



**Universidad de Concepción
Campus Los Ángeles
Escuela de Educación**

**Caracterización de los parásitos intradérmicos y su relación con las especies de anuros
hospedadoras que habitan la zona alta de la comuna de Antuco.**

**Seminario de Título para optar al Título Profesional
Profesor en Ciencias Naturales y Biología**

Seminaristas : Eric Felipe Beltrán Sáez
Stefanie Edita Fuentealba Álvarez

Profesor Guía : Dra. Helen Díaz Páez

Comisión : Dra. Lucila Morena Salas
Mag. Nicza Alveal Riquelme

Los Ángeles, 2017

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenido	Página
Agradecimientos	i-ii
Resumen	1
Planteamiento del tema y Justificación de la investigación	2-4
Preguntas y objetivos de la investigación	5
Hipótesis	6
Marco referencial	
1. Herpetozoos	7
1.1. Generalidades de anfibios	7-8
1.1.1. Anfibios en Chile	8-10
2. Interacciones entre especies	
2.1. Parasitismo	10
2.1.1. Especificidad de hospedero	10-11
3. Parásitos en Herpetozoos	11-12
3.1. Parásitos en anfibios	12
3.1.1. Descripción de ácaros parásitos de anuros	13-14
3.2. Familia Trombiculidae	15-19
3.2.1. Especies del género <i>Hannemania</i>	19
3.2.2. Especies del género <i>Hannemania</i> en Chile	19-22
Diseño de Investigación	23-28
Resultados	29-40
Discusión	41-43
Conclusiones	44
Alcances y Limitaciones	45
Anexos	46-49
Referencias	50-56



AGRADECIMIENTOS

Hace ya un par de décadas Richard Dawkins nos habló de “la anestesia de la cotidianeidad”, ese enceguecimiento que nos priva de conocer lo extraordinario que está más allá de lo que damos por sentado.

Hasta antes de empezar este Seminario de Título, los ácaros eran para mí los parientes invisibles de las garrapatas, y hasta allí llegaba mi interés. Hoy, más de un año después, puedo afirmar que me asombra lo complejo que es su estudio y las preguntas que pueden surgir si les pones atención.

Agradezco a la profesora Nicza Alveal por proponer este tema de investigación, a la profesora Lucila Moreno por toda su ayuda para comprender que era lo que veíamos, a la profesora Helen Díaz por acompañarnos a lo largo de todo este proceso. Y especialmente, agradezco a mi amiga Stefanie: durante este tiempo fuiste como Atlas, el titán que sostiene el mundo en sus hombros. Agradezco también a mi familia, sin ellos esto no habría sido posible.



Eric F. Beltrán Sáez

AGRADECIMIENTOS

Finalizado este proceso quiero agradecer en primer lugar a Dios por su amor y fortaleza,
a mi familia por su fe y apoyo incondicional y
a todas las personas que me acompañaron en esta etapa.

“El conocimiento es la mejor inversión que se puede hacer”

(Abraham Lincoln)

Cada segundo invertido en esta investigación me ha dado los mejores beneficios, no solo en el conocimiento adquirido sino en este saber que ahora compartimos.



RESUMEN

Los anfibios, son un grupo de organismos fundamentales en los ecosistemas, por su papel como centinelas biológicos. Durante los últimos años se ha reportado una declinación de las poblaciones, siendo una causa probable el parasitismo, el que disminuye el rendimiento y la chance de sobrevivencia de los organismos hospedadores, siendo los ácaros ectoparásitos un grupo común entre los anuros. En Chile los estudios de parásitos en anuros son escasos, sin embargo el reciente interés de los investigadores ha llevado a reconocer la presencia de tres especies de trombicúlidos del género *Hannemanina* asociadas a cuatro especies hospedadoras. En el presente estudio se analizaron los ácaros que infestaban a las especies de anuros que habitan la zona alta de la comuna de Antuco; *Pleurodema bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa*. Se extrajeron los ácaros intradérmicos de los hospedadores en forma manual, los que fueron aclarados y montados para su posterior revisión en microscopio fotónico. Se compararon los caracteres diagnósticos con los reportados para las demás especies del género, identificando la presencia de *H. gonzaleacunae* y *Hannemanina* n.sp. indistintamente sobre los tres hospedadores. Junto con esto se estableció la prevalencia e intensidad de infestación. Los resultados indican una mayor prevalencia de infestación en la especie *R. spinulosa*, mientras que la mayor intensidad de infestación fue determinada para *P. bufonina*, pudiendo asociarse esto a las características propias de cada especie hospedera así como a los ciclos de vida de las especies parásitas, aspecto que debiera ser analizado en futuros estudios.

Palabras clave: Parasitismo, Anura, Acari, *Hannemanina*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Los anfibios juegan un rol muy importante desde el punto de vista ecológico en los ecosistemas, debido a que controlan insectos, sirven de alimento para otros animales, incrementan la dinámica de sedimentos en los cuerpos de agua y generan un vínculo de materia y energía entre ambientes acuáticos y terrestres (Feder & Burggren, 1992). Son considerados centinelas ambientales porque sus características fisiológicas, tales como su carácter de ectotermos, baja capacidad para desplazarse, alta dependencia de la humedad y piel muy permeable, los hacen muy sensibles a los cambios ambientales que sufren los ecosistemas. Es por esto que el cambio climático les afecta más directamente que a otras especies de animales (Lobos *et al.*, 2013). Los resultados de Stuart *et al.* (2004) demuestran que los anfibios a nivel mundial son los más amenazados y están declinando o desapareciendo más rápido que el resto de los animales.

Existe una relación directa entre el declive de los anfibios y su parasitación, ya que el parasitismo reduce la energía disponible para la metamorfosis de los renacuajos, resultando en organismos con una menor chance de supervivencia (Parris & Baud, 2004). Además, un aumento en la intensidad de parasitación puede alterar las características del hospedador, por ejemplo causando un decrecimiento en el tamaño promedio de los individuos, debido a la restricción en el alimento y aumento de la competencia (Dezfuli *et al.*, 2002).

Numerosos factores, incluyendo el sexo, el medio ambiente, la distribución y los efectos antropogénicos, afectan la susceptibilidad de contraer infecciones parasitarias en anfibios (Brown *et al.*, 2006). La revisión bibliográfica permite identificar un fuerte sesgo de los estudios sobre parásitos de anuros realizados en Chile, los que se limitan a parásitos metazoos pertenecientes de cuatro phyla (Acanthocephala, Platyhelminthes, Nematoda y Arthropoda), donde se han identificado a 16 especies (15 helmintos endoparásitos y un ácaro ectoparásito), a partir de 12 taxa hospederos distribuidos mayormente en el bosque templado austral (Garin & González-Acuña, 2008). Durante la última década ha habido un mayor reconocimiento de la presencia de ácaros en anuros (Cortez *et al.*, 2012; Silva de la Fuente *et al.*, 2012; Díaz-Páez *et al.*, 2014; González-Acuña, 2014), lo que se ha traducido en la reciente descripción de dos nuevos ácaros intradérmicos del género *Hannemania* perteneciente a la familia *Trombiculidae* (Silva-De la Fuente *et al.*, 2016). Las larvas de trombicúlidos constituyen uno de los más importantes grupos de ectoparásitos a nivel mundial, no solo por la enorme cantidad de hospedadores que

parasitan y que comprende a prácticamente todos los vertebrados terrestres, sino que también por los daños que ocasionan al hombre, sea como causantes de serias dermatitis o como vectores de gérmenes patógenos, que viene a ser los agentes etiológicos de graves enfermedades (Hoffmann, 1990).

Actualmente, hay una gran carencia de información acerca de la parasitología de anuros en nuestro país y en general en la comunidad herpetológica a nivel mundial. El estudio de los ácaros a diferencia de lo que ocurre con el resto de los arácnidos e incluso con varios grupos de artrópodos, presenta dificultades metodológicas tanto en su recolecta como en su procesamiento para microscopía, provocando una mayor inversión de tiempo en el trabajo taxonómico (Pérez *et al.*, 2014). Aun así, los ácaros representan un objeto de estudio con un potencial impresionante en las investigaciones sobre biodiversidad, no sólo por el hecho de que las estimaciones sobre el número de especies nuevas por describir sean atractivas, sino también por el conocimiento generado por los niveles jerárquicos en que se pueda manejar su diversidad ecológica, derivada de su asociación con microhábitats específicos dentro de hábitats generales (Pérez *et al.*, 2014).

Resulta destacable que aun cuando las especies de ácaros establecen una asociación (parasitismo o comensalismo) obligatoria y específica con su hospedador, no se encuentren incorporadas en la misma categoría de riesgo que el hospedero (Ministerio del Medio Ambiente, s/f; IUCN, 2016). Pérez *et al.* (2014) reconoce que en las relaciones de parasitismo existen procesos de coextinción, establecidos como la pérdida de una especie (parásita) asociada a la pérdida de otra especie (hospedadora). En este sentido, de acuerdo a la Reglamento de Categorización de Especies (RCE) en Chile 42 de las 60 especies evaluadas (70%) están en alguna categoría de amenaza (Vulnerable, En Peligro, En Peligro Crítico) (Correa *et al.*, 2016), sin que esto trascienda sobre sus especies parásitas.

La falta de información sobre parasitismo y en particular ectoparásitos de anfibios en Chile representa un área de investigación de gran atractivo, lo que se traduciría en un significativo aumento de los taxa parásitos, muchos de ellos seguramente nuevos para la ciencia. Los nuevos aportes representan información básica y necesaria para el conocimiento de la biodiversidad del país, y el primer paso para estudios en otros ámbitos de la biología, tales como la determinación de la real naturaleza de la interacción hospedero-parásito y de los procesos ecológicos y evolutivos involucrados en estas interacciones (Garin & González-Acuña, 2008).

Adicionalmente, el estudio de las relaciones parasitarias junto con aportar al conocimiento de las relaciones parasito-hospedador, se transforma en una herramienta formativa de gran importancia en la formación académica de los futuros profesores, ya que promueve el desarrollo de competencias científicas, aspecto fundamental en los estándares orientadores para las carreras de pedagogía en Biología de educación media; en donde se establece que:

[los futuros profesores deben mostrar habilidades propias del quehacer científico y comprender cómo se desarrolla este tipo de conocimiento. De esta forma el futuro docente podrá promover en sus estudiantes las actitudes y habilidades propias del pensamiento y quehacer científico, así como estimularlos a establecer relaciones entre la ciencia y su vida] (Ministerio de Educación Gobierno de Chile, 2012).

De acuerdo con lo anterior, el presente tema de investigación está vinculado directamente con las relaciones interespecíficas; tema incorporado dentro del Curriculum Nacional para el área de ecología. Además, su diseño metodológico permite abordar esta temática mediante actividades prácticas aplicables en la enseñanza de las Ciencias Naturales. El Trabajo experimental puede ser visto dentro del contexto del aprendizaje conceptual de forma más clara y consecuente. La actividad experimental, en la medida en que permite una acción del sujeto sobre un referente empírico, posibilita que su campo conceptual se estructure y enriquezca, en particular en términos de modelos de utilización de los conceptos (Lopes, 2002). Dichas actividades están orientadas al protocolo en la preparación de muestras, uso de materiales de laboratorio y la posterior observación en microscopía.

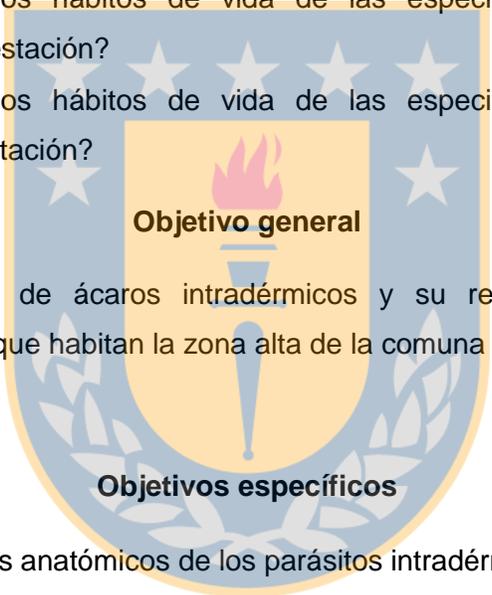
Por lo tanto, el presente estudio busca identificar los parásitos intradérmicos presentes en las especies de anuros que habitan en la zona alta de la comuna de Antuco, para lo cual es necesario realizar actividades de tipo experimental para la preparación de muestras y de tipo estadístico para establecer relaciones entre especies en prevalencia e intensidad de infestación.

Objeto de Estudio

Caracterización de los parásitos intradérmicos y su relación con las especies de anuros hospedadoras que habitan en la zona alta de la comuna de Antuco.

Preguntas de investigación

- ¿Cuáles son las especies de parásitos intradérmicos que infestan a los anuros que habitan la zona alta de la comuna de Antuco?
- ¿Cuáles son los valores de prevalencia e intensidad de infestación de cada especie hospedadora?
- ¿Cómo influyen los hábitos de vida de las especies hospedadoras en su prevalencia de infestación?
- ¿Cómo influyen los hábitos de vida de las especies hospedadoras en su intensidad de infestación?



Objetivo general

Reconocer las especies de ácaros intradérmicos y su relación con las especies hospedadoras de anuros que habitan la zona alta de la comuna de Antuco.

Objetivos específicos

- Describir los rasgos anatómicos de los parásitos intradérmicos encontrados
- Identificar las especies de parásitos intradérmicos que infestan a los anuros de la zona alta de la comuna de Antuco
- Analizar la variación en la prevalencia e intensidad de infestación de ácaros para cada especie hospedadora
- Analizar si existe relación entre la prevalencia e intensidad de infestación de ácaros y los hábitos de vida de los anuros hospedadores

Hipótesis

El estudio de los parásitos y en particular de los ácaros de anuros en Chile ha sido escaso (Garín & González-Acuña, 2008), reconociéndose hasta el año 2015 solo una especie asociada a una especie de anuro hospedador (Sambon, 1928). Sin embargo, estudios recientes han permitido identificar dos nuevas especies de parásitos intradérmicos sobre tres especies de anuros (Silva-De la Fuente *et al.*, 2016). Estos reportes recientes llevan a pensar que podría existir un número mayor de especies parasitas que no han sido identificadas. En base a lo anterior, se plantean las siguientes hipótesis:

H₁: Las especies de anuros de la zona alta de la comuna de Antuco presentan más de una especie de ácaro del género *Hannemania*

H₀: Las especies de anuros de la zona alta de la comuna de Antuco presentan solo una especie de ácaro del género *Hannemania*

H₂: La prevalencia de ácaros será distinta según el hábito de vida de las especies hospedadoras.

H₀: La prevalencia de ácaros será la misma independiente del hábito de vida de las especies hospedadoras.

H₃: La intensidad de infestación será distinta según el hábito de vida de la especie hospedadora.

H₀: La intensidad de infestación será la misma independiente del hábito de vida de las especies hospedadoras.

MARCO REFERENCIAL

1.- Herpetozoos

Se reconoce como herpetozoos a aquellos animales que integran los taxa de anfibios y reptiles, siendo su principal característica la ectotermia (Duellman & Trueb, 1986). Dentro de este grupo destacan los anfibios por sus particularidades biológicas (Zug *et al.*, 2001). Los anfibios son vertebrados ectotérmicos y primariamente cuadrúpedos, con la piel glandular y dependientes del agua para la reproducción (Hickman *et al.*, 2009). El nombre de la clase (Gr. amphi, doble + bios, vida) indica, apropiadamente, que la mayor parte de las especies vivientes habitan parcialmente en el agua dulce y parcialmente en tierra (Storer *et al.*, 1986). Este grupo posee una piel delgada y sin barreras para la pérdida de agua, la que suele mantenerse húmeda, gracias a una serie de glándulas. Así mismo, la gran cantidad de capilares les permite realizar intercambio gaseoso a través de ella (Feder & Burggren, 1992). Existen dos tipos de glándulas fundamentales en la piel de los anfibios; las mucosas, encargadas de la producción de secreciones mucoproteicas con diversas funciones, como la mantención de la humedad de la piel, lo cual entre otras facilita el intercambio gaseoso (Porter, 1972 citado en Garin & Lobos, 2008) y las glándulas granulosas; que producen secreciones de naturaleza química extremadamente variada, e.g., alcaloides hidro y liposolubles, aminos, péptidos, proteínas y esteroides, cuya principal función es la defensa contra microorganismos y depredadores. Muchos de estos compuestos son generados de *novo*, mientras que los alcaloides son obtenidos principalmente de la dieta (Daly, 1995).

