



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Doctorado en Ciencias, Mención
Microbiología

**ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA Y PARASITOFAUNA DE EJEMPLARES DE
DISSOSTICHUS ELEGINOIDES SMITT, 1898, CAPTURADOS EN LA ZONA
CENTRO-SUR DE CHILE**



ITALO ANTONIO FERNÁNDEZ FONSECA

Tesis presentada a:

Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción

Para optar al Grado de:

Doctor en Ciencias, Mención Microbiología

CONCEPCION (Chile), 2021

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Profesores integrantes Comisión Evaluadora:

Dr. Víctor Campos Araneda
Profesor Guía de Tesis
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Director

Dr. Miguel Martínez Poblete
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Evaluador interno



Dra. Apolinaria García Cancino
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción
Evaluador interno

Dra. Paulina Aguayo
Facultad de Ciencias Ambientales
Universidad de Concepción
Evaluador interno

Dr. Rubén Moraga
Facultad de Recursos Naturales
Renovables
Universidad Arturo Prat
Evaluador externo

Tesis financiada por:

Proyecto VRID N° 216.036.043-1.0IN de la Universidad de Concepcion

Proyecto MECESUP UCT 0804 de la Universidad Católica de Temuco



AGRADECIMIENTOS

En estas líneas quiero expresar mi más profunda gratitud a las siguientes personas:

En primer lugar a Loreto, Vicente y Agustina por haber soportado años de tiempo reducido para ellos.

Al mi profesor Guía de tesis Dr. Víctor Campos A., por su extremada paciencia en los momentos oscuros, sugerencias, consejos y, sobre todo, amistad.

A quienes conforman el Laboratorio de Parasitología, las profesoras Dra. Verónica Madrid y BQ Pilar Suárez, por darme el espacio y la comprensión para desarrollar esta investigación, además de participar con sugerencias y correcciones en algunos artículos de esta tesis.

Al Dr. Mauricio Valenzuela, colega de Lebu, y a los Profesores Dr. Ciro Oyarzún y Dr. Ariel Valenzuela, que permitieron gentilmente el suministro de los ejemplares de *D. eleginoides* de este estudio.

Al Dr. Patricio de los Ríos por su acertada orientación y suministro de importante bibliografía, extermadamente difícil de encontrar.

Por último, quiero agradecer a todos y todas que, dentro del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, me apoyaron durante mis años de estudio en este postgrado.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Quiero manifestar mi especial gratitud para el profesor Dr. Marco Antonio Retamal (QEPD), docente de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, quien fue mi Profesor Guía en la parte de parasitología de esta tesis y que, por razones del destino, no pudo ver la tesis concluida, sobre todo aquella que amalgamaba nuestros resultados con la parte de bacteriología.

Por sus sabios consejos, su gentileza a toda prueba y su compromiso en la identificación del ectoparásito detectado en este estudio, estoy eternamente agradecido.



INDICE

AGRADECIMIENTOS	2
AGRADECIMIENTO ESPECIAL	3
ÍNDICE	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
RESUMEN	11
ABSTRACT	13
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN Y ASPECTOS GENERALES	15
INTRODUCCIÓN.....	16
ANTECEDENTES GENERALES.....	20
ORIGEN E IMPORTANCIA DE LOS PECES NOTÓTENIDOS.....	20
ASPECTOS GENERALES DE <i>DISSOSTICHUS ELEGINOIDES</i>	21
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y BATIMÉTRICA DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	23
PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS Y CICLO DE VIDA DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	24
ALIMENTACIÓN DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	26
ESTRUCTURA POBLACIONAL DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	27
DEPREDACIÓN, PESQUERÍA Y ASPECTO DE CONSERVACIÓN DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	28
PARASITOLOGÍA DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	30
IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE COMUNIDADES PARASITARIAS EN PECES.....	35
MICROBIOLOGÍA DE <i>D. ELEGINOIDES</i>	37
IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN PECES.....	38

MÉTODOS TRADICIONALES Y MOLECULARES EN EL ESTUDIO DE COMUNIDADES BACTERIANAS EN PECES.....	40
--	----

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS **43**

HIPÓTESIS.....	44
OBJETIVOS.....	44
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	44
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	44

CAPÍTULO III: MICROBIOTA AND PARASITE-FAUNA OF WILD *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES* SMITT, 1898 CAPTURED FROM THE SOUTH-CENTRAL COAST OF CHILE. **46**

ABSTRACT.....	47
1. INTRODUCTION.....	47
2. MATERIAL AND METHODS.....	48
3. RESULTS.....	51
4. DISCUSSION.....	58
5. CONCLUSIONS.....	61
REFERENCES.....	63

CAPÍTULO IV: FIRST RECORD OF *ROCINELA* AFF. *AUSTRALIS* (ISOPODA, AEGIDAE) IN THE PATAGONIAN TOOTHFISH *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES* (PISCES, NOTHOTENIDAE) FROM SOUTHERN CHILE **70**

ABSTRACT.....	71
INTRODUCTION.....	71
MATERIAL AND METHODS.....	72
<i>ROCINELA</i> AFF. <i>AUSTRALIS</i> SCHIÖDTE & MEINERT, 1879 (FIGS. 1-2-3).....	75
REFERENCES.....	79

CAPÍTULO V: INCREASE IN FISH ANISAKIDOSIS IN WATERS OF THE SOUTH CENTRAL COAST OF CHILE. RISK TO HUMAN HEALTH: PROBLEMS AND CHALLENGES **83**

ABSTRACT.....	84
---------------	----



INTRODUCTION.....	84
PROBLEMATIC.....	85
CHALLENGES.....	86
CONCLUSION.....	87
REFERENCES.....	88

CAPÍTULO VI: ANISAKIDOSIS EN PECES FRESCOS COMERCIALIZADOS EN TRES CIUDADES DE LA REGIÓN DEL BÍO BÍO, CHILE **92**

RESUMEN... ..	93
ABSTRACT.....	93
INTRODUCCIÓN.....	94
MATERIALES Y MÉTODOS.....	95
RESULTADOS.....	96
DISCUSIÓN.....	100
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104

CAPÍTULO VII: DISCUSIÓN GENERAL **108**

DISCUSIÓN.....	109
----------------	-----

CAPÍTULO VIII: CONCLUSIONES **119**

CONCLUSIONES.....	120
-------------------	-----

CAPÍTULO IX: REFERENCIAS **121**

REFERENCIAS.....	122
------------------	-----

CAPÍTULO X: ANEXOS **139**

PROYECCIONES.....	140
SOBRE EL AUTOR.....	141
ARTÍCULOS E INVESTIGACIÓN.....	141
ARTÍCULOS EN REVISIÓN.....	145
PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS.....	146
ASISTENCIA A EVENTOS CIENTÍFICOS.....	146

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Fig 1. Fotografía de *D. eleginoides* tomada con cámara a 1000 m de profundidad en la Plataforma Patagónica (extraído de Collins et al., 2010).....**22**

Fig 2. Distribución geográfica de *D. eleginoides* (áreas oscurecidas) en aguas polares y proyección hacia Sudamérica (extraído de Collins et al., 2010).....**23**

CAPÍTULO III

Figure 1. Multidimensional scaling (MDS) of the Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) data matrix of bacteria 16s rRNA from *D. eleginoides*. Stomach (S); Skin mucus (SM); Intestinal tract (IT).....**54**

Figure 2. Relative abundance of sequences (percentage) assigned to bacterial and Archaeal phylogenetic groups from Skin, stomach and intestinal.....**55**

CAPÍTULO IV

Figura 1. The specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879, collected from *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, and examined in the present study: left, dorsal view; right, ventral.....**73**

Figura 2. Crude field sketches of some morphological aspects of the specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879 examined in this study: A, dorsal view; B, first pereopod; C, third pereopod; D, pleopod representative of pleopods I-IV; E, pleopod representative of pleopods V-VI; F, maxilliped representative of maxillipeds I-III; G, mandible.....**74**

Figura 3. Crude field sketches of some morphological aspects of the specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879 examined in this study: C, third pereopod; D, pleopod representative of pleopods I-IV; E, pleopod representative of pleopods V-VI; F, maxilliped representative of maxillipeds I-III; G, mandible.....**75**

CAPÍTULO VI

Figura 1. Vistas de ejemplares larvales de *Anisakis* sp., obtenidos en el presente estudio. A) Larvas de *Anisakis* sp. en musculatura de *M. gayi gayi*; B) Masa de mucosa gástrica con numerosos ejemplares de *Anisakis* sp. extraída de *D. eleginoides* C) Vista del extremo anterior mostrando diente perforante (flecha); D) Vista del extremo posterior mostrando mucrón terminal (flecha).....**100**



ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO I

Tabla 1. Parasitofauna de ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas subantárticas. Primera parte.....**31**

Tabla 2. Parasitofauna de ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas subantárticas. segunda parte.....**32**

Tabla 3. Parasitofauna en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de Chile....**34**

CAPÍTULO III

Table 1. Status, Prevalence (P), Mean abundance of infection (AM) and parasite collection site of specimens of *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile**52**

Table 2. Diversity index (H'), Pielou (j), Simpson (λ) and Margalef index obtained of parasite from *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile**53**

Table 3. Sequencing information, diversity index (H') and estimator of richness (Chao1 and ACE) obtained after Illumina sequencing.....**57**

CAPÍTULO VI

Tabla 1. Características biométricas de los pescados analizados en este estudio, y que eran comercializados en la ciudad de Concepción, Talcahuano y Lebu, Chile.....**97**

Tabla 2. Procedencia de los pescados comercializados que fueron analizados en este estudio.....**98**

Tabla 3. Prevalencia y Abundancia media de infección por parásitos anisákidos en vísceras y musculatura en nueve especies de pescados comercializados en las ciudades de Concepción, Talcahuano y Lebu, Chile (2018-2020).....**99**



RESUMEN

La carne de pescado presenta propiedades nutricionales que son relevantes en el ámbito de la alimentación humana, que los convierten en alimentos fundamentales dentro de lo considerado como alimentación equilibrada y cardiosaludable.

Por su geografía, Chile es uno de los principales países que basan parte de su economía en la industria pesquera industrial y artesanal. Sin embargo, al igual que el resto del mundo, el país se enfrenta a la sobreexplotación de sus recursos pesqueros, ya sea por su exceso de capturas, así como la carencia de información respecto del estatus sanitario de éstas. De hecho, a mediados de la década pasada se reconoce que las principales pesquerías que operan en Chile se encuentran sobre explotadas o agotadas.

Es en este contexto que surge, como una pesquería relativamente emergente y valiosa, la explotación sobre el bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides*, pez de profundidad conocido internacionalmente como Patagonian Toothfish o Chilean Seabass. Esta especie, a pesar de encontrarse presente a lo largo de casi todo el dominio marítimo de Chile, es un recurso poco conocido desde el punto de vista biológico.

Diversas investigaciones, efectuadas desde hace dos décadas, han dado cuenta de información respecto de la ecología, alimentación, reproducción, estructura poblacional, etc. de *D. eleginoides*. Sin embargo, existen escasos antecedentes respecto de la parasitología y, sobre todo, de la microbiología de esta especie.

Desde el punto de vista parasitario, se han efectuado investigaciones principalmente en poblaciones de *D. eleginoides* localizadas en el Océano Atlántico y en algunas islas subantárticas. Solo dos trabajos se han realizado en ejemplares capturados en Chile, pero datan de, a lo menos, una década. En ellos puede apreciarse que la parasitofauna de esta especie es particularmente distinta de lo reportado en estudios similares en otras localizaciones.

Por el contrario, desde el punto de vista microbiológico no existen antecedentes en esta especie, al menos en ejemplares salvajes. Solo se cuenta, a la fecha, con antecedentes

provistos por una investigación efectuada en un ejemplar de *D. eleginoides* capturado en aguas australes de Chile, pero que fue mantenido en condiciones de cautiverio de seis meses.

Investigaciones respecto de la parasitofauna y de la comunidad bacteriana de *D. eleginoides* son relevantes dado que para comprender su funcionamiento es necesaria su identificación y/o cuantificación, lo que a su vez permite inferir respecto de la diversidad poblacional de la muestra analizada, así como del estado de salud del hospedero en particular.

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la comunidad bacteriana y parasitaria del tracto gastrointestinal de ejemplares de *D. eleginoides*, capturados en aguas de la zona centro sur de Chile.

Los resultados obtenidos demuestran, en primer lugar, que la parasitofauna de *D. eleginoides* que habitan aguas de Chile parece ser singular, tributando a su rol de carnívoro de tope, pero correspondiendo a una población particular de la especie. Así mismo, dan cuenta del primer reporte del parasitismo por *Rocinela* aff. *australis* en *D. eleginoides* y del hallazgo de larvas de *Pseudoterranova* sp., cuya presencia solo había sido informada en ejemplares capturados en otras latitudes. Por el contrario, los resultados a nivel microbiológico no coinciden con lo previamente reportado debido a, probablemente, limitaciones metodológicas.

Finalmente, tanto en los resultados del ámbito parasitario como microbiológico, las extensas migraciones y las condiciones batimétricas en las cuales habita *D. eleginoides* en la costa de Chile, parecieran seleccionar una comunidad bacteriana y parasitofauna particular, lo que sería característico y correspondiente con la población o stock pesquero de esta especie en aguas chilenas. Por lo tanto, y debido a la escasez de antecedentes con que se cuenta a la fecha, los resultados obtenidos en esta investigación son pioneros en la especie y pueden servir como línea de base para estudios posteriores.

ABSTRACT

Fish meat has nutritional properties that are relevant in the field of human nutrition, which make them essential foods within what is considered a balanced and heart-healthy diet.

Due to its geography, Chile is one of the main countries that base part of its economy on the industrial and artisanal fishing industry. However, like the rest of the world, the country faces the overexploitation of its fishing resources, either due to its excess catches as well as the lack of information regarding their health estatus. In fact, in the middle of this last decade it was recognized that the main fisheries operating in Chile were over-exploited or depleted.

It is in this context that the fishery is relatively emerging and valuable, the exploitation of the deep-sea cod *Dissostichus eleginoides*, a deep-sea fish known internationally as Patagonian Toothfish or Chilean Seabass. This species, despite being present throughout almost the entire maritime domain of Chile, is a little-known resource from a biological point of view.

Various investigations, carried out for two decades, have provided information regarding ecology, feeding, reproduction, population structure, etc. of *D. eleginoides*. However, there is little information regarding the parasitology and, above all, the microbiology of this species.

At the parasitic level, investigations have been carried out mainly in populations of *D. eleginoides* located in the Atlantic Ocean and in some subantarctic islands. Only two studies have been carried out on specimens captured in Chile, but they date back at least a decade. In them it can be seen that the parasitofauna of this species is particularly different from that reported in similar studies in other locations.

On the contrary, a microbiological level there is no antecedent in this species, at least in wild specimens. To date, there is only information provided by an investigation carried out on a specimen of *D. eleginoides* captured in southern Chilean waters, but which was kept in captivity for six months.

Studies on the parasitofauna and the microbiology of *D. eleginoides* are relevant given that to understand its operation, its identification and/or quantification is necessary, which in turn allows inferring regarding the population diversity of the sample analyzed, as well as the state of host health in particular.

Therefore, the objective of the present work was to characterize the bacterial and parasitic community of the gastrointestinal tract of specimens of *D. eleginoides*, captured in waters of the south central zone of Chile.

The results shown, in the first place, that the parasitofauna of *D. eleginoides* that inhabit Chilean waters seems to be unique, paying tribute to their habits of top carnivores, but corresponding to a particular population of the species. Likewise, they account for the first report of parasitism by *Pseudoterranova* sp. Larvae, whose presence had only been reported in specimens captured in other latitudes. On the contrary, the results at the microbiological level do not coincide with what was previously reported, probably due to methodological limitations.

Finally, both in the results of the parasitic and microbiological scope, the extensive migrations and the bathymetric conditions in which *D. eleginoides* inhabits on the coast of Chile, seem to select a particular bacterial and parasitofauna community, which would be characteristic and corresponding to the population. or fishing stock of this species in Chilean waters. Therefore, and due to the lack of antecedents available to date, the results obtained in this research are pioneers in the species and can serve as a basis for subsequent studies.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN Y ASPECTOS GENERALES



INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Baumgartner et al., (2019), se estima que la vida microbiana surgió en el planeta hace 3430 millones de años. Desde ahí en adelante, inexorablemente, las diversas formas de vida que emergieron requirieron de energía para satisfacer sus procesos vitales.

En su lucha por perpetuarse como especie, algunos seres vivos, independientemente de su grado de complejidad, pasaron de adquirir nutrientes viviendo de forma libre a obtenerlo de manera asociada. Es así como, merced a un acervo genético particular, algunos se asociaron con otros de la misma especie, estableciendo las sociedades y colonias. Sin embargo, otro grupo lo hicieron con individuos de distinta especie, estableciendo las denominadas asociaciones heteroespecíficas, dentro de las cuales se debe destacar a las simbiosis, comensalismo, foresis, mutualismo y parasitismo (Hilje, 1984)

Cada una de estas interacciones biológicas desarrolladas entre el hospedero y su hospedero eventual presenta distintos costos y beneficios. Por ejemplo, en el caso del comensalismo ambos participantes se benefician, pero en el parasitismo uno de ellos, el parásito, se beneficia, mientras que el hospedero eventual, se perjudica (Apt, 2013).

En ecosistemas marinos, las bacterias y parásitos constituyen un componente esencial en la cadena trófica, las cuales, a través de su interacción con otros seres, se vinculan directamente con todos los eslabones que participan en estos ambientes. Por ejemplo, las bacterias, además de presentar una gran abundancia y biomasa, controlan los flujos de nutrientes en el sistema a través de la mineralización de la materia orgánica, participan en la producción secundaria de carbono, utilizan la materia orgánica disuelta que deriva de los organismos autótrofos y de la actividad metabólica de otros organismos heterótrofos de mayores dimensiones presentes en el ambiente pelágico (Schut et al., 1997; López y Zaballos, 2005)

Los componentes de la comunidad bacteriana y los endoparásitos gastrointestinales ejercen una variada influencia sobre la biología de sus hospederos pudiendo, en algunos casos, afectar su abundancia o causar daños en sus poblaciones en la eventualidad de que

adquieran proporciones epidémicas (Marcogliese y Cone, 1997). Por ejemplo, es reconocido el papel patógeno de algunos helmintos en poblaciones de peces y mamíferos marinos, incluso con amplitud de dominios que exceden el ámbito marino, sobre todo aquellos de carácter zoonótico (Acha y Szyfres, 2003).

En este sentido, el estudio microbiológico y parasitario de especies que tienen importancia económica puede proveer de información relevante, sobre todo en pesquerías cuyos recursos se encuentran sobre explotados o agotados. Sin embargo, dichos estudios se han focalizado principalmente en especies marinas que se encuentran vinculados a acuicultura, es decir, sujetas a producción de carácter intensivo o confinado (Llewellyn et al., 2014).

Dissostichus eleginoides Smitt, 1898, es una especie de interés comercial, habitante de aguas profundas y frías del hemisferio sur, particularmente vulnerable a la sobreexplotación pesquera debido a su lento crecimiento, madurez tardía y baja fecundidad (Horn, 2002; Collins et al., 2010). La investigación sobre esta especie contempla diversas disciplinas, aunque la información de carácter parasitario y, sobre todo microbiológico es escaso.

Desde el punto de vista parasitario, *D. eleginoides* ha sido estudiado principalmente en poblaciones de aguas subantárticas y del Océano Atlántico. En estas ubicaciones, se han reportado una elevada variedad de especies parasitarias, principalmente helmintos, aunque con marcadas diferencias en la magnitud del parasitismo. Al respecto, se ha sugerido que tales diferencias se deberían a diversas características geográficas propias de cada ecosistema en particular y que influenciarían en la abundancia de hospederos intermediarios de algunos parasitismos, determinando la ocurrencia de dichas variaciones basado en parámetros ecológicos como riqueza, prevalencia y abundancia de infección (Gaevskaya et al. 1990; Brickle, 2003; Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2013). En aguas de Chile, los trabajos disponibles son escasos y los reportes sobre parasitofauna se limitan a endohelmintos gastrointestinales transmitidos por vía trófica (Rodríguez y George-Nascimento, 1996; Oliva et al., 2008). Además, se pudo evidenciar que la estructura de la población parasitaria gastrointestinal era muy particular y pareciera corresponder a una

población homogénea que no coexistiría con poblaciones de ubicación subantártica y del Océano Atlántico.

En este sentido, quedan aún muchas incógnitas por resolver, dado que las investigaciones datan, al menos, de una década. Por ejemplo, se ha señalado que el ambiente marino ha experimentado una serie de variaciones en sus condiciones fisicoquímicas vinculadas al cambio climático (Medellín et al., 2016). El estudio de ciertos parásitos puede contribuir al entendimiento de estos procesos debido a que puedan otorgar evidencia o insumos que permitan perfilar a una población de hospederos en particular. Por ejemplo, helmintos cuyos ciclos son complejos, permiten interpretar ecológicamente a sus hospederos ya que, al utilizar diversas cadenas alimenticias para alcanzarlos, dependen de diversas interacciones tróficas para su persistencia (Campbell et al., 1980).

Por otra parte, y desde el punto de vista bacteriano, a nivel mundial no existen antecedentes o estudios que se hayan realizado en población salvaje de *D. eleginoides*. De hecho, solo se cuenta con un trabajo que se efectuó en un ejemplar, capturado en el Océano Pacífico austral y que fue mantenido en cautiverio previamente durante meses. Además, esta investigación se llevó a cabo mediante la aplicación de técnicas tradicionales basadas en cultivos sólidos para aislamiento e identificación por métodos de secuenciación del ADNr 16S (Urtubia et al., 2017).

Sin embargo, la información reportada en ese trabajo parece ser aún incompleta dado que los medios de cultivo tradicional utilizados permiten el estudio solo de una fracción de la población bacteriana, aquella que es cultivable (Pond et al., 2006). Por lo tanto, sería relevante efectuar estudios basados en métodos moleculares de detección bacteriana en población salvaje de *D. eleginoides*, con el fin de conocer a aquellos grupos bacterianos no cultivables que conforman naturalmente la comunidad bacteriana del bacalao de profundidad. Además, dicha información también permite dar luces respecto de bacterias que, además de ser potencialmente patógenas para *D. eleginoides*, pueden tener implicancias en la ocurrencia de zoonosis por su consumo por parte de la población.

Por último, son escasas las investigaciones sobre especies de aguas profundas o frías, dado que solo han efectuado en especies de importancia económica, principalmente vinculadas a modelos de producción o acuicultura (Jensen et al., 2002; Ringø et al., 2006).

En base a lo expuesto, surgen las siguientes preguntas de investigación:

En el ámbito parasitario, ¿Se mantiene la estructura y conformación de la parasitofauna en poblaciones de *D. eleginoides* en aguas de Chile, observada décadas atrás? Y si hubiese cambios ¿Pueden atribuirse a variaciones vinculadas al contexto del cambio climático?

En el ámbito bacteriano ¿Cuál es la estructura de la comunidad bacteriana de poblaciones de *D. eleginoides* en estado salvaje en aguas de Chile? ¿Difiere de lo reportado en la literatura en esta especie?



ANTECEDENTES GENERALES

Origen e importancia de los peces nototénidos

Dentro de los peces teleósteos, la Familia Nototheniidae agrupa a especies endémicas del hemisferio sur y que están mayoritariamente presentes en aguas antárticas y subantárticas (Sánchez et al., 2007). Con más de 50 especies conocidas, y de elevada diversidad morfológica, es la familia con mayor número de representantes del suborden Notothenioidei el cual, en su conjunto, representa el 35 % de las especies del Océano Austral (Eastman y Clarke, 1998).

Los nototénidos se caracterizan por presentar un cuerpo elongado y completamente escamado, destacando una cabeza grande más o menos deprimida, ojos grandes y en algunos casos orientados hacia arriba. En algunas especies la cabeza puede carecer de escamas. La boca es protráctil con una mandíbula inferior más larga que la superior y con un palatino sin dientes. Presentan una membrana branquial que forma un pliegue a través del istmo, 6 a 7 rayos branquiostegos, branquiespinas cortas y poco numerosas. Poseen dos aletas dorsales: la primera con una base corta y espinas flexibles, bien separada de la segunda dorsal, la cual tiene una base muy larga y no tiene espinas; y una aleta anal muy larga, sin espinas u ocasionalmente con una. Por último, pueden presentar externamente dos a tres líneas laterales y carecen de vejiga gaseosa (Oyarzún, 2003).

No se dispone de antecedentes suficientes que aclaren el origen de este grupo, debido a la carencia de registros fósiles posteriores al Eoceno (Eastman, 1993), aunque la hipótesis más aceptada es que habrían evolucionado en las aguas someras que rodean al continente antártico, adaptándose progresivamente al enfriamiento del Océano Austral durante el período Terciario (De Witt, 1971; Eastman, 1993). De esta forma, y de acuerdo con Eastman y Clarke (1998), el grupo evolucionó a partir de un stock de peces perciformes demersales, en un período comprendido entre los 25 y 5 millones de años.

Debido a su vínculo de origen con las frías aguas antárticas, presentan adaptaciones morfológicas y fisiológicas específicas que les han permitido ocupar diversos roles ecológicos, que en aguas templadas normalmente son ocupados por peces de diferentes

categorías taxonómicas (Murillo & Oyarzún, 2002; Scapigliati et al., 2006). De esta forma, es posible encontrar especies bentónicas, bentopelágicas, criopelágicas y pelágicas (Eastman 1991).

De acuerdo con Balushkin (2000), los Nototénidos *sensu stricto* han sido tradicionalmente agrupados en tres subfamilias: Nototheniinae (*Notothenia*, *Paranotothenia*, *Gobionotothen*, *Lepidonotothen* y *Patagonotothen*), Trematominae (*Trematomus*, *Pagothenia*) y Pleuragrammatinae (*Dissostichus*, *Pleuragramma*, *Aethotaxis* y *Gvozdarus*).

Aspectos generales de *Dissostichus eleginoides*

Dentro de la Familia Nototheniidae, destaca *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898, especie que constituye un importante recurso pesquero demersal del hemisferio sur y que es conocido bajo variadas denominaciones, tales como: Chilean Seabass (Canada, Chile, EEUU), bacalao de profundidad (Chile, Perú), merluza negra (Argentina, Uruguay), austromerluza negra (España), patagonian toothfish (Canada, EEUU, Inglaterra), légine australe (Francia) y patagonsky klykasch (Rusia), entre otras. Debido a que estos diversos nombres han causado confusiones desde el punto de vista taxonómico y en estadísticas de pesca, Oyarzún y Campos (1987) propusieron el nombre de “dientudo” como la denominación vernacular más correcta para esta especie.

D. eleginoides (Figura 1) se caracteriza por presentar un cuerpo robusto, fusiforme, de color grisáceo y cubierto totalmente de escamas grandes, salvo el rostro y la región preorbitaria donde se observan escamas más pequeñas. Sin embargo, en la región dorsal de la cabeza, en dos zonas del área supraorbital y en la línea lateral inferior están ausentes (Pequeño, 1989).

Su cabeza se encuentra levemente deprimida donde destaca una boca grande, con el maxilar extendiéndose posteriormente hasta la mitad del ojo a más atrás. Contiene dientes biseriados en la mandíbula superior, donde aquellos de la fila externa son más grandes y con forma de caninos, siendo una de las características más típicas del género. Los dientes de la mandíbula inferior son uniseriados también como caninos (Cousseau y Perrotta, 2000).

Posee dos aletas dorsales donde la primera consta de 8 a 11 espinas y la segunda con 20 a 30 radios. La aleta anal consta de 26 a 30 radios mientras que la aleta pectoral es grande y de mayor tamaño que la pélvica, a manera de abanico con 24 a 26 radios. La aleta caudal se encuentra truncada o levemente emarginada (Oyarzún, 2003).

El cuerpo presenta dos líneas laterales: la inferior con extensión variable desde la base del pedúnculo caudal, pudiendo llegar hasta la altura del comienzo de la segunda aleta dorsal; con aproximadamente 95 escamas tubulares en la línea lateral superior y 64 en la inferior (Cassia y Perrotta, 1996).

Los cinco huesos hipurales del esqueleto caudal están separados e individualizados unos de otros. El foramen de la cintura escapular se ubica completamente en el hueso escapular (Cousseau y Perrotta, 2000).



Figura 1. Fotografía de *D. eleginoides* tomada con cámara a 1000 m de profundidad en la Plataforma Patagónica (extraído de Collins et al., 2010).

Cabe notar que, dentro del género también se encuentra el bacalao antártico *D. mawsoni* Norman, 1937, habitante exclusivo de aguas antárticas (Bargelloni et al., 2000). De hecho, existen áreas donde cohabitan ambas especies tales como al norte del mar de Ross, Islas Orkney y al sur de Kerguelén Plateau (Gon y Heemstra, 1990; Brickle et al., 2005). Si bien, ambas especies son muy parecidas morfológicamente, *D. eleginoides* se diferencia de

D. mawsoni por la presencia de áreas sin escamas en la región de la cabeza y la línea lateral inferior (Pequeño, 1989).

Distribución geográfica y batimétrica de *D. eleginoides*

D. eleginoides presenta una distribución geográfica circumpolar discontinua restringida a montes y plataformas (Figura 2), principalmente en aguas subantárticas y antárticas del hemisferio sur, incluyendo los océanos Pacífico Suroriental, Atlántico e Índico y en áreas circundantes a las plataformas peninsulares de islas subantárticas como las Islas Malvinas, Georgia del Sur, Príncipe Eduardo, Bouvet, Kerguelen, Macquerie, Crozet y Heard alrededor de Ob y Lena Banks (Sancho et al., 2003; Collins et al. 2010). Sin embargo, también se le puede encontrar alrededor del cono sur de América, en el talud continental pacífico desde Perú (Punta Aguja: 6° LS) hasta al sur de Chile, y por el Atlántico, desde Uruguay (35° LS) hasta el sur de Argentina, bordeando toda el área de la Patagonia (Arkhipkin et al., 2003; Ashford et al., 2005).



Figura 2. Distribución geográfica de *D. eleginoides* (áreas oscurecidas) en aguas polares y proyección hacia Sudamérica (extraído de Collins et al., 2010).

El límite meridional de la distribución geográfica de *D. eleginoides* pareciera estar sobre los 55 a 60°LS, en torno al continente Antártico, pues se le ha capturado en la Península

Antártica, isla Rey Jorge (61°24'LS), en el Mar de Ross, Islas Orkney y al sur de Kerguelén Plateau (Gon y Heemstra, 1990; Brickle et al., 2005; Ghigliotti et al., 2007). Sin embargo, Moller et al. (2003) informan el hallazgo de un ejemplar en el hemisferio norte (Groenlandia), situación que se debería a la desorientación de un individuo que se transportó por aguas frías profundas que cruzan el Ecuador, no representando una población en este lugar. A pesar de esto, algunos autores estiman que el rango de distribución de la especie podría ser más amplio, sobre todo considerando que ésta podría estar influenciada por procesos de radiación adaptativa y a una capacidad de migración superior a los 10 mil km (Oyarzún y Campos, 1987; Dewitt et al., 1990; Schluter, 2000).

D. eleginoides es considerada como una especie abisobentónica, cuyo rango batimétrico conocido fluctúa entre los 70 y 3850 m de profundidad, habitando por sobre la plataforma y talud continental de Sudamérica e islas subantárticas (Arkhipkin et al., 2003; Barrera-Oro et al., 2005; Prenski y Almeyda, 2000; Collins et al., 2010). En áreas antárticas de los Océanos Atlántico e Índico este rango es más estrecho (70 y 2500 m), al igual que lo señalado en reportes de captura en aguas de Chile (Young et al., 1998; Goldsworthy et al., 2002). Desde el punto de vista pesquero, las concentraciones de peces más relevantes se encuentran entre los 1.000 y 1.500 m (Young et al., 1996). Sin embargo, esta distribución estaría condicionada por la edad (Collins et al. 2010) dado que los ejemplares maduros son demersales, pudiendo vivir en profundidades que exceden los 1500 m mientras ejemplares de menor tamaño y edad están en aguas menos profundas, entre los 100 y 500 m, presentando hábitos más bien pelágicos (Young et al., 1999; Zuleta et al., 1999; Goldsworthy et al., 2002).

Principales características biológicas y ciclo de vida de *D. eleginoides*

El ciclo de vida de *D. eleginoides* se desarrolla en aguas frías influenciadas por las aguas Subantárticas, Intermedia Antártica y masas de agua más profundas, contemplando diversas fases ontogenéticas. La capacidad de adaptación a hábitats extremos se vincula con una serie de adaptaciones evolutivas que, en su mayoría, comparte con los miembros de la Familia Nototheniidae. Por ejemplo, *D. eleginoides* se ha adaptado ambientes fríos debido a que ha desarrollado un conjunto de glicoproteínas anticongelantes (Cheng, 1998; Cheng et al., 2003). De la misma manera, y considerando que esta especie carece de vejiga gaseosa,

las extensas migraciones verticales son posibles producto de la presencia de acúmulos de lípidos y estructuras cartilagosas que aligeran su cuerpo (Oyarzún et al., 1988).

