

# **MÁSTER INTERUNIVERSITARIO EN ACUICULTURA**



**Parásitos cimotoideos bucales de la lubina y peces asociados a las  
jaulas en el Mediterráneo Oeste: revisión taxonómica,  
evaluación de los niveles de infección y valoración de su efecto  
sobre el hospedador**

## **TRABAJO FIN DE MÁSTER**

Autor:

**Patricia Moisés Sánchez**

Dirigido por:

**Dra. Ana Pérez del Olmo**

**Valencia, Septiembre 2014**



## INDICE

	Página
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
I. INTRODUCCION.....	6
1.1 La acuicultura y la asociación de peces salvajes con las patologías.....	6
1.2 Los cimotoideos y su importancia en la acuicultura.....	7
1.3 Objetivos.....	9
II. MATERIALES Y METODOS.....	10
2.1 Características de las especies modelo y su interacción con parásitos cimotoideos bucales.....	10
2.2 Muestreo.....	12
2.3 Evaluación de los niveles de infección y valoración de los efectos de <i>Ceratothoa</i> spp.....	13
2.4 Estudio taxonómico de <i>Ceratothoa</i> spp.....	15
2.4.1 Análisis morfológico de <i>Ceratothoa</i> spp.....	16
2.4.2 Análisis molecular de <i>Ceratothoa</i> spp.....	17
III. RESULTADOS.....	18
3.1 Niveles de infección de <i>Ceratothoa</i> spp. en el Mediterráneo y en el Atlántico....	18
3.2 GLM y Correlación entre el efecto del parásito sobre condición corporal de los hospedadores y la morfología de su cabeza. Diferencias Morfológicas entre las tres especies de pez. ....	19
3.3. Descripción morfológica de <i>Ceratothoa</i> spp.....	22
3.4 Resultado del Estudio Molecular.....	27
IV. DISCUSIÓN.....	29
4.1 Niveles de infección de <i>Ceratothoa</i> sp.....	29
4.2 Efectos del parásito sobre el hospedador.....	29
4.3 Discusión taxonómica de <i>Ceratothoa oestroides</i> y <i>C. parallela</i> .....	31
V. AGRADECIMIENTO.....	33
VI. LITERATURA CITADA.....	34

## RESUMEN

Los cimotoideos parásitos son ectoparásitos hematófagos que se localizan en diferentes partes del cuerpo de peces, siendo los la boca los de mayor importancia en acuicultura. Afectan principalmente peces de producción, incluyendo la dorada y la lubina, especies importantes en el Mediterráneo. El presente trabajo tuvo como objetivos evaluar los niveles de infección de los cimotoideos bucales de la lubina y peces asociados (boga y espícaro) a las jaulas en el Mediterráneo Oeste y realizar una revisión taxonómica de las principales especies del género *Ceratothoa* y valorar su efecto sobre el hospedador. Fueron analizados un total de 516 peces. De las 141 bogas procedentes del Mediterráneo Oeste presentaron unos niveles de infección por cimotoideos del 0,71% (adicionalmente se tomaron 125 muestras del Atlántico que presentaron una prevalencia 5,6 %). Asimismo, las 355 espícaras analizadas del Mediterráneo Oeste presentaron una prevalencia global del 8,1%; en cambio, las lubinas de piscicultura no presentaron infección por estos parásitos. No es un problema para la producción de peces en esta parte del Mediterráneo, pero se debe mantener una vigilancia. Para determinar el efecto de *Ceratothoa* spp. sobre los hospedadores fueron tomados factores morfológicos y factores de condición. Tanto las espícaras como las bogas infectadas presentaron características morfológicas diferenciales, principalmente asociadas a la abertura bucal; sin embargo, no parecían verse afectados en cuanto a su condición por la infección de *Ceratothoa* spp. Además, la comparación morfológica de las tres especies de peces indicó que no se puede inferir el efecto de estos parásitos sobre las lubinas mediante el estudio de los efectos en la boga y espícaro, debido a que presentan una morfología totalmente diferente. El estudio morfológico indicó que existía infección por *C. oestroides* únicamente en boga y por *C. parallela* en boga y espícaro. El estudio molecular ha confirmado, a su vez, la identificación morfológica y ha demostrado por primera vez una clara diferenciación a nivel molecular entre *C. oestroides* y *C. parallela*. El finalmente ofrece una serie de características morfológicas sencillas para la diferenciación de ambas especies, herramienta muy útil para la acuicultura.

## ABSTRACT

The cymatoids parasites are haematophagous ectoparasites that are located in different parts of the body of fish, the mouth being the location of these isopods that affects more the production of fish. These parasites are affecting cultured species, specially sea bream and sea bass, important species in the Mediterranean. This study aimed to assess the levels of infection of oral cymatoids in sea bass and to fish associated to the cages (bogue and blotched picarel) in the Western Mediterranean, to make a major taxonomic revision of the genus *Ceratothoa* and to evaluate their effects on the hosts. A total of 516 fish was analyzed: 141 bogue from the Mediterranean, which were infected with an overall prevalence of 0.71% (125 fish were additionally collected from the Northeast Atlantic being infected with a prevalence of 5.6%). Of the 355 blotched picarel collected from Western Mediterranean 27 were infected (i.e. a prevalence of 8.1%) however, none of the 20 sea bass studied appear to be infected in the Western Mediterranean. Thus, the infection levels detected in this geographical area indicate that this parasite does not seem a potential pathogen that could affect the production nowadays, however further monitoring should be done to avoid future infections. To determine the effect of *Ceratothoa* spp. on the hosts, fish morphological characteristics together with condition factors were analyzed. Generally the parasites appear to affect the mouth opening of both bogue and blotched picarel, however no effect was detected on the condition of the fish. On the other hand the morphological study performed to compare the head of the two species of fish indicates that they are morphologically very different and thus, the effect on sea bass could not be inferred from the effect caused on bogue and blotched picarel. In addition, the morphological study has revealed that *C. oestroides* infects bogue, however, *C. parallela* appear to be infecting both bogue and blotched picarel. The present study has also demonstrated for the first time a clear differentiation at the molecular level between *C. oestroides* and *C. parallela* and has also described the most characteristic morphological features to be used to identify these two parasite species on aquaculture.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1 La acuicultura y la asociación de peces salvajes con las patologías

El pescado, uno de los productos alimenticios básicos más comercializados de todo el mundo, representa para los países en desarrollo, en algunos casos, más de la mitad del valor total de los productos básicos comercializados. En 2012, representó un 10% de las exportaciones agrícolas totales y el 1 % del valor del comercio mundial de mercancías (FAO, 2014).

La acuicultura se mantiene como uno de los sectores de producción de alimentos de más rápido crecimiento, proporcionando casi la mitad del pescado destinado a la alimentación humana (FAO, 2014). La piscicultura en el Mediterráneo contemporáneo se inició en la década de 1980 produciendo la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*) y mariscos (Grigorakis y Rigos, 2011). En el 2013, la producción mundial de dorada fue de 179.924 t, un 11% superior al 2012, superando el máximo anterior de 178.854 t en 2008; así como 137.723 t de lubina, un 4,1% inferior al 2012 (APROMAR, 2014).

Las estructuras de piscicultura están muy extendidas en las aguas costeras y son muy atractivas para los peces silvestres. Varios estudios han estimado que decenas de toneladas de peces salvajes se reúnen alrededor de las jaulas. Las familias más abundantes son las de espáridos y carángidos (> 98% de los peces agregados) (Valle y col., 2007; Dempster y col., 2010).

Los peces salvajes han sido asociados con la transmisión de algunos patógenos responsables de brotes de enfermedades en los peces en producción, limitando considerablemente el potencial productivo y la rentabilidad comercial de las empresas de acuicultura. No obstante, resulta difícil efectuar una valoración económica exacta de las pérdidas económicas que la patología representa en la producción piscícola, por lo que es un factor limitante en el desarrollo de la producción de algunas especies. Sin embargo, no hay estudios epidemiológicos sobre las interacciones reales de patógenos/enfermedades entre los peces en producción y salvajes, incluso ni para los patógenos de peces más importantes. Sólo se han realizado los aislamientos esporádicos e identificaciones de diversos patógenos en los peces silvestres, pero no se han establecido las asociaciones

reales con las condiciones patológicas que existen dentro del entorno de granja y viceversa (Meyer, 1991; Jofre, 1993; Mladineo y col., 2009; Johansen y col., 2011).

## **1.2 Los cimotoidos y su importancia en la acuicultura**

Dentro de los crustáceos los isópodos junto a copépodos y braquiuros pueden ser parásitos temporales u obligados de peces y otros crustáceos. Los cimotoidos (Crustacea, Isopoda), son isópodos parásitos que tienen una amplia distribución geográfica y se describen tanto en el medio marino como dulceacuícola. Los cimotoidos parásitos son ectoparásitos hematófagos de peces que se localizan en la cavidad bucal, en los opérculos branquiales y en la superficie del cuerpo, incluyendo las aletas. También, se pueden llegar a encontrar en cavidad del manto y en la superficie corporal de cefalópodos (Wetzer, 2001; Trilles y Öktener, 2004; Samn y col., 2014).

Se cree que todos son hermafroditas protándricos, que comienzan desarrollándose como machos y tienen la capacidad de convertirse en hembras, si no está presente otro isópodo de su misma especie. Muy probablemente existan hormonas secretadas por la hembra que inhiben la transformación de una segunda hembra, una vez establecida la primera, facilitando el encuentro y la reproducción de las especies de este grupo. Por lo tanto, es habitual encontrarse peces infectados por un macho y una hembra, siendo la hembra de mayor tamaño (Brusca 1981; Salgado-Maldonado y col., 2000).

Los cimotoidos tienen ciclo de vida holoxénico, el cual implica un solo hospedador. Durante la etapa de la pubertad masculina, deben encontrar un hospedador adecuado permanente y, una vez instalados en la cavidad bucal de un pez, son incapaces de realizar una migración activa a otro hospedador, debido a que pierden su capacidad de natación. Este hecho es importante en la evaluación epizoótica de la vía de infección (Mladineo y Valic, 2002; Mladineo, 2003; Ramdane y col., 2007). A medida que la distancia entre los hospedadores disminuye, o que aumenta la densidad de peces, la tasa de infección del parásito aumenta. Se cree que los peces salvajes que se encuentran alrededor de las jaulas, como *Boops boops*, *Spicara maena*, *Liza aurata*, *Sarpa salpa* y *Lithognathus mormyrus* son portadores de cimotoidos y que liberan la fase pulli II, la cual ataca a los peces en producción (Vagianou y col., 2006; Arechavala-López y col., 2013).

Los cimotoideos parasitan numerosas especies marinas de importancia comercial, incluyendo miembros de las familias Mugilidae, Atherinidae, Serranidae, Carangidae, Sciaenidae, Embiotocidae, Bothidae, Clupeidae, Moronidae, Pleuronectidae, Scombridae y Haemulidae, Maenidae, Sorpaenidae, Sparidae, Trachinidae (Horton, 2000; Mladineo y Valic, 2002; Innal y Kirkim, 2012). Se han reportado varias especies que infectan peces en producción como: *Ceratothoa gaudichaudi*, en salmón (*Salmo salar*), de producción marina en Chile, afectando la cavidad bucal y las branquias; *Nerocila orbignyi*, parasitando lubina, transferido de salmonete salvaje en Diana Pond en Córcega; *Emetha audouini*, ectoparásito de lubina producida en Grecia, transferido por las poblaciones silvestres de espáridos o Centranchidae; *Ceratothoa oestroides*, en cavidad bucal de lubina y dorada, producida en Croacia (Papapanagiotou y Trilles, 2001).

En las zonas costeras del Mediterráneo, las prácticas de producción intensiva de peces proporciona un ambiente ideal para los isópodos parásitos, creando un entorno favorable a la infección epizoótica; por tanto, ocasiona un problema frecuente en la producción de dorada (*Sparus aurata*) y especialmente de lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Paperna, 1991). Existen diferentes especies de isópodos descritos en peces de producción como gnátidos (cuyas larvas se localizan en la cavidad bucal) o *Anilocra* spp. (que se encuentra sobre la superficie del pez), pero principalmente son perjudiciales los parásitos bucales del género *Ceratothoa* (Colorni y Padrós, 2011). Las especies de este género se han aislado principalmente en centros de cría de lubina y dorada, convirtiéndose en un problema de la acuicultura en jaulas Mediterráneo, pero es más grave en la lubina (Horton y Okamura, 2003; Arechavala-López y col., 2013).

