



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Biología Marina

PROFESOR PATROCINANTE
DR. JUAN CARVAJAL GARAY
CENTRO i ~ mar
UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

PROFESOR CO-PATROCINANTE
DR. CARLOS JARA SENN
INSTITUTO DE ZOOLOGÍA
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

“Selectividad del copepodito de *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae) frente a diferentes hospederos”

Tesis de Grado presentada como parte
de los requisitos para optar al Título
de Biólogo Marino

MARGARITA DEL PILAR GONZÁLEZ GÓMEZ

VALDIVIA – CHILE

2006

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi familia, quienes han estado a mi lado toda mi vida y sobre todo en esta última etapa que ha sido de gran importancia para mí y que sin su ayuda no lo podría haber logrado. A mis padres, quienes con gran esfuerzo me han ayudado a obtener esta hermosa carrera; el presente estudio es el reflejo de las enseñanzas que me han entregado, para enfrentar los retos que se me han presentado en el curso de este año.

A Rodrigo, que gracias a su incondicional apoyo y amor, he aprendido uno de los aspectos más importantes de la vida, la perseverancia, como también a enfrentar los retos y superar los problemas con entereza y sobre todo, a confiar en mi misma.

A mi gran amiga del alma Gretel, que sin su confianza y compañía no habría superado las etapas más difíciles en el transcurso de mis estudios, como también, a Verónica, por la amistad, el apoyo y sobretodo, la alegría, ingrediente fundamental para el desarrollo de este trabajo. También a todos los integrantes del gran “Team *Caligus*”.

También agradecer a mis profesores, Gladys Asencio, por su conocimiento, cariño y comprensión, al Profesor Juan Carvajal por su confianza y sabiduría. Gracias por darme la oportunidad de desarrollar este hermoso trabajo, como también por la amplia gama de conocimientos y profesionalismo que me demostraron en el transcurso de este año.

Al Profesor Guillermo Riffart y la Sra. Isabel Olivares, por el conocimiento, ayuda y paciencia, que fortalecieron este trabajo con las herramientas para el análisis histológico, como también al Dr. Marcelo Bobadilla, por los conocimientos estadísticos y apoyo, elementos fundamentales en este trabajo.

INDICE GENERAL

Indice general.....	1
Indice de tablas.....	2
Indice de figuras.....	3
Agradecimientos.....	5
Resumen.....	6
Abstract.....	7
Introducción.....	8
Hipótesis.....	13
Objetivo general y Objetivos específicos.....	13
Material y Método.....	15
A.- Sitio de estudio y recolección de muestras.....	15
B.- Experimentos de fijación de copepoditos en diferentes especies hospederas... 16	
1) Rapidez y selectividad de sitio de fijación en cuatro especies hospederas.....	16
2) Selectividad de especies hospederas.....	18
C.- Descripción de la estructura del Filamento de Fijación (Análisis histológico). 19	
Resultados.....	23
- Experimento de fijación de copepoditos en diferentes especies hospederas.....	23
1.- Rapidez en distintas especies hospederas.....	23
2.- Selectividad de sitio en distintas especies hospederas.....	24
3.- Selectividad de especie hospedera.....	25
- Descripción de la estructura y morfología del filamento de fijación.....	26
Discusión.....	29
Conclusiones.....	37
Referencias.....	39
Figuras y Tablas.....	44

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Porcentajes de formación del filamento de fijación promedio con su desviación típica para cada especie hospedera por día de experimentación.....	48
Tabla 2.- Resumen del análisis de covarianza realizado para las especies <i>O. kisutch</i> , <i>O. mykiss</i> , <i>S. salar</i> y <i>H. sordidus</i> de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.....	49
Tabla 3.- Resumen de la prueba estadística de Tukey aplicada para las especies <i>O. kisutch</i> , <i>O. mykiss</i> , <i>S. salar</i> y <i>H. sordidus</i> de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.....	49
Tabla 4.- Porcentajes promedio de fijación y su desviación típica por zonas en el cuerpo de las cuatro especies hospederas después de 5 días de exposición para la selección de sitio.....	52
Tabla 5.- Resumen del ANOVA realizado en el experimento de selectividad de sitio para cada especie hospedera.....	52
Tabla 6.- Porcentaje de copépodos fijados en los peces hospederos en el experimento de selectividad de especie hospedera.....	53
Tabla 7.- Resumen del ANOVA realizado en el experimento de selectividad para los tratamientos 1 (<i>O. mykiss</i> versus <i>S. salar</i>) y 2 (<i>O. kisutch</i> versus <i>S. salar</i>).....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Ubicación geográfica de la zona de muestreo y estudio, Puerto Montt, X Región, Chile.....	45
Figura 2.- Diseño experimental para la determinación de la rapidez y selectividad de sitio de fijación de copepoditos de <i>Caligus rogercresseyi</i> en cuatro especies hospederas (A: <i>Salmo salar</i> ; B: <i>Oncorhynchus mykiss</i> ; C: <i>Oncorhynchus kisutch</i> ; D: <i>Hypsoblennius sordidus</i>).....	45
Figura 3.- Etapas de formación del filamento frontal en copepoditos de <i>Caligus rogercresseyi</i> ; a) temprano, c) avanzado, (Tomado de Piasecki & MacKinnon, 1992), d) terminal, s/f) sin filamento (Tomado de Farías, 2005).....	46
Figura 4.- Diseño experimental para la determinación de selectividad de especie hospedera por parte del copepodito de <i>C. rogercresseyi</i> (A: <i>Salmo salar</i> ; B: <i>Oncorhynchus kisutch</i> o <i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	46
Figura 5.- Porcentaje de fijación de los copepoditos de <i>Caligus rogercresseyi</i> para cada una de las especies obtenidos a partir del experimento de rapidez y selección de sitio.....	47
Figura 6.- Pendientes y parámetros obtenidos a partir del análisis de regresión lineal, correspondientes a las especies <i>O. kisutch</i> , <i>O. mykiss</i> , <i>S. salar</i> y <i>H. sordidus</i> de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.....	50
Figura 7.- Pendientes obtenidas a partir del análisis de regresión lineal, correspondientes a las especies <i>O. kisutch</i> , <i>O. mykiss</i> , <i>S. salar</i> y <i>H. sordidus</i> de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.....	51
Figura 8.- Porcentajes de fijación de copepoditos por zonas para las especies hospederas <i>O. mykiss</i> , <i>O. kisutch</i> , <i>S. salar</i> y <i>H. sordidus</i> , a partir del experimento de rapidez y selectividad de sitio.....	53
Figura 9.- Registro fotográfico del extremo distal del filamento frontal presente en <i>Caligus rogercresseyi</i>	54
Figura 10.- Detalle de la placa basal que utiliza <i>Caligus rogercresseyi</i> para fijarse a las estructuras duras del pez; A: Chalimus I, B: Zona de contacto, placa basal a cartílago.....	55

Figura 11.- Registro fotográfico del filamento frontal en el estadio chalimus I, observación del halo de fijación en el sitio de inserción del filamento.....	55
Figura 12.- Filamento frontal dentro del cuerpo del copepodito avanzado.....	56
Figura 13.- Filamento frontal de fijación dentro del cuerpo de copepodito, nivel de desarrollo temprano.....	56
Figura 14.- Formación del filamento frontal de fijación en el nivel de desarrollo avanzado; a) vista frontal; b) vista lateral.	57
Figura 15.- Formación del filamento de fijación en nivel de desarrollo terminal en el estadio copepodito de <i>Caligus rogercresseyi</i>	57
Figura 16.- Estadio chalimus I, nivel de desarrollo previo a la metamorfosis a chalimus II.....	58
Figura 17.- Estadio chalimus I, nivel de desarrollo previo a la metamorfosis a chalimus II. La flecha indica la aparición de primer paquete de lóbulos.....	58
Figura 18.- Corte transversal de un filamento de fijación de <i>Caligus rogercresseyi</i>	59
Figura 19.- Corte transversal de la región anterior del cefalotórax del estadio copepodito terminal.....	59

RESUMEN

Caligus rogercresseyi es el parásito dominante que afecta la industria del salmón y trucha en el sur de Chile. Estudios realizados anteriormente demostraron que la trucha arcoiris es siempre más susceptible que el salmón coho y Atlántico frente a calígidos. Se sugiere que puede deberse a un asentamiento selectivo por parte de los copepoditos. Para evaluar este tipo de respuesta, el presente estudio comprende la determinación de la rapidez de fijación en diferentes especies; la determinación de 2 tipos de selectividad y la descripción de la estructura y formación del filamento de fijación. Para la determinación de rapidez y selectividad de sitio, se expuso el estadio copepodito frente a un tipo de pez hospedero. Para la selectividad por hospedero, se expuso el copepodito frente a dos especies hospederas distintas en un estanque dividido. Para la selectividad, se cuantificó la carga parasitaria de los peces y para la rapidez se consideró la mortalidad. Todos los experimentos se efectuaron durante 5 días. Los resultados fueron 1) *O. kisutch* induce que *C. rogercresseyi* desarrolle el filamento más rápido, pero no en cuanto a la tasa de fijación o rapidez. 2) El estadio copepodito presenta selectividad de sitio de fijación ($p < 0,05$), prefiriendo las aletas pectorales y la zona del vientre, excepto en *S. salar*. 3) El estadio copepodito no presenta selectividad de hospedero frente a *O. kisutch*, *O. mykiss* y *S. salar* ($p > 0,05$). 3) El filamento de fijación varía en el nivel temprano y avanzado, siendo de superficie anillada, no así en los niveles terminal y el estadio Chalimus I, que presenta forma de cordón umbilical y superficie lisa. Se concluye que la especie *O. kisutch*, tiene efectos negativos en la fijación y desarrollo del copepodito, además, el estadio copepodito no discierne al encontrar hospedero, lo cual puede estar condicionado por mecanismos de sobrevivencia. En cuanto al sitio de fijación, el copepodito prefiere las aletas pectorales y el vientre, lo cual se debería a las condiciones favorables de estos sitios para el copepodito; la estructura y formación del filamento, constituye un desgaste de energía, debido al re-ordenamiento de los órganos dentro del cuerpo del copepodito.

ABSTRACT

Caligus rogercresseyi is the main parasite that affects the salmon and rainbow trout industry in southern Chile. Recent studies indicate that rainbow trout is always more susceptible than coho salmon and Atlantic salmon to caligid copepods. It is suggested that this fact is due to selective settlement of copepodids. In order to evaluate this type of response, we present our findings about 1) the velocity of fixation of sea lice on different species, 2) the two kinds of selectiveness found and 3) the description of the structure and development of the frontal filament of *C. rogercresseyi*. In order to evaluate the velocity and site preference, the copepodids were exposed only to one type of host. For the host preference, the copepodids were exposed to two different host species in the same tank. On both kinds of selectiveness it was quantified the parasitic burden; in the case of the velocity it was considered the mortality. All of these experiments were carried out during five days. Results are 1) *Caligus rogercresseyi* copepodids produce a frontal filament more rapidly when they are attached to *O. kisutch*, while the rate of settlement is slower. 2) The copepodids show site preference of settlement ($p < 0,05$), preferring the pectoral fins and the ventral region, except those on *S. salar*. 3) The copepodids do not show preference for host species to *O. kisutch*, *O. mykiss* or *S. salar* ($p > 0,05$). 3) The frontal filament varies on the early and advanced level, whereas the surface exhibits ring form, and in the terminal and chalimus I stage the frontal filament has a form of umbilical cord and the surface is smooth. It is concluded that the species *O. kisutch* has a negative effect on the settlement and development of the copepodid, moreover, the copepodid does not discern between host species, which can be related to survival mechanism. About the site preference of settlement, the copepodid prefers the pectoral fins and the ventral region, this would be for the propitious conditions of these sites; the structure and development of the filament constitute an energy waste, due to the re-organization of the organs inside the copepodid body.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo (2000), es el parásito dominante que afecta la industria del salmón y trucha en el sur de Chile (González & Carvajal, 2003). En los comienzos de la producción de salmón en el país, Reyes & Bravo (1983) reportaron la presencia de *Caligus teres* Wilson (1905) en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*, Walbaum). Otra especie inicialmente identificada como *Caligus flexispina*, ahora es conocida como *C. rogercresseyi* y que también fue reportada en 1992 en la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* por González & Carvajal (2003).

En 1995, Chile alcanzó una producción de 97.000 toneladas de salmónes, lo cual significó exportaciones de US \$ 500 millones para el país. Sin embargo, el problema de *Caligus* se ha convertido en una amenaza para los acuicultores, produciendo pérdidas económicas de US \$ 0.30/kg., debido a los costos por desparasitar los peces en las plantas de proceso y el bajo crecimiento del pez, debido a la presencia del copépodo, el cual provoca stress en los peces (Carvajal *et al.*, 1998). Además, los crustáceos Caligidae, ocasionar serios daños en la superficie del pez hospedero, y cuando se presentan en un número considerable pueden causar la muerte del pez (Mackinnon, 1998).

Este parásito conocido también como el “piojo de mar” tiene un ciclo de vida que consiste en las siguientes etapas: dos nauplios, un copepodito infestante, cuatro etapas de fijación chalimus, un juvenil y el adulto. Con la excepción de las etapas naupliares, el piojo del salmón se alimenta del mucus del salmón, piel y sangre (González *et al.*, 2000). El daño producido puede presentarse de forma directa, pudiendo ser este físico y/o bioquímico en el acto de adhesión y alimentación, resultando una lesión que varía en severidad dependiendo del número de individuos

y otros factores extrínsecos como la especie de huésped, edad y estado de desarrollo del pez; o dañar indirectamente a través del aumento de la susceptibilidad del huésped a desarrollar infecciones secundarias (Johnson, 2004). Sus actividades de adherencia y alimentación son las responsables de enfermedades secundarias que puedan desarrollarse (Johnson *et al.*, 2004). Los organismos que se encuentran afectados por *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer), un parásito común de las granjas de salmones en el hemisferio norte, causan serias enfermedades y altas tasas de mortalidad si no son tratadas. Estas enfermedades se caracterizan por extensas áreas de piel erosionada, hemorragias en la cabeza y en la parte posterior, como también áreas distintivas de erosión y hemorragia subepidérmica en la región perianal (Brandal & Egidius 1979; Wootten *et al.* 1982; Johnson *et al.*, 1996), causando incluso la muerte que puede ser ocasionada por infecciones bacteriales secundarias (e.g. vibriosis), infecciones micóticas adquiridas cuando el pez retorna al agua dulce o en casos severos de estrés osmótico (Wootten *et al.* 1982; Johnson *et al.*, 1996).

