



## 1. INTRODUCCIÓN JUSTIFICADA

La pesca industrial a nivel internacional ejerce una presión muy intensa al ecosistema, cada año se extrae del 80 al 90 por ciento de los peces de algunas poblaciones naturales. Al irse agotando los bancos de peces por una tecnología pesquera cada vez más compleja (Radar, LORAN y GPS) se espera que la piscicultura logre compensar el déficit. La cría artificial ha duplicado su producción en los últimos diez años, aumentando en casi 10 millones de toneladas desde 1985, aportando hoy alrededor de un 10 % de las capturas anuales de pescado, que ascienden a unos 100 millones de toneladas. En el mercado hay ahora más peces de agua dulce procedentes de granjas que de pesquerías naturales, la cría de salmones marinos en granjas también rivaliza con su pesca y cerca de la mitad de los camarones que se venden se crían en estanques. En su conjunto, la acuicultura proporciona la quinta parte del pescado consumido (Safina, 1996).

El origen de la piscicultura se remonta a hace más de 2000 años, cuando se criaban carpas en el Oriente; los monjes contribuyeron al cultivo de peces en Europa durante la Edad Media; ya que los requerían para su sustento (Encarta, 2004). La década de 1970 fue testigo del desarrollo de tecnologías para la cría del salmón y la trucha en Noruega y Escocia, al igual que el cultivo de peces marinos en jaulas flotantes en el sureste de Asia, particularmente en Malasia. Esta relativamente nueva industria se desarrolló rápidamente por su fuerte demanda y el alto precio de los peces marinos vivos. Su rápido progreso a través de los setenta y los ochenta fue en parte, debido al exitoso desarrollo tecnológico en el cultivo de la perca gigante, *Lates calcarifer* en Tailandia.

Durante las etapas tempranas del desarrollo de la maricultura, los meros estuarinos *Epinephelus coioides* y el pargo dorado *Lutjanus johni*, fueron los principales peces cultivados en jaulas flotantes. Hoy en día se cultivan además de estas especies de peces, jureles, agujetas y lisas, los cuales son capturados de su



medio natural y confinados en tanques o en criaderos, donde los mantienen hasta que alcanzan la talla comercial (Leong, 1997)

En la actualidad se cultivan en jaulas un gran número de especies de peces de aguas frías o cálidas como los salmónidos, el jurel aleta amarilla, el atún aleta azul, chaparretas (*Sparus sp.*) y el pargo japonés; mientras que otros como el pez rey (*Seriola sp.*), los pargos, percas gigantes y mugílidos se investigan a escala piloto. El éxito de estos cultivos de peces está dado en la reducción de los costos de producción, pero uno de los principales problemas es la dificultad de manejar las enfermedades. Los helmintos parásitos monogéneos tienen un impacto negativo importante; por lo cual la clave prioritaria de la investigación es desarrollar estrategias más eficientes de manejo para controlar las infecciones parasitarias y bajar los costos de producción (Ernst *et al.*, 2002)

En México, la acuicultura es una industria nueva e importante, que se centra a la camaronicultura, por lo cual existe una necesidad real de identificar otras especies que puedan diversificar la producción acuícola, beneficiando a esta industria y a los grupos sociales empleados por ellos.

La piscicultura marina en México se inicia a finales de la década de los 80, cuando se realizan los estudios para la engorda del pámpano (*Trachinotus paitiensis*) en jaulas flotantes en La Paz, Baja California Sur. A continuación se determina la biología temprana de huevos y larvas de ocho especies de peces marinos, y a partir de 1990 comienzan las adaptaciones en cautiverio para el cultivo de *Paralabrax maculatofasciatus*, *Lutjanus argentiventris*, *L. aratus* y *L. peru*. Actualmente, varias instituciones de investigación de todo el país se han sumado al desarrollo de la adecuación de tecnologías para el cultivo de peces marinos como la cabrilla *P. maculatofasciatus*, los pargos *L. argentiventris*, *L. aratus*, *L. peru* y *L. guttatus*, la totoaba *Totoaba macdonaldi*, las corvinas *Cynoscion parvipinnis*, *Atractoscion nobilis* y *Scianops ocellatus*. Otras especies de interés comercial que están siendo objeto de estudio son el róbalo (*Centropomus undecimalis*), el pámpano (*Trachinotus carolinus* y *T. falcatus*), los lenguados



(*Paralichthys californicus* y *P. woolmani*) el pez globo o botete (*Sphoeroides annulatus*), el huachinango (*L. campechanus*) y el mero (*Ephinephelus morio*) (Avilés, 2000). En el Pacífico mexicano habitan especies de pargos con potencial para la acuicultura; tales como *Hoplopagrus guntheri*, *Lutjanus novemfasciatus*, *L. colorado*, *L. griseus*, *L. argentiventris*, *L. aratus*, *L. guttatus* y *L. peru*; sin embargo en el presente están siendo estudiadas las cuatro últimas especies citadas.

El pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*, es objeto de una intensa explotación en México porque constituye una fuente importante de ingresos para las familias de pescadores artesanales que se dedican a la pesca de este recurso como subsistencia, ya que es una especie que se comercializa como pescado de primera clase debido a la excelente calidad de su carne. Los pargos alcanzan precios altos en los mercados de México y Estados Unidos (3 a 9 \$US/Kg), donde tienen una mayor demanda que oferta, por lo cual el pargo lunarejo puede ser considerado con un alto potencial para la acuicultura (FAO, 2000). En Asia y EUA distintas especies de lutjánidos han alcanzado las tallas de comercialización en un periodo de 10-18 meses en jaulas flotantes y estanques (Leong, 1997; Watanabe *et al.*, 2001).

Este pargo rojo del Pacífico, *Lutjanus guttatus*, habita fondos arenosos y fangosos, en aguas costeras o estuarinas; por lo cual es factible cultivarlo en jaulas en esteros o en cultivo en estanques de tierra. Estudios previos demuestran que juveniles silvestres han alcanzado tallas comerciales de 525 g en un año (Gutiérrez y Duran, 1999), por lo tanto es necesario continuar las investigaciones sobre la biología de estas especies en cautiverio para cerrar el ciclo biológico e implementar tecnologías para un cultivo sostenible.

El cultivo de organismos acuáticos se basa en la producción de animales de alta calidad, sanos y con buena apariencia, pero las altas densidades de organismos por unidad de superficie que establecen los sistemas de cultivo intensivo, favorecen la ruptura del equilibrio patógeno-hospedero, trayendo como



consecuencia la aparición de enfermedades infecciosas y parasitarias que ocasionan diversos efectos sobre los peces. Estos varían desde un lento crecimiento con reducción de la tasa de fertilidad sin presentar manifestaciones patológicas, hasta la aparición de severas epizootias, caracterizadas por mortalidades elevadas. Un ejemplo de lo anterior son las helmintiasis, que provocan mermas de gran consideración y que son causa de abatimiento en la producción acuícola mundial (Scholz, 1999).

Otro aspecto a considerar es que una vez que los peces se enferman, se deben aplicar tratamientos terapéuticos; lo cual representa un gasto importante en el cultivo. La industria del jurel cola amarilla, *Seriola lalandi*, cuya producción anual es de 150.000 toneladas está evaluada en \$US 1.2 billones y aunque es rentable sus costos de producción son muy elevados, contribuyendo a estos altos precios en gran medida al monogeneo *Benedenia seriolae*, el cual es responsable del 22 % del costo de la producción total (Ernst *et al.*, 2002)

Los monogeneos parasitan tantos peces marinos como de aguas continentales, ocasionando cuantiosas pérdidas económicas en los sistemas de producción piscícola de diferentes partes del mundo. Los peces afectados presentan retardo en el crecimiento, disminución de peso y una marcada reducción de la tasa de fertilidad, lo que provoca un descenso general en los volúmenes de producción, poniendo en riesgo la rentabilidad económica del cultivo (Flores y Flores, 2003). Los monogeneos de la familia Dactylogyridae parasitan a muchos peces cultivados que se encuentran en cautiverio dando lugar a altas infestaciones en los tejidos branquiales con daños patológicos severos que impiden el intercambio respiratorio y causan mortalidades bajo condiciones de cultivo. Los peces con altas infecciones frecuentemente manifiestan exoftalmia, septicemia bacteriana, epitelocistis y afectaciones hepáticas (Kritsky y Stephens, 2001).

Entre los monogeneos branquiales, el género *Haliotrema* es común en peces marinos, los órganos de adhesión de este parásito y su alimentación a base de mucus, epitelio y sangre, provocan desgarramiento del aparato branquial, áreas



necrosadas y ruptura de tejidos, lo cual conlleva a una hiperplasia epitelial de las lamelas branquiales, observándose los peces pálidos, débiles, con incremento de la frecuencia respiratoria y opérculos entreabiertos. Los peces severamente afectados mueren por asfixia como resultado de la patología branquial y la interferencia en el intercambio de oxígeno; igualmente al haber heridas sangrantes en tegumento y branquias, éstas sirven como puerta de entrada a diferentes protozoarios y bacterias patógenas de muy difícil control (Stephens *et al.*, 2003).

En el pargo dorado, *Lutjanus johni*, los monogeneos *Haliotrema johni* y *Haliotrema sp.*, han ocasionado enfermedades frecuentes en los corrales de cultivo en Penang-Malasia; lo cual dió lugar al desarrollo de investigaciones dirigidas a la evaluación de tratamientos contra estos parásitos en forma de baños cortos con buenos resultados (Liang y Leong, 1992).

Para el control de monogeneos se han probado muchas sustancias tales como: el verde malaquita, dipterex, agua dulce, formalina, praziquantel, tricloroformo, toltrazuril, betadina, permanganato de potasio, neguvon y Fenoxyetanol (Stoskopf, 1993); las cuales actúan de manera diferente, con una eficacia variable entre especies y en rentabilidad para el cultivador.

La prevención es el método más económico de controlar los riesgos y efectos que pueden originar estos parásitos; mediante la cual se elimina el parásito adulto y se interrumpe su ciclo biológico, impidiendo la eclosión de los huevos que quedan en el agua y en los tanques para que no se puedan desarrollar futuras generaciones de parásitos. Un aspecto importante a considerar es seleccionar el tratamiento más efectivo y cuyos costos sean bajos. No existe información sobre antiparasitarios específicos para erradicar las especies de ancirocefalinos que parasitan al pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*, por lo que la evaluación de la eficacia de diferentes medicamentos permitirá desarrollar protocolos para la prevención y terapia basados en criterios económicos que logren su implementación en el cultivo del pargo lunarejo.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Características de los monogeneos de la subfamilia Ancyrocephalinae

Ubicación taxonómica según Bychowsky (1957):

PHYLUM: Plathelminthos

CLASE: Monogenea

SUBCLASE: Monopisthocotylea

ORDEN: Dactylogyroidea

FAMILIA: Dactylogyroidae

SUBFAMILIA: Ancyrocephalinae (Bychowsky, 1937)

La subfamilia Ancyrocephalinae posee un cuerpo libre de escamas o espinas. Haptor posterior con 2 pares de hamuli y un número de ganchos marginales, sin placas accesorias. Ojos presentes o ausentes. Intestino bifurcado sin divertículos. Testis intercecales, usualmente postecuatorial. Vasos deferentes pasando alrededor de la rama intestinal o no. Vesícula seminal, cuando esta presente, formada por dilatación de los vasos deferentes o una terminación carnosa de los vasos deferentes. Complejo prostático presente. Cirrus tubulares presentes o no, con o sin una pieza accesorio. Poro genital postbifurcado. Ovario anterior a los testis o sobrelapándolos. Receptáculo seminal usualmente presente. Vagina presente o ausente. Vitelaria relacionada con el intestino. Parásitos de peces marinos y continentales (Yamagutí, 1963).

La mayoría de especies de monogeneos son altamente específicos al hospedero y muestran preferencia por lugares específicos en el cuerpo del pez. Los dactylogiridos son ovíparos, poseen un ciclo de vida relativamente simple y directo, sin metamorfosis, parasitan las branquias del pargo, que son los sitios más accesibles para las larvas. Producen huevos que son liberados en el agua, los cuales liberan un oncomiracidio ciliado. Esta larva libre-nadadora localiza e infecta un hospedero donde se completa la maduración (Fig. 1).

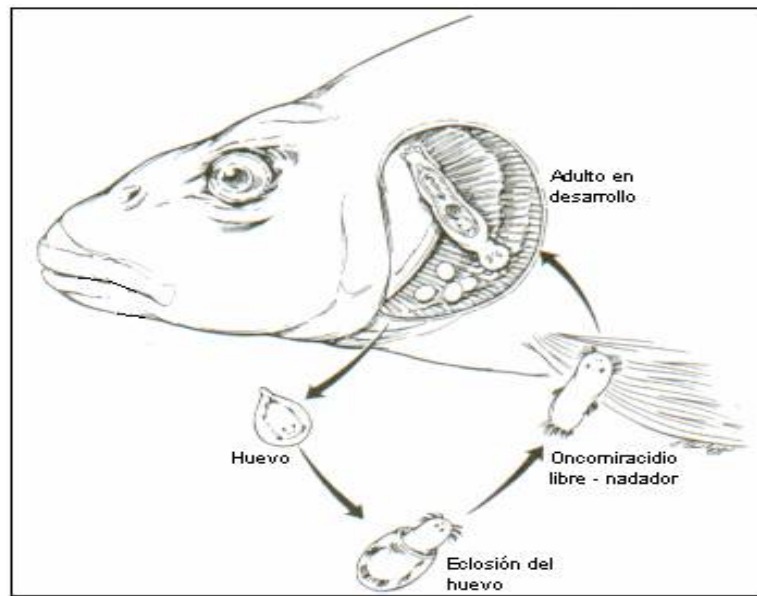


Figura 1. Ciclo de vida de la familia Dactylogyridae (Tomado y modificado Stoskopf, 1993).

## 2.2. Sustancias y medicamentos empleados en el control de monogéneos.

Varias sustancias han sido usadas en las estaciones de cultivo de peces para prevenir, controlar o tratar enfermedades infecciosas desde los años 50, luego se utilizaron los desinfectantes y esterilizantes para eliminar los patógenos (Bell, 1977). Muchos de estos químicos han sido altamente tóxicos para los peces y otros tienen un reducido margen terapéutico; por lo cual es importante determinar la eficacia de los potenciales tratamientos antes de usarlos a escala comercial (Sharp *et al.*, 2004).

En 1980 Willomitzer evaluó baños de corta y larga duración de permanganato de potasio, formalina y agua salada, contra ectoparásitos de los géneros *Chilodonella*, *Trichodinella* y *Dactylogyrus* en la carpa *Ctenopharyngodon idella*, y observó que la formalina a 0,4 ml/l fue 100% efectiva; pero ocasionó una mortalidad del 23% en los peces tratados; mientras que el permanganato de potasio 1ml/l y el agua salada fueron poco efectivos.



Post (1987) mencionó el empleo del hipoclorito de sodio a 10 mg/l durante 30 minutos como un medio desinfectante para cepillos, redes, escobas, equipos, tanques y todos los utensilios que se usan para manejar los peces. Igualmente nombra algunos medicamentos para tratar los peces como baños en verde malaquita y ácido acético como bactericida y parasiticida.

Kaneko *et al.* (1988) describieron la infección de la tilapia *Oreochromis mossambicus* por el monogeneo marino *Neobenedenia melleni*, la cual ocasionó efectos patológicos severos a los peces, que provocaron la muerte. En este estudio se evaluó un tratamiento con agua dulce de 2-5 minutos contra *N. melleni* con un porcentaje de efecto del 100%.

Svendsen y Haug (1991) realizaron tratamientos experimentales contra el monogeneo ectoparásito *Entobdella hippoglossi* tanto en adultos como en huevos; removiéndolos de la piel del pez *Hippoglossus hippoglossus*, al exponerlos a formalina, benzocaina y agua a diferentes salinidades, los adultos murieron por la hipersalinidad y el agua dulce; y el tratamiento más efectivo en la eliminación de huevos fue utilizar agua dulce caliente (50 °C) por cinco minutos o fría por dos horas.

Liang y Leong (1992) evaluaron la efectividad de la formalina, verde malaquita, dipterex y agua dulce, en el control de dos especies del monogeneo *Haliotrema* parasitando el pargo dorado *Lutjanus johni* infectado naturalmente, confirmando así su efectividad en la remoción de los parásitos de las branquias altamente infectadas. El agua dulce redujo significativamente el número de *Haliotrema sp* en un 91% y la formalina a 300 ppm en un 78%.

Mueller y Watanabe en 1994 encontraron al monogeneo *Neobenedenia melleni* en 8 especies de peces en las Bahamas, representados en las familias Lutjanidae, Serranidae y Haemulidae, con signos clínicos de enfermedad; tales como anorexia, letargia, ojos opacos, decoloración y una producción excesiva de mucus.





Ellos también evaluaron los baños cortos de agua dulce (2-5 min), los cuales fueron muy efectivos en el control de adultos de este parásito; así como los tratamientos de larga duración hiposalinos ( $\leq 15\text{‰}$  por 6 días); sin embargo estos últimos resultaron muy estresantes para especies estenohalinas pero muy efectivos para eurihalinas.

Leong (1997) realizó una revisión de los parásitos que afectaron los peces marinos que son cultivados en Asia como *Lates calcifer*, *Epinephelus coioides*, *Chanos chanos*, *Lutjanus johni*, etc. Los resultados indicaron que los protozoos, bacterias y monogeneos, son los principales causantes de muerte, y refieren que baños de formalina, agua dulce, furanace, verde malaquita y dipterex; entre otros son útiles para su control.

Tonguthai en 1997 relacionó los parásitos que generalmente se encuentran en estanques y en acuarios como: los protozoos, monogeneos y crustáceos; enumera las posibles medidas de control como: la remoción manual, limpiadores tópicos, prácticas de manejo, nutrición, vacunación en el caso de enfermedades bacteriales, quimioprofilaxis, quimioterapia etc...

Otros autores como Pironet y Jones (2000) trataron en la perca perla *Glaucoma hebraicum* infecciones fungales, bacterianas y parasitarias con betadina, formalina, agua dulce, verde malaquita, oxytetraciclina, 2- fenoxietanol, permanganato y tricloroformo (neguvon), observando una reducción de los parásitos *Haliotrema sp* y monogeneos axínidos con los baños de agua dulce y la combinación de agua dulce y 2-fenoxietanol por 1.5 horas.

Kim y Cho en el 2000, probaron la eficacia del praziquantel en baños, vía oral y combinando los dos métodos, contra el monogeneo suctor de sangre *Microcotyle sebastis* en cajas experimentales, simulando las condiciones de cultivo; detectando una reducción significativa de los parásitos utilizando ambos métodos.



En el 2000 Hirazawa y colaboradores, llevaron a cabo experimentos *in vitro* y por administración oral de agentes naturales (aceite de naranja, canela, hierbabuena y ácido caprílico), igualmente con las drogas (praziquantel, levamisol, pamoato de pirantel y sodio antimónico) para combatir el monogeneo *Heterobothrium okamotoi* en el pez globo tigre *Takifugu rubripes*, dando como resultado que el praziquantel y el ácido caprílico tanto en los experimentos *in vitro* como por vía oral disminuyeron significativamente los parásitos de las branquias respecto al grupo control. Posteriormente Hirazawa *et al.* (2001a) evaluaron experimentalmente el efecto del ácido caprílico sobre *H. okamotoi*, administrando oralmente a distintas temperaturas y detectaron que la dosis más efectiva a 15° C y 20° C fue 50 mg y 100 mg/kg peso cuerpo/día respectivamente.