Los isópodos que se encuentran en la boca tienen importancia económica en peces producidos en acuicultura, ya que pueden llegar a superar los 4–5 cm de longitud en estado adulto, ocupando gran parte de la cavidad oral (en algunos peces, las hembras pueden ocupar hasta el 80% del área); por lo que diversos estudios han indicado que ocasionan efectos perjudiciales al dificultar la alimentación del hospedador, con consecuente desnutrición, anemia, menor crecimiento o su inhibición, muerte de los peces más pequeños, menor tasa reproductiva en los adultos, y asiento de infecciones bacterianas secundarias (Vagianou y col., 2006; Hadfield y col., 2014; Carrassón y Scribb, 2014).



Bariche y Trilles (2006) reportan que la fauna de cimotoidos en el Mediterráneo es poco conocida, con la excepción de algunos estudios. La patología ocasionada por isópodos parásitos no ha sido descrita en instalaciones de acuicultura en el Mediterráneo occidental, pero sí tiene consecuencias graves en la producción de dorada y de lubina en el Mediterráneo oriental, principalmente en Grecia, Turquía y Mar Adriático (Horton y Okamura, 2001; Mladineo, 2003).

Horton (2000) plantea que la identificación de las especies de cimotoidos es altamente problemática y, como resultado, la taxonomía de este grupo está lejos de ser clara. Las ilustraciones originales de estas especies son frecuentemente poco detalladas, a menudo consistiendo en una única vista dorsal de una hembra adulta. Las descripciones originales son también, a menudo, insuficientes, describiendo características altamente variables o pleomórficas, mientras que las características taxonómicas más importantes, como los apéndices bucales y los pleópodos son prácticamente omitidas.

### **1.3 Objetivos**

El presente trabajo tiene como objetivo general evaluar los niveles de infección de los cimotoidos bucales de la lubina y peces asociados a las jaulas, además de realizar una revisión taxonómica de las principales especies del género *Ceratothoa* y una valoración de su efecto sobre el hospedador. Dentro de los objetivos específicos, están:

1. Contribuir al conocimiento taxonómico, diferenciación morfológica y molecular de *Ceratothoa* spp. en la producción de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y en peces salvajes asociados a jaulas, como son la boga (*Boops boops*) y la espícaro (*Spicara maena*) en el Mediterráneo Oeste.
2. Evaluar los niveles de infección y valorar el efecto de *Ceratothoa* spp. sobre la boga, espícaro y lubina.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Características de las especies modelo y su interacción con parásitos cimotoideos bucales

#### La lubina (*Dicentrarchus labrax*)

La lubina, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), es una especie eurihalina, demansal, oceanódroma, perteneciente a la familia Moronidae. Mide habitualmente 50 cm, aunque se ha reportado que puede llegar a alcanzar una longitud de 103 cm. Los adultos son piscívoros. Se encuentra en rango de profundidad entre 10–100 m en Atlántico oriental, desde Noruega a Marruecos, Islas Canarias y Senegal. También está ampliamente distribuida en el Mediterráneo y el mar Negro, estando ausente en los mares Blanco, Báltico y Caspio (Froese y Pauly, 2014) (Figura 1). Esta especie es muy importante para la acuicultura.

El cimotoideo *Ceratothoa* spp. se ha aislado principalmente de cría de lubina y se ha convertido en un problema de la acuicultura en jaulas en el Mediterráneo. Las larvas de *C. oestroides* producen lesiones severas en la piel y en los ojos de los juveniles. Horton y Okamura (2003) reportan que, debido a la alimentación hematófaga de este parásito, se reduce el recuento de eritrocitos, los valores de hematocrito y de hemoglobina, produciendo una anemia post-hemorrágica en los peces afectados.

#### La Boga (*Boops boops*)

La boga, *Boops boops* (Linnaeus, 1758), es una especie marina de la familia de los espáridos. Es gregaria, omnívora y se alimenta principalmente de crustáceos. Mide habitualmente 20 cm, pero puede alcanzar una longitud máxima de 36 cm. Se encuentra dentro de un rango de profundidad entre 0 y 350 m encontrándose distribuida a lo largo del Atlántico oriental: desde Noruega a Angola, incluyendo las Islas Canarias, Cabo Verde y las Islas Sao Tomé-Príncipe, siendo común desde el Golfo de Vizcaya hasta Gibraltar. También, se encuentra presente en el Mediterráneo y el Mar Negro (Bauchot y Hureau, 1986) (Figura 1).

Esta especie puede representar un potencial reservorio de gran cantidad de patógenos ya que es una especie muy común alrededor de las jaulas (Dempster y col., 2002). Presenta

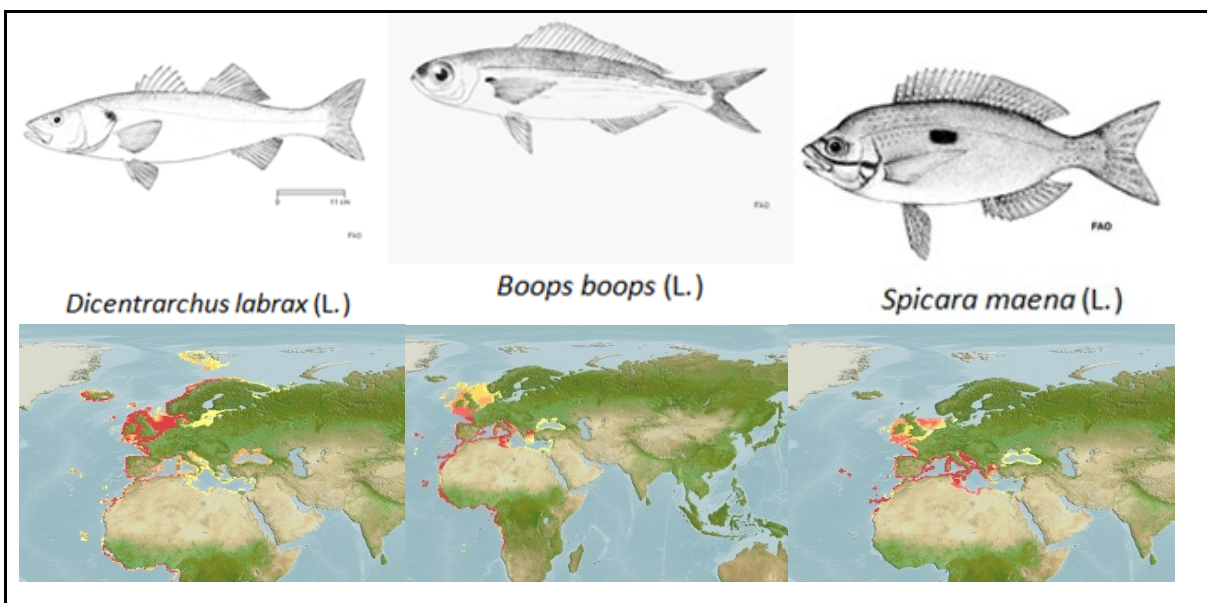
una riqueza de especies parásitas muy elevada, existiendo 78 especies descritas. Un estudio sobre las comunidades parásitas de bogas en la costa atlántica y mediterránea española, ha descrito 53 especies de parásitos metazoos de las cuales 36 especies eran generalistas y cuatro especialistas de espáridos (Pérez-del-Olmo, 2008).

Las interacciones de la boga [*Boops boops* (Linnaeus, 1758) con isópodos parásitos está poco estudiada. La boga es hospedadora de 6 especies de isópodos parásitos [*Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826), *Ceratothoa capri* (Trilles, 1964), *Emetha audouini* (Milne-Edwards, 1840); *Anilocra physodes* (Linnaeus, 1758), *Ceratothoa parallela* (Otto, 1828); *Anilocra frontalis* Milne-Edwards, 1840] (Innal & Kirkim, 2012). *C. parallela* parasita de una manera que no constituye una amenaza grave para la vida del hospedador (Bottari y col., 2013).

### **La Espícara (*Spicara maena*)**

La espícara, *Spicara maena* (Linnaeus, 1758), es una especie marina, subtropical, que pertenece a la familia Centracanthidae, aunque estudios moleculares la han llegado a situar dentro de la familia Sparidae (Chiba y col., 2009). Se alimentan de zooplancton. Mide comúnmente 14 cm, alcanzando una talla máxima de 25 cm (Froese y Pauly, 2014). Se encuentra hasta unos 100 m y se localiza en el Atlántico desde Portugal a Marruecos y Canarias, así como en el Mediterráneo y en el Mar Negro. Se trata de una especie de la cual la información sobre su biología y ecología es limitada (Jardas, 1996; Dulčić y col., 2000) (Figura 1).

Es una especie de pez que puede estar asociada a jaulas (Dempster y col., 2010). La información sobre su parasitofauna es limitada (Carreras-Aubets, 2013); sin embargo, existen diversos estudios donde se indica que puede estar infectada por parásitos de la familia de los cimotoidos especialmente por *Ceratothoa* spp. (Öktener y Trilles, 2004; Ramdane y Trilles, 2008; Carreras-Aubets, 2013).



**Figura 1.** Especies modelo utilizadas en el presente estudio y su distribución.

## 2.2 Muestreo

Fueron analizados un total de 516 peces: 141 bogas, 355 espícaras y 20 lubinas, muestreadas en noviembre 2013 y junio 2014 (Tabla 1) procedentes del Mediterráneo. Las espícaras y las bogas fueron obtenidas mediante pesca extractiva por arrastre en caladeros cercanos a Santa Pola (Alicante). Las lubinas fueron obtenidas de piscicultura de la empresa Piscimar®, localizada en Burriana (Castellón). Adicionalmente se obtuvieron bogas procedentes del Atlántico (de los caladeros de Vigo y Plentzia) para incrementar el tamaño muestral para el estudio, debido a las bajas infecciones detectadas en las bogas del Mediterráneo. En total fueron analizadas 641 muestras analizadas.

**Tabla 1.** Tamaño muestral y rango de la longitud total (TL), longitud estándar (SL) y peso (W) de las diferentes especies de peces analizados.

Especie	Mediterráneo								Atlántico			
	Otoño				Primavera				Primavera			
	n	TL(cm)	SL(cm)	W(g)	n	TL(cm)	SL(cm)	W(g)	n	TL(cm)	SL(cm)	W(g)
<i>Boops boops</i>	85	13,6–30,2	11,1–25	23–311	56	14,4–26,5	11,8–25	23–197	125	26,4–29,4	21,4–24	168–260
<i>Spicara maena</i>	160	14,4–18	12,3–15	32–66	195	15,0–17,7	12,3–15	32–69	-	-	-	-
<i>Dicentrarchus labrax</i>	-	-	-	-	20	31,8–35,2	25,8–30,5	363–615	-	-	-	-

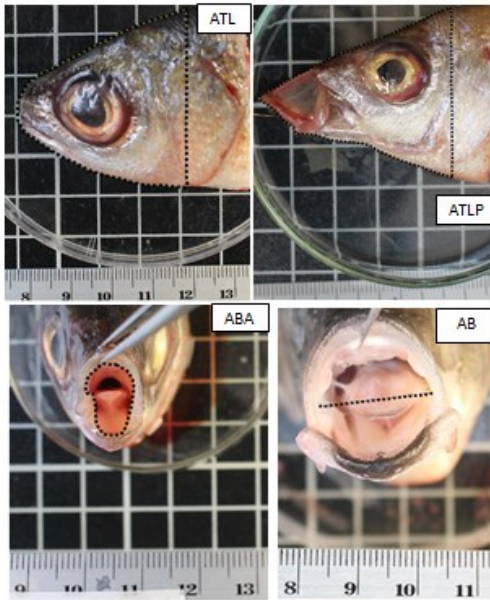
Las muestras fueron transportadas en hielo hasta el laboratorio de la Unidad de Zoología Marina (Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universitat de València) y fueron examinadas en fresco para detectar la presencia de isópodos bucales. Todos los peces infectados (n= 35) fueron medidos tomando tanto longitud estándar, SL, como longitud total, TL y pesados (W). Estas medidas también se tomaron a un total de 60 individuos no infectados de cada especie de hospedador para su posterior análisis. Estos peces fueron seleccionados por presentar tallas similares a los peces infectados para evitar la variabilidad asociada a la edad del pez.

