

¿Sobrevivir a *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951 produce inmunidad en *Seriola dumerili* Risso, 1810?

F. de la Gándara¹, I. Alonso¹, F. E. Montero² y J. A. Raga³

¹ Planta de Cultivos Marinos. Centro Oceanográfico de Murcia. Instituto Español de Oceanografía. Carretera de la Azohía, s/n. E-30860 Puerto de Mazarrón (Murcia), España. Correo electrónico: fernando@mu.ieo.es

² Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i de Ecologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. E-08193 Bellaterra (Barcelona), España.

³ Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia. Apdo. 22085. E-46071 Valencia, España.

Recibido en octubre de 2005. Aceptado en noviembre de 2005.

RESUMEN

Se muestran los resultados obtenidos sobre infecciones naturales del parásito holotrico *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951 (Ciliophora) sobre ejemplares en cautividad de *Seriola dumerili* Risso, 1810. Los datos parecen indicar que los individuos que sobrevivieron a infecciones de este parásito muestran una inmunidad al mismo en sucesivas infecciones, siempre que no se encuentren en contacto directo con individuos no inmunizados.

Palabras clave: *Seriola*, parásito, inmunidad, patología, mortalidad.

ABSTRACT

Does surviving Cryptocaryon irritans Brown, 1951 produce immunity in Seriola dumerili Risso, 1810?

The results obtained from a study of natural infections produced by the holotric parasite Cryptocaryon irritans Brown, 1951 (Ciliophora) in captive Seriola dumerili Risso, 1810 are presented. Data seem to indicate that those individuals which survived infections by this parasite developed immunity to later infections, as long as they were not in direct contact with other non-immune individuals.

Keywords: Amberjack, parasite immunity, pathology, mortality.

INTRODUCCIÓN

El ciliado holotrico *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951 es un parásito obligatorio que tiene un ciclo biológico con cuatro fases diferenciadas (Colorni, 1987). El trofante es la fase parasitaria y se alimenta de tejidos y fluidos corporales. El tomonte es la fase de enquistamiento. Al eclonar los tomontes se liberan los terontes, que

constituyen la fase infecciosa. Estos terontes nadan libremente hasta encontrar un hospedador, momento en el que se transforman en trofantes, cerrando el ciclo.

Son muchos los trabajos existentes sobre las elevadas mortalidades que produce en numerosas especies de peces marinos (Diamant *et al.*, 1991; Bunkley-Williams y Williams, 1994; Diggles y Lester, 1996) y, particularmente, en

Seriola dumerili Risso, 1810 (Montero, 2001; Rigos, Pavlidis y Divanach, 2001). En esta especie, el parásito no es fácilmente distinguible sobre la piel, contrariamente a lo observado en otras especies, afectando fundamentalmente a las branquias y produciendo, en ocasiones, ceguera y petequias (De la Gándara *et al.*, 2004).

Son varios los tratamientos que se han propuesto para su control, principalmente baños de sulfato de cobre (Rigos, Pavlidis y Divanach, 2001). Algunos autores (Burgess y Matthews, 1995; Buchmann, Lindenstrom y Bresciani, 2001; Yoshinaga y Nakazoe, 1997) han puesto de manifiesto la adquisición de inmunidad frente a este parásito en peces que habían sobrevivido a la infección. En este estudio se analiza la posible existencia de este fenómeno en *S. dumerili*.

MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de 1999, y especialmente en el marco del proyecto Reproser (2002-2004), se ha tratado de constituir un grupo de reproductores de *S. dumerili*, adaptando a la cautividad a ejemplares traídos del medio natural. Para constituir dicho grupo se siguieron dos estrategias: capturar dos lotes de individuos juveniles, 0⁺ (≈ 200 g) y 1⁺ (≈ 1,5 kg) en septiembre-noviembre, y otro, >4⁺, de adultos de gran tamaño (10-20 kg) en los meses de mayo-junio.

Los juveniles se capturaron con ayuda de una moruna: se trata de un arte de pesca pasivo y fijo, formado por una red perpendicular a la línea de costa, llamada travesía, y dos paños de red llamados (por su disposición) caracoles, ya que se colocan al final de la travesía, de forma perpendicular a ella, y se giran en sus extremos en forma de espiral. Los peces que siguen la línea de la costa se encuentran con la travesía, la siguen y quedan sin saber salir del interior de los caracoles, acabando en un copo del que son extraídos. Los individuos adultos fueron capturados en la almadraba de La Azohía (Murcia). Este arte de pesca se basa en el mismo principio que la moruna, aunque sus dimensiones son considerablemente mayores.