Hirazawa y colaboradores en el 2001b vuelven a retomar el ácido caprílico, pero en esta ocasión lo evalúan contra los protozoarios ciliados *Cryptocaryon irritans*, monogeneos *Benedenia seriolae*, copépodos *Pseudocaligus fugu* y los myxosporidos *Kudoa schiomitsui*, reiterando la eficacia del ácido caprílico en monogeneos.

Contreras (2001) evaluó el efecto de la hierbabuena y la formalina en el control de monogeneos del botete diana o pez globo *Sphoeroides annulatus*, detectando un buen efecto antihelmíntico con la hierbabuena.

Cecchini y Cognetti en 2002 probaron la efectividad de diferentes tratamientos con formalina, neguvon y la desecación, en el control del desarrollo de embriones y larvas eclosionadas de *Diplectanum aequans* (monogenea), observando que estos dos últimos no reducen los porcentajes de larvas eclosionadas, ni incrementan el porcentaje de larvas abortadas o embriones sin desarrollar. En cambio la formalina a 300 µl/l redujo significativamente la eclosión de las larvas e incrementó al mismo tiempo el porcentaje de las larvas abortadas y embriones sin desarrollar.



Fajer *et al.* (2003) determinaron la curva de toxicidad de la formalina en juveniles del pez globo *Sphoeroides annulatus* y la concentración letal media contra el monogeneo *Heterobothrium ecuadori* a distintos periodos de tiempo, donde se destaca que 0,17 ml/l por 1 hora provocó un 50 % de reducción de estos monogeneos con un margen terapéutico de 11.

Los experimentos *in vivo* para la determinación de la eficacia del tricloroformo, praziquantel, formalina, toltrazuril y los baños de agua dulce, basados en el número de parásitos (*Haliotrema abaddon*) desprendidos por estos compuestos y encontrados en el fondo del recipiente empleado para la experimentación y en la examinación de las branquias de la perca perla *Glaucosoma hebraicum* mostraron, que los baños de praziquantel a 2 mg/l por 30 horas alcanzan los valores de eficacia más altos (Stephens *et al.*, 2003).

En el 2003 Flores y Flores, llevaron a cabo un estudio recapitulativo de los monogeneos parásitos de peces en México, en donde se encuentra información relativa a su epidemiología, impacto económico, abundancia y distribución. Por otra parte, estos autores describieron los signos que le ocasionan al hospedero estos parásitos, los factores que favorecen su desarrollo, así como la forma de prevenirlos y la metodología que se debe emplear en su tratamiento y control, utilizando formalina, verde malaquita, cloruro de sodio, permanganato de potasio y tricloroformo.

Onaka y colaboradores (2003) evaluaron la eficacia de los baños cortos con sulfóxido de albendazol y praziquantel contra el monogeneo *Anacanthorus penilabiatus*, parásito branquial del pacu *Piaractus mesopotamicus* a concentraciones de 500, 200, 100 y 50 mg/l, en tiempos de 2, 4, 7 y 14 minutos respectivamente. El praziquantel causó toxicidad y el albendazol no presentó efectos tóxicos, pero su eficacia antiparasitaria fue baja, 32% para 500 mg/l.



Hirazawa *et al.* (2003) investigaron el efecto de varios tratamientos contra los huevos de *Heterobothrium okamotoi* y sus oncomiracidios, detectando la mayor eficacia en el cloro a 60 y 120 ppm por 24 horas, el agua caliente 40 °C y la desecación por 1 hora, todo esto con el fin de prevenir la infección horizontal con estos parásitos por el uso de equipos, tanques y el agua en la que estaban los peces infectados.

En el 2004 Grano, utilizó pastillas de Drontal; las cuales poseen 50 mg de praziquantel como ingrediente activo, para desparasitar al botete diana de adultos y fases larvarias del monogeneo *Heterobothrium ecuadori*, tratando de alcanzar un 100% de eficacia, para reinfectar al hospedero con oncomiracidios y detectar su desarrollo hasta la fase adulta. Este tratamiento aplicado durante 15 minutos tuvo una efectividad del 100%.

Sharp y colaboradores (2004) expusieron al pez rey *Seriola lalandi lalandi* a baños de Aqui-S (aceite a base de clavo), formalina y praziquantel contra dos monogeneos adultos *Benedenia seriolae* y *Zeuxapta seriolae*, y los mismos medicamentos mas la desecación para sus huevos, resultando efectivo el praziquantel 2.5 ppm y la formalina 400 ppm para ambas especies de parásitos adultos. La desecación durante 3 y 5 horas ocasionó una menor viabilidad sobre la eclosión de los huevos de *B. seriolae* mientras que la formalina tuvo el mejor efecto sobre *Z. seriolae*.

### 2.3. Métodos terapéuticos

Antes de iniciar cualquier tratamiento terapéutico o profiláctico es necesario hacer un análisis de la situación para determinar las posibles causas que están originando la enfermedad, con el fin de decidir cuál va ser el tratamiento, o aplicar los correctivos necesarios. Para ello se requiere conocer:

- El diagnóstico de la enfermedad o del patógeno que está afectando la población.
- La especie, el estado de salud y la edad del pez



- La calidad y cantidad de agua que se va a usar para el tratamiento.
- Las características de la droga o sustancia a usar y sus aspectos económicos.

Para el control de ectoparásitos como los monogeneos se emplean sustancias de acción externa, capaces de ocasionar la muerte del parásito adulto, estadios infectivos y/o la interrupción de la eclosión del huevo por lisis o toxicidad. Las formas de aplicación de la terapia externa en peces se explica mediante la adición de la sustancia al agua en forma de baños cortos o largos.

*Baño corto:* Una vez determinada la cantidad de químico o sustancia, de acuerdo a la concentración a emplear, ésta es añadida directamente al tanque con la precaución de distribuirlo homogéneamente; suministrando aeración durante el tratamiento. Después que transcurre una hora, el agua del tanque es renovada rápidamente. Se debe tener especial cuidado en observar el comportamiento de los peces durante el tratamiento, porque se puede presentar disminución del contenido de oxígeno, y en tal caso se debe renovar el agua.

*Baño largo o indefinido:* Este método se emplea agregando directamente al tanque bajas concentraciones de la droga, la cual se distribuye homogéneamente y se aplica aeración. Con el fin de disminuir costos en el tratamiento es necesario bajar el nivel del agua, pero ésta debe encontrarse en las condiciones de calidad y volumen adecuado para la vida de los peces. Este tipo de tratamiento se caracteriza por una acción más prolongada del medicamento. Se debe considerar que el exceso de materia orgánica reducirá la eficacia del mismo (Vásquez *et al.*, 2001).



## 2.4. Ubicación taxonómica y características del hospedero

Ubicación según Nelson (1984):

PHYLUM: Chordata

SUPERCLASE: Gnathostomata

CLASE: Osteichthyes

SUBCLASE: Actinopterygii

INFRACLASE: Neopterygii

SUBDIVISION: Teleostei

INFRADIVISION: Euteleostei

SUPERORDEN: Acanthopterygii

ORDEN: Perciformes

SUBORDEN: Percoide

FAMILIA: Lutjanidae

GENERO: *Lutjanus* (Bloch, 1790)

ESPECIE: *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869)

Pargo Lunarejo.

Esta especie presenta como diagnóstico, un cuerpo color carmesí pálido, a menudo con unas filas horizontales de brillo plateado y puntos azulados a los costados. La cabeza con puntos azulados especialmente en las mejillas. Una mancha grande, redonda negra lateral, tan grande como el ojo sobre la línea lateral; un hocico amarillo; las aletas son pálidas; el vientre amarillo dorado; amarillo en las inmediaciones del ojo; la dorsal es rojiza con marcas rojizas cafés; la caudal es muy roja, las aletas inferiores doradas, la pectoral casi sin color, los lados de la cabeza rosas con puntuaciones doradas (Fig. 2).

Se distribuye en el Pacífico Este desde México hasta Perú, asociado al arrecife, salobre y marino, rango de profundidad 30 m.

Alcanza una talla máxima de 80 cm de longitud total y un peso máximo de 1.310 gr.



Esta especie en México es comúnmente llamada pargo lunarejo, chivato o flamenco. Habita fondos exclusivamente duros en áreas costeras del filón. Generalmente solitario en grupos pequeños, pero puede formar de vez en cuando cardúmenes grandes. Los juveniles habitan los estuarios y las bocas de los ríos. Carnívoro, se alimenta de invertebrados y peces. Se reproduce todo el año con dos periodos importantes: Febrero-Abril y Julio-Noviembre (www.fishbase.org, 2004; Espino *et al.*, 2003)



Figura 2. Pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Tomado www.fishbase.org, 2004).



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in vitro* e *in vivo* el efecto de desinfectantes y terapéuticos sobre la viabilidad de los huevos y la efectividad de adultos de los monogéneos ancirocefalinos que parasitan las branquias del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*; y el costo-beneficio de su empleo en forma de baños.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar genéricamente los monogéneos ancirocefalinos del pargo lunarejo y determinar algunos aspectos del ciclo de vida del género *Haliotrema sp.*
- Reinfestar los juveniles de pargo lunarejo con larvas infectivas de estos monogéneos obtenidas en el laboratorio.
- Estimar “*in vitro*” el efecto del agua dulce y la formalina sobre la viabilidad de los huevos de los ancirocefalinos.
- Comprobar “*in vitro*” la eficacia del cloro, la desecación y la formalina como desinfectantes sobre la eclosión de los huevos de estos monogéneos branquiales.
- Evaluar “*in vitro*” el efecto del agua dulce, la formalina y el ácido caprílico sobre la reducción del número de ancirocefalinos adultos presentes en los filamentos branquiales del pargo lunarejo naturalmente infectado.





- Determinar “*in vivo*” el efecto antihelmíntico de los compuestos que alcancen los mayores porcentajes “*in vitro*” sobre juveniles de pargos lunarejos re-infectados con monogeneos ancirocefalinos.
  
- Calcular el costo-beneficio de los tratamientos efectivos en forma de baños, en el control de estos monogeneos ancirocefalinos.



#### 4. AREA DE ESTUDIO

Los juveniles de pargo lunarejo que se utilizaron para evaluar los tratamientos se capturaron con vara y anzuelo por los pescadores de Playa Norte dentro de la Bahía de Mazatlán. Esta bahía se localiza geográficamente entre 23° 15' latitud Norte, 106° 25' longitud Oeste y los 23° 10' latitud Norte, 106° 30' longitud Oeste, a 38 Km. al sur del trópico de Cáncer, por lo cual se considera zona subtropical. Tiene aproximadamente 13.5 km. de línea de costa y está limitada al oeste por la isobata de los 15 m (Fig. 3). Se encuentra en una zona urbana; la cual tiene una gran actividad turística y portuaria desde hace muchos años. El clima de la región está clasificado como de tipo A (w), cálido subhúmedo con lluvias en verano (el más seco de los subhúmedos), con vientos predominantes del noroeste en el invierno y del suroeste en el verano, con precipitación pluvial media anual de 887.9 mm y una temperatura ambiente media anual de 25° C. Además, en época de lluvias se ve expuesta esta región a tormentas tropicales, huracanes y ciclones, acompañada de los fuertes vientos característicos. La temperatura media superficial del agua en la Bahía de Mazatlán es de 25.5° C, la temperatura máxima registrada es de 32.2 °C y la mínima de 14.4 °C. La salinidad media superficial es de 34.9 ‰ y un mínimo de 5.8 ‰ (Alonso, 1998 En: Piñón, 2003).

Algunos de los rasgos de esta área son una serie de promontorios rocosos que originan bahías protegidas del oleaje oceánico, entre las cuales se encuentra la Bahía de Cerritos, en Mazatlán. En este litoral se localizan las Islas Pájaros, Venados, Lobos, Hermanos y Chivos (Pérez, 1995 En: Piñón, 2003).

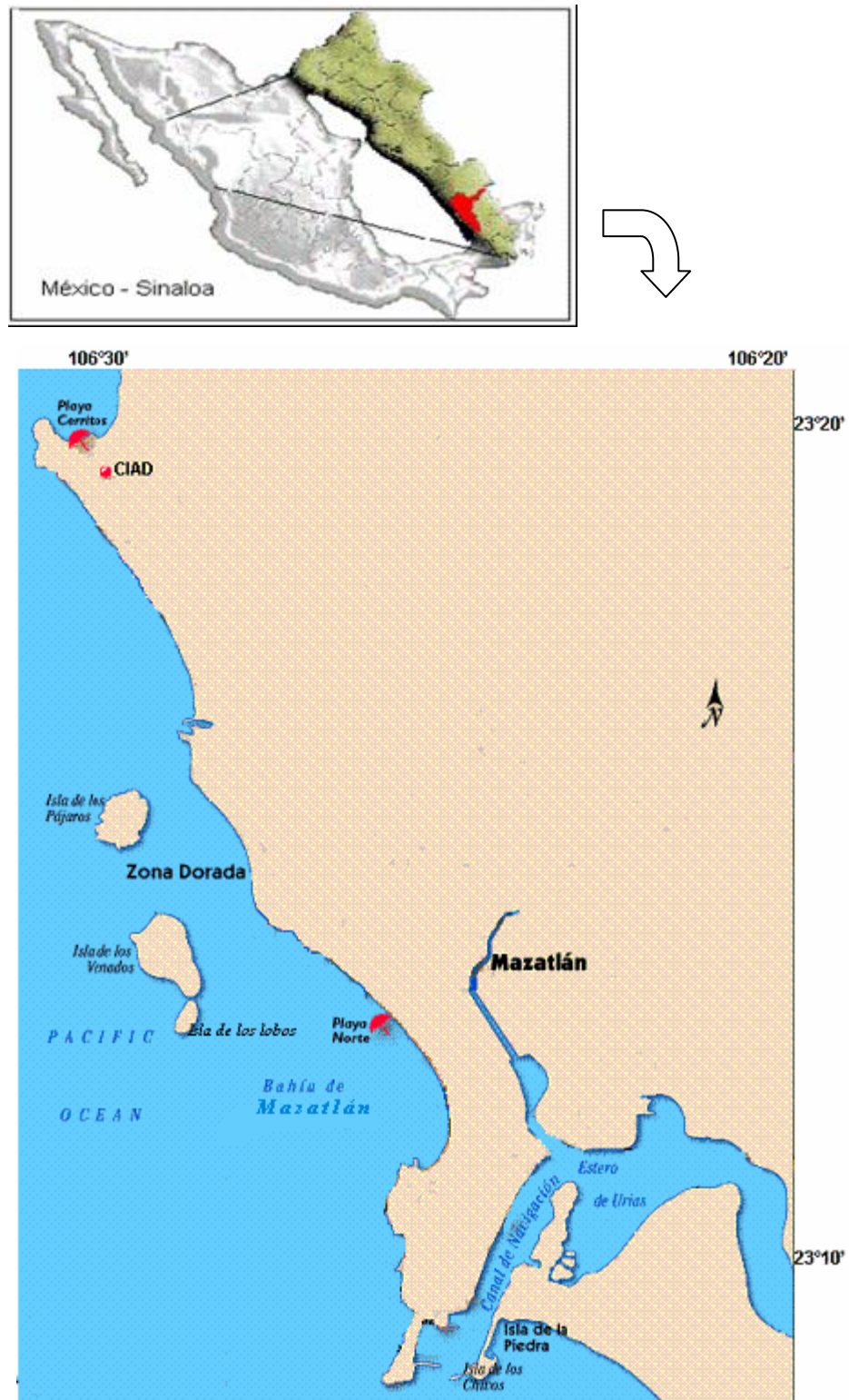


Figura 3. Área de estudio correspondiente a la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México (Tomado y modificado <http://209.15.138.224/inmomex/mazatlancity.htm>).



## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Fase de campo

Durante el periodo Abril – Junio del 2004 se capturaron con vara y anzuelo por los pescadores de Playa Norte, Mazatlán- Sinaloa, México, 150 juveniles de pargos lunarejos, *Lutjanus guttatus*, con una longitud promedio total de  $19,82 \pm 1,31$  cm. Los peces se colocaron vivos en tanques de transportación de Rotoplas de una capacidad máxima de 450 l, previamente llenos con agua de mar del sitio de pesca con oxigenación constante y se trasladaron al Área de Bioensayos del Laboratorio de Parasitología del Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo, CIAD, A.C., cuyo tiempo de traslado fue de 45 minutos. Una vez en el área de bioensayos, se colocaron en tanques de fibra de vidrio negros de 600 l, con suministro de agua de mar, la cual se realiza por bombeo directo de la playa utilizando una bomba Jacuzzi de 3 hp, localizada en la estación de bombeo del CIAD y ubicada en Playa Cerritos. El agua bombeada hacia las instalaciones, es almacenada en los tanques de recepción con capacidad de 40,000 litros cada uno, filtrada por arena y piedra, y luego distribuida por tubería de PVC a las diferentes instalaciones de cultivo. En el tubo de suministro de agua se colocó un filtro de malla de 50  $\mu$ m para evitar la entrada de huevos de otros monogeneos.

A continuación se les colocó aireación a los peces, utilizando un blower compresor de 5 hp (Fuji Electric Co, USA), y recirculación constante de agua, esto con el fin de aclimatar a los individuos con las condiciones adecuadas. Se introdujeron 30 peces por tanque y se les alimentó diariamente con una dieta balanceada de pescado, hígado de res y calamar.



## 5.2. Fase de laboratorio

### 5.2.1. Determinación del grado de parasitación por monogeeos ancirocefalinos.

Se sedaron los peces con una solución de 2-fenoxyetanol (Sigma®, USA) en agua de mar a una concentración de 0,3 ml/l, cuando los pargos perdieron su flotabilidad (2-3 minutos) se sacaron y se les realizó una biopsia en el segundo arco branquial, con ayuda de unas tijeras de acero y pinzas de apoyo, extrayéndoles 10 filamentos branquiales, los cuales se colocaron en un portaobjetos con una gota de agua de mar con el fin de mantener húmedos y vivos por más tiempo a los parásitos.

Estos filamentos branquiales se observaron al estéreomicroscopio (LEICA MZ 9.5) a un aumento de 25 X, para determinar el grado de infección que tenían los peces, de acuerdo al criterio de Stephens *et al.* (2003): alto más de 10 monogeeos / filamento branquial y moderado 2-10 monogeeos / filamento branquial.

Los pargos presentaron un grado de parasitación bajo (< 2 monogeeos / 10 filamentos branquiales), por lo cual se retornaron a un tanque de 600 l, y se infectaron experimentalmente con larvas infectivas de monogeeos ancirocefalinos como se describe a continuación.

### 5.2.2. Método de colecta de huevos y obtención de oncomiracidios.

Se emplearon dos métodos para obtener los huevos de ancirocefalinos de los pargos lunarejos vivos infectados naturalmente y ubicados en los tanques experimentales del área de bioensayos.

