Informe final* del Proyecto HC005 Inventario computarizado de la colección de parásitos de peces del noroeste de México

Responsable: Dra. Emma Josefina Fajer Ávila

Institución: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.

Unidad Mazatlán

Dirección: Carretera a Victoria Km 0.6, Hermosillo, Son, 83000, México

Correo electrónico: <u>efajer@ciad.mx</u>

Teléfono, fax (669) 9898700 (ext. 250) / (669) 9898701

Fecha de inicio: Enero15, 2010 Fecha de término: Noviembre 22, 2012

Principales

resultados: Base de datos, informe final.

Forma de citar** el informe final y otros

informe final y otros resultados:

Fajer-Ávila, E. J. 2013. Inventario computarizado de la colección de parásitos de peces del noroeste de México. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Unidad Mazatlán. **Informe final SNIB-**

CONABIO. Proyecto HC005. México D.F.

Resumen:

En el CIAD, A.C.- Unidad Mazatlán existe una colección de parásitos de peces iniciada en 1998 como resultado de las investigaciones parasitológicas realizadas durante 11 años en esta institución. Con el apoyo de este proyecto se pretende organizar y validar esta colección de ejemplares de parásitos de los peces de la región noroeste de México asociada a su dato geográfico (latitud, longitud) y compilar la información para establecer una base de datos de los parásitos de las especies de peces marinos y dulce acuícolas de importancia comercial y acuacultural que habitan en esta región, con énfasis especial en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa y Bahía de Banderas, Nayarit. También se integrará a esta base de datos los parásitos de peces marinos y dulceacuícolas cultivados en la región en estudio. Esta información ha sido generada principalmente mediante la colecta, aislamiento e identificación de los parásitos potencialmente patógenos al cultivo; cuyos estudios han sido apoyados por los proyectos SAGARPA-CONACyT y los servicios de diagnóstico realizados al sector productivo en esta área. Sin embargo, el conocimiento está disperso en publicaciones científicas, informes y documentos técnicos inéditos; lo cual impide una consulta rápida y efectiva provocando en ocasiones un desconocimiento del material existente. El objetivo principal de este proyecto consiste en organizar, validar y captar toda esa información en una base de datos, de acuerdo a los lineamientos de la CONABIO para que pueda ser consultada, contribuyendo de esta forma con la información requerida por el Sistema Nacional de información sobre la Biodiversidad (SNIB)

^{• *} El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en www.conabio.gob.mx

^{• **} El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

Informe final del proyecto HC005 Inventario computarizado de la Colección de Parásitos de Peces del Noroeste de México

Responsable: Dra. Emma Josefina Fajer Ávila

Institución: Unidad Mazatlán. Centro de Investigación

en Alimentación y Desarrollo, A.C.

Laboratorio de Parasitología

Dirección: Avenida Sábalo Cerritos s/n, Estero del Yugo, 82100,

Mazatlán, Sinaloa, México

Correo electrónico: efajer@ciad.mx

Télefono/Fax: Tel: 01 (669) 9898700 (ext 250) / 9898701

Fecha de inicio: Febrero 2009

Fecha de término: Octubre 2012

Principales resultados: 1 Base de datos, Informe final

Forma de Citar: Fajer-Ávila, E.J. 2012. Inventario computarizado de la Colección de Parásitos de Peces del Noroeste de México. Laboratorio de Parasitología. Informe final

CONABIO proyecto No. HC005 México, D.F.