Los desoves ocurren en zonas pelágicas de aguas profundas. Se ha indicado que la especie lo haría en la plataforma de las Georgias del Sur y Malvinas, a profundidades que fluctúan entre 800 y 1000 m (Arkhipkin et al., 2003; Laptikhovsky y Brickle, 2005; Laptikhovsky et al., 2006), mientras que otros autores (Kock et al., 2006) señalan que los huevos son liberados en ambientes pelágicos dado que las larvas y post larvas se han encontrado a este nivel alrededor de las Georgias del Sur (North, 2002) y en la parte sur de la plataforma Patagónica (Arkhipkin et al., 2003). Sin embargo, quienes sostienen la primera opción argumentan que, aunque los huevos podrían descender hasta los 1000 m de profundidad, merced a corrientes advectivas, ascenderían hacia aguas someras cercanas a la plataforma.

Las larvas ascenderían cerca de la superficie, distribuyéndose en la zona pelágica por sobre la plataforma, así como también sobre el quiebre de la plataforma y el talud. Este ascenso les permite encontrarse con otras masas de aguas que facilitan el acceso hacia otras zonas, ampliando el área de influencia del desove. Además, al distribuirse en aguas más someras las post larvas pueden alimentarse de zooplancton. Posteriormente, los ejemplares juveniles migran hasta áreas profundas de la plataforma Patagónica (70 a 500 m) donde crecen hasta los 60-70 cm de longitud total (LT), periodo que puede durar por años (Arkhipkin et al., 2003; Laptikhovsky et al., 2006; Collins et al., 2007). Por último, los ejemplares adultos descienden a profundidades mayores a los 1000 m. La madurez sexual de las hembras se alcanza entre los 70 y 90 cm de LT (7 a 11 años) y en los machos entre los 90 y 100 cm de LT (9-12 años) (Arkhipkin et al., 2003; Barrera-Oro et al., 2005; Horn, 2002; Sancho et al., 2003; Laptikhovsky et al., 2006).

La edad máxima, determinada mediante la lectura de sus otolitos, oscila a lo menos entre los 45 y 50 años (Horn, 2002; Oyarzún et al., 2003), presentando un crecimiento relativamente rápido en los 10 primeros años de vida. Al alcanzar su madurez (700 – 900 mm de longitud) el crecimiento se hace más lento (Evseeiko et al., 1995; Collins et al., 2007).

Se ha calculado que los valores de fecundidad de *D. eleginoides* oscilan entre los 48 mil a 546 mil huevos vitelados de 4,3 a 4,7 mm de diámetro, lo que variaría según la LT y la

localidad geográfica (Evseenko et al., 1995; Brickle et al., 2005). Revisiones microscópicas efectuadas en los ovarios señalan que esta especie correspondería a un desovador sincrónico por grupo (Young et al., 1999), cuyo resultado es un evento de desove anual, que ocurre entre los meses de julio y agosto, aunque se ha señalado que habría otro evento de menor magnitud entre abril y mayo (Barrera-Oro et al., 2005; Laptikhovsky et al., 2006). Durante este período las hembras ascenderían a profundidades menores (400 a 500 m), lo que dificultaría capturarlas en faenas pesqueras tradicionales (Young et al., 1992).

Alimentación de *D. eleginoides*

La especie es caracterizada como un depredador oportunista de amplio espectro trófico (Pilling et al., 2001), que consume una elevada variedad de ítemes-presa, como crustáceos, cefalópodos (Xavier et al., 2002; Cherel y Duhamel, 2003; Van de Hoff, 2004) y peces (Goldsworthy et al., 2001) además de cnidarios y equinodermos (Pilling et al., 2001). Su alimentación la realizaría durante las 24 horas del día (Pakhomov et al., 2006).

Sin embargo, sus preferencias varían de acuerdo con su desarrollo ontogenético y, en definitiva, a su hábitat temporal. En estado de post larva y juveniles se alimenta de zooplancton y pequeños peces (Arkhipkin et al., 2003), mientras que como adulto es ictiófago. Por ejemplo, durante su fase ontogénica de plataforma, la especie se alimenta de otros nototénidos como *Patagonotothen ramsayi* los que se encuentran cercanos al fondo en la Plataforma Patagónica y en la Plataforma de las Georgias del Sur. De esta forma, cefalópodos y crustáceos tendrían una importancia secundaria en su espectro trófico (Cassia y Perrotta, 1996). Estando en aguas profundas la especie es eminentemente oportunista, alimentándose principalmente de macrúridos y móridos, aunque también de camarones (Pilling et al., 2001) y grandes crustáceos bentónicos (Arkhipkin et al., 2003).

También, su dieta puede variar de acuerdo con su disponibilidad de presas, lo que estaría vinculada a cambios estacionales que determinarían la abundancia y migración de éstas (Arkhipkin et al., 2003). Por ejemplo, se ha documentado en ejemplares juveniles de *D. eleginoides* que habitan Shag Rocks, Islas Georgias del Sur y en la Isla Macquarie, que su ítem principal lo constituyen peces, seguido de cefalópodos, misidáceos y crustáceos, mientras que en especímenes habitantes del área del Archipiélago Príncipe Eduardo, el ítem

presa predominante fueron los cefalópodos seguido por los peces (Goldsworthy et al., 2002; Barrera-Oro et al., 2005; Collins et al., 2007).

Por último, la presencia dentro del área de distribución del bacalao de profundidad de la zona de convergencia antártica o zona frontal polar antártica, que divide las aguas relativamente templadas del Océano Pacífico con las frías aguas del Océano Glacial Antártico, es un límite que separa dos regiones hidrológicas diferentes. Por ejemplo, en una ubicación precisa de esta línea se evidencia un repentino cambio de temperatura de la superficie del agua, con promedios de 2,8 °C a 5,5 °C. Esta situación no determina un límite físico, sino que también de carácter biológico pues separa áreas de climas diferentes y, por lo tanto, de asociaciones de vida y cadenas tróficas distintas, que implican el acceso a diferentes ítems-presa potenciales para *D. eleginoides*.

La presencia de la convergencia antártica determinaría que los ejemplares de *D. eleginoides* capturados al norte de esta presentan distinta constitución en su dieta, aunque muestran una considerable variabilidad en su patrón de alimentación en aguas de Chile, variando su dieta según sitio de captura, estado de su ciclo vital, profundidad y época del año (Oyarzún, 2001). El espectro trófico estaría compuesto al menos de 20 ítems-presa, predominantemente ictiófaga, destacando *Helicolenus lengerichi*, *Trachurus symmetricus*, *Merluccius gayi* y *Ariosoma* sp., además de registrarse canibalismo entre ellos. También, en su dieta pueden aparecer poliquetos y cefalópodos. Oyarzún et al., (2003) señalan que los crustáceos se encuentran pobremente representados, principalmente *Heterocarpus reedi* y *Lebidoclaacea granaria*, y su frecuencia disminuiría en aguas más meridionales, aunque esto no coincide con lo reportado por otros autores (Arrizaga et al., 1996; Murillo et al., 2008).

Estructura poblacional de *D. eleginoides*

Dada la amplia distribución circumpolar y extensión hacia Sudamérica se han generado diversas interrogantes respecto de cuál es la estructura poblacional de *D. eleginoides*. Para ello, se ha contado con diversas herramientas, tales como el marcaje genético, análisis químico de otolitos, técnicas de marcaje-recaptura y análisis parasitario, que han permitido evaluar este aspecto con distintos niveles de resolución (Appleyard et al., 2002; Ashford et al., 2005; Brickle et al., 2005; Rogers et al., 2006; Oliva et al., 2008).

De igual forma, no existen antecedentes suficientes respecto de la abundancia o biomasa del bacalao de profundidad, los que son acotados a locaciones específicas. Por ejemplo, Tuck et al. (2003), mediante técnicas de captura y recaptura, calcularon una abundancia para la especie en un rango de entre 0,6 y 0,8 millones de peces. Laptikhovsky y Brickle (2005) señalaron que en Islas Malvinas la biomasa de *D. eleginoides* ha ido declinando, estimando que aquella no explotada alcanza al 50 % de la población total. En cambio, Payne et al. (2005), señalan que se encuentra entre un 38 y 46% del tamaño del stock inicial, es decir, entre 32.000 y 56.339 t con una biomasa desovante de entre 13.000 y 26.000 t.

Además, se ha señalado que la proporción de ejemplares machos y hembras varía de acuerdo con la profundidad, época del año y lugar. Al respecto, en Burdwood Bank se determinó que a profundidades menores a 1500 m la proporción es similar mientras que en aguas más profundas los machos predominan, sobre todo en el período de abril a septiembre (Laptikhovsky et al., 2006).



Depredación, pesquería y aspectos de conservación de *D. eleginoides*

Se reconoce que los principales depredadores de *D. eleginoides* son los mamíferos marinos, entre los que destacan ballenas, focas y lobos marinos (Goldsworthy et al., 2001; North, 2002; Collins et al., 2007), aves como pingüinos y albatros (Weimerskirch et al., 1997; Cherel et al., 2000; Goldsworthy et al., 2001; Collins et al., 2007) y cefalópodos (Cherel y Duhamel, 2003; Collins et al., 2007). Sin embargo, Moreno et al. (2003) establece que la acción de los cetáceos sobre la biomasa de stock de *D. eleginoides* sería marginal mientras que la acción de lobos marinos y cachalotes si sería relevante. De igual forma, identifican a aves marinas como la fardela negra grande (*Procellaria aequinoctialis*) y el albatros de ceja negra (*Diomedea melanophrys*) como especies capturadas en forma incidental durante la pesquería industrial de esta especie. De acuerdo con Oyarzún et al. (2003), la fauna acompañante principal está constituida por los peces *Macrourus carinatus* y *Antimora rostrata* junto a tiburones de diversas especies.

D. eleginoides constituye uno de los recursos pesqueros más relevantes en aguas del hemisferio sur. En Chile, y sobre la base del supuesto de que existe un solo stock pesquero

del bacalao de profundidad, se ha establecido dos áreas de pesca: una donde opera la flota industrial al sur de 47°LS y otra de actividad exclusiva para la flota artesanal al norte de 47°LS, ambas efectuadas mediante palangre. La longitud (cabeza-cola) de captura más frecuente oscila entre 60 y 120 cm, aunque se pueden encontrar tallas mayores en peces de aguas subantárticas (> 2 m y > 100 kg). Este recurso se vende, fresco o congelado, y en presentaciones más elaboradas. Por ejemplo, se comercializa hacia el mercado asiático y norteamericano, como producto entero eviscerado, sin cabeza eviscerado, fileteado con o sin piel, en porciones y ahumado.

Respecto del volumen de captura de *D. eleginoides*, en Chile, sólo en la década de los noventa, los desembarques alcanzaron promedios sobre las 10.000 t anuales. Sin embargo, una década después se registra un descenso alcanzando el año 2006 una captura aproximada de 5400 t al sur (Subpesca, 2005). Posteriormente, la actividad pesquera tendió hacia una sobreexplotación del recurso debido a que, frente a una presión de pesca que aumentó progresivamente a través de los años, la especie presenta por contraparte un lento crecimiento, madurez tardía y baja fecundidad, como se mencionó anteriormente (Horn, 2002; Collins et al., 2010). De esta forma, actualmente *D. eleginoides* está clasificada como especie vulnerable y se consideró como recurso agotado desde áreas más australes a partir de los 47° L.S. En 2019 la suma total de su captura, tanto del área artesanal, la unidad de pesquería lícita y de investigación, ascendía solo a 4271 t (Sernapesca, 2020).

Por lo antes mencionado, la legislación de Chile estableció regulaciones de esta pesquería con el fin de proteger al recurso y explotarlo de manera sustentable. Así, actualmente la pesquería de *D. eleginoides* presenta acceso restringido a nuevos operadores y con cuotas anuales globales de captura, asignadas en forma individual a la flota industrial, mediante subastas anuales. Además, se aplica una limitación al número de total de anzuelos según tipo de embarcación y área geográfica. Por último, el recurso está sujeto a veda biológica, entre los meses de junio y agosto, que coincide con la época de desove para la especie (Sernapesca, 2020).

Parasitología de *D. eleginoides*

En general, los trabajos de orden parasitológico en los nototénidos son abundantes, aunque relacionados con especies de ubicación antártica (Zdzitowiecki et al., 1998; Zdzitowiecki, 1999).

El parasitismo del bacalao de profundidad, principalmente provocado por helmintos se ha estudiado más a fondo en el sector atlántico del Subantártico. La literatura existente recoge aportes desde mediados de la década de los setenta, sobre todo provenientes de ejemplares capturados desde cuatro áreas de pesca: las islas Malvinas, Georgia del Sur y dos localidades del Océano Índico (Banco Ob' y Banco Lena). Estos reportes dan cuenta del registro de sobre sesenta especies parasitarias, principalmente helmintos (Gaevskaya et al., 1990; Brickle, 2003; Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2012) (Tablas 1 y 2).

Desde el punto vista de su transmisión, la mayoría de los taxa parásitos reportados son adquiridos mediante la ingestión de presas parasitadas, por lo que se relaciona directamente a la dieta de los ejemplares. Un segmento marginal de especies parásitas informadas se transmite por contacto directo, por lo que su transmisión es vehiculizada por el contacto con agua contaminada que contiene formas parasitarias infectantes (Brown et al., 2012). Además, la información disponible da cuenta de diferencias entre las locaciones en donde se han realizado investigaciones, lo que puede ser el reflejo de las diferentes condiciones de los hábitats donde pertenecen las poblaciones de bacalao de profundidad examinados (Gaevskaya et al., 1990).

Tabla 1. Parasitofauna de ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas subantárticas.

Primera parte.

Parásito	Lugar de recolección*	Autor**
Monogenea		
<i>Neopaviovskoides georgianus</i>	FI, SG, PE, HI, MI, RS, BO,	1, 2, 3
<i>Pseudobendeniella branchiale</i>	BL	1
<i>Pseudobenedenia dissostichi</i>	SG	1, 3
Digenea		
<i>Brachyphallus crenatus</i>	FI	1
<i>Derogenes varicus</i>	FI, PE, HI, MI	1, 2, 3
Digeneo sp. 1	HI	3
<i>Elytrophalloides oatesi</i>	FI, SG, PE, HI, BO, BL	1, 2, 3, 4
<i>Glomericirrus macrouri</i>	FI, PE, HI, MI, RS	1, 2, 3
<i>Gonocerca crassa</i>	FI	1
<i>Gonocerca phycidis</i>	FI, SG, PE, HI, MI, BO, BL	1, 2, 3, 4
<i>Gonocerca taeniata</i>	FI	1
<i>Helicometra antarcticae</i>	RS	3
<i>Lecithaster australis</i>	FI	1, 2, 3
<i>Lecithaster macrocotyle</i>	HI	3
<i>Lecithochirium</i> sp.	MI	3, 4
<i>Lecithochirium genypteri</i>	FI	1, 2, 3, 4
<i>Lecithophyllum champsocephali</i>	PE, HI, MI	3
<i>Lepidapedon antarcticus</i>	SG	1
<i>Lepidapedon taeniatum</i>	FI	1
<i>Lepocreadiidae</i> sp.	FI	4
<i>Neolebouria antarctica</i>	SG, RS	3
<i>Neolebouria georgiensis</i>	SG	1
<i>Neolepidapedon magnatestis</i>	FI, SG, PE, RS	2, 3
<i>Opechona magnatestis</i>	FI, SG, BL	1
<i>Stenakron</i> sp.	PE	3
Cestoda		
<i>Clestobothrium crassiceps</i>	FI, SG	1, 3
<i>Grillotia erinaceus</i>	FI	1, 3, 4
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	FI, PE, HI, MI	2, 3
<i>Lacistorhynchus tenuis</i>	FI	1
<i>Phyllobothrium</i> sp.	SG, BO, BL	1
plerocercos Tetraphyllidea	FI, SG, PE, MI, RS	2, 3, 4
plerocercos Pseudophyllidea	FI, SG, HI, MI	2, 3, 4
plerocercos Trypanorhyncha	FI	4
<i>Scolex pleuronectis</i>	FI, SG, BO, BL	1

* **FI:** Falkland Islands; **SG:** South Georgia; **PE:** Prince Edward, **HI:** Heard Island; **MI:** Macquarie Island; **RS:** Ross Sea; **BO:** Ob bank; **BL:** Lena Bank.

** **1:** Gaevskaya et al. (1990); **2:** Brickle et al. (2005); **3:** Brickle et al. (2006); **4:** Brown et al. (2012).

Tabla 2. Parasitofauna de ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas subantárticas. Segunda parte.

Parásito	Lugar de recolección*	Autor**
Microsporidea		
Microsporidea sp. 1	SG,	2
Myxozoa		
<i>Alatospora</i> sp.	FI, SG, PE, HI, MI, RS	2, 3
<i>Ceratomyxa dissostichi</i>	FI	3
<i>Neoparvicapsula subtile</i>	FI	1
<i>Sphaerospora dissostichi</i>	FI	3
Acanthocephala		
<i>Aspersentis megarhynchus</i>	PE	2
<i>Corynosoma bullosum</i>	FI, SG, PE, HI, MI, RS	1, 2, 3, 4
<i>Corynosoma hamanni</i>	BO, BL	1
<i>Corynosoma pseudohamanii</i>	SG	1
<i>Corynosoma arctocephali</i>	FI, SG, PE, HI, MI	2, 3, 4
<i>Echinorhynchus georgianus</i>	FI	1
<i>Echinorhynchus longiproboscis</i>	FI	1, 3, 4
<i>Echinorhynchus petrotschenkoi</i>	SG, PE, HI, MI, RS	2
<i>Heteracanthocephalus dissostichi</i>	BO	1
<i>Metacanthocephalus rennicki</i>	BL	1
Nematoda		
<i>Anisakis</i> spp.	FI, SG, PE, HI, MI, RS	2, 3, 4
<i>Anisakis simplex</i>	FI, SG, BO, BL	1
<i>Ascarophis nototheniae</i>	FI, SG, PE, HI, MI, BO	1, 2, 3, 4
<i>Capillaria</i> sp.	SG, PE, MI	3
<i>Contraecum</i> spp.	FI, SG, HI, BO, BL	1, 2, 3
<i>Contraecum osculatum</i>	FI	1
<i>Dichelyne fraseri</i>	FI, SG, PE, HI, MI, BO.	1, 2, 3
<i>Hysterothylacium</i> spp.	BL	2, 3, 4
<i>Hysterothylacium aduncum</i>	FI, SG, PE, HI, MI, RS	1
<i>Hysterothylacium nototheniae</i>	FI, SG	1
Nemátodo sp. 1	FI	1, 2, 3
<i>Pseudoterranova decipiens</i>	FI, SG, PE, HI, MI, RS, BL	1, 2, 3
Copepoda		
<i>Eubrachiella antarctica</i>	FI, SG, PE, HI, MI	1, 2, 3
Miscelaneos		
CUE	FI, SG, PE, HI, MI	2, 3

* **FI:** Falkland Islands; **SG:** South Georgia; **PE:** Prince Edward, **HI:** Heard Island; **MI:** Macquarie Island; **RS:** Ross Sea; **BO:** Ob bank; **BL:** Lena Bank.

** **1:** Gaevskaya et al. (1990); **2:** Brickle et al. (2005); **3:** Brickle et al. (2006); **4:** Brown et al. (2012).

A pesar de su extensa distribución en aguas chilenas y de su relevancia comercial, la fauna parasitaria de *D. eleginoides* ha sido escasamente estudiada. Rodríguez y George-Nascimento (1996) examinaron 49 ejemplares de *D. eleginoides* capturados frente a la Isla Santa María (73°30'W: 35° 40'S), reportando 11 taxa parásitos, todos helmintos. En este estudio se demostró mayor presencia y abundancia de parásitos en la porción estomacal del tubo digestivo. Posteriormente, Oliva et al. (2008) analizando el contenido estomacal de 629 especímenes capturados desde dos áreas de pesca (37°S a 39°S y 45°S a 51°S) informan nueve taxa parásitos, destacando el hallazgo de un cestodo Pseudophyllidea no informado anteriormente. Además, mediante análisis multivariados, al demostrar ausencia de diferencias significativas en la prevalencia y la intensidad media de infección parasitaria en poblaciones de bacalao de profundidad de la zona centro sur, estos autores señalan que en Chile existiría un stock de *D. eleginoides* en aguas de Chile centro sur (Oliva et al., 2008). De acuerdo con lo observado en ambos estudios (Tabla 3), la fauna parasitaria de *D. eleginoides* en aguas de Chile corresponde exclusivamente a helmintos que se transmiten mediante vía trófica. En estas investigaciones, la presencia de nematodos anisákidos, así como diferentes especies de digeneos son las especies de helmintos más abundantes, ubicándose a nivel gastrointestinal, mesenterios y musculatura asociada. Dado que los parásitos encontrados corresponden a estados larvales y adultos, se concluye que el bacalao de profundidad participa como hospedero definitivo, intermediario y/o paraténico de estos helmintos. Debido a ello, las prevalencias e intensidades de infección más elevadas corresponden a nemátodos anisákidos, lo que correspondería más que nada a un fenómeno de acumulación larval debido al rol de *D. eleginoides* como hospedero intermediario de estos parásitos (Rodríguez y George-Nascimento, 1996).

Tabla 3. Parasitofauna en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de Chile.

Parásito	Lugar de recolección*	Autor**
Digenea		
<i>Brachyphallus crenatus</i>	SM, L, Q	1,2
<i>Derogenes varicus</i>	SM, L, Q	1,2
<i>Elytrophalloides oatesi</i>	SM	3
<i>Gonocerca phycidis</i>	SM, L, Q	1,2
<i>Lecithochirium genypteri</i>	SM, L, Q	1,2
<i>Neolepidapedon magnatestis</i>	SM	1
Cestoda		
<i>Hepatoxylon trichiura</i>	SM, L, Q	1,2
plercercoide Pseudophyllidea	Q	2
Acanthocephala		
<i>Corynosoma</i> sp.	SM, L, Q	1,2
<i>Echinorhynchus petrotschenkoi</i>	SM	1
Nematoda		
<i>Anisakis simplex</i>	SM	1
<i>Anisakis</i> sp.	L, Q	2
<i>Anisakis physeteris</i>	SM	1
<i>Hysterothylacium</i> sp.	SM, L, Q	1

* **SM:** Isla Santa María; **L:** Lebu; **Q:** Quellón

** **1:** Rodríguez y George Nascimento (1996); **2:** Oliva et al. (2008); **3:** Brickle et al. (2005)

Más allá de estas características la conformación de la fauna parasitaria así como su magnitud, en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de Chile, pareciera ser particular y homogénea y, por tanto, muy distinta a la informada en estudios similares efectuados en otras locaciones (Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2012). Sin embargo, y de acuerdo a los resultados reportados por Oliva et al., (2008), tanto la prevalencia como la intensidad del parasitismo parecen tender a ser de mayor magnitud hacia latitudes más meridionales, lo que pudiese interpretarse como la posibilidad de encontrar un mayor número de presas en este lugar, y por ende, mayor riesgo de infección parasitaria o bien, a la mayor permanencia del bacalao en una zona que representa la presencia continua de ítemes-presa infectados (Oyarzún et al., 2003).

Particularmente relevante, tanto en estudios en Chile como en locaciones subantárticas y del Atlántico, es el parasitismo frecuente del bacalao de profundidad por nematodos anisákidos. Estos parásitos son agentes de una zoonosis denominada

Anisakidiasis, caracterizada principalmente por cuadros gástricos, intestinales, orales y alérgicos que se ha ido incrementando en la población humana debido a la tendencia de consumir preparaciones en base a carne de pescado cruda por parte de la población. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la anisakidiasis humana se ha reportado en más de 26 países de todo el mundo, incluido Chile (Castellanos-Garzón et al., 2018). *D. eleginoides*, es un reconocido hospedero intermediario de este parásito, debido a que participa por sus hábitos depredadores en las complejas redes de transmisión que presentan estos nematodos, que incluye numerosas especies de artrópodos, crustáceos, peces y mamíferos marinos (Madrid et al., 2016).

Importancia del estudio de comunidades parasitarias en peces

Por su naturaleza, los parásitos en peces son indicadores de la ontogenia de una población en particular, proveyendo de información respecto de rutas migratorias, áreas de alimentación, relaciones filogenéticas, entre otras. De igual manera, y debido a la naturaleza de los ciclos de vida parasitario, su conocimiento permite inferir respecto de la trama trófica en la cual participa, así como su vinculación con el ambiente que lo rodea (Gardner y Campbell, 1992; Williams et al., 1992; Marcogliese y Price, 1997).

Por ejemplo, y de acuerdo con lo señalado en el trabajo clásico de Campbell et al (1980), las variaciones en la magnitud del parasitismo en peces de aguas profundas dependen de la tasa de encuentros entre este y una presa parasitada, por lo que la mayoría de los parásitos son adquiridos por vía oral. Por lo tanto, su ocurrencia puede señalar información remota o reciente respecto de ciertas parasitosis. En este sentido, aquellos parásitos que se presenten al estado adulto, es decir el hospedero eventual será definitivo, se presentarán en período de tiempo acotado a su vida (reclutamiento, desarrollo y muerte). Por lo tanto, su detección aportará información respecto de la ontogenia reciente del hospedero. Por el contrario, si se presentan parásitos en estado larval, es decir el hospedero eventual será intermediario, tenderán a acumularse en su hospedero mientras viva por lo que, su detección, aportará información respecto de la ontogenia pasada y reciente del hospedero (Rodríguez y George-Nascimento, 1996).

Ciertamente, la presencia de presas parasitadas, sobre todo aquellas que son relictas a un hábitat en particular, probablemente sean hospederos de parásitos específicos lo que determinará la ocurrencia de infecciones parasitarias específicas en su depredador. De la misma forma, barreras geográficas y/o ambientales determinan a su vez cambios en especies parasitadas que habitan ciertos ambientes, por lo que también esto puede determinar indirectamente la infección parasitaria de sus poblaciones. En base a esta dinámica, es que se ha usado a los parásitos como biomarcadores para distinguir poblaciones de peces o stock pesqueros y/o movimientos migratorios de peces (Moser, 1991; Oliva, 2001; MacKenzie, 2002). Por ejemplo, Brickle et al. (2005) utilizaron la composición parasitaria gastrointestinal para diferenciar las poblaciones de *D. eleginoides* de la región subantártica, mientras que Oliva (2001) examinó los movimientos migratorios de *Macruronus magellanicus* utilizando parásitos que permanecen en el hospedador durante mucho tiempo, como larvas de anisákidos, larvas de Cestoda y larvas de *Corynosoma* sp.

Además, los parásitos proporcionan evidencia de qué especies se han estado depredando, comportamiento de alimentación y también dónde se encuentra el hospedero dentro de una trama alimentaria. Ello sucede porque los parásitos permanecen en el estómago mucho más tiempo que la presa hospedera de la que provienen, por lo tanto, los datos de los parásitos pueden señalar la dieta durante un período de tiempo más largo que el análisis del contenido del estómago (Williams et al., 1992; Gallagher y Dick, 2010).

Más allá de estas aplicaciones e inferencias, los estudios en ecología del parasitismo de peces marinos de profundidad son escasos, siendo la mayoría de orden taxonómico (Walter et al., 2002; MacKenzie, 2002; Brickle et al., 2005; Oliva et al., 2008).

Por último, y en el contexto de cambio climático, el análisis del parasitismo de peces puede evidenciar su ocurrencia pues, como se ha determinado recientemente, existe un recambio en la cadena trófica frente a las costas de Chile, que se ha expresado principalmente en el cambio cualitativo y cuantitativo de fauna, sobre todo de copépodos (Medellín et al., 2016) que pueden servir como hospederos intermediarios de ciertos parasitismos.

Microbiología de *D. eleginoides*

En términos generales, existen pocos antecedentes respecto de la microbiología de peces marinos (Llewellyn et al., 2014), sobre todo en especies de aguas frías y/o profundas (Jensen et al., 2002, Ringo et al., 2006). Esto se debe, probablemente, a que dichos esfuerzos investigativos se han efectuado priorizando algunas especies de interés comercial vinculados a la acuicultura (Nayak, 2010; Ganguly y Prasad, 2012).

En el caso de *D. eleginoides*, la información es aún más escasa. Por ejemplo, no existen antecedentes respecto a brotes infecciosos y/o mortalidad causada por bacterias patógenas, al menos, en ejemplares mantenidos en cautiverio. Recientemente, Urtubia et al. (2017) describieron por primera vez, la comunidad bacteriana gastrointestinal de un ejemplar de *D. eleginoides*, capturado cerca del Archipiélago Diego Ramírez (56 ° 29'S, 68 ° 44'W) y que fue mantenido en cautiverio durante 6 meses. Este animal fue sacrificado dado que presentaba comportamiento errático, aunque una vez hecha su necropsia se estableció que la naturaleza de su conducta no se vinculaba a causas de origen infeccioso.

El objetivo de ese trabajo fue evaluar la microbiota recuperada desde tres secciones del tracto digestivo (estómago, intestino medio y distal) en el ejemplar antes aludido. Esta investigación se llevó a cabo mediante la aplicación de técnicas tradicionales basadas en cultivos sólidos para aislamiento e identificación por métodos de secuenciación del ADNr 16S. Los resultados obtenidos destacan la obtención de 70 aislados (21 en estómago y 49 en intestino), caracterizando a las familias Vibronaceae y Moraxellaceae, representadas principalmente por bacterias del género *Vibrio* y *Psychrobacter*, respectivamente.

Si bien, el citado estudio permitió una primera aproximación al conocimiento y caracterización de la comunidad bacteriana gastrointestinal de *D. eleginoides*, existen aspectos que es necesario ponderar para permitir una correcta interpretación de los resultados antes mencionados. Se debe considerar, por ejemplo, que el estudio se hizo en un ejemplar en cautiverio, en condiciones de aclimatamiento y alimentación dirigida por seis meses. Por lo tanto, entendiendo que diferencias nutricionales y ambientales pueden incidir en la conformación de la estructura de una comunidad bacteriana (Dhanasiri et al., 2011), estos resultados no representan fielmente lo que ocurre en ejemplares de *D. eleginoides* en

estado salvaje. Así mismo, y dado que el estudio fue efectuado debido a una eventualidad durante este proceso, no hubo posibilidad de efectuar más muestras para permitir contrastación y comparación de resultados. Además, la metodología de aislamiento se hizo en base a métodos de cultivo tradicional los que claramente, en comparación con otras herramientas que utilizan enfoques moleculares, presentan resultados cuya resolución es menor (Pond et al., 2006).

Debido a ello, y dada las condiciones que determinaron dicha investigación, se considera solo una aproximación preliminar a la composición de la comunidad bacteriana de *D. eleginoides*, pero solo en condiciones de cautiverio particular de un espécimen.

Importancia del estudio de comunidades bacterianas en peces

Cuando se desea indagar en una especie o grupo biológico, es necesario conocer el contexto ambiental en el que se encuentra o desarrolla, es decir, de las interacciones que establece con otras especies, entre otros factores. En este sentido, y llevado al ámbito microbiológico, la coexistencia entre el pez hospedero y los diferentes tipos de microorganismos que alberga se expresa en variadas formas de asociación de carácter heteroespecífico, tanto simbióticas, comensales como parasitarias (Zengler et al., 2002). Por ejemplo, su conocimiento o identificación, ya sea cualitativa o cuantitativa, permiten inferir no solo respecto de la diversidad poblacional del grupo analizado, sino que también interpretar su efecto sobre el estado de salud del hospedero en particular, pues es reconocido que la microbiota gastrointestinal cumple un rol fundamental en su fisiología y nutrición (Urtubia et al., 2017).

Por ejemplo, y llevado al caso de la comunidad bacteriana que alberga un pez hospedero y que consiste en poblaciones de células de diferentes especies bacterianas que interactúan entre sí desarrollando múltiples actividades funcionales al interior de la comunidad y con su hospedero (Díaz y Wachter, 2003), se reconoce que los recursos pesqueros poseen una abundante diversidad microbiana debido a su hábitat y composición química. Esta, por tanto, podría interactuar de manera positiva controlando biológicamente a un patógeno que pudiese infectar al hospedero como también hacerlo de forma negativa,

causando la enfermedad o muerte de este, ya sea en sus etapas larvales, adultas y/o reproductivas (Aly et al., 2008; Goldschmidt-Clermont et al., 2008).