#### 5.2.2.1. Metodo de las mallas.

Se utilizó el método propuesto por Whittington (2002) para colectar huevos de monogeeos; el cual consistió en suspender una pequeña red de 20 x 10 cm, con una luz de malla de 250  $\mu$ m, la cual se sujetó a la entrada del agua de mar, para que estuviera en suspensión y se le colocaron algunas rocas en la parte inferior para que permaneciera recta (Fig. 11). El principio de este método se basa en que los huevos de monogeeos se adhieran a la red mediante su filamento.



#### **5.2.2.2. Método de los hilos colectores y obtención de oncomiracidios (Grano, 2004).**

Se amarraron hilos de nylon de 10 cm de longitud al extremo de la piedra difusora de aire de cada tanque en el área de bioensayos. A las 24 horas se extrajeron los hilos de los tanques, se colocaron en cajas Petri de 70 mm de diámetro con agua de mar esterilizada, y se observaron al estéreomicroscopio a un aumento de 25 X para confirmar la existencia de huevos del monogeneo objeto de estudio. Los huevos colectados se incubaron con un fotoperíodo de 13 horas de iluminación y 11 horas de oscuridad diarias a una temperatura de laboratorio de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ . Todos los días se observaron las cajas Petri bajo el estéreomicroscopio buscando la presencia de oncomiracidios libres, los cuales tienen la capacidad de nadar. En donde se observó oncomiracidios, se retiró el hilo, el cual se colocó en otra caja Petri con agua de mar limpia y esterilizada, y las larvas se mantuvieron en la caja de origen.

#### **5.2.3. Infestación de los peces de los tanques**

Se probaron dos métodos con el fin aumentar el número de monogeneos hasta un grado moderado de parasitación en los tanques experimentales:

##### **5.2.3.1. Autoinfección de los pargos.**

Se colocaron 30 juveniles de pargo lunarejo, con un grado de infestación bajo, en un tanque de fibra de vidrio de 600 litros con circulación de agua de mar y aireación. Este tanque se ubicó bajo el sol durante 20 días, con el objetivo de que un incremento de la temperatura del agua favoreciera la infestación por estos monogeneos. Se corroboró el incremento en el número de huevos, por el método de los hilos colectores.

##### **5.2.3.2. Infección experimental con monogeneos ancirocefalinos.**

El agua de las cajas Petri con aproximadamente 100 oncomiracidios obtenidos por el método de los hilos colectores (5.2.2.2) se vertió diariamente en cada uno de los cinco tanques que tenían los 30 juveniles de pargos lunarejos en cautiverio para



ser infectados. Para facilitar la infección se cerró la circulación de agua por un tiempo de 8 horas, este proceso se repitió diariamente por un mes hasta que en la siguiente biopsia se observara el grado de infestación deseado.

#### **5.2.4. Determinación de algunos aspectos del ciclo de vida del monogeneo *Haliotrema sp.***

Se sedó un pargo juvenil con una solución de 2-fenoxyetanol (Sigma®, USA) en agua de mar a una concentración de 0,75 ml/l durante 2 minutos, se disectaron los arcos branquiales con ayuda de unas tijeras de acero y pinzas de apoyo, estos se colocaron en una caja Petri con unas gotas de agua de mar; y se observaron al estéreomicroscopio a 60 X en busca de *Haliotrema sp* sexualmente maduros. A continuación se seleccionaron aquellos organismos que poseían huevos completamente formados listos para ser ovopositados.

Los huevos recién ovopositados, se retiraron del filamento branquial con ayuda de una aguja entomológica y se colocaron en portaobjetos escavados con unas gotas de agua de mar esterilizadas a 35 ‰; se cubrieron con cubreobjetos y se introdujeron dentro de una caja Petri de 70 mm de diámetro con 2 ml de agua de mar, incubándose a temperatura del laboratorio ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Diariamente se cambiaba el agua de mar de la caja Petri y se observaba en un microscopio compuesto LEICA DMLB 10 a 400 X hasta su eclosión. Se describió la morfología y la morfometría de los huevos y de la larva oncomiracidio. Se realizaron dibujos bajo el microscopio compuesto, equipado con una cámara clara a los aumentos de 600 X (adultos) y 1000 X (huevos y oncomiracidios).

#### **5.2.5. Evaluación *in vitro* del agua dulce y la formalina en la eclosión de los huevos de monogeneos anicrocefalinos.**

Los hilos colectores con huevos se colocaron en cajas Petri con agua de mar a 35 ‰ esterilizada; con la ayuda de agujas de disección y tijeras bajo el estéreomicroscopio a 60 X se cortó un fragmento de hilo con 10 huevos ó se seleccionó una muestra de 10 huevos embrionados con los ocelos visibles, atados entre si por sus filamentos, evitando manipularlos por largo tiempo. Estos huevos



se colocaron en cajas Petri de 35 mm de diámetro etiquetadas e incubadas a temperatura del laboratorio ( $24 \pm 1$  °C); a cada una de las cuales se les adicionó 5 ml de agua dulce, formalina (0,17 ml/l) o agua marina como control, respectivamente. Estos huevos se observaron diariamente al estéreomicroscopio durante 4 días para determinar el porcentaje de eclosión en cada tratamiento mediante el conteo del número de cápsulas vacías de los huevos eclosionados cada 24 horas. Diariamente se les cambiaba el agua de mar, agua dulce y la formalina de las cajas por medio de una pipeta Pasteur, teniendo cuidado de no succionar los huevos o cápsulas vacías. Se realizaron cinco réplicas y cinco controles por cada sustancia (Cecchini y Cognetti, 2002).

#### **5.2.6. Evaluación *in vitro* del hipoclorito de sodio, la formalina, el agua dulce y la desecación de los huevos de monogeneos ancirocefalinos como desinfectante.**

Siguiendo el procedimiento anteriormente descrito se colocaron varios hilos de nylon con huevos en cajas Petri de 70 mm de diámetro con agua de mar filtrada y se mantuvieron en el laboratorio durante tres días a una temperatura de  $24 \pm 1$ °C cambiándoles el agua diariamente, hasta observar, con ayuda del estéreomicroscopio a 40 X, que la mayoría de los huevos presentaban los ocelos. A continuación, auxiliado con agujas entomológicas y unas tijeras de punta fina, se cortó un hilo con 10 huevos que presentaran los cuatro ocelos bien visibles y se colocaron en cajas Petri de 35 mm con 5 ml de cada solución a evaluar (Tabla 1). En el caso de la desecación, los huevos se dejaron en el fondo de la caja Petri limpia y seca; después de 3 horas se extrajeron y se trasladaron a una caja Petri con 5 ml de agua de mar, se observaron por 3 días, cambiando el agua de mar con ayuda de una pipeta Pasteur diariamente; y a las 72 horas se contó el número de huevos eclosionados. Se realizaron 3 réplicas para cada tratamiento con su respectivo control.





Tabla # 1. Concentraciones de las sustancias evaluadas *in vitro* sobre la eclosión de huevos de monogeneos ancirocefalinos.

Sustancia	Concentraciones
Agua dulce	0 ‰
Formalina	0,25 ml/l
Hipoclorito de sodio (Clorox ®)	2ml/l
Desecación	---
Control Agua de mar	34 ‰

### 5.2.7. Evaluación *in vitro* del efecto del agua dulce, la formalina y el ácido caprílico en el control de adultos de monogeneos ancirocefalinos.

Se tomó un pargo lunarejo entre 17-22 cm de longitud total, el cual se sacrificó con una punción en el cerebro en medio de los ojos; con ayuda de unas tijeras de acero y unas pinzas se les extrajeron las branquias, y se colocaron en una caja Petri de 70 mm de diámetro. A continuación se cortaron todos los filamentos en la base de cada arco y se colocaron en portaobjetos individualmente con unas gotas de agua de mar y bajo el estéreomicroscopio se localizaron los parásitos auxiliados por unas agujas entomológicas. Seguidamente se extrajeron con unas pinzas de punta fina los filamentos branquiales que tenían adheridos 15 adultos ancirocefalinos, los cuales se introdujeron en una caja Petri de 35 mm de diámetro con 5 ml de cada tratamiento, a una concentración y tiempo predeterminados (Tabla 2). Se realizaron cuatro réplicas y cuatro controles para cada tratamiento. Cada una de las sustancias a evaluar fueron disueltas en un litro de agua de mar filtrada respectivamente, exceptuando el agua dulce y de aquí se extrajo la muestra a probar. Una vez transcurridos los tiempos establecidos, se contaron los parásitos vivos y muertos bajo el estéreomicroscopio.

Para el caso de las pastillas de Droncit y Vermiplex (praziquantel) no fue posible realizar una evaluación *in vitro*, ya que el tiempo empleado rutinariamente es demasiado extenso para que los parásitos se mantengan vivos sin alimentarse de mucus.



### 5.2.8. Evaluación *in vivo* del efecto del agua dulce, vermiplex, formalina y droncit en el control de adultos ancirocefalinos en pargos infectados.

Se realizaron ensayos preliminares para determinar la tolerancia de los juveniles de pargo lunarejo a las sustancias evaluadas a los diferentes tiempos de exposición. Para ello se introdujo individualmente un pargo en cada acuario, con las sustancias y volumen de agua descritos a continuación, y se observó su comportamiento durante el tiempo de exposición de cada sustancia (Tabla 2).

Tabla 2. Concentraciones y periodos de exposición de las sustancias evaluadas contra adultos de ancirocefalinos en peces infectados

Numero de experimento	Tratamientos	Dosis	Duración (min)
1	Control	34 ‰	60
	Agua	0 ‰	10,20,30,40,50,60
2	Control	34 ‰	60
	Formalina (J.T. Baker ®)	0.17 ml/l	10,20,30,40,50,60
3 *	Control	34 ‰	24 horas
	Vermiplex (Holland ®)	3.5 mg/l	24 horas
	Vermiplex	4.5 mg/l	14 horas
4 *	Control	34 ‰	14 horas
	Droncit (Bayer ®)	4.5 mg/l	14 horas
5 **	Control	34 ‰	60
	Ácido Caprílico (Sigma ®)	334 mg/l	10,20,30,40,50,60

\*Medicamento *in vivo*; \*\* Medicamento *in vitro*

A continuación se realizó la evaluación *in vivo* de las sustancias toleradas por los peces, de acuerdo a la metodología de Liang y Leong (1992). Se tomaron tres peces de 17-22 cm de longitud total por tratamiento, los cuales se introdujeron en acuarios de cristal de 20 litros de volumen y dimensiones de 29 x 40 x 24 cm. Estos acuarios se cubrieron con bolsas plásticas negras, se llenaron con 14 lt de



agua para todos los medicamentos, excepto para el Vermiplex y el Droncit (4.5 mg/l), a los cuales se les colocó 11 l y se les añadieron las pastillas maceradas para alcanzar la concentración deseada. A cada acuario se le suministró aireación por medio de piedras porosas, utilizando el blower compressor. Se seleccionaron las sustancias para el tiempo de exposición que mostraron el mejor efecto *in vitro*. Se realizaron 9 réplicas para cada tratamiento y 9 controles para cada medicamento (Tabla 2).

Los peces se distribuyeron al azar en cada uno de los acuarios, al igual que los tratamientos, para evitar algún efecto de posición, así los primeros peces capturados de los acuarios de aclimatación fueron distribuidos individualmente a cada acuario en orden aleatorio, así sucesivamente hasta colocar el número necesario en cada acuario. Se tomaron medidas de salinidad con un refractómetro (ATAGO con un rango de salinidad de 0 a 100 UPS precisión +/- 0,5 UPS), la temperatura con un termómetro de inmersión (rango de -10 a 100 °C con precisión 0.5° C) y el oxígeno disuelto (YSI 55 con precisión de 0,1 mg/l) durante el periodo de tratamiento.

Después de cada tratamiento, todos los peces fueron sacrificados con una punción en medio de los ojos para destruir el cerebro y el tejido nervioso; luego con ayuda de unas tijeras y unas pinzas se les extrajeron las branquias y se colocaron en cajas Petri de 70 mm de diámetro con una gota de mar sobre cada arco branquial. Posteriormente, bajo un estéreomicroscopio a 25 X de aumento, y con ayuda de dos agujas entomológicas se separaron cada uno de los filamentos branquiales para realizar el conteo de los individuos que se encontraban en las branquias (Fajer *et al.*, 2003).

Para la mayoría de los experimentos del presente estudio se tomaron registros fotográficos con el fin de ilustrar los cambios que ocurrieran, utilizando las cámaras Olympus Camedia Digital Camera C5050 200M y Sony ExwaveHAD Color Video Camera Digital Model # SSC-DC54A.



### 5.3. Fase de gabinete

#### 5.3.1. Experimentos con huevos de monogeenos ancirocefalinos

Se calculó el porcentaje de viabilidad de los huevos (V) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%V = (\text{no. de huevos eclosionados} / \text{no. de huevos depositados}) \times 100 \text{ (Sharp et al., 2004)}$$

A continuación se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía para detectar las diferencias significativas entre los tratamientos. Seguidamente se realizó un test de comparaciones múltiples de Holm Sidak para determinar cual tratamiento es diferente del otro, con un intervalo de confianza de  $\pm 95\%$ . Todos los datos fueron analizados usando un programa estadístico comercial (SigmaPlot versión 3)

#### 5.3.2. Experimento *in vitro*

Se realizó una matriz en el programa Microsoft Excel 2003 con el número de monogeenos muertos y vivos; se efectuó un análisis estadístico promediando sólo los parásitos muertos por cada tratamiento a cada tiempo; y se calculó el porcentaje de eficacia, basándose en el número de monogeenos muertos respecto al total de parásitos introducidos al cabo de cierto tiempo, para tener una visión general de la efectividad del tratamiento. Seguidamente se probó la normalidad de los datos, se transformó con el Log x-1, y por último se llevó a cabo un análisis de varianza de dos vías; entre los % de eficacia de cada tratamiento y los tiempos. Cuando hubo diferencias significativas se aplicó un test de Holm Sidak con un nivel de confianza del 95%.

Se utilizó el programa Statistica versión 2000, para graficar en forma de box-plots y comparar las tres sustancias.

#### 5.3.1. Experimento *in vivo*

Los datos cuantitativos de los ancirocefalinos adultos encontrados en las branquias en cada uno de los compuestos y de los controles se ordenaron en matrices, donde se incluyeron el tipo de medicamento, el tiempo correspondiente, el peso, la longitud total, el registro de salinidad, oxígeno y temperatura.



Se calculó el porcentaje de eficacia de cada tratamiento por la comparación del número de parásitos vivos encontrados en cada tratamiento contra los del grupo control, de la siguiente manera:

% Eficacia =  $100 - (100 \times \text{monogeneos vivos en los tratamientos} / \text{promedio de monogeneos vivos en los controles})$  (Onaka *et al.*, 2003)

Se determinó la normalidad y homocedasticidad de todos los datos, luego se comprobó si los controles de cada tratamiento presentaban diferencias realizando un análisis de varianza a una vía (ANOVA).

Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre la longitud total de los peces y el número de parásitos, para determinar si el grado de parasitación dependía del tamaño del pez. Igualmente una correlación de Spearman entre el porcentaje de eficacia y la longitud de los peces.

Por último, se comparó estadísticamente mediante un análisis de variancia no paramétrico de una vía, los porcentajes de eficacia entre los tratamientos. Cuando hubo diferencias significativas se aplicó un test de Holm Sidak de rango múltiple para determinar qué tratamiento fue significativamente diferente del otro, utilizando un nivel de confianza del 95%.

#### **5.3.4. Evaluación Económica**

Se determinó el costo - beneficio de la aplicación de los dos tipos de tratamientos: baños cortos y de larga duración. El análisis económico se realizó basado en el supuesto de aplicar un tratamiento profiláctico mensual en época de engorda de 100-200 g hasta 450 g, durante 10 meses, a un grupo de 1000 pargos lunarejos. Los baños con formalina y los tratamientos de larga duración se efectuarán en tanques de 7000 lt mientras que los baños con agua dulce en tanques de 600 lt por cada 100 peces. En cada caso se obtuvieron costos de insumos para las siguientes categorías:

consumibles, sustancias, mano de obra (sólo el tiempo que se necesita en la aplicación del tratamiento, traslado de peces y limpieza de los tanques para cada caso) y depreciación de los tanques de 600 lt. Este último se determinó con la formula:



Depreciación Anual =  $(\text{Costo} - \text{Valor residual}) / (\text{Años de vida útil})$

Donde: Costo = Valor del tanque

Valor residual = Valor que tendrá el tanque al final de sus años de vida.

El beneficio se determinó conociendo que cuando los peces alcanzan la talla comercial tienen un precio de USD \$3 el kilo, es decir cada pez con 450 gr tendrá un valor de USD \$ 1.35 aproximadamente. Finalmente se tomaron dos valores para comparar; lo que equivale a aplicar o no el tratamiento: el ingreso calculado por el número de peces (1000) restándole 30% de mortalidad que causarían los parásitos sino se les aplica ningún tratamiento (Montero *et al.*, 2004); y el valor de los 1000 peces por USD \$ 1.35, menos los costos de aplicar el tratamiento, el cual sería el costo-beneficio.

Por último se hace un análisis de sensibilidad sólo aplicando 5 y 3 veces el tratamiento durante 10 meses.



## 6. RESULTADOS

Se encontraron dos géneros de monogéneos de la subfamilia Ancyrocephalinae: *Haliotrema sp.* y *Euryhaliotrema sp.* en las branquias de los pargos lunarejos investigados; cuyas características diferenciales se describen a continuación:

El género *Haliotrema sp.* posee una longitud total de  $450 \pm 55 \mu\text{m}$ , el cuerpo más o menos comprimido en la región de la vagina. El haptor posterior más o menos distinguido afuera del cuerpo como tal, con sus barras, hamuli y ganchos marginales más grandes que el género *Euryhaliotrema sp.* (Tabla 3). Crura intestinal simple, aparentemente separada, pero unida posteriormente. Órgano copulador simple, sin una pieza accesoria. Parásito exclusivo de teleósteos marinos (Yamaguti, 1963) (Fig. 4 y 5)



Figura 4. *Haliotrema sp.* aislado de los filamentos branquiales de *Lutjanus guttatus* (100 X).