RESUMEN

Las investigaciones realizadas sobre la diversidad de parásitos potencialmente patógenos a peces de importancia comercial y de acuacultura en la región del noroeste del Pacifico, así como los encontrados en los servicios de diagnóstico que se realizan de forma rutinaria en granjas de tilapia, han fomentado la existencia de una colección regional de parásitos en crecimiento. Al menos el 60% de los organismos adultos colectados se encuentran identificados a nivel de especie, y el 87% de los organismos se encuentran debidamente georreferenciados. En la presente colección se registran: Protozoos, 11 especies; Monogenea, 13 especies; Trematoda, 13 géneros de los cuales 11 están identificados hasta especie; Nematoda, 14 géneros; Crustácea, 8 géneros de los cuales 4 están identificados hasta especie y Cestoda 1 orden. La colección cuenta con ejemplares Mexicanos tipo cuyos holotipos se encuentran en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM, Academia de Ciencias de la República Checa y Museo Nacional de Historia Natural, Smithsonian, Washington, D.C., USA. La información está registrada en publicaciones científicas, informes y documentos técnicos inéditos. Con el apoyo de este proyecto se organizó, validó y capturó la información de toda la colección de parásitos en una base de datos para que pueda ser consultada, contribuyendo de esta forma con la información requerida por el Sistema Nacional de Información sobre la Biodiversidad (SNIB).

INTRODUCCIÓN

El establecimiento de colecciones de parásitos permite el conocimiento de la diversidad específica de estos organismos en diferentes especies de peces, localidades y regiones, de sus variaciones estacionales; así como la distribución de parásitos potencialmente patógenas para la acuicultura. En la actualidad la eficiencia en el manejo y operación inherentes a la computarización de colecciones científicas es una necesidad prioritaria. Sus beneficios están dados por mayor facilidad para actualizar la colección, mayor rapidez y accesibilidad de la información a la comunidad; lo que permite incrementrar los intercambios y realizar consultas internacionales.

La costa noroeste del Pacífico mexicano alberga una gran diversidad de peces de importancia económica, tales como los lutjánidos y el pez puffer, *Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1842 conocido regionalmente como botete diana. El establecimiento de la tecnología para la producción masiva de juveniles de botete diana y pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*) ha hecho posible su engorda en jaulas flotantes en Sinaloa y Baja California Sur, entre otros estados de México. Sin embargo, la intensificación de las

prácticas de cultivo puede favorecer la aparición de nuevos parásitos y enfermedades parasitarias. Por otro lado, Sinaloa y Nayarit se encuentran entre los principales estados productores de tilapia en México donde las enfermedades parasitarias son uno de los principales factores de riesgo a considerar. En este escenario, el problema primario a resolver es la identificación precisa del agente causal y la creación de una base de datos computarizada que facilite el conocimiento de la diversidad de parásitos en el área de estudio, entender interacciones en los ecosistemas y conocer patógenos potenciales.

ANTECEDENTES

Como resultado de las investigaciones parasitológicas realizadas durante los años 1998-2010 en el CIAD, A.C. Unidad Mazatlán, se ha creado una colección de parásitos de peces tanto de agua dulce como marinos, silvestres y de cultivo de importancia comercial.

Las regiones en las cuales se obtuvo mayor énfasis para estos estudios fueron: la Bahía de Mazatlán, Sinaloa y Bahía de Banderas, Nayarit. También se integraron los datos de peces marinos y dulceacuícolas que se cultivan en la región. Los parásitos se colectaron, aislaron e identificaron con el apoyo de proyectos SAGARPA-CONACYT y los servicios de diagnóstico realizados en el sector productivo en esta área. Este conocimiento se encuentra en publicaciones científicas, informes, documentos técnicos inéditos y en presentaciones en congresos y simposios; lo cual impide una consulta rápida y efectiva provocando en ocasiones un desconocimiento del material existente.

Como resultado se han colectado e identificado morfológicamente 29 especies de Metazoarios y 11 especies de protozoarios parásitos, de los cuales el 67% se encuentran a nivel específico. Nueve especies de protozoarios son ciliados, una especie es dinoflagelada y la otra es un esporozoario, los cuales se encuentran en preparaciones permanentes montadas en bálsamo de Canadá y etiquetadas. El 82% de los organismos está compuesto por helmintos: los Monogéneos dactylogyridos se conservan en preparaciones semipermanentes en Gray & Wess y/o en alcohol al 70%; los capsálidos y microcotílidos, así como los céstodos y digéneos pre-fijados en formalina al 4% caliente y almacenados en alcohol al 70%, los cuales una vez teñidos se conservan en preparaciones permanentes montadas en bálsamo de Canadá. Los Nemátodos se fijaron en alcohol al 70%, al igual que los crustáceos. La metodología será explicada más adelante en materiales y métodos.