Los individuos juveniles fueron adaptados a la alimentación inerte (Skretting Europa 22 para rodaballo) mientras que los adultos fueron alimentados con pescado descongelado (*Scomber scombrus* L., 1758, *Sardinella aurita* Valenciennes, 1847, *Illex coindetti* (Vérany, 1839) y *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798).

Todos los lotes fueron periódicamente manipulados para conocer su peso, su talla, su estado sanitario y, en los adultos, su grado de madurez mediante canulación intragonadal, para lo cual fueron previamente anestesiados con 40 ppm de aceite de clavo.

Siguiendo el plan de trabajo planteado en el citado proyecto, a partir de 2003 se constituyeron nuevos lotes de seriolas introduciendo, en ocasiones, peces de diferentes tamaños y clases de edad en el mismo tanque. Por tanto, se disponía de lotes compuestos exclusivamente por individuos que habían sobrevivido a periodos de infección en años anteriores (C⁺), lotes compuestos exclusivamente por peces que no habían estado en las instalaciones en la época de presencia del parásito (C⁻) y lotes en los que se habían ubicado juntos individuos C⁺ y C⁻. En la época de aparición del parásito, se realizaron tratamientos discrecionales y frecuentes con sulfato de cobre (2-10 ppm/1 h), formol (300 ppm/1 h), agua oxigenada (150 ppm/1 h) y permanencia en agua dulce (5 min).

Los individuos de gran tamaño fueron ubicados en tanques con volúmenes de 20 a 80 m³. Los juveniles, por su parte, lo fueron en tanques de entre 2 y 10 m³ de volumen. Los caudales de agua se dispusieron de forma que el porcentaje de saturación de oxígeno estuviera siempre por encima del 70 %. Las cargas de peces se mantuvieron por debajo de los 3 kg/m³, salvo en 2005, en que un lote se mantuvo alrededor de 5 kg/m³. El fotoperiodo fue el natural, así como la temperatura del agua, que varió entre 13 y 28 °C. La salinidad se mantuvo prácticamente constante en torno a 36.

El diagnóstico de la enfermedad se realizó en individuos muertos, mediante exámenes visuales de las branquias con la ayuda de una lupa binocular. Asimismo, se realizaron cortes histológicos de inclusiones en parafina de las branquias de los individuos muertos.

RESULTADOS

La aparición de *C. irritans* se produjo por primera vez en 2000, reapareciendo en años sucesivos entre los meses de julio y septiembre, con temperaturas del agua superiores a los 25 °C, manteniéndose hasta que la temperatura del agua desciende por debajo de los 20 °C, en octubre-noviembre (figura 1). En 2002, no hubo signos de la enfermedad ni mortalidades que pudieran asociarse a ella. Estas infecciones afectaron a toda la instalación y a otras especies, como el sargo picado *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777), el dentón *Dentex dentex* (L., 1858) y la dorada *Sparus aurata* L., 1758), entre otras.

En cuanto a supervivencia, todos los tratamientos produjeron resultados muy pobres. En la mayoría de los casos, aunque no en todos, los supervivientes mostraron los síntomas de la enfermedad: pérdida de apetito, natación anormal y aparente estrés respiratorio.

Tanto en los exámenes con la lupa binocular como en los cortes histológicos de branquias de los individuos muertos se puso de manifiesto la gran cantidad de formas parasitarias presentes en ellas (figura 2).

Las mortalidades se produjeron independientemente de la edad o del tamaño de los individuos, por lo que, en el análisis, se ha considerado únicamente el número de individuos y no su peso o edad. En la tabla I se muestran los datos de supervivencia en porcentaje y en