Johnson & Albright (1992), reportaron que el salmón coho al parecer es más resistente al copepodo *L. salmonis*, teniendo significativamente menos copepoditos que el salmón chinook o Atlántico entre los 15 a 20 días de exposición. En estos estudios se encontró que el salmón Atlántico es más susceptible al piojo del salmón *L. salmonis*, que el salmón coho. La diferencia en susceptibilidad entre estas dos especies, fue explicada por diferencias en magnitud de la respuesta del tejido a *L. salmonis*, donde el salmón coho mostró una respuesta celular que mataba a los estadios chalimus adheridos, haciendo de este pez el más resistente a las infecciones, en comparación a los otros salmónidos (Mackinnon, 1998).

Por otro lado, en los estudios de González *et al.* (2000), se demostró que la trucha arcoiris es siempre más susceptible que el salmón coho y atlántico. La alta susceptibilidad al parásito por

parte de las truchas durante las infecciones experimentales, coincidió con la alta susceptibilidad demostrada para truchas arcoiris mantenidas por varios meses en balsas jaulas y en estanques de agua salada donde no se indujo infecciones a salmones. Las grandes abundancias del parásito *C. rogercresseyi* en la trucha arcoiris en comparación al salmón Atlántico, puede deberse a un asentamiento selectivo por parte de los copepoditos.

Para el caso de los crustáceos ectoparásitos, Kabata (1981) resaltó la importancia de los factores morfológicos, fisiológicos e interacciones, que influyen al momento de seleccionar el hospedero, sitio y distribución sobre éste. Según el estudio de Cédrik & Morand (2001), un factor importante es el “comportamiento gregario” que en suma a la selección del sitio de fijación, apoyan la hipótesis de Fryer que sugiere que el mecanismo responsable de este comportamiento es similar a las colonias de crustáceos libres, donde el asentado original libera un químico attractante el cual es absorbido por el sustrato. Otro factor más importante aún, es la habilidad del parásito de moverse libremente lo cual afecta fuertemente a la selección del sitio y distribución. Solo las etapas larvales de *Caligus sp.* son temporalmente sésiles, las cuales se adhirieron en su mayoría a las branquias de *Cephalopholis argus* (Bloch & Schneider) por medio del filamento de fijación, lo cual en conjunto con las observaciones de la distribución del estadio chalimus sobre las branquias, donde presentan el mismo color del tejido del sitio de fijación, son claras señales de selectividad por parte de estos copéodos calígidos (Cédrik & Morand, 2001).

Reportes previos sobre *L. salmonis* indican que las aletas son las preferidas para el asentamiento de este parásito del hemisferio norte. Wootten *et al.*, (1982) encontraron que las aletas dorsales y pélvicas son las preferidas, mientras que Johnson & Albright (1992) reportaron que las aletas pélvica, pectoral y anal son los sitios de mayor adherencia. El grado según el cual las aletas son seleccionadas como sitios de fijación es claro debido al hecho que las aletas

dorsales y pectorales constituyen sólo el 4 y 2 % de la superficie del salmón, respectivamente, pero acarrea el 20% de los copepoditos adheridos (Tucker *et al.*, 2000).

En la mayoría de los copépodos siphonostomatoideos la estructura de adherencia es el filamento frontal, que es una estructura no celular producida por la glándula del cemento (“órgano frontal”, “órgano interantenario”) localizado dentro de la parte anterior del cefalotórax, el cual es utilizado durante los estadios fijos (chalimus I a IV) en la piel del pez hospedador (Pike *et al.*, 1993). El filamento es un órgano larval prehensible parte de la evolución de la mayoría de los parásitos siphonostomatoideos sobre peces (Piasecki & Mackinnon, 1992).

El filamento de *C. elongatus* es emitido por el copepodito directamente a la escama del pez. Después el juvenil excava la capa de la epidermis que está cubierta por la escama. Los medios de adherencia no están claros, pero la lámina basal contiene fibras similares a aquellas en el filamento. En contraste, *L. salmonis* aparentemente libera un adhesivo, el cual se dispersa subepidérmicamente sobre la membrana del basamento (Bron *et al.*, 1991) para formar el placa basal. Contiene un ducto que proviene del aparato glandular, descrito como un conductor del adhesivo hacia la punta del filamento (Pike *et al.*, 1993).

Kabata (1972) reportó cambios en el copepodito de *C. clemensi* después de la evaginación del filamento; durante este proceso la bolsa interna del filamento se convierte en un saco del filamento externo con el órgano frontal localizado en la parte distal que más tarde, se convierte en placas frontales (Piasecki & Mackinnon, 1992).

Para la formación del filamento frontal y estimular la metamorfosis del copepodito a chalimus I en *C. rogercresseyi*, existen mecanismos de reconocimiento y localización regido por señales sensoriales (Mordue, 2003). De igual manera esta autora habla de que estas señales

sensoriales pueden ser extraídas desde el agua donde se encuentra un pez hospedero, las que están siendo captadas por el ectoparásito; a estas señales se les denomina Kairomonas.

Estudios recientes de O'Shea *et al.* (2006) en *L. salmonis* en el hemisferio norte, proveen la base para la identificación del rango de señales químicas utilizadas en el asentamiento por parte del estadio copepodito. Los resultados de este estudio han demostrado que la cantidad de parásitos sobre la trucha de mar es significativamente mayor en comparación con el salmón del Atlántico, pero este último posee significativamente más parásitos que la trucha arcoiris. También aseguran que el salmón del Atlántico presenta una infestación significativamente mayor que las especies nativas en tratamientos de una sola especie, pero aún así, presentan mayor cantidad de ectoparásitos en comparación con la cantidad de ectoparásitos que se presenta en los tratamientos mezclados con salmonidos. Otro aspecto importante es el período de tiempo, el cual tiene un efecto sobre el número de *L. salmonis* con una amplia variación en la carga parasitaria. Además, la superficie de asentamiento no tiene ningún efecto sobre la carga parasitaria y la presencia de una especie no afecta el número de parásitos sobre las otras especies.

Según los estudios de Farías (2005), la etapa de infección huésped-hospedero comienza desde el momento en que el copepodito de *C. rogercresseyi* percibe las kairomonas del pez. Cuando existe este estímulo por parte del hospedero en el agua donde éste se encuentra, el copepodito activa la formación del filamento frontal, pero no logra estimular la metamorfosis completa. Esta respuesta sucede durante las 24 horas de experimentación y significa un 75% de respuesta positiva frente al estímulo de los copepoditos.

En cuanto a la fijación, Farías (2005) explica que la respuesta del parásito bajo condiciones artificiales de infestación y frente a una posibilidad de hospedero a infestar, lo hace sin discriminar especie de hospedero (salmonideos, róbalo, blénido). Es por esto que al presentarse

mas de una posibilidad de infestar y gracias a los estímulos que difunde el pez hacia el agua, esta autora postula que existe selectividad por parte del parásito para encontrar a su hospedador.

Según este análisis se plantea este estudio, para el cual se han escogido cuatro especies de hospederos, tres especies de importancia económica (trucha arcoiris *O. mykiss*, salmón del atlántico *Salmo salar* y salmón coho *O. kisutch*); y una especie nativa (un blénido, *Hypsoblennius sordidus* (Bennet, 1828), frente a los cuales se pretende responder la siguiente pregunta formulada dentro del contexto de la metamorfosis del estadio copepodito a chalimus I de *Caligus rogercresseyi*: ¿Existe selectividad del copepodito de *C. rogercresseyi* frente a alguno de estos hospedadores?

Para responder esta pregunta se plantean las siguientes hipótesis:

H₀: El copépodo *C. rogercresseyi* no presenta selectividad durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I.

H₁: El copépodo *C. rogercresseyi* presenta selectividad durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I.

Conjuntamente se pretende concretar los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Determinar la selectividad del copépodo *C. rogercresseyi* durante la metamorfosis de la etapa copepodito al estadio chalimus I en diferentes hospederos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la selectividad de sitio de fijación en las cuatro especies hospederas, a través de experimentos de laboratorio.
- Determinar la selectividad entre hospederos a través de experimentos de laboratorio.

- Determinar las diferencias en la rapidez o tasa de fijación del estadio copepodito a chalimus I mediante la cuantificación de los cambios morfológicos de *Caligus rogercresseyi* en 4 especies hospederas.
- Describir la estructura del filamento frontal en los diferentes estadios chalimus de *Caligus rogercresseyi*, mediante análisis de muestras *in toto* y microscopía óptica.

MATERIAL Y MÉTODOS

A.- Sitio de estudio y recolección de muestras.

Los experimentos se realizaron en los acuarios y laboratorios del Centro de Investigaciones de Recursos Marinos y Costeros, “i~mar” perteneciente a la Universidad de los Lagos (Puerto Montt), ubicado en Km 6 camino Chiquihue ($41^{\circ} 30' S$), Puerto Montt, X Región, Chile (Figura n^o 1).

Los especímenes salmonídeos correspondientes a 4 *Salmo salar* de un peso promedio de 87,26 g y una longitud promedio de 23,05 cm, 4 *Oncorhynchus kisutch* de un peso promedio de 116,12g y una longitud de 23,25 cm y 8 *Oncorhynchus mykiss* con peso promedio de 203,97g y de 29,85 cm de longitud promedio, se obtuvieron desde el Centro Phillipi de la empresa Mainstream y del Centro de Marine Harvest (*O. kisutch*), las cuales se ubican en el sector de Totoral a unos 4 km. de Llanquihue ($41^{\circ} 08' 10'' S$). La especie 8 *Hypsoblennius sordidus*, de un peso promedio de 10,03 g y 11,05 cm de longitud, se recolectó en las cercanías de la ciudad de Calbuco ($41^{\circ} 43' 34'' S$), en un sector de cultivo de *Mytilus chilensis*. Los peces salmónidos previo a las infestaciones se smoltificaron, de esta forma se mantuvieron sin infectar al menos 1 semana, en estanques con agua de mar filtrada a 29 ‰, esterilizada mediante radiación UV y aireación para su acondicionamiento (González *et al.*, 2000).

Las hembras ovígeras de *Caligus rogercresseyi* se recolectaron de trucha y salmón del Atlántico en la agroindustria procesadora Santa Cruz ubicada en Chiquihue y la industria procesadora San José ubicada en Calbuco ($41^{\circ} 43' 34'' S$). Estos parásitos se mantuvieron con aireación y a una temperatura de $15^{\circ} C$, en una cámara de cultivo. Al día siguiente se separaron las hembras de las larvas nauplio I, según la metodología descrita por Farías (2005), la cual se realizó mediante la utilización de un tamiz de 190 μm , el cual retuvo tanto hembras como los

nauplios I, y con la ayuda de pinzas finas fueron colocados en vasos precipitados de 500 ml separados por estadio, así las larvas se mantuvieron para su desarrollo en una cámara de cultivo Bioref pi - Technologies, las cuales fueron revisadas bajo una lupa Kyoto optical modelo SMZ – 140 al quinto día, tiempo en el cual las larvas nauplio alcanzaron el estadio copepodito en un 100% (Farías, 2005). Los copepoditos obtenidos se utilizaron en los dos experimentos que se detallan a continuación.

B.- Experimentos de fijación de copepoditos en diferentes especies hospederas.

B.1) Rapidez y selectividad de sitio en cuatro especies hospederas.

Una vez obtenidos los copepoditos, mediante el método anteriormente indicado, se procedió a infestar a 24 peces hospederos (8 blénidos, 8 truchas, 4 salmones del Atlántico y 4 salmones coho). Las tres especies salmonídeas se mantuvieron en estanques de 432,55 cm³, con agua de salinidad de 29 – 31 ‰, temperatura de 11,5 ° C aprox. y aireación constante (Figura 2). En el caso de los blénidos se debieron mantener en acuarios individuales de 2000 cm³, debido a que presentan un comportamiento agresivo (Farías, 2005).

El número de copepoditos se seleccionó según la estimación realizada por González *et al.* (2000). Estos autores describen un porcentaje de fijación de un 14% al cabo de 9 días post-infestación, en estanques de 500 L donde se mantuvieron 36 peces que fueron infestados con 1540 copepoditos. Según este cálculo se deberían agregar 43 copepoditos por pez, por lo tanto en el presente estudio para obtener un porcentaje de fijación similar, se agregaron 400 copepoditos por pez para alcanzar una infestación de al menos 40 – 56 ind./pez.