Por otra parte, y en un contexto más ecológico, las comunidades bacterianas que afectan a peces sufren diversas perturbaciones producto de eventualidades tales como escasez de alimento, congelamiento-descongelamiento, exposición a altas concentraciones salinas y otras alteraciones causadas por las variaciones naturales del entorno o por la actividad humana. Ello determina que, para enfrentar estos eventos estresantes, las bacterias que conforman dicha comunidad puedan liberar, por ejemplo, diversos metabolitos para enfrentarlos, creando oportunidades para que nuevas especies se establezcan dentro de la comunidad o para que ocurran eventos disruptivos que generen destrucción del microhábitat o alteración de este, provocando variaciones en su diversidad y riqueza (Torsvik y Ovreas, 2002).

En términos más amplios, el estudio de las comunidades bacterianas presentes en el medio ambiente y en el interior de sus hospederos tiene relevancia respecto del conocimiento de la diversidad biológica global (López y Zaballos, 2005) como de un nicho específico, ya sea una locación u hospedero en particular. Por ejemplo, algunos microorganismos son capaces de utilizar nutrientes y diversos elementos que otros organismos superiores no pueden explotar, por lo que su estudio puede contribuir a inferir el cómo el reciclado de estos elementos puede regular la disponibilidad de nutrientes en el ambiente marino que eventualmente podrían ser utilizados por las especies que coexisten en estos ambientes (Purdy et al., 2003; Lyautey et al., 2005).

Por lo tanto, y desde el punto de vista de la ecología microbiana, la magnitud de la abundancia y distribución de las distintas especies pueden ser utilizados para caracterizar la estructura de la comunidad. Por ejemplo, mediante el empleo de índices que calculen diversidad y distribución de las especies componentes en un nicho específico, podemos interpretar el cómo éstas interaccionan ecológicamente, se relacionan y vinculan con el medio ambiente que las rodea (Magurran, 2004).

Por último, no se debe perder de vista la importancia que presentan los recursos pesqueros desde el enfoque de la seguridad alimentaria dado que algunas familias

bacterianas, como Enterobacteriaceae y Vibrionaceae, incluyen especies causantes de eventuales infecciones o intoxicaciones de sus potenciales consumidores (Acha y Szyfres, 2003).

Métodos tradicionales y moleculares en el estudio de comunidades bacterianas en peces

Para el estudio de la comunidad bacteriana en peces se han utilizado frecuentemente métodos de cultivo tradicional (Spanggaard et al., 2000; Pond et al., 2006). Al respecto, se dispone de una amplia variedad de medios de cultivo comerciales que permiten el crecimiento, aislamiento e identificación de microorganismos en el laboratorio (Tortora et al., 2007). Los más frecuentemente utilizados son el medio TSA (Agar triptona de Soya agar) y el YEPD (Yeast Extract-Peptide-Dextrose), entre otros (Spanggaard et al., 2000; Pond et al., 2006; Navarrete et al., 2009). Sin embargo, se ha señalado que la cultivabilidad de bacterias en algunas especies de peces oscila entre menos del 1% y 18 % (Navarrete et al., 2009; Navarrete et al., 2010), por lo que este enfoque de estudio solo permite la identificación de una fracción de la comunidad bacteriana estudiada.

Con el fin de aumentar las posibilidades de identificación, sobre todo la fracción de la comunidad bacteriana no detectable por los medios de cultivos tradicionales es que, a través de los años, se ha ido desarrollando métodos moleculares de identificación, que permiten aislar y caracterizar el material genético de una comunidad bacteriana en un nicho en particular (Rantsiu et al., 2010), permitiendo hacer inferencias sobre la composición poblacional y el estatus metabólico de dicha comunidad (Kim et al., 2007).

Las técnicas moleculares, al analizar las secuencias del gen 16S ARNm, permiten medir la distancia evolutiva entre microorganismos y, por tanto, inferir en las relaciones filogenético-evolutivas que constituyen la base para clasificarlos e identificarlos (Díaz y Wachter, 2003). Así, la estrategia de búsqueda consiste en amplificar estos genes a partir de la muestra y luego determinar la secuencia de nucleótidos de los amplicones. Por último, se analiza las secuencias ya determinadas estableciendo comparaciones con las de bacterias-tipo proveídas por bases de datos, lo que permite obtener el grado de similitud entre las secuencias de 16S ARNm, lo que indicaría su relación o distancia evolutiva. Un rango de

similitud nucleotídica mayor a 95% es aceptado para la identificación de géneros microbianos (Drancourt et al., 2000).

Dentro de los métodos moleculares más frecuentemente utilizados para caracterizar comunidades bacterianas complejas del tracto intestinal de peces, se encuentra a: PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), PCR cuantitativo (q-PCR) y polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), entre otros (Vaughan et al., 2000; Holben et al., 2002; González y Saiz, 2005; Kim et al., 2007). Otras herramientas de investigación que se han convertido en alternativas eficientes en muestras complejas son el análisis del gen 16S ARNr con métodos moleculares de huellas genéticas como RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) y DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), entre otros (Walter et al., 2000, Martin-Laurent et al., 2001). Esta última herramienta es ampliamente utilizada para la obtención de huellas genéticas en distintos tipos de muestra ambientales y comunidades microbianas complejas, permitiendo más información respecto de su diversidad, función y estructura (Díaz y Wachter, 2003; González-de la Cruz et al., 2011).

De esta forma, y debido a lo antes mencionado, ha ido incrementando el número de investigaciones referidas a la comunidad bacteriana gastrointestinal en peces que usan un enfoque combinado de métodos tradicionales de cultivo y métodos moleculares de identificación (Jensen et al., 2002, 2004; Asfie et al., 2003; Huber et al., 2004; Hovda et al., 2007; Kim et al., 2007).

A pesar de que *D. eleginoides* constituye un importante recurso comercial en las pesquerías de la zona centro sur y austral de Chile, es una especie insuficientemente conocida, al menos desde el punto de vista parasitario y microbiológico. Además, considerando que la especie se encuentra en un estado de conservación vulnerable debido a su sobreexplotación, es necesario efectuar investigación respecto de su biología que permita aclarar o, al menos complementar, los diferentes aspectos que pudiesen intervenir en su desarrollo. Además, la identificación y/o cuantificación de su parasitofauna y comunidad bacteriana, favorecerá comprender de mejor forma su funcionamiento, lo que a su vez permitirá inferir respecto de la diversidad poblacional de la muestra analizada, así como del estado de salud del hospedero en particular.

De esta forma, su estudio además de permitir allanar el camino en la exploración de la identificación de poblaciones microbianas más abundantes o relevantes para los procesos mencionados, podría ayudar al manejo adecuado de este hospedero.

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la comunidad bacteriana y parasitaria del tracto gastrointestinal y mucus superficial de ejemplares de *D. eleginoides*, capturados en aguas de la zona centro sur de Chile.

Los resultados obtenidos demuestran, en primer lugar, que la parasitofauna de *D. eleginoides* que habitan aguas de Chile parece ser singular, tributando a sus hábitos de carnívoro de tope, pero correspondiendo a una población particular de la especie. Así mismo, dan cuenta del primer reporte del parasitismo por larvas de *Pseudoterranova* sp., cuya presencia solo había sido informada en ejemplares capturados en otras latitudes. Por el contrario, los resultados a nivel microbiológico no coinciden con lo previamente reportado, probablemente, debido a limitaciones metodológicas y a las condiciones particulares de la investigación antes mencionada.

Finalmente, tanto en los resultados del ámbito parasitario como microbiológico, las extensas migraciones y las condiciones batimétricas en las cuales habita *D. eleginoides* en la costa de Chile, parecieran seleccionar una comunidad bacteriana y parasitofauna particular, lo que sería característico y correspondiente con la población o stock pesquero de esta especie en aguas chilenas. Por lo tanto, y debido a la escasez de antecedentes con que se cuenta a la fecha, los resultados obtenidos en esta investigación son pioneros en la especie y pueden servir como línea de base para estudios posteriores.

CAPÍTULO II

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



1. HIPÓTESIS

D. eleginoides es una especie demersal poco estudiada desde el punto de vista parasitario y, sobre todo, microbiológico. Además, de efectuar extensas migraciones geográficas y batimétricas, debe tolerar condiciones extremas de temperatura. La convergencia antártica, es una barrera física que determina un límite biológico meridional que separa aguas del Océano Pacífico del austral subantártico y que, por lo tanto, define fauna y microfauna distintas. Por lo tanto, y dado que la comunidad bacteriana y parasitaria que presentan los peces en su mayoría es aportada por la dieta, es esperable que difiera en poblaciones de peces ubicadas a ambos lados de este límite ambiental.

Hipótesis

H₁: La estructura parasitaria de *D. eleginoides* capturados en aguas chilenas es específica para la zona norte de la convergencia antártica.

H₂: La comunidad microbiana y parasitaria asociada de *D. eleginoides* presenta diferencias vinculadas a su micro-habitat.



2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar la comunidad bacteriana y parasitaria de *D. eleginoides* obtenidos de la zona norte de la convergencia antártica y establecer su potencial asociación con micro-habitat específicos.

2.2 Objetivos específicos

1. Estudiar la estructura de la comunidad bacteriana basado en el ARNr 16s y establecer diferencias vinculadas a su micro-habitat, mediante parámetros ecológicos.

2. Estudiar la comunidad parasitaria gastrointestinal y establecer si existen diferencias vinculadas a su micro-habitat, mediante parámetros ecológicos.

3. Evaluar la magnitud del parasitismo, mediante el análisis de descriptores cualitativos y cuantitativos, en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de la zona centro-sur de Chile.



CAPÍTULO III

MICROBIOTA AND PARASITE-FAUNA OF WILD *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES* SMITT, 1898 CAPTURED FROM THE SOUTH-CENTRAL COAST OF CHILE.

Italo Fernández¹, Patricio de Los Ríos-Escalante^{2,3}, Ariel Valenzuela⁴, Paulina Aguayo^{5,6}, Apolinaria García¹, K. Michelle Sánchez¹, Ciro Oyarzún⁴, Víctor Campos¹.

(1) Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. itfernan@udec.cl (IF), apgarcia@udec.cl (AG), csmith@udec.cl (CS), kimsanchez@udec.cl (KS), vcampos@udec.cl (VC)

(2) Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile. prios@uct.cl (PR)

(3) Núcleo de Estudios Ambientales, UC-Temuco, Chile. prios@uct.cl (PR)

(4) Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile. avalenz@udec.cl (AV), coyarzun@udec.cl (CO)

(5) Institute of Natural Resources, Faculty of Veterinary medicine and agronomy, Universidad de Las Américas, Sede Concepcion, Chacabuco 539, Concepcion 3349001, Chile. paulina.aguayo@udec.cl (PA)

(6) Faculty of Environmental Sciences, EULA-Chile, Universidad de Concepcion, Concepcion 4070386, Chile; paulina.aguayo@udec.cl (PA)

* Corresponding author; e-mail: vcampos@udec.cl

Abstract

D. eleginoides has a discontinuous circumpolar geographic distribution restricted to mountains and platforms, mainly in subantarctic and Antarctic waters of the southern hemisphere, including the Southeast Pacific, Atlantic and Indian oceans and in areas surrounding the peninsular platforms of subantarctic islands. The objective of this work was to determine and characterize the gastrointestinal parasitic and microbiological fauna of specimens of *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile.

Key Words: *Dissostichus eleginoides*; Nototheniidae; Microbiota; Parasite-Fauna

1. Introduction

The Family Nototheniidae comprises numerous species of fish that mainly inhabit Antarctic and subantarctic waters [1]. Within this family, the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, also known as Chilean Sea Bass, stands out because it is considered one of the main target species of commercial fishing in the Southern Ocean.

D. eleginoides has a discontinuous circumpolar geographic distribution restricted to mountains and platforms, mainly in subantarctic and Antarctic waters of the southern hemisphere, including the Southeast Pacific, Atlantic and Indian oceans and in areas surrounding the peninsular platforms of subantarctic islands. In its projection towards the South American cone, it is distributed along the continental slope to Peru (6 ° LS) through the Pacific and Uruguay (35 ° LS) through the Atlantic, bordering the entire area of Patagonia at depths ranging between 80 and 2500 m [2].

Various contributions to the knowledge of its biology have been reported in recent years, although insufficiently known aspects persist [3-8]. Microbiological antecedents of this species are very scarce and are limited to what was recently reported regarding the bacterial flora of the digestive tract of this species [9]. From samples isolated from the digestive tube of a specimen of *D. eleginoides* that had been captured in southern waters and that was kept confined for six months, microbiological analysis was carried out by applying traditional culture techniques and identification by 16SrRNA sequencing. However, these results do not reflect


the total microbiological diversity, therefore, a study is necessary using molecular methods using tools such as next generation sequencing (NGS), which allows us to obtain a broader microbiological profile.

On the other hand, although the parasite fauna of *D. eleginoides* has been more studied, antecedents in specimens captured in Chilean waters are scarce and they go back more than a decade, which account for the presence of 11 parasitic taxa, exclusively gastrointestinal, in specimens captured in the south-central zone of Chile [10-15].

Given these antecedents, the objective of this work was to determine and characterize the gastrointestinal parasitic and microbiological fauna of specimens of *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile.

2. Material and methods

2.1 Sampling



Specimens of wild *D. eleginoides* were collected during fishing campaigns carried out between 2019 and 2020 in the south-central zone of Chile (37 ° -39 ° S; average depth: 920 m). Taxonomic affiliate of the fish was performance according to describe by Oyarzún (2003) [16]. From 47 specimens of *D. eleginoides*, skin (isopated) and digestive tube samples were obtained. To avoid loss of gastrointestinal content, the esophageal and anal ends were tied. Later, it was transported at 4°C to the Parasitology Laboratory of the Faculty of Biological Sciences (Universidad de Concepción), where the posterior area of the stomach was additionally tied, to separate the stomach from the intestine. Samples for microbiology, skin, stomach, and intestine were frozen at -40°C for subsequent molecular analysis.

2.2 Isolation and identification of parasites

To detect protozoa, a sample of stomach and intestinal contents was collected from each portion of the digestive tubes and processed using the modified Burrows sedimentation technique [17]. The rest of the content of each sample was extracted and sieved, separately, with physiological saline under pressure in a plastic cylinder whose bottom contained a mesh

of 0.50 mm of light. The material retained by the sieves was examined using a stereoscopic magnifying glass (Zeiss Stemi DRC, 4x), which allowed the isolation of parasite specimens. In addition, parasite specimens were detected and extracted from the mucosa, submucosa, and serosa of the digestive tract and from the adjacent mesenteries. All parasites were fixed in 70% alcohol for their taxonomic analysis. The specimens of Nematodes and Digenea were diaphanized with Lactophenol from Amman to visualize their internal structures. Prior to staining, cestodes and trematodes were decolorized, dehydrated, and diaphanized, and then stained with Harris's hematoxylin and mounted in Canada balsam. Taxonomic identification was carried out using optical microscopy (Motic, BA 310, 10x and 40x) and specialized reference literature [18-20]. The typified specimens were deposited in Parasitology Museum of Universidad de Concepción (MPUDEC, Reg. DE1-9).

2.3 Characterization of parasites community

The descriptors of magnitude, prevalence, and the mean abundance of the parasitism, were calculated according to described by Bush et al. [21]. For each infra-community, the total abundance (total of parasitic individuals of all taxa) and richness (number of parasitic taxa) were calculated according to describe by [22]. Parasitic diversity was calculated using Shannon Weaver (H'), Margalef and Pielou index. Dominance was evaluated using Simpson index [23]. Non-parametric index, Chao1, was used to calculate the parasitic abundance.

2.4 Characterization microbial community

2.4.1 PCR-DGGE and analysis of DGGE profiles of microbial community

Total DNA from skin mucus, stomach and tract digestive was extracted using the E.Z.N.A.® DNA/RNA Isolation Kit, following the protocol provided by the manufacturer. 16S rRNA universal primers EUB 9-27 and EUB 1542 were used for amplification of DNA [24]. Then, PCR Product were using a template for Nested PCR using the primer pair 341f and 534r with a GC clamp (CGCCC GCCGC GCGCG GCGGG CGGGG CGGGG GCACG GG GGG) according to [25]. DGGE was performed with a DGGE 1001 system (C.B.S. Scientific Company Inc.) according to Campos et al. [26].

For DGGE profiles analyses, DGGE gels were digitized using a photo-documentation system MaestroGen (MaestroGen Inc., Taiwan). For the analysis of banding profiles, a binary matrix was constructed based on the presence (1) or absence (0) of individual bands in each lane using the Gel-Pro Analyzer 4.0 software package (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). Multidimensional scaling diagram (MDS) was constructed using Bray Curtis algorithm, according to describe by Cuevas et al. [25].

2.4.2. Genomic DNA extraction and massive sequencing of microbial community

Genomic DNA was extracted from three *Dissostichus eleginoides* skin mucus, stomach, and tract digestive using the E.Z.N.A.® DNA/RNA Isolation Kit, following the protocol provided by the manufacturer. The DNAs extracted were subsequently purified using UltraClean 15 DNA Purification Kit (MoBio, Carlsbad, USA). Quality and concentration of DNAs were checked by UV/Vis spectroscopy (NanoDrop ND-1000, Peq- lab, Erlangen, Germany).

Total DNA extracted from skin mucus, stomach and tract digestive (mix of three *Dissostichus eleginoides*) were quantified and sequenced. Illumina Miseq sequencing was performed at Genoma Mayor, Universidad Mayor, Santiago, Chile. 16S rARN raw data was analysed using Mothur software (version 1.35.1). Reads shorter (200 bp) were discarded and sequences that were likely due to errors and assemble reads which differed by only 2bp were remove using the “pre.cluster” (read denoised) command in Mothur’s platform. UCHIME algorithm was used to identified and removed chimeric sequences and the remaining sequences classified using the SILVA database [27].

2.5 Data analyses and Diversity indices

Data was analysed using two-way ANOVA and Student’s T test using the GraphPad Prism 5 software. P values <0.05 were considered as statistically significant [24]. Diversity indices and PCA analyses were carried out in PRIMER 6.1.18 (Primer-E, Ltd) and Non-parametric analysis was carried out in R software version 3.1.0. [28]. In addition, the prevalence and mean intensity of infection, and the quantitative descriptors of the magnitude

and the parasite richness, as a community descriptor, were ecologically characterized according to Bush et al. [21].

3. Results

3.1 Parasite-fauna community composition analysis

3.1.1 Parasitic structure

All specimens examined were parasitized by at least one parasitic taxon (Table 1). The parasitic Isopod *Rocinela* aff. *australis* (Schioedte & Meinert, 1879), adult states of Digenea, *Brachyphallus crenatus* (Rudolphi, 1802; Odhner, 1905), *Derogenes varicus* (Müller, 1784; Loos, 1901), *Neolepidapedon* sp. (Manter, 1954), *Gonocerca* sp. (Manter, 1925), *Lecithochirium* sp. (Lühe, 1901) and the nematode *Hysterothylacium* sp. (Ward and Magath, 1917), were identifications and classified to genera or species levels. Furthermore, larval stages of the cestode *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802), and of the nematodes *Anisakis* sp. (Dujardin, 1845) and *Pseudoterranova* sp. (Mozgovoi, 1953) were detected. The presence of protozoa was not detected in the digestive tubes analysed.

Table 1. Status, Prevalence (P), Mean abundance of infection (AM) and parasite collection site of specimens of *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile

Parasite	Adult/larva	P (%)	MA	Site
ISOPODA				
<i>Rocinela</i> aff. <i>australis</i>		2.12	0.02	Skin/mucus
NEMATODA				
<i>Anisakis</i> sp.	L	100	29.17	Stomach, Gut
<i>Pseudoterranova</i> sp.	L	19.14	0.51	Stomach, Gut
<i>Hysterothylacium</i> sp.	A	55.31	3.61	Stomach, Gut
TREMATODA				
<i>Brachyphallus crenatus</i>	A	68.08	10.72	Stomach
<i>Lecithochirium</i> sp.	A	82.97	21.23	Stomach
<i>Derogenes varicus</i>	A	10.63	0.38	Stomach
<i>Neolepidapedon</i> sp.	A	61.7	4.23	Stomach, Gut
<i>Gonocerca</i> sp.	A	8.5	0.97	Stomach
CESTODA				
<i>Hepatoxylon trichiuri</i>	L	53.19	1.8	Stomach, Gut

* **P:** prevalence; **MA:** mean abundance; **L:** larvae; **A:** adult.

3.1.2 Parasite-fauna Diversity estimates.

The results showed that *Anisakis* sp. (100%) and *Lecithochirium* (82.9%) present the highest prevalence. Only *R. aff australis*, *Pseudoterranova* sp., *Derogenes varicus* and *Gonocerca* sp., presented a prevalence lower than 50% (Table 1). A total of 3414 parasitic specimens were detected and distributed in 10 taxa. Of these, 1850 corresponded to Plathelminthes (Digenea: 1765; Cestodes: 85) and 156 to Nematodes. Only one arthropod was detected (Table 1). The ecological indices are showed in the Table 2. The Shannon-Wiener and Margalef index were higher in stomach and Pielou (j) and Simpson index in digestive tract.

Table 2. Diversity index (H'), Pielou (j), Simpson (λ) and Margalef index obtained of parasite from *D. eleginoides* captured in waters of the south-central zone of Chile

Index	Stomach	Intestinal tract
Shannon (H')	1.431	1.411
Pielou (j)	0,6514	0,8765
Simpson	0.7016	0.7445
Margalef	0.9923	0.7287

3.2. Total microbial community composition analysis

3.2.1 Analysis of Similarity of Bacterial Communities by DGGE

DGGE profile bands or OTUs were analysed using the Bray–Curtis correlation (Figure 1). Multidimensional scaling (MDS) analysis of the banding pattern, obtained by DGGE, revealed that the sampled shown a high degree of similarity between them (98%). The similarity percentage for stomach was 30% when compared to the samples of tract intestinal, where ANOSIM analysis ($R = 0.40$, $P = 0.0010$) showed that differences between abundance of OTUs were significant. Similar percentages were detected for skin mucus when compared to the sample's intestinal tract and ANOSIM analysis ($R = 0.008$, $P = 0.4670$) showing differences significant. High degree of similarity was observed between the stomach and skin. Not significant differences between abundance of OTUs showed ANOSIM analysis ($R = 0.007$, $P = 0.4620$). These results were consistent with the hierarchical cluster analysis (Bray–Curtis index), which clearly indicated the higher similarity between replicates for both stomach and intestine and skin samples.

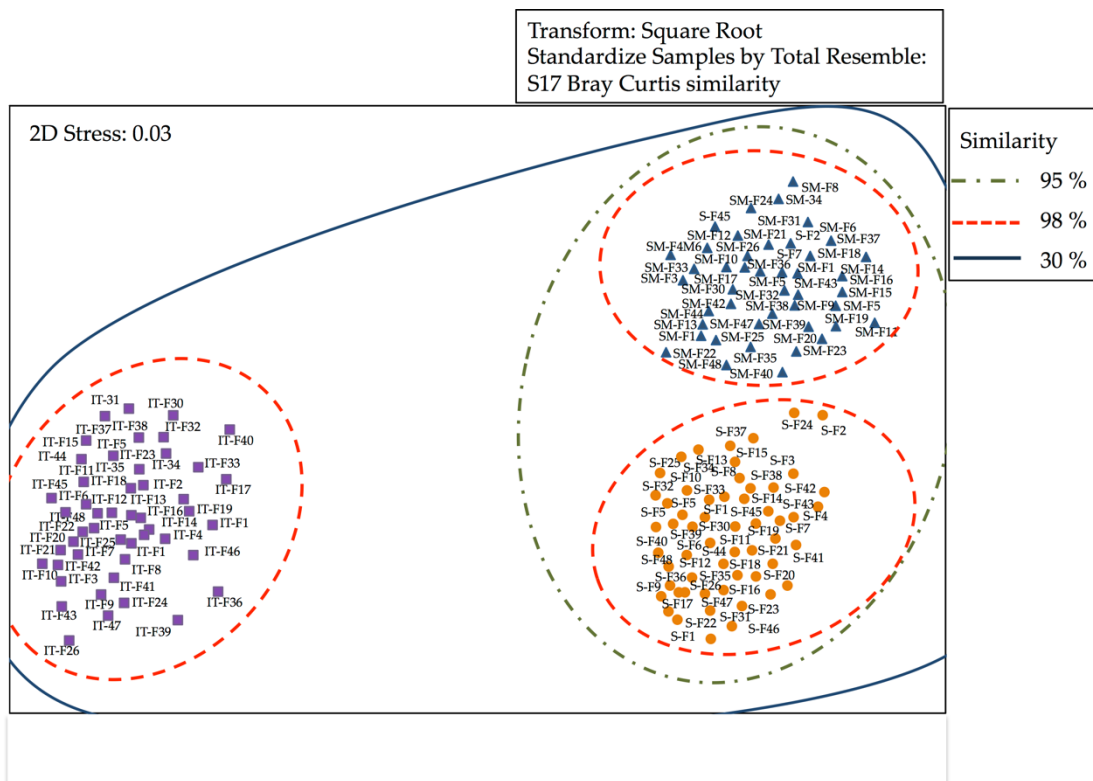


Figure 1. Multidimensional scaling (MDS) of the Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) data matrix of bacteria 16s rRNA from *D. eleginoides*. ● Stomach (S); ▲ Skin mucus (SM); ■ Intestinal tract (IT)

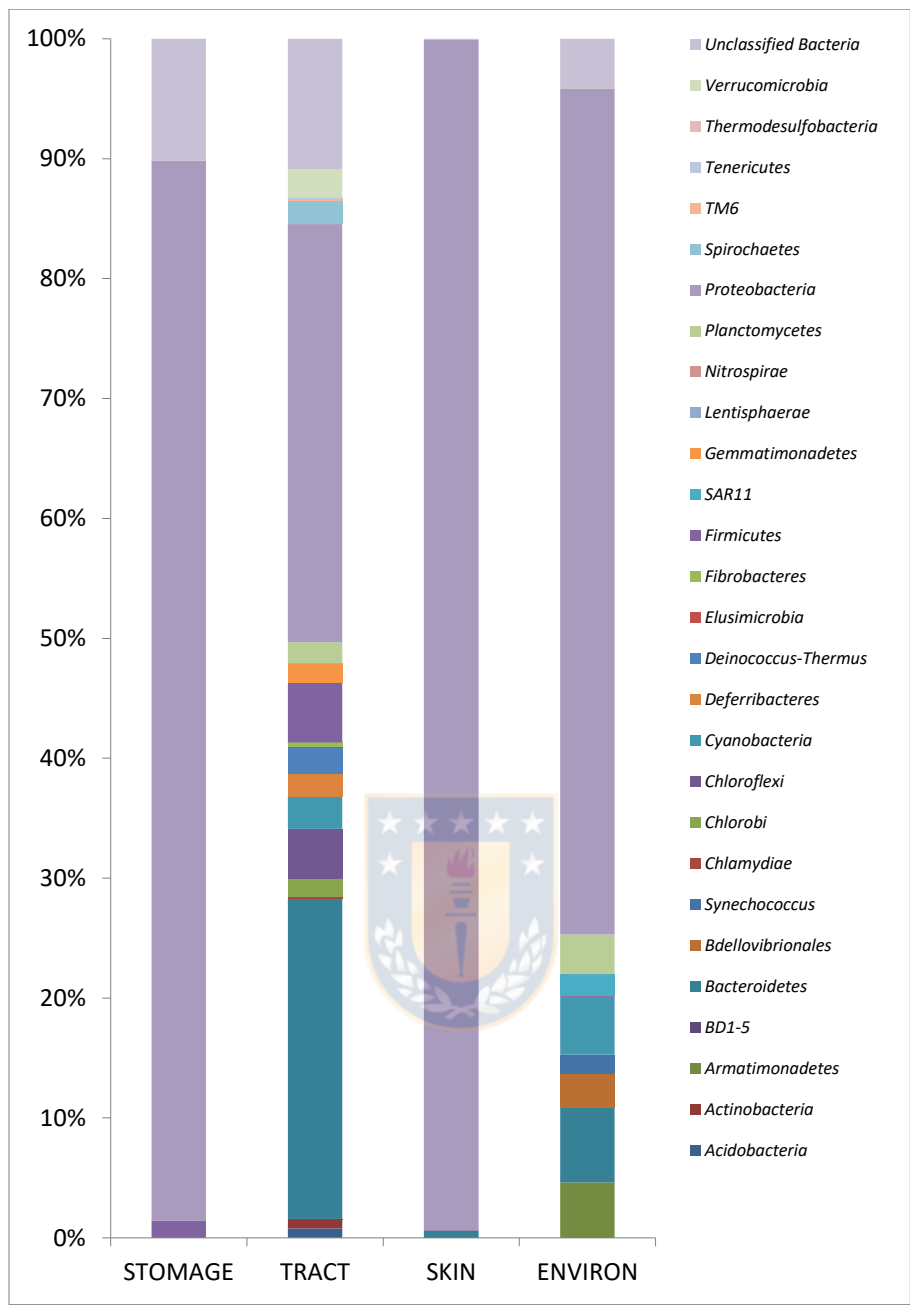


Figure 2. Relative abundance of sequences (percentage) assigned to bacterial and Archaeal phylogenetic groups from Skin, stomach and intestinal

3.2.2. Sequencing data and diversity estimates.

The Illumina-based analysis of the universal V1-V2 region of the 16S rRNA genes for Bacteria and Archaea after quality check within the SILVA database and removing chimeras, 85,210 (99.4%) high quality sequences remained. Skin mucus sample showed the highest number of

quality reads (36.520), and the highest number of OTUs was re-trieved from sample intestinal sample (21,644) (Table 3). Intestinal tract showed the highest's Shannon diversity indexes ($H'=4.515$). Non-parametric Chao1 and ACE es-timators predicted that the highest richness was in intestinal tract, whereas the lowest was in stomach.

3.2.3. Microbial diversity analyses

Retrieved bacterial OTUs were classified in a total of 28 different bacterial phyla, of which *Proteobacteria*, *Firmicutes* and *Bacteriodetes* presented the highest relative abundances of total bacterial OTUs. Intestinal tract was the sample that presented the highest diversity index ($H'=3.834$), where *Proteobacteria* (34.8%), *Bacteriodetes* (27%), *Chlorobi* (1.5%), *Firmicutes* (5%) *Cloroflexi* (4.1 %), *Cyanobacteria* (2.7%), *Deferribacteres* (1.9%), *Deinococcus-Thermus* (2.1%), *Gemmatimonadetes* (1.6%), *Planctomicetes* (2%), *Spirochaeta* (1.9%) were phyla dominant ($\geq 1\%$). The skin mucus harboured the higher percentage of *Proteobacteria* (99 %) and a low percentage *Bacteroidetes* and *Firmicutes* ($<1\%$). *Bacteroidetes* phylum was not detected in stomach samples. Environment samples *Alteromonadales* (50%), *Bdellovibrionales* (10%) and *Rhodobacterales* (32%) were phylogenetic groups with major abundance with abundances relatives and clade SAR11 predominated (30 - 32%) from 20 m to 300 m deep in free-living fraction

Gamma-proteobacteria represented the most abundant *Proteobacteria* class in stomach and skin mucus samples (88.2% and 98.9%, respectively). In Intestine tract were *Alpha-proteobacteria* and *Delta-proteobacteria* the most abundant subclass (14.3% and 11.6%), while *Gamma-proteobacteria* (4.91%) and *Beta-proteobacteria* (2.3%) presented lower percentages of total bacterial OTUs.

Similarly, a highest percentage of *Sphingobacteriia* (10.9%), *Bacteroidia* (6.1%) and *Clostridia* (4.3%) were detected in the Intestine tract. Others OTUs, of dominant taxonomic groups (abundances $\geq 1\%$), were affiliate to *Cytophaga* (3.8%), *Flavobacteria* (1.6%), *Ignavibacteria* (1.4%), *Chloroflexi* (3.2%), *Cyanobacteria* (2.6%), *Deferribacteres* (1.9%), *Deinococci* (2.1%), *Gemmatimonadetes* (1.6%), *Planctomycetacia* (1.3%), *Sphirochaetas* (2.0%), *Opitutae* (1.2 %).

From all samples, 492 genera were retrieved. The highest number of genera was observed in intestinal tract (466), when compared to stomach (22) and skin mucus (60). The dominant bacterial genera (28), present in 1% of the total OTUs least in one of the three samples. A total number of 21 dominant genera ($\geq 1\%$) were retrieved for intestinal tract, 4 for stomach, and 3 for skin mucus. No dominant bacterial genus was ubiquitous in all samples; however, different abundant genera were unique for each sample.

On the other hand, three different *Archaea* phyla, *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* and *Korarchaeota* were retrieved of all samples. However, *Euryarchaeota* was dominant phylum in all samples. In particular, *Methanobacteria* (21.9%), *Methanococci* (9.1%), *Methanomicrobia* (8.2%), *Thermococci* (1.5%) and *Thermoplasmata* (3.7%) were phyla dominant ($\geq 1\%$) in intestinal tract. In the case of the stomach and skin, the relative abundances were very low ($\leq 1\%$ total *Archaea* OTUs).