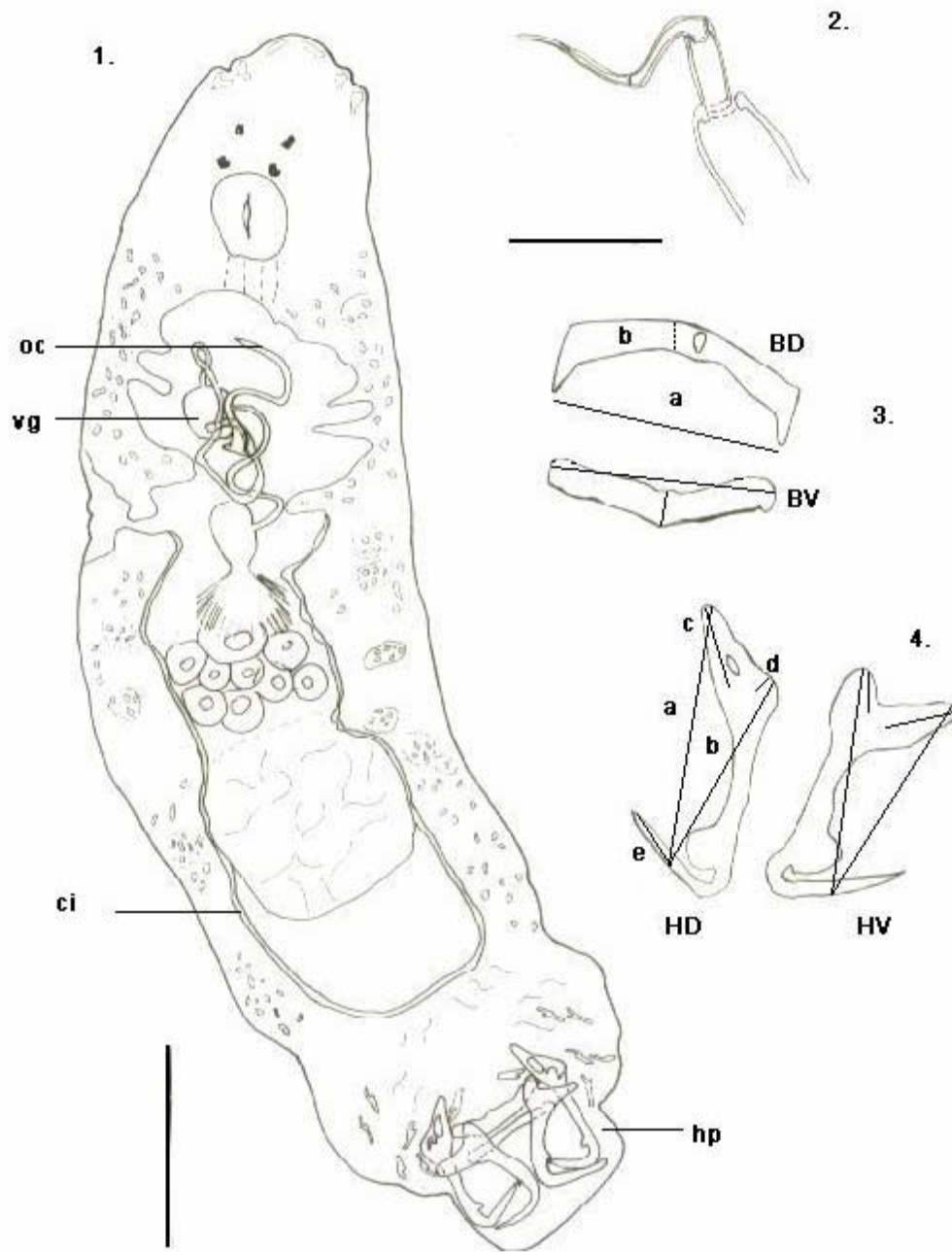


Figura 5. 1. Estadio adulto de *Haliotrema* sp. oc = órgano copulador, vg = vagina, ci = crura intestinal hp = haptor posterior (600 X). Barra 78  $\mu$ m; 2. Órgano copulador. Barra = 25  $\mu$ m; 3. BD = Barra dorsal, BV = Barra ventral; 4. HD = Hamulus dorsal, HV = Hamulus ventral.





El género *Euryhaliootrema* sp. posee una longitud de  $630 \pm 106 \mu\text{m}$ ; un cuerpo fusiforme. Tegumento liso. Dos ciegos intestinales, que confluyen posterior a las gónadas. El complejo copulatorio abarca el órgano copulador tubular enrollado y una pieza accesoria; la base del órgano copulatorio expandido en forma de bulbo. La pieza accesoria sirve como guía de la porción distal del órgano copulador. Haptor posterior con barras en forma de V (Tabla 3). Parásitos de branquias de teleósteos marinos y de aguas continentales (Kritsky y Boeger, 2002) (Fig. 6 y 7).

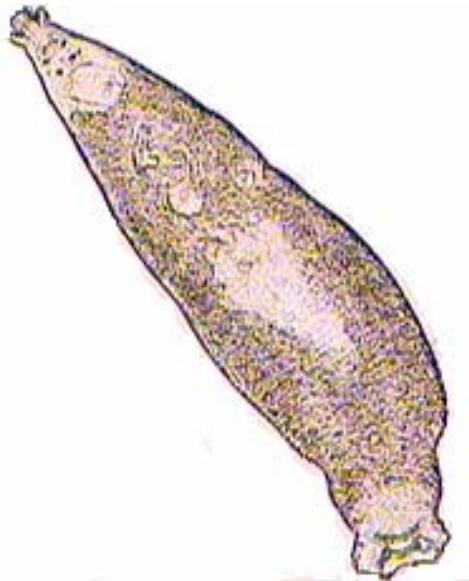


Figura 6. *Euryhaliootrema* sp aislado de los filamentos branquiales de *Lutjanus guttatus* silvestre (100X).

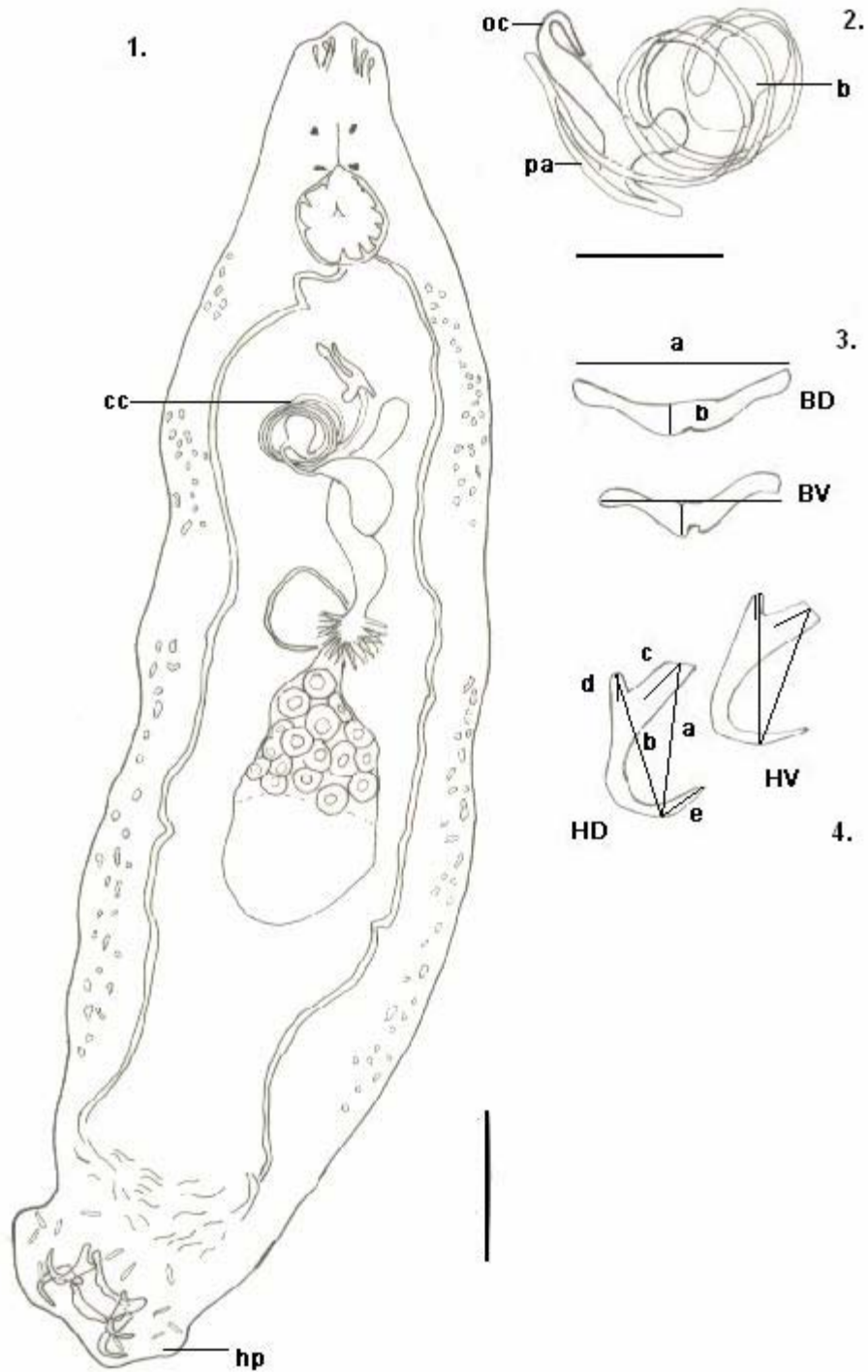


Figura 7. 1. Adulto de *Euryhaliotrema* sp. cc = complejo cópulatorio, hp = haptor posterior (600 X). Barra = 78  $\mu$ m; 2. Complejo cópulatorio oc = órgano copulador, b = bulbo, pa = pieza accesoria. Barra = 25  $\mu$ m; 3. BD = Barra dorsal, BV = Barra ventral; 4. HD = Hamulus dorsal, HV = Hamulus ventral (1000 X).



Tabla 3. Medidas de las partes esclerotizadas de los dos géneros de monogéneos de la subfamilia Ancyrocephalinae aislados del pargo lunarejo (1000 X).

Medidas ( $\mu\text{m}$ )	<i>Haliotrema sp.</i> n = 8	<i>Euryhaliotrema sp.</i> n = 10
Barra ventral a	43.4 $\pm$ 1.6	31.2 $\pm$ 2.7
Barra ventral b	5.6 $\pm$ 0.8	5.5 $\pm$ 1.2
Barra dorsal a	44.3 $\pm$ 2.6	38.8 $\pm$ 3.4
Barra dorsal b	6.1 $\pm$ 1.0	6 $\pm$ 2
Hamulus dorsal a	60.1 $\pm$ 3.6	29 $\pm$ 2.1
Hamulus dorsal b	47.9 $\pm$ 3.4	27.5 $\pm$ 2.9
Hamulus dorsal c	21.3 $\pm$ 1.5	11.1 $\pm$ 0
Hamulus dorsal d	6.1 $\pm$ 1.0	5 $\pm$ 1.25
Hamulus dorsal e	12.8 $\pm$ 3.4	9.6 $\pm$ 1.5
Hamulus ventral a	47.4 $\pm$ 8.2	26.1 $\pm$ 2.2
Hamulus ventral b	50.6 $\pm$ 4.6	27 $\pm$ 1.4
Hamulus ventral c	18.2 $\pm$ 3.11	8.6 $\pm$ 2
Hamulus ventral d	11 $\pm$ 1.9	4.8 $\pm$ 1.6

Los huevos tienen una talla promedio de  $60 \pm 5 \mu\text{m}$ , son expulsados directamente al agua y están formados por una concha tetraédrica en cuyo interior existen gran cantidad de células vitelinas. Poseen un filamento compuesto por la misma concha, el cual es largo, delgado y enrollado, éste se encuentra al lado opuesto del opérculo por donde eclosiona la larva. El filamento o apéndice posee gotas de material adhesivo espaciadas unas de otras a lo largo del mismo, las cuales unen varios huevos en pequeños grupos (Fig. 8).

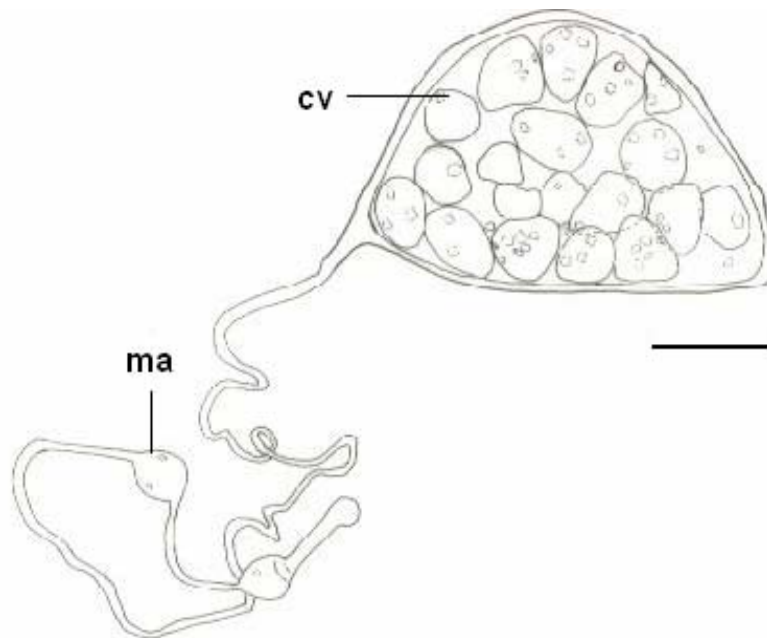


Figura 8. Huevo de *Haliotrema sp.*, donde se destaca su forma tetraédrica y su largo filamento unipolar, cv = células vitelinas, ma = material adhesivo (1000 X). Barra = 20  $\mu\text{m}$ .

Los huevos expelidos por *Haliotrema sp.* incubados en las cajas Petri en el laboratorio tomaron 10 días para desarrollarse a  $24 \pm 1$  °C y 34 ‰, donde eclosiono una larva “oncomiracidio” de  $70 \pm 2,5$   $\mu\text{m}$  de largo y  $25 \pm 2$   $\mu\text{m}$  de ancho. Esta larva posee 3 hileras de cilios (uno en cada polo y otro en la zona submedial); dos pares de ocelos bien definidos, fotosensibles, ya que se desplazan hacia la luz del estéreomicroscopio. Se observa un poco debajo de los ocelos la boca y en la parte posterior se diferencia un haptor desarrollado, pero inactivo con 7 pares de ganchos y 2 hamuli que se asemeja mucho al adulto (Fig. 9).

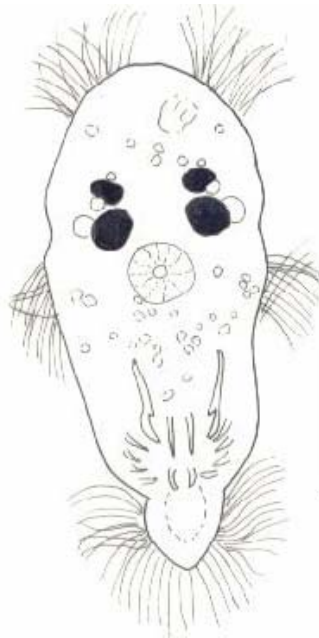


Figura 9. Larva infectiva “Oncomiracidio” (1000 X). Barra = 20  $\mu$ m.

Esta larva ciliada se desplaza a las branquias, donde crece en los filamentos branquiales, perdiendo su ciliatura, desarrollando su haptor posterior y su órgano copulador, alcanzando la madurez sexual aproximadamente entre los 20 - 30 días, a la temperatura de 28 °C (Fig. 10).

a.



b.



c.



Figura 10. a) *Haliotrema* sp. adulto próximo a ovopositar un huevo, adherido a un filamento branquial de *Lutjanus guttatus* (100 X); b) Huevo embrionado con sus cuatro ocelos visibles, próximo a la eclosión (400 X); c) Oncomiracidio recién eclosionado (600 X).



### 6.1. Colecta de huevos, obtención de oncomiracidios e infección de los peces

El método de las mallas introducidas en los tanques no capturó un número alto de huevos de monogeneos ancirocefalinos; en cambio si se detectó gran cantidad de materia orgánica y otros organismos (Fig. 11). La autoinfección del pargo lunarejo acelerado mediante el incremento de temperatura no mostró los resultados esperados; a los 20 días de extracción de los hilos colectores se observaron muy pocos huevos.



Figura 11. Malla recolectora de huevos de monogeneos ancirocefalinos.

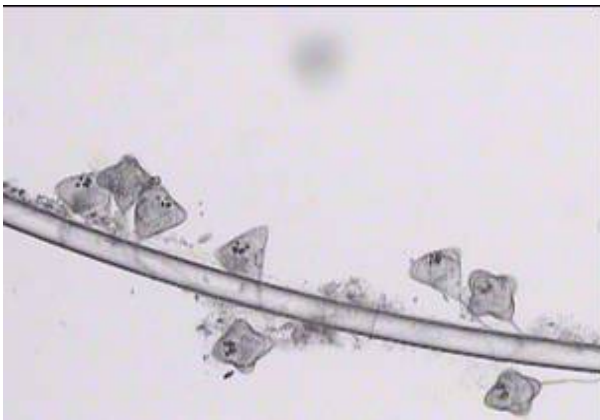


Figura 12. Hilos colectores con huevos de monogeneos ancirocefalinos (100X).

En cambio los hilos de nylon amarrados al extremo de la piedra difusora en los tanques con pargos infectados colectaron gran número de estos huevos tetraédricos, cuya observación microscópica confirmó su presencia (Fig. 12).



Al tercer día de incubación de los huevos adheridos a los hilos, en el laboratorio, se confirmó su viabilidad por la presencia de las 4 manchas oculares perfectamente visibles; y al cuarto día se observó la eclosión del 50% de los huevos, existiendo gran cantidad de oncomiracidios en la caja Petri (los cuales se desplazaban hacia la luz del estéreomicroscopio) y la presencia de cápsulas vacías. Al quinto día eclosionó el otro 50% de huevos. Estos oncomiracidios se desplazaban a través del agua hacia delante y algunas veces rotaban en círculos en un mismo sitio por unos segundos. La temperatura del agua durante el periodo de incubación fue de  $24 \pm 0.5$  °C.

Con estos oncomiracidios se inocularon a juveniles de pargo lunarejo de cada tanque; y a partir de la tercera semana posterior a la infestación, se observó un incremento en el número de huevos de los hilos, al igual que en el número de monogeneos por pez (5 parásitos / 10 filamentos branquiales).

La infección experimental requirió dos meses para llegar al grado de parasitación moderado (2-10 parásitos/ filamento branquial), con una intensidad de ancirocefalinos promedio de  $322 \pm 139$  parásitos / pez.

## 6.2. Experimentos *in vitro*.

### 6.2.1. Huevos de monogeneos ancirocefalinos

Evaluación *in vitro* del agua dulce y la formalina.

En la figura 13 se pueden observar los resultados preliminares del efecto del agua dulce y la formalina sobre la eclosión de los huevos de ancirocefalinos durante 4 días de exposición. El mayor porcentaje de eclosión se encontró en los huevos expuestos al agua de mar, el cual fue de 78%. El porcentaje de eclosión de los huevos de estos monogeneos fue significativamente diferente ( $P = 0,017$ ) entre el control (78%) y el agua dulce (5%); y entre el control y la formalina ( $P = 0,025$ ); sin embargo no hubo diferencia significativa entre el agua dulce y la formalina ( $P = 0,05$ ). Los datos se presentaron uniformes con desviaciones estándar pequeñas.