El objetivo principal de este proyecto consistió en la organización, validación y captura de toda la información recopilada para cada ejemplar en una base de datos de acuerdo a los lineamientos de CONABIO para que así, pueda ser consultada,

contribuyendo con la información requerida por el Sistema Nacional de Información sobre la Diversidad (SNIB).

OBJETIVOS

- Revisar y organizar el estado actual de la colección parásitos.
- Validar los ejemplares identificados.
- Capturar la información en una base de datos.

MÉTODOS USADOS

Protozoarios

Se usaron dos técnicas diferentes para la tinción de protozoarios parásitos. 1. Técnica de impregnación argéntica de Klein (para peritricos y otros ciliados aislados de la superficie de la piel y branquias de los peces); 2. Tinción de Giemsa para la observación de núcleos. Una vez seguido el protocolo se montaron en bálsamo de Canadá y se etiquetaron para su identificación morfológica.

Monogéneos

Los ejemplares fueron aislados de sus hospederos, posteriormente se relajaron en una combinación de agua-alcohol caliente a 70°C y finalmente fijados en alcohol al 70% (para identificación morfológica), 96% (para estudios moleculares) y formalina al 4% (para tinciones de estructuras internas). Se emplearon dos técnicas de tinción y dos técnicas de aclaración de tejido para poder observar las estructuras esclerotizadas de los especímenes encontrados.

Técnica de Grey & Wess:

Esta es una técnica que permite la aclaración del tejido que rodea las estructuras esclerotizadas de los monogéneos cuando se encuentran fijados en formalina o en alcohol. La técnica usa como principio el alcohol polivinílico, el ácido láctico y la glicerina para aclarar el tejido que rodea estas estructuras esclerotizadas. Se coloca un ejemplar en un portaobjetos y se coloca una gota del medio, inmediatamente se coloca un cubreobjetos y las preparaciones se introducen en la incubadora/plancha a ± 60°C por 24h, al día siguiente se observa al microscopio, se identifica el ejemplar y se etiqueta (Vidal-Martínez *et al.*, 2001).

Técnica de Digestión por Proteinasa-K:

Esta técnica es usada para la digestión de tejido que rodea las estructuras esclerotizadas de importancia taxonómica de los monogéneos (García-Vásquez *et al.*, 2011; García-Vásquez *et al.*, 2007; Shinn *et al.*, 2004). Los ejemplares fijados en alcohol (únicamente y uno por uno), se colocan en un portaobjetos y se añaden 2.5µl de la solución de digestión, se observa cuidadosamente en el estéreo-microscopio (aproximadamente 2-4 min, este tiempo puede variar dependiendo del grosor del Monogéneo) hasta que la mayoría del tejido que rodea las estructuras en estudio (Ganchos de adhesión y el órgano copulador), se haya digerido casi completamente; la reacción se detiene con 3.5 µl de solución stop (glicerina: formalina 1:1). Cuidadosamente se coloca un cubreobjetos y se sella con esmalte de uñas en los bordes y se observa al microscopio el órgano copulador y los ganchos de adhesión y se etiqueta (nombre del parásito, sitio de muestreo, fecha, hospedero).

Tinción Tricrómica de Gomori y paracarmin de Mayer:

Los ejemplares fijados en alcohol o en formalina fueron teñidos siguiendo el protocolo de Kritsky *et al.* (1978). El ejemplar es colocado en una caja de Petri y se sigue el protocolo, se monta al final en una gota de bálsamo de Canadá y se etiqueta (igual que el anterior).

