- Fulton T.W. 1904. The rate of growth of fishes. *22nd Annual Report of the Fishery Board of Scotland*, 3: 141–241.
- Gaevskaya A.V. 2002. New data on trematodes of the families Opecoelidae and Accacoeliidae from fishes in the Atlantic Ocean and its seas. *Parazitologiya, Akademiya Nauk SSSR*, 36(3): 219–223 [en ruso].
- Gaevskaya A.V. y Kovaljova A. 1991. *The Diseases and Parasites of Food Fish from the Atlantic Ocean. Handbook on the diseases and parasites of food fish from the Atlantic Ocean*. Kaliningrad, 208 pp.
- Garibaldi F. y Orsi Relini L. 2000. Summer abundance, size and feeding habits of the blue shark, *Prionace glauca*, in the pelagic sanctuary of the Ligurian Sea. *Biologia Marina Mediterranea*, 7: 324–333.
- Garrat P.A. 2001. Sunfish rehabilitation at the Two Oceans Aquarium. *Bulletin de l'Institut Océanographique, Monaco*, n° spécial 20, fascicule 1.

- Georgiev B., Biserkov V. y Genov T. 1986. *In toto* staining method for cestodes with iron cetocarmine. *Helminthologia*, 23: 279–281.
- Gibson D.I. 2002. Family Accacoeiliidae. En: *Keys to the Trematoda. Vol. 1.* Gibson D.I., Jones A. y Bray R.A. (Eds.), CAB International, Wallingford, pp. 341–347.
- Gibson D.I. y Bray R.A. 1979. *Cirkennedyia porlockensis*, a new genus and species of digenean from the sunfish *Mola mola* (L.). *Journal of Helminthology*, 53: 245–250.
- Gibson D.I., Bray R.A. y Harris E.A. 2005. *Host-Parasite Database of the Natural History Museum, London.* <http://www.nhm.ac.uk/researchcuration/projects/host-parasites>.
- Gill T.N. 1897. The distinctive characters of the Molinae and Ranzaniinae. *Science*, 156: 966–967.
- Gladstone W. 1988. Killer whale feeding observed underwater. *Journal of Mammalogy*, 69: 629–630.
- Goodsir J. 1841. On *Gymnorhynchus horridus* a new cestoid entozoon. *Edinburgh Philosophical Journal*, 31: 9–12.
- Grabda J. 1973. Contribution to knowledge of biology of *Cecrops latreilli* Leach, 1816 (Caligoida: Cecropidae) the parasite of the ocean sunfish *Mola mola* (L.). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 3(1): 61–74.
- Grammeltvedt A.F. 1973. Differentiation of the tegument and associated structures in *Diphyllobothrium dendriticum* Nitsch (1824) (Cestoda: Pseudophyllidea). An electron microscopical study. *International Journal for Parasitology*, 3: 321–327.
- Grassé P.-P. 1958. *Traité de Zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Tomo XIII, 1^{er} fascículo. Agnathes et poissons, anatomie, éthologie, systématique.* Masson et C^{ie} Eds. Libraries de L'Académie de Médecine. 120, Boulevard Saint-Germain, Paris, 922 pp.
- Gregory W.K. y Raven H.C. 1934. Notes on the anatomy and relationships of the ocean sunfish (*Mola mola*). *Copeia*, 4: 145–151.
- Grijalba-Bendeck M., Franco-Herrera A., Jáuregui A. y Tigreros P. 2004. Presencia del pez luna *Mola mola* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Molidae) en el departamento de Magdalena, Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 33: 271–274.
- Guiart J. 1935. Le véritable *Floriceps saccatus* de Cuvier n'est pas la larve géante de Tétrarhynque vivant dans le foie du Môle (*Mola mola*). *Bulletin de L'Institut Océanographique*, 666: 1–15.

- Guiart J. 1938. Trematodes parasites provenant des campagnes scientifiques de S.A.S. le Prince Albert I de Mónaco (1886–1912). *Resultats Campagnes Scient. Albert I Prince Mónaco*. 1938, Fasc. C: 1–75.
- Gustinelli A., Nardini G., Aureli G., Trentini M., Affronte M. y Fioravanti M.L. 2006. Parasitofauna of *Mola mola* (Linnaeus, 1758) from Italian sea. *Biologia Marina Mediterranea*, 13(1): 872–876.
- Hall T.A. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95–98.
- Halsted, B.W. 1988. *Poisonous and Venomous Marine Animals of the World*. The Darwin Press, New Jersey, pp. 528–529.
- Hart J.L. 1973. *Pacific fishes of Canada*. Fisheries Research Board of Canada Bulletin 180, Ottawa, 780 pp.
- Hartwich G. y Kilius I. 1992. Die Typen der Cercomeromorphae (Plathelminthes) des Zoologischen Museum in Berlin. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin*, 68(2): 209–248.
- Heegard P. 1962. Parasitic copepod from Australian waters. *Records of the Australian Museum*, 25(9): 149–233.
- Heins D.C. y Baker J.A. 2011. Do heavy burdens of *Schistocephalus solidus* in juvenile threespine stickleback result in disaster for the parasite? *Journal of Parasitology*, 97(5): 775–778.
- Heller C. 1866. Carcinologische Beiträge zur Fauna der Adriatischen Meeres. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, 16: 723–760.
- Hernández-Orts J.S. Ahuir-Baraja A.E., García N.A., Crespo E.A., Raga J.A. y Montero F.E. 2009. New geographical records of *Capsala martinieri* (Capsalidae) from the Argentinian Patagonia and the Spanish Mediterranean: Puerto Madryn's wins the first prize at the pumpkin fair. *Libro de resúmenes del 6th International Symposium on Monogenea, South Africa, agosto 2009*.
- Hernández-Orts J.S. Ahuir-Baraja A.E., Raga J.A. y Montero F.E. 2010. A new species of *Empruhotrema* (Monogenea: Monocitylidae) from *Pteromylaeus bovinus* (Myliobatidae) from the western Mediterranean. *Journal of Parasitology*, 96(6): 1081–1085.
- Hewitt G.C. 1964. The occurrence of *Lepeophtheirus insignis* Wilson (Copepoda parasitica) in New Zealand waters and its relationship to *L. mola* Heegard. *Transactions of the Royal Society of New Zealand, Zoology*, 4(8): 153–155.