1.1.- Generalidades de anfibios

Los anfibios modernos se agrupan en tres órdenes: Caudata, Gymnophiona y Anura. El orden Caudata (salamandras y tritones) se caracteriza por la pérdida de pulmones y la ocurrencia de paedomorfosis (mantención de caracteres larvales en los adultos) (Voss & Shaffer, 2000). Tienen colas bien desarrolladas; con cuerpos a menudo cilíndricos y alargados. La mayoría también posee extremidades cortas en relación a la longitud del cuerpo (Zug *et al.*, 2001).

El orden Gymnophiona; Apoda reúne a las llamadas cecilias que corresponde al grupo más desconocido de anfibios, integrado por especies de vida acuática y hábitos fosoriales (Zardoya & Meyer, 2000). Tienen cabezas romas, con forma de bala; cilíndrica, cuerpos apodos y una cola corta. El cuerpo está claramente segmentado rodeando ranuras

principales, y por lo general cada segmento contiene una única vértebra (Zug *et al.*, 2001).

Finalmente el orden Anura; Saliencia, reúne a ranas y sapos; poseen órganos menos desarrollados, sin cola; cabezas planas con grandes bocas; y largas y musculosas extremidades posteriores (Zug *et al.*, 2001). A pesar de que estos tres órdenes muestran caracteres morfológicos muy diferenciados, comparten una serie de caracteres derivados (grupo monofilético), como por ejemplo tener piel extremadamente glandular, productora de mucus y veneno (Pough *et al.* 2004 citado en Garin & Lobos, 2008).

1.1.1.- Anfibios en Chile

De las 6534 especies de anfibios descritas a nivel mundial (IUCN, 2016) en Chile solo encontramos representantes del orden Anura (Formas, 1995) con 61 especies nativas (Soto-Azat *et al.*, 2015). Si bien Chile no posee una elevada riqueza de especies como Argentina o Brasil por ejemplo, tiene un elevado endemismo, ya que poco más del 60% de las especies descritas habita exclusivamente dentro de los límites territoriales (Lobos *et al.*, 2013).

La mayor riqueza de especies nativas de anfibios se concentra en los bosques templados del centro y sur de Chile, entre las regiones de Biobío y Aysén, donde se conjugan los ambientes más húmedos con temperaturas adecuadas para este grupo (Formas, 1979). Aquí, los géneros con mayor riqueza de especies son *Alysodes* y *Eupsophus*, que además destacan por su elevado nivel de endemismo, 77 y 73% respectivamente (Lobos *et al.*, 2013). La mayoría de los anfibios prefieren hábitats húmedos. En estos ambientes suelen permanecer ocultos bajo rocas, troncos de árboles caídos, turberas u hojarasca. También es posible encontrarlos junto a arroyos someros, lagunas o ríos con estepa patagónica (Rabanal & Nuñez, 2008).

Dada su ubicación, la región del Bio Bio ofrece una gran variedad de ambientes propicios para el asentamiento de especies de anuros. De las 61 especies nativas de anfibios presentes en nuestro país, 18 (29,5%) se encuentran distribuidas en este territorio (Vidal, 2008). A pesar de esta diversidad, la región sólo posee un parque nacional (Parque Nacional Laguna del Laja) que cubre un 0,31% del territorio regional (Matus & Novoa, 2005). En este Parque Nacional y en la zona alta de la comuna de Antuco se ha reportado

la presencia de cuatro especies de anuros: *Nannophryne variegata*, *Pleurodema bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa*. (Corporación Nacional Forestal, 1993).

En relación a esto, prospecciones en el área han reconocido la presencia de solo tres de las especies de las indicadas para el parque (Com. pers. Díaz-Páez). Las características de estos anuros permiten reconocer a *Pleurodema bufonina* (Bell, 1843) como un batracio de tamaño pequeño con piel lisa y la presencia de pequeñas rugosidades. Su coloración dorsal es gris oscuro, con manchas dorsales. Puede presentar estrías de coloración amarillo verdoso sobre el dorso y blanco grisáceo hacia el vientre. Posee glándulas lumbares alargadas y ovaladas en la parte posterior del cuerpo, de coloración grisácea. Extremidades cortas y finas. Dedos de patas traseras sin membrana interdigital. Tímpano visible externamente. Esta especie está descrita como de hábito nocturno y durante el día se refugia bajo rocas o en la vegetación circundante a los cursos de agua (Bahamondes, 2013). En relación a su hábitat Pincheira-Donoso (2002) ha indicado que la especie frecuenta los cuerpos de agua poco profundos y de ambientes marcadamente desertícolas. Junto a *P. bufonina* se puede encontrar a *Rhinella spinulosa* (Wiegmann, 1834), cuyo nombre común de Sapo espinoso hace referencia a su piel la cual está cubierta de cornificaciones en forma de espinas. Este anuro es de tamaño mediano o grande con cuerpo robusto, la cabeza más ancha que larga, los ojos grandes y prominentes y una piel muy glandular. Los machos son de color amarillento a gris verdoso y las hembras son café grisáceo y tienen la piel un tanto más lisa, la mayoría con manchas oscuras. La coloración ventral es blanca grisácea. Es una especie de hábitos principalmente terrestres, habitando cerca de ríos, vertientes, lagunas y vegas de altura (Lobos *et al.*, 2010). Finalmente, *Pleurodema thaul* (Lesson, 1826) de nombre común Sapito de cuatro ojos, corresponde a una especie de tamaño variable, donde las hembras son más grandes y robustas. Coloración muy variable, verde, café, gris con o sin banda dorsal de color claro. Los ejemplares sureños son generalmente de dorso verde oscuro. Vientre blanquecino, con la región faríngea de los machos pigmentada. Glándulas lumbares bien desarrolladas que se asemejan a ojos, lo que le da el nombre de sapito de cuatro ojos. Esta especie es principalmente terrestre y habita todo tipo de ambientes, tanto de sectores boscosos prístinos como sectores aledaños a zonas urbanas. Forma grandes agregaciones reproductivas en las riberas de esteros y riachuelos (Lobos *et al.*, 2010).

De esta manera, se establece que los tres anuros presentes en el parque poseen diferentes hábitos y hábitat, siendo *R. spinulosa* y *P. bufonina* de hábitos más terrestres y aridos, mientras que *P. thaul* habita en todo tipo de ambientes.

2.- Interacciones entre especies

Todos los organismos se relacionan entre sí y con su entorno, estableciendo relaciones denominadas intraespecífica, cuando se da entre organismos de la misma especie e interespecífica, al producirse entre organismos de dos o más especies. Dentro de esta última encontramos la depredación, definida como el consumo de un organismo viviente o parte de este por otro. Un tipo de depredación es el parasitismo (Smith & Smith, 2007).

2.1.- Parasitismo

El parasitismo es una relación en la cual una parte, el parásito, se beneficia, y la otra, el hospedador, es perjudicado (Solomon *et al.*, 2008). El hospedador es indispensable para el parásito, pero sin la reciprocidad; el hospedador puede perfectamente vivir sin el parásito (Baer, 1971). En condiciones normales los parásitos nunca matan a su hospedador, porque esto equivaldría para ellos privarse de alimentos y los conduciría al suicidio. Sin embargo cuando el hospedador se encuentra en condiciones desfavorables, como por ejemplo, padecer de una enfermedad o encontrarse en cautiverio, los parásitos pueden producir suficiente daño y llevarlos a la muerte (Baer, 1971). Los parásitos también pueden debilitar a su hospedador, haciéndolo más vulnerable a depredadores, competidores o factores abióticos de estrés (Solomon *et al.*, 2008).

Los parásitos se pueden clasificar en endoparásitos y ectoparásitos; los primeros son aquellos que viven en el interior del hospedador, y los ectoparásitos que corresponden a los que viven fuera del hospedador (Solomon *et al.*, 2008). Si consideramos la diversidad de taxa parásitos y el número de ocasiones que se ha adoptado este modo de existencia en la evolución animal, el parasitismo se erige como una de las formas de vida más exitosas dentro de los metazoos.(Poulin y Morand, 2000)

2.1.1.- Especificidad de hospedero

La especificidad parasitaria se refiere a la relación que restringe un taxón parásito en relación al número de especies hospederas en un determinado estadio de su ciclo de vida (Poulin, 1998). A mayor número de hospederos, menor será la especificidad parasitaria. El que un parásito sea hospedero “especialista” o “generalista”, dependerá de fenómenos

coevolutivos de mutua adaptación que actúan maximizando o minimizando la probabilidad de encontrar, sobrevivir y desarrollarse en un hospedero (coacomodación *sensu* Brooks, 1979). Los parásitos frecuentemente explotan a más de un hospedero, aunque típicamente el nivel de infestación es más alto en uno, el hospedero principal, que en los otros, los hospederos auxiliares (Poulin, 2005).

La baja especificidad de hospedero será consecuencia de dos eventos principales: cambio de hospedero y/o ausencia de coespeciación hospedero-parásito (Poulin, 1998). Entre hospederos simpátricos y relacionados filogenéticamente existirá una mayor posibilidad de intercambio parasitario, ya que los hábitats (hospederos) son homólogos en diversas variables (e.g., ecológicas, fisiológicas), generándose procesos evolutivos de cambio de hospedero (Poulin, 1992).

Para el caso de los endoparásitos de anfibios que habitan en Chile, 10 de los 11 taxa de helmintos identificados a nivel de especie son endémicos. El número de hospederos fluctúa entre uno y cinco. Más del 50% se encuentran sólo en una especie hospedera y de estos el 67% son exclusivos de una localidad lo que señala la gran especificidad de hospedero en los parásitos de este grupo de vertebrados (Garin & González-Acuña, 2008). Este patrón no ha sido analizado en otros parásitos como los ácaros ectoparásitos.

3.- Parásitos en herpetozoos

Los herpetozoos se encuentran entre los vertebrados con menor diversidad de especies parásitas, esto debido principalmente a su ectotermia (Garin & González-Acuña, 2008). A diferencia de los taxa endotermos, anfibios y reptiles presentan bajos niveles de actividad metabólica, con menores requerimientos energéticos y una consecuente menor ingesta de alimento (Pough *et al.*, 2003). De los trabajos realizados en Herpetología sólo dos se refieren a ectoparásitos de reptiles autóctonos y en el caso de anuros se centran en la composición taxonómica de helmintos endoparásitos (Garin & González-Acuña, 2008). En el estudio más reciente de Stekolnikov & González-Acuña del año 2015, se realiza una revisión de ácaros intradérmicos de Chile (Acari: Trombiculidae) y se describe un nuevo género y diez nuevas especies. Este nuevo género fue descubierto a partir de cuatro especies de lagartijas del género *Liolaemus* en la localidad de Choapa (Chile) y ocho nuevas especies de subescamosos desde lagartijas de los géneros *Liolaemus*, *Phymaturus* (Squamata: Liolaemidae) y *Microlophus* (Squamata: Tropiduridae)

(Stekolnikov & González-Acuña, 2015). Estudios recientes han incorporado dos nuevas especies al género *Hannemania* descritas en tres especies de anuros; *Hannemania gonzaleacunae* y *H. ortizi* (Silva-De la Fuente *et al.*, 2016). Lo que lleva que de acuerdo con la literatura y los datos recientemente obtenidos, la presencia de ácaros en Chile este conformada por 24 especies de 13 géneros de ácaros.

3.1.- Parásitos en anfibios

Los estudios sobre parásitos de anfibios en Chile reportaban hasta el año 2008 una amplia presencia de metazoos pertenecientes a cuatro phyla (Acanthocephala, Platyhelminthes, Nematoda y Arthropoda) y a 16 especies (15 helmintos endoparásitos, y sólo un ácaro ectoparásito), a partir de 12 taxa hospederos distribuidos mayormente en el bosque templado austral (Garin & González & Acuña, 2008). Hasta el 2016 solo se había descrito un ácaro ectoparásito correspondiente al estado larval de *Hannemania pattoni* (Sambon, 1928), ácaro trombicúlido registrado en *Batrachyla taeniata* (Alzuet & Mauri, 1987). En el estudio más reciente de Silva-De La Fuente *et al.* (2016) se describen dos especies de ácaros *H. gonzaleacunae* registrado en *Eupsophus nahuelbutensis* y *H.ortizi* registrado en *Pleurodema thaul* y *Eupsophus contulmoensis*.

Diversos factores afectan la susceptibilidad para contraer parásitos en anfibios, incluyendo el sexo, el medio ambiente, la ubicación corporal y las influencias antropogénicas (Brown *et al.*, 2006). Adicionalmente, se ha reconocido que el parasitismo reduce la energía disponible para la metamorfosis de los renacuajos, resultando en organismos con una menor chance de sobrevivencia (Parris & Baud, 2004). Los estudios en anuros afirman que los ácaros pueden ocasionar la muerte de los anfibios o servir como vectores de enfermedades infecciosas (Wohltmann *et al.*, 2006).

También se ha determinado que el aumento en la intensidad de parasitación puede alterar las características del hospedador, por ejemplo causando un decrecimiento en el tamaño promedio de los individuos, debido a la restricción en el alimento y aumento de la competencia. Estos efectos son conocidos como denso-dependientes (Dezfuli *et al.*, 2002). De acuerdo a Wohltmann *et al.* (2006) en comparación con otros vertebrados, los anfibios son rara vez parasitados por artrópodos ectoparásitos. Sin embargo, solo en Chile durante la última década han existido numerosos reportes de presencia de ácaros en los anuros (González-Acuña, 2014; Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2012), por lo que es probable que la falta de información de ácaros parásitos de anuros se deba principalmente a las

dificultades metodológicas, tanto en su colecta como en su procesamiento para microscopía, provocando una mayor inversión de tiempo en el trabajo taxonómico (Pérez *et al.*, 2014).

En Chile se ha reportado para anuros solo la presencia del género *Hannemania* Oudemans, 1911 cuyos representantes son los más grandes entre los trombicúlidos intradermales y se ha determinado que *Hannemania* posee larvas que parasitan exclusivamente a anfibios de América tanto en la región Neártica como en la Neotropical (Alzuet & Mauri, 1987), a excepción de *H. rouxi* (Oudemans, 1917), descrita en Nueva Caledonia, Oceanía (Fuller, 1952).

3.1.1.- Descripción de ácaros parásitos de anuros

Los ácaros representan el grupo más diverso de los quelicerados (Norton, 1998). El plan corporal Chelicerata no incluye una cabeza sino que en su lugar presentan una región anterior del cuerpo; el prosoma ('cuerpo delantero'), el cual combina las funciones de detección, alimentación y locomoción. Los genes que regulan la producción del primer par de antenas en un mandibulata producen un par de piezas bucales a menudo en forma de pinza; los quelíceros (Thomas & Telford, 1999). La forma de los quelíceros es muy variable y va correlacionada con las funciones de cortar, triturar, aserrar, succionar o picar (Krantz & Walter, 2009). El segundo par de patas corresponde a unos apéndices sensitivos llamados pedipalpos, que pueden ser en forma de pinza, como patas, o incluso anteniforme. Los siguientes cuatro pares de extremidades forman las patas locomotoras (Walter & Proctor, 2013). Casi todos los arácnidos comparten este plan básico del cuerpo Chelicerata, de dos regiones (Walter & Proctor, 2013). Sin embargo, los ácaros han fusionado su cuerpo en un sólo tagma, llamado idiosoma (Fig. 1), en el que se presentan 4 pares de patas en adultos y ninfas, y 3 pares en larvas; dichos apéndices cuentan con 6 artejos en la mayoría de las especies (coxa, trocánter, fémur, genua, tibia y tarso) (Evans, 1992).

El tamaño de los ácaros generalmente es microscópico y en promedio menores a 1mm. Éstos se encuentran entre los animales terrestres más antiguos, conociéndose fósiles del Devoniano temprano, de hace aproximadamente 400 millones de años (Norton, 1998). Su distribución es cosmopolita, ocupan ambientes terrestres y acuáticos (marinos, salobres y dulceacuícolas), siendo además de hábitos parasitarios (Walter & Proctor, 2013).