Una vez realizada la introducción de copepoditos en los acuarios con peces, se iniciaron las observaciones y cuantificaciones los días 1, 2, 3, 4 y 5 post – infestación. Para esto, se realizaron cambios de agua a diario, la cual se filtró a través de un tamiz de 190 µm para obtener los

copepoditos que no se fijaron al pez. De esta manera los copepoditos que se encontraron con vida, se devolvieron a los acuarios. Por otra parte, los copepoditos muertos se fijaron en alcohol 70 ° para su posterior clasificación por etapas de formación del filamento, como también para realizar preparaciones para análisis histológico del filamento de fijación. A partir de la cuantificación de los copepoditos muertos, se obtuvo la cantidad de copepoditos vivos en cada día de experimentación, con lo cual se obtiene la tasa de fijación o rapidez correspondiente a la cantidad de copepoditos vivos por día en cada especie, a través de la fórmula:

$$\text{Tasa de fijación} = \frac{(\text{Cantidad disponible para infestación} - \text{muertos})}{\text{Día}}$$

Al quinto día post – infestación, se dió muerte a los peces mediante asfixia según metodología descrita por Johnson & Albright (1992), ya que en este período de tiempo los ectoparásitos habrían alcanzado el estadio chalimus I con una temperatura promedio de 11,5 ° C y 29 ‰ de salinidad. Los peces hospederos fueron medidos y pesados con una huincha milimetrada y una pesa marca Sartorius de 0,001 de precisión, respectivamente. Posteriormente se realizaron las observaciones a ojo desnudo y bajo una lupa Kyoto optical modelo SMZ – 140. De esta manera se procedió a disectar las aletas del pez y se obtuvieron los copépodos fijos en las zonas sobre y bajo de la línea lateral, con la utilización de tijeras punta curva y pinzas finas. Todo el material obtenido al finalizar el experimento fue fijado en alcohol 70° y clasificado bajo la lupa. El pez se dividió en zonas para la cuantificación de copepoditos infestantes según criterio descrito para *L. salmonis* por Tucker *et al.* (2000), donde se describe que las zonas de fijación de copepoditos (Figura 3) y chalimus I son aletas pectorales, pélvicas, dorsal, anal, caudal, zona sobre y bajo la línea lateral, evaluándose la carga parasitaria por zona en el hospedero para determinar la selección de sitio de fijación.

Por otra parte, las etapas de formación del filamento son básicamente las mismas descrita por Piasecki & MacKinnon (1992) para *L. salmonis*, a la cual se le ha agregado un nivel más de clasificación descrita por Farías (2005) en *C. rogercresseyi*. Esta clasificación se realizó bajo un microscopio Olympus CX31, para lo cual las muestras fueron depositadas sobre portaobjetos, con la ayuda de una pipeta Pasteur. Las características morfológicas utilizadas por los autores precedentes se resumen a continuación (Figura 3):

a (Temprano): el filamento es visible al interior del cefalón, en la zona anterior de los ojos.

b – c (Avanzado): el filamento se observa en el interior del extremo anterior del cefalón, entre la zona anterior de los ojos y el margen del rostro del copepodito.

d (Terminal): el filamento se observa fuera del cefalón, margen del rostro del copepodito, categoría adicionada por Farías (2005).

Con los datos obtenidos en esta etapa, se procedió al cálculo los porcentajes por nivel de desarrollo en cada día de cuantificación, como también, la obtención de muestras para el análisis histológico.

B. 2) Selectividad de especie hospedera.

Para este experimento se utilizaron estanques de 432,55 cm³, con divisiones en forma diagonal, utilizando como separador una malla color café, con una abertura de malla de medio centímetro. Esto fue necesario debido a la posibilidad de agresividad e ingesta de copéodos recién asentados por parte de los peces en estudio (Gladis Asencio; comunicación personal). Los acuarios debieron ser recubiertos con plástico de color negro debido a que los copéodos presentan fototactismo positivo. Se utilizó agua de mar filtrada y esterilizada mediante UV a 29 ‰ de salinidad y una temperatura de 11,8 ° C. De esta forma se procedió a infestar dos peces por estanque (Figura 4), utilizándose para el tratamiento 1 las especies *S. salar* versus *O. kisutch* y

para el tratamiento 2 las especies *S. salar* versus *O. mykiss*. Como controles se utilizaron dos peces de la misma especie en un estanque (*S. salar* / *S. salar*; *O. kisutch* / *O. kisutch*; *O. mykiss* / *O. mykiss*) con 4 réplicas para cada tratamiento (Figura 4). El número de copepoditos por estanque fue de 400 y se recolectaron de hembras ovígeras provenientes de trucha arcoiris. Después de un período de 5 días se procedió a matar los peces y recolectar el material obtenido, el cual fue fijado en alcohol de 70° para su posterior clasificación por estadio (copepodito d y chalimus I) y posición sobre el hospedador (aletas pectorales, pélvicas, dorsal, anal, caudal, zona sobre y bajo la línea lateral) para determinar la carga parasitaria por sitio de fijación sobre el pez (Farías, 2005). Además todo el material acumulado se utilizó para realizar preparaciones de muestras *in toto* para el análisis histológico de la formación del filamento.

C.- Descripción de la estructura del filamento de fijación (Análisis histológico).

Los copepoditos y chalimus I recolectados en los experimentos 1 y 2, se procesaron para análisis histológico en las instalaciones del Centro i ~ mar y del Instituto de Fomento Pesquero de Puerto Montt, según la metodología que se describe a continuación:

C.1. Muestras *in toto*.

Las muestras que se encontraban previamente fijadas en alcohol 70 ° fueron teñidas con: azul de anilina al 2% para destacar estructuras exteriores (cutícula, cono oral, etc.), verde luz amarillo y fucsina de Zhiel para denotar el filamento frontal, ya que en ensayos previos se observó mayor adherencia de estas dos últimas tinciones en los filamento recién formados. Para las tres tinciones el procedimiento fue el siguiente: sobre un vidrio reloj de 7 mm de diámetro, se depositaron las muestras y se retiró el alcohol de 70° con una pipeta Pasteur de 1 ml, se aplicó la tinción por 5 – 6 minutos controlando bajo una lupa; una vez que se cumplió el período de tiempo se procedió a retirar el colorante y lavar las muestras con alcohol de 70° con una pipeta Pasteur

diferente a la de la tinción. Después se deshidrataron las muestras a través de una batería de alcoholes ascendentes (80, 90, 95° y 100°) por 5 minutos cada uno y 2 baños de xilol por 3 minutos cada uno para posteriormente realizar el montaje con 1 gota permount o bálsamo de Canadá sobre el portaobjetos en la cual se depositó la muestra teñida y sobre la cual se colocó el cubreobjetos delicadamente. Después de este procedimiento se dejó secar por 1 semana a temperatura ambiente o 5 días en un horno a 37 ° C. Para las observaciones en microscopia óptica se utilizó montajes de glicerol 3%, alcohol 60% y agua destilada 37 %. Finalmente se analizaron los montajes en un microscopio Olympus CX31 y se tomaron fotografías de los montajes elegidos con una cámara Sony Cyber - shot 5.0 megapixeles y analizadas con los programas Image – pro plus 4.1 y Paint shop pro 7.0.

C.2. Cortes histológicos.

Los copepoditos y/o chalimus I fijados en alcohol 70°, se fijaron en una solución Bouin por 24 hrs. Posteriormente se procedió a deshidratar el material en una batería de alcoholes ascendente (70, 80, 90, 95 y 100°) por 15 minutos cada uno y 3 baños de xilol por 15 minutos cada uno. A continuación, las muestras fueron incluidas en 3 baños de parafina por 30 minutos cada uno, finalizando con la formación de los tacos. Para esto se utilizó un molde plástico estándar de 2x2x2 cm en la que se colocó la parafina derretida a 60 ° C con ayuda de aguja y pinzas se colocaron los copepoditos en la posición deseada según el corte.

Se realizaron cortes de 7 µm de grosor, utilizando un microtomo Leica RM2055. Una vez obtenidos los cortes se dispusieron en un baño termoregulado a 37 ° C para su estiramiento y posterior captura con un portaobjetos cubierto con una capa de albúmina y con movimientos suaves se ubicaron los cortes sobre ellos para finalmente dejarlos secar en un horno a 37 ° C por un período de 7 días.

Una vez obtenidos los cortes, se procedió a teñirlos con hematoxilina - eosina, para lo cual los portaobjetos fueron colocados en 3 baños sucesivos de xilol para eliminar la parafina (15 minutos cada uno), hidratados en una batería de alcoholes descendente (100, 95, 90, 80, 70 °) por 5 minutos cada uno y luego en agua corriente por 1 minuto, después fueron teñidos con hematoxilina por 10 minutos, lavados en agua corriente por 20 minutos. A continuación fueron teñidos con eosina por 5 minutos y posteriormente sumergidos en un ligero baño de agua por 1 minuto para eliminar la tinción. Una vez finalizado este procedimiento, las muestras fueron nuevamente deshidratadas en una batería de alcoholes ascendentes (70, 80, 90, 95 y 100°) y xilol (3 baños) como se menciona anteriormente y se prepara el montaje definitivo utilizando una gota bálsamo de canada o permount sobre el portaobjetos y cubriendo delicadamente con un cubreobjetos las muestras, después de esto se dejó secar en un horno a 37 ° C por un período de 7 días.

Finalmente se analizaron los cortes en un microscopio Olympus CX31 y se tomaron fotografías de los cortes elegidos con una cámara Sony Cyber - shot 5.0 megapixeles y analizadas con los programas Image – pro plus 4.1 y Saint Shop Pro 7.0.

Análisis estadísticos.

La normalidad y homocedasticidad de los datos se verificó en ambos experimentos. Para el experimento N ° 1 se verificó la homogeneidad de pendientes, para posteriormente aplicar un ANCOVA para la determinación de las diferencias entre especies durante los días de experimentación. Para determinar cual es de mayor importancia en cuanto a tasa de fijación o rapidez y agruparlos, se aplicó una prueba de Tukey. Para la selección de sitio se utilizó un ANOVA entre los distintos sitios de fijación para cada especie hospedera y una prueba de comparación múltiple (Hsu). Para el experimento N ° 2, se aplicó un ANOVA entre especies para determinar la selectividad de hospedero en cada tratamiento incluyendo los controles.

RESULTADOS

Experimentos de fijación de copepoditos en diferentes especies hospederas.

1) Rapidez de fijación en distintas especies hospederas.

Al término de los 5 días de experimentación, para la especie *Salmo salar*, se observaron 97 copepoditos fijos al pez de un total de 774 copepoditos, ya sea en nivel terminal del filamento de fijación o chalimus I, lo que corresponde a un porcentaje de fijación de 11,5 %. En el caso de la especie *Oncorhynchus mykiss*, con una infestación total de 3494 copepoditos, se observaron 440 copepoditos fijos en el pez, lo cual corresponde a un porcentaje de fijación de 12,6%. En la especie *Oncorhynchus kisutch*, bajo una infestación de 1454 copepoditos, se observó que 129 copepoditos se fijaron, por lo que el porcentaje de fijación fue 8,9 %. Para la especie nativa *Hypsoblennius sordidus*, se observó que de un total de 2979 copepoditos, solo lograron fijarse 22 copepoditos y por lo tanto el porcentaje fue de 0,72%, el más bajo de la especies hospederas en experimentación (figura 5).

Los porcentajes de formación de filamento por etapa de desarrollo para las cuatro especies hospederas durante los cinco días de experimentación, no superaron el 11% en cada etapa. El mayor porcentaje para el nivel avanzado con un 10,77% se presentó en la especie *O. kisutch* en el primer día de experimentación y el más bajo en la especie *O. mykiss* 1,21% en el quinto día de experimentación. También se demostró que en la especie *S. salar* se presenta 0% en el nivel temprano durante los cinco días y en la especie *H. sordidus* existe 0% para el estadio chalimus I, lo cual es signo de que en el cachudo, el copepodito de *C. rogercresseyi* no realizó exitosamente la metamorfosis durante el período de experimentación. Estos valores muestran que los niveles de formación del filamento del copepodito de *C. rogercresseyi* frente a todas las especies hospederas disminuyeron con el avance del tiempo (Tabla 1).

Según el análisis de covarianza aplicado al porcentaje de copepoditos en búsqueda de fijación sobre las cuatro especies hospederas, se determinó que existen diferencias significativas entre las especies ($F = 25,023$; $p = 0,00000$) (tabla 2), lo que nos sugiere que el copépodo *C. rogercresseyi* presenta diferencias significativas en la rapidez o tasa de fijación entre las diferentes especies durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I, obteniéndose para cada una de las especies: Trucha $r^2 = 0,4650$; $r = -0,6819$, $p = 0,000001$; Salar $r^2 = 0,4797$; $r = -0,6926$, $p = 0,0007$; Coho $r^2 = 0,6387$; $r = -0,7992$, $p = 0,00002$; Cachudo $r^2 = 0,2730$; $r = -0,5225$, $p = 0,0005$. Según la prueba de Tukey (Tabla 3, Figura 6), se observó que la especie *O. kisutch* es distinta de las otras tres especies, en cuanto a rapidez o tasa de fijación, además que la especie *H. sordidus* presenta diferencias con la especies *S. salar* y *O. kisutch*, lo cual se puede observar en la Figura 7.

2) Selectividad de sitio en distintas especies hospederas.

Respecto a la selectividad de sitio se demostró que en las especies *S. salar*, *O. mykiss* y *O. kisutch* los porcentajes de fijación más altos con respecto a la cantidad inicial de copepoditos disponibles en el agua, se presentan en la zona del vientre con 3,3%, 4,36% y 2,26%, respectivamente. En *H. sordidus* se registró fijación sólo en las aletas pectorales (0,49 %) y aleta dorsal (0,23%). Para las cuatro especies en estudio se observó que no hubo fijación en la zona dorsal del cuerpo obteniendo un 0% en cada uno de los peces revisados (Tabla 4).

De acuerdo a la prueba de ANOVA realizada para cada especie de hospedero se demostró que para las especies *O. mykiss*, *O. kisutch* e *H. sordidus* existen diferencias significativas entre sitios de fijación ($F = 12,74$, $p = 0,000$; $F = 6,69$, $p = 0,001$; $F = 5,03$; $p = 0,003$, respectivamente), por lo que el copépodo *C. rogercresseyi* presenta selectividad por áreas

específicas del cuerpo del hospedador durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I. En el caso de la especie *S. salar* se encontró que no existen diferencias significativas ($F = 2,23$; $p = 0,096$), por lo tanto, en esta especie no se encontró evidencia de selectividad por zonas particulares del cuerpo, ya que tanto en las aletas como en el vientre presentaron similares porcentajes de fijación, aceptándose para este caso particular la hipótesis nula (tabla 5).