- Hewitt G.C. 1968. *Cecrops latreilli* Leach (Cecropidae, Copepoda) on *Mola mola* in New Zealand waters. *Records of the Dominion Museum*, 6(5): 49–59.
- Hewitt G.C. 1971. Species of *Lepeophtheirus* (Copepoda, Caligidae) recorded from the ocean sunfish (*Mola mola*) and their implications for the caligid genus *Dentigryps*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 28: 323–334.
- Hewitt G.C. y Hine P.M. 1972. Checklist of parasites of New Zealand fishes and of their hosts. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 6(1/2): 69–114.
- Hillis J.P. y O’Riordan C.E. 1960. Parasites of a sunfish, *Mola mola*, from the Irish coast. *Irish Naturalists Journal*, 13: 123–124.
- Hinz E. 1978. Fenbendazole therapy of experimental larval echinococcosis. I. The effect of fenbendazole on worm burden and protoscolex development of *Echinococcus multilocularis* (author’s transl). *Zentralbl Bakteriolog Orig A.*, 240(4): 542–548 [en alemán].
- Ho J.S. y Lin C.L. 2004. *Sea lice of Taiwan (Copepoda: Siphonostomatoidea: Caligidae)*. The Sueichian Press, Keelung (Taiwan), 388 pp.
- Hoberg E.P., Daoust P.Y. y McBurney S. 1993. *Bolbosoma capitatum* and *Bolbosoma* sp. (Acanthocephala) from sperm whales (*Physeter macrocephalus*) stranded on Prince Edward Island, Canada. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 60(2): 205–210.
- Hogans W.E. 1987. Description of *Pennella filosa* L. (Copepoda: Pennellidae) on the ocean sunfish (*Mola mola* L.) in the Bay of Fundy. *Bulletin of Marine Science*, 40 (1): 59–62.
- Hogans W.E., Bratney J. y Hurlbut T.R. 1985. *Pennella filosa* and *Pennella instructa* (Copepoda: Pennellidae) on Swordfish (*Xiphias gladius* L.) from the Northwest Atlantic Ocean. *Journal of Parasitology*, 71(1): 111–112.
- Holzer A.S., Sommerville C. y Wootten R. 2004. Molecular relationships and phylogeny in a community of myxosporeans and actinosporeans based on their 18S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 34: 1099–1111.
- Hooper S.N., Paradis M. y Ackman R.G. 1973. Distribution of trans-6-hexadecenoic acid, 7-methyl-7-hexadecenoic acid and common fatty acids in lipids of ocean sunfish *Mola mola*. *Lipids*, 8: 509–516.
- Houghton J.D.R., Doyle T.K., Davenport J. y Hays G.C. 2006. The ocean sunfish *Mola mola*: insights into distribution, abundance and behavior in the Irish and Celtic Seas. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86: 5327/1–7.

- Houghton J.D.R., Liebsch N., Doyle T.K., Gleiss A., Lilley M.K.S., Wilson R.P., y Hays G.C. 2009. Harnessing the sun: testing a novel attachment method to record fine scale movements in ocean sunfish (*Mola mola*). En: *Tagging and tracking of marine animals with electronic devices Vol. 9*. Nielsen J.L., Arrizabalaga H., Fragoso N., Hobday A., Lutcavage M. y Sibert J. (Eds.), Springer, Dordrecht, pp. 229–242.
- Hull M.Q., Pike A.W., Mordue A.J. y Rae G.H. 1998. Patterns of pair formation and mating in an ectoparasitic caligid copepod *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837): implications for its sensory and mating biology. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, 353: 753–764.
- Hutson K.S., Ernst I. y Whittington I.D. 2007. Risk assessment for metazoan parasites of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae) in South Australian sea-cage aquaculture. *Aquaculture*, 271(1–4): 85–99.
- Ishii N. 1935. Studies on the family Didymozoidae (Monticelli, 188). *Japanese Journal of Zoology*, 6: 279–335.
- Jiménez-González A., De Armas-Serra C., Criado-Fornelio A., Casado-Escribano N., Rodríguez-Caabeiro F. y Díez J.C. 1991. Preliminary characterization and interaction of tubulin from *Trichinella spiralis* larvae with benzimidazole derivatives. *Veterinary Parasitology*, 39: 89–99.
- Johannessen A. 1975. *Lakselus, Lepeophtheirus salmonis Kroyeri (Copepoda, Caligidae)*. Tesis doctoral, University of Bergen, 113 pp.
- Johnson S.C. y Albright L.J. 1991. The developmental stages of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) (Copepoda: Caligidae). *Canadian Journal of Zoology*, 69: 929–950.
- Johnston T.H. 1909. Notes on Australian Entozoa. N°. 1. *Records of the Australian Museum*, 7(4): 329–344.
- Joy J.E. y Madan E. 1989. Pathology of black bass hepatic tissue infected with larvae of the tapeworm *Proteocephalus ambloplitis*. *Journal of Fish Biology*, 35: 111–118.
- Jukic S. 1972. Nutrition of the hake (*Merluccius merluccius*), bogue (*Boops boops*), striped mullet (*Mullus barbatus*) and pandora (*Pagellus erythrinus*) in the Bay of Kaštela. *Acta Adriatica*, 14:3–40.
- Kabata Z. 1972. Developmental stages of *Caligus clemensi* (Copepoda: Caligidae). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29: 1571–1593.
- Kabata Z. 1979. *Parasitic copepoda of British fishes*. London: Ray Society, 650 pp.
- Kearn G.C. 1998. *Parasitism and the Platyhelminths*, Chapman & Hall, London, 544 pp.