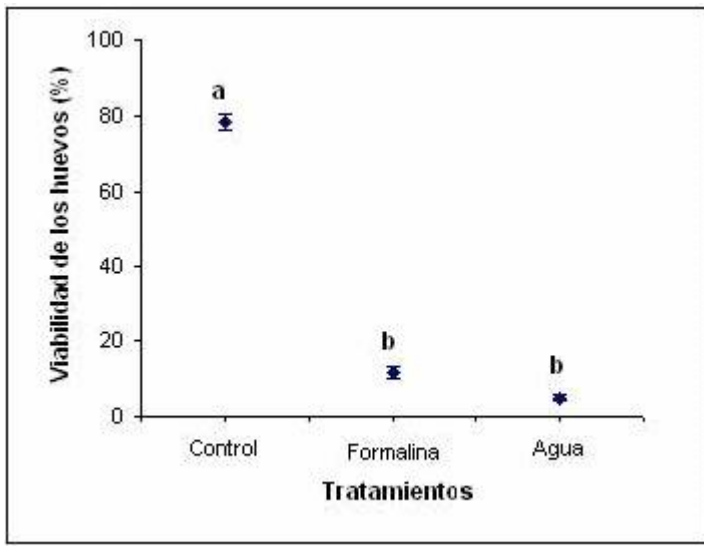


Fig. 13. Porcentaje de eclosión de los huevos de anicrocefalinos expuestos a formalina (0,17 ml/l) y agua dulce durante cuatro días. Letras iguales representan grupos homogéneos.

Microscópicamente se observó que los huevos sumergidos en agua dulce después de cuatro días mostraban un color mucho más amarillo en su concha, y en su interior, donde está el embrión, se tornaba color café oscuro, a los cuales ya no se le diferenciaban los ocelos (Fig. 14 a y b).

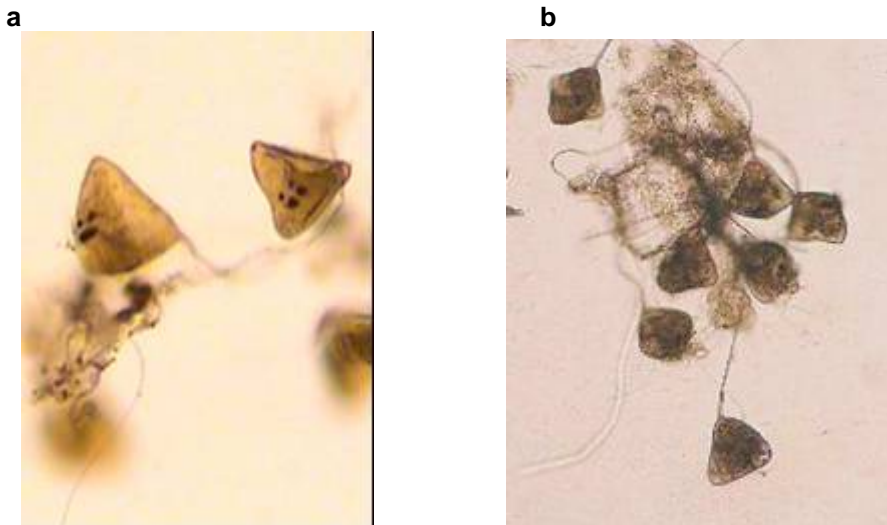


Figura 14. Huevos de anicrocefalinos de pargo lunarejo sumergidos en agua de mar y agua dulce durante cuatro días de exposición. (a) Agua de mar (400X) (b) Agua dulce (100 X).





La evaluación *in vitro* del efecto del hipoclorito de sodio, la formalina, el agua dulce y la desecación sobre la eclosión de los huevos de ancirocefalinos posterior a su traslado a agua de mar mostró los siguientes resultados:

Los huevos expuestos al hipoclorito de sodio durante tres horas no eclosionaron; en cambio los huevos expuestos a agua dulce, formalina y desecación tuvieron porcentajes de eclosión bajos de 30, 23 y 10% respectivamente, mientras que la eclosión de los huevos en agua de mar fue del 100% durante 1-3 días.

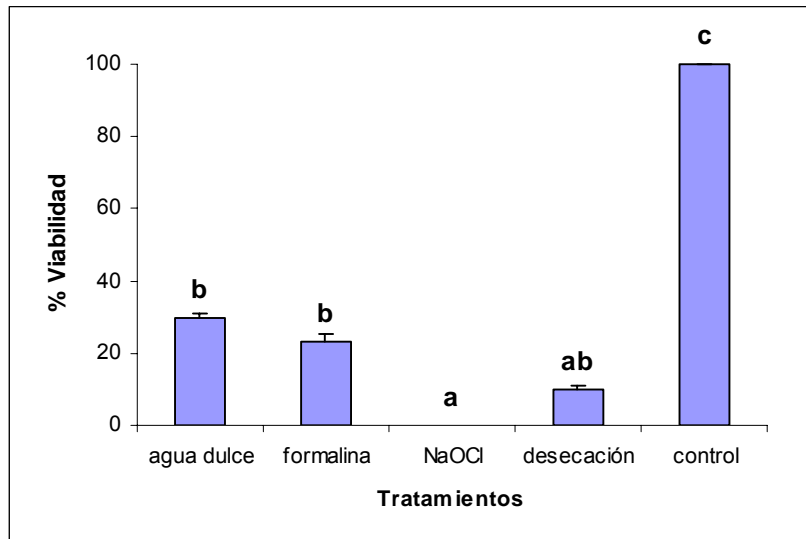


Figura 15. Porcentajes de viabilidad promedio de los huevos de ancirocefalinos del pargo lunarejo para cada uno de los tratamientos. Letras iguales representan grupos homogéneos.

Existieron diferencias significativas entre todos los tratamientos respecto al control ( $P < 0,05$ ) y entre el hipoclorito de sodio, el agua dulce y la formalina ( $P < 0,05$ ), aunque no hubo diferencia significativa entre el hipoclorito de sodio y la desecación ( $P = 0,156$ ); al igual que entre la formalina, el agua dulce, y la desecación que fueron similares estadísticamente ( $P > 0,05$ ) (Fig.15)

Cabe resaltar que el hipoclorito de sodio desintegró los huevos de los ancirocefalinos al cabo de tres horas, cuyo embrión se observó comprimido a la primera hora(a), se diferencia la concha transparente (b) y por último emerge el



embrión no viable, por el opérculo, para finalmente deshacerse la concha, o simplemente desintegrarse la cápsula con el embrión (c) (Fig. 16).

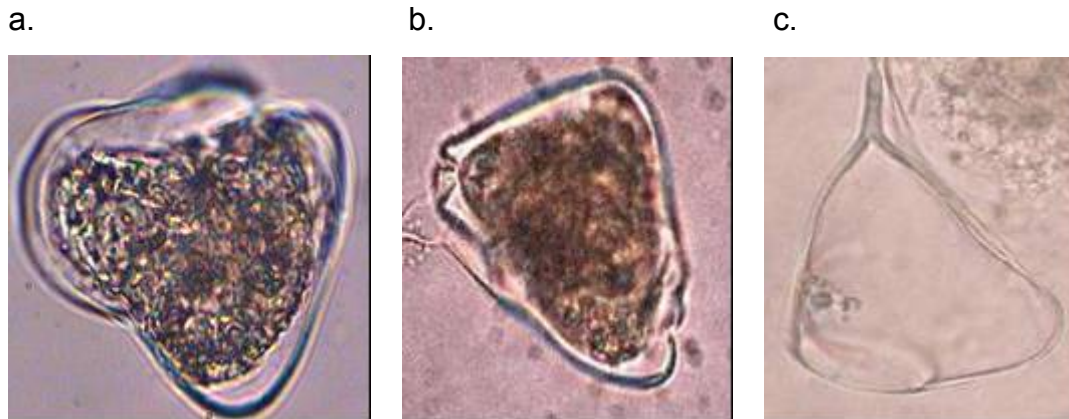


Figura 16. Tratamiento *in vitro* de los huevos de ancirocefalinos del pargo lunarejo con hipoclorito de sodio (2 ml/l) durante 3 horas.

El análisis del efecto de la viabilidad sobre la eclosión de los huevos de ancirocefalinos, posterior a tres días de haber sido trasladados al agua marina, evidenciaron la inhibición de la eclosión del desarrollo embrionario comparado con el control.

#### 6.2.2. Adultos de ancirocefalinos

La evaluación *in vitro* del efecto de la formalina, el agua dulce y el ácido caprílico sobre los adultos de *Haliotrema* se encuentran en la figura 17.

Se encontraron diferencias altamente significativas entre los tres tratamientos ( $P < 0,001$ ), entre los tiempos ( $P < 0,001$ ) y entre los tratamientos y tiempos ( $P = 0,021$ ).

El porcentaje de eficacia del agua dulce y la formalina en la reducción del número de monogeneos aumentó con el tiempo de exposición de cada sustancia, pero el agua dulce alcanzó el 100% a los 40 minutos. No se encontraron diferencias significativas de la eficacia ( $P > 0,3$ ) entre los tiempos probados en los experimentos de agua dulce.

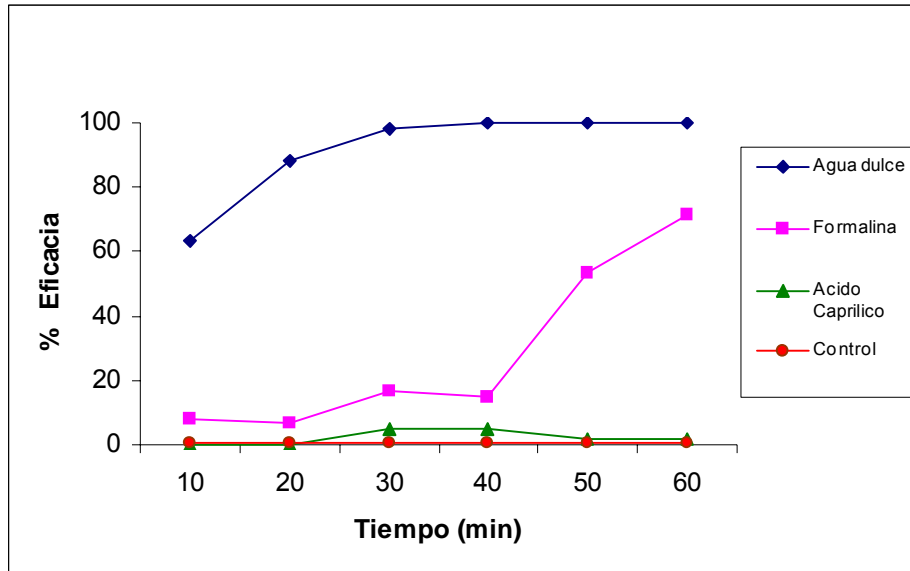


Figura 17. Porcentaje de eficacia del agua dulce, la formalina y el ácido caprílico en el control de ancirocefalinos a diferentes tiempos.

En el caso de la formalina si existieron diferencias entre los primeros 40 minutos contra los tiempos más altos de 50 y 60 min ( $P < 0,05$ ); para el ácido caprílico hubo una diferencia entre los tiempos de exposición de 10 y 20 contra el de 30 min ( $P = 0,028$ ), esta sustancia presentó porcentajes de efecto muy bajos al someter los monogeneos adultos a los distintos tiempos, mostrando un pequeño incremento a los 30 y 40 min. de 5 % de eficacia. En los controles el 95% de los parásitos permanecieron vivos a lo largo del experimento.

La comparación entre los tratamientos de agua dulce, formalina y ácido caprílico contra el tiempo de exposición, reflejan que los valores de eficacia para la formalina y el agua dulce en 50 y 60 minutos fueron homogéneos, no difirieron significativamente ( $P = 0,192$  y  $0,491$ ) respectivamente (Fig. 18).

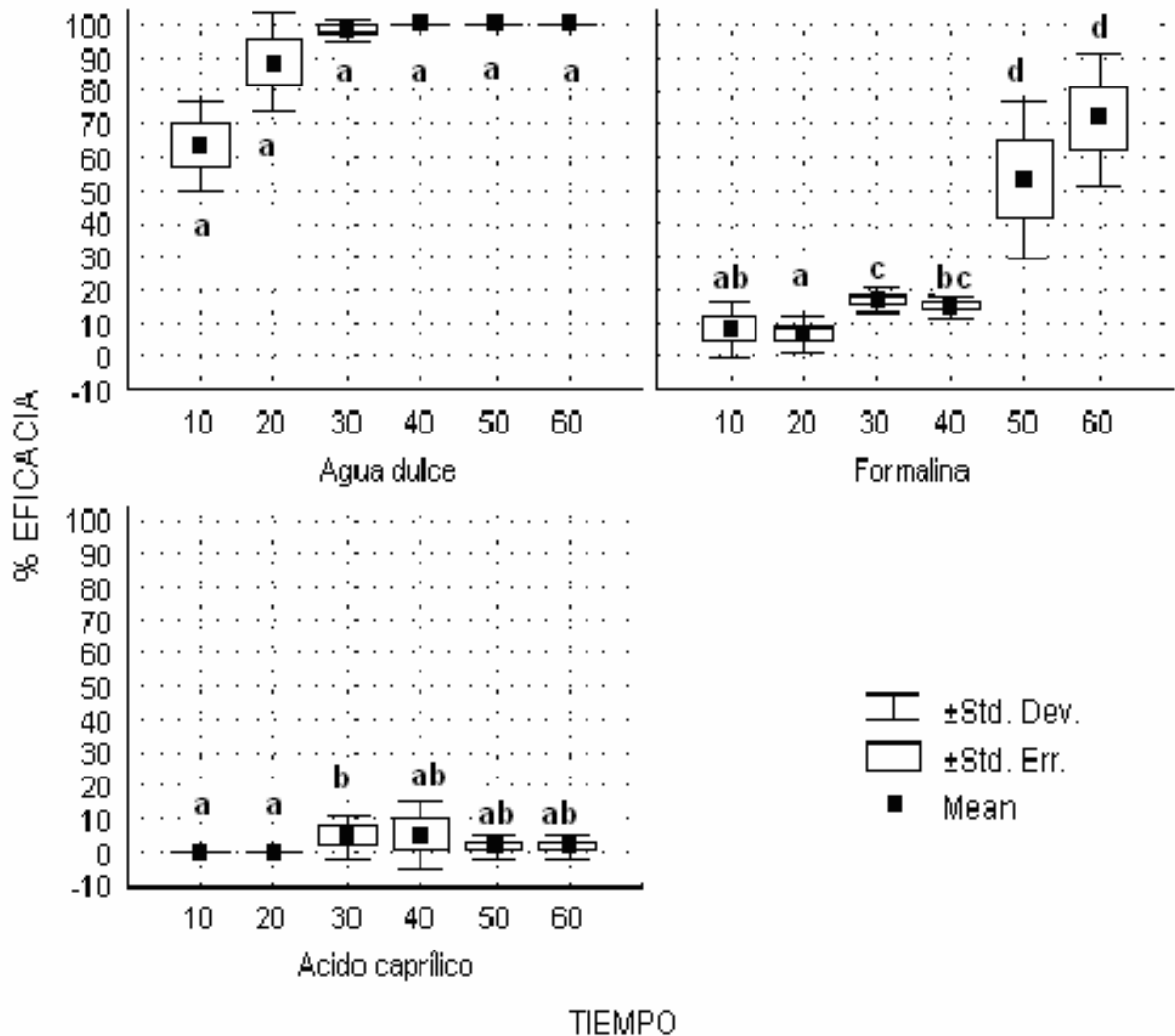


Figura 18. Porcentajes de eficacia del agua dulce, la formalina y el ácido caprílico sobre adultos de monogéneos ancirocefalinos de pargo lunarejo, *L. guttatus* en cada tratamiento. Letras iguales representan grupos homogéneos.

Algunos de los monogéneos adultos tratados *in vitro* con formalina y agua dulce, se desprendieron de los filamentos antes de trasladarlos a agua de mar. Sin embargo, tanto los monogéneos que permanecían sobre los filamentos como los que se desprendieron al fondo de la caja Petri no presentaron contracción o cambios estructurales; sino que permanecieron totalmente extendidos. Con el ácido caprílico los parásitos se comportaron a lo largo de todo el experimento de manera similar al control, permaneciendo vivos el 95%, sin presentar igualmente ninguna contracción (Fig. 19)

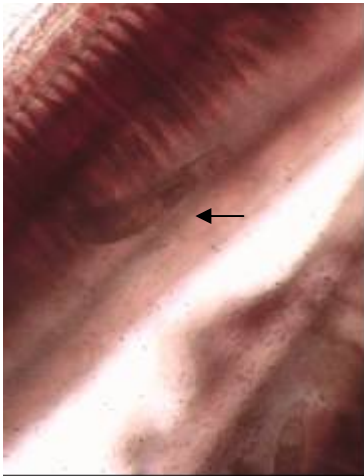


Figura 19. Monogeenos ancirocefalinos adultos posterior a los tratamientos *in vitro* con ácido caprílico (100 X)

### 6.3. Experimentos *in vivo*

En los experimentos de tolerancia preliminares se observó que el pargo lunarejo no tolera exposiciones mayores a 40 minutos en agua dulce, debido a que aparecen signos de stress, tales como pérdida de equilibrio de los peces al voltearse con el abdomen hacia arriba; por lo cual al no existir diferencias significativas entre los tiempos de exposición al agua dulce *in vitro*, se probó 30 min como máxima exposición de los pargos en los experimentos *in vivo*. Para la concentración de formalina, los peces no presentaron ningún síntoma de toxicidad durante 60 minutos, por lo que se utilizó este periodo de exposición en los experimentos *in vivo*.

Se analizaron 90 peces con una longitud promedio de  $19,8 \pm 1,31$  cm para la evaluación de los tratamientos *in vivo*. No se encontraron diferencias significativas entre el número de monogeenos ( $P = 0,161$ ) detectados en los controles de cada tratamiento. La salinidad ( $35 \pm 1,0$  ‰) y el oxígeno disuelto ( $3,7 \pm 0,5$  mg/l) no mostraron variaciones a lo largo del experimento. La temperatura disminuyó unos grados en los baños de larga duración ( $25,1 \pm 3,7$  °C).

La correlación lineal de Pearson no fue significativa entre el número de monogeenos y la longitud total de los peces ( $r = 0,07$ ;  $P = 0,61$ ;  $n = 45$ ). Ni entre el porcentaje de eficacia de los cinco tratamientos evaluados y las longitudes de los peces ( $r = -0,13$ ;  $P = 0,38$ ;  $n = 45$ ).

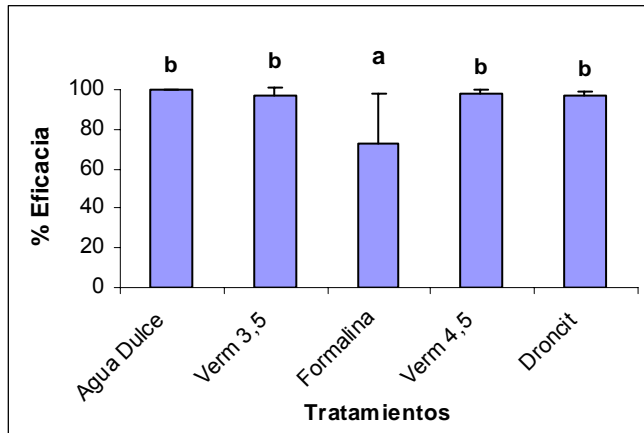


Figura 20. Porcentaje de eficacia promedio  $\pm$  DS respecto al control de cada uno de los tratamientos. Letras iguales representan grupos homogéneos.

Se encontraron diferencias altamente significativas entre la eficacia de la formalina y las otras cuatro sustancias evaluadas ( $P = 0,001$ ), sobre los monogéneos ancirocefalinos en los pargos infectados. Las eficacias entre los tratamientos de Vermiplex, Droncit y agua dulce no variaron significativamente, cuyas efectividades fueron mayores al 97% (Fig. 20). Los resultados indican que el baño de inmersión en agua dulce eliminó todos los monogéneos de los peces con un 100% de eficacia, mientras que la formalina tuvo el efecto más bajo (72%) (Fig. 20).