Table 3. Sequencing information, diversity index (H') and estimator of richness (Chao1 and ACE) obtained after Illumina sequencing

Index	Stomach	Intestinal tract	Skin mucus
Number of high-quality reads	4.131	23.703	20.847
Shannon (H')	0,8837	4,515	0,6971
Dominance_D	0,5921	0,02719	0,6805
Equitability_J	0,2781	0,7211	0,1689
Simpson	0,4079	4,515	0,6971
Margalef	2,862	52	6,14
OTUs at 97% (genetic sim)	3.085	21.644	20.617
Chao1 (TC%)	63	653,1	149,8

4. Discussion

Ecological investigations of Antarctic and subantarctic fish are scarce, from the parasitic and microbiological point of view. The ecology of *D. eleginoides* is characterized by being complex since its life cycle includes several ontogenetic phases. Eastman [29], points out that semi-pelagic juveniles (12-15 cm TL) become demersal reaching 150 to 400 m depth and, after several years, grow to 60-70 cm TL. Later, the adult fish migrate to meso and bathypelagic habitats at depths greater than 1000 m. This situation would determine that throughout its ontogeny, the depth cod would be exposed to being infected with various forms of life, since it presents a high parasitic diversity [10].

Therefore, it is expected that the conformation of the microbiota and parasitofauna of *D. eleginoides*, is due to factors such as the heterogeneity of environments and the occurrence of extensive vertical and horizontal migrations. However, our results show differences, at the level of parasite richness, prevalence, and abundance, with that reported in other study areas [10-13]. This is since *D. eleginoides* is not a panmictic population, probably due to its extensive distribution. There are reports that in the South Atlantic there would be different population structures of the species, whose variations could be influenced by migratory movements between feeding and spawning areas [31-33]. Diverse interactions established within the trophic web and the types of environments, would explain the conformation of its parasite-fauna. On the contrary, *D. eleginoides* from the coast of the Pacific Ocean, would be influenced by the cold Humboldt current, which would generate a stable habitat, with a homogeneous parasitic distribution.

Oliva et al. [15] supports the above by using parasites as biological markers, as a population discriminating tool, suggesting that in the south-central coast of Chile, there is only one stock of *D. eleginoides*. Our results support this hypothesis, since the parasite richness and the prevalence and abundance values are like those previously reported in specimens of *D. eleginoides* captured in Chilean waters, except for the larvae of *Pseudoterranova* sp., not previously reported by Rodríguez & George-Nascimento [14] and Oliva et al. [15]. This could determine the conformation of the microbiota of the specimens examined in this work, although it is necessary to carry out similar studies in populations of *D. eleginoides* that inhabit other geographical locations.

In particular, the conformation of the parasitic fauna and its magnitude in specimens examined in this study, would represent the reflection of the ontogeny (particular) of this population and would contribute to the role of top predator of *D. eleginoides*. In addition, it would determine the structure of the intestinal microbiota, being related to this ecological context, since all the parasites reported in the present study, except *Rocinela* aff. *australis*, were transmitted to the host by consumption of infected prey. Therefore, the quantitative and qualitative variations of these parasitic taxa depend on the rate of encounters between the predator and parasitized prey, that is, on the composition of their diet [34,35].

Murillo et al. [36] indicate that the main prey-items of *D. eleginoides*, captured in three areas of the south-central coast of Chile, were formed mainly by bony fish (Macrouridae and Ophidiidae) and to a lesser extent cephalopod, and only occasionally by Anthozoa and Polychaeta. In this way, although the knowledge of the life cycles of the parasites identified in this study is not sufficiently clarified, the results reported here confirm the participation of *D. eleginoides* as a definitive, intermediate or paratenic host in its occurrence.

Noble [37] and Campbell et al. [34] reported that polychaetes and crustaceans (especially copepods and isopods), would act as intermediate hosts for the Digenea reported in this study, where *D. eleginoides* would participate as the definitive host. Cephalopods could transmit the larvae of nematodes, trematodes and cestodes, while teleost fish could infect *D. eleginoides* with anisakid larvae whose role, as an intermediate and / or paratenic host, could explain the infection of the definitive hosts of these parasites, such as marine mammals and sharks, as potential predators of *D. eleginoides* [38, 14].

At the infra-population level, the diversity and dominance indices determine that the stomach portion is more diverse compared to the intestinal portion (preference of this habitat for Digenea). The occurrence of anisakid larvae in both digestive portions stands out, representing their recognized flexibility to locate in different habitats within the host.

On the other hand, the absence of protozoa in the samples is due to the extensive bathymetric migrations, as well as the extreme conditions in which *D. eleginoides* carries out its trophic life, would interrupt the transmission cycle of these microorganisms [10-13]. This situation also seems to determine a low presence of ectoparasitic taxa in *D. eleginoides* in

general, with *R. aff. australis*, an eventual situation that must be evaluated with more background. On the contrary, the finding of *Pseudoterranova* sp. larvae, the first in specimens of *D. eleginoides* in Chilean waters, is not by chance since this nematode is a generalist parasite described in numerous hosts that inhabit the Chilean coastline [39]. Furthermore, this genus together with *Anisakis* sp. and *H. trichiuri* have been identified as zoonotic, with the ingestion of raw or undercooked fish meat being the cause of human infection [40]. In Chile the genus *Pseudoterranova* has been linked as the most frequent cause of gastric symptoms in parasitized people [41].

Metagenomic analyses of microbial community demonstrated that *Proteobacteria*, *Firmicutes* and *Bacteroidetes* were phyla dominant in our study, agreeing with the results reported by other authors. However, a low bacterial diversity in stomach and skin mucus samples was detected, reducing to the presence of two and one dominant phyla (> 1%), respectively. Some authors have proposed that as skin mucus is constantly in contact with the aquatic environment, hence, the largely synchronized bacteria composition on the skin mucus of the fish and that of the environment. However, recently studies reported by Aguayo et al. [42] showed a higher diversity in sea water of pacific-ocean-south. In relation to the stomach, the distribution of microbial communities in the stomach may also be largely influenced by the type of diet fed by the fish.

Alpha diversity of both stomach and mucosa was significantly low. The stomach of gastric fish is the first part of digestive system where the food is subjected to the influence of hydrolytic enzymes and other chemical agents like hydrochloric acid. It leads to lysis of sensitive bacterial cells and subsequent bacterial DNA degradation. This can directly affect the establishment of the bacterial community either due to low pH (HCl) levels and the hydrolytic activity of proteases [43,44].

The analyses at the intestinal tract level showed a high diversity, agreeing with that reported by Song et al. [45], studying composition of intestinal microbial community of four austral perciformes species, based on 16S rRNA gene sequence through Illumina MiSeq platform. These authors reported that *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Thermi*, and *Bacteroidetes* were the most dominant groups at phylum level. *Firmicutes* and *Bacteroidetes* contribute to carbohydrates and/or proteins fermentation in the intestine to help the host

acquire nutrients from the diet. In the case of the *Archaea* domain, *Crenarchaeote* was the most dominant groups at phylum level. Similar results were reported to Wilkins et al. [46], suggested that shaping factors of Southern Ocean microbial assemblage, and this might suggest that *Crenarchaeota* is related to Antarctic environment.

The high relative abundance of *Gamma-proteobacteria*, *Alpha-proteobacteria* and *Delta-proteobacteria*, suggests a beneficial relationship between the bacterial community and the host, at the gastrointestinal level. Since, bacteria identified are involved in nutrient cycling. In addition, carbon cycling and biodegradative capabilities are wide-spread characteristic within the members of the *Alpha-* and *Gamma-proteobacteria*. These include the *Pseudomonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Vibrionaceae* and the members of the *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* (CFB) clade (*Cytophagaceae*, *Flavobacteriaceae* and *Bacteroidetes*) [47].

Urtubia et al. [9], in specimens of *D. eleginoides* captured Diego Ramirez Archipelago, using culture dependent techniques, reported that *Vibrio* ssp and *Psychrobacter* ssp were most frequently recovered bacterial genera, a gastrointestinal level, instead in our study *Psychrobacter*, bacteria of cold environment, showed a higher relative abundance in skin mucus samples, evidencing that the cold habitat of *D. eleginoides*, selects a “cold tolerant microbiota”, since *Pseudomonas*, which presented a higher relative abundance at the skin level, is also frequently isolated from cold environments.

In general, the influence of water and holding conditions [48], DNA extraction protocols [49], diets [50], high level of intraspecific variation [51], sex [52], length and mass of fish [51], time after feeding [53] and many other factors that are often speculated in studies focused on bacterial communities intestinal. Therefore, it is difficult to explain the variability of the gut microbiota between fish from different geographic regions.

5. Conclusions

This is the first study on parasitology and microbial ecology of a species with economic importance as *D. eleginoides*, contributing to the knowledge about the structure of the microbial and parasitology community of this specie. These data provide evidence that *D.*

eleginoides introduce microbial from the environment and their discontinuous circumpolar geographic distribution can trigger complex interactions between different community, both microbial and parasitic. Therefore, the functional roles of these taxa associated to different *D. eleginoides* niches represent an interest both commercial and ecological.



References

1. Nelson, J.; Grande, T.; Wilson, M. *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey, **2016**.
2. Collins, M.A.; Brickle, P.; Brown, J.; Belchier, M. The Patagonian toothfish: biology, ecology and fishery. *Adv Mar Biol* **2010**, 58: 227-300.
3. Arana, P. Reproductive aspects of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) off southern Chile. *Lat Am J Aquat Res* **2009**, 37(3), 381-394.
4. Sellanes, J.M.; Pedraza-García, J; Zapata-Hernández, G. ¿Las áreas de filtración de metano constituyen zonas de agregación del bacalao de profundidad (*Dissostichus eleginoides*) frente a Chile central? *Lat Am J Aquat Res* **2012**, 40(4), 980-991.
5. Gallardo, P. Antecedentes preliminares del cultivo de bacalao de profundidad (*Dissostichus eleginoides*; Nototheniidae) en la región de Magallanes, Chile. *Ann Inst Patagon (Chile)* **2016**, 44(3), 77-84.
6. Canales, C.; Ferrada-Fuentes, S.; Galleguillos R.; Oyarzún, C. Hernández, R. Population genetic structure of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) in the Southeast Pacific and Southwest Atlantic Ocean. *PeerJ* **2018**, 6, e4173.
7. Sáez, S.; Jaramillo, R. Estudio comparativo de escamas de las líneas laterales y corporales del Bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* (Teleostei: Nototheniidae). *Rev Biol Mar Ocean* **2020**, 55(2), 142-149.
8. Troccoli, G.; Aguilar, E.; Martínez P.; Belleggia M. The diet of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides*, a deep-sea top predator of Southwest Atlantic Ocean. *Polar Biol* **2020**, 43(10), 1595–1604.

9. Urtubia, R.; Gallardo, P.; Cárdenas C; Lavin P.; González-Aravena, M. First characterization of gastrointestinal culturable bacteria of Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae). *Rev Biol Ocean* **2017**, 52(2), 399-404.
10. Gaevskaya, A.B.; Kovaljova, A.A.; Parukhin, A.M, Peculiarities and formation of parasitofauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides*. *Biol Morya* **1990**, 4, 23-28.
11. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Parasites of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, in different parts of the sub-Antarctic. *Pol Biol* **2005**, 28, 663-671.
12. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Variations in the parasite fauna of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898), with length, season, and depth of hábitat around the Falkland Islands. *J Parasitol* **2006**, 92, 282-291.
13. Brown, J.; Brickle, P.; Scott, B.E. The parasite fauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* off the Falkland Islands. *J Helminthol* **2013**, 87, 501-509.
14. Rodríguez, L.; George-Nascimento, M. La fauna de parásitos metazoos del bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces:Nototheniidae) en Chile central: aspectos taxonómicos, ecológicos y zoogeográficos. *Rev Chil Hist Nat* **1996**, 69, 21-33.
15. Oliva, M.; Fernández, I.; Oyarzún, C.; Murillo, C. Metazoan parasites of the stomach of *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898 (Pisces: Notothenidae) from southern Chile: A tool for stock discrimination? *Fish Res* **2008**, 91, 119-122.
16. Oyarzún, C. Catálogo de los peces presentes en el sistema de corrientes de Humboldt frente a Chile centro sur. Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Concepción, 2003. In: <http://www2.udec.cl/~coyarzun/catalogo/Catalogo1.htm>
17. Muñoz, V.; Dorn, L.; Reyes, H. Examen coproparasitológico. Evaluación de algunas modificaciones al método de Burrows (PAF). *Parasitol Día* **1984**, 8, 107-111.

18. Rocka A. Cestodes of the Antarctic fishes. *Polis Pol Res* **2003**, 24, 261-276.
19. Rocka A. Nematodes of the Antarctic fishes. *Polis Pol Res* **2004**, 25, 135-152.
20. Bray R.A.; Gibson, D.I.; Jones, A. (eds.). Keys to the Trematoda. Vol. 3. Wallingford: CABI, **2008**.
21. Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. Parasitology meets ecology on its terms: Margolis et al. revisited. *J Parasitol* **1997**, 83(4), 575-583.
22. Holmes, J.C.; Price, P.W. Communities of Parasites. In: Anderson, D.J. and Kikkawa, J., Eds., Community Ecology: Patterns and Processes, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 187-213, **1986**.
23. Moreno, C.E. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza, **2001**.
24. Guzmán-Fierro, V.; Moraga, R.; León C.G.; Campos V.L.; Smith, C.; Mondaca, M. Isolation and characterization of an aerobic bacterial consortium able to degrade roxarsone. *Int J Environ Sci Technol* **2015**, 12, 1353-1362.
25. Cuevas, J.P.; Moraga, R.; Sánchez-Alonzo, K.; Valenzuela, C.; Aguayo, P.; Smith, C.T.; García, A.; Fernandez, Í.; Campos, V.L. Characterization of the Bacterial Biofilm Communities Present in Reverse-Osmosis Water Systems for Haemodialysis. *Microorganisms* **2020**, 8, 14-18.
26. Campos, V.L.; Valenzuela, C.; Yarza, P.; Kampfer, P.; Vidal, R.; Zaror, C.; Mondaca, M.A.; Lopez-Lopez, A.; Rossello-Mora, R. *Pseudomonas arsenicoxydans* sp. nov., an arsenite-oxidizing strain isolated from the Atacama Desert. *Syst Appl Microbiol* **2010**, 33, 193-197.

27. Herrera, C.; Moraga, R.; Bustamante, B. et al. Characterization of Arsenite-Oxidizing Bacteria Isolated from Arsenic-Rich Sediments, Atacama Desert, Chile. *Microorganisms* **2021**, 9(3), 483. doi:10.3390/microorganisms9030483
28. R Core Team. Foreign: read data stored by Minitab, S, SAS, SPSS, Stata, Systat, Weka, dBase, R package version 0.8–61, **2014**. <http://CRAN.R-project.org/package=foreign>.
29. Schiøedte, J.C.; Meinert, F. Symbolae ad monographiam Cymathoarum Crustaceorum Isopodum familiae. *Natur Tidss* **1879**, 12, 321-414.
30. Eastman, J.T. Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment. Academic Press, San Diego, **1993**.
31. Shaw, P.W.; Arkhipkin, P.W.; Al- Khairulla, H. Genetic structuring of Patagonian toothfish populations in the Southwest Atlantic Ocean: the effect of the Antarctic Polar Front and deep-water troughs as barriers to genetic exchange. *Mol Ecol* **2004**, 13, 3293-3303.
32. Ashford, J.; Jones, C.M.; Hofmann, E.; Everson, I.; Moreno, C.; Duhamel, G.; Williams, R. Can otoliths elemental signatures record the capture site of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*), a fully marine fish in the Southern Ocean. *Can J Fish Aquat Sci* **2005**, 62, 2832-2840.
33. Laptikhovskiy, V.; Arkhipkin, A.; Brickle, P. Distribution and reproduction of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* Smitt around the Falkland Islands. *J. Fish Biol* **2006**, 68, 849-861.
34. Campbell, R.; Haedrich, R.; Munro, T. Parasitism and ecological relationships among deep-sea benthic fishes. *Mar Biol* **1980**, 57, 301-313.
35. Rohde, K. Marine Parasitology. CABI publishing, Wallingford. United Kingdom, **2005**.

36. Murillo, C.; Oyarzún, C.; Fernández, I. Variación latitudinal y estacional en la dieta de *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Perciformes: Nototheniidae) en ambientes profundos de la costa centro-sur de Chile. *Gayana* **2008**, 72(1): 94-101.
37. Noble, E. Parasites and fishes in a deep-sea environment. *Adv Mar Biol* **1973**, 11, 121-195.
38. Carvajal, J. Records of cestodes from Chilean sharks. *J Parasitol* **1974**, 60, 29-34.
39. Torres, P.; Hernández E.; Sandoval, I. Anisakiasis and phocanemiasis in marine fishes from south of Chile. *Int J Zoon* **1983**, 10, 146-150.
40. Madrid, V.; Rivera, A.; Fernández, I. Prevalencia de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidae) en musculatura de merluza chilena, *Merluccius* sp. comercializada en Concepción, Chile, en distintos períodos. *Parasitol Latinoam* **2016**, 65(4), 27-31.
41. Torres, P.; Jercic, M.; Weitz, J.; Dobrew, K.; Mercado, R. Human pseudoterranovosis, an emerging infection in Chile. *J Parasitol* **2007**, 93(2), 440-443.
42. Aguayo, P.; Campos, V.L.; Henríquez, C.; Olivares, F.; De la Iglesia, R.; Ulloa, O.; Vargas, C.A. The Influence of pCO₂-Driven Ocean Acidification on Open Ocean Bacterial Communities during A Short-Term Microcosm Experiment in the Eastern Tropical South Pacific (ETSP) off Northern Chile. *Microorganisms* **2020**, 8, 1924.
43. Solovyev, M.M.; Izvekova, G.I.; Kashinskaya, E.N.; Gisbert, E. Dependence of pH values in the digestive tract of freshwater fishes on some abiotic and biotic factors. *Hydrobiology* **2018**, 807(1), 67-85, DOI 10.1007/s10750-017-3383-0.
44. Ikeda-Ohtsubo, W.; Brugman, S.; Warden, C.H.; Rebel, J.M.J.; Folkerts, G.; Pieterse, C.M.J. How can we define optimal microbiota?: a comparative review of structure and functions of microbiota of animals, fish, and plants in agriculture. *Frontiers in Nutrition* **2018**, 5, 90, DOI 10.3389/fnut.2018.00090

45. Song, W.; Li, L.; Huang, H.; Jiang, K.; Zhang, F.; Chen, X.; Zhao, M.; & Ma, L. The Gut Microbial Community of Antarctic Fish Detected by 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *BioMed Res Int* **2016**, 3241529. In: <https://doi.org/10.1155/2016/3241529>
46. Wilkins, D.; van Sebille, E.; Rintoul, S.; Lauro, F.; Cavicchioli, R. Advection shapes Southern Ocean microbial assemblages independent of distance and environment effects. *Nat Commun* **2013**, 4, 2457, In: <https://doi.org/10.1038/ncomms3457>
47. Nurul, A.; Muhammad, D.D.; Okomoda, V.T.; Nur, A.A. 16S rRNA-Based metagenomic analysis of microbial communities associated with wild *Labroides dimidiatus* from Karah Island, Terengganu, Malaysia. *Biotech Rep* **2019**, Mar, 21:e00303. DOI: 10.1016/j.btre.2019.e00303.
48. Dehler, C.E.; Secombes, C.J.; Martin, S.A.M. 2017. Environmental and physiological factors shape the gut microbiota of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* **2017**, 467, 149-157.
49. Kashinskaya, E.N.; Andree, K. Simonov, E.P.; Solovyev, M.M. DNA extraction protocols may influence biodiversity detected in the intestinal microbiome: a case study from wild Prussian carp, *Carassius gibelio*. *FEMS Microbiol Ecol* **2017**, 93, 1-14, DOI 10.1093/femsec/fiw240.
50. Ringø, E.; Zhou, Z.; Vecino, J.L.G.; Wadsworth, S.; Romero, A.; Krogh, R.E.; Olsen, A.; Dimitroglou, A.; Foey, S.; Davies, M.; Owen, H.L.; Lauzon, L.L.; Martinsen, P.; De Schryver, P.; Bossier, P.; Sperstad, S.; Merrifield, D.L. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story? *Aquaculture nutrition* **2016**, 22(2), 219-282, DOI 10.1111/anu.12346
51. Vasemägi, A.; Visse, M.; Kisand, V. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish. *mSphere* **2017**, 2:e00418-17, DOI 10.1128/mSphere.00418-17.

52. Bolnick, D.; Snowberg, L.; Hirsch, P.; Lauber, C.L.; Org, E.; Parks, B.; Lusi, A.J.; Knight, R.; Caporaso, J.G.; Svanbäck, R. Individual diet has sex-dependent effects on vertebrate gut microbiota. *Nat Commun* **2014**, *5*, 4500, <https://doi.org/10.1038/ncomms5500>

53. Zhang, Z.; Li, D.; Refaey, M.M.; Xu, W. High spatial and temporal variations of microbial community along the southern catfish gastrointestinal tract: insights into dynamic food digestion. *Front Microbiol* **2017**, *8*, 1531 DOI 10.3389/fmicb.2017.01531.



CAPÍTULO IV

FIRST RECORD OF *ROCINELA* AFF. *AUSTRALIS* (ISOPODA, AEGIDAE) IN THE PATAGONIAN TOOTHFISH *DISSOSTICHUS ELEGINOIDES* (PISCES, NOTHOTENIDAE) FROM SOUTHERN CHILE

Italo Fernández¹, Patricio de Los Ríos-Escalante^{2,3}, Marco A. Retamal⁴, Ariel Valenzuela⁴,
Ciro Oyarzún⁴, Víctor Campos¹.

(1) Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

(2) Departamento de Ciencias Biológicas y Químicas, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile

(3) Núcleo de Estudios Ambientales, UC-Temuco, Chile

(4) Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile

* Corresponding author; e-mail: itfernan@udec.cl

Abstract

An isopod of the family Aegidae, provisionally referred to as *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879, is reported from the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, from off the Biobio region, Chile. One specimen was collected, its body suboval, symmetrical, the dorsum weakly vaulted, stout, and with a few pits on the body. The specimen collected clearly belongs to the genus *Rocinela* and within that genus would most closely resemble *Rocinela australis*, but its actual specific status, whether an established species of the genus (and if so, which one) or possibly proving to be an as yet undescribed species, will have to await close examination by a specialist in marine isopod taxonomy. For the time being, we refer to the specimen as “*Rocinela* aff. *australis*”, since, compared with existing *Rocinela* spp., it matches best with that species both in general morphology and in geographical occurrence. This species, then, was reported until now only for the Strait of Magellan, Magellan region, and the southern Argentinean Atlantic coast. Thus, if the specimen would prove to really belong to *Rocinela australis*, then this report would constitute the most northern record of that species.



Introduction

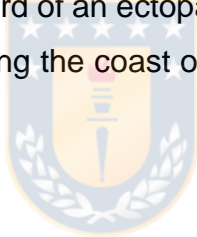
In the marine environment, Isopoda are important constituents of the invertebrate fauna. In this ecosystem, the influence of isopods can be substantial at various levels, especially considering their different roles in the marine food webs (Riseman & Brusca, 2002). For example, members of the family Aegidae, *Aega* Leach, 1815 with eight species, *Aegapheles* Bruce, 2009 with seven species, *Aegiochus Bovallius*, 1885 with 16, *Epulaega* Bruce, 2009 with two, *Rocinela* Leach, 1818 with nine, and *Syscenus* Harger, 1880 with five species (cf. Bruce, 2009), are recognized as temporary predators or parasites of fish (Brusca & Iverson, 1985).

Within the Aegidae, the genus *Rocinela* Leach, 1818, comprises species with a cosmopolitan distribution, but that are only scarcely reported. According to Brusca & France (1992), species of *Rocinela* are distinguished from all other aegid genera by the gradually tapering lateral body margins, a 2- or 3-articulate maxillipedal palp, normal (unexpanded) antennal peduncles, a small frontal lamina and broadly expanded clypeus region, a small free

labrum and an elongate first article of the mandibular palp. To determine interspecific differences, the most useful characteristics are the shape of the frontal margin and frontal lamina, the pereopodal armature, and the shape and armature of the uropods. However, the same authors (Brusca & France, 1992) point out that the species of *Rocinela* are little known, due to the scarcity of collected specimens and the fact that most of their descriptions date from before 1905.

The Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, known also as Chilean sea bass, constitutes an important human resource in southern fisheries. This species is distributed along the continental slope up to the Diego Ramirez Islands at depths of 80-2500 m (Rodríguez & George-Nascimento, 1996; Murillo et al., 2008; Oliva et al., 2008; Collins et al., 2010).

With the aim of providing information about the taxonomic composition of the parasites found on and in *D. eleginoides*, the record of an ectoparasitic crustacean of the isopod genus *Rocinela* in *D. eleginoides* captured along the coast of central-south of Chile, was noted and is here reported.



Material and methods

During the legally determined fishing period, i.e., between May and September 2018, from a location at 37°10'S 74°15'E (mean depth: 920 m), three *Dissostichus eleginoides* were captured and sent to the Pisciculture and Aquatic Pathology Laboratory (University of Concepcion). A subsequent necropsy of the captured fish revealed the presence of one specimen of ectoparasitic isopod, adhered to the right branchial arch of one of the specimens. The parasite was fixed in absolute ethanol and sent first to the Parasitology Laboratory (University of Concepcion), and next to the Biological and Chemical Sciences Department (Catholic University of Temuco) for identification according to the descriptions given in Richardon (1898), Schiøedte & Meinert (1879), Brusca & France (1992), and Bruce (2009). The specimen is now kept in the laboratory of Prof. Patricio De los Ríos-Escalante (Catholic University of Temuco).

As regards the description, we have been able to acquire two general photographs of the specimen's habitus (see fig. 1). However, as we are not taxonomists, we had no facilities to make taxonomically adequate line drawings. Accordingly, our figures had to be restricted to "field sketches" that are sufficient for our ecological purposes, but cannot be used to verify any morphological details in a taxonomic sense (as apparent from fig. 2).



Fig. 1. The specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schicødte & Meinert, 1879, collected from *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, and examined in the present study: left, dorsal view; right, ventral.

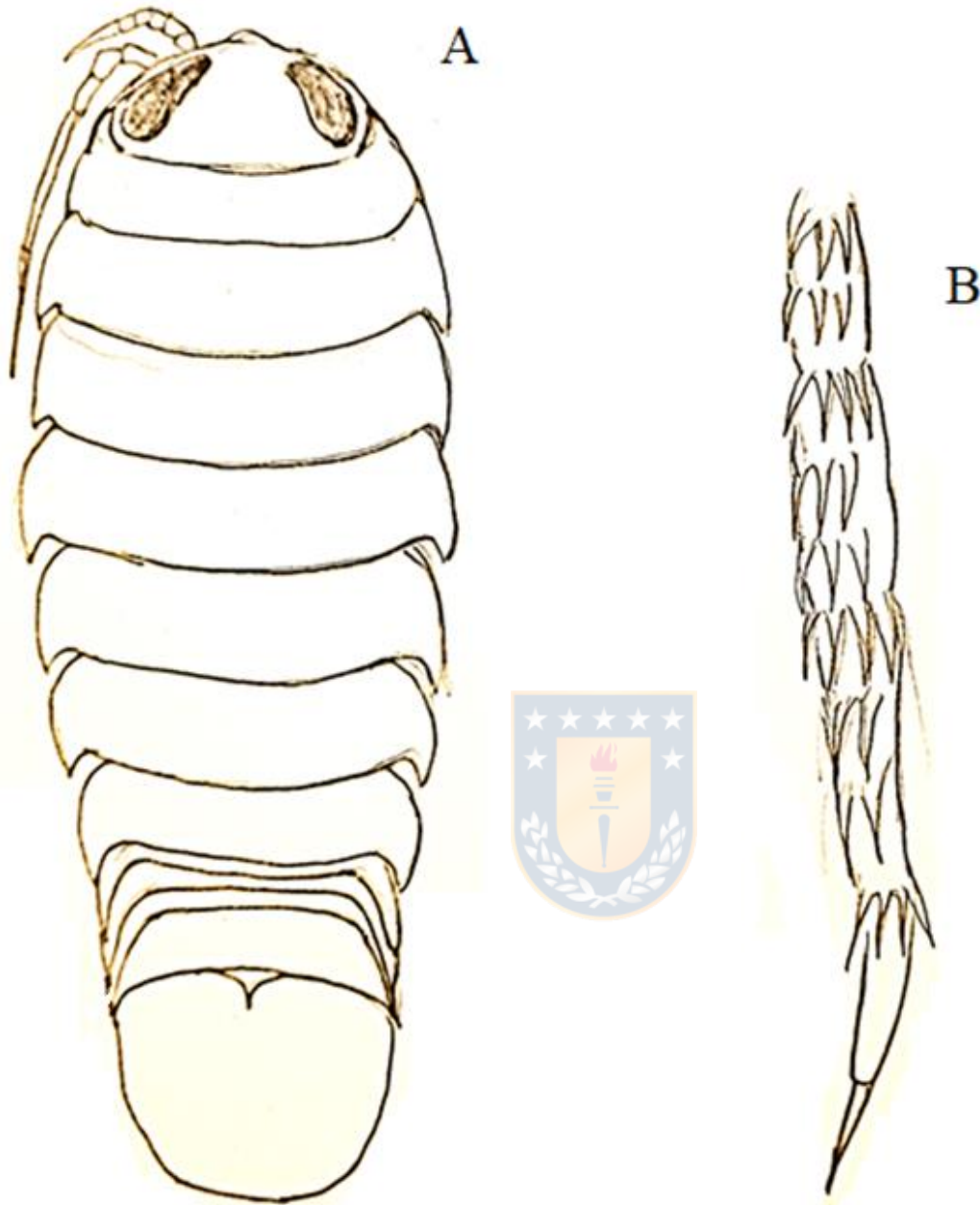


Fig. 2. Crude field sketches of some morphological aspects of the specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879 examined in this study: A, dorsal view; B, first pereopod; C, third pereopod; D, pleopod representative of pleopods I-IV; E, pleopod representative of pleopods V-VI; F, maxilliped representative of maxillipeds I-III; G, mandible.

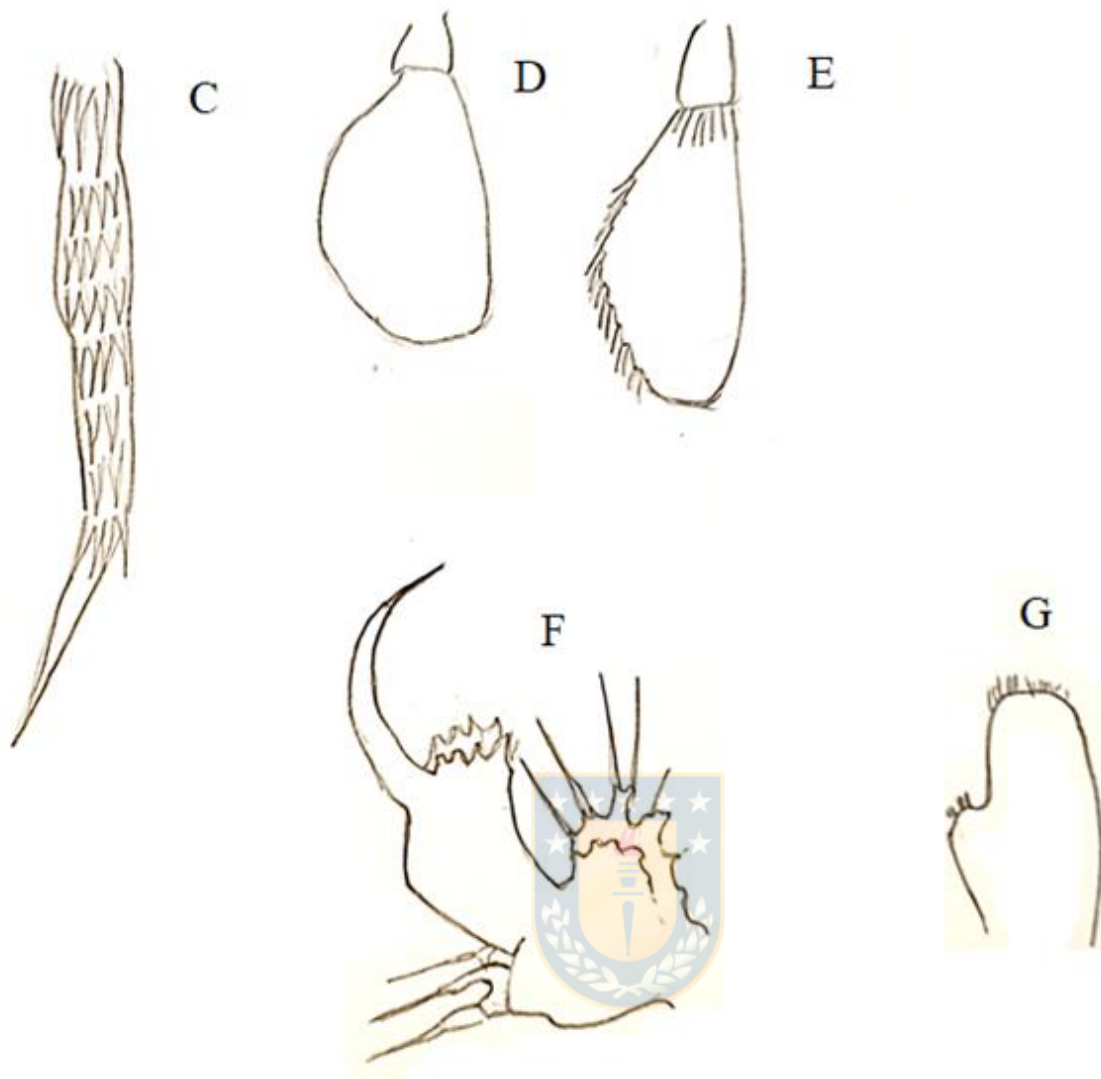


Fig. 3. Crude field sketches of some morphological aspects of the specimen of *Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879 examined in this study: C, third pereopod; D, pleopod representative of pleopods I-IV; E, pleopod representative of pleopods V-VI; F, maxilliped representative of maxillipeds I-III; G, mandible.