- Kennedy C.R. y Andersen K.I. 1982. Redescription of *Anchistrocephalus microcephalus* (Rudolphi) (Cestoda, Pseudophyllidea) from the sunfish *Mola mola*. *Zoologica Scripta*, 11(2): 101–105.
- Kensley B. y Grindley J.R. 1973. South African parasitic Copepoda. *The Annals of the South African Museum*, 62: 69–130.
- Khalil L.F., Jones A. y Bray R.A. 1994. *Keys to the cestode parasites of vertebrates*. CAB International: 751 pp.
- Khoury C. 1984. Ethologies alimentaires de quelques espèces de poissons de l'herbier de Posidonies du Parc National de Port-Cros. En: *International Workshop Posidonia Oceanica Beds*. Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. y Olivier J. (Eds.), GIS Posidonie Publications, France 1, pp. 335–347.
- Knoff M., Sao Clemente S.C., Pinto R.M., Lanfredi R.M. y Gomes D.C. 2003. Scanning electron microscopy of *Molicola horridus* (Goodsir, 1841) Dollfus, 1935 (Eucestoda: Trypanorhyncha). *Acta Microscopica*, Vol. 12 supplement B. (XIX Congress of the Brazilian Society for Microscopy and Microanalysis, Brasil, septiembre 2003).
- Ko R.C. 1986. *A preliminary review of the genus Ascarophis van Beneden, 1871 (Nematoda: Cystidicolidae) of the gastrointestinal tract of fishes*. Department of Zoology, University of Hong Kong, Hong Kong, China, 54 pp.
- Konow N. 2006. Adult emperor angelfish (*Pomacanthus imperator*) clean giant sunfishes (*Mola mola*) at Nusa Lembongan, Indonesia. *Coral Reefs*, 25: 208.
- Koyun M. y Altunel F.N. 2007. Metazoan Parasites of Bleak (*Alburnus alburnus*), Crucian Carp (*Carassius carassius*) and Golden Carp (*Carassius auratus*) in Enne Dam Lake, Turkey. *International journal of Zoological Research*, 3(2): 94–100.
- Ku C. y Shen J. 1965. Taxonomic study on the family Didymozoidae from some marine fishes in China. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nan Kaiensis*, 6 :21–48.
- Lacey E. 1988. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology*, 18(7): 885–936.
- Lamothe-Argumedo R. 1997. Nuevo arreglo taxonómico de la subfamilia Capsalinae (Monogenea: Capsalinae), clave para los géneros y dos combinaciones nuevas. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 68: 207–223.

- Lee D.S. 1986. Seasonal, thermal, and zonal distribution of ocean sunfish, *Mola mola* (Linnaeus), off the North Carolina coast. *Brimleyana*, 12: 75–83.
- Lee K.W., Suhk H.-C., Pai K.-S., Shin H.-J., Jung S.-Y., Han E.-T. y Chai J.-Y. 2001. *Diphyllobothrium latum* infection after eating domestic salmon flesh. *The Korean Journal of Parasitology*, 39: 319–321.
- Lester R.J.G. 1980. Host-parasite relations in some Didymozoid trematodes. *The Journal of the Parasitology*, 66(3): 527–531.
- Lewis A.G. 1963. Life history of the caligid copepod *Lepeophtheirus dissimulatus* Wilson, 1905 (Crustacea: Caligoida). *Pacific Science*, 17: 195–242.
- Linton E. 1898. Notes on trematode parasites of fishes. *Proceedings of the United States National Museum*, 20: 507–548.
- Linton E. 1900. Fish parasites collected at Woods Hole in 1898. *United States Fish Commission Bulletins for 1898*, 267–304.
- Linton E. 1901. Parasites of fishes of the Woods Hole region. *United States Fish Commission Bulletins for 1899*, 405–495.
- Linton E. 1912. Cestode cysts in the flesh of marine fish and their bearing on food values. *Transactions of the American Fisheries Society*, 42: 1–9.
- Linton E. 1924. Notes on cestode parasites of sharks and skates. *Proceedings of the United States National Museum*, 64: 1–114.
- Linton E. 1940. Trematodes from fishes mainly from the Woods Hole region, Massachusetts. *Proceedings of the United States National Museum*, 88: 1–172.
- Littlewood D.T.J. y Olson P.D. 2001. Small subunit rDNA and the Platyhelminthes: signal, noise, conflict and compromise. En: *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Littlewood D.T.J. y Bray R.A (Eds.), Taylor and Francis, London, pp. 262–278.
- Lloret J., Faliex E., Shulman G.E., Raga J.A., Sasal P., Muñoz M., Casadevall M., Ahuir-Baraja A.E., Montero F.E., Repullés-Albelda A., Cardenal M., Rätz H.-J., Vila S. y Ferer D. Fish health and fisheries, implications for stock assessment and management: the Mediterranean example. *Reviews in Fisheries Sciences* (aceptado).
- Lloyd L.C. 1938. Some digenetic trematodes from Puget Sound fish. *Journal of Parasitology*, 24: 103–133.
- Lo C.M. y Morand S. 2001. Gill parasites of *Cephalopholis argus* (Teleostei: Serranidae) from Moorea (French Polynesia): site selection and coexistence. *Folia Parasitologica*, 48: 30–36.

- Logan V.H. y Odense P.H. 1974. The integument of the ocean sunfish (*Mola mola* L.) (Plectognathi) with observations on the lesions from two ectoparasites, *Capsala martinieri* (Trematoda) and *Philorthagoriscus serratus* (Copepoda). *Canadian Journal of Zoology*, 52(8): 1039–1045.
- Looss A. 1899. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematoden-Fauna Aegyptens, zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere*, 12: 521–784.
- Lovell T. 1998. *Nutrition and feeding of fish*. 2° edition. Kluwer Academic Publishers, 267 pp.
- Machado Fihlo D.A. 1964. Contribução para o conhecimento do genero “*Bolbosoma*” Porta, 1908 (Palaeacanthocephala, Polymorphidae). *Revista Brasileira Biologie*, 24: 341–348.
- Macías D., Gómez-Vives M.J. y De la Serna J.M. 2004. Desembarcos de especies asociadas a la pesquería de palangre de superficie dirigido al pez espada (*Xiphias gladius*) en el Mediterráneo durante 2001 y 2002. *Collective Volume of Scientific Papers ICCAT*, 56(3): 981–986.
- Mackenzie K. y Longshaw M. 1995. Parasites of the hakes *Merluccius australis* and *M. hubbsi* in the waters around the Falkland Islands, southern Chile, and Argentina, with an assessment of their potential value as biological tags. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(S1): 213–224.
- Maclaren N. 1904. Beitrage zur Kenntnis einiger Trematoden (*Diplectanum aequans* Wagener und *Nemathobothrium molae* n. sp.) *Jena Zoologischen Naturwissenschaftliche*, 38: 573–618.
- Madinabeitia I. y Nagasawa K. 2011. Chalimus stages of *Caligus latigenitalis* (Copepoda: Caligidae) parasitic on blackhead seabream from japanese waters, with discussion of terminology used for developmental stages of caligids. *Journal of Parasitology*, 97(2): 221–236.
- Madlineo I. 2006. Histopathology of five species of *Didymocystis* spp. (Digenea: Didymozoidae) in cage-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Veterinary Research Communications*, 30: 475–484.
- Madlineo I., Bott N.J., Nowak B.F. y Block B.A. 2010. Multilocus phylogenetic analyses reveal that habitat selection drives the speciation of Didymozoidae (Digenea) parasitizing Pacific and Atlantic bluefin tunas. *Parasitology*, 137: 1013–1025.