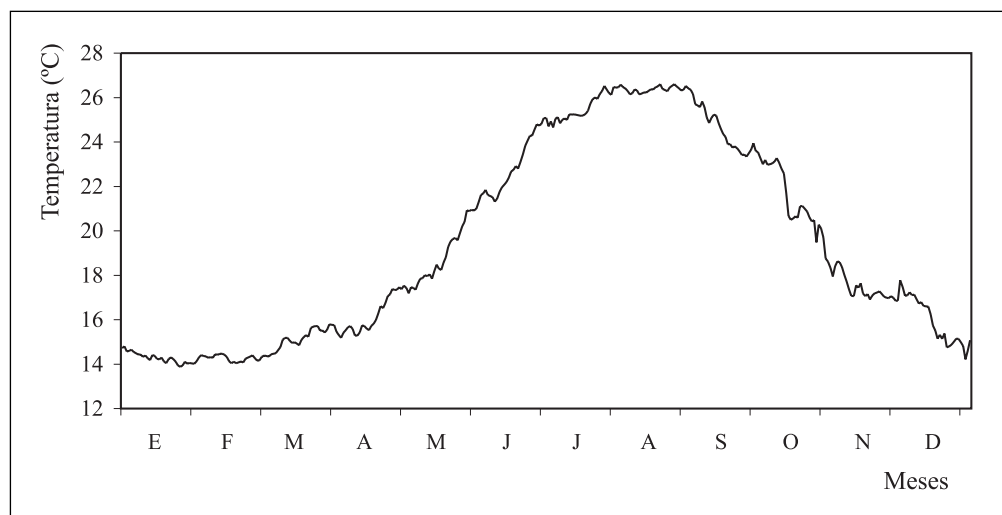
número de individuos. El test de comparación de dos porcentajes (Lamotte, 1984) indica que el porcentaje de supervivencia total del grupo C⁺ es significativamente superior ($p < 0,05$) al del grupo C⁻ en ambas situaciones, de ejemplares aislados o mezclados, aunque en este segundo caso el nivel de significación es menor.

Como ya se ha indicado, la identificación del parásito se produjo en 2000. Por tanto, no puede asegurarse que los individuos que provenían de la temporada anterior y que, por tanto, se encontraban en las instalaciones en el periodo julio-noviembre de 1999, hubieran estado en contacto con el parásito; sin embargo, se han considerado como C⁺ al haber sobrevivido a un hipotético periodo de infestación el año anterior. Por otra parte, es de destacar que parte (7 ejemplares) de los peces muertos por *C. irritans* en 2005 del grupo C⁺ pertenecían al lote que se encontraba a una carga de alrededor de 5 kg/m³. Y en este lote la mortalidad fue completa. En cualquier caso, y como puede observarse, la infestación padecida en 2005 fue especialmente agresiva, ya que eliminó a todos los peces C⁻.

DISCUSIÓN

Los datos parecen indicar que los individuos que sobrevivieron a infecciones de este parásito muestran una menor susceptibilidad al mismo

Figura 1. Evolución anual de las temperaturas medias diarias del agua (promedio de los años 2000-2005, ambos incluidos).