Según el análisis de comparación múltiple Hsu aplicado en la especie *O. mykiss*, las zonas del cuerpo más utilizadas como sitio de fijación por parte de *C. rogercresseyi* son la zona del vientre, aletas pectorales y pélvicas (Figura 8); mientras que en la especie *O. kisutch* las zonas más colonizadas fueron el vientre y las aletas pectorales; en *H. sordidus*, las dos únicas zonas parasitadas por el copépodo son las aletas pectorales y dorsal. Para la especie *S. salar* al no existir preferencia por algún sitio en especial no se realizó análisis de comparación múltiple. Por lo tanto, las aletas pectorales y la zona del vientre, constituyen las zonas con mayor fijación en *O. mykiss*, *O. kisutch* y *H. sordidus*.

3) Selectividad de especie hospedera.

Los porcentajes en el tratamiento 1 en las especies *S. salar* y *O. kisutch* se obtuvieron los siguientes porcentajes: 4,21% y 3,13%, respectivamente (Tabla 6). En el tratamiento 2 para las especies *S. salar* versus *O. mykiss* los porcentajes son los siguientes: 13,80% de la carga parasitaria y 13,65%, respectivamente.

De acuerdo a la prueba de ANOVA (Tabla 7) realizada entre los controles y los tratamientos, se observó que en el tratamiento 1 para las especies *S. salar* versus *O. kisutch* no existen diferencias significativas ($F = 0,64$; $p = 0,598$), por lo que se sugiere que el copépodo *C. rogercresseyi* no presenta selectividad entre hospederos durante la metamorfosis de los estadios

copepodito a chalimus I. Resultado similar se obtuvo para el tratamiento 2 en las especies *S. salar* versus *O. mykiss* donde se observó que no existen diferencias significativas ($F = 0,006$; $p = 0,974$).

Descripción de la estructura y morfología del filamento de fijación.

La apariencia del filamento de *C. rogercresseyi* es similar a la de otros copépodos calígidos, es largo y delgado semejante a un cordón umbilical, se fija directamente a las escamas o al radio de las aletas por una placa basal (Figura 9, 10) exhibiendo un halo en el lugar de fijación (Figura 11). El diámetro del filamento se incrementa en el extremo distal hacia la zona de adherencia del hospedero en donde termina en una placa basal, con la cual se adhiere (Figura 12). Se denota claramente que este filamento forma parte del cuerpo en los estadios copepodito y chalimus I, a través de unos lóbulos que se encuentran en la región proximal del filamento (Figura 11). La superficie y la forma de este filamento frontal varían en las diferentes etapas de formación del filamento de fijación. Estas variaciones se describen a continuación:

- En los niveles o etapas tempranas y avanzadas (b), se denota una superficie con forma anillada y hacia la región de los ojos se visualiza un pequeño lóbulo (Figura 13).
- En el nivel avanzado del filamento (c), aún se observa la superficie anillada, además presenta una longitud mayor lo cual provoca que este se doble dentro del cuerpo del copepodito y se forme un “p” invertida, además se presenta un re - acomodamiento de los órganos en el cefalotórax del copepodito, caracterizado por la formación de una especie de tubo o pasillo donde se sitúa el filamento en formación (Figura 14).
- En el nivel terminal de formación del filamento, éste se observa fuera del cuerpo del copepodito y adherido a su hospedador, con una longitud mayor y con forma de cordón

umbilical, pero sin la superficie anillada, sino que lisa. También se denota el pequeño lóbulo, que se encontraba en la zona de los ojos, fuera del cuerpo del copepodito. Además las estructuras interiores retoman su lugar en el cuerpo del copepodito (Figura 15).

- En el estadio chalimus I, el filamento se observa con superficie lisa y aproximadamente de la misma longitud que en el copepodito en la fase de formación terminal (“d”). Se observa que el lóbulo en el extremo anterior del cuerpo del chalimus I ha tomado una forma triangular y se distingue claramente la formación del halo de fijación en el extremo distal del filamento (Figura 16).
- Antes de que ocurra la muda para el siguiente estadio (chalimus II), se observa la formación de un paquete de lóbulos dentro del cuerpo del chalimus I, los cuales se encuentran entre la región de los ojos y el margen del rostro del chalimus I (Figura 17).
- En la figura 18 correspondiente al estadio chalimus I, se puede observar el corte transversal de un filamento de fijación, lo cual indica que no se presentan estructuras en el exterior, lo cual coincide con la anterior descripción de superficie lisa, además, se presentan conjuntos celulares hacia la periferia del filamento, como también una leve tinción en el interior, indicando la presencia de componentes celulares propios del filamento.
- En la figura 19, la cual corresponde al extremo anterior del cefalotórax del copepodito terminal, se puede observar una zona de fuerte coloración púrpura, la cual correspondería al filamento que se encuentra aún dentro del cuerpo del copepodito, la cual se puede deber a la adherencia de la hematoxilina.

Acerca de las tinciones utilizadas, se observó que la tinción Fucsina de Zhiel es la que mejor se adhiere al filamento de fijación, penetrando adecuadamente, para distinguir el tejido

que corresponde al filamento, del resto de las estructuras, ya sea en el interior del cuerpo del copepodito o fuera de éste. Esto nos puede dar indicio sobre la estructura química del filamento, al ser la tinción de tipo básica nos estaría indicando que la estructura del filamento, al menos exteriormente es de tipo ácida, lo cual permitió la mayor adherencia del colorante (Gretchen, 1972).

DISCUSIÓN

Según González *et al.* (2000), la prevalencia y la densidad de *C. rogercresseyi*, fue más alta en trucha arcoiris que en el salmón del Atlántico y salmón coho en todos los experimentos de cohabitancia y muestreos en el ambiente natural. Esto coincide con lo encontrado en el presente trabajo, ya que los porcentajes obtenidos nos demuestran que los copepoditos en la fase de asentamiento lograron fijarse exitosamente en una proporción mayor sobre la trucha arcoiris, seguido por el salmón del Atlántico y salmón coho, siendo el de menor fijación de las especies salmonídeas. En el caso del cachudo, se presentaron porcentajes de fijación muy bajos.

En cuanto a los niveles de desarrollo del filamento frontal del copepodito, se demostró que la especie *O. kisutch* logra estimular la formación hasta el nivel avanzado en el copepodito a las 24 hrs en un porcentaje mayor al que se presenta en las especies *O. mykiss* y *S. salar*. Esto es un indicio que el desarrollo podría ser más rápido en el copepodito frente a *O. kisutch*. Esto está acompañado por una alta mortalidad desde el primer día, lo cual podría deberse a que los copepoditos agotan sus reservas alimenticias más rápido en *O. kisutch* al tratar de desarrollarse y asentarse, lo cual provocaría la muerte de los copepoditos. Además, las diferencias en las abundancias a medida que se desarrolla el ciclo de vida, podrían deberse a un mecanismo de defensa propio del salmón coho (Johnson & Albright, 1992), el cual actuaría posterior a la etapa de asentamiento de los copepoditos, en los estadios chalimus y adulto.

Cabe destacar a su vez, que en *O. mykiss* los porcentajes obtenidos para el nivel avanzado de formación del filamento se mantuvieron estables a través del período de experimentación, lo cual nos podría indicar que el desarrollo del filamento en esta especie es más lento. Esto podría deberse a la búsqueda selectiva para el asentamiento exitoso y a los mecanismos de reconocimiento del lugar de asentamiento, ya que es probable que los componentes responsables

que desencadenan el comportamiento de búsqueda y encuentro del hospedero en este ectoparásito, estén presentes en la piel y mucus del pez, constituyendo una potencial fuente de señales químicas para predadores y parásitos (Devine *et al.*, 2000).

Además, para la especie nativa cachudito, los porcentajes de formación del filamento en nivel avanzado fueron similares a los de las especies salmonídeas, coincidente con lo obtenido a partir del análisis de covarianza, que nos indica que existen diferencias en la rapidez o tasa de fijación, la que se obtuvo desde la cantidad de copepoditos presentes en el entorno del pez con posibilidades de fijación. De esta forma se determinó que las especies *O. mykiss*, *S. salar* y *H. sordidus* presentan tasas de fijación similares y que la especie *O. kisutch*, se diferencia de las demás, obteniendo bajos porcentajes a partir del primer día. Estos antecedentes nos indican que el estadio copepodito reconoce las señales optando por el estímulo que se difunde al agua y que permite que el copepodito lo reconozca y pueda sobrevivir más tiempo. Esto coincide con lo demostrado por Farías (2005), quien indicó que la etapa de infección huésped-hospedero comienza desde el momento en que el copepodito percibe el estímulo del pez y que cuando existe este estímulo proveniente desde el hospedero, independiente si el hospedador esté vivo o recientemente muerto, el copepodito activa la formación del filamento frontal, pero no logra estimular la metamorfosis completa. Esto nos indica que la especie *O. kisutch* no es aceptable para *C. rogercresseyi* y que las especies *S. salar*, *O. mykiss* y *H. sordidus*, son aceptables para desarrollarse y fijarse.

Sobre la selección de sitio por parte de *Caligus rogercresseyi*, se demostró que existe preferencia por el lugar de fijación en el momento del asentamiento sobre el pez y antes que ocurra la metamorfosis a chalimus I. Esta preferencia se ve reflejada en los altos porcentajes de

fijación obtenidos por *C. rogercresseyi* en los sitios que corresponden a las aletas pectorales, adhiriéndose a los radios cartilagosos y la zona ventral del cuerpo, fijándose principalmente a las escamas del pez presentes en esa zona. Este patrón de distribución se pudo observar en las 2 especies salmonídeas en estudio, *O. mykiss* y *O. kisutch*, no así en la especie *H. sordidus*, lo cual puede deberse a que la zona ventral de esta especie no presenta escamas disponibles para la fijación de los copepoditos. Estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores que han encontrado que las aletas son los sitios preferidos para el asentamiento de *L. salmonis*, calígido del hemisferio norte. Wootten *et al.* (1982) establecieron que las aletas dorsales y pélvicas fueron mayormente preferidas, mientras que Johnson & Albright (1992) registraron a las aletas pélvicas, pectorales y anal como los sitios de adherencia preferidos (Tucker *et al.*, 2000).

Las razones de porqué el copepodito prefiere ciertos lugares de fijación son inciertas, sin embargo, Boxshall (1976) sugiere que el asentamiento es principalmente una cuestión de velocidad de corrientes a nivel local y la habilidad del parásito para mantenerse en esta posición en las capas superficiales (Tucker *et al.* 2000). Anstensrud & Shram (1988) sugieren que el asentamiento larval de *Lernaeenicus sprattae* es inicialmente al azar sobre el cuerpo del hospedero y que activamente migra hacia las aletas; sugiriendo además que las corrientes de agua son factores que influyen en la migración hacia las aletas. Por otra parte, Bron *et al.*, (1993) indican que la distribución es consecuencia de la búsqueda de refugio de las corrientes de agua (Treasurer & Wadsworth, 2004).

Los estudios de Dawson *et al.*, (1997), demuestran que la distribución de *L. salmonis* sobre las escamas en las especies *O. mykiss* y *S. salar* en estadio chalimus, se adhieren principalmente a la región medio-dorsal, en la base de la aleta dorsal. Atribuyen estos patrones a la búsqueda de protección de las corrientes de agua, responsable de esta particular agregación de

estadios chalimus. Esto se contrapone con lo demostrado en el presente estudio para *C. rogercresseyi*, ya que este ectoparásito se distribuye principalmente en la zona ventral, incluyendo las aletas pectorales.

Según Treasurer & Wadsworth, 2004, la naturaleza de la epidermis también puede afectar la distribución de los parásitos. Esto podría deberse a las condiciones favorables ofrecidas por cada lugar de fijación. La piel del pez es un complejo epitelio que consiste en muchas capas de células vivientes, las cuales son continuas sobre la superficie del pez, y que pueden soportar poblaciones de ectoparásitos calígidos (Nolan *et al.*, 2000). Si la piel se encuentra en condiciones de debilidad podría facilitar la adherencia del copepodito al fijar su filamento frontal. Otro aspecto que facilitaría la fijación en estos sitios de preferencia, puede deberse a la cantidad de conductos de mucosidad. El mucus es considerado como una fuente de alimento para el piojo del salmón. Estudios anteriores han reportado la presencia de numerosas células mucosas con conductos en la zona descamada de la cabeza. Los parásitos pueden congregarse en esta zona debido a que representa una rica fuente de alimento (Nolan *et al.*, 2000).

Otra respuesta podría encontrarse en la hipótesis de Fryer, acerca del comportamiento gregario en las larvas de los crustáceos parásitos, que sugiere que el mecanismo responsable para el gregarismo puede ser similar a el que se produce en las colonias de los crustáceos sésiles en su estadio de vida libre, los cuales producen un químico attractante el cual es liberado por el asentado original y a su vez absorbido por el sustrato (Cedrick & Morand, 2001). Esta hipótesis se puede ver reflejada en la agregación y la selección de sitio que se presenta en los estadios copepodito y chalimus de *C. rogercresseyi*.

Solo en la especie *S. salar* no se encontró preferencia por algún sitio en especial sobre el cuerpo del pez, ya que no se obtuvieron diferencias significativas entre los distintos sitios de

fijación. La única referencia sobre la distribución de las etapas adheridas esta descrita para *C. elongatus* en balsas jaulas y fue descrita por Hogans & Trudeau (1989), los cuales destacaron que copepoditos en etapas distintas pueden ser encontrados en cualquier parte del cuerpo del Salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Treasure & Wadsworth, 2004).