***Rocinela* aff. *australis* Schiøedte & Meinert, 1879 (figs. 1-2-3)**

Material examined

One specimen, sex not determined, body 45 mm long, 18 mm greatest width; from 37°10'S 74°15'E, off Biobio Region, Chile, average depth ca. 920 m; on right branchial arch of host *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, caught between May and September 2018.

Provisional, crude description. - Length 45 mm, maximum width 18 mm (figs. 1, left and right, 2A), body 3 times as long as wide, widest at pereonite 4, sub-oval, symmetrical, dorsum weakly vaulted, stout, and with few pits on the body. Cephalon 3 times as wide as long, anteriorly somewhat triangular, slightly constricted margin posterior to eyes, posterior margin smooth, anterior margin rounded. Eyes very large, separated by less than one eye-width. First pair of antennae with six segments (fig. 2A). Mandible lacking lacinia mobilis, molar process reduced (fig. 2G). Terminal articles of maxillipeds with stout, recurved setae, palp of maxillipeds with two articles (fig. 2F).

Pereon broad, convex, individual pereonal somites much wider than long, pereon with seven distinct, separated pereonites. Angles of first pereonite extended forward below eye for less than one eye length. Pereiopods prehensile. Propodi of pereopods I-III large, broad, with four to six acute spines, dactyli of pereopods I-III longer than propodi, meri of pereopods I with three large spines (fig. 2B), meri of pereopods III with four spines in total, 1 spine in sub-basal position (fig. 2C).

Pleon with six fully separated somites including pleotelson counted as one unit. Pleotelson subequal to, or slightly narrower than, width of pleonite 5. Dorsal integument of pleotelson largely depressed except for antero-dorsal rim (fig. 1, left). Pleopods generally similar, fourth and fifth pair not operculiform (figs. 2D, E).

Uropodal rami flattened, fan-like. Uropods in plane of pleotelson. Medial angle of uropodal peduncle extending over less than 50% but more than 40% length of endopod; lateral margins of pleonite 5 ending in acute posterior points.

The described specimen was preserved; its colour was white after two years in ethanol 96 %.

Remarks

First of all, the above description is not meant to present a set of taxonomically useful characters at species level, but only serves to justify the choice of the genus in which the species represented by our unique specimen is supposed to belong. The description should, however, suffice for a characterization of the isopod in the local, pelagic ecosystem.

Marine parasitic isopods are frequent in warm waters, although relict species such as *Rocinela australis* were reported for cold and temperate waters (Brusca & France, 1992). While within the life cycle of these species there are free-living stages, they can directly contact their eventual hosts to feed, being opportunistic and apparently not presenting specificity for any species of fish in particular (Wing & Moles, 1995). Brusca & France (1992) point out that isopods of the genus *Rocinela* are temporary ectoparasites that feed on the host's blood and mucus and are later shed off their temporary host. However, the close association of the parasite with the tissue can cause significant damage to the host. In this regard, it has been reported that parasitizations by species of *Rocinela* have caused lesions and predisposition to secondary infections (Wing & Moles, 1995; Cavalcanti et al., 2012). Thus, this type of ectoparasites, being intermittent feeders, will generate such damage to the host that its growth rate, and thus its production, will be affected (Bunkley-Williams & Williams, 1998; Lester, 2005).

The scarce previous reports available about *R. australis* establish its distribution mainly in the Strait of Magellan (Schicødte & Meinert, 1879), which is confirmed by more recent literature (Ortmann, 1911; Menzies, 1962; Brandt, 1991; Espinoza-Pérez & Hendrickx, 2006; Bruce, 2009). Nevertheless, González et al. (2008) do not mention this species, but Muñoz & Olmos (2007) reported the genus *Rocinela* as a parasite of Chilean marine fishes, specifically *Sebastes capensis* (Gmelin, 1789) in the Antofagasta region (Oliva & González, 2004; González & Poulin, 2005).

The literature about the parasitic fauna of *D. eleginoides* at other latitudes (Parukhin & Lyadov, 1982; Gaevskaya et al., 1990; Hamilton, 1995; Brickle, 2003; Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2013), and the Chilean seas, allow to denote that the present study is the first report of *R. aff. australis* on *D. eleginoides*. If it is correct that *D. eleginoides* is distributed off the central-south of Chile (Espinoza-Perez et al., 2009), the results would agree with the original descriptions in the literature. Nevertheless, given the fact that only the present specimen has been found, of which the identity still must remain uncertain, and also in view of the few other reports on *R. australis*, we believe that it is not possible to use this species as an eventual biomarker, nor to discuss its possible zoogeographic affinities with the total of the Chilean fauna.

Dissostichus eleginoides being an important fishery resource, we intend to continue parasitological studies of this host, which we hope will contribute to clarify the occurrence as well as the ecological role of *Rocinela* spp. in the local ecosystem.

Acknowledgements

The present study was funded by projects VRID N° 216.036.043-1.0IN (University of Concepcion), and MECESUP UCT 0804 (Catholic University of Temuco).

Also, the authors express their gratitude to professor Jesser Fidelis for his assistance in specimen identification, to two anonymous reviewers, as well as to M.I. and S.M.A., for their valuable suggestions for improving the manuscript.



References

1. Brandt, A. Zur Besiedlungsgeschichte des antarktischen Schelfes am Beispiel der Isopoda (Crustacea, Malacostraca). *Ber. Polarforsch. (Bremerhaven)* **1991**, 98, 1-240.
2. Brickle, P. The parasite ecology of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898): 1-211. (Ph.D. Thesis, Aberdeen University, Aberdeen, Scotland, U.K.), **2003**
3. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Parasites of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, in different parts of the sub-Antarctic. *Pol Biol* **2005**, 28, 663-671.
4. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Variations in the parasite fauna of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898), with length, season, and depth of hábitat around the Falkland Islands. *J Parasitol* **2006**, 92, 282-291.
5. Brown, J.; Brickle, P.; Scott, B.E. The parasite fauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* off the Falkland Islands. *J Helminthol* **2013**, 87, 501-509.
6. Bruce, N.L. The marine fauna of New Zealand: Isopoda, Aegidae (Crustacea). *NIWA Biodiv Mem* **2009**, 122, 1-252.
7. Brusca, R.D.; France, S.C. The genus *Rocinela* (Crustacea: Isopoda: Aegidae) in the tropical Eastern Pacific. *Zool J Linnean Soc* **1992**, 106, 231-275.
8. Brusca, R.D.; Iverson, E.W. A guide to the marine isopod Crustacea of Pacific Costa Rica. *Rev Biol Trop* **1985**, 33, 1-77.
9. Bunkley-Williams, L.; Williams, E.H. Isopods associated with fishes: a synopsis and corrections. *J Parasitology* **1998**, 84(5), 893-896.
10. Cavalcanti, E.T.S; Nascimento, S.K.S; Barros, N.H.C; Chellappa, S. Occurrence of the isopod parasite *Rocinela signata* (Isopoda: Aegidae) on marine fish *Sparisoma frondosum* (Osteichthyes: Scaridae). *J Mar Biol Assoc UK* **2012**, 5(1), 1-4.

11. Collins, M.A.; Brickle, P.; Brown, J.; Belchier, M. The Patagonian toothfish: biology, ecology and fishery. *Adv Mar Biol* **2010**, 58: 227-300.
12. Espinoza-Pérez, M.C.; Hendrickx, M.E. A comparative analysis of biodiversity and distribution of shallow-water marine isopods (Crustacea: Isopoda) from Polar and temperate waters in the East Pacific. *Belgian J Zool* **2006**, 136, 219-247.
13. Espinoza-Pérez, M.C.; Hendrickx, M.E.; Morrone, J.J. Identification of generalized tracks for the species of Isopoda (Peracarida) from Eastern Pacific. *J Crust Biol* **2009**, 29: 224-231.
14. Gaevskaya, A.B.; Kovaljova, A.A.; Parukhin, A.M, Peculiarities and formation of parasitofauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides*. *Biol Morya* **1990**, 4, 23-28.
15. González, E.R.; Haye, P.A.; Balanda, M.J.; Thiel, M. Lista sistemática de peracáridos de Chile (Crustacea, Eumalacostraca). *Gayana* **2008**, 72, 157-177.
16. González, M.T.; Poulin, R. Nested patterns in parasite component communities of a marine fish along its latitudinal range on the Pacific coast of South America. *Parasitol* **2005**, 131:1-9.
17. Hamilton, H.F. A preliminary parasite survey of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898) from the Falkland Islands with a view to differentiation of stocks in the Antarctic: 1-49. (M.Sc. Thesis, Aberdeen University, Aberdeen, Scotland, U.K.), **1995**.
18. Lester, R.J.G. Isopoda (Isopods). In: K. Rhode (ed.), Marine parasitology: 138-144. (CSIRO Publishing, Canberra, ACT, Australia), **2005**.
19. Menzies, R.J. The zoogeography, ecology, and systematics of the Chilean marine isopods. Reports of the Lund University Chile Expedition 1948-49, 42. *Lunds Universitets Årsskrifter* **1962**, 57, 1-162.

20. Muñoz, G.; Olmos, V. Revisión bibliográfica de especies ectoparásitas y hospedadoras de sistemas acuáticos de Chile. *Rev Biol Mar Ocean* **2007**, 42, 89-148.
21. Murillo, C.; Oyarzún, C.; Fernández, I. Latitudinal and temporal variation in the diet of *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Perciformes: Nototheniidae) deep environments of the south and center coast of Chile. *Gayana* **2008**, 72, 94-101.
22. Nelson, J.T.; Grande, T.C.; Wilson, V.H. Fishes of the world. (John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey), **2016**.
23. Oliva, M.; Fernández, I.; Oyarzún, C.; Murillo, C. Metazoan parasites of the stomach of *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898 (Pisces: Notothenidae) from southern Chile: A tool for stock discrimination? *Fish Res* **2008**, 91, 119-122.
24. Oliva, M.E.; González, M.T. Metazoan parasites of *Sebastes capensis* from two localities in northern Chile as tools for stock identification. *J Fish Biol* **2004**, 64, 170-175.
25. Ortmann, A.E. Crustacea of southern Patagonia. Reports of the Princeton University Expeditions to Patagonia, 1896-1899. *Zool* **1911**, 3, 635-667.
26. Parukhin, A.M.; Lyadov, V.N. Helminth fauna of food Nototheniidae fishes from Kerguelen region. *Ekol Morya Kiev* **1982**, 10, 49-57.
27. Richardson, H. Description of four new species of "*Rocinela*", with a synopsis of the genus. *Proc American Phil Soc* **1898**, 37, 8-17.
28. Riseman, S.F.; Brusca, R.C. Taxonomy, phylogeny and biogeography of *Politolana* Bruce, 1981 (Crustacea: Isopoda: Cirolanidae). *Zool J Linn Soc* **2002**, 134, 57-140.
29. Rodríguez, L.; George-Nascimento, M. La fauna de parásitos metazoos del bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces:Nototheniidae) en Chile central: aspectos taxonómicos, ecológicos y zoogeográficos. *Rev Chil Hist Nat* **1996**, 69, 21-33.

30. Schiøedte, J.C.; Meinert, F. Symbolae ad monographiam *Cymathoarum Crustaceorum* Isopodum familiae. *Natur Tidss* **1879**, 12, 321-414.

31. Wing, B.L.; Moles, D.A.; Behavior of *Rocinela angustata* (Isopoda, Aegidae), an ectoparasite of Alaskan marine fishes. *J Aquat Anim Health* **1995**, 7, 34-37.



CAPÍTULO V

INCREASE IN FISH ANISAKIDOSIS IN WATERS OF THE SOUTH CENTRAL COAST OF CHILE. RISK TO HUMAN HEALTH: PROBLEMS AND CHALLENGES.

Italo Fernández¹, Pilar Suárez-Roa¹, Jennyfer Rivas¹, Verónica Madrid¹, Víctor Campos¹.
Biomedical Journal of Scientific & Technological Research (aceptado)

(1) Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

* Corresponding author; e-mail: itfernan@udec.cl



Abstract

Human anisakidosis is a food-borne zoonosis, caused by the ingestion of fish meat parasitized by anisakid nematodes. Various investigations document an increase in the prevalence and intensity of infection by these parasites in commonly consumed fish, which represents a risk to human health. Factors that would favor this increase and the challenges that arise in the future, both at an individual and industrial level, are discussed. The consumption habit of the Chilean population is changing, increasing their preference for foods prepared raw or insufficiently cooked, which implies long-range prophylactic actions.

Keywords: Anisakidosis, zoonosis, fish, Chile.

Abbreviations: L1: First larval stage; L2: Second larval stage; L3: Third larval stage

Introduction

The importance of the consumption of fish meat, as a source of nutrients, for human health is recognized, but an inappropriate way of preparation can cause parasitic infections. This parasitic zoonosis is caused by the intake of the nematode larvae, corresponding to the Anisakidae Family, mainly *Anisakis* (Anisakiosis) and *Pseudoterranova* (Pseudoterranovosis) Genera. These larvae localize in the body cavity and musculature of teleost fish and crustaceans [1,2].

The life cycle of anisakids is complex. Marine mammals (cetaceans and pinnipeds) and piscivorous birds participate as definitive hosts, which harbor the adult stages in their stomachs. After copulation, the fertilized female releases the eggs together with the depositions of the definitive hosts. In marine sediment, inside the parasite egg, the embryo gradually develops L1, L2, and L3. This process has a variable duration that is dependent on water temperature [3]. L3 actively hatch from the egg and, to continue their cycle, they must be ingested by marine invertebrates (eufausiaceans, amphipods, and decapods) that act as intermediate hosts and, by predation, can infect other crustaceans, different species of teleost fish, and the hosts definitive [4]. Additionally, different studies account for the occurrence of Anisakidosis in about thirty species of fish from the coast of Chile [5], highlighting some of the habitual consumption by humans.

In Chile, since the mid-1970s, cases of human Anisakidosis have been reported, with acute gastric symptoms being the most frequent [6,7], mainly affecting adults. The majority of human cases are caused by the infection with *Pseudoterranova* spp. [8-10], due to an increase in the culinary preparations based on raw (or undercooked) fish meat like ceviche, sushi or fried [11], being classified as the major risk factor.

Problematic

Investigations in Chile showed a significant increase in the prevalence and intensity of Anisakidosis infection in fish commonly consumed [12,13]. In particular, this increase has been observed in the hake *Merluccius gayi gayi*, one of the most consumed species [14], reaching, prevalences of over 90%, according to our latest records. In the same way, according to a systematic analysis carried out during 2019 and early 2020 in our laboratory, in fourteen fish species [data not yet published], this same trend was seen -although to a lesser extent- in the patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* and the jack mackerel *Trachurus murphyi*, both species with high consumption and with economic and industrial importance for Chile.

Although the upward trend in the prevalence and intensity of infection could reflect the ontogeny of a particular fish population, it is worth wondering if both climate and ecological changes in the marine environment could influence the life cycle of these parasites. For example, it has been determined that copepods in waters of the central-southern zone of Chile have been altered, increasing in their diversity, abundance, and size in recent years [15]. This would be a consequence of global warming that inhibits the vertical mixing of the water column, cause increase winds, and generates water cooling due to increased upwelling. Therefore, this change implies a greater supply of intermediate hosts for these anisákids, favoring their transmission towards susceptible hosts, especially those that occupy a large area of the water column, such as *M. gayi gayi* or *D. eleginoides*. Also, the progressive enhances in water temperature would favor the faster hatching of the parasite's eggs and, therefore, of the various hosts that participate in the life cycle of this parasitism [16].

Given this trend, the risk of human infection is greater than before. In Chile, the legislation recommends that the fish for human consumption must be previously frozen at a

temperature of $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ as maximum, measured in its thermal center, and must be marketed as free of parasites and their cysts [17]. Although, certainly, it is difficult to enforce it in informal commerce. In fact, an important part of the supply of these fishery resources to the Chilean population is carried out in this way, so that prophylactic measures depend exclusively on the consumer. At the industrial level, the dilemma consists of detecting and extracting these nematodes since the cooking and refrigeration processes are larvicidal but they do not manage to eliminate the larvae, which exposes consumers to allergic Anisakidosis [18], and to a rejection of the product by the consumer if it is found the worm. In Chile, the most widely used detection procedure is the candling or transillumination technique, which consists of visualizing the larvae by placing the pieces of fish meat on a transparent surface at the base of which a light source is projected [19]. Although this technique is simple, fast, and does not cause a significant deterioration in the pieces analyzed, but has low efficacy as it depends on the expertise of the observer [20].

Challenges

The upward trend of Anisakidosis in fish for human consumption confirms that there is a latent risk for the population and raises the need for health education campaigns that disseminate individual prophylaxis measures, such as buying frozen fish and not buying culinary preparations based on raw or insufficiently cooked fish, salted or smoked, since none of these presentations are larvicidal. If fresh fish is eventually purchased, it is advisable to cook it at $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 10 to 15 minutes, a process that allows the larvae to be killed [21]. Likewise, it is suggested to prefer to cook only the epiaxial musculature of the fish, since various investigations show that the larvae are less frequently found in this location [13,14].

Various methods have been evaluated to efficiently detect anisakid parasites [19, 22-26], although some are expensive, complex, and destroy the analyzed pieces. However, the development of methods based on molecular techniques (PCR) constitutes a promising alternative to be established in the fishing industry because they surpass traditional systems in many aspects, above all showing high diagnostic sensitivity [27, 28]. Also, infrared (800 – 1800 nm) methods for the detection of worm in fish meat, without sample loss, have been reported and represent a novel quality control process for the industry [29]. The main challenge, however, is to apply these methods to the different presentations of the fishery

product (different sizes, portions, fresh, frozen or subject to different transformation processes) and, in some way, maintain the standards of quality, safety and cost offered to consumers.

Conclusion

The consumption raw or undercooked products is gaining more followers in Chile every day, for this reason, it is necessary to increase the knowledge of all the species that could potentially participate in the life cycle of anisakids, in order to specify their participation in transmission of these parasites to humans. It is necessary to incorporate new methodology for the detection of anisakids in a massive way, at least at an industrial level in Chile, as it will provide a great advance in the safety of consuming, not only fish meat, but other foods based on other hosts susceptible to these parasites.



References

1. Hochberg, N.; Hamer, D.H. Anisakidosis: Perils of the Deep. *Clin Infect Dis* **2010**, 51, 806-812, doi: 10.1086/656238
2. Torres, P.; Puga, S., Castillo, L.; Lamilla, J.; Miranda, J. Helmintos, myxozoos y microsporidios en músculos de peces comercializados frescos y su importancia como riesgo potencial para la salud humana en la ciudad de Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* **2014**, 46, 83-92, doi: 10.4067/S0301-732X2014000100012
3. Chai, J.Y.; Murrell, K.; Lymbery, A.J. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int J Parasitol* **2005**, 35, 1233-1254, doi: 10.1016/j.ijpara.2005.07.013
4. Klimpel, S.; Palm, H.; Ruckert, S.; Piatkowski, U. The life Cycle of *Anisakis simplex* in the Norwegian Deep (northern North Sea). *Parasitol Res* **2004**, 94(1), 1-9, doi: 10.1007/s00436-004-1154-0
5. Muñoz, G.; Olmos, V. Revisión bibliográfica de especies endoparásitas y hospedadoras de sistemas acuáticos de Chile. *Rev Biol Mar Oceanogr* **2008**, 43(2), 173-245, doi: 10.4067/S0718-19572008000200002
6. Sapunar, J.; Doerr, E.; Letonja, T. Anisakiasis humana en Chile. *Bol Chil Parasitol* **1976**, 31, 79-83, PMID: 1036258
7. Mercado, R.; Torres, P.; Maira, J. Human case of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). *Rev Saúde Pública* **1997**, 31, 178-181, doi: 10.1590/s0034-89101997000200012
8. Mercado, R.; Torres, P.; Muñoz, V.; Apt, W. Human infection by *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) in Chile: report of seven cases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2001**, 96, 653-655, doi: 10.1590/s0074-02762001000500010

9. Mercado, R.; Torres, P.; Gil, L.C.; Goldin, L. Anisakiasis en una paciente portadora de una pequeña hernia hiatal. Caso clínico. *Rev Med Chile* **2006**, 134, 1562-1564, doi: 10.4067/S0034-98872006001200011
10. Weitzel, T.; Sugiyama, H.; Yamasaki, H.; Ramirez, C.; Rosas, R.; Mercado, R. Human infections with *Pseudoterranova cattani* nematodes, Chile. *Emerg Infect Dis* **2015**, 21(10), 1874-1875, doi: 10.3201/eid2110.141848
11. Torres, P.; Jercic, M.; Weitz, J.; Dobrew, K.; Mercado, R. Human pseudoterranovosis, an emerging infection in Chile. *J Parasitol* **2007**, 93(2), 440-443, doi: 10.1645/GE-946R.1
12. George-Nascimento, M. Populations and assemblages of parasites in hake, *Merluccius gayi*, from the southeastern Pacific Ocean: stock implications. *J Fish Biol* **1996**, 48, 557-568, doi: 10.1111/j.1095-8649.1996.tb01452.x
13. Silva, A.; Rojas, M.; Morales, P.; Muñoz, T.; Machuca, A. Anisakid nematodes prevalence in Chilean hake (*Merluccius gayi gayi*) commercialized in the city of Talca, Chile. *Lat Am J Aquat Res* **2020**, 48(1), 136-140, doi: 10.3856/vol48-issue1-fulltext-2300
14. Madrid, V.; Rivera, A.; Fernández, I. Prevalencia de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidae) en musculatura de merluza chilena, *Merluccius* sp. comercializada en Concepción, Chile, en distintos períodos. *Parasitol Latinoam* 2016, 65(4), 27-31, Disponible en URL: https://www.parasitologia.cl/revista_parasitologia_latinoamericana/volumenes/PLA_mayo_2016.pdf
15. Medellín-Mora, J.; Escribano, R.; Schneider, W. Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002-2012) in the central/southern upwelling system of Chile. *Progr Oceanography* **2016**, 142, 17-29, doi: 10.1016/j.pocean.2016.01.005
16. Cubillos, L.; Alarcón, C.; Arancibia, H. Selectividad por tamaño de las presas en merluza común (*Merluccius gayi*), zona centro-sur de Chile (1992-1997). *Inv Mar* **2007**, 35(1), 55-69, doi: 10.4067/S0717-71782007000100005

17. Ministerio de Salud (MINSAL). Reglamento sanitario de los alimentos. Documento N° 977/96. Chile, 2021. Disponible en URL: http://www.dinta.cl/wp-content/uploads/2021/03/RSA-DECRETO_977_96_act-02-02-2021.pdf
18. Falcao, H.; Lunet, N.; Neves, E.; Iglesias, I.; Barros, H. *Anisakis simplex* as a risk factor for relapsing acute urticaria: a case-control study. *J Epidemiol Community Health* **2008**, 62(7), 634-637., doi:
19. Karl, H.; Leinemann, M. A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products. *Arch Lebensmittelhyg* **1993**, 44, 105-128.
20. Levsen, A.; Lunestad, B.; Berland, B. Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *J Food Prot* **2005**, 68(4), 828-832, doi: 10.4315/0362-028X-68.4.828
21. Eiras, J.C.; Pavanelli, G.C.; Takemoto, R.M.; Nawa, Y. Fish-borne nematodiasis in South America: neglected emerging diseases. *J Helminthol* **2018**, 92(6), 649-654, doi: 10.1017/S0022149X17001006
22. Pippy, J. Use of ultraviolet light to find parasitic nematodes in situ. *J Fish Res-Bd Can* **1970**, 27, 963-965, doi: 10.1139/f70-107
23. Leinemann, M.; Karl, H. Untersuchungen zur Differenzierung lebender und toter Nematodenlarven (*Anisakis* sp.) in Heringen und Heringserzeugnissen. *Arch Lebensmittelhyg* **1988**, 39, 133-156.
24. Heia, H.; Sivertsen, A.; Stormo, S.; Elvevoll, E.; Wold, J.; Nilsen, H. Detection of nematodes in cod (*Gadus morhua*) fillets by imaging spectroscopy. *J Food Sci* **2007**, 72(1), E11-E15, doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00212.x
25. Choudhury, G.; Jenks, W.; Wikswo, J.; Bublitz, C. Effects of parasite attributes and injected current parameters on electromagnetic detection of parasites in fish muscle. *J Food Sci* **2002**, 67(9), 3381-3387, doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb09594.x

- 26.** Oh, S.R.; Zhang, Y.C.; Kim, T.I.; Hong, S.J.; Ju, I.S.; Lee, S.H.; Kim, S.H.; Cho, J.I.; Ha, S.D. Inactivation of *Anisakis* larvae in salt-fermented squid and pollock tripe by freezing, salting, and combined treatment with chlorine and ultrasound. *Food Control* **2014**, 40, 46-49, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.11.023
- 27.** D'Amelio, S.; Mathiopoulos, K.D.; Santos, C.P.; Pugachev, O.N.; Webb, S.C.; Picanço, M.; Paggi, L. Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase chain reaction based restriction fragment length polymorphism. *Int J Parasitol* **2000**, 30, 223-226, doi: 10.1016/s0020-7519(99)00178-2
- 28.** Martín-Sánchez, J.; Artacho-Reinoso, M.E.; Díaz-Gavilán, M.; Valero-López, A. Structure of *Anisakis simplex* s.l. populations in a region sympatric for *A. pegreffii* and *A. simplex* s.s. Absence of reproductive isolation between both species. *Mol Biochem Parasitol* **2005**, 141, 155-162, doi: 10.1016/j.molbiopara.2005.02.005.
- 29.** Valby, P.H.; Hvidovre, A.; Helsingor, L.M. Method of detecting worms in meat (Patent No. US005213830A). In United States Patent (No. US005213830A), disponible en URL: <https://www.freepatentsonline.com/5213830.html>

CAPÍTULO VI

ANISAKIDOSIS EN PECES FRESCOS COMERCIALIZADOS EN TRES CIUDADES DE LA REGIÓN DEL BÍO BÍO, CHILE.

Italo Fernández¹, Pilar Suárez-Roa¹, Verónica Madrid¹, Ariel Valenzuela², Alvaro Opazo³, Víctor Campos¹. Revista Chilena de Infectología (enviado)

(1) Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

(2) Laboratorio de Piscicultura y Patología Acuática, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile

(3) Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andres Bello, Concepción, Chile

* Correspondencia a: e-mail: itfernan@udec.cl

Resumen

La anisakidosis humana es una zoonosis transmitida por alimentos, causada por la ingestión de carne de pescado parasitada por nematodos anisákidos. Investigaciones sobre la presencia de anisákidos en pescados comercializados, sin cocción o congelación previa, en la región centro sur de Chile son escasas. El objetivo de este estudio fue identificar nematodos anisakidos en catorce especies de peces marinos, obtenidos por pesca artesanal y comercializada en Concepción, Talcahuano y Lebu, ciudades de la Región del Bío Bío, Chile. Entre el 2018 a 2020, se examinaron en búsqueda de anisákidos a 334 pescados marinos frescos. Se identificó larvas de *Anisakis* sp. y *Pseudoterranova* sp. en ejemplares de siete y cuatro especies de peces, respectivamente. La mayoría de las larvas se encontraron vivas y ubicadas a nivel visceral. La mayoría de las especies de peces que resultaron positivas son reconocidos hospederos intermediarios de estos parásitos. La presencia de anisákidos en la musculatura de estas especies indica que su preparación, en forma ahumada o cruda, es un riesgo para salud pública, recomendándose comprar estos productos en forma eviscerada y/o congelada, junto a promover su cocción.

Palabras clave: Anisákidos, zoonosis, *Merluccius gayi gayi*, *Dissostichus eleginoides*, Chile

Abstract

Human anisakidosis is a food-borne zoonosis, caused by the intake of fish meat parasitized by anisakid nematodes. Research of anisakids parasites in commercialized fish, without previous cooking or freezing, in the south central region of Chile is scarce. The aim of this study was to identify anisakid nematodes in fourteen species of marine fish, obtained by artisanal fishing and commercialized in Concepción, Talcahuano and Lebu, cities from Bío Bío Region, Chile. During 2018 to 2020, we examined for anisakids to 334 fresh marine fishes. Larvae of *Anisakis* sp. and *Pseudoterranova* sp. were identified in specimens of seven and four fish species, respectively. Most of the larvae were found alive and located at the visceral level. Most of the positive fish species are recognized intermediate hosts for these parasites. The presence of anisakids in the musculature of these species indicates that their preparation, in

smoked or raw form, is a risk to public health, and it is recommended to buy these products in gutted and / or frozen form, together with promoting their cooking.

Keywords: Anisakids, zoonosis, *Merluccius gayi gayi*, *Dissostichus eleginoides*, Chile

Introducción

La Anisakidosis es una zoonosis parasitaria producida por el consumo de larvas de nematodos de la Familia Anisakidae, correspondientes principalmente a los géneros *Anisakis* y *Pseudoterranova*, que se localizan en la cavidad corporal y musculatura de peces teleósteos y crustáceos [1]

El ciclo de vida de los anisákidos es heteroxénico y en él participan, como hospederos definitivos, mamíferos marinos (cetáceos y pinnípedos) y aves piscívoras que albergan los estados adultos en su estómago. En este lugar y tras la cópula, la hembra fecundada libera los huevos junto con las deposiciones de estos hospederos. En el sedimento marino, los huevos del parásito paulatinamente desarrollan en su interior larvas de primer (L1), segundo (L2) y tercer estado (L3), proceso de duración variable y que es dependiente de la temperatura del agua. Las L3 salen activamente del huevo aún envueltas en la cutícula de L2 y, para continuar su ciclo, deben ser ingeridas por invertebrados marinos (eufausiáceos, anfípodos y decápodos) que actúan como hospederos intermediarios y, por depredación, pueden infectar a otros crustáceos, diferentes especies de peces teleósteos y a los hospederos definitivos. Además, la depredación entre peces mediante la cadena depredador-presa permite que muchos de ellos actúen como hospederos paraténicos [2,3].

El ser humano se infecta al consumir carne de pescado infectado con L3, crudo o insuficientemente cocido [4], actuando como un hospedador accidental y terminal, ya que el parásito no es capaz de alcanzar la madurez sexual. En Chile desde mediados de los años setenta se han comunicado casos de anisakidiasis humana, vinculados mayoritariamente a infección con larvas de *Pseudoterranova*, siendo el cuadro clínico gástrico agudo el más frecuente y afectando a personas adultas que presentan como factor de riesgo el consumo de pescado crudo a la forma de ceviche, sushi o frito [5-9]. Se ha señalado la ocurrencia de

Anisakidosis en cerca de una treintena de especies de peces de la costa de Chile [10], destacando algunas de consumo habitual por el ser humano.

En la región del Bío Bío, en la última década se ha reportado la prevalencia (P) e intensidad media de infección (IM) de *Anisakis* sp. en *Brama australis* (P=16,8; IM= 1,2) y *Trachurus murphyi* (P=38,7 a 89,0; IM= 2,23 a 4) [11-12]. Así mismo, en una investigación llevada a cabo en nuestro laboratorio [13], se comparó la ocurrencia en diferentes años (2006 y 2012) de Anisakidosis en ejemplares de *Merluccius* sp. comercializados en la ciudad de Concepción, evidenciando un alza de este parasitismo en 2012, tanto en prevalencia como intensidad media de infección (P=72,5; IM=3,13).