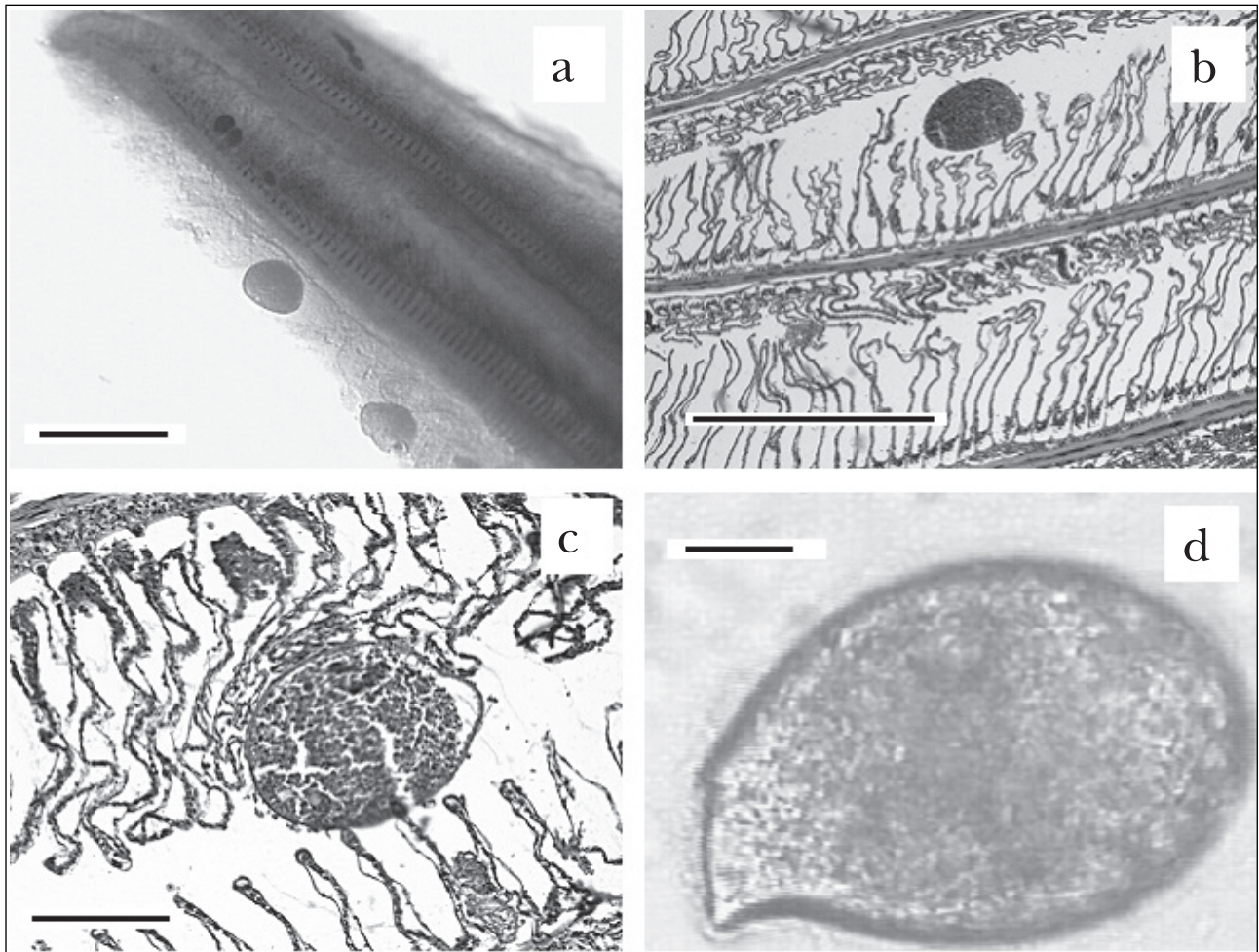


Figura 2. (a): branquia de *Seriola dumerili* con trofontes in vivo (barra de escala 500 μm). (b y c): secciones de branquia de *Seriola dumerili* mostrando trofontes (barras de escala: en b, 500 μm ; en c, 100 μm). (d): teronte (barra de escala 10 μm).

en sucesivas infecciones siempre que no se encuentren en contacto directo con individuos no inmunizados.

Yoshinaga y Nakazoe (1997) observaron que individuos de *Fundulus heteroclitus* (L., 1766) adquirían inmunidad frente a *C. irritans* cuando sobrevivían a la enfermedad. Esta inmunidad se debía a un factor presente en el suero, de forma que transfundiendo dicho suero de peces inmunizados a otros que no lo estaban, estos últimos adquirían inmunidad. Sin embargo, y como ponen de manifiesto estos mismos autores, la presencia de inmunidad redujo significativamente los efectos de la enfermedad, pero no los eliminó por completo. De forma parecida, Burgess y Matthews (1995) consiguieron inmunizar a individuos de *Chelon labrosus*

(Risso, 1827), mediante infecciones controladas. Sin embargo, observaron que, dependiendo del grado de contacto con el parásito, los individuos adquirirían distintos grados de resistencia al mismo, y que la duración máxima de esta resistencia era de seis meses. De nuevo, la inmunización también es parcial, y la supervivencia frente a un nuevo ataque está relacionada con la intensidad de la infección. Esta intensidad depende de muchos factores, como la temperatura y el fotoperiodo (Burgess y Matthews, 1994; De la Gándara *et al.*, 2004). Este hecho explicaría la mortalidad observada en los peces presuntamente inmunes cuando se encuentran en el mismo tanque con peces no inmunes y, por tanto, frente a una gran cantidad de terontes.

Tabla I. Supervivencia, en porcentaje y en número, de individuos de *Seriola dumerili* entre los años 2000-2005. (C⁺): lotes compuestos exclusivamente por individuos que habían sobrevivido a periodos de infestación en años anteriores; (C⁻): lotes compuestos exclusivamente por peces que no habían estado en las instalaciones en la época de presencia del parásito; [C⁺ (+ C⁻) y C⁻ (+ C⁺)]: lotes en los que se habían ubicado juntos individuos C⁺ y C⁻. Entre paréntesis, y separados por una barra, se indican el número de supervivientes y, en su caso, el del total de peces.