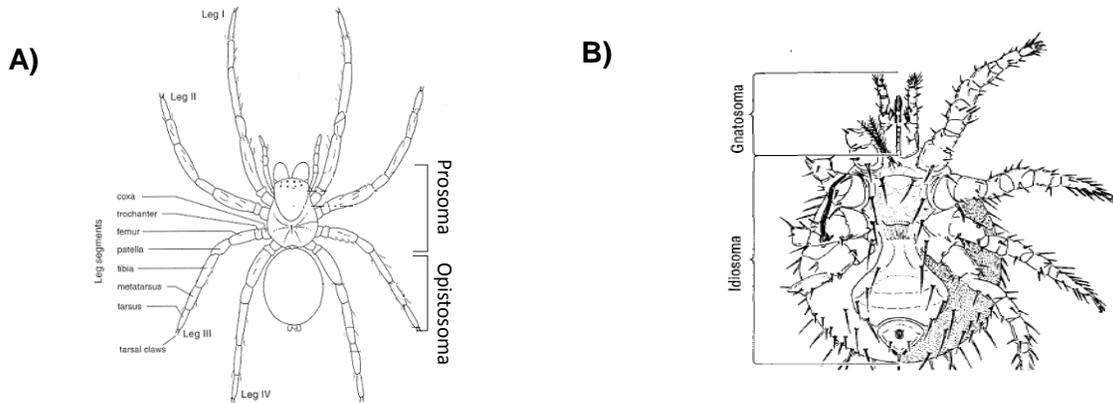


Figura 1. A) Anatomía externa de una araña tipo (Adaptado de Dippenaar-Schoeman *et al.*, 1997) comparada con la B) vista ventral de *Laelaps echidnina*, el acaro espinoso de la rata (Parasitiformes) (extraído de Storer *et al.*, 1986)

Tradicionalmente, los artrópodos chelicerados que viven en la tierra han sido tratados como miembros de la clase de los arácnidos. Los arácnidos han sido diversamente clasificados en 10-20 grupos principales (órdenes), muchos de los cuales son reconocidos fácilmente. Sin embargo, los ácaros son tan variados en forma (Krantz & Walter, 2009) que diversos autores los han agrupado en diferentes categorías taxonómicas; resumidas las más importantes en la Tabla 1.

Tabla1: Agrupación de categorías taxonómicas según dos publicaciones

	Superorden	Orden	Subórdenes	cohorte
Krantz & Walter, 2009	Parasitiformes	Prostigmata		
	Acariformes	Astigmata		
		Oribatida		
Pérez, <i>et al.</i> , 2014	Parasitiformes	Opilioacarida		
		Holothyrida		
		Ixodida		
		Mesostigmata		
	Acariformes	Trombidiformes	Sphaerolichida	
		Prostigmata		
		Endeostigmata		
	Sarcoptiformes	Oribatida	Astigmatina (Astigmata)	

3.2. Familia Trombiculidae

Estos son ácaros pertenecientes al orden Prostigmata (Krantz & Walter, 2009), cuyas larvas viven como parásitos prácticamente en todos los vertebrados terrestres, desde anfibios hasta mamíferos, incluyendo el hombre. El gnatosoma de las larvas presenta las siguientes características: los quelíceros constan de dos artejos, uno proximal, muscular y el otro distal en forma de hoja curvada, provisto de uno hasta muchos dientecillos dispuestos de diferentes manera a lo largo de sus bordes; con frecuencia se observa una especie de doblez en la punta que es lo que los especialistas llaman “formación tricúspide”. Los pedipalpos constan de seis artejos, pero sólo cinco de ellos son visibles; las coxas están fusionadas en la línea media y se proyectan hacia delante formando las galeas, provistas cada una de una seda galeal, que puede ser lisa o tener ramas; los trocánteres están fusionados a las coxas que siempre llevan, ventralmente, una seda ramificada; el fémur y la genua pedipalpales con una seda cada uno; la tibia con tres sedas una dorsal, una dorsolateral y una ventral y una uña tibial terminal que, por regla general, está dividida en varias partes; el tarso pequeño, ventral a la tibia, en posición opuesta a la uña tibial, provisto con varias sedas lisas o ramificadas y una seda lisa estriada basal (Fig. 2).

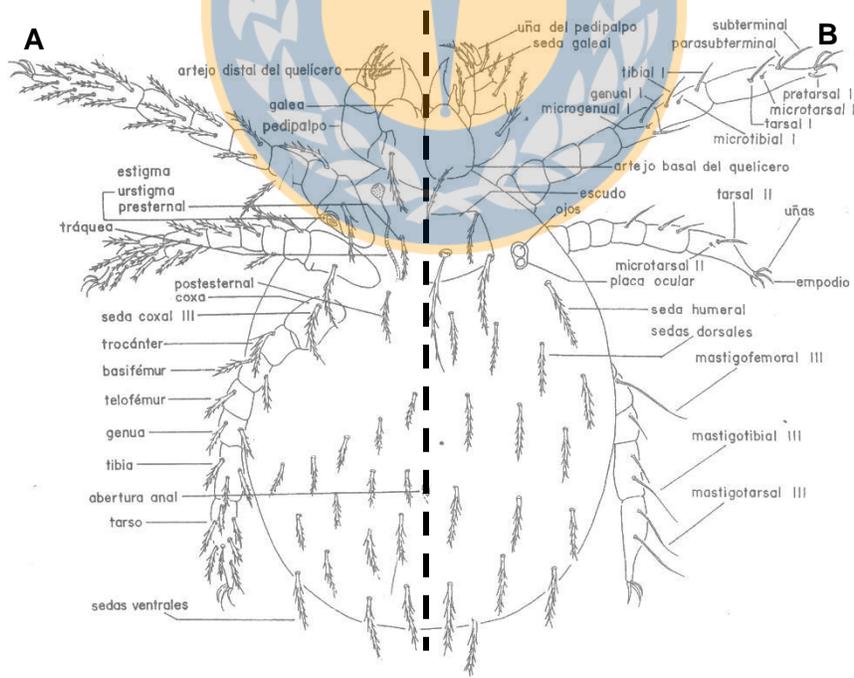


Figura 2: Morfología general de una larva de Trombicúlido. **A.** Vista ventral. **B.** Vista dorsal. (extraída de Hoffman, 1990).

El idiosoma o cuerpo propiamente dicho, presenta un escudo dorsal anterior o propodosomal (en raras ocasiones hay más de un escudo dorsal), que puede tener o no una proyección media anterior; está provisto de sedas marginales que, según la especie, son en número de 3, 5 o 6 generalmente, pudiendo haber más, hasta 14; en la parte media del escudo se encuentran un par de sensilas que pueden ser flageliformes o expandidas. Generalmente hay un par de ojos sencillos u ocelos a cada lado del escudo, pero también puede haber un solo ojo de cada lado, habiendo asimismo formas ciegas; puede o no haber una placa ocular. El ano es pequeño, ventral y se encuentra como a la mitad del opistosoma. Gran parte del cuerpo está cubierto de sedas ramificadas, que en ocasiones adoptan formas ensanchadas, pero nunca son lisas, dispuestas frecuentemente en hileras regulares (Fig. 2.) (Hoffmann, 1990).

En la familia Trombiculidae las larvas parasitarias suelen insertar su aparato bucal en el tegumento del huésped y embeber fluidos sin dejar de ser externa al huésped. Varios géneros son conocidos por invadir las vías respiratorias de su hospedador vertebrado pero no invaden el tejido *per se*. Otros son conocidos para invadir la piel de sus hospedadores mamíferos y llegar a estar completamente incrustado en él (Hyland, 1961). En términos sistemáticos, la familia Trombiculidae es considerada como dos familias distintas por Walters *et al.* (2011), las denominadas: Trombiculidae y Leeuwenhoekidae. Sin embargo, a partir de la descripción de Hoffmann (1990) y Stekolnikov & Gonzalez-acuña (2015) se establece la presencia de una única familia Trombiculidae que se divide en cuatro subfamilias. La clave de Hoffmann, (1990) incluye dos subfamilias; Trombiculinae y Leeuwenhoekinae; en la primera los artejos de las patas se pueden organizar en 7-7-7 ó 7-6-6, el escudo tiene una seda anteromedial y las coxas I son unisetosas. La subfamilia Leeuwenhoekinae tiene los artejos de las patas distribuidos en 6-6-6; el escudo posee 2 sedas anteromediales y coxas I bisetosas (Hoffmann, 1990). Las especies del género *Hannemania*, incluido dentro de esta última subfamilia, se distinguen por poseer los quelíceros expandidos y con una serie de dientes recurvos; escudo con una proyección anteromediana, y un par de setas submedianas anteriores, así como por la falta de tráqueas y estigmas; presentan ojos y órgano de Claparède. (Alzuet & Mauri, 1987). Una descripción más detallada de las larvas del género *Hannemania* Oudemans, 1911, se encuentra en el libro “Los trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae)” (Hoffman, 1990). En este se establece que las larvas poseen quelíceros con un artejo distal con una ancha expansión terminal, provista de numerosos

dientes pequeños, recurvados, pedipalpos con la fórmula más frecuente de PF: B/B/BNB¹; que indica que el fémur tiene una seta ramificada, la genua una ramificada y la tibia tiene la dorsal con ramas, la dorsolateral lisa y la ventral con ramas, el tarso con la tarsal y 5 setas ramificadas, sin subterminal; uña tibial bi o trifurcada; sedas galeales con ramas. El escudo con una proyección anteromediana; la placa tiene una forma pentagonal generalmente; con 6 sedas ramificadas; las sensilas son largas, flageliformes y lisas. 2/2 ojos grandes, sobre una placa ocular. No presentan estigmas ni tráqueas. Las patas con artejos 6-6-6; coxas III con 1 a 4 sedas; con 3 a 5 genuales I, 1 a 7 genuales II, 1 a 7 genuales III, 1 tibial III y 0 a 3 femorales III; sin mastigosedales; con subterminal y parasubterminal I uñas con onicotriquiias.

Hyland (1950) y Hyland y Wharton (1955) estudiaron en detalle la biología y los hábitos de las especies de *Hannemania*, logrando el primero de ellos completar en laboratorio el ciclo vital de *H. dumni*. En el trabajo de Hyland (1961) fue posible completar el ciclo de vida en el laboratorio de *H. hegeneri* (Hyland, 1956), calculando un tiempo promedio de 85 días para completar su ciclo de vida.

Cuando los sapos y ranas están parasitados se presentan pequeñas excrecencias en la piel, que miden alrededor de 1mm de diámetro, correspondiendo cada una de ellas a un ácaro. La larva no rompe el tejido conjuntivo de la piel, sino que forma una envoltura completa a su alrededor (Alzuet & Mauri, 1987). Estos parásitos siempre están encapsulados por tejido conectivo en la dermis de su huésped y las cápsulas son totalmente visibles debajo de la epidermis (Fig. 3) (Grover *et al.*, 1975). La acumulación de fibroblastos de células hospedadoras e histiocitos en la capa externa de la cápsula es una respuesta por parte del hospedador para aislar el parásito a partir de su tejido y, probablemente, para efectuar la función de reparación (Grover *et al.*, 1975).

¹ PF=fórmula pedipalpal propuesta por Vercammen-Grandjean (1960) que utiliza la letra N (*nude*) para designar las setas lisas y B (*branched*) para setas ramificadas del pedipalpo

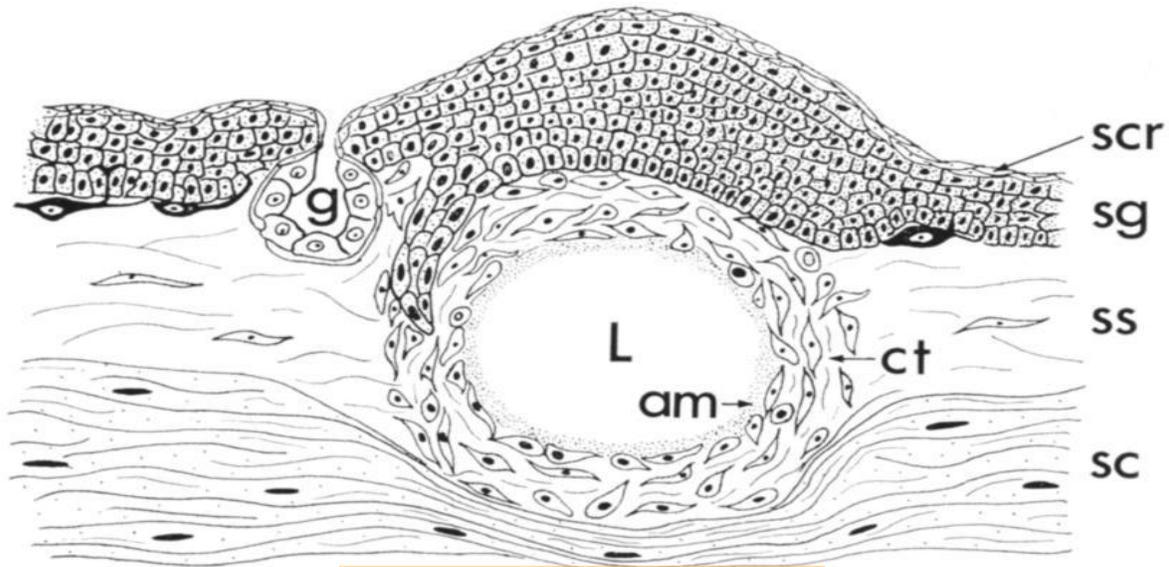


Figura 3. Esquema de la sección de la piel de un anfibio que muestra la cápsula de tejido formado por el hospedador en respuesta a la presencia de una larva de *Hannemania* sp. Toda la cápsula está situada dentro el estrato esponjiforme de la dermis. Notese la acantosis de las células epidérmicas por encima de la cápsula, la compresión y la distorsión del estrato compacto directamente debajo de la cápsula, y la proliferación de los fibroblastos de la célula huésped que forman la capa externa de la cápsula. scr = estrato córneo y sg = estrato germinativo, las 2 capas de la epidermis; ss = estrato esponjoso y sc = estrato compacto, las 2 capas de la dermis; ct = estrato exterior de acogida de las células del tejido conjuntivo; am = amorfa, anucleadas capa más interna de la cápsula; L = lumen de la cápsula donde se alojan los ácaros; g = una glándula cutánea (extraído de Grover *et al.*, 1975).

Hyland en su trabajo de 1961, divide las relaciones existentes entre la larva y el hospedador en seis fases: (1) la selección del sitio, (2) entrada en el tegumento, (3) posición final en el tegumento, (4) encapsulación, (5) congestión, y (6) escape. Después de que el sitio para la penetración ha sido elegido y se han insertado los quelíceros, el ácaro se mueve gradualmente en el huésped y pasa a situarse dentro del tejido conectivo laxo de la dermis. Una reacción local se produce y el tejido circundante se convierte y reorganiza en una capa de tejido conectivo alrededor del ácaro. La fase de alimentación y crecimiento del ácaro se lleva a cabo durante un período de tiempo estimado de 2 a 3 semanas. Después de este periodo, las larvas pueden permanecer asociadas al hospedador por un período adicional de tiempo, de modo que la fase parasitaria puede

durar un total de 6 meses o más. Por medios que son principalmente mecánicos las larvas son capaces de salir de los hospedadores vivos o muertos para completar la fase no parasitaria del ciclo de vida.

3.2.1- Especies del género *Hannemanina*

Los datos más recientes permiten reconocer 27 especies de género *Hannemanina* en el mundo (Espino del Castillo *et al.*, 2011; Silva-De la Fuente *et al.*, 2016) (véase Anexo 1). Junto a esto se ha descrito que las larvas de *Hannemanina* no son específicas de un hospedador, pero las infestaciones se presentan con mayor frecuencia en ciertos grupos de anfibios (Brown *et al.*, 2006).

3.2.2.- Especies de *Hannemanina* en Chile

Hannemanina pattoni Sambon, 1928

Sambon (1928) entrega una descripción de *H. pattoni*, siendo la primera especie de ácaro identificado en anfibios chilenos. El hospedador tipo fue *Barborocoetes taeniatus* (Girard) (Sin. *Batrachyla taeniata*) (Frost, 2016) y la localidad tipo, Temuco, Chile.

En la descripción se menciona que el aparato bucal presenta setas visibles sobre la base; cada una con tres ramas largas. Los pedipalpos en cada segundo y tercer segmento palpal tienen una seta larga, plana y encorvada; el cuarto segmento lleva una seta plana y dos aserradas, cada uno con seis ramas largas. El pulgar conoidal con ocho setas; tres simples, cinco ramificadas. La uña palpal tiene tres púas, la uña de en medio más larga y gruesa, las púas de al lado son accesorias de igual talla y longitud (Fig. 4) Quelíceros con una fila externa de aproximadamente diez dientes dirigidos hacia el ápice. Escudo dorsal, aproximadamente pentagonal y más largo que ancho, setas antero-mediana más cortas y postero-laterales más largas, todas aserradas. Pseudo estigmas circulares, situados cerca de la mitad del escudo, por debajo de la línea que une las dos setas postero-laterales, y separados por una distancia igual a una vez y media su propio diámetro. Órganos pseudo-estigmaticos filiformes. La superficie ventral tiene un fuerte y prominente espolón en la esquina anterior del borde distal de la coxa I; setas en coxa I y III altamente ramificadas; seta en la coxa II con dos o tres ramificaciones poco visibles. En las patas, los tarsos I y II tienen una seta con forma de varilla cada uno, de alrededor de un tercio la

longitud de la respectiva articulación, y una o dos pequeñas espinas sensoriales. El largo del ácaro, sin incluir el aparato bucal es de 1,27 mm y 0,80mm de ancho (Sambon, 1928).