Acerca de la selectividad de hospedero, se ha descrito para el ectoparásito *L. salmonis* que posee una alta especificidad por los salmones, por lo menos en las etapas de preadultos/adultos (Kabata, 1979). Para la etapa copepodito, los estudios de Bron *et al.*, (1991) demostraron que la especificidad se extiende desde las primeras etapas de alimentación del Salmón del Atlántico y que esto se debería a que poseen un comportamiento activo de selectividad. Esto probablemente sea provocado por el reconocimiento químico durante el contacto físico mediante los quimiorreceptores presentes en el cuerpo del copepodito. Boxshall (1976) expresó la opinión que la adherencia de los copepoditos es dependiente de la naturaleza de los factores químicos absorbidos o difundidos desde la superficie del hospedador (Bron *et al.*, 1991). Según los estudios de Devine *et al.* (2000) existe evidencia de que el adulto macho del piojo del salmón exhibe una respuesta conductual frente a señales química de una variedad de peces, siendo mecánicas y direccionales, demostrando una reacción positiva a las señales químicas de *S. salar*.

Para *C. rogercresseyi*, no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de fijación de los copéodos entre las especies *S. salar* versus *O. kisutch*, como tampoco entre las especies *S. salar* versus *O. mykiss*, lo que nos indica que el estadio copepodito no presenta selectividad por especie hospedera. Cabe destacar que entre las especies *S. salar* versus *O. kisutch* los porcentajes de fijación son mucho menores con respecto al tratamiento que incluía a las especie *S. salar* y *O. mykiss*, esto se puede deber a que el salmón coho puede interferir en la fijación inclusive en la especie con la cual comparte el ambiente, como se observó en el primer

experimento, observándose altas tasas de mortalidad en los primeros días de experimentación. Caso contrario, es el tratamiento *S. salar* versus *O. mykiss*, en el cual el porcentaje alcanzó un 12% de fijación, lo cual representa un potenciamiento entre especie lo cual puede haber aumentado la fijación del estadio copepodito. Esta no preferencia por hospedador, se puede deber a un factor de sobrevivencia diferencial post – asentamiento o migración (Bron *et al.*, 1991). Una de las condiciones que ayudaría a la sobrevivencia es la alimentación activa por parte de los parásitos, la cual es muy importante bajo condiciones sub-óptimas, aportando al mejoramiento de las capacidades osmoregulatorias y la sobrevivencia (Tucker *et al.*, 2000). Es por esto que se postula que el estadio copepodito de *C. rogercresseyi* no se ve afectado por un mecanismo de búsqueda – reconocimiento de especie hospedera, sino mas bien, por un mecanismo de búsqueda - sobrevivencia inmediata, influenciado por la posibilidad de encuentro entre parásito y hospedador, además de la búsqueda de protección y alimentación.

Los altos porcentajes de fijación en *C. rogercresseyi* obtenidos en el tratamiento que corresponde a *S. salar* versus *O. mykiss*, pudiesen ser explicados por la baja respuesta inmunitaria frente a los parásito, similar a lo descrito para *S. salar* frente a *C. elongatus* y *L. salmonis* (Finstead *et al.*, 2000). Así el estrés provocado por las infestaciones con el piojo del salmón probablemente incrementa la susceptibilidad en el hospedero facilitando las re-infestaciones con ectoparásitos así como también para infecciones secundarias. En el caso del tratamiento que presenta la especie *S. salar* versus *O. kisutch* puede estar ocurriendo un sistema de asentamiento no-selectivo seguido de mortalidad diferencial, lo cual explica los bajos porcentajes de fijación (Dawson *et al.*, 1997). La habilidad del salmón coho para reducir la infestación de *L. salmonis* rápidamente puede ser resultado de una combinación de factores en el mucus que bloquea la secreción de las enzimas digestivas claves o los agentes inmuno-modeladores del ectoparásito,

permitiendo una respuesta innata inflamatoria bien desarrollada en contra del piojo del salmón (Fast *et al.*, 2000) como también interrumpiendo la alimentación de este (Ingvarsdottir *et al.*, 2002). Además, está descrito que el mucus es una capa protectora que funciona como un complejo químico funcional el cual es descargado por unas células especiales de la epidermis, el cual contiene una variedad de componentes defensivos como peroxidasas, lisosimas, inmunoglobina, proteínas c-reativas (Nolan *et al.*, 2000). Esto se suma a que la especie *O. kisutch*, acude a una respuesta inflamatoria y una hiperplasia bien desarrollada a los 10 días post-infestación en las branquias y piel (Fast *et al.*, 2000).

Acerca del filamento de fijación de *C. rogercresseyi* se observó que es similar al filamento del resto de los copépodos calígidos, presentándose como un filamento preformado que se fija a estructuras duras y cartilagosas, con forma semejante a un cordón umbilical, con ensanchamiento hacia su extremo distal (Pike *et al.*, 1993) y de superficie lisa; se fija a través de una placa basal, como se presenta para *C. elongatus* (Pike *et al.*, 1993), lo cual coincide con que no es del tipo hueco, sino que posee material en su interior. Además se postula que es de composición de tipo ácida, esto se evidencia en la mayor adherencia de la tinción Fucsina de Zhiel. Sobre su desarrollo cabe destacar que existe un acomodamiento de los órganos interiores del copepodito a medida que se forma el filamento de fijación; se obtuvo que en los estadios temprano y avanzado se observa una superficie anillada, para posteriormente en el estadio terminal y chalimus I, salir del cuerpo del copepodito, volverse liso y aumentar de tamaño. Una vez sucedido esto el copépodo se encuentra fijo a estructuras duras cartilagosas presentes en el cuerpo del hospedero.

Los antecedentes presentados anteriormente en el presente estudio servirán de base para realizar otras investigaciones, por ejemplo, 1) acerca de la respuesta tanto mecánica como

bioquímica de la especie *O. kisutch* frente a la infestación por parte del copépodo *C. rogercresseyi*, orientado a la obtención de una medida de control de este ectoparásito en las especies de cultivo; 2) el estudio histoquímico del filamento de fijación, con lo cual se podrá obtener la composición específica del filamento y una posible herramienta contra la formación del mismo.

CONCLUSIONES

Luego de finalizado este estudio se puede concluir que los objetivos, ya sea el general y los específicos propuestos, se cumplieron en totalidad.

El estadio copepodito de *C. rogercresseyi* presenta porcentajes altos del nivel avanzado de formación del filamento frente a la especie *O. kisutch* ($10,77 \pm 2,70$), en el primer día de experimentación, lo que está relacionado a los altos porcentajes de mortalidad, lo que podría estar explicado por el agotamiento de las reservas nutricias y los mecanismos de defensa del salmón coho, contrastando las especies *O. mykiss*, *S. salar*, *H. sordidus* las cuales se postulan como especies aceptables por este ectoparásito.

Existe selección a nivel de sitio para las especies *O. mykiss*, *O. kisutch* y *H. sordidus*, esto se debería a un mecanismo de fijación exitoso, debido a las condiciones favorables del lugar y protección, teniendo como patrón de preferencia los sitios de las aletas pectorales y zona ventral, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula H_0 , aceptando la hipótesis alternativa H_1 que dice: El copépodo *C. rogercresseyi* presenta selectividad durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I, a nivel de sitio.

El estadio copepodito de *C. rogercresseyi* no se ve afectado por un mecanismo de búsqueda – reconocimiento de especie hospedera, sino más bien, por un mecanismo de búsqueda - supervivencia inmediata, influenciado por la posibilidad de encuentro entre parásito y hospedador, lo que se ve sustentado por la aceptación de la H_0 que dice que: El copépodo *C. rogercresseyi* no presenta selectividad durante la metamorfosis de los estadios copepodito a chalimus I, en el caso de las especies hospederas.

Sobre el filamento de fijación, se puede decir que es similar a lo descrito para el resto de los parásitos calígidos, existiendo acomodamiento de los órganos en el interior del cuerpo del copepodito a medida que se desarrolla.

REFERENCIAS

- Anstensrud, M. & Schram T.A. (1988). Host and site selection by larval stages and adults of the parasitic copepod *Lernaeenicus sprattae* (Sowerby) (Copepoda: Pennellidae) in the Oslofjord. *Hydrobiologia* 168: 587–595.
- Brandal, P. O. & Egidius, E. (1979). Treatment of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* Kroger, 1838) with Neguvon[®] – description of method and equipment. *Aquaculture* 18: 183 – 188.
- Bron, J. E., Sommerville, C., Jones, M. & Rae, G. H. (1991). The settlement and attachment of early stages of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda : Caligidae) on the salmon host, *Salmo salar*. *Journal of Zoology* 224: 201 – 212.
- Carvajal, J., González, L. & George-Nascimento, M. (1998) Native sea lice (Copepoda: Caligidae) infestation of salmonids reared in netpen systems in southern Chile. *Aquaculture* 166: 241-246.
- Cédrik M. & Morand, S. (2001). Gill parasites of *Cephalopholis argus* (Teleostei: Serranidae) from Moorea (French Polynesia): site selection and coexistence. *Folia Parasitologica* 48: 30 – 36.
- Dawson, L.H., Pike, A.W., Houlihan, D.F. & McVicar, A.H. (1997). Comparison of the susceptibility of sea trout (*Salmo trutta* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) to sea lice (*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837)) infections. *Journal of Marine Science* 54: 1129-1139.
- Devine, J. C., Ingvarsdóttir, A., Mordue, W., Pike A.W., Pickett, J., Duce, I. & Mordue J., (2000). Salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis*, exhibit specific chemotactic responses to semiochemicals originating from the salmonid, *salmo salar*. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1833 - 1847.

- Farías, D. (2005). Aspectos biológicos y conductuales del estadio infectante de *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo 2000 (Copepoda: Caligidae), en peces nativos y de cultivo de Chile. Tesis de grado para optar al título de Biólogo Marino, Instituto de Biología Marina. Universidad Austral de Chile, Valdivia, 47 pp.
- Fast M., Burka, J. F., Johnson, S. C. & Ross N. W. (2000). Enzymes released from *Lepeophtheirus salmonis* in response to mucus from different salmonids. *Journal of Parasitology* 89: 7-13.
- Finstead, B., Bjørn P.A., Grimnes A. & Hvidsten, N.A. (2000). Laboratory and field investigations of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer)) infestation on Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts. *Aquaculture Research* 31: 795 – 803.
- González, L., Carvajal J. & George – Nascimento M. (2000). Differential infectivity of *Caligus flexispina* (Copepoda, Caligidae) in three farmed salmonids in Chile. *Aquaculture* 183: 13 - 23.
- González, L. & Carvajal, J. (2003) Life cycle of *Caligus rogercresseyi* (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean salmonids. *Aquaculture* 220: 101-117.
- Gretchen H. (1972). *Animal tissues techniques*. W. H. Freeman & Company, Third edition. England, 231.
- Hogans W.E. & Trudeau D.J., (1989) Preliminary studies on the biology of sea lice, *Caligus elongatus*, *Caligus curtus* and *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligoida) parasitic on cage-culture Salmonids in the Lower bay of Fundy. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 1715: 14.

- Ingvarsdóttir, A., Birkett, M.A., Duce, I., Genna, R.L., Mordue, W., Pickett, J.A., Wadhams, L. J. & Mordue, A.J. (2002). Semiochemical strategies for sea louse control: host location cues. *Pest management science* 58: 537 - 545.
- Johnson, S. (2004) Sea Lice Workshop, January 27-28, National Research Council Canadá.
- Johnson, S. C. & Albright, L. J. (1992). Comparative susceptibility and histopathology of the response of naive Atlantic, chinook and coho salmon to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Diseases Aquatic Organisms* 14: 179 – 193.
- Johnson S. C., R. B. Blaylock, Elphick J. & Hyatt K. (1996). Disease caused by the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) in wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stocks of Alberni Inlet, British Columbia. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 2888-2897.
- Johnson S. C., Treasurer J. W., Bravo S., Nagasawa K. & Kabata Z. (2004). A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological Studies* 43: 229-243.
- Kabata, Z. (1979). Parasitic Copepoda of British Fishes. Ray Society, London, 468 pp.
- Kabata, Z. (1981). Copepoda (Crustacea) parasitic on fishes: problems and perspectives. In: W.H.R. Lumsden, R. Muller and J.R. Baker (Eds), *Advances in Parasitology*, Vol 19. Academic Press, London, pp. 2 - 71.
- Mackinnon, B. M. (1998). Host factors important in sea lice infections. *ICES Journal of Marine Science*. 55: 188 – 192.
- Mordue Luntz, A. (2003) Arthropod semiochemicals: mosquitoes, midges and sealice. *Biochemical Society Transactions* 31:128-133.

- Nolan, D.T., Ruane, N.M., Heijden, Y., Quabius, E.S., Costelloe, J. & Bonga S.E. (2000). Juvenile *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) affect de skin and gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and the host response to a handling procedure. *Aquaculture Research* 31: 823 – 833.
- O’Shea, B., Mordue A.J., Fryer R.J., Pert C.C. & Bricknell I.R. (2006). Settlement dynamics of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis*. Manuscripto enviado.
- Piasecki, W. & Mackinnon, B. (1992). Changes in estructure of the frontal filament in sequential developmental stages of *Caligus elongatus* Von Nordman, 1832 (Crustacea, Copepoda, Siphonostomatoidea) *Canadian Journal Zoology* 71: 889-895.
- Pike, A. W. (1989). Sea lice – major pathogens of farmed Atlantic salmon. *Parasitology Today* 5: 291 – 297.
- Pike, A., Mackenzie, K. & Ronwand, A., (1993). Ultrastructure of the frontal filament in chalimus larvae of *Caligus elongatus* and *Lepeophtheirus salmonis* from Atlantic salmon, *Salmo salar*. En Boxshall G. A. & Defaye D. (Eds). *Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*. Ellis Horwood: Chichester. UK. 99 –113.
- Treasurer, J. W. & Wadsworth, S.L. (2004). Interspecific comparison of experimental and natural routes of *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* challenge and consequences for distribution of chalimus on salmonids and therapeutant screening. *Aquaculture Research* 35: 773-783.
- Tucker, C. S., Sommerville, C. & Wooten, R., (2000). The effect of temperature and salinity on the settlement and survival of copepodids of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 23: 309–320.