Nemátodos:

Los ejemplares fueron fijados en formalina al 4% caliente con solución salina (0.7%) en una proporción 1:9. Una vez fijados (2 min) se transfirieron a viales con alcohol al 70%, para fijar mejor la cutícula de los nemátodos. Para estudiar las estructuras internas, los nemátodos fueron aclarados en Lactofenol de Amman y en una mezcla proporcional de alcohol al 96% y glicerina. Se observan al microscopio y se comparan las estructuras de valor taxonómico (Vidal-Martínez *et al.*, 2001).

Estadios larvales de Digéneos:

Para la colección de adultos y estadios larvales (metarcercarias) se hacen de diferente forma. Los estadios larvales deben ser fijados en picrato de amonio (método de fijación rápida) y en formalina caliente al 4%. Para los estadios grandes de metacercaria se recomienda usar formalina caliente al 4%. Después de remover los organismos del tejido del hospedero se lavan en solución salina (0.7-0.9%) colocados en una caja Petri con más solución salina. Se añade formalina caliente al 4% a la caja Petri, luego se transfieren los organismos a un vial con formalina al 4% fría y se trasladan nuevamente a alcohol al 70% después de dos semanas o antes de ser teñidos (Vidal-Martínez *et al.*, 2001). Los medios

de tinción usados son: carmín hidroclórico, tricrómica de Gomoris, hematoxilina de Harris y eosina y luego son montados en bálsamo de Canadá (Vidal-Martínez et al., 2001).

Céstodos y Digéneos adultos:

Los especímenes se fijaron en formalina caliente al 4% (Scholz & Hanzelová, 1998), usando carmín hidroclorhídrico como medio de tinción.

Copépodos:

Los copépodos fueron aislados de su hospedero, y fijados en alcohol al 70% hasta su posterior identificación. Los ejemplares fueron aclarados en una agota de ácido láctico por 2 horas; luego fueron montados en un portaobjetos en una gota de ácido láctico, a continuación se realizaron disecciones de cada uno de los apéndices para su final identificación hasta especie (Morales-Serna, 2010).

RESULTADOS

Los parásitos existentes en el Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, CIAD, A.C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental sirvieron para la creación de la base de datos que aquí se presenta.

La colección existente en el laboratorio de Parasitología del CIAD, A.C. Mazatlán, ha sido revisada en su totalidad. Las preparaciones permanentes y semipermanentes fueron rotuladas nuevamente con la información completa; y los frascos de los ejemplares fijados en alcohol 70%, 96% y formalina 4% fueron rellenados y se rotularon debidamente con el número de cada ejemplar y de la base de datos de BIOTICA.

Los ejemplares pertenecientes a peces de agua dulce y marinos de importancia comercial y acuícola fueron asociados a su dato geográfico, encontrándose especies distribuidas en los estados de Sinaloa, Nayarit y Baja California. Los números de acceso fueron asignados para los 1333 ejemplares de la Colección de Parásitos de Peces del Noroeste del Pacífico (CPPNP) del CIAD, A.C. Unidad Mazatlán, los ejemplares fijados se encuentran en tubos Eppendorf; los ejemplares montados en preparaciones permanentes y semipermanentes se encuentran guardados en bandejas en una caja con llave para su seguridad, debidamente rotulados con su número de catálogo correspondiente a la base de datos de BIOTICA.

En el presente informe se presentan las 36 especies pertenecientes a los grupos Protozoa, Monogenoidea, Digenea, Nematoda y Crustacea que constituyen 1333 registros comprometidos en el convenio (Tabla 1).

Tabla 1. Ejemplares determinados del proyecto CONABIO HC005 pertenecientes a la Colección de Parásitos del Noroeste del Pacífico (CPPNP).