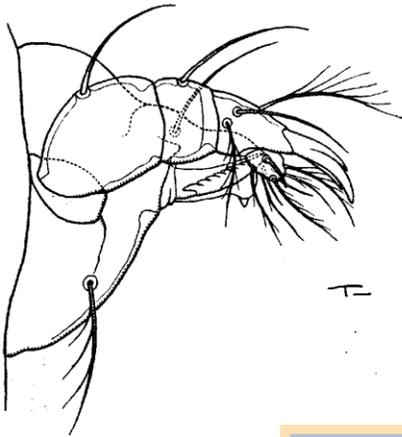


Figura 4. *Hannemania pattoni*. Pedipalpo (extraído de Sambon, 1928).

***Hannemania. gonzaleacunae* Silva–de la Fuente, Moreno-Salas & Castro-Carrasco**

Descripción: Larva. Gnatosoma. Fórmula setal palpal: B/B/BNB. 5B; garra palpal trifurcada; galeala lisa; quelíceros con una amplia expansión con pequeños dientes.

Escudo: Forma pentagonal con una proyección anteromedial, con seis setas; seta AM ligeramente ramificada comparada con seta AL y PL. $AM < AL < PL$. Sensilas flageliformes con ramificaciones muy pequeñas en la punta. $PW/SD=1$.

Idiosoma: Cutícula estriada excepto sobre el escudo y coxas. Ojos 2/2 sobre la placa ocular. Dorso con 56 (40-56) setas idiosomales, distribuidas en hileras con número irregular de setas; un par de setas humerales (2H). Vientre con 46 setas (42-56) distribuidas en hileras irregulares y dos pares de setas esternales entre las coxas III. Todas las setas idiosomales están fuertemente ramificadas.

Patas: Todas con 6 segmentos, con un par de garras y empodio, ambas estructuras con onicotriquias. Pata I: coxa con 2 setas ramificadas, trocánter 1B; basifemur una seta ligeramente ramificada; telofemur 4B; genua 4B, 4 genualas y 1 microgenuala; tibia 8B, 2 tibialas y 1 microtibiala; tarso 26B, tarsala, microtarsala en posición distal a la tarsala, pretarsala, subterminala y parasubterminala. Pata II: coxa 1B (1b ligeramente ramificada); trocánter 1B; basifemur 1B ligeramente ramificada; telofemur 4B; genua 4B con una genuala y 1 microgenuala; tibia 6B con 2 tibialas y sin microtibialas; tarso 18B, tarsala, microtarsala distal a la tarsala y pretarsala. Pata III: Coxa 1B, trocánter 1B; basifemur 1B

ligeramente ramificada, telofemur 3B; genua 4B con 1 genuala; tibia 6B con tibiala; tarso 16B sin mastiseta o tarsala (Fig. 5).

Hospedador: *Eupsophus nahuelbutensis* Ortiz, Ibarra-Vidal & Formas (Anura: Leptodactylidae).

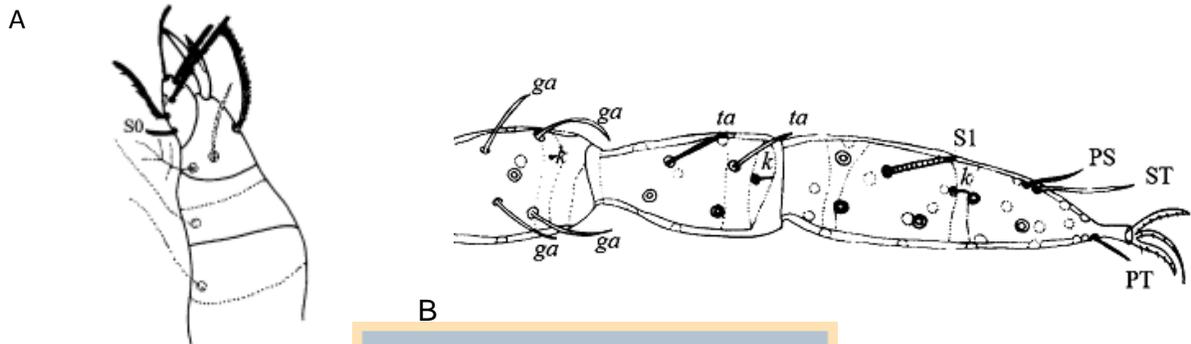


Figura 5. *Hannemania gonzaleacunae*. A. pedipalpo; B. pata I. (extraído de Silva-De la Fuente *et al.*, 2016)

***Hannemania ortizi* Silva-de la Fuente, Moreno-Salas & Castro-Carrasco**

Descripción: Larva. Gnatosoma. Fórmula setal palpal: B/B/BNB. 5B; garra palpal trifurcada; galeala lisa; quelíceros con una amplia expansión con pequeños dientes.

Escudo: Forma pentagonal con una proyección anteromedial, con seis setas; seta AM ligeramente ramificada comparada con seta AL y PL. $AM < AL < PL$. Sensilas flageliformes con ramificaciones muy pequeñas en la punta. $PW/SD=1$.

Idiosoma: Cutícula estriada excepto sobre el escudo y coxas. Ojos 2/2 sobre la placa ocular. Dorso con 51 (40–54) setas idiosomales, distribuidas en hileras con número irregular de setas; un par de setas humeras (2H). Vientre con 43 setas (30–54) distribuidas en hileras irregulares y dos pares de setas esternales entre las coxas III. Todas las setas idiosomales están fuertemente ramificadas.

Patatas: Todas con 6 segmentos, con un par de garras y empodio, ambas estructuras con onicotriquiass. Pata I: coxa con 2 setas ramificadas, trocánter 1B; basifemur una seta ligeramente ramificada; telofemur 4B; genua 4B, 2 genualas y 1 microgenuala; tibia 8B, 2 tibialas y 1 microtibiala; tarso 25B, tarsala, microtarsala en posición distal a la tarsala, pretarsala, subterminala y parasubterminala. Pata II: coxa 1B (1b ligeramente ramificada); trocánter 1B; basifemur 1B ligeramente ramificada; telofemur 4B; genua 4B con una

genuala y 1 microgenuala; tibia 6B con 2 tibialas y sin microtibialas; tarso 18B, tarsala, microtarsala distal a la tarsala y pretarsala. Pata III: Coxa 1B, trocánter 1B; basifemur 1B ligeramente ramificada, telofemur 3B; genua 4B con 1 genuala; tibia 6B con tibiala; tarso 16B sin mastiseta o tarsala (Fig. 6).

Hospedador: *Pleurodema thaul* (Lesson) (Anura: Leptodactylidae) and *Eupsophus contulmoensis* Ortiz, Ibarra-Vidal & Formas (Anura: Alsodidae).

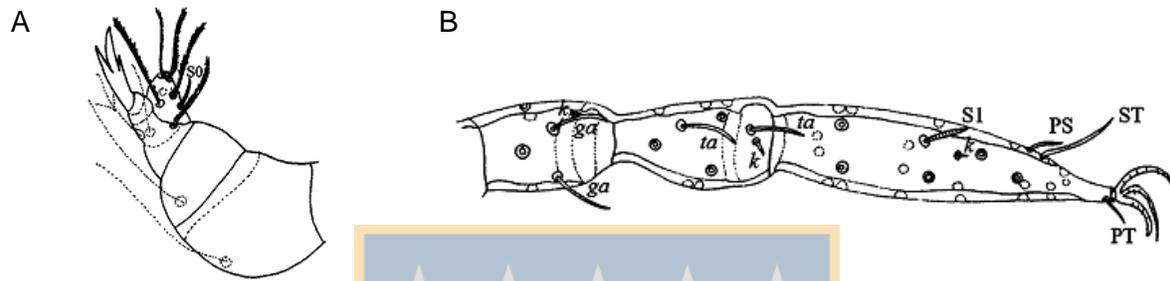


Figura 6. *Hannemania ortizi*. A. pedipalpo; B. pata I (extraído de Silva-De la Fuente *et al.*, 2016)



DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Enfoque: La presente investigación fue de carácter mixto, esto es, tuvo un enfoque tanto cualitativo como cuantitativo (Hernández *et al.*, 2010). Cualitativo puesto que fue necesario identificar las especies de parásitos según sus características morfológicas (caracteres diagnósticos), así como las especies a las que infestan; cuantitativo puesto que para determinar tanto la prevalencia como la intensidad de infestación sobre las especies hospedadoras se analizó estadísticamente la cantidad de parásitos intradérmicos presentes en el total de individuos colectados.

Método: La investigación siguió un método exploratorio – correlacional, debido a que actualmente existen escasos estudios acerca de la temática a tratar, por lo que este trabajo buscó servir de base para posteriores estudios (Hernández *et al.*, 2010). Por otra parte, se pretendió establecer la existencia de una relación entre el hábito de vida de las especies de anuros y su prevalencia e intensidad de infestación.

Diseño: El presente estudio tiene un diseño de carácter no experimental, esto es, no se manipulan deliberadamente las variables (Hernández *et al.*, 2010), puesto que se buscó estudiar la prevalencia e intensidad de parasitación bajo las mismas condiciones en las que los hospedadores se encuentran en la naturaleza.

Unidad temporal: La presente investigación, al ser de tipo no experimental, siguió un diseño de investigación transeccional o transversal, esto es, los datos se recolectaron en sólo dos tomas de muestra, pero sin el objetivo de ver su evolución en el tiempo. Es decir, su propósito es describir variables y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado (Hernández *et al.*, 2010).

Variables:

Independientes

- Especie hospedador.

Dependiente

- Especie de ácaros parásitos.
- Prevalencia de infestación de ácaros en cada especie hospedadora.
- Intensidad de infestación de ácaros en cada especie hospedadora.

Población: Las diferentes especies de anuros que habitan la zona alta de Antuco. Estas especies son: *Rhinella spinulosa*, *Pleurodema bufonina*, y *P. thaul*.

Muestra: Se trabajó con dos muestras diferentes: Para determinar la prevalencia de infestación por parásitos intradérmicos se estudiaron todos aquellos anuros recolectados de las zonas de muestreo. Para determinar la intensidad de infestación, la muestra correspondió a todos aquellos ejemplares que presentan infestación propiamente tal.

Unidad de Análisis: Ácaros intradérmicos encontrados como parásitos en los ejemplares de anuros recolectados.

Técnica de Recolección de Hospedadores

Entre los meses de abril-mayo y septiembre-octubre de 2016, se recolectaron anfibios de las especies *Rhinella spinulosa*, *Pleurodema bufonina*, y *P. thaul* desde las áreas de Los Pangués (37°23'46"S; 71°26'02"O, 982 msnm) y Los Barros (37°28'32"S; 71°19'10"O, 1400 msnm), sectores cercanos al Parque Nacional Laguna del Laja ubicados en la comuna de Antuco, región del Bio Bio (Fig. 7). Ambas ubicaciones tienen climas transicionales desde una temperatura cálida a una fría; precipitaciones nivales desde junio a septiembre y en forma de lluvia el resto del año, con una precipitación máxima entre mayo y agosto (55%) y solamente un 9% entre enero y marzo. La temperatura máxima promedio es de 14°C, con un mínimo de -0,9°C y un promedio anual de 6,8°C. La vegetación está caracterizada por una cadena montañosa con bosques homogéneos de ciprés (*Austrocedrus chilensis*), radial (*Lomatia hirsute*) y radial enano (*Orites myrtoidea*) (Díaz-Páez, *et al.*, 2016).



Figura 7. Ubicación de los sitios de recolección de anfibios en la región del Biobío. A) Región del Biobío; B) detalle de los sitios de colecta al interior del PN Laguna Laja.

Los ejemplares de anfibios fueron capturados manualmente usando la técnica de relevamiento por encuentro visual (VES) con un diseño aleatorizado por caminatas al azar, esto es, la búsqueda sistemática de individuos al recorrer un área de muestreo en direcciones aleatorias, observando el lugar y levantando madrigueras con el objetivo de encontrar individuos deambulando libremente u ocultos bajo piedras o troncos (Crump & Scott, 2001). El muestreo se realizó tres veces (mañana, tarde y noche) en un día. Los ejemplares capturados fueron medidos desde el hocico hasta la cloaca (snout-vent length, [SVL]) con un caliper de precisión 0.01mm y masados usando una balanza electrónica (precisión 0.01g). Los anfibios fueron transportados en contenedores plásticos al Laboratorio de Ecofisiología de Herpetozoos (Universidad de Concepción, Los Ángeles, Chile).

Una vez en el laboratorio, los ejemplares fueron cuidados en acuarios acondicionados para imitar las condiciones ambientales de su hábitat original, esto es, sustrato de gravilla, agua y una temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$. Una vez terminado el estudio, los anfibios fueron liberados en sus sitios de recolección originales.

Identificación de los parásitos

Para extraer los ácaros, los animales fueron inmovilizados mecánicamente dejando al descubierto la región corporal en que se encontraban los ácaros donde se realizó una pequeña incisión con agujas subcutáneas 25G Naranja 0,5 X 16 mm. Los ácaros extraídos fueron almacenados en tubos eppendorf con etanol 50%. Para identificar los ácaros, inicialmente se aclararon durante 24-48 horas en solución de Nesbit y posteriormente se montaron en forma permanente en portaobjetos usando medio de Berlese (González-Acuña *et al.*, 2003). Las muestras fijadas fueron observadas en microscopios OLYMPUS CX22LED con aumento 1000x y se compararon con las descripciones de especies del género *Hannemania* (anexo 2).

Puesto que todas las especies de ácaros de anuros descritos en Chile corresponden al género *Hannemania*, se verificó la pertenencia de los ácaros extraídos a este grupo taxonómico al comparar los caracteres diagnósticos propios de este género según la descripción de Hoffmann (1990) para los ácaros de México. El análisis final de la identidad de los ácaros se realizó con apoyo de microscopía óptica y electrónica. Los caracteres diagnósticos analizados consisten en las medidas del escudo dorsal, fórmula pedipalpal, condición de seta galeal, condición de la garra palpal y presencia de setas especializadas en los artejos de las patas (especialmente genua I). Las muestras montadas en los portaobjetos fueron fotografiadas usando un microscopio trinocular Motic, modelo BA-310 con cámara incorporada.

La especie nueva fue descrita basándose en las descripciones de Stekolnikov & González-Acuña, 2015 y Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016 utilizando las siguientes formulas: SIF-Fórmula sintética de identificación: número de setas ramificadas en el tarso palpal, presencia de subterminala lisa en el tarso palpal (S0) – condición de seta galeal (N-lisa, B-ramificada) - número de dientes en uña palpal, número de genuala I, número de genuala II, número de genuala III, número de tibiala III, número de mastitarsala III, número de mastitibiala III, número de mastigenuala III o genuala III adicional, número de mastifemorala III. Fsp-Fórmula de segmentos de las patas (número de segmentos en cada par de patas). fCx-Fórmula setas coxa, (número de setas en coxas I-III). fSt-Fórmula setas esternales.(número de setas esternales en la región anterior (entre coxa I) y posterior (entre coxa III). fPp-Fórmula segmentos palpales (seta femur palpal, seta genua palpal, tres setas de la tibia palpal (dorsal, lateral y ventral)). fSc-Fórmula escutal: AM-seta anterodiomediana; AL-seta anterolateral; PL-seta posterolateral. AW-distancia entre setas

Determinación de la prevalencia e intensidad de infestación

La presencia de ácaros se determinó por observación directa con un estereomicroscopio a 40 aumentos. Para identificar las regiones del cuerpo con mayor infestación, se contaron el número de ácaros en cada zona corporal para establecer un total de dos regiones anatómicas (dorsal y ventral). La posición de cada acaro en el cuerpo se registró en un esquema con una vista dorsal y ventral de cada anfibio, en el que se incluyó además el número de ácaros encontrados en cada región. Para determinar la prevalencia de infestación para cada especie, se estableció la razón entre el número de especímenes parasitados y el total de individuos recolectados de esa especie. La intensidad de infestación se determinó como el número promedio de ácaros encontrados en cada hospedador.

La determinación de la existencia de diferencias significativas en los valores de prevalencia e intensidad de parasitación sobre las tres especies hospedadoras obtenidas en diferentes sitios de muestreo y temporadas de colecta se obtuvo con el uso del software IBM SPSS Statistics versión 23 32-bit. Para determinar si la intensidad de infestación puede verse influida por la identidad de la especie hospedadora, se aplicó un test de Kruskal-Wallis sobre el total de ácaros presentes sobre los especímenes infestados de las tres especies. La misma prueba se aplicó para determinar la influencia de la localización espacial de los anuros o la temporada de colecta. De de ser positiva, se aplicó la prueba U de Mann-Withney entre pares hasta hallar la combinación que muestre una diferencia significativa entre los valores de infestación.

La existencia de diferencias significativas en la prevalencia de infestación se determinó mediante la comparación del porcentaje de infestados de cada especie hospedadora, divididos además según localización y temporada de colecta.