Wooten, R., Smith, J. W. & Needham, E. A. (1982). Aspect of biology of the parasitic copepods *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus* on farmed salmonids, and their treatment. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh 81(B): 185 – 197.

FIGURAS Y TABLAS

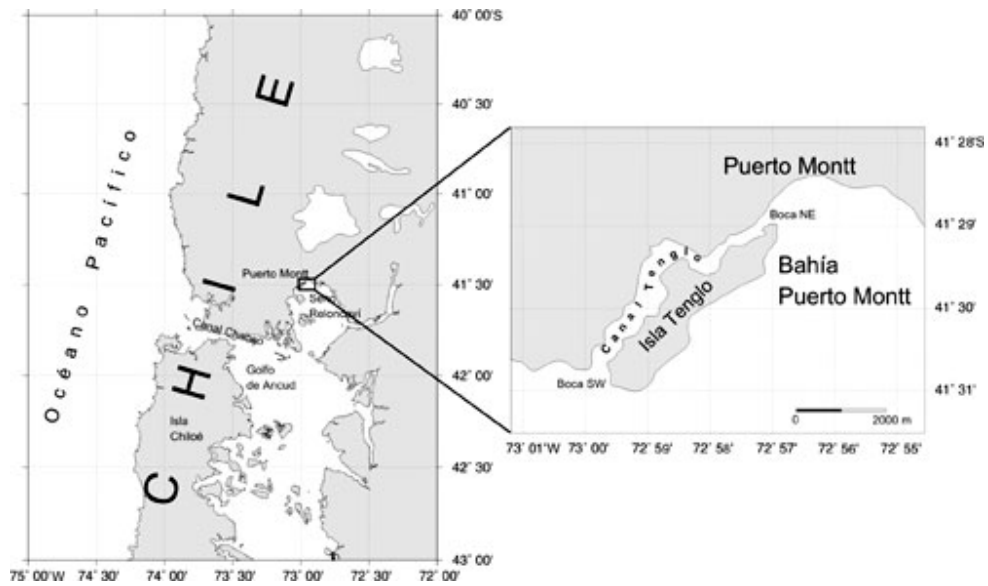


Figura 1.- Ubicación geográfica de la zona de muestreo y estudio, Puerto Montt, X Región, Chile.

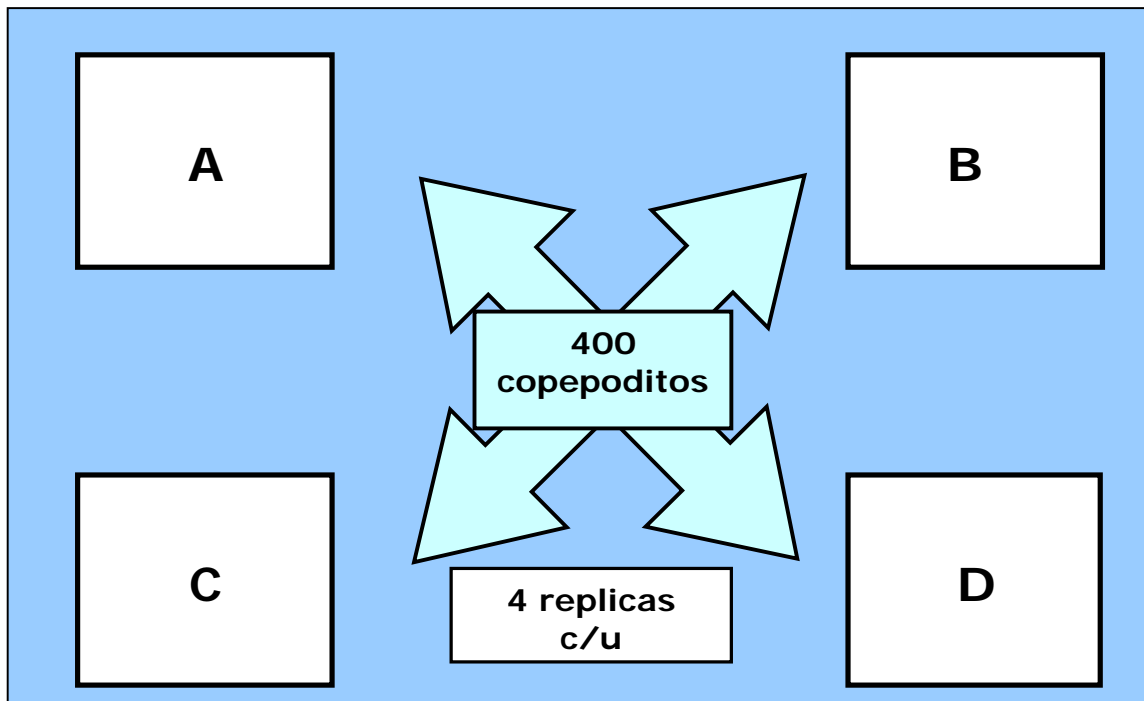


Figura 2.- Diseño experimental para la determinación de la rapidez y selectividad de sitio de fijación de copepoditos de *Caligus rogercresseyi* en cuatro especies hospederas (**A:** *Salmo salar*; **B:** *Oncorhynchus mykiss*; **C:** *Oncorhynchus kisutch*; **D:** *Hypsoblennius sordidus*)

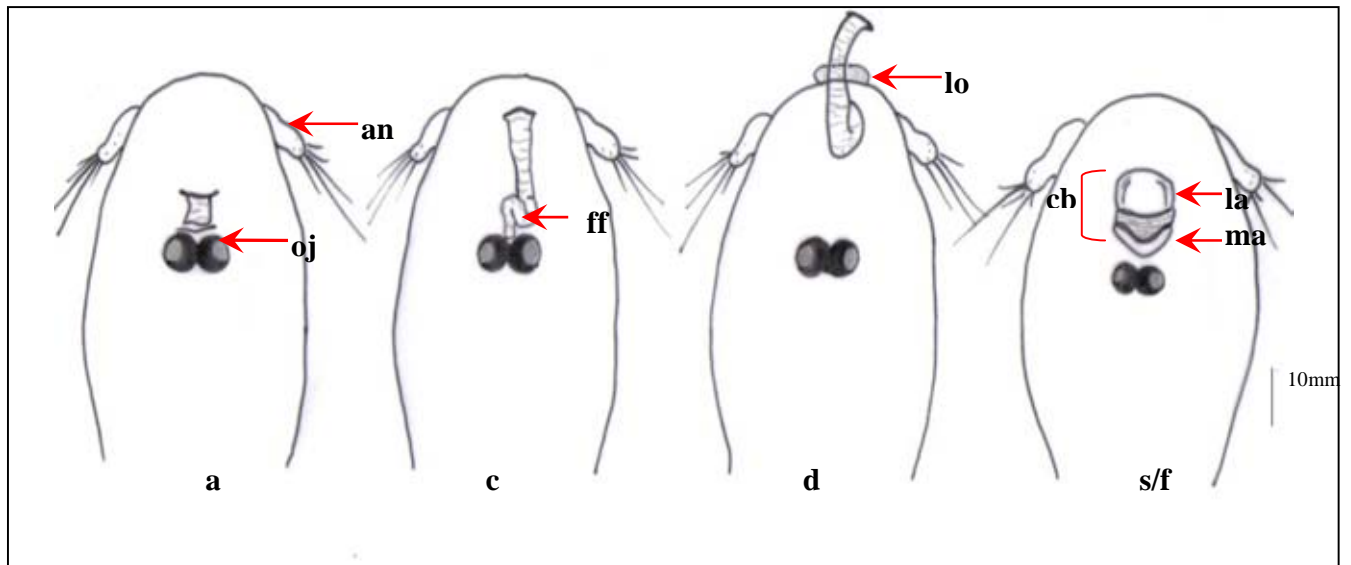


Figura 3.- Etapas de formación del filamento frontal en copepoditos de *Caligus rogercresseyi*; **a)** temprano, **c)** avanzado, (Tomado de Piasecki & MacKinnon, 1992), **d)** terminal, **s/f)** sin filamento (Farias, 2005); **an:** anténula, **oj:** ojos, **ff:** filamento frontal, **lo:** lóbulo, **cb:** cono bucal, **la:** labrum, **ma:** mandíbula.

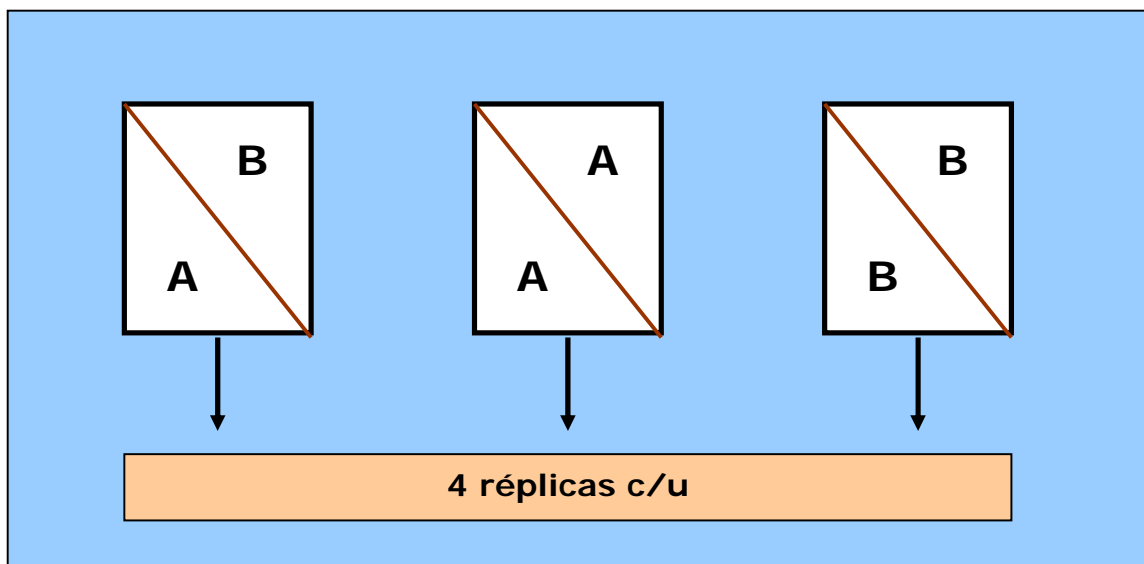


Figura 4.- Diseño experimental para la determinación de selectividad de especie hospedera por parte del copepodito de *Caligus rogercresseyi* (**A:** *Salmo salar*; **B:** *Oncorhynchus kisutch* o *Oncorhynchus mykiss*).

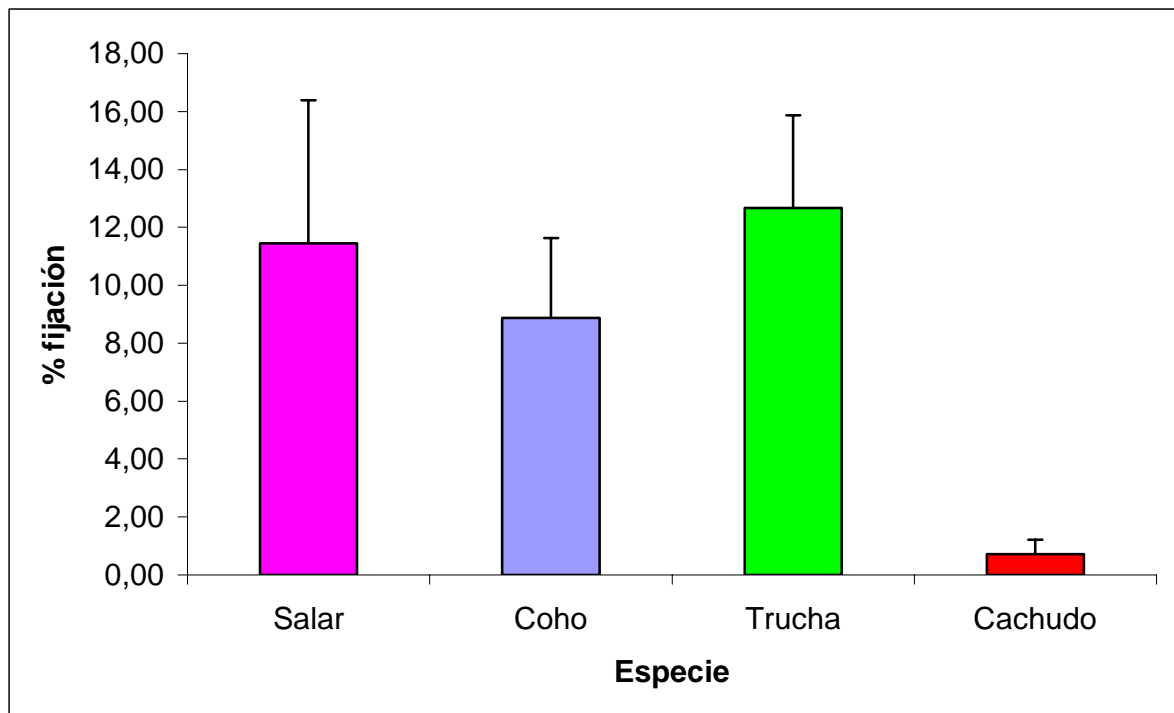


Figura 5.- Porcentajes de fijación total de los copepoditos de *Caligus rogercresseyi* para cada una de las especies hospederas. Los valores mostrados corresponden a promedios y desviación típica.