GRUPO	EJEMPLAR	REGISTRO DE EJEMPLAR	TOTAL
Protozoa	Cryptocaryon irritans	2	166
	Apiosoma piscicolum	8	
	Ambiphrya ameiuri	2	
	Ichthyophthirius multifiliis	1	
	Trichodina nigra	3	
	Trichodina centrostrigata	2	
	Trichodina magna	4	
	Trichodina heterodentata	6	
	Amyloodinium ocelatum	107	
	Brooklynella hostilis	21	
	Kudoa dianae	10	
Monogenoidea	Euryhaliotrema perezponcei	36	387
	Euryhaliotrematoides mehen	39	
	Haliotrematoides guttati	34	
	Haliotrematoides plectridium	32	
	Haliotrematoides spinatus	13	
	Gyrodactylus cichlidarum	9	

	Cichlidogyrus sclerosus	20	
	Cichlidogyrus halli	1	
	Metamicrocotyla macracantha	7	
	Microcotyloides incisa	55	
	Heterobothrium ecuadori	83	
	Neobenedenia melleni	46	
	Polymicrocotyle manteri	12	
Digenea	Siphodera vinaledwardsii	39	257
	Parahemiurus merus	4	
	Lecithochirium microstomum	14	
	Stephanosthomum sp.*	8	
	Torticaecum sp.	1	
	Bianium plicitum	35	
	Homalometron longisinosum	8	
	Lintonium vibex	20	
	Phyllodistomum mirandai	12	
	Helicometrina nimia	64	
	Hamacreadium mutabile	21	
	Clinostomum complanatum	3	
	Psettarium tropicum	28	
Nematoda	Capillaria sp.	10	223
	Raphidascaris sp.	1	
	Anisakis sp.	25	

	Hysterothylacium sp.	28	
	Pseudoterranova sp.	71	
	Philometra sp.	7	
	Spinitectus sp.	4	
	Procamallanus sp.	13	
	Dichelyne sp.	2	
	Paracapillaria sp.	8	
	Goezia sp.	10	
	Ascarophis sp.	13	
	Contracaecum sp.	21	
	Huffmanella mexicana	10	
Crustacea	Ergasilus sp.*	54	270
	Caligus sp.*	18	
	Acantholochus zairae	2	
	Pseudocharopinus sp.*	2	
	Caligus serratus	1	
	Lernanthropus sp.*	26	
	Lepeophtheirus simplex	69	
	Pseudochondracanthus diceraus	64	
	Cymothoa exigua	34	
Cestoda	Tetraphyllidea	30	30
Total			1333

^{*}Ejemplares que se encuentran en proceso de identificación hasta especie.

DISCUSIÓN

Para la determinación y validación de las especies, se revisaron los parásitos de la colección (aquellos pertenecientes a los helmintos) con los ejemplares tipo de la Colección Nacional de Helmintos (CNHE) del Instituto de Biología de la UNAM, de este modo los números de acceso de los ejemplares han sido asignados para cada una de las especies. Muchos de los ejemplares pertenecientes a la presente base de datos no incluye su sistema de clasificación debido a que muchos de ellos han cambiado su clasificación en los últimos años (*Kudoa dianae* Dyková, Fajer-Ávila & Fiala, 2002, *Euryhaliotrema perezponcei* García-Vargas, Fajer-Ávila & Lamothe-Argumedo, 2008, *Euryhaliotrema mehen* Soler-Jiménez, García-Gasca & Fajer-Ávila, 2012, *Euryhaliotrema* Kritsky & Boeger, 2002, *Homalometron longisinosum* (Manter, 1937) Cribb & Bray, 1999, *Huffmanella mexicana* Moravec & Fajer-Ávila, 2000, *Acantholocus zairae* Morales-Serna & Gómez, 2010, *Lepeophtheirus simplex* Ho, Gómez & Fajer-Ávila, 2001.