- Manter H.W. 1934. Some digenetic trematodes from deep-water fishes of Tortugas, Florida. *Papers from the Tortugas Laboratory of Carnegie Institution of Washington*, 28: 257–345.
- Manter H.W. 1960. Some additional Digenea (Trematoda) from New Zealand fishes. *Sobretiro del libro homenaje al Dr. Eduardo Caballero y Caballero*, 328: 197–201.
- Marino F., Giannetto S., Cavallaro M., Paradiso M.L., Bottari T. y De Vico G. 2003. *Unitubulotestis sardae* (Trematoda: Didymozoidae) infection in Atlantic bonito *Sarda sarda* (Perciformes: Scomberomoridae) in the Ionian and Tyrrhenian seas: histopathological and SEM investigations. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 35(2): 215–220.
- Mattiucci S. y Nascetti G. 2008. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Advances in Parasitology*, 66: 47–148.
- McCann Ch. 1961. The sunfish, *Mola mola* (L.) in New Zealand waters. *Records of the Dominion Museum*, 4(2): 7–20.
- McClelland G., Misra R.K. y Martell D.J. 1990. Larval Anisakinae nematodes in various fish species from Sable Island Bank and Vicinity. En: *Population biology of sealworm (Pseudoterranova decipiens) in relation to its intermediate and seal hosts*. Bowen W. D. (Ed.), Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences, pp. 83–118.
- Measures L.N. 1992. *Bolbosoma turbinella* (Acanthocephala) in a blue whale, *Balaenoptera musculus*, stranded in the St. Lawrence estuary, Quebec. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 59(2): 206–211.
- Mendes-Ahid S.M., Filgueira K.D., Araújo de Souza Fonseca Z.A., Soto-Blanco B. y de Oliveira M.F. 2009. Ocorrência de parasitismo em *Mola mola* (Linnaeus, 1758) por metazoários no litoral do rio grande do norte, Brasil. *Acta Veterinaria Brasilica*, 3(1): 43–47.
- Milne Edwards H. 1840. *Histoire naturelle des crustacés, comprenant l'anatomie, la physiologie et la classification de ces animaux*. Vol. 3. Roret, Paris, 638 pp.
- Monod T. 1926. Les Gnathiidae. Essai monographique. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles du Maroc*, 13: 1–668.
- Montero F., Crespo S., Padrós F., De la Gándara F., García A. y Raga J.A. 2004. Effects of the gill parasites *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae) on the amberjack *Seriola dumerili* Risso (Teleostei: Carangidae). *Aquaculture*, 232: 153–63.

- Montgomery W.R. 1957. Studies on digenetic trematodes from marine fishes of Lajolla, California. *Transactions of the American Microscopy Society*, 76: 13–36.
- Monticelli F.S. 1893. Studii sui trematodi endoparassiti. Primo contributo di osservazioni sui Distomidi. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Tiere*, 3: 1–229.
- Moravec F. 1994. *Parasitic nematodes of freshwater fishes of Europe*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, 474 pp.
- Mouillot D., George-Nascimento M. y Poulin R. 2003. How parasites divide resources: a test of the niche apportionment hypothesis. *Journal of Animal Ecology*, 72: 757–764.
- Munday B.L., Sawada Y., Cribb T. y Hayward C.J. 2003. Diseases of tunas, *Thunnus* spp. *Journal of Fish Diseases*, 26: 187–206.
- Myers G.S. y Wales J.H. 1930. On the occurrence and habits of ocean sunfish (*Mola mola*) in Monterey Bay, California. *Copeia*, 1: 11.
- Mytilineou C. 1987. Contribution to the biology of the blotched pickerel *Spicara flexuosa* (Rafinesque 1810) in the Patraikos Gulf. Tesis doctoral, University of Athens [en griego].
- Naidenova N.N. y Mordvinova T.N. 1997. Helminth fauna of Mediterranean sea fish upon the data of the IBSS's expeditions (1959–1973). *Ekologiya Morya*, Kiev 46: 69–74 [en ruso].
- Nakatsubo T., Kawachi M., Mano N. y Hirose H. 2007. Estimation of maturation in wild and captive ocean sunfish *Mola mola*. *Aquaculture Science*, 55(2): 259–264 [en japonés].
- Nascetti G., Paggi L., Orecchia P., Smith J.W., Mattiucci S., y Bullini L. 1986. Electrophoretic studies on the *Anisakis simplex* complex (Ascaridida: Anisakidae) from the Mediterranean an North-East Atlantic. *International Journal for Parasitology*, 16(6): 633–640.
- Nelson J.S. 2006. *Fishes of the World*. 4th editionn. Wiley, New York, 416 pp.
- Nicoll W. 1914. The trematode parasites of north Queensland I. *Parasitology*, 6: 330–350.
- Nigrelli R.F. y Breder C.M. Jr. 1934. The Susceptibility and Immunity of Certain Marine Fishes to *Epibdella melleni*, a Monogenetic Trematode. *The Journal of Parasitology*, 20(5): 259–269.
- Noble G.A. 1975. Description of *Nematobibothrioides histoidii* (Noble, 1974) (Trematoda: Didymozoidae) and comparison with other genera. *Journal of Parasitology*, 61(2): 224–227.
- Noble G.A. y Noble E.R. 1966. *Monocercomonas molae* n. sp., a flagellate from the Sunfish *Mola mola*. *Journal of Eucaryotic Microbiology*, 13(2): 257–259.