Tabla 1.- Porcentajes de formación del filamento de fijación promedio con su desviación típica para cada especie hospedera en cada día de experimentación.

Peces	Niveles de formación	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
<i>O. mykiss</i>	Temprano	0,85 ± 0,72	1,05 ± 0,67	0,12 ± 0,34	0,00 ± 0	0,00 ± 0
	Avanzado	2,44 ± 1,22	2,58 ± 1,49	2,63 ± 1,41	2,82 ± 2,52	1,21 ± 1,70
	Terminal	0,06 ± 0,16	0,52 ± 0,23	0,63 ± 0,64	0,51 ± 0,83	0,14 ± 0,29
	Chalimus I	0,00 ± 0	0,03 ± 0,08	0,15 ± 0,44	0,54 ± 0,38	0,16 ± 0,24
<i>S. salar</i>	Temprano	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Avanzado	3,87 ± 1,93	2,31 ± 1,22	0,84 ± 0,33	1,75 ± 1,54	0,00 ± 0
	Terminal	0,77 ± 0,29	0,81 ± 0,55	1,12 ± 0,41	0,57 ± 0,47	0,16 ± 0,31
	Chalimus I	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,56 ± 0,82	0,29 ± 0,34	0,15 ± 0,29
<i>O. kisutch</i>	Temprano	1,60 ± 1,08	0,49 ± 0,20	0,81 ± 0,94	0,19 ± 0,38	0,00 ± 0
	Avanzado	10,77 ± 2,70	8,30 ± 3,92	2,51 ± 1,77	3,30 ± 2,38	1,71 ± 1,50
	Terminal	0,00 ± 0	0,17 ± 0,35	0,27 ± 0,18	0,75 ± 0,30	0,00 ± 0
	Chalimus I	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,18 ± 0,36	0,28 ± 0,36	0,41 ± 0,58
<i>H. sordidus</i>	Temprano	0,00 ± 0	0,09 ± 0,26	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,00 ± 0
	Avanzado	5,94 ± 3,05	3,92 ± 1,67	7,08 ± 11,54	2,73 ± 4,18	0,00 ± 0
	Terminal	0,50 ± 0,46	0,29 ± 0,24	0,55 ± 0,70	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0
	Chalimus I	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,00 ± 0	0,00 ± 0

Tabla 2.- Resumen del análisis de covarianza realizado para las especies *O. kisutch*, *O. mykiss*, *S. salar* y *H. sordidus* de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.

Parámetros	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Intercepto	188467,7	1	188467,7	4941,573	0,000000
Días	2604,9	1	2604,9	68,301	0,000000
Especies	2866,5	3	955,5	25,053	0,000000
Error	4386,0	115	38,1		

Tabla 3.- Resumen de la prueba estadística de Tukey aplicada para las especies *O. kisutch*, *O. mykiss*, *S. salar* y *H. sordidus* de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.

	<i>O. mykiss</i>	<i>S. salar</i>	<i>O. kisutch</i>	<i>H. sordidus</i>
<i>O. mykiss</i>		0,366209	0,000137	0,473169
<i>S. salar</i>	0,366209		0,000137	0,029343
<i>O. kisutch</i>	0,000137	0,000137		0,000137
<i>H. sordidus</i>	0,473169	0,029343	0,000137	

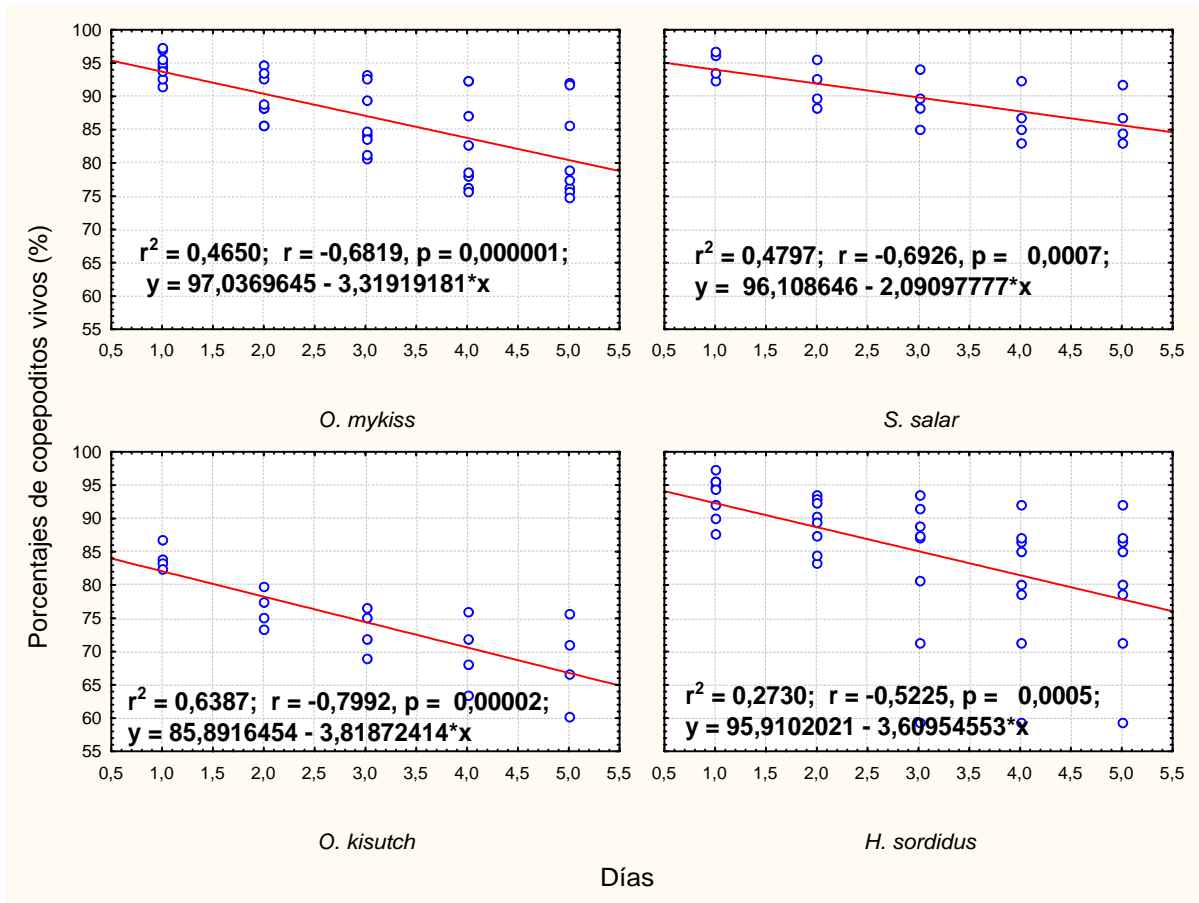


Figura 6.- Pendientes y parámetros obtenidos a partir del análisis regresión lineal, correspondientes a las especies *O. kisutch*, *O. mykiss*, *S. salar* y *H. sordidus* de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.

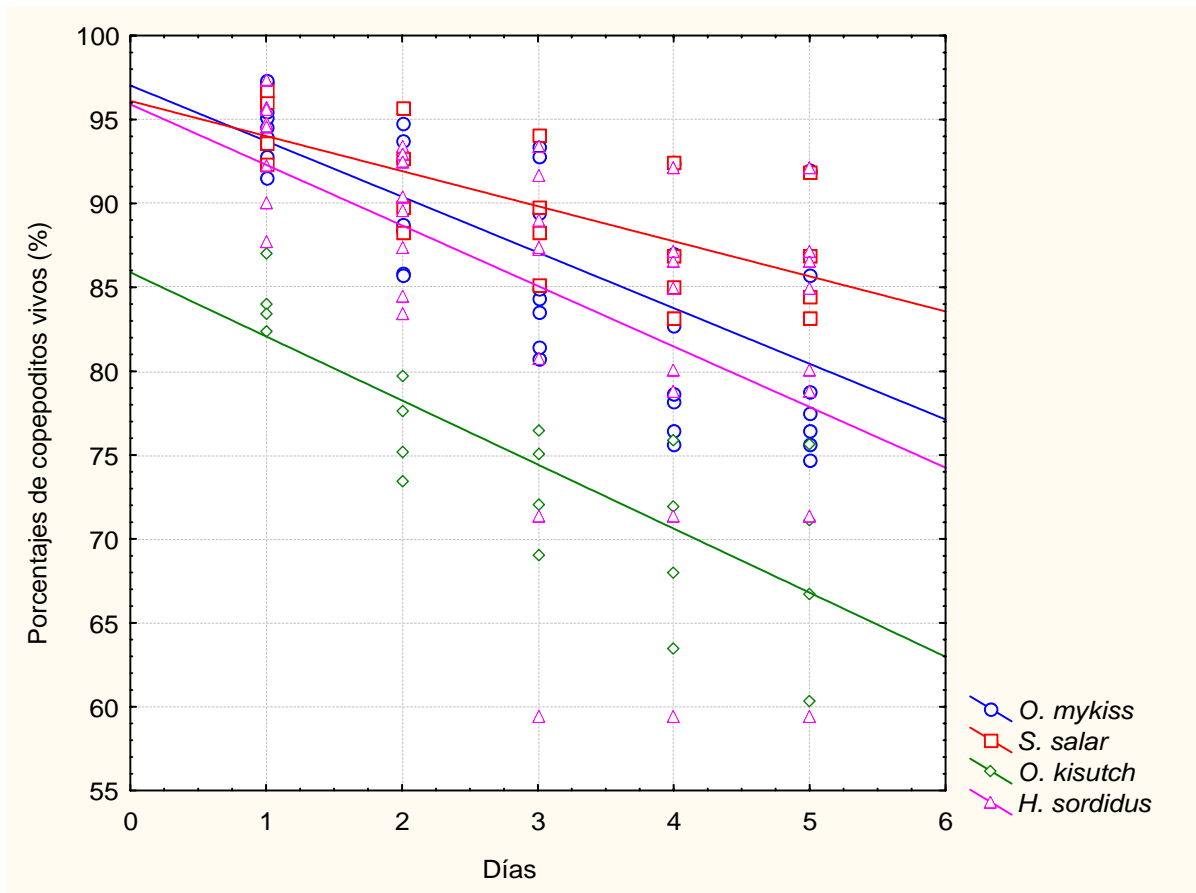


Figura 7.- Pendientes obtenida a partir del análisis regresión lineal, correspondientes a las especies *O. kisutch*, *O. mykiss*, *S. salar* y *H. sordidus* de acuerdo al porcentaje de copepoditos vivos.

Tabla 4.- Porcentajes promedio de fijación y su desviación típica por zonas en el cuerpo de las cuatro especies hospederas después de 5 días de exposición para la selección de sitio.

Peces	Zonas del cuerpo						
	Aletas pectorales	Aletas pélvicas	Aleta dorsal	Aleta anal	Aleta caudal	Vientre	Dorso
<i>S. salar</i>	3,1 ± 0,80	2,3 ± 0,56	1,65 ± 1,08	0,64 ± 0,49	1,39 ± 1,05	3,3 ± 2,59	0 ± 0
<i>O. mykiss</i>	3,02 ± 1,55	2,61 ± 1,19	0,43 ± 0,43	1,40 ± 0,74	0,85 ± 0,96	4,36 ± 1,77	0 ± 0
<i>O. kisutch</i>	2,8 ± 1,06	0,84 ± 0,56	0,97 ± 0,47	0,56 ± 0,39	1,45 ± 0,76	2,26 ± 0,61	0 ± 0
<i>H. sordidus</i>	0,49 ± 0,42	0 ± 0	0,23 ± 0,39	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Tabla 5.- Resumen del ANOVA realizado en el experimento de selectividad de sitio para cada especie hospederas.

Parámetros	F	P
<i>S. salar</i>	2,23	0,096
<i>O. mykiss</i>	12,74	0,0001
<i>O. kisutch</i>	6,69	0,001
<i>H. sordidus</i>	5,03	0,003

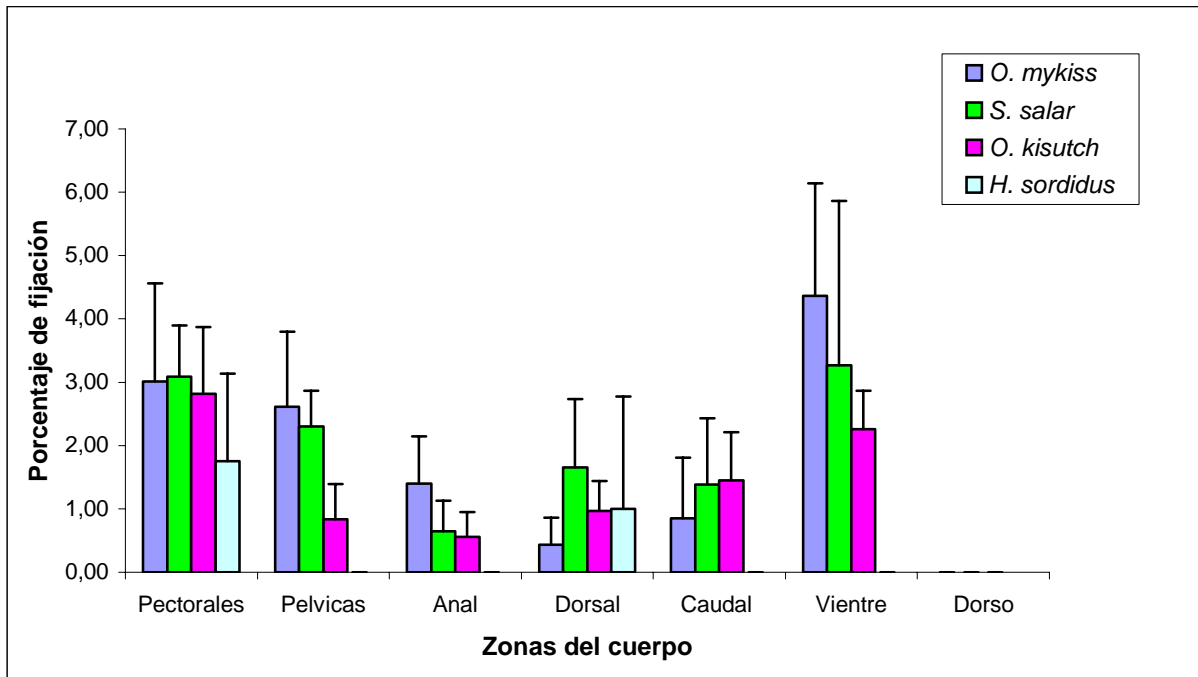


Figura 8.- Porcentajes de fijación de copepoditos por zonas para las especies hospederas *O. mykiss*, *O. kisutch*, *S. salar* y *H. sordidus*, a partir del experimento de rapidez (tasa de fijación) y selectividad de sitio.