### **2.3 Evaluación de los niveles de infección y valoración de los efectos de *Ceratothoa* spp.**

El descriptor cuantitativo utilizado en el presente estudio fue la prevalencia. Bush y col., (1997) la definen como el número de hospedadores infectados con uno o más individuos de una determinada especie de parásitos (o grupo taxonómico), dividido por el número de hospedadores examinados, expresado en porcentaje. La abundancia (i.e. el número total de individuos de una especie de parásito dividido por el número total de peces examinados en una muestra) e intensidad (i.e. el número total de individuos de una especie de parásito dividido por el número de peces infectados por esta especie de parásito en la muestra) fueron descartados como descriptores cuantitativos debido a que cada pez infectado normalmente se encontró parasitado por una hembra y un macho de cimotoido.

Para determinar el efecto del parásito sobre la condición corporal de los hospedadores y su morfología tanto a los peces infectados como no infectados les fue separada la cabeza para tomar fotografías bajo diferentes ángulos, utilizando cámara fotográfica de la marca Canon®, puesta en una escala Kaiser RTX®. Se procedió a realizar las siguientes mediciones en 34 peces de los infectados (7 bogas y 27, espícaras) así como en 60 peces no infectados (20 bogas, 20 espícaras y 20 lubinas), con el fin de inferir el espacio dejado por el parásito para que el pez pueda alimentarse. Se tomaron en cuenta el peso del parásito W-(g) tanto de la hembra (WH) como del macho (WM), volumen (ml) en hembra (VolH) y en macho (VolM); así como a utilizar las siguientes fórmulas, cuyas siglas se exponen en las figuras 2 y 3:  $ALB_{ratio}\% = 1 - (ALPB/ALB) \times 100$  (que representa el área de la cavidad bucal lateral libre de parásito) y  $ABA_{ratio}\% = 1 - (VAP/ABA) \times 100$  (que representa el área de la abertura bucal libre de parásito) para los peces

infectados. En el presente estudio únicamente se valoró el efecto de la hembra sobre el hospedador, ya que los machos son de mucho menor tamaño y tienen una posición posterior, por lo que se asumió que su efecto sobre el hospedador era despreciable. También, se valoró el efecto de la infección sobre el factor de condición corporal (K factor %) =  $(W / L^3) \times 100$ ; donde W es el peso del pez, en gramo y L, la longitud total en centímetro.



**Figura 2.** Mediciones en los peces y sus abreviaturas. ATL= Área total de la cabeza con boca no proyectada en vista lateral, rodeando todo el borde de la cabeza hasta la segunda línea del opérculo. ATLP= Área total de la cabeza con boca proyectada en vista lateral, medición tomada hasta la segunda línea del opérculo. ABA= Apertura bucal apical, tomando el borde interior labial. AB= Anchura de la boca en vista apical, desde una comisura labial a la otra, en su punto más ancho.

Se realizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM) para evaluar el efecto de los factores “infectado/no infectado” sobre las mediciones realizadas (para ello se transformaron logarítmicamente las medidas). Se realizaron dos tipos de GLM, por un lado tomando en cuenta las cinco variables morfométricas no correlacionadas (ATL, ATLP, AB, ALBratio%, ABAratio%) y la variable de condición del pez (K factor) y por otro, tomando en cuenta estas mismas variables morfométricas y las variables de peso (W) y talla del pez (TL). Todas las variables para ambos análisis fueron transformadas logarítmicamente. Así se evaluó la relación entre el espacio ocupado por el parásito en la boca (ALBratio% y ABAratio%) y las variables morfológicas ATL, ATLP y AB, así como las variables

asociadas a la condición del pez (K factor, TL y W) no paramétricas, utilizando únicamente los animales infectados (correlación de Spearman).



**Figura 3.** Mediciones en los peces, parásitos y sus abreviaturas. VAP= Vista apical parásito, delimitando su borde visible. ALPB= Área de la cavidad bucal ocupada por el parásito hembra en vista lateral. ALB= Área de la cavidad bucal en vista lateral, tomada sin opérculo y por debajo de las branquiespinas y PL= área del parásito tanto hembra (PLH) como macho (PLM), medido de acuerdo a posición en el pez y fuera de la boca del hospedador.

Finalmente, se construyeron GLM para evaluar las diferencias morfométricas entre las tres especies, seguidos posteriormente por un test *post hoc* de Tukey. Para ello se utilizaron los datos de los peces no infectados y se construyeron los modelos utilizando cinco variables morfométricas transformadas logarítmicamente (ATL, ATLP, ABA, AB y ALB) y utilizando como covariable la talla de los peces.

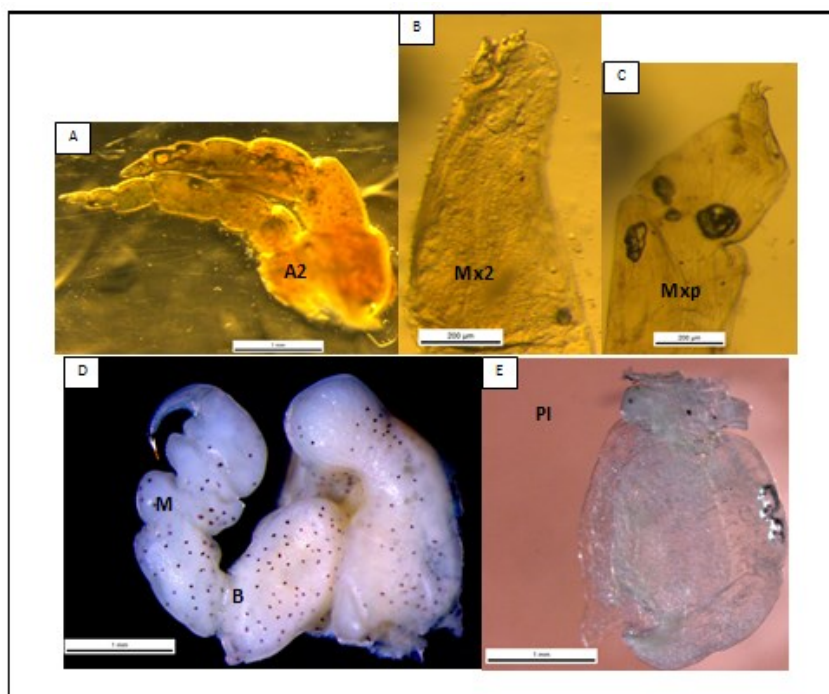
Todos estos análisis se realizaron mediante el programa estadístico STATISTICA v8.0.

#### **2.4 Estudio taxonómico de *Ceratothoa* spp.**

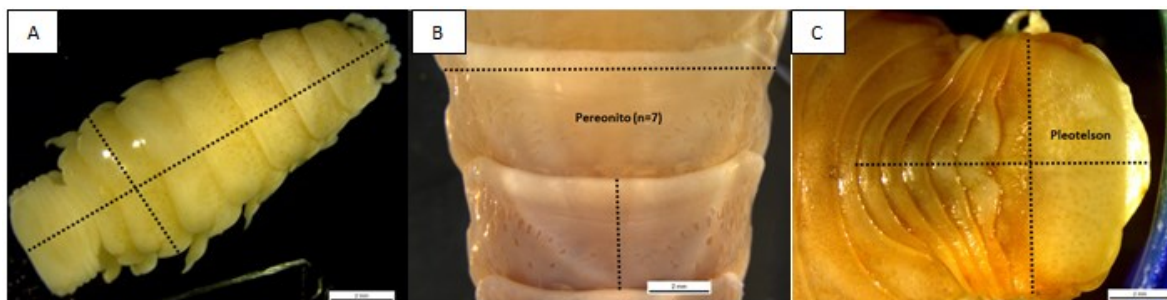
Una vez realizado las mediciones anteriormente citadas se procedió a limpiar los isópodos con solución salina al 0.9 %. Posteriormente, fueron pesados individualmente y se determinó el peso y el volumen de cada individuo. Cada parásito fue individualmente etiquetado. Parte de las muestras fueron fijadas y conservadas en etanol 100%, para su posterior estudio genético, mientras que las muestras para el estudio morfológico fueron conservados mediante congelación a -20 °C.

### 2.4.1 Análisis Morfológico de *Ceratothoa* spp.

Para el estudio morfológico de las diferentes especies de *Ceratothoa* se realizaron dibujos científicos de 4 especímenes (tanto hembras como machos) encontrados en bogas y espícaras, utilizando un tubo de dibujo asociado a una lupa óptica (Lupa Leica® MZ APO). También, fueron fotografiados 50 ejemplares, utilizando cámara Leica®, Modelo DFC295. Por un lado, se analizaron los apéndices cefálicos (Figura 4), y por otro, se tomaron distintas mediciones, como anchura y longitud de los diferentes segmentos torácicos (i.e. pereionitos) y del tagma abdominal (i.e. pleotelson) (Figura 5).



**Figura 4.** Apéndices cefálicos y torácicos de isópodos cimotoides. A, antena (A2). B, maxilas (Mx2) C, maxilípedos (Mxp). D, Apéndices torácicos o pereiópodos indicando dos de sus segmentos, *Merus* o mero (M) y *Basis* o basidiopodito (B). E, apéndices abdominales o pleópodos (Pl).



**Figura 5.** Medidas realizadas a los individuos en vista dorsal para el estudio morfométrico. A, Longitud y anchura total del individuo. B, Longitud y anchura de cada pereonito. C, Longitud y anchura del pleotelson completo.



#### 2.4.2 Análisis Molecular de *Ceratohoa* spp.

Para el estudio molecular fueron analizados 12 parásitos, seis de bogas y seis de espícaras. La muestra de tejido se obtuvo del pereiópodo derecho número cuatro de cada uno de ellos, el cual fue fotografiado antes de ser procesado. Posteriormente se llevó a cabo la extracción siguiendo el protocolo BT Chelex® 100. Se añadió 400µl de Chelex 5% y 4 µl de proteinasa K (Roche), incubando la muestra a 56°C durante toda la noche y posteriormente calentándolo durante ocho minutos a 96°C para desactivar la proteinasa.

Para la amplificación de los fragmentos del gen mitocondrial de la sección Citocromo C Oxidasa subunidad I (*cox1*) se utilizó el kit Ready-To-Go™ (Amersham Pharmacia Biotech), PCR Beads y los primers LCO1490: 5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G 3', como *forward* y HC02198: 5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3', como *reverse* (Former y col., 1994), utilizando el siguiente perfil de termociclado: 95°C durante tres minutos, seguido de 35 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 50°C y 60 segundos a 72°C y, por último, 10 minutos a 72°C para finalizar la extensión (Mladineo y col., 2009).

La confirmación de la presencia de fragmentos amplificados se realizó con un gel 1% agarosa en tampón sodio acetato. La purificación del ADN para la secuenciación se realizó a partir de la muestra obtenida de la PCR, utilizando el QIAquick PCR Purification Kit (QUIAGEN). Las muestras fueron enviadas a secuenciar al laboratorio MACROGEN, en Holanda. Las secuencias obtenidas fueron tratadas mediante el programa BioEdit y se compararon con la base de datos de NCBI utilizando BLAST para obtener las diferencias y similitudes que tienen con otros cimotoidos y entre ellos mismos (Tabla 2).

Las secuencias fueron alineadas utilizando ClustalW implementado de MEGA v6 (Tamura y col., 2013) con referencia a la translocación de aminoácidos, utilizando los códigos mitocondriales de invertebrados (Ketmaier y col., 2007). El árbol filogenético fue construido utilizando Neighbour-Joining (NJ) con MEGA v6 usando el modelo de Kimura de dos parámetros de sustitución de bases. Las distancias genéticas (Distancias genéticas “p” sin correcciones) fueron calculadas con MEGA v6.

**Tabla 2.** Relación de las secuencias utilizadas para la realización del árbol filogenético, indicando en cada caso los ejemplares utilizados, el hospedador, la localidad, el número de acceso en la base de datos del NCBI y la referencia bibliográfica.