- Noble E.R. y Noble G.A. 1937. *Accacladium nematulum* n. sp., a trematode from the sunfish *Mola mola*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 56: 55–60.
- Noble E.R. y Noble G.A. 1966. Amebic parasites of fishes. *Journal of Eucaryotic Microbiology*, 13(3): 478–480.
- Noga E.J. 2010. *Fish diseases: diagnosis and treatment*. Blackwell Publishers, Iowa, 367 pp.
- Nolan M.J. y Cribb T.H. 2005. The use and implications of ribosomal DNA sequencing for the discrimination of digenean species. *Advances in Parasitology*, 60: 101–163.
- Norman J.R. y Fraser F.C. 1949. *Field book of giant fishes*. G.P. Putnam and Sons, New York, 376 pp.
- Odhner T. 1928. *Rhynchopharynx paradoxa* n. g. n. sp., nebst revision der Accacoeliiden von *Orthagoriscus mola*. *Zoologische Anzeiger*, 38: 513–531.
- Ohtsuka S., Takami I., Venmathi Maran B.A., Ogawa K., Shimono T., Fujita Y., Asakawa M. y Boxshall G.A. 2009. Developmental stages and growth of *Pseudocaligus fugu* Yamaguti, 1936 (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) host-specific to Puffer. *Journal of Natural History*, 43(29–30): 1779–1804.
- Oldewage W.H. 1990. Research note on: *Nogaus-Nogagus-Nesippus* (Copepoda, Pandaridae), the Namibian connection. *Crustaceana*, 58(2): 207–213.
- Olson P.D. y Littlewood D.T.J. 2002. Phylogenetics of the Monogenea—evidence from a medley of molecules. *International Journal for Parasitology*, 32: 233–244.
- Olson P.D., Cribb T.H., Tkach V.V., Bray R.A. y Littlewood D.T.J. 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal of Parasitology*, 33(7): 733–755.
- Olson P.D., Littlewood D.T.J., Bray R.A. y Mariaux J. 2001: Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19: 443–467.
- Olsson P. 1868. Entozoa, iakttagna hos Skandinaviska hafsfiskar. I. Platyelminthes. *Acta Universitatis lundenses (1867)*, 4: 64 pp.
- Otto T.N. y Heckman R.A. 1984. Host tissue response for trout infected with *Diphyllbothrium cordiceps* larvae. *Great Basin Naturalist*, 44: 125–132.
- Palm H.W. 1997. An alternative classification of trypanorhynch cestodes considering the tentacular armature as being of limited importance. *Systematic Parasitology*, 37(2): 81–92.

- Palm H.W. y Overstreet R.M. 2000. New records of trypanorhynch cestodes from the Gulf of Mexico, including *Kotorella pronosoma* (Stossich, 1901) and *Heteronybelinia palliata* (Linton, 1924) comb. n. *Folia Parasitologica*, 47: 293–302
- Palm H.W., Poynton S.L. y Rutledge P. 1998. Surface ultrastructure of plerocercoids of *Bombycirhynchus sphyraenaicum* (Pintner, 1930) (Cestoda: Trypanorhyncha). *Parasitology Research*, 84: 195–204.
- Parenti P. 2003. Molidae Bonaparte 1832, molas or ocean sunfishes. En: *Annotated Checklists of Fishes No. 18*, California Academy of Sciences, 9 pp.
- Parker R.R. 1969. Validity of the binomen *Caligus elongatus* for a common parasitic copepod formerly misidentified with *Caligus rapax*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 26: 1013–1035.
- Perdiguero-Alonso D., Montero F.E., Raga J.A. y Kostadinova A. 2008. Composition and structure of the parasite faunas of cod, *Gadus morhua* L. (Teleostei: Gadidae), in the North East Atlantic. *Parasites and Vectors*, 1: 1–23.
- Perera K.M.L. 1992. Light microscopic study of the pathology of a species of didymozoan, Nematobothriinae gen. sp., from the gills of slimy mackerel *Scomber australasicus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 13: 103–109.
- Perera K.M.L. 1994. Light and electron microscopic study of the pathology of a species of didymozoid (Trematoda, Digenea) infecting the gill arches of *Scomber australasicus* (Teleostei, Scombridae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 18: 119–127.
- Pérez-del-Olmo A. 2008. *Biodiversity and structure of parasite communities in Boops boops (Teleostei: Sparidae) from the Western Mediterranean and off the North East Atlantic coasts of Spain*. Tesis Doctoral, Universitat de València, 148 pp.
- Pérez-Serrano J., Casado N., Denegri G. y Rodríguez-Caabeiro F. 1994. The effects of albendazole and albendazole sulphoxide combination-therapy on *Echinococcus granulosus in vitro*. *International Journal for Parasitology*, 24(2): 219–24.
- Peters L.E. 1960. The systematic position of the genus *Dihemistephanus* Loos, 1901 (Trematoda: Dinegea), with the redescription of *D. lydiae* (Stossich, 1896) from the South Pacific. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 27: 134–138.
- Petter A.J. y Radujkovic B.M. 1989. Parasites des poisons marins du Montenegro: Nematodes. *Acta Adriatica*, 30: 195–236.
- Pike A.W. y Wadsworth S.L. 1999. Sealice on salmonids: their biology and control. *Advances in Parasitology*, 44: 233–337.