No existieron diferencias significativas entre los tiempos de exposición y las concentraciones entre el Vermiplex y el Droncit ( $P = 0,92$ ). Cabe destacar que posterior a las exposiciones con estas dos sustancias los monogéneos mostraban contracción tegumentaria, algunos todavía unidos a las lamelas y otros envueltos en el mucus que producen las branquias (Fig. 21 b). En cambio los parásitos adultos del grupo control no fueron afectados durante el experimento, presentando los movimientos de contracción y elongación continua que tienen habitualmente (Fig. 21 a)

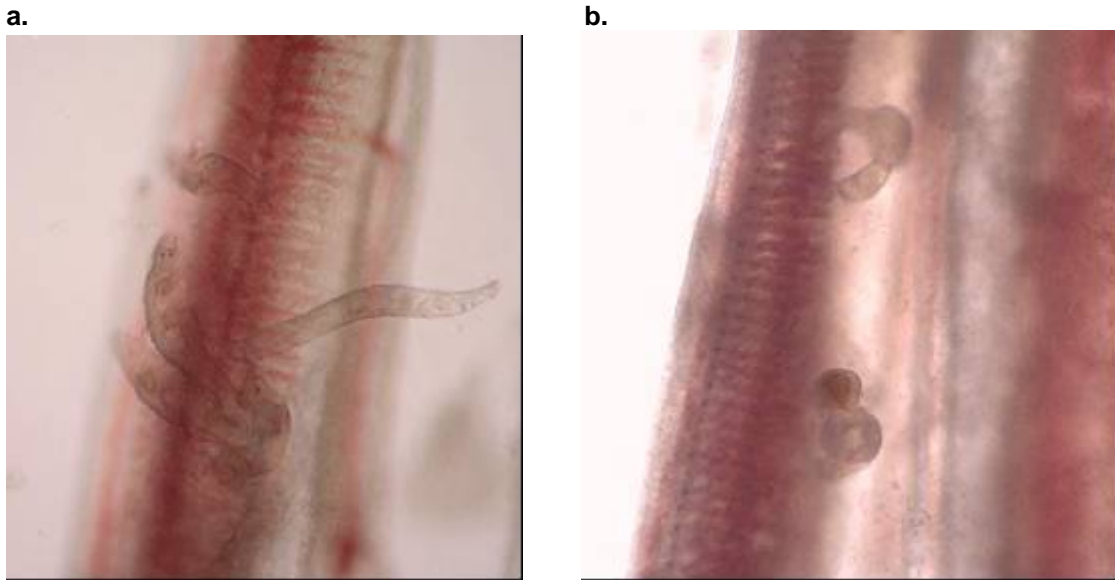


Figura 21. Filamentos branquiales de *Lutjanus guttatus* infectados con monogéneos ancirocefalinos (100 X) (a) Inmersión en agua de mar (b) Posterior a 14 horas de exposición al Droncit.

Se observaron algunos signos de estrés en algunos juveniles de pargos al final de la exposición al agua dulce, aunque sólo un individuo fue encontrado muerto en este mismo experimento.

Los porcentajes de efectividad del agua dulce y la formalina sobre ancirocefalinos adultos tanto en experimentos *in vitro* como *in vivo*, alcanzan valores muy similares, de 98 y 100% para el agua dulce y 71 y 72% para la formalina respectivamente.

#### 6.4. Análisis Económico

Los costos del análisis económico se presentan en dólares USD \$ al cambio actual; siendo el caso base 10 baños durante 10 meses. Los insumos que se tomaron en cuenta para la aplicación de cada baño fueron los consumibles, los reactivos, la mano de obra y la depreciación de tanques de 600 l.

Los consumibles se evaluaron como aquellos materiales desechables después de cada tratamiento, presentado un costo muy bajo en total de USD \$2,01, el cual es un costo fijo para todos los tratamientos.



La sustancia más económica es el agua dulce (USD \$ 0.50 / tratamiento), pero la mano de obra necesaria en este tratamiento es la más alta (USD \$ 0.87), por requerir el traslado de los peces a tanques más pequeños. La depreciación de los tanques de 600 lt, no es significativa (USD \$ 0,0025). Ocurre lo contrario con los tratamientos con Vermiplex y Droncit (praziquantel) en donde la mano de obra es la más barata (USD \$ 0.33) por ser baños que se aplican en el mismo tanque; sin embargo el reactivo es extremadamente caro USD \$ 853,75 y 948,62 respectivamente. La aplicación del tratamiento más económico durante 10 meses fue la formalina USD \$ 156/ tratamiento, seguido del agua dulce USD \$338. Los otros dos compuestos son excesivamente costosos por la gran cantidad de químico que se necesita (Tabla 4).

Tabla 4. Costos de operación (consumibles, sustancias, mano de obra y depreciación de los tanques de 600 lt) necesarios para aplicar un tratamiento profiláctico durante 10 meses, en tanques de 7000 lt para baños cortos y largos (Formalina, Vermiplex y Droncit), y tanques de 600 lt para baños cortos (Agua dulce).

	Unidad	Costo Unitario	Unidades	Cantidad utilizada	Costo total
<b>INSUMOS</b>					
<b>CONSUMIBLES</b>					
<b>Materiales</b>					
Guantes	Caja	7,39	100	2	0,15
Toallas absorbentes	Caja	1,04	250	5	0,02
Manguera	mt	0,14	1	2	0,28
Piedras	1	0,70	1	1	0,70
Reguladores	1	0,87	1	1	0,87
<i>Subtotal</i>					2,01
<b>SUSTANCIAS</b>					
Formalina	ml	12,70	1000	1020	12,95
Vermiplex	mg	1,57	50	27272,7	853,75
Droncit	mg	1,74	50	27272,7	948,62
Agua Dulce	m <sup>3</sup>	1,25	1000	400	0,50





Continuación tabla 4. Costos de operación (consumibles, sustancias, mano de obra y depreciación de los tanques de 600 lt) necesarios para aplicar un tratamiento profiláctico durante 10 meses, en tanques de 7000 lt para baños cortos y largos (Formalina, Vermiplex y Droncit), y tanques de 600 lt para baños cortos (Agua dulce).

MANO DE OBRA					
Formalina	hora	0,43	60	90	0,65
Vermiplex	hora	0,43	60	45	0,33
Droncit	hora	0,43	60	45	0,33
Agua Dulce	hora	0,43	60	120	0,87
DEPRECIACIÓN					
Tanques 600 Lt		391	1	1	0.0025
				TOTAL COSTOS	10 Baños
				Formalina	156,14
				Vermiplex	8540,81
				Droncit	9618,92
				Agua Dulce	338.23

El análisis costo beneficio se muestra en la tabla 5, el valor más alto lo mostró la formalina con USD \$1193,86 seguido del agua dulce, los resultados de la tabla se compararon con el valor comercial de 1000 peces (USD \$ 1350.00) menos el 30 % que causaría la muerte por los parásitos, obteniéndose USD \$ 945.00; lo cual indica que el costo del tratamiento con formalina y con agua dulce sobrepasa al valor que se obtendría por peces sin tratamiento; el costo de las otras dos sustancias fue más alto que el beneficio (ingreso por venta de peces sin mortalidad).

Tabla 5. Análisis costo beneficio durante 10 meses, aplicando un baño mensual (Caso base).

Costo-beneficio	10 Baños
Formalina	1193,86
Vermiplex	-7190,81
Droncit	-8268,92
Agua Dulce	1011,77



El análisis de sensibilidad realizado para evaluar la variabilidad en los resultados, si se aplica el tratamiento cada dos o tres meses; es decir 5 y 3 baños en 10 meses; reflejó que la sustancia más económica es la formalina. Los mejores resultados en la aplicación de tratamientos siguen siendo la formalina con costos totales USD \$78/10 meses, seguida del agua dulce (Tabla 6). Estos valores reflejan un ahorro del 50% y el 70% con respecto a los de 10 baños.

Tabla 6. Costos de insumos para la aplicación de baños cada dos meses o tres meses (Análisis de sensibilidad)

	5 Baños	3 Baños
Formalina	78,07	46,84
Vermiplex	4280,47	2568,28
Droncit	4754,77	2852,86
Agua Dulce	169,12	101,47

En el análisis costo beneficio durante 10 meses, sólo aplicando 5 y 3 baños, la formalina es el mejor escenario con USD \$ 1271,93 y 1303,16; seguido del agua dulce USD \$ 1180,88 y USD \$ 1248,53 (Tabla 7).

Tabla 7. Costo beneficio durante 10 meses, aplicando baños bimensuales y trimensuales (Análisis de sensibilidad)

	5 Baños	3 Baños
Formalina	1271,93	1303,16
Vermiplex	-2930,47	-1218,28
Droncit	-3404,77	-1502,86
Agua Dulce	1180,88	1248,53

El tratamiento con las pastillas de Vermiplex y Droncit muestran valores negativos en el costo beneficio, ya que el valor comercial de los peces no alcanza a compensar los precios de aplicar este método profiláctico.



## 7. DISCUSIÓN

Los géneros *Haliotrema* y *Euryhaliotrema* de la subfamilia Ancyrocephalinae se han encontrado en muchas especies de peces. *Haliotrema kusafugu* se registro para el pez globo japonés, *Takifugu niphobles* de Tokio (Klassen, 1993a); *Haliotrema sp.* en los peces de coral, *Haemulon flavolineatum* de las Islas Vírgenes (Sasal, 2003); *Haliotrema abaddon* en la perca perla australiana, *Glaucosoma hebraicum* (Pironet y Jones, 2000; Kritsky y Stephens, 2001; Stephens *et al.*, 2003); *Haliotrema cupensis* en los gobios *Gobius cobitis* del Mar Mediterráneo (Sasal *et al.*, 1998); *Haliotrema spp.* en peces cofres del Atlántico y el Indo-pacífico de la familia Ostraciidae (Klassen, 1991; 1993b); *Haliotrema spp.* en distintas especies de peces mariposas Chaetodontidae del Pacífico Indico-oeste (Plaisance *et al.*, 2004); y *Haliotrema johni* en el pargo dorado *Lutjanus johni* de Penang- Asia (Liang y Leong, 1992).

El género *Euryhaliotrema sp.* se encuentra tanto en especies marinas como de agua dulce, se ha reportado que *E. chaoi*, *E. lovejoyi*, *E. potamocetes*, *E. thatcheri*, *E. monacanthus*, *E. succedaneu*, *E. atlantica* y *E. sagmatum* se encuentran en varios Sciánidos; *E. carbunculus* en el Spárido *Lagodon rhomboides*; *E. bychowskyi* en Haemúlidos *Hapalogenys mucronatus* y *E. chrysotaeniae*, *E. fastigatum*, *E. longibaculum*, *E. lutiani*, *E. canthi* en lutjánidos; en países como Brasil, Perú, Venezuela y México (Kritsky y Boeger, 2002).

La morfología de los dos géneros de anicrocefalinos hallados en este estudio, se corresponden con las descripciones de Vargas (2004) para *Haliotrema sp.* y *Euryhaliotrema sp.* aislado de esta misma especie de pargo *Lutjanus guttatus*, procedente de playa Norte, Mazatlán, Sinaloa, México.



El tamaño de los huevos de *Haliotrema sp.* (60  $\mu\text{m}$ ) aislados del pargo lunarejo coincide con los registros de Roubal (1994) para *H. sparienses* procedente del pez *Acanthopagrus australis*; y es un poco más pequeño que los huevos de *H. abbadon* (79  $\mu\text{m}$ ) (Kritsky y Stephens, 2001) y *H. balisticus* (90  $\mu\text{m}$ ) (Kearn, 1986), aunque la forma tetraédrica y el filamento son iguales para las cuatro especies comparadas.

El periodo de diez días requerido por los huevos de *Haliotrema sp.*, para su eclosión en el laboratorio a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , concuerda con lo reportado por Kritsky y Stephens (2001) para huevos procedentes de adultos de *Haliotrema abbadon* aislados vivos del pez *Glaucosoma hebraicum* y obtenidos en el laboratorio; los cuales eclosionaron entre 7 -10 días a  $20 -25^\circ\text{C}$ . De forma similar el oncomiracidio de *Haliotrema sp.* en este estudio presentó la misma morfología del oncomiracidio de *H. abbadon* y alta motilidad, desplazándose a través del agua con un movimiento rápido hacia delante, aleteando con su parte posterior de lado a lado en un ángulo máximo de aproximadamente  $45^\circ$ .

### **7.1. Colecta de huevos, obtención de oncomiracidios e infección de los peces**

El método de las mallas recomendado por Whittington (2002) para la colecta y obtención de huevos de monogeneos no permitió monitorear el desarrollo y la eclosión de los huevos de ancirocefalinos debido a la acumulación de materia orgánica por la defecación de los peces y residuos de alimentos que impidieron la eclosión, al igual que el desarrollo de microorganismos como bacterias, protozoarios, tremátodos y nemátodos de vida libre que destruyeron el embrión de los huevos.

En cambio, el empleo de los hilos colectores colocados en el extremo de los aireadores de los tanques con pargos infectados mostró muy buenos resultados, ya que arrastraba muy poca materia orgánica, y al dejarlos un día en el tanque se adherían gran número de huevos por su filamento. Estos resultados coinciden con el alto número de huevos (aproximadamente 400), del monogeneo *Heterobothrium okamotoi*, detectado al cabo de 15 horas en el tubo de drenaje y la manguera de



aireación de los tanques, con peces globo tigre, *Takifugu rubripes* infectados, (Hirazawa *et al.*, 2003) y con la abundancia de huevos de *Heterobothrium ecuadori* colectados por Grano (2004) para la descripción del ciclo de vida de este monogeneo en el botete diana, *Sphoeroides annulatus*.

Los monogeneos ectodérmicos están expuestos a variadas fluctuaciones de la temperatura, las cuales podrían tener una influencia significativa en la duración de los procesos reproductivos, incluyendo la producción de huevos. El aumento de la temperatura a 31°C en el tanque con pargos infectados expuestos al sol no incrementó el número de huevos de *Haliotrema sp.*, atribuido a que cuando la temperatura del agua está por encima de 25°C la producción de huevos puede decaer, en algunas especies la producción de huevos de monogeneos puede inhibirse (Kearn, 1986; Jackson y Tinsley, 1998). La temperatura tuvo una gran influencia en la producción de huevos del monogeneo *Microcotyle sebastis*, la cual aumentó a 15 y 20°C, pero a temperaturas superiores a 25°C la inhibición se manifestó (Kim *et al.*, 1998). Aunque el método de autoinfección empleado en los pargos lunarejos, no dió los resultados esperados por las altas temperaturas a que fueron expuestos los ancirocefalinos como se describió anteriormente, otros autores como Sharp *et al.* (2004) lograron al cabo de 7 semanas, hiperinfestaciones de *Benedenia seriolae* 472 ± 52 y *Zeuxapta seriolae* 1055 ± 268 parásitos por pez en el jurel *Seriola lalandi lalandi*, cuya respuesta reproductiva varia de acuerdo a la temperatura optima para cada especie de monogeneo.

La metodología empleada en la infestación del pargo lunarejo con oncomiracidios de *Haliotrema sp.* fue exitosa; alcanzándose un grado de parasitación de 322 ± 139 parásitos maduros por pez, a los 60 días de exposición; semejante al obtenido por Hirazawa *et al.* (2000) a los 50 días post infección (317 ± 45), mediante la mezcla de globos tigres no infectados e infectados, recolectando los huevos y luego colocando 8000 oncomiracidios de *Heterobothrium okamotoi* en tanques con 40 peces. Por otro lado Hirazawa *et al.* (2001a) al infectar con oncomiracidios



obtuvieron promedios de infección de  $305 \pm 21$  larvas de *H. okamotoi* a los 25 días a 25°C.

Para facilitar la infección parasitaria es importante el número de peces por unidad de área, ya que si existen más peces parasitados es más rápido obtener mayor número de huevos de monogeneos. Sasal (2003) corroboró que el número de parásitos fue mayor cuando la densidad de peces fue alta, ya que el estrés que viven los peces al estar apilados deprime el sistema inmunológico e incrementa su susceptibilidad a los parásitos; a lo cual se asume la facilidad de transmisión cuando los espacios entre peces son más pequeños. El grado de parasitación de los pargos lunarejos indicó que el número de peces por unidad de área y la cantidad de oncomiracidios inoculados crearon las condiciones necesarias para el establecimiento de esta infección.

## **7.2. Experimentos *in vitro* con huevos de monogeneos ancirocefalinos**

Cabe señalar que en los controles con agua de mar de los experimentos preliminares de evaluación *in vitro* de los huevos de ancirocefalinos sólo se observó un 78% de huevos viables; lo cual se puede atribuir a la manipulación de los huevos, que se extrajeron uno a uno directamente con las aguas entomológicas, produciéndole algún daño en la concha que impidió su eclosión normal. Esto se pudo constatar en los experimentos finales de evaluación *in vitro*, en donde los huevos que se retiraron en grupo de los hilos colectores, evitando la manipulación en lo más mínimo, tuvieron un 100% de viabilidad. Gannicott y Tinsley (1997) señalaron que los disturbios por los efectos mecánicos en los estudios de ritmos de eclosión del monogeneo *Discocotyle sagittata*, son contraproducentes, ya que en los periodos de iluminación y oscuridad, los huevos eran perturbados cada 2 horas y ninguna larva emergió ni en el día ni durante la noche como resultado de estos disturbios. En contraste Kearn (1986) afirmó que algunos huevos de monogeneos (no en todas las ocasiones), cuando son perturbados con una aguja, la larva emerge inmediatamente, pero que es necesario comprobar que la perturbación es el único estimulante para la eclosión o si tiene que ver la luz y el calor generado por el estéreomicroscopio. Los



resultados parecen indicar que la manipulación de los huevos de los monogeneos anicrocefalinos del pargo lunarejo ocasionó la reducción de la viabilidad promedio de los huevos de monogeneos al exponerlos *in vitro* a condiciones no naturales.

En este estudio se observó que el porcentaje de viabilidad de los huevos de anicrocefalinos expuestos a agua dulce y 0,17 – 0,25 ml/l de formalina se reduce considerablemente al cabo de 4 días o 3 horas respectivamente; aunque estas sustancias no son totalmente efectivas, con un porcentaje menor al 30% para los dos casos. Estos resultados contrastan con los de Cecchini y Cognetti (2002) para concentraciones de formalina de 0,1 ml/l en donde el porcentaje de huevos viables de *Diplectanum aequans*, fue de un 74% a la hora y coinciden con el 33% de viabilidad ocasionado por la formalina 0,3 ml/l durante una hora. Sin embargo Svendsen y Haug (1991) observaron un porcentaje de viabilidad de los huevos de *Entobdella hippoglossi* del 38% al sumergir a los peces *Hippoglossus hippoglossus* a la concentración de 0,5 ml/l por una hora, sin embargo al aumentar el tiempo de exposición no reduce la eclosión de los huevos.