Con el fin de conocer antecedentes actualizados y considerando que en las ciudades de Concepción, Talcahuano y Lebu se comercializa una variada oferta de pescados que constituyen hospederos susceptibles de infectarse con estos parásitos, efectuamos esta investigación cuyo objetivo fue determinar la prevalencia y abundancia media de anisákidos en pescados frescos correspondientes a especies comercializadas frecuentemente en estas ciudades de la Región del Bío Bío, Chile.

Materiales y Métodos

Obtención de las muestras

Durante los años 2018 a 2020, ejemplares correspondientes a catorce especies de peces de consumo habitual humano se adquirieron en diferentes puestos de venta formal e informal de las ciudades de Concepción, Talcahuano y Lebu, región del Bío Bío, Chile, con el único requisito de que no se encontrasen eviscerados, es decir, completos y frescos. Los ejemplares fueron llevados al Laboratorio de Parasitología (Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción) para su posterior procesamiento.

Procesamiento de los ejemplares

Los peces recolectados fueron identificados taxonómicamente mediante la observación de características morfológicas consideradas en la bibliografía disponible [14]

registrándose, en cada ejemplar, su peso mediante balanza manual y longitud total (distancia cabeza-aleta caudal), información que fue anotada en una ficha individual.

Posteriormente, se hizo la pesquisa de larvas de anisákidos mediante el examen de vísceras y musculatura de cada espécimen por la técnica de desmenuzamiento según lo efectuado en un estudio anterior [13]. El procedimiento permitió separar dos zonas anatómicas distintas: vísceras y musculatura, tanto epiaxial como hipoaxial, según las definiciones consideradas en la literatura disponible [15]. Desde estas zonas, las larvas fueron aisladas mediante pinzas anatómicas o hisopado directo, anotando el lugar desde donde se encontraron.

Las larvas aisladas, se fijaron mediante alcohol al 70%, diafanizadas en lactofenol de Amman y, posteriormente, se observaron mediante lupa estereoscópica (Zeiss Stemi DRC, 4x) y un microscopio óptico (Motic, BA 310; 10x), procedimiento que permitió corroborar la identificación y filiación a nivel de género correspondientes a nemátodos anisákidos, según las características morfológicas señaladas en bibliografía especializada [16].

Análisis de los datos

Se calculó la prevalencia e intensidad media de infección como descriptores poblacionales de magnitud del parasitismo, según definiciones previamente establecidas [17].

Resultados

En esta investigación se analizó un total de 334 ejemplares, de los cuales nueve de las catorce especies de peces, presentaron larvas de tercer estado de los géneros *Anisakis* y *Pseudoterranova*. Todos los peces estudiados son de consumo habitual para el ser humano y ofrecidas en puntos de venta de las ciudades antes mencionadas. La longitud total y peso de los ejemplares analizados en este estudio se detallan en la Tabla 1, mientras que su procedencia, en la Tabla 2.

Tabla 1. Características biométricas de los pescados analizados en este estudio, y que eran comercializados en la ciudad de Concepción, Talcahuano y Lebu, Chile.

Especie hospedera	N°	Longitud X (cm ± DE) (rango)	Peso X (g + DE) (rango)
<i>Merluccius gayi gayi</i> (“merluza”) Guichenot, 1848	48	34,9 ± 4,4 (24,5 – 46,0)	383,6 ± 109,9 (165,4 – 620,0)
<i>Trachurus murphyi</i> (“jurel”) Nichols, 1920	45	36,1 ± 5,2 (26,5 – 49,0)	540,3 ± 122,1 (258,5 – 800,0)
<i>Mugil cephalus</i> (“lisa”) Linnaeus, 1758	40	45,7 ± 4,6 (37,0 – 54,5)	722,6 ± 327,3 (359,2 – 1404,0)
<i>Brama australis</i> (“reineta”) Valenciennes, 1838	47	31,1 ± 4,6 (22,7 – 41,1)	551,5 ± 181,4 (229,1 – 936,5)
<i>Sebastes oculatus</i> (“vieja”) Cuvier y Valenciennes, 1933	37	21,5 ± 2,4 (17,1 – 28,3)	261,7 ± 42,5 (176,4 – 327,2)
<i>Dissostichus eleginoides</i> (“bacalao”) Smitt, 1898	17	82,5 ± 9,4 (69,3 – 97,0)	2117,9 ± 495,8 (1467,9 – 3000,3)
<i>Eleginops maclovinus</i> (“robalo”) Cuvier y Valenciennes, 1830	22	44,7 ± 5,5 (37,3 – 57,3)	506,8 ± 104,5 (300,4 – 650,6)
<i>Merluccius australis</i> (“merluza austral”) Hutton, 1872	19	44,8 ± 5,1 (37,5 – 57,0)	907,1 ± 206,5 (674,3 – 1376,2)
<i>Cilus gilberti</i> (“corvina”) Abbott, 1899	12	52,7 ± 6,0 (44,6 – 61,7)	2025,6 ± 223,0 (1651,2 – 2400,5)
<i>Thyrstites atun</i> (“sierra”) Euphrasen, 1791	21	66,2 ± 6,9 (52,4 – 79,5)	3175,5 ± 282,1 (2500,9 – 3783,1)
<i>Genypterus chilensis</i> (“congrío colorado”) Guichenot, 1848	9	61,1 ± 10,2 (40,5 – 71,3)	2471,1 ± 547,6 (1549,1 – 3170,2)
<i>Genypterus maculatus</i> (“congrío negro”) Guichenot, 1848	7	48,1 ± 3,9 (43,2 – 55,3)	465,5 ± 67,3 (362,6 – 567,5)
<i>Pinguipes chilensis</i> (“rollizo”) Valenciennes, 1833	6	41,1 ± 4,0 (37,3 – 48,2)	1251,4 ± 340,0 (798,9 – 1789,2)
<i>Aplodactylus punctatus</i> (“jerguilla”) Valenciennes, 1831	4	33,5 ± 4,2 (36,8 – 27,3)	1134,2 ± 165,7 (900,3 – 1267,3)



* N°: número de ejemplares inspeccionados; X: promedio; DE: Desviación estándar

Tabla 2 Procedencia de los pescados comercializados que fueron analizados en este estudio.

Especie Hospedera	N°	Ciudad		
		Concepción	Talcahuano	Lebu
<i>Merluccius gayi gayi</i>	48	48		
<i>Trachurus murphyi</i>	45	40	5	
<i>Mugil cephalus</i>	40	31	9	
<i>Brama australis</i>	47	39		8
<i>Sebastes oculatus</i>	37	37		
<i>Dissostichus eleginoides</i>	17			17
<i>Eleginops maclovinus</i>	22	14	8	
<i>Merluccius australis</i>	19	9	10	
<i>Cilus gilberti</i>	12		12	
<i>Thyrsites atun</i>	21	11	6	3
<i>Genypterus chilensis</i>	9		7	2
<i>Genypterus maculatus</i>	7		5	2
<i>Pinguipes chilensis</i>	6		6	
<i>Aplodactylus punctatus</i>	4		4	

* N°: número total de ejemplares inspeccionados

Nueve especies de peces resultaron parasitadas por larvas del género *Anisakis* y cuatro por larvas de *Pseudoterranova*. Se aprecian distintos valores de prevalencia y Abundancia media según la especie hospedera, destacando que la totalidad de los ejemplares de *Merluccius gayi gayi* y *Dissostichus eleginoides* se encontraron parasitadas por al menos un ejemplar de larva de tercer estado de *Anisakis* sp. (Tabla 3 y Figura 1).

La mayoría de las larvas se encontraron vivas y, en su conjunto, se ubicaron principalmente a nivel visceral, sobre la serosa estomacal, superficie hepática, gónadas o libres en la cavidad abdominal. Sólo en cinco especies de peces se encontró larvas de estos

parásitos a nivel muscular, resultando su ubicación exclusivamente en tejido muscular hipoaxial.

Tabla 3 Prevalencia y Abundancia media de infección por parásitos anisákidos en vísceras y musculatura en nueve especies de pescados comercializados en las ciudades de Concepción, Talcahuano y Lebu, Chile (2018-2020)

Hospedero	<i>Anisakis</i>				<i>Pseudoterranova</i>			
	Vísceras		Musculatura		Vísceras		Musculatura	
	P (%)	AM	P (%)	AM	P (%)	AM	P (%)	AM
<i>Merluccius gayi gayi</i>	100	15,3	68,7	2,1	27,1	3,0	6,25	1,0
<i>Dissostichus eleginoides</i>	100	28,1	58,8	4,4	64,7	2,5	29,4	1,0
<i>Merluccius australis</i>	42,1	1,8						
<i>Cilus gilberti</i>	35,2	2,8	11,7	1	58,3	3,1	33,3	1,0
<i>Trachurus symmetricus</i>	31,1	13,6	13,3	2,5	15,5	2,0	4,4	2,0
<i>Thyrsites atun</i>	19,0	1,25						
<i>Brama australis</i>	17,0	1,8						
<i>Sebastes oculatus</i>	16,2	1,3						
<i>Mugil cephalus</i>	7,5	1,0	2,5	1,0				

* P: Prevalencia de infección; AM: Abundancia media de infección

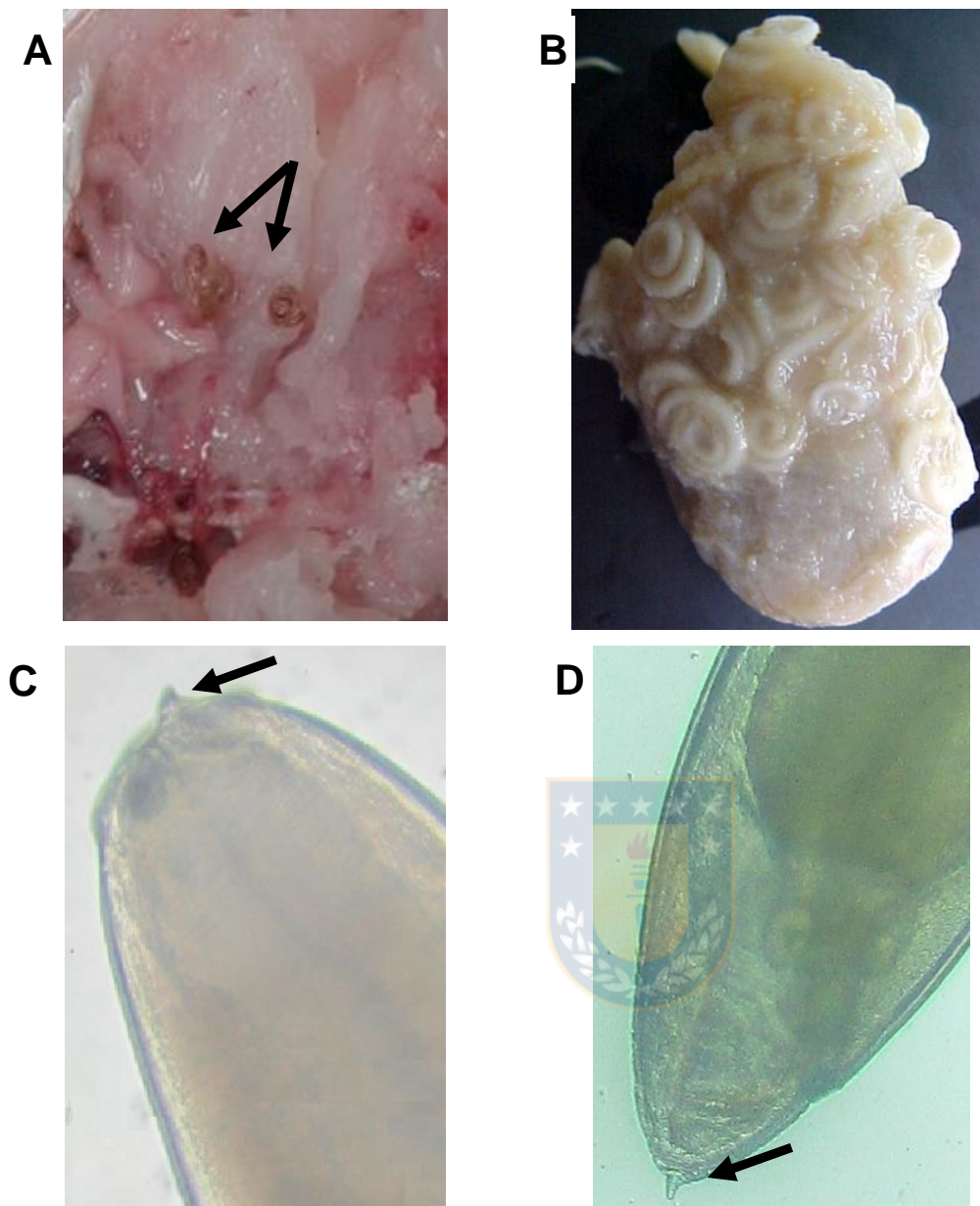


Figura 1 Vistas de ejemplares larvales de *Anisakis* sp., obtenidos en el presente estudio. A) Larvas de *Anisakis* sp. en musculatura de *M. gayi gayi*; B) Masa de mucosa gástrica con numerosos ejemplares de *Anisakis* sp. extraída de *D. eleginoides* C) Vista del extremo anterior mostrando diente perforante (flecha); D) Vista del extremo posterior mostrando mucrón terminal (flecha).

Discusión

Los resultados de nuestra investigación ratifican el rol que cumplen los peces teleósteos como hospederos intermediarios y paraténicos en el ciclo de los parásitos anisákidos, debido a que su dieta la componen principalmente numerosas especies de invertebrados marinos y otros peces susceptibles a parasitarse con estadios larvales de

Anisakis y *Pseudoterranova*. Más allá del número de ejemplares analizados, los resultados de nuestra investigación muestran variabilidad en los valores de prevalencia y abundancia media de infección según la especie hospedera, lo que pudiese relacionarse con el contacto eventual de éstos con los distintos hospederos que participan en el ciclo de vida de estos parásitos. Además, factores tales como la edad, talla, sexo y alimentación de los peces, así como factores ambientales pueden incidir en las variaciones cuantitativas y cualitativas de estos parámetros de infección parasitaria [18]. De todas formas, los valores de prevalencia y abundancia media de infección coinciden, en cierta medida, con lo señalado en la literatura [4,11-13,15].

Es destacable, además, junto con constatar la mayor prevalencia y abundancia media de infección de *Anisakis* sp. en desmedro de *Pseudoterranova* sp., ratificar la tendencia al alza de Anisakidosis observada en *M. gayi gayi* que alcanza un 100 % de prevalencia. Además, esta tendencia también ocurre específicamente a nivel muscular (68,7 %) en comparación con un estudio similar [13]. Destaca, también, la elevada prevalencia e intensidad media en los ejemplares examinados de *D. eleginoides* (P: 100 %; AM: 28,1) cuyas magnitudes coinciden con lo documentado previamente en la costa del Bío Bío [19-20]. En estas especies, así como en *Trachurus murphyi* y *Cilus gilberti* destaca el hecho de encontrar larvas, tanto de *Anisakis* sp. como de *Pseudoterranova* sp., en su musculatura determinando riesgo de anisakidiasis humana por su consumo crudo o insuficientemente cocido.

Si bien, estas situaciones podrían reflejar la ontogenia de una población de peces en particular, cabe preguntarse respecto de la influencia que podrían tener cambios climáticos y ecológicos del ambiente marino sobre el ciclo de vida de estos parásitos. Por ejemplo, se ha determinado que la estructura de tamaños y composición de los copépodos en aguas de la zona centro-sur de Chile se ha alterado en los últimos años, estableciéndose un aumento en su diversidad, abundancia y talla en los últimos años [21]. Esto sería una consecuencia del cambio climático, representado principalmente en el aumento de la temperatura del agua y de la surgencia, alteraciones que implican una mayor oferta de hospederos intermediarios de éstos anisákidos favoreciendo su transmisión hacia hospederos susceptibles, tales como *M. gayi gayi*. Además, el aumento progresivo de temperatura del océano favorecería la eclosión más rápida de los huevos de los parásitos anisákidos y, por lo tanto, las posibilidades de infección de los diversos hospederos que participan en el ciclo de vida de este parasitismo

[22] elevando la prevalencia del parasitismo en aquellas especies que actúan como depredador de tope en la cadena trófica, como por ejemplo *D. eleginoides* [23].

Dado este escenario, es esperable que esta tendencia se sostenga en el tiempo, lo que potencialmente podría manifestarse en un aumento del riesgo de contraer Anisakidiasis humana, por lo que es crucial promover medidas profilácticas que eviten la infección de la población.

En Chile, a nivel de la pesca industrial, el procedimiento de detección más usado es la técnica de candling o Transiluminación que consiste en visualizar las larvas colocando los trozos de carne de pescado sobre una superficie transparente en cuya base se proyecta una fuente de luz. Si bien, esta técnica es simple y rápida presenta una sensibilidad relativa al depender de la pericia del observador. La legislación vigente [24] recomienda que el pescado destinado al consumo humano debe estar sometido previamente a congelación a temperatura de -18°C como máxima, medida en su centro térmico, y comercializarse exento de parásitos y sus quistes. Ciertamente esta medida es practicable en la producción industrial y en el comercio formal, pero difícil de hacerla cumplir en el comercio informal, fuente desde donde un importante segmento de la población adquiere pescados sin este procedimiento profiláctico. Por lo tanto, es en éstos consumidores donde deben focalizarse campañas de educación sanitaria, considerando que los pescados comercializados crudos, eventualmente, presentan larvas vivas, tal como lo demuestran nuestros resultados. De esta forma, es necesario reforzar el hábito de consumir el pescado previa cocción sobre 63°C por 10 a 15 minutos, o bien, congelación rápida a temperaturas inferiores a -20°C durante siete días o -35°C por 24 horas, procedimientos que permiten matar a las larvas [25-26], y que el salado, ahumado o sometimiento a horno microonda de la carne de pescado no son larvicidas [27]. Así mismo, sugerimos preferir cocinar sólo la musculatura epiaxial del pez, lugar de menor frecuencia de localización de larvas de anisákidos, tal como se evidencia en nuestro estudio, así como en otros similares [13, 28].

Debido a que el consumo de preparaciones culinarias en base a carne de pescado crudo o insuficientemente cocido (ceviche, sushi, etc.) se hace cada vez más frecuente [29], es necesario seguir investigando en todas las especies que potencialmente pudiesen participar en el ciclo de vida de estos parásitos, con el fin de precisar su participación en la

transmisión de estos parásitos al ser humano. En este sentido, la incorporación de metodología molecular de detección de anisákidos en forma masiva, al menos a nivel de la pesquería industrial en Chile, proporcionaría un gran avance en la seguridad de consumo de estos alimentos.

Si bien, la casuística humana de anisakidosis en Chile es baja, los resultados de este estudio podrían ser un indicio del efecto del cambio climático sobre el ecosistema marino y, por lo tanto, sobre la epidemiología de este parasitismo, por lo que es imperativo analizar su ocurrencia mediante la mirada “Una salud” estrategia que, de manera interdisciplinaria y global permitirá visualizar cómo el ambiente impacta en enfermedades de tipo zoonótico, como la anisakidosis.



1. Acha, P.; Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y los animales. 3ra ed. OPS, United States; **2003**. Disponible en URL: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/7111/9275119936.pdf>
2. Køie, M.; Berland, B.; Burt, M. Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Can J Fish Aquat Sci* **1995**, 52, 134-139, doi: 10.1139/f95-519
3. Klimpel, S.; Palm, H. Nematode (Ascaridoidea) Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change? Mehlhorn H ed. Progress in Parasitology. Parasitology Research Monographs, Vol 2. Springer-Verlag, Berlin, **2011**. Disponible en URL: http://www.marineparasitology.com/Papers/2011_Klimpel_Palm_Chapter_11_Anisakids_DB.pdf
4. Torres, P.; Puga, S., Castillo, L.; Lamilla, J.; Miranda, J. Helminths, myxozoos and microsporidiosis in muscles of commercialized fresh fish and its importance as a potential risk to human health in the city of Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* **2014**, 46, 83-92, doi: 10.4067/S0301-732X2014000100012
5. Sapunar, J.; Doerr, E.; Letonja, T. Anisakiasis humana en Chile. *Bol Chil Parasitol* **1976**, 31, 79-83, PMID: 1036258
6. Mercado, R.; Torres, P.; Maira, J. Human case of gastric infection by a fourth larval stage of *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae). *Rev Saúde Pública* **1997**, 31, 178-181, doi: 10.1590/s0034-89101997000200012
7. Celestino, C.; Hirano, T.; Sáenz, R.; Vargas, L.; Gobelet, J. Anisakiasis: a preventable culinary attack on the gastrointestinal tract. *Endoscopy* **2007**, 39, E312, doi: 10.1055/s-2007-966831
8. Torres, P.; Jercic, M.; Weitz, J.; Dobrew, K.; Mercado, R. Human pseudoterranovosis, an emerging infection in Chile. *J Parasitol* **2007**, 93(2), 440-443, doi: 10.1645/GE-946R.1

9. Weitzel, T.; Sugiyama, H.; Yamasaki, H.; Ramirez, C.; Rosas, R.; Mercado, R. Human infections with *Pseudoterranova cattani* nematodes, Chile. *Emerg Infect Dis* **2015**, 21(10), 1874-1875, doi: 10.3201/eid2110.141848
10. Muñoz, G.; Olmos, V. Revisión bibliográfica de especies endoparásitas y hospedadoras de sistemas acuáticos de Chile. *Rev Biol Mar Oceanogr* **2008**, 43(2), 173-245, doi: 10.4067/S0718-19572008000200002
11. Oliva, M.; Espínola-Novero, J.; Ñacari, L. Metazoan parasites of *Brama australis* from southern Chile: A tool for stock discrimination? *J Fish Biol* **2016**, 88(3), 1143-1148, doi: 10.1111/jfb.12881
12. Oliva, M.; González, M. Parásito fauna como herramienta para la identificación de stocks. En: Serra R. Estructura Poblacional del Jurel. Informe final. Instituto de Fomento Pesquero, Chile, **2014**. Disponible en URL: https://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89295_informe_final.pdf
13. Madrid, V.; Rivera, A.; Fernández, I. Prevalencia de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidae) en musculatura de merluza chilena, *Merluccius* sp. comercializada en Concepción, Chile, en distintos períodos. *Parasitol Latinoam* **2016**, 65(4), 27-31, Disponible en URL: https://www.parasitologia.cl/revista_parasitologia_latinoamericana/volumenes/PLA_mayo_2016.pdf
14. Oyarzún, C. Catálogo de los peces presentes en el sistema de corrientes de Humboldt frente a Chile centro sur. Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Concepción, **2003**. Disponible en URL: <http://www2.udec.cl/~coyarzun/catalogo/Catalogo1.htm>
15. Torres, P.; Moya, R.; Lamilla, J. Nemátodos anisákidos de interés en salud pública en peces comercializados en Valdivia, Chile. *Arch Med Vet* **2000**, 31, 107-113, doi: 10.4067/S0301-732X2000000100014

16. Smith, J.; Wootten, R. Anisakis and anisakiasis. *Adv Parasitol* **1978**, 16, 93-163, doi: 10.1016/s0065-308x(08)60573-4.
17. Bush A, Lafferty K, Lotz J y Shostak A. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al, revisited. *J Parasitol* 1997; 83 (4): 575-583. doi: 10.2307/3284227
18. Campbell, R.; Haedrich, R.; Munro, T. Parasitism and ecological relationships among deep-sea benthic fishes. *Mar Biol* **1980**, 57, 301-313, doi: 10.1007/BF00387573
19. Rodríguez, L.; George-Nascimento, M. La fauna de parásitos metazoos del bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces:Nototheniidae) en Chile central: aspectos taxonómicos, ecológicos y zoogeográficos. *Rev Chil Hist Nat* **1996**, 69, 21-33, Disponible en URL: <https://aobacwebpage.s3.us-east-2.amazonaws.com/526.pdf>
20. Oliva, M.; Fernández, I.; Oyarzún, C.; Murillo, C. Metazoan parasites of the stomach of *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898 (Pisces: Notothenidae) from southern Chile: A tool for stock discrimination? *Fish Res* **2008**, 91, 119-122, doi: 10.1016/j.fishres.2007.11.012
21. Medellín-Mora, J.; Escribano, R.; Schneider, W. Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002-2012) in the central/southern upwelling system of Chile. *Progr Oceanography* **2016**, 142, 17-29, doi: 10.1016/j.pocean.2016.01.005
22. Cubillos, L.; Alarcón, C.; Arancibia, H. Selectividad por tamaño de las presas en merluza común (*Merluccius gayi*), zona centro-sur de Chile (1992-1997). *Inv Mar* **2007**, 35(1), 55-69, doi: 10.4067/S0717-71782007000100005
23. Murillo, C.; Oyarzún, C.; Fernández, I. Variación latitudinal y estacional en la dieta de *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Perciformes: Nototheniidae) en ambientes profundos de la costa centro-sur de Chile. *Gayana* **2008**, 72(1): 94-101, doi: 10.4067/S0717-65382008000100011

- 24.** Ministerio de Salud (MINSAL). Reglamento sanitario de los alimentos. Documento N° 977/96. Chile, **2021**. Disponible en URL: http://www.dinta.cl/wp-content/uploads/2021/03/RSA-DECRETO_977_96_act-02-02-2021.pdf
- 25.** Adams, A.M.; Ton, M.N.; Wekell, M.N.; MacKenzie, A.P.; Dong, F.M. Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. *J Food Prot* **2005**, 68, 1441-1446, doi: 10.4315/0362-028x-68.7.1441
- 26.** Sánchez-Monzálvez, I.; de Armas-Serra, I.; Bernadina, W.; Rodríguez-Caabeiro, F. Freezing infective-stage larvae from *Anisakis simplex* and their produce at -20 degrees C for 24 h does not prevent the occurrence of autonomic imbalance in rat ileum. *Parasitol Res* **2006**, 99, 262-268, doi: 10.1007/s00436-006-0162-7
- 27.** de la Torre, R.; Pérez, J.; Hernández, M.; Jurado, R.; Martínez, A.; Morales, E. Anisakiasis en pescados frescos comercializados en el norte de Córdoba. *Rev Esp Salud Pública*, **2000**, 74, 517-526. Disponible en URL: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17074608>
- 28.** Silva, A.; Rojas, M.; Morales, P.; Muñoz, T.; Machuca, A. Anisakid nematodes prevalence in Chilean hake (*Merluccius gayi gayi*) commercialized in the city of Talca, Chile. *Lat Am J Aquat Res* **2020**, 48(1), 136-140, doi: 10.3856/vol48-issue1-fulltext-2300
- 29.** Bao, M.; Garci, M.; Antonio, J.; Pascual, S. First report of *Anisakis simplex* (Nematoda, Anisakidae) in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Food Control* **2013**, 33(1), 81-86, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.02.009

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN GENERAL



Discusión

El conocimiento biológico de *D. eleginoides* y otras especies de peces de aguas profundas se ha ido incrementando sostenidamente con el transcurso del tiempo, aunque existen diferentes aspectos que aún son insuficientemente conocidos. Ello se debe, principalmente, a que estas especies en su mayoría no presentan interés comercial y a la dificultad de su captura, en comparación con especies de ubicación más superficial o de distribución más extensa (Oliva et al., 2008). Sin embargo, en el caso de *D. eleginoides*, dicha tendencia ha sido revertida progresivamente merced a diversas contribuciones efectuadas en la última década, aunque los aspectos parasitológicos y, sobre todo, microbiológicos son aún escasos.

En el ámbito parasitológico diversos autores han informado más de sesenta taxa parasitarios componentes de la parasitofauna de *D. eleginoides* (Tabla 1 y 2), correspondiendo principalmente a digeneos, larvas y estados adultos de céstodos, nemátodos y acantocéfalos y, en forma marginal, algunos artrópodos (Collins et al., 2010; Brown et al., 2012). Sin embargo, la estructura y conformación de esta presenta elevada variabilidad dependiendo de la localización de la población examinada, hecho documentado en la literatura existente (Gaevskaya et al., 1990) y evidenciado, de alguna forma, en el presente estudio.

Son diversos los factores que podrían sustentar dichas diferencias y que se vincularían a la ocurrencia de la triada epidemiológica o ecológica del parasitismo (Soulsby, 1987; Atías, 1991), es decir, de las interacciones de factores propios del parásito, hospedero y ambiente.

Los factores propios del parásito dicen relación, entre otros, con atributos que inciden y contribuyen a su reproducción, diseminación y transmisión, es decir, en el tipo o complejidad de su ciclo de vida (Marcogliese y Cone, 1997). Por ejemplo, parásitos generalistas que presenten variados hospederos intermediarios y/o paraténicos, como *Anisakis* spp., facilitarían la ocurrencia de parasitismo en hospederos susceptibles -tales como *D. eleginoides*- con mayor frecuencia en comparación con parásitos estenógenos tales como los digeneos detectados en este trabajo. Además, y de acuerdo con lo indicado en Rodríguez y George-Nascimento (1996), las variaciones antes mencionadas también dependen del tipo

de participación de la especie parasitaria, es decir, si lo hace bajo el sistema hospedador definitivo-parásito adulto (HD-PA) o bien como hospedador intermediario-parásito larval (HI-PL). De esta forma, las variaciones cualitativas y cuantitativas de la magnitud del parasitismo dependerían, en el primer caso, de la tasa de reclutamiento-muerte parasitaria mientras que, en el segundo, del fenómeno de sumidero o acumulación larval. Así, por ejemplo, el parasitismo por digeneos (HD-PA) sería reflejo del parasitismo existente en el momento de captura del ejemplar parasitado, mientras el parasitismo por *Anisakis* spp. y *Pseudoterranova* spp. (HI-PL) representaría un período de transmisión parasitaria más extendido en el tiempo.

Los factores del hospedero están principalmente vinculados a su alimentación, modo de vida, edad, talla, sexo, longitud corporal, etc., es decir, de la ontogenia particular del ejemplar parasitado (Holmes y Price, 1986; Bush et al., 2001). Por ejemplo, y dado que la mayoría de los taxa parásitos informados en esta investigación son transmitidos por la alimentación, las variaciones cuantitativas y cualitativas de los mismos dependen de la tasa de encuentros entre *D. eleginoides* y sus presas parasitadas, es decir, finalmente de la composición de su dieta (Campbell et al., 1980; Moore, 1987; Rohde, 2005). Al respecto, Murillo et al. (2008) indican que los principales ítemes-presa de *D. eleginoides* capturados en tres áreas de la costa centro-sur de Chile están conformados principalmente por peces óseos (Macrouridae y Ophidiidae) y en menor magnitud cefalópodos y sólo ocasionalmente Anthozoa y Polychaeta. De esta forma, y aunque el conocimiento de los ciclos de vida de los parásitos identificados en este estudio no está suficientemente aclarado, los resultados aquí reportados ratifican la participación del bacalao de profundidad como hospedero definitivo, intermediario o paraténico en su desarrollo. Al respecto, Noble (1973) y Campbell et al. (1980) señalan que poliquetos y crustáceos (especialmente copépodos e isópodos), actuarían como hospederos intermediarios para los digeneos detectados en este estudio, donde *D. eleginoides* participa como hospedero definitivo. A su vez, los cefalópodos podrían transmitir las larvas de nemátodos, tremátodos y cestodos, mientras que peces teleósteos podrían infectar con larvas de anisákidos a *D. eleginoides* cuyo rol, como hospedero intermediario y/o paraténico, podría explicar la infección de los hospederos definitivos de estos parásitos, como mamíferos marinos y tiburones, por ser potenciales depredadores del bacalao (Carvajal 1974; Rodríguez y George-Nascimento, 1996). Por otra parte, aunque vinculado al factor antes mencionado, la ontogenia del bacalao de profundidad es compleja y determinante en la ocurrencia de parasitismo. De acuerdo con Eastman (1993) los juveniles semipelágicos (12-

15 cm de LT) se vuelven demersales alcanzando los 150 a 400 m de profundidad y, después de varios años, crecen hasta los 60-70 cm de LT. Posteriormente, los peces adultos migran a hábitats meso y batipelágicos a profundidad superiores a los 1000 m. Según Gaevskaya et al. (1990) esta situación determinaría la elevada diversidad de especies parásitas en *D. eleginoides* antes mencionada y que, estudios posteriores ratificarían, dando cuenta de diferencias en la riqueza parasitaria y magnitud del parasitismo de acuerdo con la zona de estudio.