Año	C ⁺		C ⁻		C ⁺ (+C ⁻)		C ⁻ (+ C ⁺)	
2000	100 %	(5)	5 %	(5/65)				
2001	100 %	(10)	63 %	(5/8)				
2002	100 %	(10)	100 %	(11)				
2003	100 %	(12)	54 %	(31/57)	80 %	(4/5/10)	20 %	(1/5/10)
2004	100 %	(15)	26 %	(19/73)	19 %	(7/37/62)	4 %	(1/25/62)
2005	64 %	(23/36)	0 %	(0/90)				
Total	85 %	(75/88)	23 %	(71/304)	27 %	(11/42/72)	7 %	(1/25/62)

Por otro lado, el mantenimiento de un año para el siguiente de esta resistencia, contradiría la observación realizada por Burgess y Matthews (1995) de que la duración de la resistencia es de seis meses. Es cierto que dicha observación se ha hecho en una especie diferente, *C. labrosus*; sin embargo, la mayor duración podría explicarse de existir ligeras infecciones asintomáticas durante el invierno y la primavera. Aunque este hecho no es descartable, en cualquier caso, no ha sido observado en este trabajo.

Finalmente, es indudable que la supervivencia de los peces depende en gran medida de su estado, tanto en lo que concierne a las características físicoquímicas del medio (calidad del agua), como a su condición sanitaria (estado nutricional, presencia de estrés, otros parásitos, etc.). En este caso, la considerable mayor carga a la que estuvo sometido el lote que fue eliminado completamente en 2005 (alrededor de 5 kg/m³), unida a episodios de descenso de la calidad de agua, podría explicar la mortalidad en peces que habían sobrevivido al parásito el año anterior.

CONCLUSIONES

El contacto con *C. irritans* parece proveer, en mayor o menor medida, de una cierta inmunidad a los individuos que logran sobrevivir. Esta inmunidad, si bien aporta al pez un evidente grado de resistencia a un nuevo contacto con el parásito incluso un año después, no supone una

garantía completa de supervivencia frente a un nuevo ataque.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto Reproser financiado por el Instituto Español de Oceanografía. F. E. Montero disfruta de un contrato Juan de la Cierva del Ministerio de Educación y Ciencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Buchmann, K., T. Lindenstrom y J. Bresciani. 2001. Defence mechanisms against parasites in fish and the prospect for vaccines. *Acta Parasitologica* 46 (2): 71-81.
- Bunkley-Williams, L. y E. H. Williams. 1994. Disease caused by *Trichodina spheroides* and *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora) in wild coral reef fishes. *Journal of Aquatic Animal Health* 6: 360-361.
- Burgess, P. J. y R. A. Matthews. 1994. *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora): Photoperiod and transmission in marine fish. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 74 (3): 535-542.
- Burgess, P. J. y R. A. Matthews. 1995. *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora): acquired protective immunity in the thick-lipped mullet, *Chelon labrosus*. *Fish and Shellfish Immunology* 5: 459-468.
- Colorni, A. 1987. Biology of *Cryptocaryon irritans* and strategies for its control. *Aquaculture* 67: 236-237.
- Diamant, A., G. Issar, A. Colorni e I. Paperna. 1991. A pathogenic *Cryptocaryon*-like ciliate from the Mediterranean Sea. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 11 (3): 122-124.

- Diggles, B. K. y R. J. G. Lester. 1996. Infections of *Cryptocaryon irritans* on wild fish from southeast Queensland, Australia. *Diseases of Aquatic Organisms* 25: 159-167.
- Gándara, F. de la, F. E. Montero, A. García-Gómez y J. A. Raga. 2004. Infections of *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora) on *Seriola dumerili* in the experimental facilities of IEO Mazarrón (SE Spain). En: *Abstracts of the IX European Multicolloquium of Parasitology* (18-23 de julio, 2004. Valencia, España). S. Mas-Coma, M. D. Bargues, J. G. Esteban y M. A. Valero (eds.): 557-558. Gráficas Aguilar. Valencia, España.
- Lamotte, M. 1984. *Estadística biológica. Principios fundamentales*. Masson. París: 163 pp.
- Montero, F. E. 2001. *Estudio parasitológico en cultivos de Seriola dumerili en el Mediterráneo*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. Valencia, España: 178 pp.
- Rigos, G., M. Pavlidis y P. Divanach. 2001. Host susceptibility to *Cryptocaryon* sp. infection of Mediterranean marine broodfish held under intensive culture conditions: a case report. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 21 (1): 33-36.
- Yoshinaga, T. y J. Nakazoe. 1997. Acquired protection and production of immobilization antibody against *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora, Hymenostomatida) in mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Fish Pathology* 32 (4): 229-230.