RESULTADOS

Los resultados de microscopía óptica muestran que los ácaros extraídos de *P. bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa* corresponden a la descripción del género *Hannemania* según la clave propuesta por Hoffman (1990) para clasificar los ácaros de México. Siendo los rasgos diagnósticos; el escudo con proyección anteromediana; artejo distal del quelícero con una gran expansión distal provista de numerosos dientecillos pequeños; presencia de múltiples sedas genuales en todas las patas (hasta 15 en la pata I); tarso con la tarsal y 5 sedas ramificadas (Hoffmann, 1990).

Para la identificación de la especie de ácaros parásitos se procedió a la observación de las muestras prestando especial atención en ciertos caracteres diagnósticos, específicamente la forma de las setas del pedipalpo, número de setas del tarso, proyecciones de la garra palpal, condición de la seta galeal y número de genuales en pata I, II, III. Para esto se utilizó como referencia los caracteres diagnósticos del Anexo 2 (Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016). En base a estos se logró identificar la presencia de dos especies de ácaros parásitos. La primera especie fue reconocida como *H. gonzaleacunae*, basándose en la descripción de la especie, destacando la forma de las setas del pedipalpo (PF: B/B/BNB), condición de la seta galeal (Ga: N) y número de genuales I (4 ga). Estos caracteres fueron esquematizados a partir de una muestra de ácaro parásito en la especie hospedadora; *R. spinulosa* (Fig. 9)

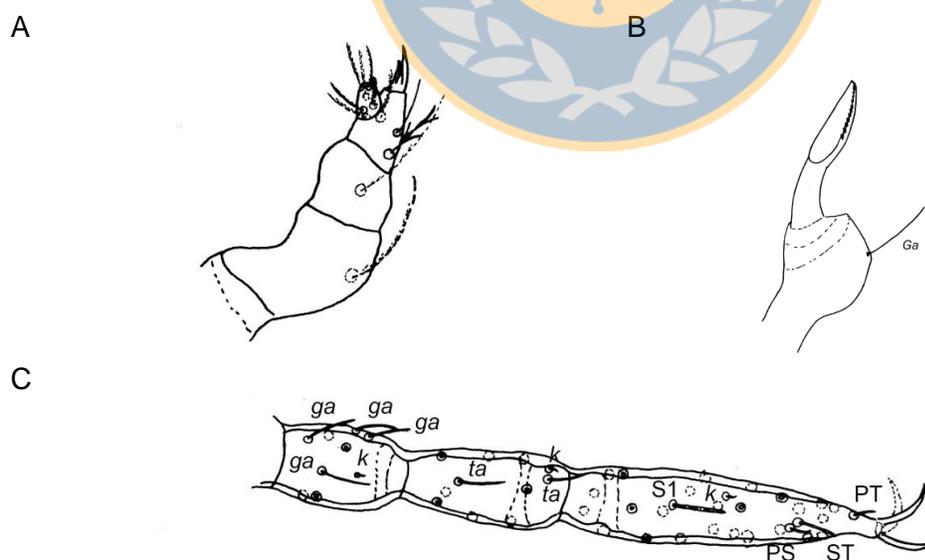


Figura 9 :*Hannemania gonzaleacunae* A. pedipalpo; B. quelícero; C. pata I (Elaboración propia identificada en *R. spinulosa*).

La segunda especie identificada no se corresponde a las descripciones realizadas para las 27 especies del genero *Hannemania* y por consiguiente a las descritas en nuestro país. Esta comparación se realizó a partir de los caracteres diagnósticos del Anexo 2 (Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016). Se determinó como principales diferencias con las especies descritas, la forma de las setas del pedipalpo (PF: B/B/BBB), condición de la seta galeal (Ga: B) y número de genuas I (2 ga) (Fig. 10). Este nuevo morfo se designó como *Hannemania* n.sp.

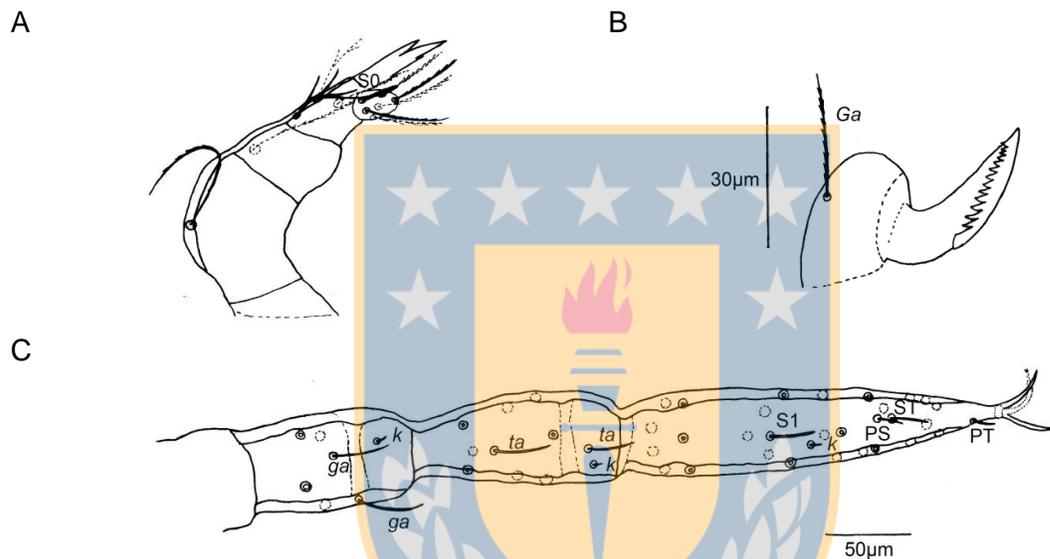


Figura.10. *Hannemania* n.sp. A. pedipalpo; B. quelicero; C. pata I (Elaboración propia, identificada en *R.spinulosa*).

La organización de los datos a partir de los ácaros identificados se realizó de acuerdo a la especie hospedadora y lugar de colecta obteniéndose los siguientes resultados:

R.spinulosa colectados en el sector de Los Pangues en el mes de septiembre 2016

Se seleccionaron 10 muestras de ácaros de las cuales 7 corresponden a la especie *H. gonzaleacunae* con un tamaño promedio en ancho de 415,2µm (346,9-518,7) y largo de 627,8µm (530,9-872,5). El idiosoma presentó en promedio de 73 (62-82) setas ventrales; 75 (67-84) setas dorsales; y relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 1,12.

Para esta temporada y especie se estableció que tres muestras correspondían a *Hannemania* n.sp. Esta especie de ácaro presentó un tamaño promedio en ancho de

721,7 μ m (713,1-730,7) y largo de 1024,3 μ m (1022,8-1025,9). El idiosoma presentó un promedio de 46 (42-49) setas ventrales; 50 (44-58) setas dorsales; y una relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 1,05.

R.spinulosa colectados en el sector de Los Barros en el mes de noviembre 2016

Se seleccionaron cinco muestras de las cuales dos corresponden a la especie *H. gonzaleacunae*. Estos ácaros presentaron un tamaño promedio en ancho de 264,4 μ m (239,8-289) y largo de 534,5 μ m (510-558,8). En el idiosoma se contabilizó un promedio de 78 (72-84) setas ventrales; 83(80-85) setas dorsales; y la relación ancho-largo del escudo (PW/SD) fue de 1,5

Para esta misma especie hospedadora, periodo y lugar de colecta; 3 muestras correspondieron a *Hannemania* n.sp. con un tamaño promedio en de 610,3 μ m (602-616,7) y largo de 932 μ m (865,1-977,7). Los ácaros presentaron un promedio de 53 (50-55) setas ventrales; 56(55-56) setas dorsales; y una relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 0,93

P. bufonina colectados en el sector de los Barros en el mes de abril 2016

Se seleccionaron 7 muestras de las cuales 7 se identificaron de la especie *H. gonzaleacunae* con un tamaño promedio en ancho de 423,5 μ m (398,0-490,0) y largo de 647,71 μ m (519,7-722,6). El idiosoma presentó un promedio de 79 (70-88) setas ventrales; 84 (75-92) setas dorsales y relación ancho-largo del escudo de 1,15.

P. bufonina colectados en el sector de los Barros en el mes de noviembre 2016

Se seleccionaron 5 muestras de las cuales 1 correspondió a la especie *H. gonzaleacunae* con un tamaño en ancho de 335 μ m y largo de 622,8 μ m. La muestra presentó 74 setas ventrales; 78 setas dorsales; y una relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 1,16

Para esta misma especie hospedadora, periodo y lugar de colecta 4 muestras observadas correspondieron a *Hannemania* n.sp. con un tamaño promedio en ancho de 734,1 μ m (307-925,3) y largo de 1062 μ m (413,8-1342) ; un promedio de 56 (55-58) setas ventrales; 58 (54-60) setas dorsales; y relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 1,46

P. thaul colectados en el sector de Los Pangues en el mes de septiembre 2016

Se seleccionaron 10 muestras de las cuales 3 se identificaron como de la especie *H. gonzaleacunae* con un tamaño promedio en ancho de 384,8 μ m (348,5-421,1) y largo de 607,9 μ m (591,3-624,5). El idiosoma presentó un promedio de 72 (70-76) setas ventrales; 80(76-86) setas dorsales; y una relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 1,18

7 muestras se identificaron como de la especie *Hannemanía* n.sp. con un tamaño promedio en ancho de 662,5 μ m (549,5-769,5) y largo de 1082,6 μ m (1006,1-1187,3); un promedio de 51 (44-56) setas ventrales; 55(46-58) setas dorsales; y relación ancho-largo del escudo (PW/SD) de 0,95

El total de ácaros seleccionados fue de 37, identificándose 20 de la especie *H. gonzaleacunae* y 17 de *Hannemanía* n.sp. Con el fin de organizar las muestras analizadas en relación al número y condición de las setas además de las medidas realizadas (en μ m) a continuación se muestra un detalle de las características morfológicas de las especies de ácaros identificadas con variaciones entre los individuos observados. En la comparación del gnatomoma (tabla 2a) se determinó la presencia de diferencia a nivel de la tibia palpal y la condición de la seta galeal.

	<i>H. gonzaleacunae</i> (n=20)	<i>Hannemanía</i> n.sp. (n=17)
Trocanter palpal	B	B
Femur palpal	B	B
Genua palpal	B	B
Tibia palpal	B/N/B	B/B/B
Tarsus palpal	5B	5B
Galea	N	B
Quelicero	11-15 dientes	12-15 dientes

Tabla 2a. Detalle de los caracteres diagnósticos del gnatosoma de las especies de ácaros encontradas en los hospedadores analizados. B=ramificada (*branched*); N=lisa (*nude*).

En la comparación de los segmentos de las patas (tabla 2b) se estableció como principal diferencia entre ambas especies en número de genuas I además de variaciones en el número de setas de tarso I y tarso III

	<i>H. gonzaleacunae</i> (n=20)	<i>Hannemania n.sp.</i> (n=17)
Coxa I	2B	2B
Trocanter I	1B	1B
Femur I	5B	5B
Genua I	4B,4ga,k	4B,2ga,k
Tibia I	8B,2ta,k	8B,2ta,k
Tarso I	25-26B,S1,k,PT,ST,PS	25-27B,S1,k,PT,ST,PS
Coxa II	1B	1B
Trocanter II	1B	1B
Femur II	5B	5B
Genua II	4B,1gm,k	4B,1gm,k
Tibia II	6B,2tm	6B,2tm
Tarso II	17-18B,S2,k,PT	17-18B,S2,k,PT
Coxa III	1B	1B
Trocanter III	1B	1B
Femur III	4B	4B
Genua III	4B,1gp	4B,1gp
Tibia III	6B,1tp	6B,1tp
Tarso III	15-16B	16B

Tabla 2b. Detalle del número y condición de las setas de los artejos de las patas de los ácaros encontrados en los hospedadores analizados. B=seta ramificada; N=seta lisa; ga=genuala I; k=microseta; ta=tibiala I; S1=tarsala; PT=pretarsala; ST=subterminala; PS=parasubterminala; gm=genuala II; tm=tibiala II; S2=tarsala II; gp=genuala III; tp=tibiala III

En el idiosoma o cuerpo de ambas especies de ácaros (tabla 2c) se encontró que la especie *Hannemania n.sp* presentó un tamaño promedio en ancho y largo mayor que *H. gonzaleacunae* pero con un número promedio de setas dorsales y ventrales mayor.

	<i>H. gonzaleacunae</i> (n=20)	<i>Hannemania n.sp.</i> (n=17)
Setas dorsales	80 (67-92)	55 (44-60)
Setas ventrales	75 (62-88)	52 (42-58)
Ancho idiosoma	388,1 (239,8-518,7)	680,6 (307,0-925,3)
Largo idiosoma	614,6 (510,2872,5)	1039,3 (413,8-1342,0)

Tabla 2c. Detalle del número promedio de setas dorsales y ventrales del idiosoma de las dos especies de ácaros encontrados en los especímenes analizados. Incluye promedio de dimensiones del idiosoma, medidos en μm .

En las medidas estándar del escudo (tabla 2d) se encontraron amplias variaciones en las muestras de ambas especies lo que no permite establecer diferencias significativas ya que las medidas se superponen.

	<i>H. gonzaleacunae</i> \bar{x} (min-max)	<i>Hannemania n.sp.</i>
AW	44,0 (40,3-50,7)	41,8 (38,8-45,9)
PW	60,4 (55,1-65,6)	61,0 (56,5-65,9)
SB	25,4 (23,0-28,3)	27,7 (24,9-30,0)
ASB	30,3 (22,0-34,7)	32,1 (29,3-35,0)
PSB	24,4 (17,4-33,3)	31,0 (21,3-34,1)
AP	15,4 (13,2-18,5)	15,7 (14,1-17,5)
PL	47,5 (35,6-65,3)	60,7 (40,9-76,0)
AM	24,6 (11,7-35,8)	31,2 (25,3-46,5)
S	33,0 (10,5-71,3)	49,5 (27,4-67,4)
AL	33,6 (15,7-47,8)	37,1 (27,4-48,1)
SD	1,1 (1,0-1,3)	1,0 (0,9-1,1)

Tabla 2d. Detalle de las medidas promedio de diferentes características del escudo dorsal de las especies de ácaros encontrados en los especímenes analizados, de acuerdo con Warthon *et al.*, (1951). Medidas en μm .

Los resultados muestran la presencia de una nueva especie de acaro, para la cual se incorpora la descripción siguiente:

Descripción de *Hannemania* n.sp.

Diagnosis. SIF = 5B-B-3211.10000; fsp = 6.6.6; fCx = 2.1.1; fSt = 0.2; fPp= B/B/BBB; fSc (formula escutal): AM < AL < PL; Ip = 892,7; DS = 56; VS = 52.

Mediciones estandar de holotipo: AW 39,7; PW 60,7; SB 37,1; ASB 24,8 , PSB 30,4; SD 55,2 , AP 14,6; AM 25,4; AL 34,9; PL 56,7; S 55,9; H 56,5; pa 335,9; pm 267,9; pp 288,9.

Descripción: Larva. Gnatosoma. Fórmula setal palpal: B/B/BBB. 5B; garra palpal trifurcada; galeala con ramas; quelíceros con una amplia expansión con 12 pequeños dientes.