- Pinto R.M., Knoff M., São Clemente S.C., Lanfredi R.M y Gomes D.C. 2006. *The taxonomy of some Poecilacanthoidea (Eucestoda: Trypanorhyncha) from elasmobranchs off the southern coast of Brazil*. *Journal of Helminthology*, 80: 291–298.
- Pope E.C., Hays G.C., Thys T.M., Doyle T.K., Sims D.W., Queiroz N., Hobson V.J., Kubicek L. y Houghton J.D.R. 2010. The biology and ecology of the ocean sunfish *Mola mola*: a review of current knowledge and future research perspectives. *Reviews of Fish Biology and Fisheries*, 20: 471–487.
- Potter I. 2007. *Movement and behaviour of ocean sunfish, Mola mola, in the Northwest Atlantic*. Department of Zoology, University of New Hampshire, Durham, New Hampshire. <http://www.tunalab.unh.edu/molaresearch.htm>.
- Poulin R. 1991. Group-living and the richness of the parasite fauna in Canadian freshwater fishes. *Oecologia*, 86: 390–394.
- Poulin R. 1995. Evolution of parasite life history traits: myths and reality. *Parasitology Today*, 11(9): 342–345.
- Poulin R. y George-Nascimento M. 2007. The scaling of total parasite biomass with host body mass. *International Journal for Parasitology*, 37: 359–364.
- Powell D.C. 2001. *A fascination for fish: adventures of an underwater pioneer*. University of California Press, Berkeley, USA, 323 pp.
- Pozdnyakov S.E. 1994. *Reniforma squamata* sp. n. (Trematoda: Didymozoa) a parasite of the moon fish in the north-eastern subtropical zone of the Pacific ocean. *Parazitologîa*, 28(1): 73–75 [en ruso].
- Pozdnyakov S.E. 1996. [Trematode suborder Dydyozoata]. *Tikhookeanskii Nauchno-Issledovatel'skii Rybokhozyaistvennyi Tsentr, Vladivostok*, 319 pp.
- Pozdnyakov S.E. y Gibson D.I. 2008. Family Didymozoidae Monticelli, 1888. En: *Keys to the Trematoda Vol. 3*. Gibson D.I., Jones A. y Bray R.A. (Eds.), CAB International, Wallingford, pp. 631–734.
- Pratt I. y McCauley J.E. 1961. *Trematodes of the Pacific Northwest: An annotated catalog*. Oregon State University Press, Corvallis, 118 pp.
- Price E.W. 1962. A description of *Tricotyla mola* (Blanchard), with a discussion of the monogenetic trematodes of the sunfish (*Mola mola*, L.). *The Journal of the Parasitology*, 48(5): 748–751.

- Pulkkinen K. y Valtonen E.T. 1999. Accumulation of plerocercoids of *Triaenophorus crassus* in the second intermediate host *Coregonus lavaretus* and their effect on growth of the host. *Journal of Fish Biology*, 55: 115–126.
- Radhakrishnan S. y Nair N.B. 1980. *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid (Cestoda: *Gymnorhynchidae*) infection of the liver of *Diodon hystrix* (Pisces: *Diodontidae*). I. Incidence and intensity of infection, histopathology and effect on hepato-somatic index. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, B46 (3): 302–309.
- Radhakrishnan S., Nair N.B. y Balasubramanian N.K. 1983. *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid (Cestoda: *Gymnorhynchidae*) infection of the liver of *Diodon hystrix* (Pisces: *Diodontidae*). III Biochemical composition of infected fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 13(2): 141–147.
- Radujkovic B.M. y Euzet L. 1989. Parasites des poissons marins du Montenegro: Monogènes. *Acta Adriatica*, 30: 51–135.
- Raibaut A., Combes C. y Benoit F. 1998. Analysis of the parasitic copepod species richness among Mediterranean fish. *Journal of Marine Systems*, 15: 185–206.
- Randhawa H. 2011. Insights using a molecular approach into the life cycle of a tapeworm infecting great white sharks. *Journal of Parasitology*, 97(2): 275–280.
- Razo-Mendivil U., Rosas-Valdez R. y Pérez-Ponce de León G. 2008. A new cryptogonimid (Digenea) from the mayan cichlid, *Cichlasoma urophthalmus* (Osteichthyes:Cichlidae), in several localities of the Yucatán peninsula, Mexico. *Journal of Parasitology*, 94(6): 1371–1378.
- Reinhard E.G. 1949. Experiments on the determination and differentiation of sex in the bopyrid *Stegophrygus hyptius*. *Biological Bulletin*, 96: 17–31.
- Ritchie G., Mordue A. J., Pike A. W. y Rae G. H. 1996. Observations on mating and reproductive behaviour of *Lepeophtheirus salmonis*, Krøyer (Copepoda: Caligidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 201: 285–298.
- Robinson V.C. 1934. A new species of Accacoeliid trematode (*Accacladocoelium alveolatum* n. sp.) from the intestine of a sun-fish (*Orthogoriscus mola* Bosch). *Parasitology*, 26: 346–351.
- Rosen N. 1913. Studies on the plectognaths. 3. The integument. *Arkiv Zoologiske*, 8(18): 1–29.
- Rudolphi C.A. 1819. *Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi*. Berolini, 811 pp.

- Ryan C. y Holmes J.M.C. 2012. Killer whale *Orcinus orca* predation on sunfish *Mola mola*. *Marine Biodiversity Records*, DOI 10.1017/s17552-672-1100-1187.
- Saito T., Noguchi T., Shida Y., Abe T. y Hashimoto K. 1991. Screening of tetrodotoxin and its derivatives in puffer related species. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*, 57 (8): 1573–1577.
- Sanmartín M.L., Caamaño P., Fernández J., Leiro J. y Ubeira F.M. 1989. Anthelmintic activity of praziquantel, niclosamide, netobimin and mebendazole against *Bothriocephalus scorpii* naturally infecting turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 76: 199–201.
- Santini F. y Tyler J.C. 2002. Phylogeny of the ocean sunfishes (Molidae, Tetraodontiformes), a highly derived group of teleost fishes. *Italian Journal of Zoology*, 69: 37–43.
- Schaepereclaus W. 1992. *Fish diseases Vols. 1 y 2*. Balkema A.A. (Ed.), Rotterdam, 1398 pp.
- Schantz P.M., Van den Bossche H. y Eckert J. 1982. Chemotherapy for larval echinococcosis in animals and humans: report of a workshop. *Zeitschrift fur Parasitenkunde-Parasitology Research*, 67(1): 5–26.
- Schwartz F.J. y Lindquist D.G. 1987. Observations on *Mola* basking behaviour, parasites, echeneidid associations, and body-organ weight relationships. *The Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society*, 103(1): 14–20.
- Scott A. 1901. On the fish parasites, *Lepeohtheirus* and *Lerneae*. *Report on the Lancashire Sea-Fisheries Laboratory*, 9: 63–94.
- Seyda M. 1976. On a case of a mass invasión of cestode *Gymnorhynchus* (*Gymnorhynchus*) *gigas* (Cuvier, 1817) larvae in muscles of *Brama raii* (Bloch, 1971). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 6(1): 59–65.
- Shiino S.M. 1960. Copepod parasitic on the fishes collected on the coast of Province Shima, Japan. *Report of Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie*, 3: 471–500.
- Shiino S.M. 1965. On *Cecrops exiguus* Wilson found in Japan. *Report of Faculty of Fisheries, Prefectural University of Mie*, 5(2): 381–390.
- Shimazu T., Araki J. y Kamegai S. 1996. Further notes on the Platyhelminth parasites reported by Yoshimasa Ozaki, 1923-1966, with a list of helminth parasite specimens deposited in the Department of Zoology, University Museum, University of Tokyo, Tokyo. *Journal of Nagano Prefectural College*, 51: 11–15.
- Silvani L., Gazo M. y Aguilar A. 1999. Spanish driftnet fishing and incidental catches in the western Mediterranean. *Biological Conservation*, 90: 79–85.