Los factores más complejos de examinar son los de carácter medio ambiental debido a que integran a aquellos dependientes de la relación parásito-hospedero y, por lo tanto, van a incidir directamente en la interacción de los hospederos que participen en el ciclo de vida de los parásitos que se transmiten hacia *D. eleginoides*. De esta forma, condiciones tales como profundidad, temperatura del agua, presencia y dirección de corrientes, barreras geográficas, entre otras, tendrán injerencia directa en el desarrollo de la interacción parásito-hospedero (Bush et al., 2001; Rhode, 2005). En este sentido, la distribución geográfica de *D. eleginoides* pareciera representar la discontinuidad de ambientes en los cuales, en algún momento de su vida, se localiza, principalmente representados por variados accidentes geográficos, montes y plataformas submarinas (Collins et al., 2010). Además, es relevante la influencia que impone la zona de Convergencia Antártica o Zona Frontal Polar Antártica que, junto a la presencia de la corriente Circumpolar Antártica generaría diversas características determinadas en áreas particulares, tanto en recursos como fauna marina, que determinarían que la población global de *D. eleginoides* no sea de carácter panmítico, probablemente debido a su extensa distribución. Por lo tanto, y de acuerdo a lo señalado por algunos autores, en el Atlántico Sur e islas subantárticas existirían diferentes estructuras poblacionales de la especie, cuyas variaciones podrían estar influenciadas por movimientos migratorios entre áreas de alimentación y desove (Shaw et al., 2004; Ashford et al., 2005; Laptikhovsky et al., 2006), y que determinarían una diferente conformación cualitativa y cuantitativa de su parasitofauna. Por el contrario, la proyección de *D. eleginoides* hacia costa del Océano Pacífico, determinada en gran medida por la influencia de la corriente de Humboldt, generaría una distribución más homogénea del hábitat y de sus hospederos lo que, a su vez, determinaría una estructura parasitaria similar. Al respecto, Oliva et al. (2008) sustentan lo anterior mediante el uso de parásitos como marcadores biológicos y, por tanto, como herramienta discriminadora de poblaciones sugiriendo que, al menos en la costa centro sur

de Chile, hay un solo stock de bacalao de profundidad. Nuestros resultados apoyan esta situación, dado que la riqueza parasitaria y los valores de prevalencia y abundancia de infección aquí reportada difiere de lo registrado en otras latitudes (Gaevskaya et al. 1990; Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2012), pero es similar a lo previamente informado en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de Chile, con la excepción del registro de la larva de *Pseudoterranova* sp., no informada previamente por Rodríguez y George-Nascimento (1996) u Oliva et al. (2008).

Más allá de este análisis, la conformación de la fauna parasitaria y su magnitud representarían el reflejo de la ontogenia particular de la población de peces analizada en el presente estudio y tributaría, además, al rol de depredador de tope de *D. eleginoides*, dado que la mayoría de los taxa aquí reportados ingresan al hospedero mediante su alimentación. De esta forma, este factor también determinaría los valores de riqueza y abundancia de infección aquí reportada que estarían de acuerdo con la presencia de una determinada diversidad de potenciales presas infectadas con estos parásitos en aguas de la costa de Chile (Oyarzún et al., 2003; Murillo et al., 2008).

Por otra parte, las diferencias observadas en la conformación de la parasitofauna en los tres micro-hábitats examinados en este estudio están influenciadas por los ciclos de vida de cada taxa en particular. Por ejemplo, la escasa presencia de parásitos a nivel superficial (*R. aff australis*), sería consecuencia de un evento particular, dado que su trasmisión hacia *D. eleginoides* es por contacto directo constituyendo el primer registro de *R. australis* en este hospedero. Son escasos los antecedentes biológicos disponibles de *R. australis*, aunque todos vinculan a este isópodo ectoparásito con ubicaciones australes localizadas en la región magallánica (Schiodte y Meinert, 1879; Menzies, 1962; Brandt, 1991; Espinoza-Pérez y Hendrickx, 2006; Bruce, 2009). Por lo mismo, y debido a que solo se encontró un ejemplar, se dificulta el uso de *R. australis* como eventual biomarcador ni discutir con más detalle las posibles afinidades zoogeográficas que presenta con la fauna de aguas de Chile. Es posible plantear, por lo tanto, que las condiciones extremas de profundidad y migración batimétrica en las cuales el bacalao de profundidad efectúa su vida trófica, es particularmente estresante para la mantención de ectoparásitos en la superficie corporal de estos hospederos, lo que estaría siendo ratificado por la escasez de ectoparásitos informados para *D. eleginoides* en particular (Tabla 1 y 2). De igual forma, la no ocurrencia de parasitismo por fauna protozoaria

en nuestro estudio, así como en otros efectuados en este hospedero (Gaevskaya et al., 1990; Brickle et al., 2005, 2006; Brown et al., 2012), respondería a la misma situación, la que parece interrumpir el ciclo de transmisión de estos microorganismos. Por el contrario, el hallazgo de larvas de *Pseudoterranova* sp., el primero en ejemplares de bacalao de profundidad en aguas chilenas, no es sorprendente ya que este nemátodo es un parásito generalista documentado en numerosos hospederos que habitan el litoral de Chile (Torres et al., 1983), y que pueden servir de alimento a un depredador de las características de *D. eleginoides*.

Las diferencias observadas en la conformación de la población parasitaria estomacal e intestinal sería también el reflejo de los diferentes ciclos de vida de los parásitos encontrados en este estudio. Por ejemplo, los digeneos viven como estados adultos en el tracto estomacal y para ello, están adaptados o especializados para vivir en las particulares condiciones de pH ácido de este lugar, producto de su fuerte constitución tegumentaria (Gibson y Bray, 1986), tal como los digeneos detectados en este estudio. Otros, como *Hysterothylacium* sp., cuyos estados adultos pueden encontrarse en ubicaciones estomacales e intestinales, estarían relacionados a un mecanismo de patogenicidad expoliatorio, es decir, sustraen nutrientes del hospedero, lo que explicaría su mayor amplitud de su hábitat en el mismo. Estados larvales de *Anisakis* sp., *Pseudoterranova* sp. y *Hepatoxylon trichiuri*, presentarían ubicaciones menos definidas, dado que *D. eleginoides* sería un hospedero intermediario que debiera ser depredado por el hospedero definitivo de estos parásitos (Collins et al., 2010), por lo que su disposición en los tejidos del bacalao de profundidad es eventual y no vinculada con procesos metabólicos activos.

Un punto particular que es necesario destacar es el carácter zoonótico de algunos taxa parasitarios detectados en este estudio, que infectan al ser humano debido al consumo de carne de pescado crudo o insuficientemente cocido, pues éstos eventualmente pueden ubicarse a nivel muscular en peces teleósteos (Acha y Szyfres, 2003). Por una parte, el consumo accidental de larvas de *Hepatoxylon trichiuri* provoca trauma en mucosa oral, gingival y lingual, sobre todo cuando se intenta remover en forma manual (Mercado et al., 2015). Por otra parte, el consumo accidental de larvas de tercer estado de *Anisakis* sp. y *Pseudoterranova* sp. causan Anisakiasis o Pseudoterranovosis, respectivamente, patologías caracterizadas por la ocurrencia de cuadros gástricos, intestinales, alérgicos y orales de variada intensidad (Apt, 2013).

En relación con lo antes mencionado, es destacable, ratificar la elevada prevalencia y abundancia media de infección de *Anisakis* sp. resultante en esta investigación, hecho que se había comunicado previamente en aguas chilenas (Madrid et al., 2016). Si bien, y como se señaló anteriormente estas situaciones podrían reflejar la ontogenia de una población de peces en particular, cabe preguntarse respecto de la influencia que podrían tener cambios climáticos y ecológicos del ambiente marino sobre el ciclo de vida de estos parásitos. Por ejemplo, se ha determinado que la estructura de tamaños y composición de los copépodos en aguas de la zona centro-sur de Chile se ha alterado, estableciéndose un aumento en su diversidad, abundancia y talla en los últimos años (Medellín et al., 2016). Esto sería una consecuencia del cambio climático, representado principalmente en el aumento de la temperatura del agua y de la surgencia, alteraciones que implican una mayor oferta de hospederos intermediarios de éstos anisákidos favoreciendo su transmisión hacia hospederos susceptibles, tales como *D. eleginoides*. Además, el aumento progresivo de temperatura del océano favorecería la eclosión más rápida de los huevos de los parásitos anisákidos y, por lo tanto, las posibilidades de infección de los diversos hospederos que participan en el ciclo de vida de este parasitismo (Cubillos et al., 2007) elevando la prevalencia y abundancia media del parasitismo en especies, sobre todo, que actúan como depredador de tope en la cadena trófica, como *D. eleginoides* (Murillo et al., 2008). Por lo tanto, estos valores, sobre todo de abundancia media de infección puede ser una referencia útil para medir cambios en el entorno de *D. eleginoides* que podrían ser un indicio del efecto del cambio climático sobre el ecosistema marino y, por lo tanto, sobre la epidemiología de este parasitismo.

Dado este escenario, es esperable que esta tendencia se sostenga en el tiempo y, por lo tanto, manifestarse en un elevado riesgo de contraer Anisakidiasis humana, por el consumo de carne de *D. eleginoides* u otro hospedero susceptible. Al respecto, es crucial promover medidas profilácticas que eviten la infección de la población, tales como el consumo de pescado congelado o sometidos a cocción (Smith y Wootten, 1978; Adams et al., 2005; Sánchez-Monsálvez et al., 2006) y que, procesamientos tales como el salado o ahumado, la aplicación de microondas o el “cocido en limón”, no son larvicidas.

En el ámbito microbiológico, hasta la fecha, solo se contaba con un estudio en *D. eleginoides* (Urtubia et al., 2017) que, a pesar de constituir el primer esfuerzo para la

obtención de información, presentaba condiciones metodológicas que limitaban un aporte integral al conocimiento bacteriológico de la especie. En este sentido, los resultados aquí reportados, tanto a nivel de género como de especie bacteriana, no coinciden con lo reportado en el estudio antes mencionado. Por ejemplo, estos autores informan que *Vibrio* y *Psychrobacter* fueron géneros bacterianos recuperados con mayor frecuencia a nivel gastrointestinal, mientras que en el presente trabajo fue *Psychrobacter*, bacteria del medio ambiente, que mostró una mayor abundancia relativa en muestras de mucosidad cutánea, evidenciando que el hábitat frío donde el bacalao de profundidad realiza su vida trófica, selecciona una microbiota tolerante al frío, ya que *Pseudomonas*, que presentó una mayor abundancia relativa a nivel de la piel, también se aísla frecuentemente de ambientes fríos (Khan et al., 2007).

Al igual que ocurre con el parasitismo, la distribución de las comunidades microbianas ubicadas a nivel gastrointestinal se encuentra influida en gran medida por el tipo de dieta que consumen los peces, evidenciando mayor diversidad a nivel intestinal, probablemente por las condiciones más desfavorables (pH ácido) del tracto estomacal. Además, alta abundancia relativa de *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria* y *Deltaproteobacteria*, sugiere una relación beneficiosa entre la comunidad bacteriana y el bacalao de profundidad, debido a que las bacterias identificadas están involucradas en el ciclo de nutrientes (Kim et al., 2007). De hecho, el ciclo del carbono y las capacidades biodegradables son una característica generalizada entre los miembros de Alfa y *Gammaproteobacterias*, los que incluyen las *Pseudomonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Vibrionaceae* y los miembros del clado *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides* (CFB) (*Cytophagaceae*, *Flavobacteriaceae* y *Bacteroidetes*).

Sin embargo, no se debe perder de vista que la comunidad bacteriana gastrointestinal es afín a un contexto ecológico marcado por aguas frías y ambientes profundos. En este sentido, a pesar de que la columna de agua posee una biomasa bacteriana considerable, la densidad de las poblaciones bacterianas tiende a disminuir significativamente a medida que la profundidad de los hábitats aumenta (López y Zaballos, 2005).

De la misma forma, la presencia de flujos y corrientes oceánicas pueden, de alguna forma, determinar la conformación de comunidad bacteriana superficial como gastrointestinal.

Como se mencionó anteriormente, la Corriente Circumpolar Antártica posee un flujo alrededor del continente antártico en dirección de Oeste a Este que, junto con la temperatura oceánica, determina una ecología trófica particular para esta zona. Así mismo, y dado que a partir de ésta se forma la corriente de Humboldt, se genera una masa de agua homogénea en dirección norte, hacia la costa Oeste de Sudamérica. Esto determina un flujo de especies que también es vehiculizada y que en la medida que avanza hacia locaciones geográficas más septentrionales van generando un gradiente que podría también ser determinante en la ocurrencia de infección parasitaria y bacteriana con diversos grados de magnitud. De hecho, Oyarzún et al. (2003) establece gradientes en la presencia de ciertos ítemes-presa de *D. eleginoides*, que pueden ser potenciales transmisores de estos organismos. Por lo tanto, la corriente de Humboldt ofrece una ruta de distribución del bacalao de profundidad contribuyendo a una conformación particular de su comunidad bacteriana y parasitaria, pero con un límite meridional, que sería la Corriente Circumpolar Antártica de una temperatura acuática menor (Eastman y Grande, 1989), y que explicaría las diferencias en la conformación de la parasitofauna entre poblaciones de *D. eleginoides* del Pacífico con otras de ubicación subantártica (Clarke y Johnston, 1996; Brown et al., 2012). De hecho, aquellas especies que viven confinadas a vivir al interior de la Convergencia Antártica experimentan condiciones ambientales muy extremas tales como una marcada estacionalidad (tanto en iluminación como productividad primaria) junto a temperaturas cercanas a la congelación. Al respecto, destaca en los resultados del presente trabajo que, dentro del dominio Archaea, Crenarchaeota fue el grupo más dominante a nivel de filo, el cual ha sido vinculado al ensamblaje microbiano del Océano Austral (DeLong, 1992; Fuhrma et al., 1993).

Lamentablemente existen escasos estudios en otros nototénidos que permitan comparar los resultados de este trabajo, ya que estas investigaciones se han efectuado mediante enfoques basados en medios de cultivo tradicional. Por ejemplo, MacCormack y Fraile (1990) señalaron a *Vibrio* spp. como el género predominante en *Notothenia neglecta*, al igual que Urtubia et al. (2017) en *D. eleginoides*. Los autores señalan que las especies de *Vibrio* sería un género primordial o indígena en la microbiota intestinal en peces nototénidos antárticos. Además, estudios de microbiota intestinal en *Notothenia coriiceps*, revelan que los grupos más dominantes, en términos de abundancia fueron gamma-Proteobacteria, *Photobacterium* sp., *Allivibrio* sp. y *Vibrio* sp. (Ward et al., 2009). Por último, Sedláček et al. (2016) reporta que bacterias del género *Enterobacter* predominan en el tracto intestinal de

Notothenia coriiceps, *Trematomus bernacchii*, *Trematomus hansonii* y *Trematomus newnesi*, aunque los mismos autores señalan que usaron un medio específico para su detección. Si bien, algunas especies reportadas por otros investigadores, utilizando cultivo, están presentes en los resultados de metagenómica obtenidos en nuestro estudio, presentan una abundancia relativa demasiado baja. Además, sigue siendo un problema la comparación de peces desde diferentes hábitats, ya que el ambiente ejerce un rol importante en la composición microbiana de estos especímenes. Por otro lado, *D. eleginoides* tiene un patrón migratorio que hace pensar que la comunidad bacteriana, principalmente de mucus y de estómago, varían rápidamente producto de este efecto. Ahora bien, desde el punto de salud pública, no se encontraron microorganismos potencialmente patógenos dentro de la estructura bacteriana de *D. eleginoides*, lo que también estaría relacionada con su patrón migratorio y su condición alimentaria.

En relación con la especificidad a nivel de micro-habitat, los resultados demuestran una especificidad a nivel de nicho ecológico (estómago, intestino y piel-mucus), demostrando diferencias significativas a nivel de especie. Cabe destacar que este es el primer reporte sobre la diversidad bacteriana de *D. eleginoides* utilizando técnicas moleculares, por lo cual no es factible discutir el artículo de Urtubia et al. (2017) sobre este punto, ya que las bacterias cultivables no alcanzan al 1% utilizando técnicas moleculares. Además, estos autores reportaron que varias bacterias cultivables aisladas de *D. eleginoides* pertenecían a géneros descritos para ambientes fríos, como *Psychrobacter*, *Frigoribacterium* y *Rhodoglobus*, géneros que fueron escasamente detectados por secuenciación del ARNr 16S en este estudio. En este contexto, los resultados demuestran que la estructura de la comunidad bacteriana podría estar influenciada por factores ambientales tales como la temperatura del agua, como de aspectos dietarios que, sumado a lo extenso del intestino, genera un nicho ecológico específico multifactorial, ya que algunos autores sugieren que la presencia de un microorganismo pueden variar dependiendo del tipo de tejido muestreado a nivel gastrointestinal (p. ej., contenido intestinal o pared del tracto gastrointestinal). De esta forma, se hace necesario realizar nuevos estudios con ejemplares capturados en ambos sectores de la convergencia antártica, con el objetivo de establecer de forma efectiva si la dieta presenta mayor influencia que aspectos ambientales en la composición bacteriana.

Quedan muchas incógnitas que es necesario investigar. Por ejemplo, evaluar la estructura de la comunidad bacteriana en relación con la estacionalidad y condiciones ambientales influenciadas con la localización, sobre todo teniendo en cuenta que en la biología y conducta del bacalao de profundidad destaca su capacidad de desplazamiento territorial. En relación con la parasitología de *D. eleginoides*, el uso de parásitos como biomarcadores en distintas zonas de la costa centro sur puede ayudar a aclarar y/o complementar la influencia de estos factores en la conformación de la parasitofauna de *D. eleginoides*. En este sentido, es importante vincular nuevos estudios con la caracterización oceanográfica del ambiente en donde los ejemplares son capturados. Por último, identificar si, dentro de las especies que conforman la comunidad bacteriana, algunas presentan atributos o efectos positivos sobre otras comunidades bacterianas de otras especies de importancia humana o animal.



CAPITULO VIII

CONCLUSIONES



Conclusiones

1. La comunidad parasitaria gastrointestinal de *D. eleginoides* es más diversa y rica en comparación con la superficial, probablemente influenciada por las condiciones extremas donde habita *D. eleginoides*.
2. Dentro de la comunidad parasitaria gastrointestinal, se determinó mediante el uso de parámetros ecológicos que la riqueza y abundancia es mayor en el tracto estomacal que el intestinal.
3. El grupo parasitario más frecuentemente detectado lo constituyeron los platelmintos digeneos.
4. La magnitud del parasitismo, determinada por parámetros cualitativos como cuantitativos, en ejemplares de *D. eleginoides* capturados en aguas de la zona centro-sur de Chile es variable y dependiente de la especie parasitaria.
5. La alta prevalencia y abundancia media de infección del nemátodo *Anisakis* sp. ratifica una tendencia al alza en estos parámetros evidenciando, probablemente, cambios en el entorno ambiental.
6. La estructura de la comunidad parasitaria gastrointestinal de *D. eleginoides* examinados en este estudio es semejante a la reportada previamente en aguas chilenas pero distinta a lo informado en ejemplares de ambientes subantárticos, por lo que se acepta H₁.
7. En la comunidad bacteriana estomacal, intestinal y de mucus superficial, existen diferencias vinculadas a su ubicación específica basado en parámetros ecológicos.
8. La estructura de la comunidad microbiana asociada al tracto intestinal es más diversa en comparación con la del tracto gástrico. Por el contrario, la estructura de la comunidad parasitaria asociada al tracto gástrico resultó ser más diversa en comparación con la del tracto intestinal, por lo que se acepta parcialmente la H₂.

CAPÍTULO IX

REFERENCIAS



Referencias

1. Acha, P.; Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y los animales. 3ra ed. OPS, United States; **2003**.
2. Adams, A.M.; Ton, M.N.; Wekell, M.N.; MacKenzie, A.P.; Dong, F.M. Survival of *Anisakis simplex* in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomia*) during frozen storage. *J Food Prot* **2005**, 68, 1441-1446.
3. Aly, S.; Ahmed, Y.; Ghareeb, A.; Mohamed, M. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immunol* **2008**, 25, 128-136.
4. Appleyard, S.A.; Ward, R.D.; Williams, R. Population structure of the Patagonian toothfish around Heard, McDonald and Macquarie Islands. *Antarc Sc* **2002**, 14, 364-373.
5. Apt, W. Parasitología humana. McGraw Hill Interamericana Editores S.A., México, **2013**.
6. Arkhipkin, A.; Brickle, P.; Laptikhovsky, V. Variation in the diet of the Patagonian toothfish with size, depth and season around the Falkland Islands. *J Fish Biol* **2003**, 63, 428-431.
7. Arrizaga, A.; Fuentealba, M.; Yáñez, V.; Oyarzún, C. Observaciones sobre la alimentación de *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Perciformes, Nototheniidae) en el sur de Chile. *Gayana Oceanol* **1996**, 4 (1), 13-19.
8. Asfie, M.; Yoshijima, T.; Sugita, H. Characterization of the goldfish faecal microflora by the fluorescent in situ hybridization method. *Fish Sci* **2003**, 69, 21-26.
9. Ashford, J.; Jones, C.M.; Hofmann, E.; Everson, I.; Moreno, C.; Duhamel, G.; Williams, R. Can otoliths elemental signatures record the capture site of Patagonian toothfish

(*Dissostichus eleginoides*), a fully marine fish in the Southern Ocean. *Can J Fish Aquat Sci* **2005**, 62, 2832-2840.

10. Atías, A. Parasitología Médica. Publicaciones técnicas Mediterráneo, Santiago, Chile. **1991**.
11. Balushkin, A.V. Morphology, classification, and evolution of notothenioid fishes of the Southern Ocean (Notothenioidei, Perciformes). *J Ichthyol* **2000**, 40(1), S74–S109.
12. Barrera-Oro, E.R.; Casaux, R.J.; Marschoff, E.R. Dietary composition of juvenile *Dissostichus eleginoides* (Pisces, Nototheniidae) around Shag Rocks and South Georgia, Antarctica. *Pol Biol* **2005**, 28, 637-641.
13. Bargelloni, L.; Marcato, S.; Zane, L.; Patarnello, T. Mitochondrial phylogeny of notothenioids: a molecular approach to Antarctic fish evolution and biogeography. *Syst Biol* **2000**, 49(1), 114-129.
14. Baumgartner, R.J.; Van Kranendonk, M.J.; Wacey, D.; Fiorentini, M.L.; Saunders, M.; Caruso, S.; Pages, A.; Homann, M.; Guagliardo, P. Nano-porous pyrite and organic matter in 3.5-billion-year-old stromatolites record primordial life. *Geology* **2019**, 47(11), 1039-1043.
15. Brandt, A. Zur Besiedlungsgeschichte des antarktischen Schelfes am Beispiel der Isopoda (Crustacea, Malacostraca). *Ber. Polarforsch. (Bremerhaven)* **1991**, 98, 1-240.
16. Brickle, P. The parasite ecology of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898): 1-211. (Ph.D. Thesis, Aberdeen University, Aberdeen, Scotland, U.K.), **2003**
17. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Parasites of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, in different parts of the sub-Antarctic. *Pol Biol* **2005**, 28, 663-671.
18. Brickle, P.; Mackenzie, K.; Pike, A. Variations in the parasite fauna of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898), with length, season, and depth of habitat around the Falkland Islands. *J Parasitol* **2006**, 92, 282-291.

19. Brown, J.; Brickle, P.; Scott, B.E. The parasite fauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* off the Falkland Islands. *J Helminthol* **2012**, 87, 501-509.
20. Bruce, N.L. The marine fauna of New Zealand: Isopoda, Aegidae (Crustacea). *NIWA Biodiv Mem* **2009**, 122, 1-252.
21. Bush, A.O.; Fernández, J.C.; Esch, G.W.; Seed, J.R. Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press, United Kingdom, **2001**.
22. Campbell, R.; Haedrich, R.; Munro, T. Parasitism and ecological relationships among deep-sea benthic fishes. *Mar Biol* **1980**, 57, 301-313.
23. Carvajal, J. Records of cestodes from Chilean sharks. *J Parasitol* **1974**, 60, 29-34.
24. Cassia, M.C.; Perrotta, R.C. Distribución, estructura de tallas, alimentación y pesca de la merluza negra (*Dissostichus eleginoides* Smith, 1898) en un sector del Atlántico Sudoccidental. Inidep. Informe técnico N° 9. **1996**.
25. Castellanos-Garzón, J.; Falla-Zúñiga, L.; Salazar, L.; Pustovrh-Ramos. Anisákidos y anisakidosis: generalidades y su actualidad en Colombia. Revisión bibliográfica. *Iatreia* **2020**, 33(2), 143-154.
26. Cheng, C.CH. Origin and mechanism of evolution of antifreeze glycoproteins in polar fishes. In: Prisco GD, E. Pisano & A. Clarke (eds). *Fishes of Antarctica: A biological overview*, Springer- Verlag, Berlin- Heidelberg. **1998**.
27. Cheng, C.CH.; Chen, L.B.; Near, T.J; Jin, Y.M. Functional antifreeze glycoprotein genes in temperature – water New Zealand Nototheniid fish infer an Antarctic evolutionary origin. *Molec Biol Evol* **2003**, 20, 1897-1908.
28. Cherel, Y.; Weimerskirch, H.; Trouvé, C. Food and feeding ecology of the neritic-slope forager black-browed albatross and its relationships with commercial fisheries in Kerguelen waters. *Mar Ecol Prog Ser* **2000**, 207, 183-199.

29. Cherel, Y.; Duhamel, G. Diet of the squid *Moroteuthis ingens* (Teuthoidea: Onychoteuthidae) in the upper slope waters of the Kerguelen Islands. *Mar Ecol Prog Ser* **2003**, 250, 197-203.
30. Clarke, A.; Johnston, I.A. Evolution and adaptive radiation of Antarctic fishes. *Trends Ecol Evol* **1996**, 11, 212-218.
31. Collins, M.A.; Ross, K.A.; Belchier, M.; Reid, K. Distribution and diet of juvenile Patagonian toothfish on the South Georgia and Shag Rocks shelves (Southern Ocean). *Mar Biol* **2007**, 152, 135-147.
32. Collins, M.A.; Brickle, P.; Brown, J.; Belchier, M. The Patagonian toothfish: biology, ecology and fishery. *Adv Mar Biol* **2010**, 58: 227-300.
33. Cousseau, M.B.; Perrotta, R. Peces Marinos de Argentina: biología, distribución, pesca. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata, **2000**.
34. Cubillos, L.; Alarcón, C.; Arancibia, H. Selectividad por tamaño de las presas en merluza común (*Merluccius gayi*), zona centro-sur de Chile (1992-1997). *Inv Mar* **2007**, 35(1), 55-69.
35. Delong, E.F. Archaea in coastal marine environments. *Proc Natl Acad Sci USA* **1992**, 89, 5685-5689.
36. Dewitt H. Coastal and deep water benthic fishes of the Antarctic. In Antarctic Map Folio Series, vol. 15 (ed. B. Bushnell), New York; American Geographical Society, **1971**.
37. Dewitt, H.H.; Heemstra, P.C.; Gon, O. Nototheniidae. In: Gon O & PC Heemstra (eds). Fishes of the Southern Ocean, pp. 279-331, J. L. B. Smith Institute of Ichthyology, Grahamstown, **1990**.

38. Dhanasiri, A.K.S.; Brunvold, L.; Brinchmann, M.F.; Korsnes, K.; Bergh, Ø.; Kiron, V. Changes in the intestinal microbiota of wild Atlantic cod *Gadus morhua* L. upon captive rearing. *Microb Ecol* **2011**, 61(1), 20-30.
39. Díaz, R.G.; Wacher, R.C. Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. *Rev Latinoam Microbiol* **2003**, 45, 30-40.
40. Drancourt, M.; Bollet, C.; Carlioz, A.; Martelin, R.; Gayral, J.P.; Raoult, D. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *J Clin Microbiol* **2000**, 38, 3623-3630.
41. Eastman, J.T. Evolution and diversification of Antarctic notothenioid fishes. *Am Zool* **1991**, 31, 93-109.
42. Eastman, J.T. Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment. Academic Press, San Diego, **1993**.
43. Eastman, J.T.; Clarke, A. A Comparison of Adaptive Radiations of Antarctic Fish with those of NonAntarctic Fish. In: Prisco GD, E. Pisano & A. Clarke (eds). Fishes of Antarctica: A biological overview, Springer- Verlag, Berlin- Heidelberg. **1998**.
44. Eastman, J.T.; Grande, L. Evolution of the Antarctic fish fauna with emphasis in the recents notothenioids. In: Origins and Evolution of the Antarctic Biota (ed. J. Crame), Geological Society Special Publication. **1989**.
45. Espinoza-Pérez, M.C.; Hendrickx, M.E. A comparative analysis of biodiversity and distribution of shallow-water marine isopods (Crustacea: Isopoda) from Polar and temperate waters in the East Pacific. *Belgian J Zool* **2006**, 136, 219-247.
46. Evseenko, S.H.; Kock, K.H.; Nevinsky, M.M. Early life history of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Antarc Sci* **1995**, 7, 221-226.

47. Fuhrman, J.A.; McCallum, K.; Davis, A.A. Phylogenetic diversity of subsurface marine microbial communities from the Atlantic and Pacific Oceans. *Appl Environ Microbiol* **1993**, 59(5), 1294-302.
48. Gaevskaya, A.B.; Kovaljova, A.A.; Parukhin, A.M, Peculiarities and formation of parasitofauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides*. *Biol Morya* **1990**, 4, 23-28.
49. Gallagher, C.P.; Dick, T.A. Trophic structure of a landlocked Arctic char *Salvelinus alpinus* population from southern Baffin Island, Canada. *Ecol Fresh* **2010**, 19, 39-50.
50. Ganguly, S.; Prasad, A. Microflora in fish digestive tract plays significant role in digestion and metabolism. *Rev Fish Biol Fisheries* **2012**, 22, 11-16.
51. Gardner, S.L.; Campbell, M.L. Parasites As Probes for Biodiversity. Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology. University of Nebraska, Lincoln, **1992**.
52. Ghigliotti, L.; Mazzei, F.; Ozouf-Costaz, C.; Bonillo, C.; Williams, R.; Cheng, C.; Pisano, E. The two giant sister species of the Southern Ocean, *Dissostichus eleginoides* and *Dissostichus mawsoni*, differ in karyotype and chromosomal pattern of ribosomal RNA genes. *Polar Biol* **2007**, 30, 625-634.
53. Gibson, D.; Bray, R. The Hemiuridae (Digenea) of fishes from the North-east Atlantic. *Bull Brit Mus (Natural History)* **1986**, 51, 1-125.
54. Goldschmidt-Clermont, E; Wahli, T.; Frey, J.; Burr, S.E. Identification of bacterial from the normal flora of perch *Perca fluviatili* L. and evaluation of their inhibitory potential towards *Aeromonas* species. *J Fish Dis* **2008**, 31, 353-359.
55. Goldsworthy, S.D.; He, X.; Tuck, G.N.; Lewis, M.; Williams, R. Trophic interactions between the Patagonian toothfish, its fishery, and seals and seabirds around Macquarie Island. *Mar Ecol Progr Ser* **2001**, 218, 283-302.

56. Goldsworthy, S.D.; Lewis, M.; Williams, R.; He, X.; Young, J.W.; van den Hoff, J. Diet of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) around Macquarie Island, South Pacific Ocean. *Mar Fresh Res* **2002**, 53, 49-57.
57. Gon, O.; Heemstra, P.C. Fishes of the Southern Ocean. J. L. B. Smith Institute of Ichthyology. Grahamstown, South Africa, **1990**.
58. González-de la Cruz, J.U.; Delfín-González, H.; de la Cruz-Leyva, M.C.; Rojas-Herrera, R.A.; Zamudio-Maya, M. Protocolo para la extracción de ADN metagenómico bacteriano del langostino *Macrobrachium carcinus* L. *Trop Subtrop Agroec* **2011**, 14, 875-883.
59. González, J.; Saiz, C. Application of molecular nucleic acid-based techniques for the study of microbial communities in monuments and artworks. *Int Microbiol* **2005**, 8:189-194.
60. Hilje, L. Simbiosis: Consideraciones tecnológicas y evolutivas. *Uniciencia* **1984**, 1(1), 57-60.
61. Holmes, J.C.; Price, P.W. Communities of Parasites. In: Anderson, D.J. and Kikkawa, J., Eds., Community Ecology: Patterns and Processes, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 187-213, **1986**.
62. Holben, W.E.; Williams, P.; Gilbert, M.A.; Saarinen, M.; Sarkilahti, L.K.; Apajalahti, J.H. Phylogenetic analysis of intestinal microflora indicates a novel *Mycoplasma* phylotype in farmed and wild salmon. *Microb Ecol* **2002**, 44, 175-185.
63. Horn, P.L. 2002. Age and growth of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) and Antarctic toothfish (*D. mawsoni*) in waters from the New Zealand subantarctic to the Ross Sea, Antarctica. *Fish Res* **2002**, 56, 275-287.
64. Hovda, M.B.; Lunestad, B.T.; Sivertsvik, M.; Rosnes, J.T. Characterisation of the bacterial flora of modified atmosphere packaged farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) by PCR–DGGE of conserved 16S rRNA gene regions. *Int J Food Microbiol* **2007**, 117, 68-75.