<b>Especie</b>	<b>Hospedador</b>	<b>Localidad</b>	<b>Nº acceso</b>	<b>Referencia</b>
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240276	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240277	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa italica</i>	<i>Lithognathus mormyrus</i>	Sabaudia (Italia)	EF455813	Ketmaier y col., 2007
<i>Ceratothoa italica</i>	<i>Lithognathus mormyrus</i>	Sabaudia (Italia)	EF455815	Ketmaier y col., 2007
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Sparus aurata</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240266	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Sparus aurata</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240267	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Boops boops</i>	Vigo (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Boops boops</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240272	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa oestroides</i>	<i>Boops boops</i>	Malisnova (Croacia)	GQ240274	Mladineo y col., 2009
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Spicara maena</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Spicara maena</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Spicara maena</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Spicara maena</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Spicara maena</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Ceratothoa parallela</i>	<i>Boops boops</i>	Santa Pola (España)	-	Presente estudio
<i>Olencira praegustator</i>	-	USA	AF260844	Wetzer, 2001
<i>Olencira praegustator</i>	-	Carolina del Sur (USA)	AF255791	Wetzer, 2001
<i>Nerocila bivittata</i>	<i>Sarpa salpa</i>	Sabaudia (Italia)	EF455819	Ketmaier y col., 2007
<i>Elthusa vulgaris</i>	-	USA	AF255790	Wetzer, 2001
<i>Anilocra physodes</i>	<i>Symphodus tinca</i>	Sabaudia (Italia)	EF455817	Ketmaier y col., 2007
<i>Anilocra physodes</i>	<i>Symphodus tinca</i>	Sabaudia (Italia)	EF455818	Ketmaier y col., 2007

### III. RESULTADOS

#### 3.1 Niveles de infección de *Ceratothoa* spp. en el Mediterráneo y en el Atlántico

De las 266 bogas analizadas, 141 provenían del Mediterráneo y 125 del Atlántico. En el Mediterráneo resultó únicamente un pez infectado por *Ceratothoa*, por lo que la prevalencia global de este parásito fue 0,71%. Este único pez infectado fue detectado en otoño, no detectándose ninguna infección en primavera (ver prevalencias en Tabla 3). En la muestra adicional tomada en primavera en el Atlántico la prevalencia fue de un 5,6 % (i.e. siete peces estaban infectados). De las 355 espícaras recolectadas en el Mediterráneo, 27 se encontraban infectadas por individuos del género *Ceratothoa*, obteniendo una prevalencia global de 8,1%. La prevalencia del parásito en esta especie de hospedador fue de un 13,8% en la muestra de otoño y de 2,6% en primavera. En cuanto a las lubinas, los individuos

recolectados en la empresa de piscicultura no se encontraban infectados. Todos los parásitos detectados eran adultos tanto en *S. maena* como en *B. boops*, exceptuando un juvenil detectado en una boga del atlántico.

**Tabla 3.** Prevalencia (P%) de *Ceratothoa* spp. en especies infectadas en el Mediterráneo y en Atlántico, de acuerdo a la estacionalidad.

Especie	Mediterráneo				Atlántico	
	Infectadas otoño		Infectadas primavera		Infectadas primavera	
	n	P%	n	P%	n	P%
<i>Boops boops</i>	1	1,2	0	0	7	5,6
<i>Spicara maena</i>	22	13,8	5	2,6	-	-
<i>Dicentrarchus labrax</i>	-	-	0	0	-	-

### 3.2 GLM y Correlación entre el efecto del parásito sobre condición corporal de los hospedadores y la morfología de su cabeza. Diferencias Morfológicas entre las tres especies de pez.

En *B. boops*, los GLM construidos con la variable K factor y las cinco variables morfométricas (Tabla 4) indicaron que existía un efecto significativamente del factor “infectado/no-infectado” sobre las variables ( $F_{(6, 10)}=41,22$ ;  $p<0,0001$ ). En estos modelos se observó que únicamente tres de las cinco variables se veían afectadas siendo mayores los valores de ABRatio% ( $F_{(1, 15)}=247,88$   $p< 0,0001$ ) y ALBratio% ( $F_{(1, 15)}=107,26$   $p< 0,00001$ ) y menores los valores AB ( $F_{(1, 15)}=6,0$   $p = 0,03$ ) en peces no infectados. En cuanto a los modelos producidos utilizando las cinco variables morfométricas, más el peso y la longitud del hospedador indicaron también (aunque con un valor de F menor) que existía un efecto significativo del factor “infectado/no-infectado” ( $F_{(7, 9)}=31,43$ ;  $p<0,001$ ), viéndose afectadas únicamente las tres variables comentadas anteriormente.

A la hora de valorar la correlación existente entre las diferentes variables asociadas al espacio ocupado por *Ceratothoa* spp. en la boca y las variables morfométricas y de condición del pez se observó que para la boga existía únicamente una correlación negativa entre ALBratio% y LT ( $r_s= -0,87$   $p<0,05$ ).

**Tabla 4.** Promedio y desviación estándar (SD) de diferentes mediciones en bogas y en espícaras infectadas y no infectadas. \*

Factor	Boga		Espícara	
	Infectada	No infectada	Infectada	No infectada
<b>K factor</b> *	1,03±0,05	0,94±0,05	1,12±0,11	1,07±0,16
<b>W (g)</b> †	170,03±16,92	203,50±33,73	44,70±11,77	45,20±9,38
<b>TL (cm)</b> †	25,47±0,72	27,82±1,24	15,76±1,13	16,14±1,23
<b>SL(cm)</b>	21,67±0,68	22,75±0,94	13,2±0,88	13,50±1,09
<b>ATL (mm<sup>2</sup>)</b> *,†,‡	156,06±9,79	158,20±15,7	106,89±9,8	102,7±12,16
<b>ATLP(mm<sup>2</sup>)</b> *,†,‡	160,14±6,43	165,82±10,54	120,72±9,93	118,38±11,13
<b>ABA(mm<sup>2</sup>)</b> ‡	29,65±1,84	29,52±5,18	20,95±3,57	18,02±2,97
<b>ABAratio (%)</b> *,†,‡	21,85±17,45	100,00±0,00	13,15±10,20	100,00±0,00
<b>VAP(mm<sup>2</sup>)</b>	23,21±5,41	-	18,06±3,04	-
<b>AB(mm)</b> *,†,‡	8,37±0,57	7,60±1,22	5,79±0,87	4,93±0,82
<b>ALPB(mm<sup>2</sup>)</b>	57,41±17,96	-	45,45±10,42	-
<b>ALB(mm<sup>2</sup>)</b> †	89,60±6,15	95,48±3,17	60,71±6,07	59,56±6,04
<b>ALBratio (%)</b> *,†	35,94±20,37	100,00±0,00	24,89±16,10	100,00±0,00
<b>PLH (mm<sup>2</sup>)</b>	71,89±23,59	-	53,51±6,13	-
<b>PLM (mm<sup>2</sup>)</b>	39,28±3,84	-	26,95±3,63	-
<b>WH (g)</b>	0,84±0,73	-	0,50±0,17	-
<b>WM (g)</b>	0,09±0,08	-	0,04±0,02	-
<b>VolH (ml)</b>	1,05±0,63	-	0,49±0,17	-
<b>VolM (ml)</b>	1,15±0,07	-	0,08±0,02	-

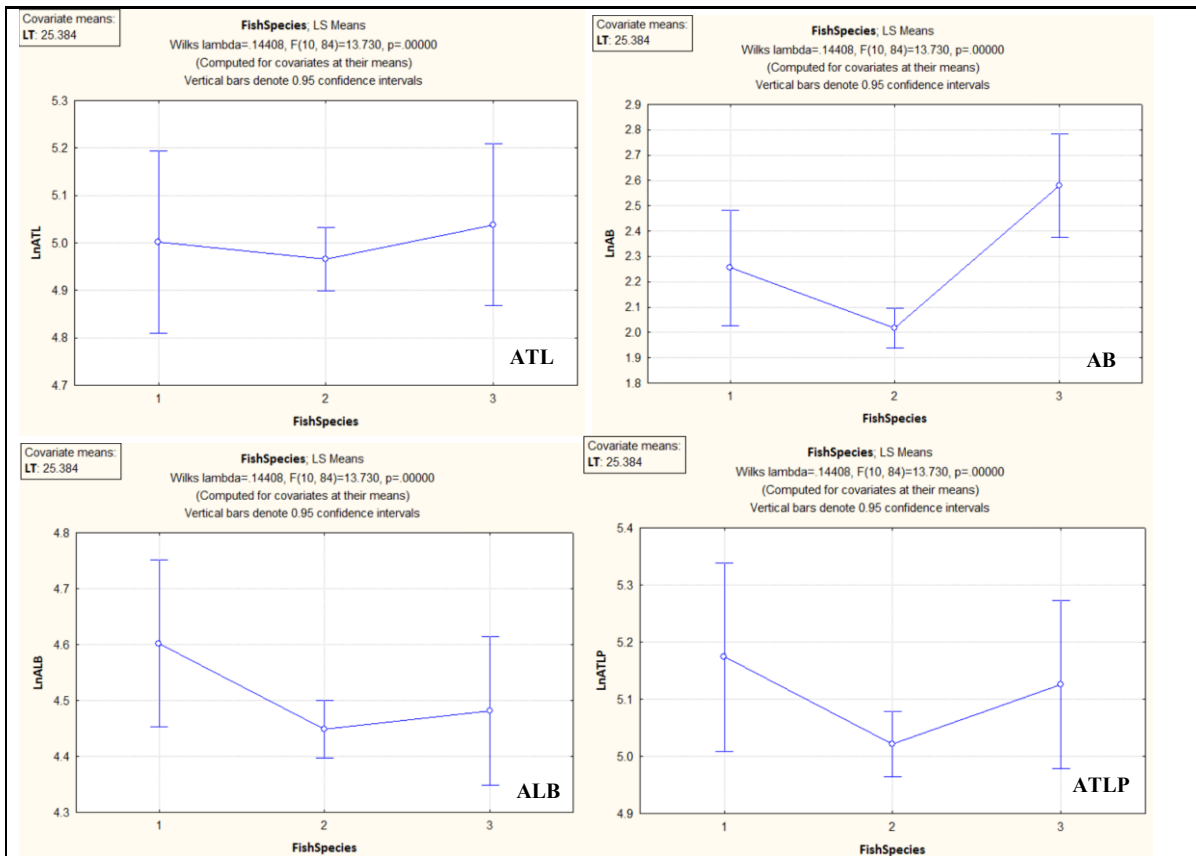
\*Variables utilizadas en el primer modelo lineal generalizado realizados para la boga y espícara separadamente; † variables utilizadas en el segundo modelo lineal generalizado realizados para la boga y espícara separadamente; ‡ variables utilizadas en el tercer modelo lineal generalizado realizados para comparar las tres especies de hospedador.

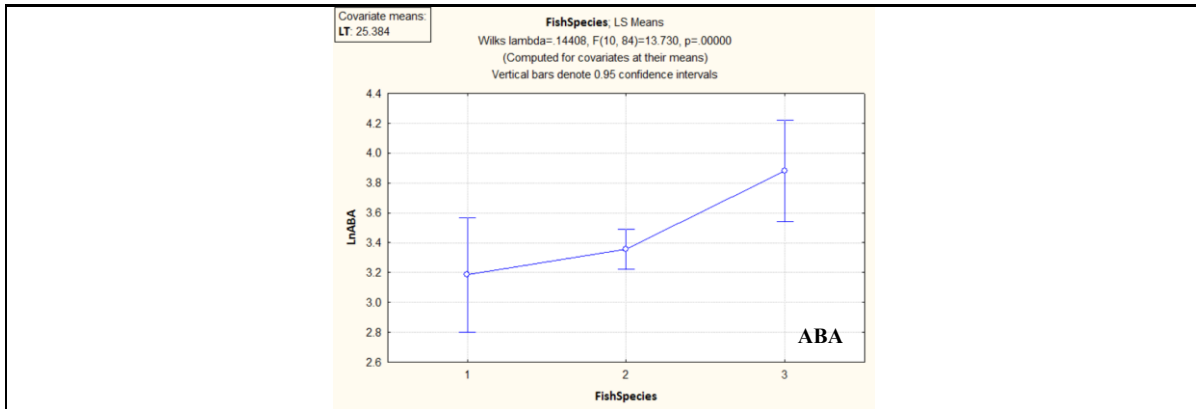
En el caso de *S. maena*, los GLM construidos basándose en los cinco parámetros morfológicos y en el factor de condición K, se observó que el factor “infectado/no infectado” contribuía significativamente en sus valores ( $F_{(6, 40)}=43$ ;  $p<0,001$ ). En estos modelos se observó que las mismas tres variables detectadas para la boga eran las que se veían significativamente afectadas, presentando valores ABAratio% ( $F_{(1, 45)}=124,83$ ;  $p<0,001$ ) y ALB% ( $F_{(1, 45)}=147,67$ ;  $p<0,001$ ) mayores y de AB ( $F_{(1, 45)}=11,54$ ;  $p<0,001$ ) menores los peces no infectados. En los GLM producidos utilizando las cinco variables morfométricas, más el peso y la longitud del hospedador se observó que existía también un efecto del factor “infectado/no infectado” (en este caso presentando un valor de F mayor; ( $F_{(7, 39)}=250,06$ ;  $p<0,001$ ), siendo únicamente afectadas las tres variables comentadas anteriormente.