- Simková A., Plaisance L., Matejusová I., Morand S. y Verneau O. 2003. Phylogenetic relationships of the Dactylogyridae Bychowsky, 1933 (Monogenea: Dactylogyridea): the need for the systematic revision of the Ancyrocephalinae Bychowsky, 1937. *Systematic Parasitology*, 54: 1–11.
- Sims D.W. y Southall E.J. 2002. Occurrence of ocean sunfish, *Mola mola* near fronts in the western English Channel. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82: 927–928.
- Sims D.W., Queiroz N., Doyle T.K., Houghton J.D.R. y Hays G.C. 2009a. Satellite tracking of the world's largest bony fish, the ocean sunfish (*Mola mola*) in the North East Atlantic. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 370: 127–133.
- Sims D.W., Queiroz N., Humphries N.E., Lima F.P. y Hays G.C. 2009b. Long-term GPS tracking of ocean sunfish *Mola mola* offers a new direction in fish monitoring. *PLoS ONE*, 4:e7351.
- Siquier G.F. y Le Bas A.E. 2003. Morphometrical categorization of *Phyllobothrium delphini* (Cestoidea, Tetraphyllidea) cysts from Frasher's dolphin, *Lagenodelphis hosei* (Cetacea, Delphinidae). *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, 2: 95–100.
- Sitjà-Bobadilla A., Padrós F., Aguilera C. y Pellitero-Alvarez P. 2005. Epidemiology of *Cryptosporidium molnari* in Spanish gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) cultures: from hatchery to market size. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1): 131–139.
- Smit N.J. y Davies A.J. 2004. The curious life-style of the parasitic stages of Gnathiid isopods. *Advances in Parasitology*, 58: 289–391.
- Smith J.W. 1984. The abundance of *Anisakis simplex* L3 in the body-cavity and flesh of marine teleost. *International Journal of Parasitology*, 14(5): 491–495.
- Smith J.W. y Wootten R. 1975. Experimental studies on the migration of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda: Ascaridida) into the flesh of herring, *Clupea harengus* L. *International Journal for Parasitology*, 5: 133–136.
- Smyht J.D., Howkins A.B. y Barton N. 1966. Factors controlling the differentiation of the hydatid organism. *Echinococcus granulosus*, into cysts or strobilar stages *in vitro*. *Nature*, 211: 1374–1377.
- Sproston N. 1946. A synopsis of the Monogenetic Trematodes. *Transactions of the Zoological Society of London*, 25(1): 185–600.

- Stafford J. 1904. Trematodes from Canadian fishes. *Zoologischer Anzeiger*, 27(16–17): 481–495.
- Steinberg J. 2002. Mola! *National Geographic* (November), pp. 64–69.
- Stuardo J. 1958. *Lepeophtheirus ornatus* (Milne Edwards) a synonym of *L. nordmanii* (Milne Edwards) (Copepoda: Caligidae). *University I Bergen*, 8: 3–11.
- Stunkard H.W. 1977. Studies on tetraphyllidean and tetraphyllidean metacestodes from squids taken on the New England Coast. *Biological Bulletin*, 153: 387–412.
- Syväranta J., Harrods C., Kubicek L., Cappanera V. y Houghton J.D.R. 2011. Stable isotopes challenge the perception of ocean sunfish *Mola mola* as obligate jellyfish predators. *Journal of Fish Biology*, 80: 225–231.
- Tang F.-H. y Zao Y.-J. 2010. Taxonomic study on trichodinids parasitic on gills of freshwater fish, *Carassius auratus* from chongqing, china, with the description of *Trichodina brevicirra* sp. nov. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 34(5): 1004–1009.
- Tantalean V.M., Sarmiento B.L. y Huiza P.A. 1992. Digeneos (Trematoda) del Perú. *Boletín de Lima*, 80: 47–84.
- Taylor M. y Hoole D. 1989. *Ligula intestinalis* (L.) (Cestoda: Pseudophyllidea): plerocercoid-induced changes in the spleen and pronephros of roach, *Rutilus rutilus* (L.), and gudgeon, *Gobio gobio* (L.). *Journal of Fish Biology*, 34: 583–596.
- Testa J. y Dailey M.D. 1977. Five new morphotypes of *Phyllobothrium delphini* (Cestoda: Tetraphyllidea), their relationship to existing morphotypes, and their zoogeography. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, 76: 99–110.
- Thompson J.D., Higgins D.G. y Gibson T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22): 4673–4680.
- Thoney D.A. y Hargis Jr. W.J. 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Annual Review of Fish Diseases*, 1:133–153.
- Threfall W. 1967. Some parasites recovered from the ocean sunfish, *Mola mola* (L.), in Newfoundland. *The Canadian Field-Naturalist*, 81: 168–172.
- Thulin J. 1973. Some parasites in a sun-fish caught in Gothenburg harbour. *Zoologisk Revy*, 35: 82–84.
- Thulin J. 1980. Redescription of *Nematobithrioides histoidii* Noble, 1974 (Digenea: Didymozoidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde, Parasitology Research*, 63: 213–219.