Escudo: Forma pentagonal con una proyección anteromedial, con seis setas; AL y PL. AM<AL<PL. Sensilas flageliformes. PW/SD=1,1

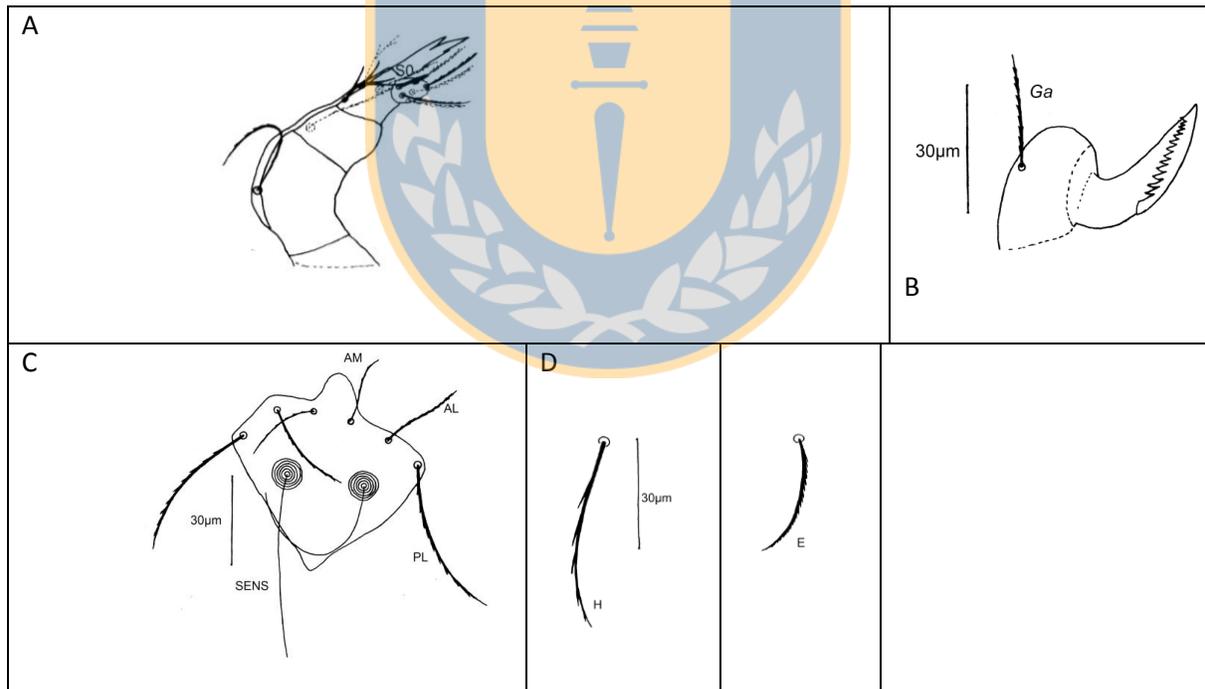
Idiosoma: Cutícula estriada excepto sobre el escudo y coxas. Ojos 2/2 sobre la placa ocular. Dorso con 54 (44-60) setas idiosomales, distribuidas en hileras con número irregular de setas; un par de setas humerales (2H). Vientre con 52 setas (42-58) distribuidas en hileras irregulares y un par de setas esternales entre las coxas III. Todas las setas idiosomales están fuertemente ramificadas.

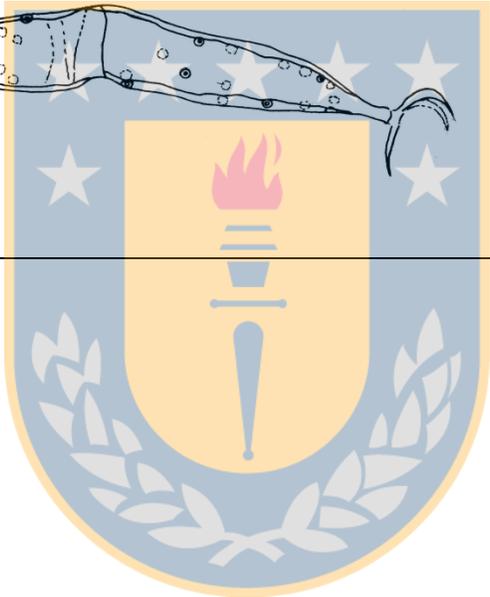
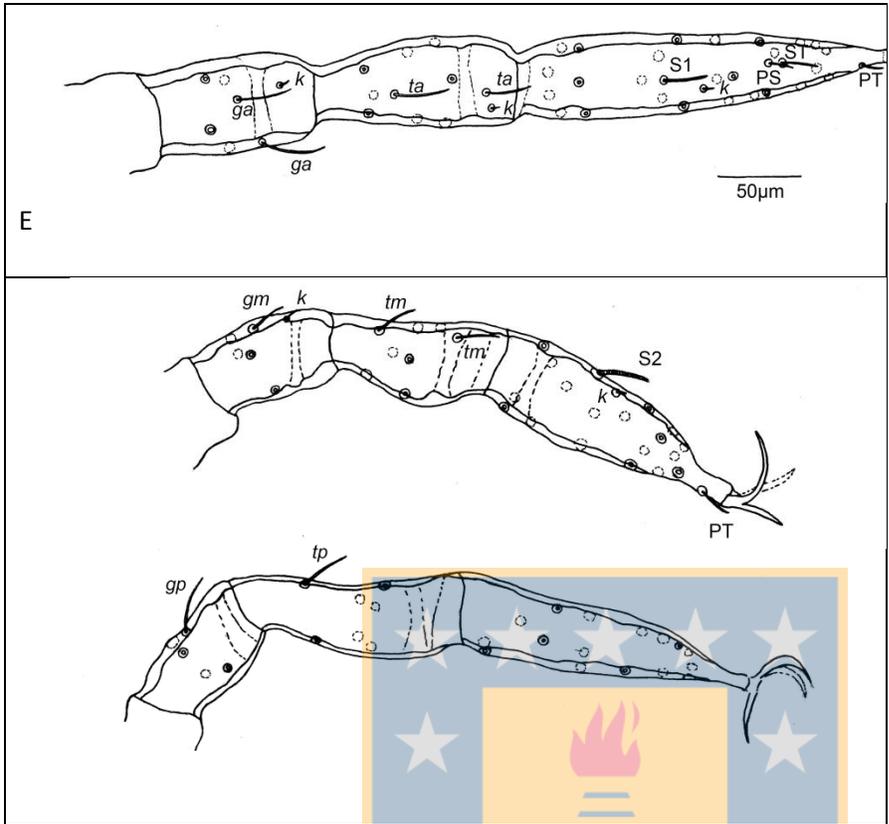
Patas: Todas con 6 segmentos, con un par de garras y empodio, ambas estructuras con onicotriquiias. Pata I: coxa con 2 setas ramificadas, trocánter 1B; basifemur una seta ligeramente ramificada; telofemur 5B; genua 4B, 2 genualas(*ga*) y 1 microgenuala(*k*); tibia 8B, 2 tibialas(*ta*) y 1 microtibiala(*k*); tarso 26B, tarsala(S1), microtarsala(*k*) en posición distal a la tarsala, pretarsala(PT), subterminala(ST) y parasubterminala(PS). Pata II: coxa 1B (1b ligeramente ramificada); trocánter 1B; basifemur 1B ligeramente ramificada; telofemur 4B; genua 4B con una genuala(*gm*) y 1 microgenuala(*k*); tibia 6B con 2 tibialas(*tm*) y sin microtibialas; tarso 18B, tarsala(S2), microtarsala(*k*) distal a la tarsala y pretarsala(PT). Pata III: Coxa 1B, trocánter 1B; basifemur 1B ligeramente ramificada, telofemur 3B; genua 4B con 1 genuala(*gp*); tibia 6B con 1 tibiala(*tp*); tarso 16B sin mastiseta o tarsala.

Hospedador: *Rhinella spinulosa* (Wiegmann) (Anura: Bufonidae), *Pleurodema thaul* (Lesson) (Anura: Leptodactylidae) y *Pleurodema bufonina* (Bell) (Anura: Leiuperidae)

Material. HOLOTIPO larva (RS. 29.12(5)) y 16 paratipos (RS 18.11 (3); RS 18.11 (8); RS 22.11 (6); RS 29.12 (2); RS 29.12 (7); PB 11.11 (1); PB 11.11 (2); PB 23.12 (2); PB 23.12 (4); PT 21.12 (6); PT 22.12 (5); PT 22.12 (7); PT 22.12 (8); PT 22.12 (10); PT 22.12 (11); PT 22.12 (13)) colectados de *Rhinella spinulosa*, CHILE: Región del Biobío, Los Barros, 37°28'32"S; 71°19'10"O, Noviembre 2016; Los Pangues, 37°23'46"S; 71°26'02"O, Septiembre 2016. *Pleurodema thaul* CHILE: Región del Biobío, Los Pangues, 37°23'46"S; 71°26'02"O, Septiembre 2016. *P. bufonina*, CHILE: Región del Biobío, Los Barros, 37°28'32"S; 71°19'10"O, Noviembre 2016. Colectores Alveal, N.; Beltrán, E.; Díaz-Páez, H.; Fuentealba, S.; Salinas, R.

Fig. 11. *Hannemania n.sp.* A. pedipalpo; B. quelícero; C. Escudo; D. Detalle de setas: H. seta humeral, Es. seta esternal; E. patas I, II y III.





Resultados Prevalencia e Intensidad de infestación

Se analizaron 57 individuos de las tres especies de anfibios encontradas en la zona alta de la comuna de Antuco. Las tres especies hospedadoras presentaban infestación por ácaros. La prevalencia y la intensidad resultaron ser diferente según especie hospedadora, localización y tiempo de colecta (Tabla 3).

Localización	Fecha de Colecta	Especie hospedadora (n° de individuos)	Prevalencia (%)	Intensidad±SD (Mínimo-Máximo)
Los Barros	Abril (otoño)	<i>P. bufonina</i> (15)	40,0	23,8 ±17,3 (1-50)
		<i>R. spinulosa</i> (1)*	100,0*	1*
	Noviembre (primavera)	<i>P. bufonina</i> (9)	88,9	38,5±24,8 (11-67)
		<i>R. spinulosa</i> (3)	100,0	11,0±8,0 (3-19)
Los Pangues	Septiembre (primavera)	<i>P. thaul</i> (17)	82,4	17,8±18,5 (4-72)
		<i>R. spinulosa</i> (12)	91,7	16,6±14,7 (2-44)

Tabla 3. Resumen de la prevalencia e intensidad de infestación de cada especie según su temporada de colecta. *Al sólo encontrarse un espécimen de esta especie durante la colecta del mes de abril, sus datos de prevalencia e intensidad para la colecta de abril no se consideran fiables, pero si aportan a los datos globales para la especie.

La mayor prevalencia de infestación se encontró en *R. spinulosa* tanto en Los Pangues (91,7%) como en Los Barros (noviembre, 100%), aunque el reducido número de ejemplares colectados en una de las zonas de muestreo hacen impreciso este dato. De acuerdo a la temporada de colecta se observa que *P. bufonina* presenta la menor prevalencia de infestación, en ambos periodos de colecta (Abril = 40%; Noviembre = 88,9%). Por otro lado, si analizamos los resultados por sitio de colecta se observa que *P. thaul* es la especie con menor prevalencia para Los Pangues (Tabla 3).

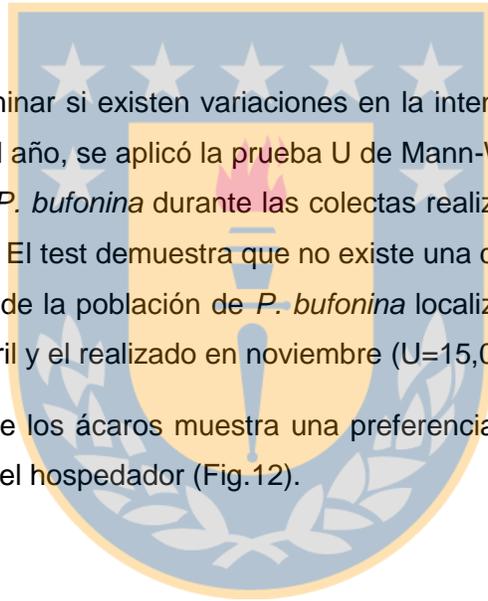
La mayor intensidad de infestación se halló en *P. bufonina*, especie sólo encontrada en los Barros, tanto en la colecta de abril (23,8 ± 17,3) como en la de noviembre (35,5 ± 24,8); en tanto, la menor intensidad de infestación se registró en *R. spinulosa* en ambos puntos de colecta (Los Pangues, septiembre 16,6±14,7; Los Barros, noviembre 11,0±8,0).

El test de Kruskal-Wallis muestra que existen diferencias significativas en la intensidad de infestación de las distintas poblaciones de anfibios ($X^2=8,848$; $p<0,05$), por lo tanto se aplica la prueba U de Mann-Whitney, la cual muestra que existen diferencias estadísticamente significativas en la intensidad de infestación de los especímenes de *P. bufonina* hallados en Los Barros respecto de los especímenes de *R. spinulosa* de Los Barros ($U=7,000$; $p<0,05$) y de los de *P. thaul* de Los Pangues ($U=44,500$; $p<0,05$).

Con el fin de determinar si la zona de colecta de los hospedadores influye sobre la intensidad de infestación, se aplicó la misma prueba sobre los especímenes de *R. spinulosa*, puesto que son la única especie que habita simultáneamente en la zona de Los Pangues y de Los Barros, demostrándose que no existen diferencias significativas ($U=13,500$; $p>0,05$) en la intensidad de infestación de los especímenes de *R. spinulosa* en ambas localizaciones.

Con el objetivo de determinar si existen variaciones en la intensidad de infestación entre diferentes temporadas del año, se aplicó la prueba U de Mann-Whitney sobre los datos de infestación obtenidos en *P. bufonina* durante las colectas realizadas en abril y noviembre en la zona de Los Barros. El test demuestra que no existe una diferencia significativa en la intensidad de infestación de la población de *P. bufonina* localizada en los Barros entre el muestreo realizado en abril y el realizado en noviembre ($U=15,000$; $p>0,05$).

La distribución corporal de los ácaros muestra una preferencia de estos parásitos por la ubicación ventral dentro del hospedador (Fig.12).



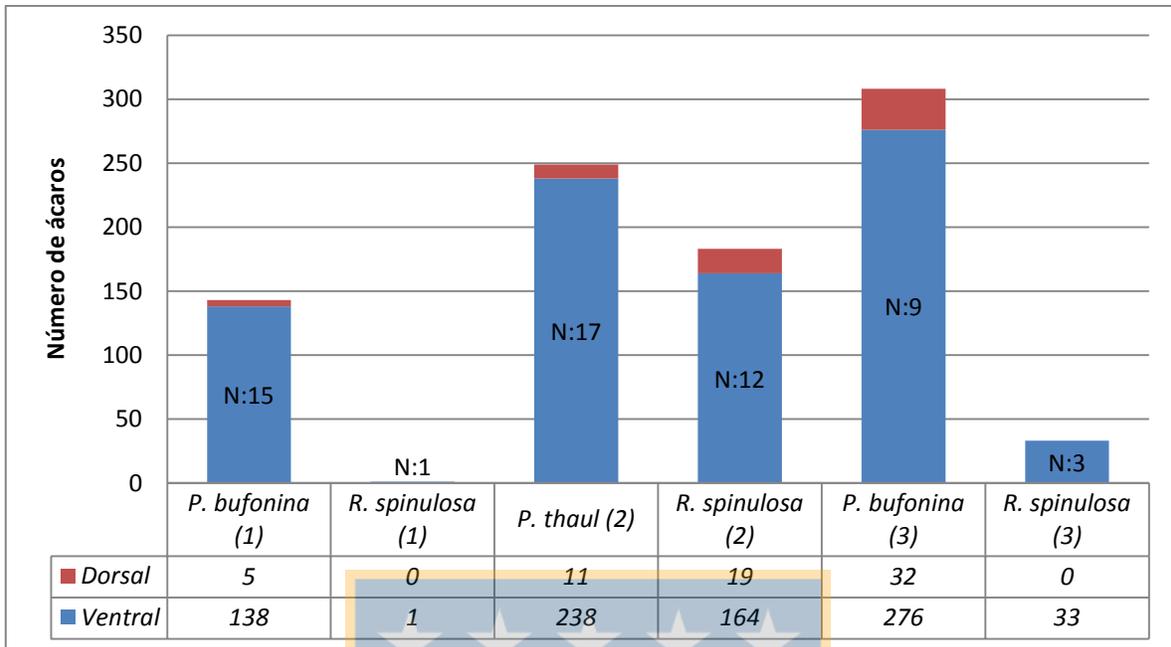


Figura 12: Número de ácaros encontrados en las regiones corporales ventral y dorsal para las especies hospedadoras *Pleurodema bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa*. (1) otoño-los Barros, (2) primavera-Los Pangués, (3) Primavera-Los Barros.