Tabla 6.- Porcentaje de copépodos fijados en los peces hospederos en el experimento de selectividad de especie hospedera.

	Promedio	Desviación típica
Control 1 <i>O. mykiss</i>	13,43	3,51
Control 2 <i>O. mykiss</i>	12,71	1,10
Control 1 <i>S. salar</i>	4,59	1,85
Control 2 <i>S. salar</i>	4,46	2,36
Control 1 <i>O. kisutch</i>	3,24	1,44
Control 2 <i>O. kisutch</i>	3,60	3,04
Tratamiento 1 (<i>S. salar</i> vs <i>O. kisutch</i> ; <i>S. salar</i>)	3,13	1,46
Tratamiento 1 (<i>S. salar</i> vs <i>O. kisutch</i> ; <i>O. kisutch</i>)	4,21	2,79
Tratamiento 2 (<i>S. salar</i> vs <i>O. mykiss</i> ; <i>S. salar</i>)	13,65	2,94
Tratamiento 2 (<i>S. salar</i> vs <i>O. mykiss</i> ; <i>O. mykiss</i>)	13,80	3,83

Tabla 7.- Resumen del ANOVA realizado en el experimento de selectividad para los tratamientos 1 (*O. mykiss* versus *S. salar*) y 2 (*O. kisutch* versus *S. salar*).

Parámetros	Tratamiento 1 <i>O. mykiss</i> versus <i>S. salar</i>	Tratamiento 2 <i>O. kisutch</i> versus <i>S. salar</i>
F obtenido	0,64	0,006
P - valor	0,598	0,974

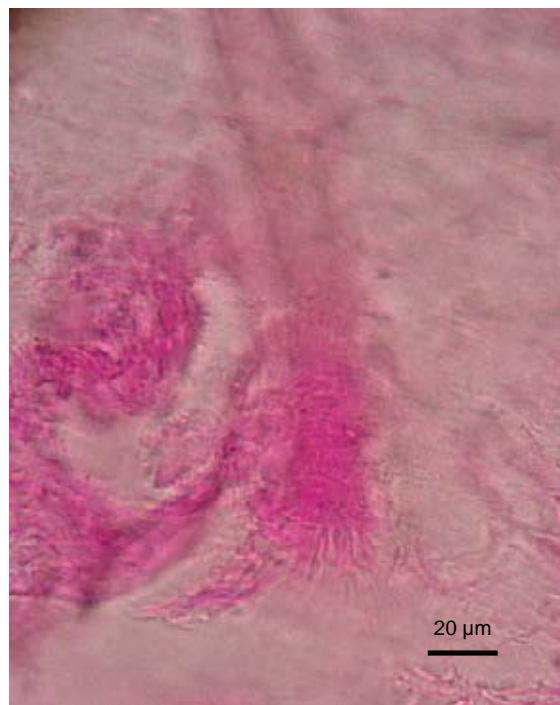


Figura 9.- Extremo distal del filamento frontal presente en *Caligus rogercresseyi* teñido con Fucsina de Zhiel.

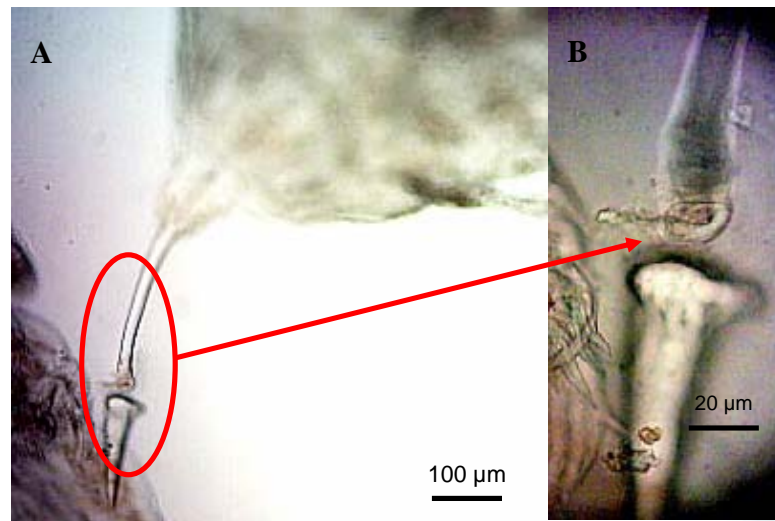


Figura 10.- Detalle de la placa basal de *Caligus rogercresseyi* que utiliza para fijarse a las estructuras duras del pez; **A:** Chalimus I, **B:** Zona de contacto, placa basal a cartílago.



Figura 11.- Filamento frontal en el estadio chalimus I, observación del halo de fijación en el sitio de inserción del filamento, utilizando la tinción Fucsina de Zhiel.



Figura 12.- Filamento frontal dentro del cuerpo del copepodito en etapa avanzada, teñido con Fucsina de Zhiel.

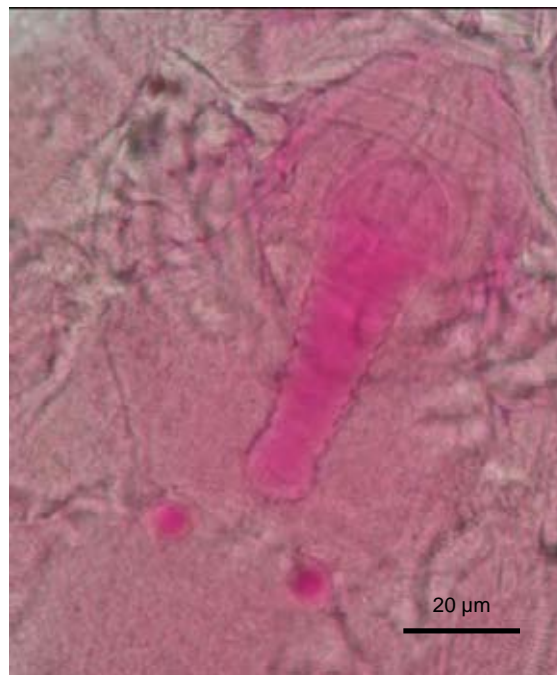


Figura 13.- Filamento frontal de fijación dentro del cuerpo del copepodito, nivel de desarrollo temprano, utilizando la tinción Fucsina de Zhiel.



Figura 14.- Formación del filamento frontal de fijación en el nivel de desarrollo avanzado, utilizando la tinción Fucsina de Zhiel. a) vista frontal; b) vista lateral.



Figura 15.- Formación del filamento de fijación en nivel de desarrollo terminal en el copepodito de *Caligus rogercresseyi*, teñido con Fucsina de Zhiel.

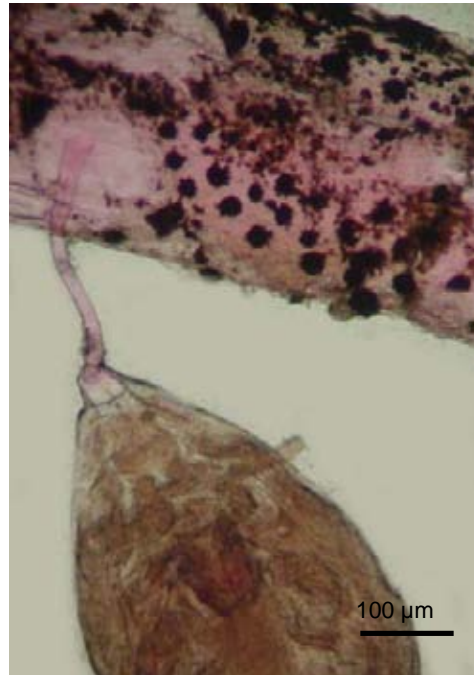


Figura 16.- Estadio chalimus I, nivel de desarrollo previo a la metamorfosis a chalimus II, utilizando la tinción Fucsina de Zhiel.



Figura 17.- Estadio chalimus I, nivel de desarrollo previo a la metamorfosis a chalimus II, teñido con Fucsina de Zhiel. La flecha indica la aparición de primer paquete de lóbulos.

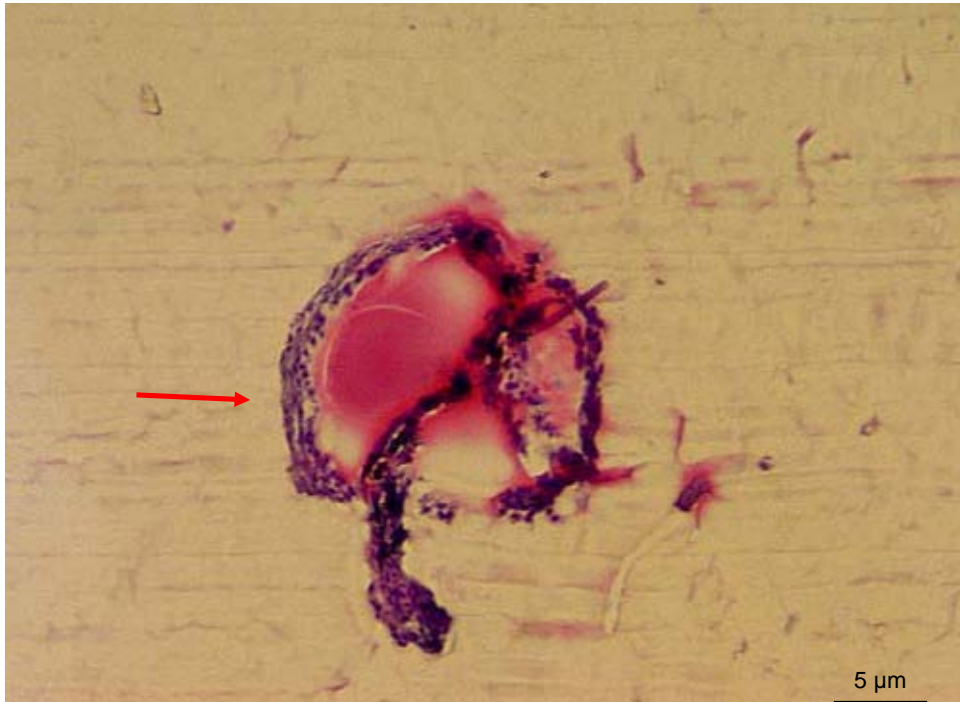


Figura 18.- Corte transversal del filamento de fijación de *Caligus rogercresseyi*, teñido con Hematoxilina – Eosina. La flecha indica la superficie del filamento.

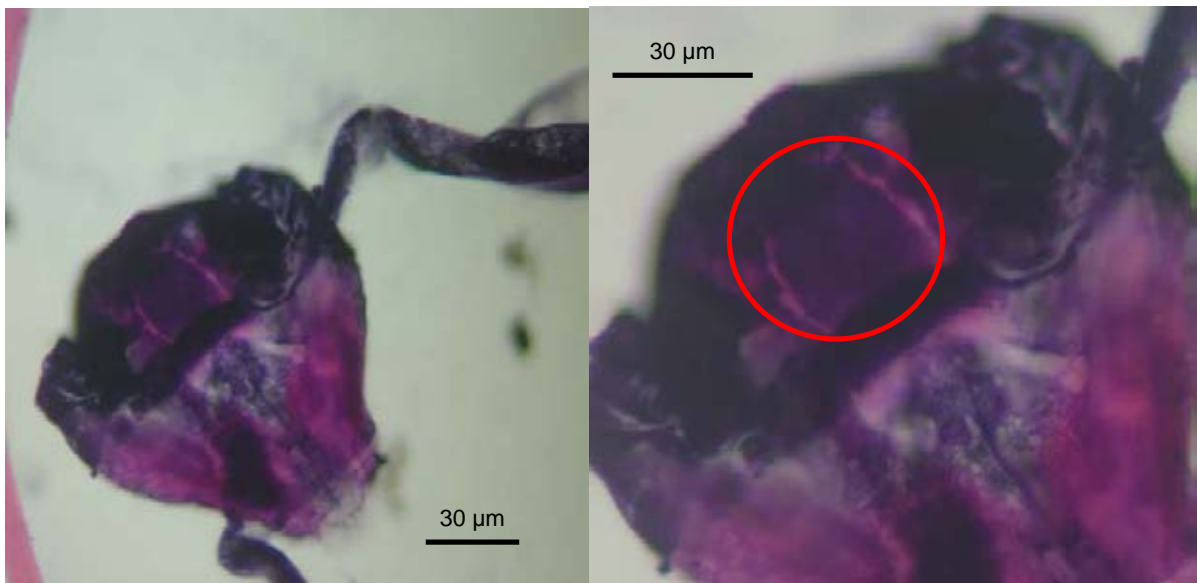


Figura 19.- Corte transversal de la región anterior del cefalotórax del estadio copepodito terminal, utilizando la tinción Hematoxilina – Eosina. El círculo nos indica el filamento frontal dentro del cuerpo del copepodito.