Recientemente Kritsky en su estudio de especies del género *Euryhaliotrema*, *Euryhaliotrematoides* y *Aliatrema* (Kritsky, 2012) hace referencia a los ejemplares colectados en ese estudio y comenta que los ejemplares colectados tienen características de los 3 géneros y que por esta razón no se pueden separar aun en un solo género, que se deben realizar más estudios para poder diferenciar entre estos géneros que él mismo describió con otros colaboradores (Plaisance & Kritsky, 2002). Es por esto, que la especie *Euryhaliotrematoides mehen* (Soler-Jiménez, García-Gasca & Fajer-Ávila, 2012) deberá ser trasladada al género *Euryhaliotrema*, en una futura actualización de la base de datos.

CONCLUSIONES

Se sometieron en total 1333 ejemplares pertenecientes a los grupos de Protozoa, Monogenea, Digenea, Nematoda, Crustacea y Cestoda, colectados en 33 localidades de los estados Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Baja California Sur, en el período comprendido entre los años 1998-2010. Ejemplares de nuevas especies fueron sometidos a la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM (CNHE). Algunos de los ejemplares se encuentran con copias en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología, UNAM (para los helmintos) y en la colección de la Colección de Referencia de Copépodos del Pacífico Mexicano, ICML-UNAM - Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, Unidad Académica Mazatlán ICMyL, Mazatlán, Sinaloa (EMUCOP) (para los copépodos).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

García-Vásquez A., Hansen H., Shinn A.P. 2007. A revised description of *Gyrodactylus cichlidarum* Paperna, 1968 (Gyrodactylidae) from the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus niloticus* (Cichlidae) and its synonymy with *G. niloticus* Cone, Arthur et Bondad-Reantaso, 1995. *Folia Parasitologica* 54: 129–140.

García-Vásquez, A., Hansen, H. Christison, K., Bron, J.E. & Shinn, A.P. 2011. Description of three new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea) parasitizing *Oreochromis niloticus niloticus* (L.) and *O. mossambicus* (Peters) (Cichlidae). *Acta Parasitologica* 56: 20-33.

Kritsky, D.C. 2012. Dactylogyrids (Monogenoidea: Polyonchoinea) parasitizing the gills of snappers (Perciformes: Lutjanidae): Revision of *Euryhaliotrema* with new and previously described species from the Red Sea, Persian Gulf, the eastern and Indo-west Pacific Ocean, and the Gulf of Mexico. *Zoologia* 29: 227–276.

Kritsky, D.C., Leiby, P.D. & Kayton, R.J. 1978. A rapid stain technique for the haptoral bars of *Gyrodactylus* species (Monogenea). *Journal of Parasitology* 64: 172-174.

Lom, J.and Dyková, I. 1992. Protozoan parasites of fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol 26, Elsevier, Netherlands, 315pp.

Morales-Serna, F.N. 2010. Ocurrencia de copépodos parásitos en el botete diana *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1842) en el sistema lagunar Santa María La Reforma, Sinaloa, México. Tesis para optar el título de Doctor en Ciencias. Instituto Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán, Universidad Autónoma de México, Mazatlán, Sinaloa, México.

Shinn A.P., Hansen H., Olstad K., Bachmann L. & Bakke T.A. 2004. The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Monogenea). *Folia Parasitologica* 51: 239–252.

Scholz. T. & Hanzelová, V. 1998. Tapeworms of the genus *Proteocephalus* Weinland, 1858 (Cestoda: Protocephalidae) parasites of fishes in Europe. Academia Praha, 118pp.

Soler-Jiménez LC., García-Gasca A. & Fajer-Ávila E.J, 2012. A new species of *Euryhaliotrematoides* Plaisance & Kritsky, 2004 (Monogenea: Dactylogyridae) from the gills of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner) (Perciformes: Lutjanidae). Systematic Parasitology 82: 113-119.

Vidal-Martínez, V.M., Aguirre-Macedo, L.M., Scholtz, T., González-Solís, D. y Mendoza-Franco, E.F. 2002. Atlas de los helmintos parásitos de México. Instituto Politécnico Nacional, Primera edición, México, 183pp.