DISCUSIÓN

A nivel mundial se reconocen 27 especies de ácaros del género *Hannemania* (Espino del Castillo *et al.*, 2011; Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016). Tres de estas descritas en nuestro país. La primera descripción correspondió al ácaro tombiculido *Hannemania pattoni* sobre *Batrachyla taeniata* (Sambón, 1928). En el último tiempo se han realizado estudios que verifican la presencia de ácaros de este género en nuestro país, pero no ha sido hasta el 2016 en que se describieron dos nuevas especies; *H. ortizi* sobre *Eupsophus contulmoensis* y *Pleurodema thaul*, y el ácaro *H. gonzaleacunae* asociado al hospedador *E. nahuebutensis* (Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016). Esta última especie parásita fue reportada a través de nuestro estudio además en *Pleurodema bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa*, aumentando de esta forma el número de hospedadores de la especie y ampliando su rango de distribución. Estos datos respaldan que la especie parásita no es específica de un solo hospedador y coincide con lo establecido por Brown *et al.*, (2006). Esto también se puede constatar con los reportes de cuatros especies de ácaros asociados al hospedador *P. thaul* tanto en Argentina con *H. samboni*, como en Chile con *H. ortizi*, *H. gonzaleacunae* y *Hannemania n.sp*

La nueva especie identificada también se estableció por comparación con los caracteres diagnósticos de las especies de *Hannemania* (véase Anexo 2) destacando la fórmula pedipalpal, condición de la seta galeal y número de setas especializadas en los segmentos de las patas. La fórmula pedipalpal de la especie nueva (PF: B/B/BBB) coincide con las dos especies descritas para Bolivia; *H. chaparensis* y *H. yungicola*. Donde se diferencia de *H. chaparensis* en la condición de la seta galeal (B en especie nueva, N en *H. chaparensis*), número de genuelas I y número de femoralas III y se diferencia de *H. yungicola* solo en la condición de la seta galeal (B en especie nueva). Además la nueva especie se distingue del resto de las especies del género *Hannemania* que tienen la seta galeal con ramas (*H. anurae*, *H. bufonis*, *H. hegeneri*, *H. hylae*, *H. monticola*, *H. pelaezi* y *H. saxicola*), tanto en la formula pedipalpal como en el número de genuelas I, ya que estas especies tienen como mínimo 3 setas a diferencia de la especie nueva que presenta 2 genuelas I. La diferencia de la especie nueva con las especies descritas en anfibios chilenos (*H. pattoni*, *H. gonzaleacunae* y *H. ortizi*) radica tanto en la fórmula pedipalpal como en el número de genuelas I.

Al analizar la distribución de los ácaros en el cuerpo de los hospedadores, se encontró que estos se localizan principalmente en la región ventral, en concordancia a los datos

aportados por Hatano *et al.*, en el año 2007, en su estudio sobre la infestación de *Hannemania* sp. sobre *Hylodes phyllodes*. Una explicación para este patrón es que el área ventral e inguinal pueden representar áreas de fácil acceso a los ácaros, además de proporcionar mayor área para la localización de las larvas parasitarias y contener más tejido conectivo que permite a las larvas encapsular (Biolé *et al.*, 2015).

Respecto a los valores de prevalencia de infestación, se observó que en casi todos los casos la infestación supera el 80% de los individuos colectados, excepto en el caso de la recolección de *P. bufonina* del mes de abril (40%), que en el mes de noviembre alcanza el 88,9%, lo que podría deberse al comportamiento o el ciclo de vida de los hospedadores. Cei (1962) afirma que los especímenes de *P. bufonina*, tienen una pausa invernal (de junio a septiembre) en su actividad gametogénica, lo que se traduce en una detención del comportamiento reproductivo, que es regular durante el resto del año. Zug *et al.*, (2001) describe además que los anfibios terrestres suelen enterrarse en invierno para evitar el congelamiento debido a su condición de poiquiloterms. Esto sugiere que durante el periodo invernal, los individuos prefieren ambientes más secos, donde son más propensos a ser infestados por ácaros en fase pre-parasitaria.

Los resultados del análisis de los factores que podrían ejercer influencia sobre la intensidad de infestación sobre las poblaciones de anuros estudiadas indican que ni la localidad ni la temporada de recolección se relacionan con la cantidad de ácaros infestando a los individuos, sino más bien podría tratarse de características propias de la especie o su hábito de vida, coincidiendo con las afirmaciones de Díaz-Páez *et al.* (2016).

En cuanto al ambiente, Biolé *et al.* (2015) afirma que los ácaros del género *Hannemania* son encontrados más frecuentemente sobre anfibios de hábitos más terrestres, lo que explicaría la mayor intensidad de parasitación encontrada en *P. bufonina*, especie que según la literatura suele preferir ambientes desérticos (Pincheira-Donoso, 2012).

Asimismo, a pesar que *R. spinulosa* habita en dos localizaciones distintas, los individuos de esta especie tienden a buscar sitios de refugio similares en ambos lugares, cerca de ríos, vertientes y vegas de altura (Lobos *et al.*, 2010) razón por la que no existen diferencias significativas en su intensidad de infestación.

Los resultados indican que no existen diferencias significativas en los valores de intensidad de infestación sobre *P. bufonina* entre los meses de abril y noviembre. Este podría deberse a que el ciclo de vida de algunos ácaros del género *Hannemania* se ha

determinado como de más de seis meses de duración (Hyland, 1961), de modo que podría tratarse de la misma generación de ácaros, aspecto que podría ser corroborado a través del estudio del ciclo de vida de *Hannemania*.



CONCLUSIONES

Los ácaros identificados corresponden a más de una especie del género *Hannemanía*, identificándose la presencia de *H. gonzaleacuaneae* y *Hannemanía n. sp.* por lo que se acepta la hipótesis 1.

No existe diferencia entre especies de hospedadores respecto a las especies de ácaros que las parasitan, puesto que tanto en *Pleurodema bufonina*, *P. thaul* y *Rhinella spinulosa*.se identificaron las especies de ácaros; *H. gonzaleacuaneae* y *Hannemanía n. sp*

Los caracteres de la condición de la seta galeal, pedipalpo y número y condición de los segmento de las patas han permitido verificar la identidad de las especies parasitas, identificándose un nuevo morfo al que se denominó *Hannemanía n. sp.*

En referencia a la relación parásito-hospedador se concluye que no existe evidencia concluyente que confirme la existencia de un efecto del hábito de la especie hospedadora sobre su prevalencia de infestación, por lo que se rechaza la hipótesis 2. Pudiendo ser una causa posible de las diferencias detectadas las características propias de la historia de vida del hospedador.

La intensidad de infestación si se ve influida por el hábito de vida de la especie hospedadora, confirmándose la hipótesis 3, evidenciándose esto en *P. bufonina*. Sin embargo es posible que intervengan más factores en esta condición que debieran analizarse en futuros estudios.

ALCANCES Y LIMITACIONES

- La presente investigación permitió ampliar el conocimiento de parásitos intradérmicos en anuros chilenos agregando tres especies hospedadoras para el ácaro *Hannemania gonzaleacuane* y una especie nueva del genero *Hannemania* presente en tres especies hospedadoras. El total de hospedadores de ácaros parásitos estudiados se limita a seis anuros chilenos; correspondientes al 9,8% del total de anfibios de nuestro país. Es por eso que hay una gran cantidad de especies no han sido analizadas y que podrían aumentar la cantidad de especies nuevas de ácaros y mayor cantidad de hospedadores en las especies parasitas ya descritas.
- El estudio realizó comparaciones para establecer la influencia de las localidades de procedencia de los hospedadores y el periodo de colecta en la prevalencia e intensidad de infestación. Nuevas investigaciones se pueden ampliar incluyendo la influencia del hábitat, teniendo en consideración la medición de variables ambientales, además de las relaciones de especificidad parasito-hospedador. De la misma forma se puede establecer la relación entre la prevalencia e intensidad de infestación y las características morfológicas y anatómicas propias de la especie hospedadora.
- Las muestras analizadas fueron separadas según la especie hospedadora. Con el fin de realizar mejoras en el proceso de organización, las muestras se podrían separar por individuo para establecer si un mismo individuo presenta ácaros de distintas especies.
- Una causa posible de la similitud en intensidad de infestación de una especie en temporadas distintas (Resultados *P. bufonina*) podría ser el ciclo de vida de la especie parasita; este es un tema que se podría estudiar en laboratorio en futuros estudios.

ANEXOS

Anexo 1: Resumen de las especies del género *Hannemania* descritas en la literatura. Notese que se desconoce el hospedador tipo de *Hannemania rouxi*. (Alzuet & Mauri 1987; Biolé *et al.* 2015; Fonseca 1935; Fuller 1952; Hoffman 1990; Sambón 1928; Walters *et al.* 2011; Wohltmann *et al.* 2006)

	Especie	Hospedadores	Localidad	Autor
1	<i>H. achalai</i>	- <i>Pleurodema kriegi</i> - <i>P. cordobae</i> - <i>Odontophrynus occidentalis</i>	Córdoba (Argentina)	Alzuet & Mauri, 1987
2	<i>H. anurae</i>	- <i>Rana pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>) - <i>Rana tarahumarae</i> (= <i>Lithobates tarahumarae</i>) - <i>Rana montezumae</i> (= <i>Lithobates montezumae</i>) - <i>Syrrophus modestus pallidus</i> (= <i>Eleutherodactylus pallidus</i>) - <i>Hyla eximia</i> (= <i>Dryophytes eximius</i>) - <i>Rana sinaloae</i> = <i>R. pustulosa</i> (= <i>Lithobates pustulosus</i>)	Jalisco, Nayarit, Sinaloa (México)	Welbourn & Loomis, 1970
3	<i>H. argentina</i>	- <i>Leptodactylus ocellatus</i> (= <i>Leptodactylus latrans</i>)	Jujuy, Rio Negro (Argentina)	Lahille, 1927
4	<i>H. bufonis</i>	<i>Bufo punctatus</i> (= <i>Anaxyrus punctatus</i>)	Sonora (México) Arizona, California, Texas (U.S.A.)	Loomis & Welbourn, 1969
5	<i>H. chaparensis</i>	- <i>Eleutherodactylus platydactylus</i> (= <i>Pristimantis platydactylus</i>)	Cochabamba (Bolivia)	Wohltmann <i>et al.</i> , 2006
6	<i>H. dunni</i>	- <i>Desmognathus fuscus</i> - <i>Acris gryllus</i> - <i>A. opacum</i> - <i>Rana palustris</i> (= <i>Lithobates palustris</i>)	Arkansas, Kansas, Oklahoma, Carolina del Norte, Virginia del Oeste (U.S.A.)	Sambon, 1928
7	<i>H. edwarsi</i>	<i>Bufo variegates</i> (= <i>Nannophryne variegata</i>)	Neuquén (Argentina)	Sambon, 1928
8	<i>H. eltoni</i>	- <i>Rana sphenoccephala</i> (= <i>Lithobates sphenoccephalus</i>) - <i>Acris crepitans</i> - <i>A. gryllus</i> - <i>Bufo woodhousii</i> (= <i>Anaxyrus woodhousii</i>) - <i>Rana pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>)	Kansas, Texas (U.S.A.)	Sambon, 1928
9	<i>H. gonzaleacunae</i>	<i>Eupsophus nahuelbutensis</i>	Cordillera de Nahuelbuta (Chile)	Silva-de-la- Fuente <i>et al.</i> , 2016
10	<i>H. hegeneri</i> (= <i>H. multifemorala</i> Loomis, 1956)	- <i>Acris crepitans</i> - <i>Rana pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>) - <i>Acris gryllus</i> , - <i>Bufo terrestris</i> (= <i>Anaxyrus</i>	Florida, Georgia, Alaska, Arkansas, Kansas, Missouri, Nebraska, Oklahoma, Texas	Hyland, 1956

		<i>terrestris</i> - <i>B. woodhousii</i> (= <i>Anaxyrus woodhousii</i>) - <i>Gastrophryne olivacea</i> = <i>Microhyla olivacea</i>	(U.S.A.)	
11	<i>H hepatica</i>	- <i>Leptodactylus ocellatus</i>	Sao Paulo (Brasil)	Fonseca, 1935
12	<i>H. hobdayi</i>	<i>Pleurodema bufonina</i>	Río Negro (Argentina)	Sambon, 1928
13	<i>H. hylae</i>	- <i>Rana berlandieri</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>) - <i>Scaphiopus couchii</i> - <i>Eleutherodactylus</i> sp - <i>Hyla cadaverina</i> (= <i>Hyliola cadaverina</i>) - <i>Hyla arenicolor</i> (= <i>Dryophytes arenicolor</i>) - <i>Acris crepitans</i> - <i>Eleutherodactylus guttilatus</i> = <i>Syrhophus guttilatus</i>	Misiones (Argentina) Centro y norte de México Arizona, Utah California y Texas (U.S.A.)	Ewing, 1925
14	<i>H. hylodeus</i>	<i>Hylodes</i> sp	Brasil	Oudemans, 1910
15	<i>H. mexicana</i>	- <i>Rana moorei</i> (= <i>Lithobates johni</i>) - <i>Rana pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>)	San Luis Potosi (México) Texas (U.S.A.)	Hoffmann, 1965
16	<i>H. minor</i>	<i>Leptodactylus. Ocellatus</i> = <i>Leptodactylus latrans</i>)	Buenos Aires (Argentina)	Alzuet & Mauri, 1987
17	<i>H. monticola</i>	- <i>Hyla eximia</i> (= <i>Dryophytes eximius</i>) - <i>Ambystoma rosaceum</i> - <i>Tomodactylus saxatilis</i> (= <i>Eleutherodactylus saxatilis</i>) - <i>Eleutherodactylus marnockii</i>	Durango (México) Texas (U.S.A.)	Welbourn & Loomis, 1970
18	<i>H. newsteedi</i>	<i>Hyla rubra</i> (= <i>Scinax ruber</i>)	Urucum, Matto Grosso (Brasil)	Sambon, 1928
19	<i>H. ortizi</i>	- <i>Pleurodema thaul</i> - <i>Eupsophus contulmoensis</i>	Curicó, Purén (Chile)	Silva-de-la-Fuente <i>et al.</i> , 2016
20	<i>H. pattoni</i>	<i>Barborocoetes taeniatus</i> (= <i>Batrachyla taeniata</i>)	Temuco (Chile)	Sambon, 1928
21	<i>H. pelaezi</i>	<i>Rana pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>)	Morelos (México)	Hoffmann, 1965
22	<i>H. penetrans</i>	- <i>Bufo fowleri</i> (= <i>Anaxyrus fowleri</i>) - <i>Rana catesbeiana</i> (= <i>Lithobates catesbeianus</i>) - <i>R. pipiens</i> (= <i>Lithobates berlandieri</i>) - <i>R. sphenoccephala</i> (= <i>Lithobates sphenoccephalus</i>)	Carolina del Norte, Virginia (U.S.A.)	Ewing, 1931
23	<i>H. rouxi</i>	<i>Se desconoce</i>	Nueva Caledonia	Oudemans, 1917
24	<i>H. samboni</i> (= <i>H. argentina</i> Sambon, 1928)	- <i>Pleurodema briboni</i> (= <i>P. thaul</i>)	Rio Negro (Argentina)	Ewing, 1931
25	<i>H. saxicola</i>	<i>Tomodactylus saxatilis</i> (=	Durango (México)	Welbourn &

		<i>Eleutherodactylus saxatilis</i>)		Loomis, 1970
26	<i>H. sthepensi</i>	<i>Eleutherodactylus gollmeri</i> (= <i>Craugastor gollmeri</i>)	Tombador, Matto Grosso (Brasil)	Sambon, 1928
27	<i>H. yungicola</i>	- <i>Bufo quechua</i> (= <i>Rhinella quechua</i>) - <i>Eleutherodactylus. Platydactylus</i> (= <i>Pristimantis platydactylus</i>)	Cochabamba (Bolivia)	Wohltmann et al., 2006



Anexo 2: Caracteres diagnósticos para especies de *Hannemanina* (Tabla extraída de Silva-de-la-Fuente *et al.*, 2016)

	PF	Uña palpal	Seta galeal	Pata I: parasubterminala	Pata I: genuala(ae)	Pata II: genuala(ae)	Pata III: genuala(ae)	Pata III: femoral(ae)	Coxa III
<i>H. achalai</i>	? 5B	trifurcada	N	N	2-4	1	1	?	1B
<i>H. anurae</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	B	6-9	1	1	0	2 o más
<i>H. argentina</i>	N/B/BBB. 5B	?	N	N	?	?	?	?	?
<i>H. bufonis</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	B	3-5	1	1	0	1B
<i>H. chaparensis</i>	B/B/BBB. 5B	trifurcada	N	N	6-8	1	1	1	1B
<i>H. dunni</i>	B/B/NNN. 4B	bifurcada	?	?	?	?	?	?	?
<i>H. edwarsoni</i>	N/N/BNB. 5B	trifurcada	N	N	?	?	?	?	?
<i>H. eltoni</i>	B/B/NNN. 5B	bifurcada	?	?	?	?	?	?	1B
<i>H. gonzaleacunae</i> sp. nov.	B/B/BNB. 5B	trifurcada	N	N	4	1	1	0	1B
<i>H. hegeneri</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	N	8-13	4	7-9	4-7	1B
<i>H. hepatica</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	N	N	?	?	?	?	?
<i>H. hobdayi</i>	N/N/BNN. 4B	trifurcada	?	N	?	?	?	?	?
<i>H. hylae</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	N	3-7	1	1	0	1B
<i>H. hylodeus</i>	B/B/NNB. 5B	trifurcada	N	N	?	?	?	?	1B
<i>H. mexicana</i>	B/B/BNB. 5B	bifurcada	N	N	11-12	4	6	0	1B
<i>H. minor</i>	? 5B	trifurcada	N	N	8-10	1	1	?	1B
<i>H. monticola</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	N	3-7	1	1	0	1B
<i>H. newsteadi</i>	B/B/NBB. 5B	trifurcada	?	N	?	?	?	?	?
<i>H. ortizi</i> sp. nov.	B/B/BNB. 5B	trifurcada	N	N	2	1	1	0	1B
<i>H. pattoni</i>	N/N/BNB. 5B.3N	trifurcada	N	N	1- 2 setas sensitivas	1- 2 setas sensitivas	?	?	?
<i>H. pelaezi</i>	B/B/BNB. 5B	bifurcada	N/B	N	11-12	2	2	0	1B
<i>H. penetrans</i>	N/N/N??	trifurcada	?	?	?	?	?	?	?
<i>H. rouxi</i>	N/N/NNN. 7B	trifurcada	N	?	?	?	?	?	?
<i>H. samboni</i>	N/N/BBB. 5B	1-5 puntas	n	?	?	?	?	?	?
<i>H. saxicola</i>	B/B/BNB. 5B	trifurcada	B	B	6-10	3-5	5-9	1-3	1B
<i>H. stephensis</i>	B/B/NBB. 5B	bifurcada	?	N	?	?	?	?	1B
<i>H. yungicola</i>	B/B/BBB. 5B	trifurcada	N	N	2	1	1	0	1B