- Timi J.T. y Lanfranchi A.L. 2006. Size relationships between the parasitic copepod, *Lernanthropus cynoscicola*, and its fish host, *Cynoscion guatucupa*. *Parasitology*, 132(2): 207–213.
- Timon-David P. y Musso J.J. 1971. Digenetic trematodes of the sunfish (*Mola-mola*) in the gulf of Marseille (Accacoeliidae, Didymozoidae). *Annales du Parasitologie Humaine et Compareé*, 46(3): 233–256 [en francés].
- Todd C.D., Stevenson R.J., Reinardy H. y Ritchie M.G. 2005. Polyandry in the ectoparasitic copepod *Lepeophtheirus salmonis* despite complex precopulatory and postcopulatory mate-guarding. *Marine Ecology Progress Series*, 303: 225–234.
- Tortonese E. 1986. Molidae. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. En: Fishes of the North Eastern Atlantic and the Mediterranean Vol 3. Whitehead P.J.P., Bauchotj M.L., Hureauj-Nielsen C. y Tortonese E. (Eds.), UNESCO, Paris, pp. 1348–1350.
- Turgut E., Shinn A. y Wootten R. 2006. Spatial distribution of *Dactylogyrus* (Monogenea) on the gills of the host fish. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 6: 93–98.
- Turner W. 1862. On the structure and composition of the integument of the *Orthogoriscus mola*. *Natural History Reviews: Quarterly Journal of Microscopical Science New Series*, 2: 185–188.
- Tyler J.C. 1980. Osteology, phylogeny, and higher classification of the fishes of the order Plectognathi (Tetraodontiformes). *NOAA Technical Report NMFS Circular*, 434: 1–422.
- Van Damme P.A., Maertens D., Arrumm A., Hamerlynck O. y Ollevier F.J. 1993. The role of *Callionymus lyra* and *C. reticulatus* in the life cycle of *Lernaeocera lusci* in Belgian coastal waters (Southern Bight of the North Sea). *Journal of Fish Biology*, 42: 395–401.
- Van der Vies J. 1954. Two methods for the determination of glycogen in liver. *Biochemical Journal*, 57(3): 410–416.
- Vázquez-López C., Armas-Serra C. y Rodríguez-Caabeiro F. 2001. *Gymnorhynchus gigas*: Taxonomía, morfología, biología y aspectos sanitarios. *Analecta Veterinaria*, 21(2): 38–49.
- Vilas R., Criscione C., Blouin M.S. 2005. A comparison between mitochondrial DNA and the ribosomal internal transcriber regions in prospecting for cryptic species of platyhelminth parasites. *Parasitology*, 131: 839–846.
- Villalba S.C. y Fernández B.J. 1985. Parásitos de *Mola ramsayi* (Giglioli, 1883) (Pisces: Molidae) en Chile. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*, 56: 71–78.

- Voth D.R. 1971. *Life history of the caligid copepod Lepeophtheirus hospitalis Fraser, 1920 (Crustacea: Caligoida)*. Tesis doctoral, Universidad de Oregón, 114 pp.
- Walter T.C. y Boxshall G. (Eds.). 2012. *World of Copepoda database*. <http://www.marinespecies.org/copepoda>.
- Watanabe Y. y Sato K. 2008. Functional dorsoventral symmetry in relation to lift-based swimming in the ocean sunfish, *Mola mola*. *PLoS ONE*, 3(10): 1–7.
- White H.C. 1942. Life history of *Lepeophtheirus salmonis*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 6: 24–29.
- Whittintong I. 2004. The Capsalidae (Monogenea: Monopisthocotylea): a review of diversity, classification and phylogeny with a note about species complexes. *Folia Parasitologica*, 51: 109–122.
- Wilson C.B. 1905. North American parasitic copepods belonging to the family Caligidae. Part 1. The Caliginae. *Proceedings of the United States National Museum*, 28: 479–672.
- Wilson C.B. 1907. North American parasitic copepods belonging to the family Caligidae. Parts 3 and 4. A revision of the Pandarinae and the Cecropinae. *Proceedings of the United States National Museum*, 33: 323–490.
- Wilson C.B. 1932. Copepods of the Woods Hole region, Massachusetts. *Bulletin of the United States National Museum*, Nº. 158: 490–941.
- Wojciechowska A. 1993. The tetraphyllidean and tetrabothriid cercoids from Antarctic bony fishes. I. Morphology. Identification with adult forms. *Acta Parasitologica*, 38: 15–22.
- Wootten R. 1974. The spatial distribution of *Dactylogyrus amphibothrium* on the gills of ruffe *Gymnocephalus cernua* and its relation to the relative amounts of water passing over the parts of the gills. *Journal of Helminthology*, 48(3): 167–174.
- Wootten R., Smith J.W. y Needham E.A. 1982. Aspects of the biology of the parasitic copepods *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* on farmed salmonids, and their treatment. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh*, 81B: 185–197.
- World Health Organization. 1996. Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Bulletin World Health Organization*, 74: 231–242.
- Yamaguti S. 1934. Studies on the helminth fauna of Japan. II. Trematodes of fishes. I. *Japanese Journal of Zoology*, 5: 249–541.
- Yamaguti S. 1934. Studies on the helminth fauna of Japan. IV. Cestodes of fishes. *Japanese Journal of Zoology*, 6: 1–112.

- Yamaguti S. 1963. *Parasitic Copepoda and Branchiura of fishes*. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1104 pp.
- Yamaguti S. 1963. *Systema Helminthum. Vol. IV, Monogenea and Aspidocotylea*. John Wiley and Sons, Inc., New York, 699 pp.
- Yamaguti S. 1968. *Monogenetic trematodes of Hawaiian fishes*. University of Hawaii Press, Honolulu, 200 pp.
- Yamaguti S. 1971. *Synopsis of the digenetic trematodes of vertebrates. Vols. I y II*. Keigaku Publ. Co. Tokyo, Japan, 1074 pp.
- Yamanoue Y., Miya M., Matsuura K., Katoh M., Sakai H. y Nishida M. 2004. Mitochondrial genomes and phylogeny of the ocean sunfishes (Tetraodontiformes: Molidae). *Ichthyological Research*, 51: 269–273.
- Yoshita Y., Yamanoue Y., Sagara K., Nishibori M., Kuniyoshi H., Umino T., Sakai Y., Hashimoto H. y Gushima K. 2009. Phylogenetic relationship of two *Mola* sunfishes (Tetraodontiformes: Molidae) occurring around the coast of Japan, with notes on their geographical distribution and morphological characteristics. *Ichthyological Research*, 56(3): 232–244.

Páginas de internet sin indicaciones de autores para su referencia:

Fish album. <http://www.efishalbum.com>

Google earth. <http://earth.google.com>

Monterey Bay Aquarium. <http://www.mbayaq.org>

Puertos del Estado, Ministerio de Fomento, Gobierno de España. <http://www.puertos.es>

The Ocean Sunfish. <http://www.oceansunfish.org>

Wikipedia. <http://es.wikipedia.org>