En cuanto a la correlación existente entre las variables asociadas al espacio ocupado en la boca y el resto de variables morfométricas, además de las relacionadas con la

condición del pez se observó que para espícará existía únicamente una correlación negativa entre ALBratio% y AB ( $r_s = -0,45$   $p < 0,05$ ).

Se realizó un tercer análisis multivariado para evaluar las diferencias morfológicas entre las tres especies (ver tabla 4). Los GLM construidos para valorar qué características morfológicas se veían afectadas por el factor “especie”, utilizando la variable LT, indicó que hubo diferencias significativas entre ellas ( $F_{(10, 84)} = 13,73$ ;  $p < 0,001$ ), viéndose afectadas las cinco variables: ATL ( $F_{(3, 46)} = 289,09$ ;  $p < 0,001$ ), ATLP ( $F_{(3, 46)} = 360,99$ ;  $p < 0,001$ ), ABA ( $F_{(3, 46)} = 185,34$ ;  $p < 0,001$ ), AB ( $F_{(3, 46)} = 603,26$ ;  $p < 0,001$ ) y ALB ( $F_{(3, 46)} = 422,35$ ;  $p < 0,001$ ). Los test de Tukey demostraron diferencias significativas para todas las variables entre todas las especies de peces ( $p < 0,0001$ ), siendo las medidas de la boga menores y las de la lubina mayores con una posición intermedia de la espícará para ATL y AB; mientras que los valores de ALB y ATLP eran más altos para espícará que para lubina o boga (presentando valores más altos la lubina que la boga). ABA presentaba valores más altos para la lubina, seguido de la boga y la espícará (ver Figura 6).





**Figura 6.** Comparación de la morfología entre las especies modelo. 1: Espícaro. 2: Boga y 3: Lubina.

### 3.3. Descripción morfológica de *Ceratothoa* spp.

#### *Ceratothoa oestroides* (Figura 7)

Hospedador: *Boops boops*

Localidad: Vigo y Plentzia (Atlántico Nordeste)

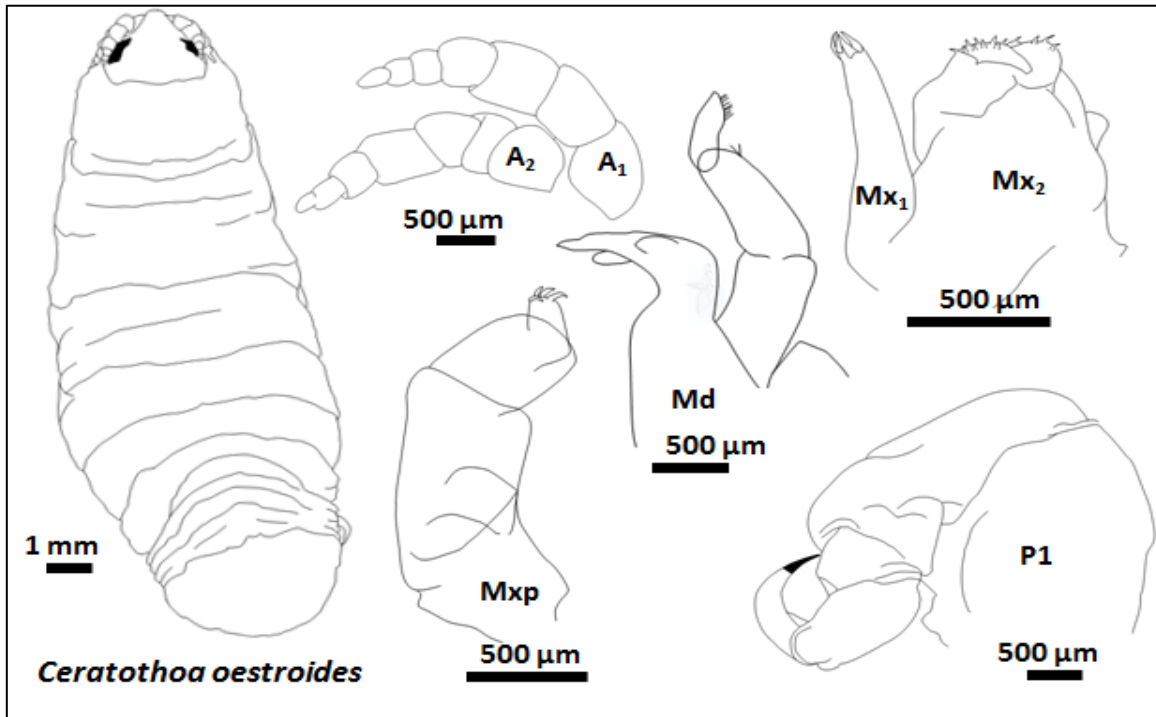
Localización en el hospedador: cavidad bucal; hembras sobre la lengua (Figura 8).

[Descripción basada en 6 hembras y 3 machos preservados mediante congelación].

**Hembra:** Longitud de 9,58–34,17 (26,24) mm y anchura máxima 3,47–13,04 (9,62) mm, siendo 2,4–2,8 veces más largo que ancho. Cuerpo trapezoidal alcanzando anchura máxima en el pereionito 5, 3,47–13,04 (9,62) mm. Pereionito 1–4 con borde anterior y posterior recto y liso; pereionito 5–7 con curvatura central convexa principalmente marcada en pereionito 7. Longitud de pereionitos 1 al 4 mayor que 5–7 (Tabla 5). Incremento relativamente abrupto en la anchura de pereionitos, desde pereionito 1 a pereionito 5, seguido de una disminución en pereionito 6 y 7, siendo el pereionito 1 el más estrecho (Tabla 5). Pleon, 3,33–9,72 (7,59) y anchura 2,32–9,73 (6,91). Pleonitos 1–4 de similar tamaño y forma con borde anterior y posterior convexos y lisos. Pleonito 5 con borde anterior convexo y posterior recto, ambos lisos. Cephalon (cefalón= cabeza), longitud 0,48–2,68 (1,99) mm y anchura 2,7–4,5 (3,88) mm. Ojos ovales con márgenes marcados. Anténulas ( $A_1$ ) con 7 artejos y Antenas ( $A_2$ ) con 7–8 (8) artejos, ambos apéndices sin ornamentación, pero las anténulas presentan un grupo de sedas cortas en el último.

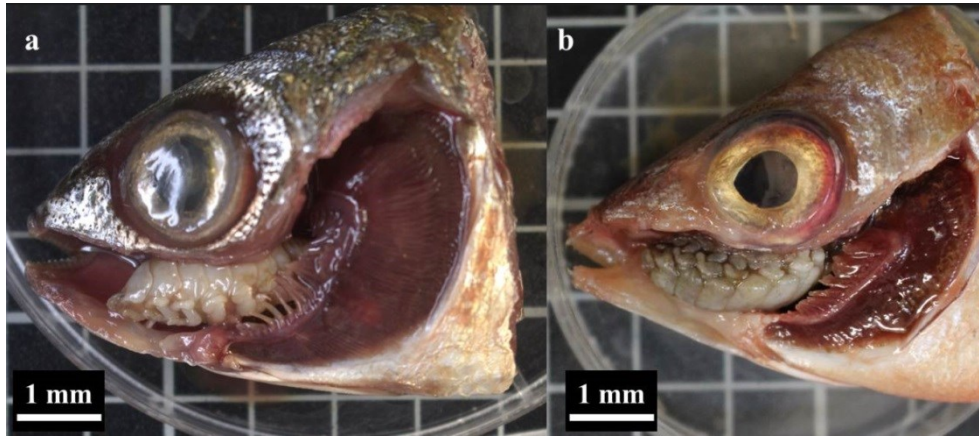
Mandíbula con palpo mandibular formado por 3 artejos con 6–7 sedas. Proceso mandibular bilobulado con lóbulo inferior reducido. Maxílula ( $Mx_1$ ) con 4 sedas en el extremo distal,

espinosas curvadas. Maxila ( $Mx_2$ ), con 7–8 setas espinosas muy contundentes, dispuestos en dos rangos, generalmente alternos en el endito de la coxa y en el endito de la base. Maxilípodo ( $Mxp$ ), con un palpo de tres artejos con 3–4 sedas espinosas en su parte distal y un oostegito lamelar. Pleotelson 0,7–2,3 veces más ancho que largo con borde irregular.



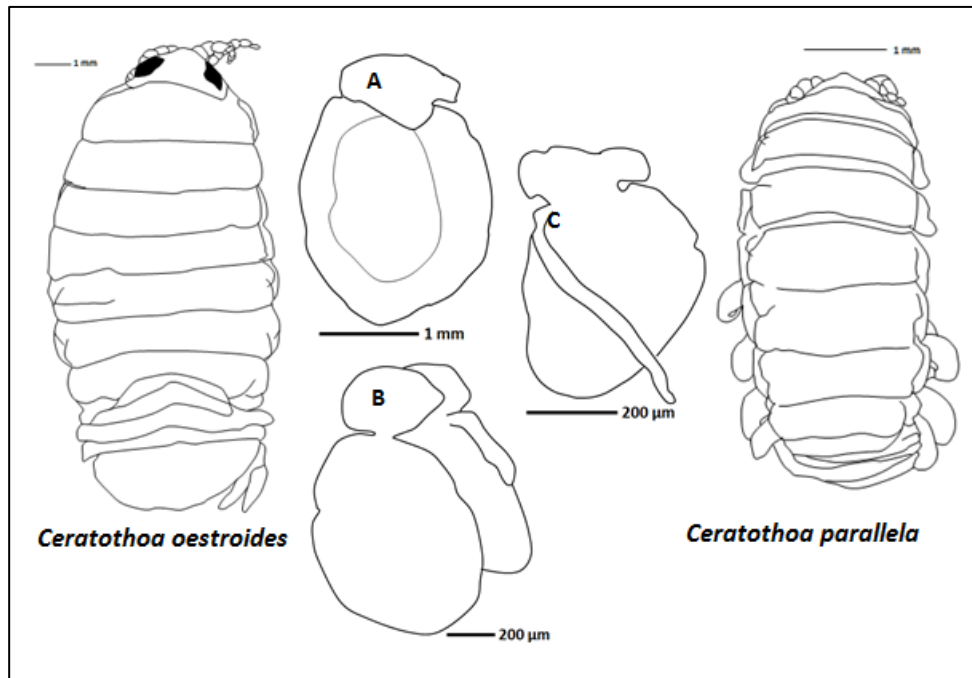
**Figura 7.** Dibujo científico de *Ceratothoa oestroides* y de apéndices clasificatorios en hembras. Apéndices cefálicos: anténula (A1), antena (A2), mandíbula (Md), maxilas ( $Mx_1$ ) y maxilípedos ( $Mx_2$ ). Torácicos: pereiópodo 1.

Siete pares de pereiópodos, que crecen en tamaño después del primer par hasta los últimos. Sin ornamentación. Basipoditos (*basis*) ensanchados con forma regularmente redondeada y sin expansiones (ensanchamiento gradual del pereiópodo 1 a 7, siendo particularmente ancho en el pereiópodo 7). Con expansión en el mero (*merus*) en los pereiópodos 1 al 3. Cinco pares de pleópodos con exopodito más grande que endopodito. Urópodos bien desarrollados, su extensión no supera el borde posterior del pleotelson.



**Figura 8.** Posición del parásito en el hospedador: a, posición de *C. oestroides* y b, posición de *C. parallela*.

Macho: Muy similares, siendo la hembra 2,5–2,7 veces más grande que el macho. Longitud 11,45–12,62 (11,87) y anchura máxima 4,36–5,54 (5,05), 2,2–2,6 veces más largo que ancho. Pleópodo 2 sin “apéndice masculino” (Figura 9).



**Figura 9.** Dibujo científico de especies machos de *Ceratothoa* y “Apéndice masculina”, localizado en el endopodito del pleópodo 2. A, *C. oestroides*, ausente; B, *C. parallela* en macho inmaduro y C, macho sexualmente.