El bajo porcentaje de reducción de la viabilidad de los huevos de anicrocefalinos al agua dulce coincide con el 18% durante tres horas de exposición observado por los autores citados anteriormente; lo cual puede explicarse con la presencia del complejo de membrana vitelina descrita para los huevos de *Dactylogyrus vastator*, pertenecientes a la familia Dactylogiridae, que protege al embrión de los cambios osmóticos, lo cual hace posible su desarrollo a distintas salinidades (Kearn, 1986). Estos resultados indican que el agua dulce y la formalina reducen el porcentaje de viabilidad de los huevos, pero no en un 100%.

De los métodos de desinfección evaluados los mejores resultados fueron la desecación y el hipoclorito de sodio, los cuales reducen en un 10 % y 0% respectivamente, la viabilidad de los huevos al cabo de 3 horas; lo cual difiere del % de viabilidad detectado por Hirazawa *et al.* (2003) al exponer los huevos de *H. okamotoi* a la desecación por una hora, con una viabilidad del 0 %. De igual forma, Sharp *et al.* (2004) en experimentos de evaluación *in vitro* con *Benedenia seriola* no observó viabilidad (0%) en los huevos al cabo de 3 horas de



deseccación, tanto para huevos sin ocelos y con ocelos; pero concuerda con la especie *Zeuxapta seriolae*, donde hubo un porcentaje de viabilidad del 100% al cabo de 3 horas; la eclosión se impide solamente si los huevos son expuestos por 5 o más horas; lo cual indica la resistencia de los huevos de estos monogeneos a tratamientos físicos y químicos. Montero *et al.* (2004) afirmaron que la larga sobrevivencia de *Z. seriolae* y la relativa alta resistencia de los huevos a la desecación facilitan la transmisión de este parásito. Kearns (1986) señala que los huevos del monogeneo *E. soleae* son resistente a la digestión, al ser comidos por crustáceos, pasando por el intestino, y finalmente los expulsan intactos produciendo oncomiracidios.

En el caso del hipoclorito de sodio, el 0% de viabilidad observado en los huevos de ancirocefalinos al cabo de 3 horas difiere de los resultados de Hirazawa *et al.* (2003), cuyos experimentos revelaron que en 2 ml/l de esta sustancia por una hora, el 90 % de los huevos de *H. okamotoi* eclosionaron; aunque por 24 horas, a 2 y 1 ml/l no hubo eclosión.

No se evaluó *in vitro* el Droncit ni el Vermiplex sobre la viabilidad de los huevos de ancirocefalinos, ya que su ingrediente activo, no redujo significativamente la viabilidad de los huevos para *B. seriolae* expuestos a 2,5 mg/l por 24 ni 48 horas teniendo viabilidades mayores a 66% (Sharp *et al.*, 2004); por lo cual se analiza en este trabajo que al tener tiempos menores de exposición de 14 y 24 horas, los huevos tendrían eclosiones altas.

Es conocido que los huevos dentro de los monogeneos adultos maduros carecen de color, los cuales se van oscureciendo en el útero y cuando son ovopositados, debido a que las conchas y las células vitelinas contienen sustancias fenolíficas las cuales se oxidan por medio de una enzima fenolasa que se activa por ciertas sustancias (Kearns, 1986). Otros autores como Svendsen y Haug (1991) observaron que el cambio de color de los huevos es debido al endurecimiento de la concha, la cual es menos flexible y más impermeable con el paso del tiempo; en esta evaluación, los huevos de ancirocefalinos se encontraban al final de la





eclosión que es cuando tiene los ocelos bien marcados, en donde el huevo es más impermeable oscureciéndose más rápido, lo cual hace suponer que el agua dulce los oscureció.

### 7.3. Experimentos *in vitro* en ancirocefalinos adultos

Los baños de agua dulce durante 40 minutos de exposición ocasionaron la muerte al 100 % de ancirocefalinos coincidiendo con los ensayos *in vitro* realizados por Svendsen y Haug (1991) contra *Entobella hippoglossi* mediante el empleo de agua dulce durante 50 minutos donde el 100% de los adultos se desprendieron de las paredes del beaker, y al ser reintroducidos al agua de mar no fueron capaces de adherirse de nuevo a las paredes, lo cual indicó su muerte. Este tratamiento es factible si el pez tolera estos tiempos de exposición. En contraste, experimentos *in vivo* del efecto del agua dulce sobre estadios maduros de *Neobenedenia* en juveniles de botete diana, *Sphoeroides annulatus*, expuestos durante 40 minutos, mostraron un porcentaje de eficacia del 73%; el cual aumentó al 97% al trasladar los peces a agua de mar; donde los adultos muertos se desprendieron con la natación de los peces; mientras que a tiempos de exposición a 50 y 60 minutos no hubo un aumento significativo (Bueno, 2004)

La formalina presentó porcentajes bajos de eficacia para los tiempos de exposición de 10 a 40 minutos, pero hubo un incremento a 50 minutos, llegando al cabo de una hora al 71%; en contraste con el 31% de eficacia a los 105 minutos referido por Contreras (2001) al emplear la formalina 0,17 ml/l en experimentos *in vitro* contra *Heterobothrium ecuadori* de *S. annulatus*. Aunque este compuesto tuvo un porcentaje de efecto inferior al óptimo (90%) referido por Onaka *et al.* (2003), considerando que se encuentra dentro de la escasa lista de compuestos aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) desde 1986 para el tratamiento de peces y sus huevos, contra parásitos externos, bacterias e infecciones fungales (Sharp *et al.*, 2004) su empleo repetido puede ser útil en el control de los monogeneos ancirocefalinos del pargo lunarejo.



La formalina y el agua dulce no presentaron diferencias significativas entre los tiempos de 50 y 60 minutos, esto es debido estadísticamente a que los datos para la formalina mostraron desviaciones standard muy altas, es decir gran variabilidad de los datos, que sobrelapan a los resultados del agua dulce, y el test de Holm-Sidak no detecta, ya que este valora todo los datos en conjunto, para posteriormente comparar entre sustancias, sin embargo el porcentaje de eficacia entre ambas sustancias es evidente; por lo cual muchas veces es recomendable aumentar el número de muestras para que esto no ocurra.

El ácido caprílico tuvo un efecto casi nulo a lo largo del experimento, los ancirocefalinos no presentaron ninguna deformación o contracción en contraste a los registros de Hirazawa *et al.* (2001b), en donde los adultos de *B. seriolae* tratados con ácido caprílico se contrajeron a los 20 minutos, los cuales murieron al cabo de 2 horas. El ácido caprílico también fue efectivo contra el protozoo ciliado *Cryptocarion irritans* y el mixosporidio *Kudoa shiomitsui*, lo que supondría que tuviera una buena eficacia contra varios parásitos; sin embargo no se observó en este estudio y tampoco se probaron tiempos más prolongados porque los pargos lunarejos en experimentos preliminares mostraron signos de estrés al cabo de 40 minutos de exposición a esta sustancia. El alimento medicado con ácido caprílico a juveniles del pez globo tigre tuvo un buen efecto antiparasitario contra *H. okamotoi*, el cual infecta las branquias y la cavidad de la pared branquial de este pez; se considera que esta sustancia afecta a los parásitos vía sistémica a través de la sangre del hospedero y además tiene un efecto antihelmíntico in vivo cuando *H. okamotoi* se alimenta de sangre del hospedero medicado (Hirazawa *et al.*, 2000).

La concentración evaluada contra los ancirocefalinos fue 4 veces mayor (336 mg/l) que la aplicada por Hirazawa *et al.* (2000) contra *H. okamotoi*, y sólo alcanzó un 5% de eficacia a la hora de exposición; en contraste con el 100% referido por los autores citados. La baja eficacia del ácido caprílico en este experimento puede corresponder con que el compuesto empleado en este estudio, el cual es elaborado por los laboratorios Sigma ® y contiene sodio, a diferencia del referido por Hirazawa *et al.* (2000, 2001a y 2001b) que es de marca Guako, japonesa y no



contiene sodio. La temperatura es otro factor que pudo haber incidido; Hirazawa *et al.* (2000) observaron los mejores resultados cuando medicaban a los peces a 15°C, mientras que en este estudio se corrió el experimento a 24 °C. Además la especie es diferente de los monogeneos evaluados.

#### 7.4. Experimentos *in vivo*

Los resultados del monitoreo de los parámetros de calidad del agua de los acuarios demostraron que no hubo alteraciones durante el periodo del experimento, permaneciendo dentro de los parámetros adecuados para las especies marinas cultivadas en México (Avilés, 2000).

La ausencia de correlación entre el número de ancirocefalinos, el porcentaje de eficacia y la longitud total de los pargos, se correspondió con la uniformidad del intervalo de tallas de estos peces. Según Geets *et al.* (1997) *Pseudohaliotrema sp.* en adultos del pez *Siganus sutor* (Siganidae) en comparación con subadultos de la misma especie, muestra una correlación significativamente positiva entre la abundancia y el tamaño del pez. Sasal (2003) afirma que después de los 4 cm los peces son susceptibles a ser parásitados.

La alta eficacia de los baños de agua dulce durante 30 minutos sobre la muerte de todos los ancirocefalinos adultos del pargo lunarejo coincide con lo reportado por Liang y Leong (1992) en el control de *Haliotrema sp.* de *Lutjanus johni* mediante el empleo de baños de agua dulce por 30 minutos. Los pargos lunarejos mostraron intranquilidad y al final del tratamiento se observaban tonalidades pálidas en su epidermis. Stephens *et al.* (2003) detectaron que el tratamiento con agua dulce durante 90 minutos elimina el 95% de *Haliotrema abaddon* en el pez *Glaucosoma hebraicum*, pero los monogeneos no se desprenden, lo cual indica que se mueven a un sitio más inaccesible para desprenderse durante el tratamiento, quedando muertos debido a la inmersión en agua dulce, o no se desprenden de las branquias hasta algún tiempo después del tratamiento. En nuestro estudio se observaron ancirocefalinos muertos inmersos en el mucus de las branquias de los peces, los cuales deben desprenderse con los movimientos de desplazamiento de



los peces durante su natación coincidiendo con las recomendaciones de Bueno (2004).

Kaneko *et al.* (1988) y Muller y Watanabe (1994) concuerdan con la efectividad del agua dulce en eliminar el capsávido adulto *Neobenedenia melleni*, a los 5 minutos de exposición; pero los animales sufren una autoinfección debido a la sobrevivencia de los huevos; por lo cual en el presente estudio interrumpimos el ciclo de vida del parásito con el uso del hipoclorito de sodio, el cual sirve como desinfectante de tanques y mallas, eliminando los huevos de estos ancirocefalinos.

Hay especies marinas que son más tolerantes a los baños de agua dulce, pero la eficacia y seguridad de cada tipo de tratamiento necesitan ser evaluadas para cada especie (Kaneko *et al.*, 1988). En el caso de la perca, *Glaucosoma hebraicum*, los dactilogíridos y los axínidos fueron controlados en agua dulce, disminuyendo la salinidad a  $\leq 1\text{‰}$ , durante dos horas, y sometiéndolos al final 1.5 horas, indicando la tolerancia de estos peces al agua dulce (Pironet y Jones, 2000). Para los pargos lunarejos los baños con agua dulce deben ser muy controlados, es de suma importancia que cuando el pez se empiece a voltear o tener una reacción violenta de nado, se saquen inmediatamente, ya que son reacciones precedentes a la muerte.

Los baños con formalina no ocasionaron la mortalidad del 100% de los ancirocefalinos adultos en este estudio; además se observó que una proporción de los parásitos moribundos seguían fuertemente adheridos a las lamelas y otros embebidos en el mucus de las branquias; lo cual se debe a la firme penetración de sus hamuli a la dermis del pez y/o al incremento de producción de mucus en respuesta a la irritación por el tratamiento con formalina. Estos resultados concuerdan con las investigaciones de Pironet y Jones (2000), sobre el empleo de la formalina para tratar parásitos branquiales como dactilogíridos y axínidos a concentraciones de 0,15 ml/l; y con los de Fajer *et al.* (2003) los cuales hallaron a nivel experimental que la dosis efectiva media para el control de *H. ecuadori* fue 0,17 ml/l a los 60 minutos de exposición a 23°C con un margen de seguridad de 11



para juveniles de botete diana, *S. annulatus*; los que no exhibieron ningún tipo de estrés ni lesiones tisulares. Algo similar ha sido reportado por Liang y Leong (1992) para tratar especies de *Haliotremas* usando concentraciones de 0,3 ml/l, donde se detectó una reducción del número de parásitos entre el 48% y el 78%. Resultados semejantes fueron reportados por Sharp *et al.* (2004) al exponer a los jureles cola amarilla *Seriola lalandi lalandi* a 0,25 ml/l durante 60 minutos; para *B. seriolae* (80% parásitos removidos) y difiere para *Z. seriolae* (49%). En concentraciones de 0,4 ml/l *B. seriolae* tiene la misma reducción, pero en el caso de *Z. seriolae* si se remueven el 99% de los monogeneos. Nuestros resultados indican que la formalina no elimina el 100% de los monogeneos ancirocefalinos; pero si reduce la carga parasitaria. Sin embargo no es recomendable aumentar la concentración de formalina para eliminar algún tipo de patógeno, ya que ésta se vuelve tóxica para el pez a temperaturas superiores a 21 °C (Pipper *et al.*, 1982 y Stephens *et al.*, 2003)

El praziquantel es un tratamiento antihelmíntico que ha sido probado con buenos resultados contra infecciones de digeneos y céstodos en mamíferos, causándole relativamente muy pocos daños al hospedero (Dayan, 2003). Recientemente, el praziquantel ha sido probado satisfactoriamente en el tratamiento de infecciones de muchas especies de monogeneos ectoparásitos de peces (Kim y Cho, 2000; Hirazawa *et al.*, 2000; Stephens *et al.*, 2003; Sharp *et al.*, 2004). Los resultados en este estudio claramente indicaron que utilizar pastillas antihelmínticas Vermiplex y Droncit (Grano, 2004), disueltas en el agua en forma de baños de larga duración para peces, fue un método efectivo en controlar los ancirocefalinos, sin detectarse ninguna diferencia en la eficacia para las dos concentraciones (3,5 y 4,5 mg/l) y los dos tiempos (14 y 24 horas) evaluados, donde murieron más del 97% de los monogeneos del pargo lunarejo; lo cual coincide con los resultados de Sharp *et al.* (2004) sobre el empleo de 2,5 mg/l de praziquantel en baños de 24 y 48 horas con la remoción de más del 99% de *B. seriolae* del jurel cola amarilla. En investigaciones sobre el efecto del praziquantel a nivel de tejido, el citado autor concluye que la intensidad de vacuolización del tegumento del parásito depende



más del tiempo de exposición que de la concentración de la droga y que sus efectos a nivel celular causan contracciones y vacuolización irreversible del tegumento de los monogoneos; como es el caso del presente estudio en donde se observó contracción de la pared tegumentaria de los ancirocefalinos. Stephens *et al.* (2003) reitera el efecto del praziquantel en la contracción tegumentaria de los monogoneos y refiere que al cabo de 44 horas en 2 mg/l *H. abaddon* se descompone, encontrándose solamente en el sedimento sus hamuli, sin embargo se corre el riesgo de que se mueran los peces por el incremento de los niveles de amonio.

Es importante señalar, que durante el periodo de exposición de los baños de praziquantel de larga duración contra los ancirocefalinos en el pargo lunarejo, en algunos acuarios hubo una disminución de la temperatura, lo cual no afectó la eficacia de los tratamientos, al comparar el porcentaje de efectividad entre acuarios y concentraciones, lo cual se corresponde con la ausencia de relación entre la temperatura del agua y la efectividad de este antihelmíntico registrada por Kim y Cho (2000) en el tratamiento de *Microcotyle sebastis* del pez *Sebastes schlegeli*. Cabe resaltar que en este experimento se tomaron los valores de temperatura sólo para mantener los factores ambientales constantes, no con énfasis de relacionar esto con el parasitismo y la efectividad de los tratamientos.

Aunque está registrado que la alimentación de los monopistocotilios donde están incluidos los ancirocefalinos, se realiza a través de las células epiteliales de los filamentos branquiales, no garantiza que los tratamientos sistémicos tengan efecto sobre estos parásitos, Hirazawa *et al.* (2000); Kim y Cho (2000) e Hirazawa *et al.* (2004), reportaron que el praziquantel suministrado en el alimento reduce significativamente el número de monogoneos, tanto para Monopistocotileos como Poliopistocotileos, obteniendo resultados de efectividad por encima del 60%. En este estudio al alcanzar resultados tan favorables en la eliminación de los ancirocefalinos a través de baños largos, apunta a pensar que tal vez el probar el tratamiento vía sistémica sea igual de efectivo y requiera menos esfuerzo laboral en la aplicación de los baños.



### 7.5. Análisis económico

Los monogeneos que parasitan tanto peces marinos como de agua continental, ocasionan cuantiosas pérdidas económicas en los sistemas de producción piscícola de diferentes partes del mundo (Flores y Flores, 2003). No existen registros de pérdidas económicas por monogeneos como tal en México, por lo tanto se efectuó la valoración de la aplicación de estos tratamientos en la producción basándonos en la mortalidad que los monogeneos ocasionan en peces de otros países, como es el caso del carángido *Seriola dumerili* de 0+ a 1+ años con el 45% de mortalidad y 2+ a 3+ años con 20%, causado por los Heteraxínidos *Zeuxapta seriola* en Murcia – España (Montero *et al.*, 2004).

Aunque el análisis costo beneficio reflejó que la sustancia más económica evaluada fue la formalina, en forma de baños de corta duración, los costos de producción del pargo se incrementan, no obstante considerando que las enfermedades analizadas ocasionan altos porcentajes de mortalidad, las pérdidas por este concepto serían mayores que los costos de aplicar el tratamiento. La no aplicación de la terapia ocasionaría la pérdida del valor total de la masa piscícola por este parasitismo, en un valor de USD \$ 405.00 para la población de 1000 pargos por tanque afectado.

Los costos económicos son de importancia capital en las explotaciones piscícolas, cualquier epizootia está obligada a relacionar el valor de los peces con el costo de su tratamiento. En este estudio se consideró el costo de cada pez de 450 gr en USD \$1.35, de acuerdo a los datos suministrados para pargos *Lutjanus guttatus*, los cuales cuestan enteros o fileteados entre USD \$ 3 – 9 / kilo (Espino *et al.*, 2003; Avilés, 2000; FAO, 2000). Considerando que los monogeneos ocasionan un 30% de mortalidad, el efecto económico esperado por la aplicación de estos tratamientos permitiría un ahorro total de USD \$ 248.86 para el caso base de la formalina y USD \$ 66.77 para el caso base del agua dulce, si fuera un baño profiláctico mensual. No es muy representativo el ahorro con agua dulce, pero si con los baños con formalina; el inconveniente sería que ésta no es tan efectiva



contra los ancirocefalinos, como los baños de agua dulce. Por lo cual, de acuerdo a las recomendaciones de Roberts (1981) a veces es necesario tomar decisiones acertadas como: puede convenir dejar que una enfermedad siga su curso, aceptando una cierta mortalidad, siempre y cuando se proporcione antes una estimación segura y tolerable de las bajas; o comercializar los peces afectados si son de tamaño adecuado. Si se decide aplicar el tratamiento deben hacerse varias reflexiones. El costo de la mano de obra del tratamiento externo es muy superior al producto. A pesar de que los tratamientos tradicionales con agua dulce y formalina son económicos, necesitan una considerable dedicación de tiempo para su aplicación. Los baños cortos en donde sea necesario extraer a los peces son los que exigen un mayor trabajo personal, mientras que los baños de larga duración el tiempo de aplicación es mínimo, ahorro que no compensa el costo del producto. En este estudio el tratamiento con las pastillas de Vermiplex y Drontal que tienen como ingrediente activo el praziquantel, resulta ser un tratamiento demasiado caro, por lo cual no es factible utilizarlo como tratamiento profiláctico, pero sí se puede utilizar tal vez para tratar los reproductores de un cultivo, ya que es efectivo y no le causa stress a los peces. Según Paperna (1996) el praziquantel es muy caro para uso comercial, por lo tanto no está considerado para uso rutinario. Algunas veces al hacer baños de larga duración utilizando bajas concentraciones de la droga, reduce económicamente el uso de las pastillas, lo cual es importante si tenemos en cuenta el alto costo de la droga (Sharp *et al.*, 2004).