REFERENCIAS

- Alzuet, A. & Mauri, R. (1987). Ácaros Trombiculidae del género *Hannemania* Oudemans, endoparasitos de anfibios. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 44 (2), 111–116.
- Baer, J. (1971). *El parasitismo animal*. Madrid: Ediciones Guadarrama.
- Bahamondes, N. (2013). Registro de *Pleurodema bufoninum* bell 1843 (Amphibia: Anura: Leiuperidae) en una turbera de *Sphagnum magellanicum* brid, Provincia de Última Esperanza, Región de Magallanes. *Anales del Instituto de la Patagonia* 41(2), 107.
- Biolé, F. G., Valetti, J. A., Grenat, P. R., Salas, N. E., & Martino, A. L. (2015). Parasitic infestation of intradermal chiggers *Hannemania achalai* (Acari: Leeuwenhoekiidae) on the cryptic species *Pleurodema kriegi* and *P. cordobae* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from Sierra Grande, Córdoba, Argentina. *The Herpetological Journal*, 25(3), 163-167.
- Brooks, D. (1979). Testing the context and extent of host-parasite coevolution. *Systematic Biology*, 28(3), 299–307.
- Brown, J., Keel, M., Yabsley, M., Thigpen, T., & Maerz, J. (2006). Skin Multifocal histolytic dermatitis with intralesional trombiculid mites, *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34, 571–573.
- Cei, J. (1962). *Batracios de Chile*. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago de Chile.
- Corporación Nacional Forestal (1993). Plan de Manejo Parque Nacional Laguna del Laja. República de Chile Ministerio de Agricultura Corporación Nacional Forestal VIII Región del Bío Bío.
- Correa, C., Donoso, J. P., & Ortiz, J. C. (2016). Estado de conocimiento y conservación de los anfibios de Chile: una síntesis de los últimos 10 años de investigación. *Gayana (Concepción)*, 80(1), 103-124.
- Cortez, E., Hernández, P. & Díaz-Páez, H. (2012) Primeros registros de parásitos no helmintos en anuros de Antuco en la Región del BíoBio, Chile. En III Coloquio de Anfibios y Reptiles. Red Chilena de Herpetología. Lican Ray, 7 de diciembre del 2012, Chile.
- Crump, M., & Scott, N. (2001). Técnicas Estándar para Inventarios y Monitoreos. Relevamientos por encuentros visuales en *Medición y Monitoreo de la Diversidad*

Biológica - Métodos Estandarizados para Anfibios. Editorial Universitaria de la Patagonia.

- Daly, J. (1995). The chemistry of poisons in amphibian skin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(1), 9–13.
- Dezfuli, B., Volponi, S., Beltrami, I., & Poulin, R. (2002). Intra- and interspecific density-dependent effects on growth in helminth parasites of the cormorant, *Phalacrocorax carbo sinensis*. *Parasitology*, 124 (5), 537–544.
- Díaz-Páez, H., Cortez, E., Moreno, L. & Silva de la Fuente, C. (2014). Primeros registros de *Hannemania* sp. (Acari: Trombiculidae y su distribución corporal en tres hospederos anuros de Antuco Región del Biobío, Chile. En V Congreso de Anfibios y Reptiles de Chile. Red Chilena de Herpetología. Chillán, 8 de noviembre del 2014, Chile.
- Díaz-Páez, H., Cortez, E., Silva de la Fuente, C. & Moreno, L. (2016). Body distribution of *hannemania* sp. (acari: leeuwenhoekiiidae) in *Rhinella spinulosa*, *Pleurodema bufonina*, and *Pleurodema thaul* from Chile. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 47(2), 594-600.
- Dippenaar-Schoeman, A. & Jocqué R. (1997). *African Spiders. An Identification Manual*. (p. 392). Pretoria: ARC-Plant Protection Research Institute.
- Duellman, W. & Trueb, L. (1986). *Biology of Amphibians*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- Espino del Castillo, A., Paredes-León, R., & Morales-Malacara, J. (2011). Presence of intradermal chigger mite *Hannemania hylae* (Ewing, 1925) (Acari: Leeuwenhoekiiidae) in the troglophile frog *Eleutherodactylus longipes* (Anura: Brachycephalidae) at Los Riscos Cave, Querétaro, Mexico. *International Journal of Acarology*, 37(5), 427-440.
- Evans, G. (1992). *Principles of acarology*. Wallingford: CAB International.
- Feder, M. & Burggren, W. (Eds). (1992). *Environmental Physiology of the Amphibians*. Chicago: University of Chicago Press.
- Fonseca F. (1935) Novas especies de trombiculidae dos generos *Trombicula*, *Hannemania* e *Neoschöngastia*. *Notas de Acaireologia. Memórias do Instituto Butantan*. 10, 47-50

- Formas, J. (1979). La Herpetofauna de los Bosques Temperados de Sudamérica en *The South American herpetofauna : its origin, evolution, and dispersal*. 7, 341–369. Kansas:Museum of Natural History, University of Kansas,
- Formas, J., Simonetti, J., Arroyo, M., Spotorno, A. & Lozada, E. (1995). Anfibios en *Diversidad Biológica de Chile*, 314–325. Santiago:CONICYT.
- Frost, D. (2016). Amphibian Species of the World. Retrieved May 11, 2016, from <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>
- Fuller, H. (1952) The mite larvae of the family Trombiculidae in the Oudemans collection: taxonomy and medical importance. *Zoologische Verhandelingen*, 18 (1), 1–261.
- Garin, C. & González-Acuña, D. (2008). Parásitos de anfibios y reptiles en Vidal M. & Labra A. (Eds.), *Herpetología de Chile*. Santiago:Science Verlag.
- Garin, C. & Lobos, G. (2008). **Generalidades sobre anfibios y reptiles** en Vidal M. & Labra A. (Eds.) *Herpetología de Chile*. Santiago:Science Verlag.
- González-Acuña, D. (Noviembre de 2014). Parásitos y su rol en la herpetología. En V Congreso de Anfibios y Reptiles de Chile. Red Chilena de Herpetología. Chillán, Chile.
- González-Acuña, D., Dauschies, A., Pohlmeier, K., Rubilar-Contreras, L., Skewes-Ramm, O., Mey, E. & Casanueva, E. (2003). Ectoparásitos de la Codorniz (*Callipepla californica*) en la Provincia de Ñuble, Chile y su correlación con el sexo, edad y habitat de captura, *Lundiana* 4 (2):129-134
- Grover, J., Duszynski, D. & Bogan, B. (1975) Histochemistry of the tissue capsule surrounding intradermal mites, *Hannemania* spp. (Acarina: Trombiculidae) in New Mexico Amphibians. *The Journal of Parasitology*, 61 (2), 382–384.
- Hatano, F., Gettinger, D., Van Sluys, M., & Rocha, C. (2007). Parasitism of *Hyllodes phyllodes* (Anura: Cycloramphidae) by *Hannemania* sp. (acari: trombiculidae) in an area of Atlantic Forest, Ilha Grande, southeastern Brazil. *Parasite*, 14, 107–112.
- Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, M. del P. (2010). *Metodología de la Investigación*. México:Mc Graw-Hill.
- Hickman, C., Roberts, L., Keen, S., Larson, A., l'Anson, H., & Eisenhour, D. (2009). *Principios Integrales de Zoología*. Madrid:McGraw-Hill/Interamericana.
- Hickman, C. Roberts, L. & Larson, A. (1998). *Principios integrales de zoología*. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana.
- Hoffmann, A. (1990). *Los trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae): Parte taxonómica*. México:UNAM.

- Hyland, K. (1950). The life cycle and parasitic habit of the chigger mite *Hannemania dunnii* Sambon, 1928, a parasite of amphibians. *Journal of Parasitology*. 36 (6), 32-33.
- Hyland, K. (1961). Parasitic Phase of Chigger Mite, *Hannemania hegneri*, on Experimentally Infested Amphibians, *Experimental Parasitology*. 11 (2-3), 212-225.
- Hyland K. & Wharton, G. (1955). Penetration of host tissue and host reaction to chigger mites of the genus *Hannemania* (Acarina, Trombiculidae). *Journal of Parasitology*. 41 (6), 37.
- IUCN Global Species Programme Red List Unit. (2016) "The IUCN Red List Of Threatened Species". Recuperado de <http://www.iucnredlist.org>, Accesado: 06 de Enero de 2017.
- Krantz, G. & Walter, D. (Eds.). (2009). *A Manual of Acarology*. Lubbock, Tex: Texas Tech University Press.
- Lobos, G., Hernández, J., Méndez, M., Cattán, P., Diniz-Filho, J., & Gallardo, C. (2010). *Atlas de biodiversidad de anfibios y reptiles de la Región Metropolitana de Chile. Una herramienta para la gestión de los recursos naturales*. Santiago: Centro de Estudios de Vida Silvestre, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Chile.
- Lobos, G., Vidal, M., Correa, C., Labra, A., Díaz-Páez, H., Charrier, A. & Tala, C. (2013). *Anfibios de Chile, un desafío para la conservación*. Santiago: Fundación Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile y Red Chilena de Herpetología.
- Lopes, B. (2002). Desarrollar conceptos de física a través del trabajo experimental: evaluación de auxiliares didácticos. *Enseñanza de las Ciencias*, 20(1), 115-132.
- Matus, P. & Novoa, E. (2005) Enciclopedia Regional del Bio Bio. Santiago: Pehuén Editores.
- Ministerio de Educación Gobierno de Chile. (2012). Estándares orientadores para carreras de pedagogía en educación media.
- Ministerio del Medio Ambiente » Biodiversidad. (n.d.). Retrieved from <http://portal.mma.gob.cl/division-recursos-naturales-ecosistemas-y-agua/>
- Norton, R. (1998). Morphological evidence for the evolutionary origin of Astigmata (Acari: Acariformes), *Experimental & Applied Acarology* 22(10), 559-594.
- Parris, M. & Baud, D. (2004). Interactive Effects of a Heavy Metal and Chytridiomycosis on Gray Treefrog Larvae (*Hyla chrysoscelis*). *Copeia* 2004(2), 344-350.

- Pérez, T., Guzmán-Cornejo, C., Montiel-Parra, G., Paredes-León, R., & Rivas, G. (2014). Biodiversidad de ácaros en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 399-407.
- Pincheira-Donoso, D. (2002). Nota sobre la alimentación de *Pleurodema bufonina* Bell, 1843 (Anura--Leptodactylidae). *Gayana* (Concepción), 66 (1), 77-80.
- Pough, F., Andrews, R., Cadle, J., Crump, M., Savitsky, A. & Wells, K. (2003). *Herpetology*. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
- Poulin, R. (1992). Determinants of host-specificity in parasites of fresh-water fishes. *International journal for parasitology* 22(6), 753–758.
- Poulin, R. (1998). *Evolutionary ecology of parasites: From individuals to communities*. Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V.
- Poulin, R. & Morand, S., 2000. The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology*, 75(3), 277-293.
- Poulin, R. (2005). Relative infection levels and taxonomic distances among the host species used by a parasite: Insights into parasite specialization. *Parasitology*, 130(01), 109–115.
- Rabanal, F. & Nuñez, J. (2008). *Anfibios de los bosques templados de Chile*. Valdivia: Universidad Austral de Chile.
- Sambon, L. (1928). The parasitic acariens of animals and the part they play in the causation of the eruptive fevers and other diseases of man., *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 22(1), 67-132.
- Silva-de-la-Fuente M.C., Castro C.A., Moreno L., Ortiz J.C. (Diciembre de 2012). Nuevos registros de larvas del género *Hannemania* sp. Oudemans, 1911 (Acari: Leeuwenhoekiidae), como ectoparásitos de dos especies de anfibios chilenos En III Coloquio de Anfibios y Reptiles. Red Chilena de Herpetología. Lican Ray, Chile.
- Silva-De La Fuente, M. C., Moreno-Salas, L., & Castro-Carrasco, C. (2016). Review of the genus *Hannemania* (Acari: Leeuwenhoekiidae) with description the two new species in amphibians from Chile. *Zootaxa*, 4200(4), 580-590.
- Smith, T. & Smith, R. (2007). *Ecología*. Madrid: Pearson Educación S.A.
- Solís, R., Lobos, G., & Iriarte, A. (Eds.). (2004). *Antecedentes sobre la biología de Xenopus laevis y su introducción en Chile*. Santiago: SAG: Universidad de Chile, Programa Interdisciplinario de Estudios en Biodiversidad.
- Solomon, E., Berg, L. & Martin, D. (2008). *Biología*. México: McGraw-Hill Interamericana.

- Soto-Azat, C., Valenzuela-Sánchez, A., Ortíz, J.C., Díaz-Páez, H., Castro, C., Charrier, A., Correa, C., Cuevas, C., Lobos, G., Méndez, M.A., Penna, M., Peñafiel-Ricaurte, A., Rabanal, F., Vélez-R, C.M., Vidal, M.A. & Angulo, A. 2015. ASG Chile Leads update of the Extinction Risk of Chilean Amphibians for The IUCN Red List of Threatened Species. *FrogLog* 23(4):6-7.
- Stekolnikov, A., & González-Acuña, D. (2015). A review of Chilean chiggers (Acari: Trombiculidae), with the description of a new genus and ten new species, *Zootaxa*, 3964(1), 1–43.
- Storer, T., Usinger, R., Stebbins, R. & Nybakken, J. (1986). *Zoologia General*. Barcelona: Omega S.A.
- Stuart, S., Chanson, J., Cox, N., Young, B., Rodrigues, A., Fischman, D. & Waller, R. (2004). Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. *Science*, 306(5702), 1783–1786. <http://doi.org/DOI: 10.1126/science.1103538>
- Thomas, R. & Telford, M. (1999). Appendage development in embryos of the oribatid mite *Archegozetes longisetosus* (Acari, Oribatei, Trhypochthoniidae), *Acta Zoologica*, 80(3), 193–200.
- Vidal, M. (2008). Biogeografía de anfibios y reptiles En Vidal M. & Labra A. (Eds.), *Herpetología de Chile*. Santiago: Science Verlag.
- Voss, S., & Shaffer, H. (2000). Evolutionary genetics of metamorphic failure using wild-caught vs. laboratory axolotls (*Ambystoma mexicanum*), *Molecular Ecology* 9(9), 1401–1407.
- Walter, D. & Proctor, H. (2013). *Mites: Ecology, Evolution & Behaviour: Life at a Microscale*. Dordrecht: Springer Science+Business Media B.V.
- Walters, B., Whitaker, J., Gikas, N., & Wrenn, W. (2011). Host and Distribution Lists of Chiggers (Trombiculidae and Leeuwenhoekiidae), of North American Wild Vertebrates North of Mexico. *Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology*. Paper 697.
- Wharton, G., Jenkins, D., Brennan, J., Fuller, H., Kohls, G. & Philip. C. (1951). The Terminology and Classification of Trombiculid Mites (Acarina: Trombiculidae). *The Journal of parasitology*, 37(1), 13–31.
- Wohltmann, A., Köhler, J. & Martin, P. (2006). Endoparasitic mite infections of anuran amphibians from Bolivian montane rain forests, with descriptions of two new *Hannemania* species (Acari: Parasitengona: Trombiculidae: Leeuwenhoekiinae). *Organisms Diversity & Evolution*, 6(2), 141–150.

Zardoya, R. & Meyer, A. (2000). Mitochondrial Evidence on the Phylogenetic Position of Caecilians (Amphibia: Gymnophiona). *Genetics*, 155(2), 765–775.

Zug, G., Vitt, L. & Caldwell, J. (2001). *Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles*. San Diego: Academic Press.