### *Ceratothoa parallela* (Figura 10)

Hospedadores: *Spicara maena*, *Boops boops*

Localidad: Santa Pola (Mediterráneo)



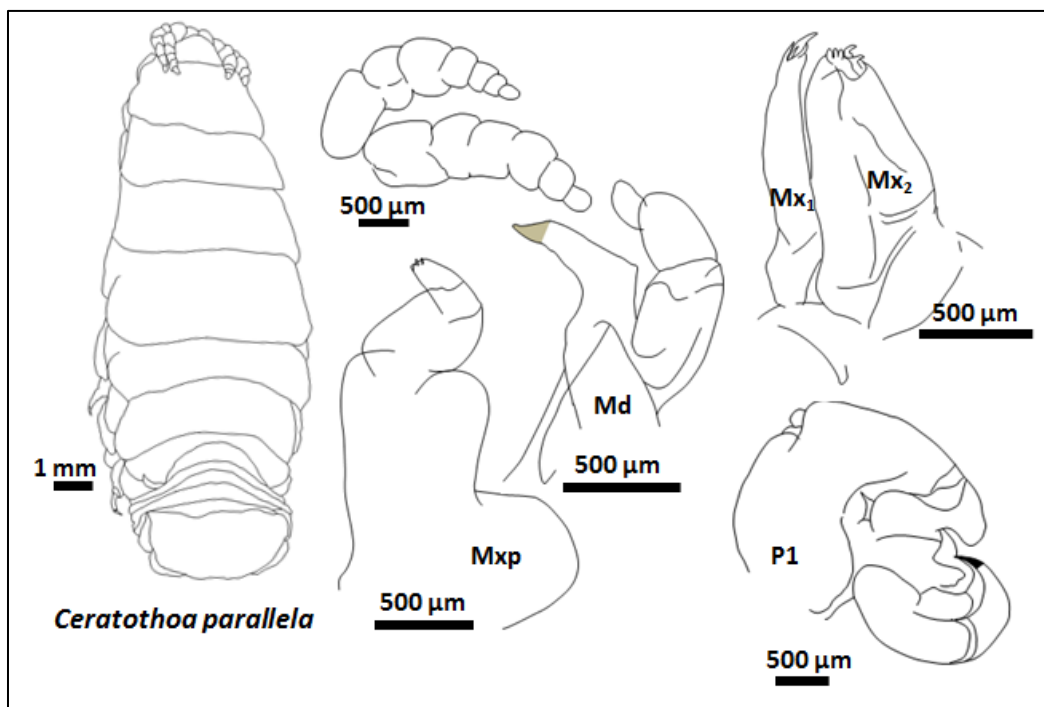
Localización en el hospedador: cavidad bucal; hembras adheridas al paladar (Figura 8b).

[Descripción basada en 5 hembras y 3 machos preservados mediante congelación].

Hembra: Longitud 13,49–22,71 (18,03) y anchura máxima 5,00–9,54 (7,71), siendo 1,7–2,8 veces más largo que ancho. Cuerpo alargado con bordes laterales sensiblemente paralelos con anchura máxima a la altura del pereionito 5. Cephalon, longitud 0,35–1,16 (0,61) y anchura 0,96–3,04 (1,63). Ojos ovales con márgenes marcados. Pereionitos 1–4 con borde anterior y posterior recto y liso. Pereionito 5–7 con curvatura central convexa principalmente marcada en pereionito 7. Longitud de pereionitos 3–4 mayor que 1, 2, 6 y 7 (Tabla 5). Pleon, longitud 2,46–5,30 (3,69) y anchura 3,32–6,94 (4,94). Pleonitos 1–4 de similar tamaño y forma con borde anterior y posterior levemente convexos y lisos. Pleonito 5 con borde anterior ligeramente convexo y posterior recto, ambos lisos. Pleotelson 1,4–4,5 veces más ancho que largo con borde irregular.

Anténulas ( $A_1$ ) con 7 artejos y Antenas ( $A_2$ ) con 5–8 (7) artejos, ambos con ornamentación. Mandíbula con palpo mandibular formado por 3 artejos con 3 sedas. Proceso mandibular bilobulado con lóbulo inferior reducido. Maxílula ( $Mx_1$ ) con cuatro sedas en el extremo distal, espinosas curvadas. Maxila ( $Mx_2$ ), con setas espinosas muy contundentes, con 1–2 setas espinosas en el endito de la base y una hilera regulares de seis sedas espinosas idénticas en el endito de la coxa. Maxilípodo ( $Mxp$ ), con un palpo de tres artejos con 5–6 sedas espinosas en su parte distal y un oostegito lamelar.

Siete pares de pereiópodos sin ornamentación, en los que la talla crece después de los primeros pares hasta el séptimo. Basipoditos ensanchados de manera significativa y con expansiones laterales, a partir del cuarto par especialmente en el séptimo par. Expansión en el mero (*merus*) de pereiópodos (especialmente marcada en pereiópodos 1-5). Cinco pares de pleópodos con exopodito más grande que endopodito. Urópodos bien desarrollados, su extensión no supera el borde posterior del pleotelson.



**Figura 10.** Dibujo científico de *Ceratothoa parallela* y de apéndices clasificatorios en hembras. Apéndices cefálicos: antena (A2), maxílula (Mx1), maxilas (Mx2), mandíbula (Md), y maxilípedos (Mx2) y apéndices torácicos: pereiópodos 1.

**Macho:** Muy similares, siendo la hembra 1,9–3,9 veces más grande que el macho. Longitud 5,08–9,26 (7,16) y anchura máxima 1,71–4,32 (3,22), siendo 1,7–3 veces más largo que ancho. Pleópodo 2 con “apéndice masculino” de márgenes paralelos que supera en longitud al borde del endopodito (Figura 9).

**Tabla 5.** Promedio y desviación estándar  $\pm$ SD (rango) de diferentes mediciones de *Ceratothoa*.

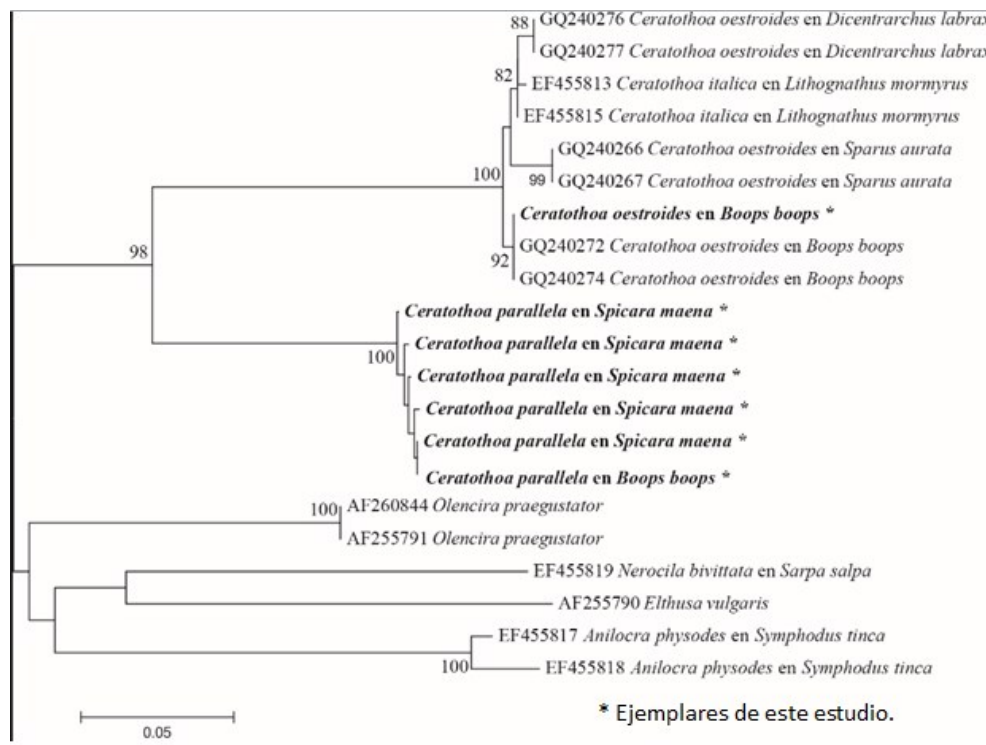
Parámetros	<i>Ceratothoa oestroides</i>		<i>Ceratothoa parallela</i>	
	Hembra	Macho	Hembra	Macho
Longitud Parásito(mm)	26,24 $\pm$ 8,53	11,87 $\pm$ 0,65	18,03 $\pm$ 2,12	7,16 $\pm$ 1,46
	(9,58–34,17)	(11,45–12,62)	(13,49–22,71)	(5,08–9,26)
Anchura parásito(mm)	9,62 $\pm$ 3,20	5,05 $\pm$ 0,61	7,71 $\pm$ 0,97	3,22 $\pm$ 0,67
	(3,47–13,04)	(4,36–5,54)	(5,00–9,54)	(1,71–4,32)
Longitud del cefalón (mm)	1,99 $\pm$ 0,78	0,83 $\pm$ 0,38	0,61 $\pm$ 0,26	0,50 $\pm$ 0,25
	(0,48–2,68)	(0,41–1,15)	(0,35–1,16)	(0,20–0,73)
Anchura del cefalón (mm)	3,88 $\pm$ 0,70	1,9 $\pm$ 0,20	1,63 $\pm$ 0,52	1,31 $\pm$ 0,25
	(2,7–4,5)	(1,7–2,10)	(0,96–3,04)	(1,02–1,60)
Longitud Pleotelson (mm)	7,59 $\pm$ 2,34	3,43 $\pm$ 0,29	3,69 $\pm$ 0,61	2,20 $\pm$ 1,14
	(3,33–9,72)	(3,15–3,72)	(2,46–5,30)	(1,41–4,94)
Anchura Pleotelson (mm)	6,91 $\pm$ 2,43	3,73 $\pm$ 0,46	4,94 $\pm$ 0,71	2,28 $\pm$ 1,16
	(2,32–9,73)	(3,22–4,10)	(3,32–6,94)	(0,97–4,96)
Longitud LS1	3,34 $\pm$ 1,21	1,51 $\pm$ 0,37	1,64 $\pm$ 0,36	0,73 $\pm$ 0,33

<b>Segmento Pereionito (LSn)(mm)</b>		(1,19–4,68)	(1,08–1,76)	(0,61–2,29)	(0,33–1,24)
	<b>LS2</b>	2,59 ±1,20	1,09±0,04	1,70 ±0,27	0,76 ±0,25
		(0,75–4,36)	(1,06–1,13)	(1,15–2,24)	(0,32–1,14)
	<b>LS3</b>	2,83 ±1,02	1,27±0,06	2,54 ±0,52	0,97 ±0,27
		(0,77–3,73)	(1,21–1,32)	(0,80–3,34)	(0,47–1,38)
	<b>LS4</b>	3,16 ±1,15	1,21±0,04	2,53 ±0,38	1,07 ±0,29
		(0,85–4,26)	(1,17–1,24)	(1,67–3,08)	(0,55–1,50)
	<b>LS5</b>	2,23 ±1,00	0,95±0,13	2,60 ±0,56	1,03 ±0,27
		(0,78–3,96)	(0,80–1,06)	(1,26–3,43)	(0,57–1,43)
	<b>LS6</b>	1,60 ±0,62	0,92±0,16	1,77 ±0,44	0,76 ±0,20
		(0,55–2,51)	(0,74–1,02)	(0,70–2,799)	(0,36–1,17)
	<b>LS7</b>	1,04 ±0,42	0,62±0,15	0,78±0,16	0,42 ±0,12
		(0,38–1,53)	(0,46–0,76)	(0,57–1,09)	(0,18–0,58)
	<b>LS1</b>	6,71 ±2,05	3,66 ±0,42	4,10±0,62	2,22±0,34
(2,65–8,95)		(3,17–3,91)	(3,11–6,13)	(1,50–2,67)	
<b>LS2</b>	7,77 ±2,29	4,09 ±0,42	5,19±0,77	2,48±0,38	
	(3,20–10,05)	(3,61–3,49)	(3,66–7,67)	(1,61–3,00)	
<b>LS3</b>	8,63 ±2,65	4,45 ±0,57	6,09±0,87	2,67±0,45	
	(3,34–11,14)	(3,81–4,89)	(4,13–8,96)	(1,64–3,25)	
<b>Anchura Segmento Pereionito (LSn)(mm)</b>	<b>LS4</b>	9,35 ±3,03	4,79 ±0,59	7,19±0,89	2,84±0,54
		3,48–12,51	4,13–5,25	4,63–9,19	1,62–3,45
	<b>LS5</b>	9,62 ±3,20	4,99 ±0,62	7,71±0,97	2,99±0,60
		(3,47–13,04)	(4,36–5,60)	(5,00–9,54)	(1,64–3,88)
	<b>LS6</b>	8,35 ±2,63	4,76 ±0,64	6,48±0,81	2,81±0,60
		(3,27–11,05)	(4,19–5,46)	(4,55–8,03)	(1,41–3,59)
	<b>LS7</b>	7,08 ±2,20	4,28 ±0,41	4,61±0,51	2,35±0,56
		(2,70–9,20)	(3,87–4,69)	(3,44–5,92)	(1,16–3,24)