## 8. CONCLUSIONES

- ❖ Se encontraron dos géneros de la subfamilia Ancyrocephalinae, *Haliotrema sp.* y *Euryhaliotrema* en el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* de playa Norte, Mazatlán – México.
- ❖ La eclosión de los huevos de *Haliotrema sp.* tarda diez días y en desarrollarse hasta adultos entre 20-30 días aproximadamente a nivel experimental.
- ❖ El método de los hilos de nylon colocados en la manguera de aireación de los tanques con pargos infectados permitió colectar los huevos de los monogéneos ancirocefalinos.
- ❖ La metodología de infestación del pargo lunarejo con oncomiracidios obtenidos en el laboratorio, resultó efectiva, logrando un grado de parasitación de  $321 \pm 139$  al cabo de dos meses.
- ❖ La viabilidad de los huevos de ancirocefalinos fue inhibida 0% con 2 ml/l de Hipoclorito de Sodio durante tres horas, siendo el mejor método de desinfección para los tanques; mientras que la desecación, la formalina y el agua dulce tuvieron viabilidades por encima del 10%.
- ❖ La efectividad *in vitro* del agua dulce sobre la mortalidad de adultos de ancirocefalinos fue del 100% a los 40 minutos de exposición, mientras que la formalina requirió de 60 minutos para alcanzar el 72%.
- ❖ Los baños de agua dulce en pargos infectados con ancirocefalinos durante 30 minutos tuvieron un porcentaje de efectividad del 100%, indicando que es



el mejor método para eliminar a los monogeneos parásitos *Haliotrema sp.* y *Euryhaliotrema sp.*

- ❖ Los baños con Vermiplex (3,5 – 4,5 ml/l) y Droncit (4,5 ml/l) resultaron ser igualmente efectivos en eliminar estos parásitos al cabo de 12 y 24 horas.
- ❖ El análisis costo beneficio mostró que el aplicar baños cortos mensuales de formalina ahorraría USD \$ 248.86 si existiera una mortalidad del 30% por monogeneos y USD \$ 66.77 en el caso de los baños con agua dulce, siendo mejor opción el aplicar formalina, aunque no elimine el 100% de los parásitos.



## 9. RECOMENDACIONES

- ❖ Estudiar la biología y el ciclo de vida del parasito, antes de diseñar los experimentos de evaluación de terapéuticos; para poder conocer la longevidad de la fase de infestación, del ciclo de vida y los factores que favorecen su desarrollo.
- ❖ Realizar las infestaciones con monogeneos ancirocefalinos en el pargo lunarejo a temperaturas inferiores a 25°C.
- ❖ En experimentos con huevos de monogeneos se puede evitar su manipulación mediante el empleo de los hilos colectores; los que se deben mantener en agua de mar esterilizada con recambio diario para reducir la contaminación por bacterias.
- ❖ Evaluar el efecto de la circulación del agua de los tanques sobre el desprendimiento de los ancirocefalinos muertos adheridos al mucus de las branquias posterior al tratamiento, apoyado en el incremento de la frecuencia respiratoria durante su desplazamiento.
- ❖ Emplear los tratamientos de agua dulce durante 30 minutos profilácticamente y de formalina 0,17 ml/l durante 60 minutos repetidamente, en el control de adultos de ancirocefalinos del pargo lunarejo; y desinfectar los tanques, redes y utensilios con hipoclorito de sodio 2 ml/l durante 3 horas para evitar la reinfección por la eclosión de sus huevos.
- ❖ Evaluar en futuros estudios el empleo del praziquantel a través de la administración oral, ya que ha dado muy buenos resultados en la eliminación de distintas especies de monogeneos; prestando atención a la palatabilidad y concentraciones para que los peces no dejen de comer o vomiten la comida.



- ❖ Continuar con las evaluaciones de antihelmínticos contra monogéneos ancirocefalinos que permitan garantizar opciones de terapia efectivas y económicas, teniendo en cuenta la rápida resistencia que estos desarrollan a estas sustancias.



## BIBLIOGRAFIA

- ✚ AVILÉS, A. 2000. Cultivos de peces marinos. SEMARNAT, Dirección general de investigación en acuicultura. pp. 1-13.
- ✚ BELL, G. 1977. Notes on some properties, characteristics, and applications of certain agents used in salmonid husbandry. First Symposium of the North America Aquaculture Association. Maracay, Venezuela, November 5-12.
- ✚ BUENO, J. 2004. Evaluación experimental del agua dulce para el control del monogeneo *Neobenedia* sp. ectoparásito del botete diana (*Sphoeroides annulatus*, Jenyns, 1842). Tesis para obtener el título de Biólogo Pesquero. Universidad Autónoma de Sinaloa, México. 45 pp.
- ✚ BYCHOWSKY, B. 1957. Monogenetic Trematodes, their systematic and phylogeny. Amer. Inst. of Biol. Sci. Washington Edit. W. J. Hargis. 627 pp.
- ✚ CECCHINI, S and COGNETTI, A. 2002. Embryo development and larval hatching of *Diplectanum aequans* (Monogenea, Diplectanidae) in relation to different in vitro prophylactic treatments. 9 pp. (En preparación).
- ✚ CONTRERAS, R. 2001. Monogeneos del Botete Diana silvestre (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1853) y evaluación “in vitro” del empleo de hierbabuena y formalina para su control. Tesis para obtener el título de Biólogo Pesquero, Universidad Autónoma de Sinaloa, México. 45 pp.
- ✚ DAYAN, A. 2003. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. Acta Trópica **86**: 141-159.



- ✚ ERNST, I., WHITTINGTON, S., CORNEILLIE and C. TALBOT. 2002. Monogenean parasites in sea-cage aquaculture. *Austasia Aquaculture*: 46-48.
  
- ✚ ESPINO, E., CRUZ, M. y GARCIA, A. 2003. Peces marinos con valor comercial de la costa de Colima. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Instituto Nacional de pesca, México. pp. 60.
  
- ✚ FAJER, E., DE LA PARRA, I., AGUILAR, G., CONTRERAS, R., ZALDIVAR, J. and BETANCOURT, M. 2003. Toxicity of formalin to bullseye buffer fish (*Sphoeroides annulatus* Jenyns, 1943) and its effectiveness to control ectoparasites. *Aquaculture* **223**: 41-50.
  
- ✚ FAO, 2000. Fisheries department, Fishery information, Data and Statistics Unit. Fishstat Plus: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.3. Data sets: Aquaculture production: quantities 1970-2000, Aquaculture production: values 1984-2000, Capture production 1970-2000.
  
- ✚ FLORES, J y FLORES, R. 2003. Monogeneos parásitos de peces en México: estudio recapitulativo. *Técnica Pecuaria Mexicana* **41** (2): 175-192.
  
- ✚ GRANO, M. 2004. Estudio del ciclo de vida de *Heterobothrium ecuadori* (Meserve, 1938) Sproston, 1946 (Monogenea: Diclidophoridae) ectoparásito del botete diana *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1843). Tesis para obtener el título de Maestro en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 118 pp.
  
- ✚ GANNICOTT, A and TINSLEY, R. 1997. Eggs hatching in the monogenean gill parasite *Discocotyle sagittata* from the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasitology* **114**: 569-579.
  
- ✚ GEETS, A., COENE, H and OLLEVIER, F. 1997. Ectoparasites of the whitespotted rabbitfish, *Siganus sutor* (Valenciennes, 1835) off the Kenyan Coast: distribution within the host population and site selection on the gills. *Parasitology* **115**: 69-79.



- ✚ GUTIERREZ, R. y DURAN, M. 1999. Cultivo del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pises: Lutjanidae) en jaulas flotantes. Uniciencia 15-16. pp 27-34.
  
- ✚ HIRAZAWA, N., OHTAKA, T. and HATA, K. 2000. Challenge trials on the anthelmintic effect of drugs and natural agents against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*. Aquaculture **188**: 1-13.
  
- ✚ HIRAZAWA, N., OSHIMA, S., MITSUBOSHI, T. and HATA, K. 2001a. The anthelmintic effect of medium-chain fatty acids against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in the tiger puffer *Takifugu rubripes*: evaluation of doses of caprylic acid at different water temperatures. Aquaculture **195**: 211-223.
  
- ✚ HIRAZAWA, N., OSHIMA, S., HATA, K. 2001b. In vitro assessment of the antiparasitic effect of caprylic acid against several fish parasites. Aquaculture **200**: 251-258.
  
- ✚ HIRAZAWA, N., GOTO, T. and SHIRASU, K. 2003. Killing effect of various treatments on the monogenean *Heterobothrium okamotoi* eggs and oncomiracidia and the ciliate *Cryptocaryon irritans* cysts and theronts. Aquaculture **223**: 1-13.
  
- ✚ HIRAZAWA, N., MITSUBOSHI, T., HIRATA, T and SHIRASU, K. 2004. Susceptibility of spotted halibut *Verasper variegates* (Pleuronectidae) to infection by the monogenean *Neobenedenia girellae* (Capsalidae) and oral therapy trials using praziquantel. Aquaculture **238**: 83-95.
  
- ✚ JACKSON, J and TINSLEY, R. 1998. Effects of temperature on oviposition rate in *Protopolystoma xenopodis* (Monogenea: Polystomatidae). International Journal for Parasitology **28**: 309-315.



- ✚ KANEKO, J., YAMADA, R., BROCK, J. and NAKAMURA, R. 1988. Infection of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Trewavas), by a marine monogenean, *Neobenedenia melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963 in Kaneohe Bay, Hawaii, USA, and its treatment. *Journal of Fish Diseases* **11**: 295-300.
  
- ✚ KEARN, G. 1986. The eggs of monogeneans. *Advances in Parasitology* **25**: 175-273.
  
- ✚ KIM, K., CHOI, E., CHO, J., HWANG, Y. and PARK, S. 1998. Influence of temperature on the egg production and hatching of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Microcotylidae), parasitic on rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Journal of Fish Pathology* **11**(2): 113-117.
  
- ✚ KIM, K and CHO, J. 2000. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Polyopisthocotylea) infestation with praziquantel in an experimental cage simulating commercial rockfish *Sebastes schlegeli* culture conditions. *Diseases of Aquatic Organisms* **40**: 229-231.
  
- ✚ KLASSEN, G. 1991. Revision of *Haliotrema* species (Monogenea: Ancyrocephalidae) from Atlantic boxfishes (Tetraodontiformes: Ostraciinae): morphology, morphometrics, and distribution. *Can. J. Zool.* **69**: 2523-2539.
  
- ✚ ----- . 1993. *Haliotrema* species (Monogenea: Ancyrocephalidae) from Indo-Pacific boxfishes (Tetraodontiformes: Ostraciidae). *Can. J. Zool.* **71**: 2099-2110.
  
- ✚ ----- . 1993. A new species of *Haliotrema* (Monogenea: Ancyrocephalidae) from a Japanese puffer fish *Takifugu niphobles* (Tetraodontiformes: Tetraodontidae). *International Journal for Parasitology* **23**: 777-783.
  
- ✚ KRISTSKY, D and STEPHENS, F. 2001. *Haliotrema abaddon* n.sp. (Monogenoidea: Dactylogyridae) from the gills of wild and maricultured West





- Australian dhufish *Glaucosoma hebraicum* (Teleostei: Glaucosomatidae), in Australia. *Journal Parasitology* **87**(4): 749-754.
- ✚ KRISTSKY, D and BOEGER, W. 2002. Neotropical monogenoidea. 41: New and previously described species of Dactylogyridae (Platyhelminthes) from the gill of marine and freshwater perciform fishes (Teleostei) with proposal of a new genus and a hypothesis on phylogeny. *Zoosystema* **24** (1): 7-40.
  - ✚ LEONG, T. 1997. Control of parasites in cultured marine finfishes in Southeast Asia-an overview. *International Journal for Parasitology* **27** (10): 1177-1184.
  - ✚ LIANG, K and LEONG, T. 1992. Treatment of cultured golden snapper, *Lutjanus johni* Bloch, infected with monogeneans. *Aquaculture* **106**: 1-8.
  - ✚ MONTERO, F., CRESPO, S., PADRÓS, F., DE LA GÁNDARA, F., GARCÍA, A y RAGA, J. 2004. Effects of the gill parasite *Zeuxapta seriolae* (Monogenea: Heteraxinidae) on the amberjack *Seriola dumerili* Risso (Teleostei: Carangidae). *Aquaculture* **232**: 153-163.
  - ✚ MULLER, K and WATANABE, W. 1994. Occurrence and control of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in cultured tropical marine fish, including three new host records. *The Progressive Fish Culturist* **56**: 140-142.
  - ✚ NELSON, J. 1984. *Fishes of the World*. Second edition. United States. John Wiley y Sons INC. 523 pp.
  - ✚ ONAKA, E., MARTINS, M y MORAES, F. 2003. Eficacia do albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasito de Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) i banhos terapêuticos. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, **29** (2): 101-107.



- ✚ PAPERNA, L. 1996. Parasites, infections and diseases of fishes in Africa – An update CIFA Technical Paper. No. 31. Rome, FAO. 200 pp.
  
- ✚ PIÑON, A. 2003. Contribución al conocimiento de la biología de las especies *Hoplopagrus guentherii*, *Lutjanus argentiventris*, *Lutjanus colorado* y *Lutjanus guttatus* de la bahía de Mazatlán y Santa Maria la reforma. Tesis para obtener el título de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México. 106 pp.
  
- ✚ PIPER, R., McELWAIN, I., ORME, L., McCRAREN, J., FOWLER, L. and LEONARD, J. 1982. Fish hatchery management. United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service. Washington, pp 275-276.
  
- ✚ PIRONET, F and JONES, J. 2000. Treatments for ectoparasites and disease in captive western Australian dhufish. *Aquaculture International* **8**: 349-361.
  
- ✚ PLAISANCE, L., BOUAMER, S. and MORAND, S. 2004. Description and redescription of *Haliotrema* species (Monogeneoidea: Poloyonchoinea: Dactylogyridae) parasitizing butterfly fishes (Teleostei: Chaetodontidae) in the Indo-West Pacific ocean. *Parasitological Res* **93**: 72-78.
  
- ✚ POST, G. 1987. Control of fish diseases. Textbook of fish health. T.F.H. Publications Inc. 288 pp.
  
- ✚ ROBERTS, R. 1981. Patología de peces. Editorial Mundi Prensa, Madrid. pp. 323.
  
- ✚ ROUBAL, F. 1994. Observations on the eggs and fecundity of dactylogyrid and diplectanid monogeneans from the Australian marine sparid fish, *Acanthopagrus australis*. *Folia Parasitologica* **41**: 220-222.
  
- ✚ SAFINA, C. 1996. Las pesquerías mundiales, en peligro. Investigación y Ciencia. Barcelona: Prensa Científica.



- ✚ SASAL, P; PAGES, J and EUZET, L. 1998. *Haliotrema cupensis* n. sp. (Monogenea, Ancyrocephalidae) from a marine gobiid (Teleostei, Perciformes) of the Mediterranean coast. *Systematic Parasitology* **39**: 107-112.
  
- ✚ SASAL, P. 2003. Experimental test of the influence of the size of shoals and density of fish on parasites infections. *Coral Reefs* **22**: 241-246.
  
- ✚ SCHOLZ, T. 1999 Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary Parasitology* **84**: 317-335.
  
- ✚ SHARP, N., DIGGLES, B., POORTENAAR, C. and WILLIS, T. 2004. Efficacy of Aqu-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriole*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand. *Aquaculture* **236**: 67-83.
  
- ✚ STEPHENS, F., CLEARY, J., JENKINS, G., JONES, B., RAIDAL, S. and THOMAS, J. 2003. Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the West Australian dhufish, *Glaucosoma hebraicum*. *Aquaculture* **215**: 1-10.
  
- ✚ STOSKOPF, M. 1993. *Fish Medicine*. W.B. Saunders Company, USA. Part 1. pp 439.
  
- ✚ SVENDSEN, Y and HAUG, T. 1991. Effectiveness of formalin, benzocaine, and hipo and hipersaline exposures against adults and eggs of *Entobdella hippoglossi* (Muller), an ectoparasite on Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Laboratory studies. *Aquaculture* **94**: 279-289.
  
- ✚ TONGUTHAI, K. 1997. Control of freshwater fish parasites: a Southeast Asian perspective. *International Journal for Parasitology* **27** (10): 1185-1191.



- ✚ VARGAS, J. 2004. Ectoparasitofauna del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindacher, 1989) silvestre y patrones de ocurrencia. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. En preparación. Universidad Jorge Tadeo Lozano.
  
- ✚ VÁSQUEZ, C., VILLANUEVA, M., RODRIGUEZ, H. 2001. Principales enfermedades de los peces en cultivo. Fundamentos de Acuicultura Continental. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA. Segunda edición 4: 147-188.
  
- ✚ WHITTINGTON, I. 2002. Parasitology Section Helminths, Australia 8: 1-8.
  
- ✚ WATANABE, W., BENETTI, D., FEELEY, M., DAVIS, D. and PHELPS, R. 2001. Status of artificial propagation of mutton, yellowtail and red snapper (family Lutjanidae) in Southeastern U.S. In proceedings of World Aquaculture Society Conference. Orlando, USA. 21-25 January.
  
- ✚ WILLOMITZER, J. 1980. Therapy of major ectoparasites in grasscarp (*Ctenopharyngodon idella*) fry and fingerlings. Acta Vet. Brno 49: 279-282.
  
- ✚ YAMAGUTÍ, S. 1963. Systema Helminthum IV. Monogenea and Aspidocotylea. InterScience Publishers. New York, USA. 699 pp.
  
- ✚ Biblioteca de consulta Microsoft Encarta. Microsoft Corporation, 1993-2004.
  
- ✚ [www.fishbase.org/summary/speciessummary.cfm?4d=152genusname=lutjanus&speciesname=guttatus](http://www.fishbase.org/summary/speciessummary.cfm?4d=152genusname=lutjanus&speciesname=guttatus). Fecha de Consulta, Mayo 1 de 2004.
  
- ✚ <http://209.15.138.224/inmomex/mazatlancity.htm>. Fecha de Consulta, Septiembre 15 de 2004.