65. Huber, I., Spanggaard, B.; Appel, K.; Rossen, L.; Nielsen, T.; Gram, L. Phylogenetic analysis and in situ identification of the intestinal microbial community of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *J Appl Microbiol* **2004**, 96, 117-132.
66. Jensen, S.; Bergh, Ø; Enger, Ø.; Hjeltnes, B. Use of PCR-RFLP for genotyping 16S rRNA and characterizing bacteria cultured from halibut fry. *Can J Microbiol* **2002**, 48, 379-386.
67. Jensen, S.; Øvrea's, L.; Bergh, Ø.; Torsvik, V. Phylogenetic analysis of bacterial communities associated with larvae of the Atlantic halibut propose succession from a uniform normal flora. *Syst Appl Microbiol* **2004**, 27, 728-736.
68. Khan, N.H.; Ishii, Y.; Kimata-Kino, N.; Esaki, H.; Nishino, T.; Nishimura, M.; Kogura, K. Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. *Microb Ecol* **2007**, 53, 173-186.
69. Kim, D.; Brunt, J.; Austin, B. Microbial diversity of intestinal contents and mucus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J App Microbiol* **2007**, 102(6), 1654-1664.
70. Kock, K.H.; Pshenichnov, L.K.; Devries, A.L. Evidence for egg brooding and parental care in icefish and other notothenioids in the Southern Ocean. *Antarc Sci* **2006**, 18: 223-227.
71. Laptikhovsky, V.; Brickle, P. The Patagonian toothfish fishery in Falkland Islands' waters. *Fish Res* **2005**, 74, 11-23.
72. Laptikhovsky, V.; Arkhipkin, A.; Brickle, P. Distribution and reproduction of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* Smitt around the Falkland Islands. *J. Fish Biol* **2006**, 68, 849-861.
73. Llewellyn, M.S.; Boutin, S.; Hossein, S.; Derome, N. Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries. *Front Microb* **2014**, 5, 207.

74. López, A.; Zaballos, M. Diversidad y actividad procariótica en ecosistemas marinos. *Ecosistemas* **2005**, 14(2), 30-40.
75. Lyautey, E.; Lacoste, B.; Ten-Hage, L.; Rols, J.L.; Garabetian, F. Analysis of bacterial diversity in river biofilms using 16S rDNA PCR-DGGE: methodological settings and fingerprints interpretation. *Wat Res* **2005**, 39, 380-388.
76. MacCormack, W.P.; Fraile, E.R. Bacterial flora of newly caught Antarctic fish *Notothenia neglecta*. *Polar Biol* **1990**, 10(6), 413-417.
77. MacKenzie, K. Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update. *Parasitol* **2002**, 124, S153-S163.
78. Madrid, V.; Rivera, A.; Fernández, I. Prevalencia de larvas de Anisakidae (Nematoda: Ascaridoidae) en musculatura de merluza chilena, *Merluccius* sp. comercializada en Concepción, Chile, en distintos períodos. *Parasitol Latinoam* **2016**, 65(4), 27-31.
79. Magurran, A.E. Measuring biological diversity. An index of diversity. Blackwell Publishing. Oxford, UK. **2004**.
80. Marcogliese, D.J.; Cone, D.K. Food webs: a plea for parasites. *Trends Ecol Evol* **1997**, 12, 320-325.
81. Martin-Laurent, F.; Philippot, L.; Hallt, S.; Chaussod, R.; Germon, J.C.; Soulas, G. DNA extraction from soils: old bias for new microbial diversity analysis methods. *App Environ Microbiol* **2001**, 67, 2354-2359.
82. Medellín-Mora, J.; Escribano, R.; Schneider, W. Community response of zooplankton to oceanographic changes (2002-2012) in the central/southern upwelling system of Chile. *Progr Oceanography* **2016**, 142, 17-29.

83. Menzies, R.J. The zoogeography, ecology, and systematics of the Chilean marine isopods. Reports of the Lund University Chile Expedition 1948-49, 42. *Lunds Universitets Årsskrifter* **1962**, 57, 1-162.
84. Mercado, R.; Apt, W.; Castillo, D.; Akira, K.; Hiroshi, Y.; Toshiaki, K. *Hepatoxylon trichiuri*. Identificación molecular de un nuevo agente de parasitosis humana en Chile. *Parasitol Latinoam* **2015**, 52.
85. Moore, J. Some roles of parasitic helminths in trophic interactions. A view from North America. *Rev Chile Hist Nat* **1987**, 60, 159-179.
86. Moreno, C.R.; Hucke-Gaete, R.; Arata, J. Interacción de la pesquería del bacalao de profundidad con mamíferos y aves marinas. Informe final Proyecto FIP N° 2001-31. Universidad Austral de Chile, **2003**.
87. Moser, M. Parasites as biological tags. *Parasitol Today* **1991**, 7, 182-185.
88. Moller, P.R.; Nielsen, J.G.; Fossen, I. Fish migration: Patagonian toothfish found off Greenland. *Nature* **2003**, 421, 599.
89. Murillo, C.; Oyarzún, C.; Fernández, I. Variación latitudinal y estacional en la dieta de *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Perciformes: Nototheniidae) en ambientes profundos de la costa centro-sur de Chile. *Gayana* **2008**, 72(1): 94-101.
90. Murillo, C.; Oyarzún, C. Variación ontogenética en la dieta de *Patagonotothen longipes* (Steindachner 1876) (Perciformes: Nototheniidae) en el fiordo de Castro, Chiloé. *Gayana* **2002**, 66(2), 219-224.
91. Navarrete, P.; Espejo, R.; Romero, J. Molecular analysis of microbiota along the digestive tract of juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). *Microb Ecol* **2009**, 57, 550-561.

92. Navarrete, P.; Magne, F.; Mardones, P.; Riveros, M.; Opazo, R.; Suau, A.; Pochart, P.; Romero, J. Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *FEMS Microbiol Ecol* **2010**, 71(1), 148-156.
93. Nayak, S.K. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquacult Res* **2010**, 41, 1553-1573.
94. Noble, E. Parasites and fishes in a deep-sea environment. *Adv Mar Biol* **1973**, 11, 121-195.
95. North, A.W. Larval and juvenile distribution and growth of Patagonian toothfish around South Georgia. *Antarct Sci* **2002**, 14, 25-31.
96. Oliva, M.E. Metazoan parasites of *Macruronus magellanicus* from southern Chile as biological tags. *J Fish Biol* **2001**, 58, 1617-1622.
97. Oliva, M.; Fernández, I.; Oyarzún, C.; Murillo, C. Metazoan parasites of the stomach of *Dissostichus eleginoides* Smitt 1898 (Pisces: Nototheniidae) from southern Chile: A tool for stock discrimination? *Fish Res* **2008**, 91, 119-122.
98. Oyarzún, C.; Campos, P.; Valeria, H. Adaptaciones para la flotabilidad en *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces, Perciformes, Nototheniidae). *Inv Pesq (España)* **1988**, 52(4), 455-466.
99. Oyarzún, C. Catálogo de los peces presentes en el sistema de corrientes de Humboldt frente a Chile centro-sur. Departamento de oceanografía. Sección Pesquerías. Facultad de Ciencias naturales y oceanográficas. Universidad de Concepción. **2001**.
100. Oyarzún, C. Catálogo de los peces presentes en el sistema de corrientes de Humboldt frente a Chile centro sur. Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Concepción, **2003**.

101. Oyarzún, C.; Gacitúa, S.; Araya, M.; Cubillos, L.; Galleguillos, R.; Pino, C.; Aedo, G.; Salamanca, M.; Pedraza, M.; Lamilla, J. Monitoreo de la pesquería artesanal de bacalao de profundidad entre la VIII y IX Regiones. Informes Técnicos FIP-IT/2001-16. **2003**.
102. Oyarzún, C.; Campos, P. *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898: Consideraciones sobre su determinación taxonómica e implicancias biogeográficas (Pisces, Perciformes, Nototheniidae). *Rev Biol Mar Valparaíso* **1987**, 23, 173-192.
103. Pakhomov, E.A.; Bushula, T.; Kaehler Watkins, S.; Leslie, R.W. Structure and distribution of the slope fish community in the vicinity of the sub-Antarctic Prince Edward Archipelago. *J Fish Biol* **2006**, 68, 1834-1866.
104. Payne, A.; Agnew, D.; Brandão, A. Preliminary assessment of the Falklands Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) population: Use of recruitment indices and the estimation of unreported catches. *Fish Res* **2005**, 344-358.
105. Pequeño, G. Peces de Chile. Lista sistemática revisada y comentada. *Rev Biol Mar Valparaíso* **1989**, 25(2), 1-133.
106. Pilling, G.M.; Purves, M.G.; Daw, T.M.; Agnew, D.A.; Xavier, J.C. The stomach contents of Patagonian toothfish around South Georgia (South Atlantic). *J Fish Biol* **2001**, 59, 1370-1384.
107. Pond, M.; Stone, D.; Alderman, D. 2006. Comparison of conventional and molecular techniques to investigate the intestinal microflora of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **2006**, 261, 194–203.
108. Prenski, L.B.; Almeyda, S.M. Some biological aspects relevant to Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) exploitation in the Argentine Exclusive Economic Zone and adjacent ocean sector. *Frent Mar* **2000**, 18(A), 103-124.
109. Purdy, K.J.; Nedwell, D.B.; Embley, T.M. Analysis of the sulfate-reducing bacterial and methanogenic Archaeal populations in contrasting Antarctic sediments. *App Environ Microbiol*

2003, 69, 3181-3191.

110. Rantsiou, K.; Dolci, P.; Cocolin, L. Molecular methods to assess *Listeria monocytogenes* route of contamination in a dairy plant. *Int J Food Microbiol* **2010**, 141, S156-S162.

111. Ringø E.; Sperstad, S.; Myklebust, R.; Refstie, S.; Krogdahl, Å. Characterisation of the microbiota associated with the intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). The effect of fish meal, soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture* **2006**, 481, 829-884.

112. Rodríguez, L.; George-Nascimento, M. La fauna de parásitos metazoos del bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces:Nototheniidae) en Chile central: aspectos taxonómicos, ecológicos y zoogeográficos. *Rev Chil Hist Nat* **1996**, 69, 21-33.

113. Rogers, A.D.; Morley, S.; Fitzcharles, E.; Jarvis, K.; Belchier, M. Genetic structure of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) populations on the Patagonian Shelf and Atlantic and western Indian Ocean Sectors of the Southern Ocean. *Mar Biol* **2006**, 149, 915-924.

114. Rohde, K. Marine Parasitology. CABI publishing, Wallingford. United Kingdom, **2005**.

115. Sánchez, S.; Dettai, A.; Bonillo, C.; Ozouf-Costaz, C.; Detrich, H.; Lecointre, G. Molecular and Morphological phylogenies of the Antarctic teleostean family Nototheniidae, with emphasis on the Trematominae. *Polar Biol* **2007**, 30, 155-166.

116. Sánchez-Monzálvez, I.; de Armas-Serra, I.; Bernadina, W.; Rodríguez-Caabeiro, F. Freezing infective-stage larvae from *Anisakis simplex* and their produce at -20 degrees C for 24 h does not prevent the occurrence of autonomic imbalance in rat ileum. *Parasitol Res* **2006**, 99, 262-268.

117. Sancho, A.; Ortiz-Von Halle, B.; Naranjo, N. La pesca y el comercio de bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* en América del sur: Una perspectiva regional. Informe de la red Traffic. **2003**.

118. Scapigliati, G.; Fochetti, R.; Tiberi, M.; Mazzini, M. Morphological and flow cytometric characterization of leukocytes from the notothenioid teleosts *Dissostichus eleginoides*, *Notothenia coriiceps*, and *Trematomus hansonii*. *Pol Biol* **2006**, 29: 872-877.
119. Schiøedte, J.C.; Meinert, F. Symbolae ad monographiam *Cymathoarum Crustaceorum* Isopodum familiae. *Natur Tidss* **1879**, 12, 321-414.
120. Schluter, D. The Ecology Of Adaptive Radiation. Oxford University Press, Oxford, **2000**.
121. Schut, F.; Prins, R.A.; Gottschal, J.C. Oligotrophy and pelagic marine bacteria: facts and fiction. *Aquat Microb Ecol* **1997**, 12, 177-202.
122. Sedláček, I.; Staðková, E.; Švec, P. Composition of cultivable enteric bacteria from the intestine of Antarctic fish (family Nototheniidae). *Czech J An Sci* **2016**, 61(3), 127-132.
123. Shaw, P.W.; Arkhipkin, P.W.; Al-Khairulla, H. Genetic structuring of Patagonian toothfish populations in the Southwest Atlantic Ocean: the effect of the Antarctic Polar Front and deep-water troughs as barriers to genetic exchange. *Mol Ecol* **2004**, 13, 3293-3303.
124. Smith, J.; Wootten, R. Anisakis and anisakiasis. *Adv Parasitol* **1978**, 16, 93-163.
125. Soulsby, E.J.L. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos, 7a edición. Nueva Editorial Interamericana, México D.F., **1987**.
126. Spanggaard, B.; Huber, I.; Nielson, J.; Nielson, T.; Appel, K.F.; Gram, L.; The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification. *Aquaculture* **2000**, 182, 1-15.
127. Subsecretaria de Pesca. Cuota Global Anual de Captura de Bacalao de profundidad (*Dissostichus eleginoides*), al Sur del paralelo 47° LS, Año 2006. Informe Técnico (R.Pesq.) N° 94/2005, **2005**.

- 128.** Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Control Cuota Pesquería Bacalao de Profundidad (*Dissostichus eleginoides*), año 2019. Informe Final, **2020**.
- 129.** Torres, P.; Hernández E.; Sandoval, I. Anisakiasis and phocanemiasis in marine fishes from south of Chile. *Int J Zoon* **1983**, 10, 146-150.
- 130.** Torsvik, V.; Ovreas, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr Opin Microbiol* **2002**, 5, 240-245.
- 131.** Tortora, G.; Funke, B.; Case, C. Introducción a la microbiología. Ed. Médica Panamericana, **2007**.
- 132.** Tuck, G.N.; de la Mare, W.K.; Hearn, W.S.; Williams, R.; Smith, A.D.M.; He, X.; Constable, A. An exact time of release and recapture stock assessment model with an application to Macquarie Island Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*). *Fish Res* **2003**, 63, 179-191.
- 133.** Urtubia, R.; Gallardo, P.; Cárdenas C; Lavin P.; González-Aravena, M. First characterization of gastrointestinal culturable bacteria of Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* (Nototheniidae). *Rev Biol Ocean* **2017**, 52(2), 399-404.
- 134.** Vaughan, E.; Schut, F.; Heilig, H.; Zoetendal, E.; De Vos, W.; Akkermans, A. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr Iss Intest Microbiol* **2000**, 1, 1-12.
- 135.** Van de Hoff, J. A comparative study of the cephalopod prey of Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) and southern elephant seals (*Mirounga leonina*) near Macquarie Island. *Pol Biol* **2004**, 27, 604-612.
- 136.** Walter, J.; Tannock, G.W.; Tilsala-Timisjarvi, A.; Rodtong, S.; Loach, D.M.; Munro, K.; Alatossava, T. Detection identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species specific PCR primers. *App Environ Microbiol* **2000**, 66, 297-303.

137. Walter, T.; Palm, H.W.; Piepioka, S.; Rückert, S. Parasites of the Antarctic rattail *Macrourus whitsoni* (Regan, 1913) (Macrouridae, Gadiformes). *Polar Biol* 2002, 25, 633-641.
138. Ward, N.L.; Steven, B.; Penn, K.; Methé, B.A.; Detrich, W.H. Characterization of the intestinal microbiota of two Antarctic notothenioid fish species. *Extremophiles* 2009, 13(4), 679-685.
139. Weimerskirch, H.; Cherel, Y.; Cuenot-Chaillet, F.; Ridoux, V. Alternative Foraging Strategies and Resource Allocation by Male and Female Wandering Albatrosses. *Ecology* 1997, 78, 2051-2063.
140. Williams, H.; Mackenzie, K.; McCarthy, M. Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet, and phylogenetics of fish. *Rev Fish Biology and Fish* 1992, 2, 144-176.
141. Xavier, J.C.; Rodhouse, P.G.; Purves, M.G.; Daw, T.M.; Arata, J.; Pilling, G.M. Distribution of cephalopods recorded in the diet of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides*) around South Georgia. *Pol Biol* 2002, 323-330.
142. Young, Z.; Zuleta, A.; Robotham, H.; Aguayo, M.; Cid, L. Evaluación del stock de bacalao de profundidad entre las latitudes 47°S y 57°S. Informe Técnico. IFOP SUBPESCA, 1992.
143. Young, Z.; Robotham, H.; Gili, R. Evaluación de la pesquería y del stock de bacalao de profundidad al sur del paralelo 47° L.S. Informe Final FIP-IFOP, 1996.
144. Young, Z.; González, H.; Gálvez, P. Análisis de la pesquería de bacalao de profundidad en la zona sur-austral. Informe Final FIP-IFOP, 1998.
145. Young, Z.; Oliva, J.; Olivares, A.; Díaz, E. Aspectos reproductivos del recurso bacalao de profundidad en la I a X Regiones. Informe Final FIP-IFOP, 1999.

- 146.** Zdzitowiecki, K.; Rocka, A.; Pisano, E.; Ozouf-Costaz, C. A list of fish parasitic worms collected off Adelie Land (Antarctic). *Act Parasitol* **1998**, 43(2), 71-74.
- 147.** Zdzitowiecki, K. Digeneans of the families Opcoelidae and Lepocreadiidae, parasites of *Lepidonotothen macrophthalma* from the North Scotia Ridge, and remarks on the discrimination of *Neolepidapedon magnatestis* and *N. trematomi*. *Acta Parasitol* **1999**, 44(4), 233-240
- 148.** Zengler, K.; Toledo, G.; Rappé, M.; Elkins, J.; Mathur, E.J.; Short, J.M.; Séller, M. Cultivating the uncultured. *Proc Nat Acad Sci* **2002**, 99, 5681-5686.
- 149.** Zuleta, A.; Young, Z. Investigación CTP de bacalao de profundidad al sur 47°L.S., 2000. SUBPESCA. Informe Final, IFOP, **1999**.



CAPÍTULO X

ANEXOS



Proyecciones

Los resultados obtenidos en este trabajo abren la necesidad de seguir indagando en los aspectos microbiológicos y parasitarios de *D. eleginoides*. Las siguientes preguntas surgen luego de los resultados obtenidos

En el ámbito parasitario

1. ¿Existe un gradiente latitudinal, expresado en la magnitud del parasitismo en aguas de Chile?
2. ¿En qué grado el recambio de copépodos ha generado un aumento en la oferta de anisakidosis hacia *D. eleginoides* y otros peces teleósteos?
3. ¿Qué especie de anisákidos, determinadas por estudios moleculares, parasitan a *D. eleginoides*?



En el ámbito bacteriano

4. ¿Es distinta la estructura de la comunidad bacteriana en ejemplares que habitan al sur de la convergencia antártica?
5. ¿La comunidad bacteriana de *D. eleginoides* está afectada por el comportamiento batimétrico del pez?
6. ¿Existen especies patógenas de *D. eleginoides*, las cuales pueden afectar el cultivo del pez y tener un comportamiento zoonótico?

Sobre el autor

Italo Antonio Fernández Fonseca, Candidato a Doctor en Ciencias con mención en Microbiología, Magister en Ciencias con mención en Zoología, Parasitólogo con orientación en diagnóstico de enfermedades parasitarias en el ser humano y animales, además de investigación en enfermedades zoonóticas transmitidas por alimentos.

Artículos de investigación (2013-2021)

1. Campos, V.; Moraga, R.; Fernández, I.; Yáñez, F.; Valenzuela, A.; Mondaca, M.A. Reduction of Hexavalent chromium by *Serratia marcescens* immobilized on active carbon and their potencial use in bioremediation. *Gayana* **2013**, 77 (1), 60-63.
2. Luzio, A.; Espejo, S.; Troncoso, I.; Fernández, I.; Fischer, C. Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de *Canis lupus familiaris* diseminadas en playas de la comuna de Tomé, Región del Bío Bío, Chile. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol* **2013**, 72 (1), 88-94.
3. Troncoso, I.; Fernández, I.; Loyola, E.; Rojas, R.; Luzio, A.; Fischer, C.; Mellado, R. Parásitos gastrointestinales en doce especies de loros (Aves Psittacidae) mantenidas en cautiverio en un zoológico. *Rev Ibero-Latinoam Parasitol* **2013**, 72 (2), 190-194.
4. Villalobos, F.; Troncoso, I.; Loyola, E.; Robles, A.; Aguilar, J.; Fernández, I.; Luzio, A. Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de ofidios: *Boa constrictor* y *Python regius*. *Rev Cient FCV-LUZ* **2014**, 24 (5), 456-459.
5. Troncoso, I.; Arias, A.; Fernández, I.; Robles, A.; Fischer, C. Fauna parasitaria gastrointestinal en mascotas erizos de tierra (*Atelerix albiventris*) pertenecientes a diferentes ciudades de la región del Bío Bío, Chile. *Parasitol Latinoam* **2015**, 64 (1), 18-21.

6. Troncoso, I.; Fernández, I.; Robles, A.; Sepúlveda, E.; Fischer, C.; Barrientos, C.; Villalobos, F.. Determinación coproscópica de formas parasitarias en heces de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) pertenecientes a la comuna de Concepción, Chile. *Parasitol Latinoam* **2015**, 64 (2), 54-59.
7. Luzio, A.; Undiks, S.; Troncoso, I.; Luzio, P.; Fernández, I. Formas parasitarias de importancia zoonótica, en heces de perros de playas de la ciudad de La Serena, Chile. *Parasitol Latinoam* **2015**, 64 (2), 61-67.
8. Luzio, A.; Belmar, P.; Troncoso, I.; Luzio, P.; Jara, A.; Fernández, I. Formas parasitarias de importancia zoonótica, encontradas en heces de perros recolectadas desde plazas y parques públicos de la ciudad de Los Ángeles, Región del Bío Bío, Chile. *Rev Chile Infectol* **2015**, 32 (4), 403-407.
9. Fernández, I.; Retamal, M.; Mansilla, M.; Yáñez, F.; Campos, V.; Smith, C.; Puentes, G.; Valenzuela, A.; González, H. Analysis of epibiont data in relation with the Debilitated Turtle Syndrome of sea turtles in *Chelonia mydas* and *Lepidochelys olivacea* from Concepción coast, Chile. *Lat Am J Aquat Res* **2015**, 43(5), 1024-1029.
10. Madrid, V.; Rivera, A.; Fernández, I. Prevalencia de larvas de anisakidae (Nematoda: Ascaridoidae) en musculatura de merluza chilena, *Merluccius* sp. comercializada en Concepción, Chile. *Parasitol Latinoam* **2016**, 65(4), 27-31.
11. Fernández, I.; Rojas, J.; Herrera, F. Pentastomiasis canina ocasionada por *Linguatula serrata* (Porocephalida: Linguatulidae) en Concepción, Chile. Reporte de caso. *Parasitol Latinoam* **2015**, 65 (2), 23-28.

12. Fernández, I.; Oyarzún, C.; Valenzuela, A.; Burgos, C.; Guaquín, V.; Campos, V. Parásitos del pez luna *Mola mola* (Pisces: Molidae). Primer registro en aguas de la costa centro sur de Chile. *Gayana* **2016**, 80(2), 192-197.
13. Suárez-Roa, P.; Madrid, V.; Fernández, I. Dipilidiosis humana en Concepción. Reporte de caso y revisión de claves diagnósticas en el laboratorio. *Parasitol Latinoam* **2016**, 65 (3), 36-40.
14. Fernández, I.; Loyola, M.; Mansilla, M.; Schifferli, C.; Opazo, A. Primera descripción de sarcocistosis muscular en *Lagenorhynchus obscurus* (Cetacea: Delphinidae) en aguas de la costa centro-sur de Chile. *Parasitol Latinoam* **2017**, 66(1), 15-20.
15. Fernández, I.; Suárez-Roa, P.; Madrid, V. Revisión de claves para diagnóstico diferencial de larvas de nematodos, a propósito de un caso de eliminación de estado juvenil de *Ascaris lumbricoides* en Concepción, Chile. *Parasitol Latinoam* **2017**, 66 (1), 15-20.
16. Fernández, I., Mihovilovich, A. A cien años del inicio de la Gran Guerra: brote de triquinosis en marinos del Dresden en Chile. Crónica de una infección anunciada. *Rev Chile Infectol* **2017**, 34 (2), 176-180.
17. Luzio, A.; Díaz, P.; Luzio, P.; Fernández, I. Formas parasitarias gastroentéricas de importancia zoonótica, en heces de perros recolectadas en plazas de armas de las capitales provinciales de la Región del Bío Bío, Chile. *Rev Electrón Vet* **2017**, 18 (9), 1-10.
18. Fernández, I.; Loyola, M.; Mansilla, M. Primer Registro de *Phyllobothrium delphini* (Cestoda: Phyllobothridae) en el delfín chileno *Cephalorhynchus eutropia* (Cetacea: Delphinidae) en aguas de la costa centro-sur de Chile. *Parasitol Latinoam* **2018**, 67(1), 16-22.

19. Fernández, I.; Moraga, R.; Yáñez, F.; Mansilla, M.; Smith, C.; Campos, V. Gastrointestinal helminths of wild Humboldt penguins *Spheniscus humboldti* (Meyen, 1834) from the south-central coast of Chile. *Lat Am J Aquat Res* **2019**, 47(1), 206-211.
20. Opazo, A.; Barrientos, C.; Sanhueza, A.; Urrutia, N.; Fernández, I. Fauna parasitaria en caninos (*Canis lupus familiaris*) de un sector rural de la región central de Chile. *Rev Inv Vet Perú* **2019**, 30(1), 330-338.
21. Ravanal, J.; Moraga, R.; León, C.; Fernández, I.; Riquelme, R.; Hernández, V.; Yáñez, J.; Smith, C.; Mondaca, M.; Campos, V. Characterization of an anaerobic bacterial consortium isolated from chicken manure capable to degrade organoarsenic compound into inorganic arsenic and methane. *Glob Adv Res J* **2019**, 8(6), 185-193.
22. Troncoso, I.; Fischer, C.; Valenzuela, S.; Fernández, I.; Robles, A.; Villalobos, F.; González-Acuña, D. Detección de parásitos gastrointestinales en hurones (*Mustela putorius furo*) mediante análisis coprológico. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 30 (3): 1234-1239. 2019
23. Ramírez-Pizarro, F.; Silva, C.; Ortega, R.; López, J.; Madrid, V.; Fernández, I.; Martín, N.; González-Acuña, D.; Landaeta-Aqueveque, C. Parasites and pathogens in the American mink in its southernmost distribution. *Vector-Born Zoon Dis* **2019**, 19(12), 908-914.
24. Suárez, P.; Yáñez, M.; Fernández, I.; Madrid, V. Detección de ooquistes de *Cryptosporidium parvum* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) en ejemplares de cholga *Aulacomya ater*, extraídas desde la costa de la Región del Bío Bío, Chile. *Rev Chile Infectol* **2020**, 37 (3), 243-248.
25. Castro-Seriche, S.; Fernández, I.; Landaeta-Aqueveque, C. Factors associated with the presence of helminth eggs in the soil of public areas in Concepción, Chile. *Braz J Vet Parasitol* **2020**, 29(3), e003120.

26. Cuevas, J.P., Moraga, R.; Sánchez-Alonzo, K.; Valenzuela, C.; Aguayo, P.; Smith, C.; García, A.; Fernández, I.; Campos, V. Characterization of the Bacterial Biofilm Communities Present in Reverse-Osmosis Water Systems for Haemodialysis. *Microorganism* **2020**, 8, 14-18.
27. Villalobos, F.; Troncoso, I.; Fischer, C.; Varas, J.; Fernández, I. Determinación de parásitos en heces de tortugas de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) en cautiverio provenientes de la región del Maule, Chile. *Rev Inv Vet Perú* **2020**, 31(3), e18728.
28. Fernández, I.; de Los Ríos-Escalante, P.; Retamal, M.A.; Valenzuela, A.; Oyarzún, C.; Campos, V. First record of *Rocinela* aff. *australis* (Isopoda, Aegidae) in the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides* (Pisces, Nothotenidae) from southern Chile. *Crustaceana* **2021**, 94, 227-234.



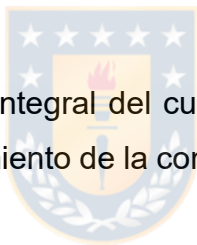
Artículos en revisión

1. Fernández, I.; Moraga, R.; Yáñez, F.; Mansilla, M.; Smith, C.; Campos, V. Gastrointestinal helminths of wild Magellanic penguins *Spheniscus magellanicus* (Foster, 1781) from the south-central coast of Chile.
2. Fernández, I.; Suárez, P.; Riquelme, M.F.; Madrid, V. Primer registro de anisakidiasis en un ejemplar de *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Anomura: Lithodidae) de la región de Magallanes, Chile.
3. Fernández, I.; Suárez, P.; Calderón, C.; Valenzuela, A. Primer registro de *Bolbosoma turbinella* (Acanthocephala: Phyllobothridae) en una ballena fin, *Balaenoptera physalus* (Cetacea: Balaenopteridae), varada en Talcahuano, costa centro-sur de Chile.

4. Fernández, I.; Campos, V. Surface ultrastructure of *Cardiocephalus physallis* (Digenea: Strigeidae) from Humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) and its associated pathological lesions.
5. Fernández, I.; Mansilla, M.; Campos, V. Trematodes of the genus *Renicola* in *Lepidochelys olivacea* (Reptilia: Cheloniidae) from the south-central coast of Chile.
6. Fernández, I.; Suárez, P. Campos, V. Cambio climático en el ambiente marino: ¿es la anisakidosis una evidencia factible?

Participación en proyectos

Nombre del proyecto: Fortalecimiento integral del cultivo de bacalao de profundidad para el escalamiento sustentable y el fortalecimiento de la competitividad del Clúster acuícola chileno. CORFO PTE



Asistencia a eventos científicos

1. Autores: Italo Fernández, Víctor Campos. Título: “Microbiología y parasitología de *Dissostichus eleginoides* capturados desde aguas de la costa centro-sur de Chile.”. Congreso digital de la Sociedad de Microbiología de Chile. Noviembre 2 al 4 2020. Concepción, Chile.
2. Autores: Italo Fernández, Patricio de los Ríos Ariel Valenzuela, Pilar Suárez Verónica Madrid, Víctor Campos. Título: “Fauna parasitaria en ejemplares de *Dissostichus eleginoides* (Pisces: Notothenidae) capturados en aguas de la zona centro-sur de Chile”. II Congreso Chileno de Parasitología. Diciembre 10 y 11 2020. Santiago, Chile.

3. Autores: Italo Fernández, Pilar Suárez, Jennifer Rivas, Verónica Madrid. Título: “Anisakidiasis en pescados frescos comercializados en la ciudad de Concepción, Región del Bío Bío, Chile. 2018”. XL Congreso Chileno de Medicina Interna. Septiembre 2 al 4 2019. Santiago, Chile.
4. Autores: Italo Fernández, Pilar Suárez, Jennifer Rivas, Verónica Madrid. Título: “Anisakidiasis en pescados frescos comercializados en la ciudad de Concepción, Región del Bío Bío, Chile. 2018”. XVII Jornadas Anuales de Parasitología. Diciembre 7 2018. Olmué, Chile.
5. Autores: Italo Fernández, Rubén Moraga, Miguel Mansilla, Víctor Campos. Título: “Parásitos gastrointestinales del pingüino de magallanes *Spheniscus Magellanicus* (Aves: Spheniscidae) de la costa centro sur de Chile”. XVII Jornadas Anuales de Parasitología. Diciembre 7 2018. Olmué, Chile.
6. Autores: Italo Fernández, Pilar Suárez, María Riquelme, Verónica Madrid. Título: “Primer registro de Anisakidiasis en un ejemplar de *Lithodes santolla* (Molina, 1782) (Anomura: Lithodidae) de la región de Magallanes, Chile”. FLAP XXIV Congreso Latinoamericano de Parasitología. Diciembre 10 al 14 2017. Santiago, Chile.
7. Autores: Italo Fernández, Marco Loyola, Miguel Mansilla; Carlos Schifferli. Título: “Hallazgo de *Phyllobothrium delphini* (Cestoda: Phyllobothridae) en delfín Chileno *Cephalorhynchus eutropia* (Cetacea: Delphinidae) de la costa centro-sur de Chile”. XIX Congreso Chileno de Medicina Veterinaria. Noviembre 7 al 9 2016. Pucón, Chile.
8. Autores: Italo Fernández, Marco Loyola, Miguel Mansilla; Carlos Schifferli. Título: “Hallazgo de Sarcocistosis muscular en *Lagenorhynchus obscurus* (Cetacea:Delphinidae) en aguas de la costa centro-sur de Chile. Reporte de caso y caracterización histopatológica. Informe Preliminar”. XIX Congreso Chileno de Medicina Veterinaria. Noviembre 7 al 9 2016. Pucón, Chile.