### 3.4 Resultado del Estudio Molecular

Se ha logrado amplificar y obtener secuencias del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa subunidad I (*cox1*) de un total siete muestras (de las 12 tomadas) durante el presente estudio. Los fragmentos obtenidos presentaban entre 685-707 nt. El árbol consenso obtenido mediante el análisis de “Neighbour-Joining” (NJ) (ver Figura 11) visualiza las relaciones entre los diferentes individuos de *Ceratothoa* obtenidos en el presente estudio así como con otras especies congénéricas y especies de diferentes géneros dentro de la familia de los cimotoidos que actuaron como grupos externos (*outgroups*) y también como referencia entre las relaciones de diferentes géneros dentro de esta familia. Por una parte, las nuevas secuencias generadas de los individuos de *Ceratothoa* obtenidos de espícaras claramente indican que es un grupo monofilético junto al único individuo de boga que se encontraba unido al paladar del pez. Todos estos individuos presentaban

características morfológicas similares a las descritas para *C. parallela*. Por otra parte, la única secuencia obtenida de un individuo de *Ceratothoa* unido a la lengua de un boga, formaba un grupo monofilético con las secuencias obtenidas para *C. oestroides* en bogas recolectadas en el Mediterráneo Este (secuencias disponible en GenBank, ver tabla 2). Sin embargo, estaba separado de otro grupo de *C. oestroides* descritas en dorada, *Sparus aurata*, y lubina, *Dicentrarchus labrax* (secuencias disponibles en GenBank), que a su vez está agrupado con unas secuencias obtenidas de *Lithognathus mormyrus* identificadas como *C. italica*.



**Figura 11.** Árbol filogenético de especies cimotoides reconstruido a través de NJ. Se muestra el árbol óptimo con la suma de la longitud de ramas de 0.592. El árbol ha sido dibujado a escala, con longitudes de rama en las mismas unidades que las de las distancias evolutivas utilizadas para inferir el árbol filogenético. Además se eliminaron todas las posiciones ambiguas para cada par de secuencias. El soporte de los clados está dado por bootstrap (1000 repeticiones) indicándose únicamente los valores superiores al 82%.

Las divergencias entre todas las secuencias del clado *C. parallela* (formado por cinco secuencias de espícara y una de boga) eran de 0–0.8% (0–2nt) y se diferenciaban con las secuencias disponibles de *Ceratothoa* en GenBank en 17–18% (66–71 nt) y en 20–27% (75–104 nt) con el resto de especies de diferentes géneros disponibles. La única secuencia de *C. oestroides* de boga obtenida en el presente estudio no difería en ningún nucleótido

con las secuencias disponibles de *C. oestroides* de boga en GenBank y difería en 1,3–2,1% (5–8 nt) con los *C. oestroides* de dorada y lubina. Divergía a su vez en un 0,8–1% (3-4 nt) con los *C. italica* disponibles y en 23–27% (87-105 nt) con el resto de géneros dentro de la familia de los cimotoides. Todas las distancias-p (*p-distances*) calculadas tanto para *C. oestroides* como para *C. parallela* están basadas en un alineamiento de 418 nt.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Niveles de infección de *Ceratothoa* sp.

En el Mediterráneo, los niveles más altos de infección se registraron en las espícaras muestreadas en otoño con valores ligeramente superiores al 10%, mientras que resultó más bajo en primavera. Para las bogas la prevalencia de este parásito no superó el 3%, ni tan siquiera en el atlántico donde se han detectado valores superiores 75% (Pérez-del-Olmo, 2008). En cuanto a las lubinas ninguna de los individuos analizados presentaba parásito y parece no estar presente en la producción en el Mediterráneo Oeste (comunicación personal Piscimar<sup>®</sup>). De acuerdo a Mladineo (2003), sólo ha habido unos pocos casos de infección de cimotoides en lubinas criadas en jaula, asociados a brotes de epizootias graves, y algunos de ellos notificaron a *Ceratothoa oestroides* como agente causal. No obstante, en 2009, registró una prevalencia de 13,3% en la producción de lubina.

### 4.2 Efectos del parásito sobre el hospedador

En el presente estudio fueron observados cambios en la anchura de la boca, tanto para la boga como para la espícara. Además, en la espícara se detectó una relación entre la anchura de la boca y el espacio ocupado por el parásito. En caso de la boga, se observó que hubo una correlación negativa entre la talla del pez y el espacio libre en la boca, lo que pudo estar asociado al bajo número de peces parasitados (sólo siete individuos).

Bottari y col., (2013) reportan que no se detectaron diferencia significativa entre la relación longitud total (LT) y peso total (W) en especímenes de la misma edad, infectados y no infectados por *Ceratothoa*. El factor edad no fue tomado en cuenta en el presente estudio.

Romestand y Trilles, (1979) reportan una ligera disminución en el peso de los peces afectados, en comparación con los peces no infectados, ya que el parásito no ejerce un impacto significativo en la relación peso/tamaño, aunque puede ocurrir retrasos en el crecimiento. Resultados similares reportan Sala-Bozano y col., (2012).

De acuerdo a Carrassón y Cribb (2014), hubo una correlación moderada entre la proporción relativa de área libre de la boca en peces infectados y el tamaño del parásito, pero no ejerce un efecto significativo en la cantidad de alimento ingerido por los peces. Sin embargo, en ninguna de las especies salvajes se pudo observar que el parásito afecte la condición de los peces estudiados. No obstante, resulta necesario realizar un estudio en boga con el objetivo de determinar el efecto de *Ceratothoa oestroides* y *C. parallela*, debido a que el número de animales infectados no resultó ser muy grande. Esta recomendación se hace de igual manera a la espícara, con el fin de valorar si la posición de este parásito en la boca puede afectar su condición corporal.

Hasta la fecha, ninguna de las especies cimotoideos reportadas en lubina y dorada de piscifactoría se conocen como parásitos de estas especies en individuos salvajes. Mientras que los peces marinos salvajes son hospedadores de una amplia variedad de parásitos, a veces el parásito predominante en la producción es bien raro o ausente en las mismas especies en la naturaleza. Sin embargo, si las especies de parásitos dominantes en la acuicultura están presentes en las poblaciones naturales de peces, los efectos adversos son más evidentes en los peces de piscifactoría (Arechavala-Lopez y col., 2013).

Las mediciones obtenidas de las variables morfológicas de las especies modelo resultaron significativas, siendo menores las medidas obtenidas de la boga, intermedias en espícara y en mayor posición, las de lubina (ABA, ATL y AB), aunque la espícara obtuvo mayor significación en ALB y ATLP, la se mantuvo en segundo lugar. En este caso, las mediciones de la boga y espícara no son adecuadas para inferir acerca del efecto que pudiera tener el parásito en la lubina.

Aunque como se ha comentado anteriormente, se considera un parásito relativamente poco habitual en piscicultura (aunque su prevalencia parece estar en aumento) su alto impacto en la producción puede estar asociado al tipo de alimentación de los peces. Las especies en estado salvaje, al verse afectada por *Ceratothoa* spp. pueden cambiar sus hábitos alimenticios, buscando alimento de un tamaño que pueda ser ingerido,

a pesar de estar siendo parasitada, al modificar la anchura de la boca, como lo han hecho la espícaro y la boga. No obstante, en el caso de la lubina criada en jaula, aunque pudiera modificar la anchura de la boca no tiene otra opción para alimentarse, debido a que se le seguirá suministrando pienso del mismo calibre, cual no podrá ingerir, lo que conllevará a pérdida de peso, resultando en pérdidas económicas.

Los peces que se encuentran alrededor de las jaulas aquí en el Mediterráneo occidental tienen niveles de infección bajos, y es por ello que el riesgo de infección debe ser reducido. Por otro lado, Mladineo y col., (2009) reportan que las poblaciones encontradas alrededor de las jaulas no son las mismas que las detectadas en los peces de producción. Cabe recordar que los parásitos van perdiendo su capacidad de natación y no pueden nadar libres por mucho tiempo, por lo que deben encontrar un hospedador lo antes posible. Por lo tanto, los peces que se encuentran alrededor de las jaulas son más propensos a la infección. Se recomienda realizar monitorización continuada en esta zona del Mediterráneo Oeste, con la finalidad de detectar la infección de este parásito, de acuerdo a las posibilidades disponibles.

#### **4.3 Discusión taxonómica de *Ceratothoa oestroides* y *C. parallela***

*Ceratothoa oestroides* se encuentra distribuida a lo largo de todo el Mediterráneo y de las costas del noreste del Atlántico (Trilles, 1994; Horton, 2000; Öktener y Trilles, 2004). La distribución de *Ceratothoa parallela* se superpone a la de *C. oestroides* (Horton, 2000; Öktener and Trilles, 2004; Pérez-del-Olmo y col., 2007; Ramdane y col., 2007; Innal y Kirkim, 2012; Bottari y col., 2013).

*Ceratothoa oestroides* parasita frecuentemente las familias Centranchidae y Sparidae, también Clupeidae, Mullidae y Carangidae. Se ha descrito en *Spicara maena*, *Sardina pilchardus* (Horton, 2000; Öktener and Trilles, 2004). *Ceratothoa parallela* se ha encontrado parasitando particularmente *Boops boops* y rara vez parasita *Dentex vulgaris*, *Sarpa salpa*, *Esocis belonis*, *Spicara chryselis*, *S. maurii*, *S. alcedo*, *Trigla corax*, *Mullus*, *Gadus capelanus*, *Merluccius merluccius*, *Raja asterias*, y *R. clavata*. Parasita a *Spicara maena*. Se ha reportado en *Sparus aurata* producidas en Grecia (Trilles, 1994; Papapanagoitou y Trilles, 2001; Öktener and Trilles, 2004).

Tanto *C. oestroides*, como *C. parallela* se solapan, en cuanto a distribución geográfica y a los hospedadores en los cuales se han descrito. En este estudio *C. oestroides* se encontró parasitando a la boga y *C. parallela* parasitando a boga y espícaro, indistintamente. Por lo tanto, sería interesante realizar una ampliación de este estudio en años próximos, con la finalidad de obtener muestras suficientes, de acuerdo a la estación, para aumentar la n y valorar la incidencia de cada especie de *Ceratothoa* en cada uno de los dos hospedadores.

Los resultados obtenidos en el presente estudio taxonómico concuerdan en cuanto a morfología con lo descrito por Trilles (1968). Además, su posición en la boca varía dependiendo de la especie ya que las hembras localizadas sobre la lengua prácticamente presentaban las mismas características que las descritas por este autor para *Ceratothoa oestroides*, mientras que las hembras localizadas adheridas al paladar fueron todas morfológicamente muy similares a *C. parallela*. No obstante, Carreras-Aubets (2013) encontró a *C. oestroides* sujeta al paladar de la espícaro. Las características morfológicas distintivas entre ambas especies son principalmente la forma del cuerpo de las hembras (cuerpo trapezoidal vs cuerpo alargado con bordes paralelos) así como la presencia/ausencia del apéndice masculino en macho. Existen también diferencias a nivel de distribución y número de sedas en apéndices cefálicos, como los presentes en la mandíbula, maxílula y maxilípodo. Además existen diferencias entre los pereiópodos de ambas especies: mientras *C. oestroides* no presenta expansiones el basidiopodito de los últimos pereiópodos, *C. parallela* sí que los tiene. Además, *C. parallela* se caracteriza por tener una expansión en el mero en todos los pereiópodos, cosa que *C. oestroides* no presenta (sólo pereiópodos 1 al 3). Este último resultado no concuerda con lo descrito por Horton (2000), el cual describe que ninguno de los pereiópodos de *C. parallela* presenta dichas expansiones. Se debe tomar en cuenta que el mero es una característica variable.

El presente estudio demuestra por primera vez una clara diferenciación a nivel molecular entre *C. oestroides* y *C. parallela*, pero *C. oestroides* comparte una secuencia similar con *C. italica*, la cual tiene una distribución parecida a la de *C. oestroides* y *C. parallela* y afecta también a *D. labrax* y *S. maena* (Trilles, 1994; Horton; 2000; Ökter y Trilles, 2004).



En su clave, Horton (2000) reporta que en todos los pereiópodos de *C. italica* tienen una prominente expansión en el *merus*, principalmente 1 al 3, menos prominente del 5 al 7, y el margen posterior de pereionito 5 es insistentemente trisinuado. A pesar de la descripción anterior, no existen estudios morfológicos detallados realizados en esta especie, por lo que interesaría realizar una revisión morfológica de especímenes de *C. italica*. No obstante, la secuencia disponible de *C. italica* es muy similar a la de *C. oestroides* que parasita a *Boops boops*, difiriendo incluso menos de lo que difieren las secuencias de *C. oestroides* tomadas de otros peces, como lubina y dorada, por lo que se recomienda identificación sea sustentada con otros análisis moleculares para solventar este problema.

Para la acuicultura, el hecho de que la hembra de *Ceratothoa oestroides* se localiza en la lengua y la hembra *C. parallela* se encuentra adherida al paladar de su hospedador, así como la forma del cuerpo de cada una de ellas, facilita mucho su identificación por parte de personas que no sean especialistas en el tema.

## V. AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de estar aquí, a mis familiares e hijos por soportar mi ausencia durante todo este tiempo sin exigir nada; así como al Dr. Bolívar Toribio, a la Dra. Ramona Martínez y a cada compañero y amigo del LAVECEN. A mi tutora Ana Pérez del Olmo, por todo su empeño, tiempo, esfuerzo y dedicación brindados. Por último, no por ser menos importante, agradezco a mis hermanos de iglesia, compañeros de master, personal del Cavanilles, tanto estudiantes como profesores, especialmente a María Villora, por facilitar gustosamente su instrumental de trabajo y ayudarme con ciertas mediciones, al igual que a Jacqueline Grant. Muchas gracias a todos, ya que de una forma u otra han contribuido directa e indirectamente en el desarrollo y culminación de mis estudios.

## VI. LITERATURA CITADA

- Arechavala-López, P., Sánchez-Jerez, P., Bayle-Sempere, J. T., Uglem, I. y Mladineo, I. (2013). Reared fish, farmed escapees and wild fish stocks-a triangle of pathogen transmission of concern to Mediterranean aquaculture management. *Aquaculture Environment Interactions*, **3**: 153–16.
- Bariche, M. y Trilles, J. P. (2006). *Anilocra pilchardi* n. sp., a new parasitic cymothoid isopod from off Lebanon (Eastern Mediterranean). *Systematic Parasitology* **64**: 203–214.
- Bauchot M. L. y Hureau J. C. (1986). Sparidae. In: Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nielsen, J. y Tortonese, E. (Eds.) Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol. II. Paris: UNESCO, pp. 883–907.
- Bottari, T., Liguori, M., Trilles, J.P., Giordano, D., Romeo, T., Perdichizzi, F. y Rinelli, P. (2013). Host-parasite relationship: occurrence and effect of *Ceratothoa parallela* (Otto, 1828) on *Boops boops* (L., 1758) in the Southern Tyrrhenian Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, **29**: 896–900.
- Brusca R.C. (1981). A monograph on the Isopoda Cymothoidae (Crustacea) of the eastern Pacific. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **73**, 117–199.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M. y Shostak A.W. (1997). Parasitology meets ecology in its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*, **83**: 575–583.
- Carreras-Aubets, M. (2013). Parasites of three fish species of commercial interest from the north-western Mediterranean Sea: *Mullus barbatus*, *Spicara maena* and *Trachinus draco* (Osteichthyes, Perciformes). Use as tags of environmental conditions. Tesis Doctoral. Valencia: Universitat autònoma de Barcelona.
- Carrassón, M. y Scribb, T. H. (2014). Benign effects of the fish parasitic isopod *Ceratothoa* cf. *imbricata* on *Selenotoca multifasciata* (Scatophagidae) from Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, **110**: 173–180.
- Chiba, S. N., Iwatsuki, Y., Yoshino, T. y Hanzawa, N. (2009). Comprehensive phylogeny of the family Sparidae (Perciformes: Teleostei) inferred from mitochondrial gene analyses. *Genes and Genetics Systems Journal*, **84(2)**:153-70.
- Colorni, A. y Padrós, F. (2011). Diseases and Health Management, in Sparidae: Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and other Species, Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and other Species (Eds.) M. A. Pavlidis and C. C. Mylonas), pp. 321-357. Wiley-Blackwell, Oxford, UK .

- Dempster, T., Sánchez-Jerez, P., Uglem, I. y Bjørn, P.-A. (2010). Species-specific patterns of aggregation of wild fish around fish farms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **86**: 271–275.
- Dempster, T., Sánchez, P., Bayle, J. T., Gimenez, F. (2002). Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-western Mediterranean Sea: Spatial and short-term temporal variability. *Marine Ecology Progress Series*, **242**: 237-252.
- Dulčić, J., Kraljević, M., Grbec, B. y Cetinić, P. (2000). Age, growth and mortality of blotched picarel *Spicara maena* L. (Pisces: Centranchthidae) in the eastern central Adriatic. *Fisheries Research*, **48**: 69–78.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. y Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **3(5)**, 294–299.
- Grigorakis, K y Rigos, G. (2011). Aquaculture effects on environmental and public welfare –The case of Mediterranean mariculture, *Incorporating Chemosphere-Global Change Science*, **85 (6)**: 899-919.
- Hadfield, K. A. Bruce, N. L. y Smit, N. J. 2014. Review of the fish parasitic genus *Ceratothoa* Dana, 1852 (Crustacea, Isopoda, Cymothoidae) from South Africa, including the description of two new species. *ZooKeys*, **400**: 1–42.
- Horton, T. (2000). *Ceratothoa strindachneri* (Isopoda: Cymothoidae) new to British waters with a key to north-east Atlantic and Mediterranean *Ceratothoa*. *Journal Marine Biology Association of United Kingdom*, **80**: 1041–1052.
- Horton, T. y Okamura, B. (2001). Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a turkish sea bass (*D. labrax*) and sea bream (*S. aurata*) farm. *Diseases of Aquatic Organisms*, **46**: 181-188.
- Horton, T. y Okamura, B. (2003). Post-haemorrhagic anaemia in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), caused by blood feeding of *Ceratothoa oestroides* (Isopoda: Cymothoidae). *Journal of Fish Diseases*, **26**: 401–406.
- Innial, D. y Kirkim, F. (2012). Parasitic Isopods of Bogue [*Boops boops* (Linnaeus, 1758)] from the Antalya Gulf (Turkey). *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. Research Article*, **18**: 13.
- Jofre T., J. (1993). Problemática de la patología. En: Castelló, O. F. (Ed.) *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. 1ª Edición, p.477 Publicaciones Universidad de Barcelona, España.

- Johansen, L. H., Jensen, I., Mikkelsen, H., Bjørn, P. A., Jansen, P. A y Bergh, Ø. (2011). Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture*, 315:167–186.
- Ketmaier, V., Joyce, D. A., Horton, T. y S. Mariani, S. (2007). A molecular phylogenetic framework for the evolution of parasitic strategies in cymothoid isopods (Crustacea). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research Impact Factor*. **46(1)**: 19–23.
- Meyer, F. P. (1991). Aquaculture disease and health management. *Journal of Animal Science*, **69 (10)**: 4201-4208.
- Mladineo, I. (2003). Life cycle of *Ceratothoa oestroides*, a cymothoid isopod parasite from sea bass *Dicentrarchus labrax* and sea bream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **57**: 97–101.
- Mladineo, I. y Valic, D. (2002). The mechanisms of infection of the buccal isopod *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836), under experimental conditions. *Bulletin European Association of Fish Pathology*, **22 (5)**: 304.
- Mladineo, I., Šegvić, T. y Grubišić, L. (2009). Molecular evidence for the lack of transmission of the monogenean *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea, Polyopisthocotylea) and isopod *Ceratothoa oestroides* (Crustacea, Cymothoidae) between wild bogue (*Boops boops*) and cage-reared sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **29**: 160–167.
- Öktener, A. y Trilles, J. P. (2004). Report on Cymothoides (Crustacea, Isopoda) collected from marine fishes in Turkey. *Acta Adriat* **42**: 145–154.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura, oportunidades y desafíos.
- Papapanagoitou, E. P. y Trilles, J. P. (2001). Cymothoid parasite *Ceratothoa parallela* inflicts great losses on cultured gilthead sea bream *Sparus aurata* in Greece. *Diseases of Aquatic Organisms*, **45**:237–239.
- Paperna, I. (1991). Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. *Annual Review of Fish Diseases*, **1**:155–194.
- Pérez-del-Olmo, A. (2008). Biodiversity and structure of parasite communities in *Boops boops* (Teleostei: Sparidae) from the Western Mediterranean and off the North East Atlantic coasts of Spain. Tesis Doctoral. Valencia: Universitat de Valencia. Servei de Publicacions (ISBN: V-1323-2009 / 978-84-370-7234-0). 403 pp.

- Pérez-del Olmo, A., Fernandez, M., Gibson, D. I., Raga, J. A. y Aneta, K. (2007). Descriptions of some unusual digeneans from *Boops boops* L. (Sparidae) and a complete checklist of its metazoan parasites. *Systematic Parasitology*, **66**:137–157.
- Ramdane, Z., Bensouilah, M. A. y Trilles, J. P. (2007). The Cymothoidae (Crustacea, Isopoda), parasites on marine fishes, from Algerian fauna. *Belgian Journal of Zoology*, **137**(1):67–74.
- Romestand, B. y Trilles, P. (1979). Influence des Cymothoadiens *Meniertia oestroides*, *Meniertia parallela* et *Anilocra physodes* (Crustacés, Isopodes; parasites de poissons) sur la croissance des poissons hôtes *Boops boops* et *Paellus erythrinus* (Sparidés). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **59**:195–202.
- Sala-Bozano, M., Oosterhout, C. V. y Mariani, S. (2012). Impact of a mouth parasite in a marine fish differs between geographical areas. *Biological Journal of the Linnean Society*, **105**:842–852.
- Salgado-Maldonado, G., García-Aldrete, A. N., y Vidal-Martínez, V. M. (2000). Metazoan parasites in the neotropics: a systematic and ecological perspective. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). ISBN: 968-36-8827-6.
- Samn, A. A. M., Metwally, K. M., Amr F. Zeina, A. F y Khalaf A., H. M. M. (2014). First occurrence of *Nerocila bivittata*: parasitic Isopods (skin shedders) on *Lithognathus mormyrus* Osteichthyes, Sparidae) from Abu Qir Bay, Alexandria, Egypt. *Journal of American Science*. **10**(7).
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., y Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, **30**: 2725-2729.
- Trilles, J. P. (1968). Recherches Sur les Isopodes Cymothoidae des Cotes Françaises. Systematique et faunistique. Universite de Montpellier. Faculte des Sciencies. France.
- Trilles, J. P. (1994). Les Cymothoidae (Crustacea, Isopoda) du monde (prodrome pour une faune). *Studia Marina*, **21-22**(1-2): 1-288.
- Trilles, J. P y Öktenen, A. (2004). *Livoneca sinuata* (Crustacea; Isopoda; Cymothoidae) on *Loligo vulgaris* from Turkey, and unusual cymothoid associations. *Diseases of Aquatic Organisms*, **61**:235–240.
- Trilles J. P., Radujkovic, B.M., Romestand, B. (1989). Parasites de poissons marins du Montenegro: isopodes. In: Radujkovic BM, Raibaut A (eds) Faune des parasites des poissons marins des côtes du Montenegro (Adriatique sud). *Acta Adriat* **30**(1–2): 279–306.

- Valle, C., Bayle-Sempere, J. T., Dempster, T., Sánchez-Jerez, P. y Gimenez-Casalduero, F. (2007). Temporal variability of wild fish assemblages associated with a sea-cage fish farm in the South-Western Mediterranean Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **72**:299–307.
- Vagianou, S.; Athanassopoulou, F.; Ragias, V.; Di Cave, D.; Leontides, L.; Golomazou, E. (2006). Prevalence and pathology of ectoparasites of Mediterranean sea bream and sea bass reared under different environmental and aquaculture conditions. *The Israeli Journal of Aquaculture- Bamidgeh*, **58**:78–88.
- Wetzer, R. (2001). Hierarchical analysis of mtDNA variation and the use of mtDNA for isopod (Crustacea: Peracarida: Isopoda) systematics. *Contributions to Zoology*, **70** (1): 23–39.