

Efecto del parasitismo del isópodo bopírido *Ionella agassizi* (Isopoda: Epicaridea) (Bornnier, 1900) sobre la fisiología nutricional del nape *Neotrypaea uncinata* (M. Edwards, 1837) (Decapoda: Thalassinidea)

Effects of parasitism in nutritional physiology of the ghost shrimp
Neotrypaea uncinata parasitized by the isopod *Ionella agassizi*

LORENA P. ASTETE-ESPINOZA¹ & CRISTIAN W. CACERES M²

Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Ssma. Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile,
e-mail¹: lastete@david.ucsc.cl, e-mail²: ccaceres@david.ucsc.cl

¹Dirección actual: Centro de Ecología Aplicada. Avenida Suecia 3304 Nuñoa, Santiago, Chile.

²A quien dirigir correspondencia

RESUMEN

El nape *Neotrypaea uncinata* se encuentra parasitado en sus branquias por el isópodo *Ionella agassizi*. Trabajos anteriores han señalado que *I. agassizi* provoca un efecto negativo en la biología reproductiva del nape, afectando significativamente tanto el desarrollo de los órganos reproductores como la expresión de las características sexuales secundarias. Lo anterior podría estar asociado a una disminución de las sustancias de reserva de *N. uncinata*, afectando de esta manera su metabolismo. En este trabajo se determinaron las concentraciones de metabolitos relacionados con el estado nutricional de *N. uncinata* (proteínas totales, hemocianina, lactato y glucosa); además se evaluó el porcentaje de lípidos en el tejido del hospedador. Los resultados obtenidos indican una mayor frecuencia de infección en machos adultos, lo que sugiere la existencia de mortalidad diferencial en el hospedador. Se determinó una menor masa corporal en los individuos parasitados en comparación con los no parasitados. En relación con la concentración de metabolitos: se determinó una disminución de los niveles de proteínas totales y de las concentraciones de hemocianina, lo que evidencia un efecto importante del parasitismo a nivel nutricional. Además, se encontró una concentración menor de lactato en individuos parasitados asociado a una alta concentración de glucosa, lo cual sugiere la utilización del lactato como sustrato para la síntesis de glucosa en presencia del parásito. Finalmente la reducción de los lípidos en individuos parasitados evidencia la carencia de sustancias de reserva.

Palabras clave: parasitismo, fisiología, hemolinfa, nape, isópodo.

ABSTRACT

The ghost shrimp *Neotrypaea uncinata* is parasitized in the branchial chamber for the isopod *Ionella agassizi*. Previous works had indicated that the parasite causes a negative effect in the reproductive biology of the ghost shrimp, influencing seriously the development of reproductive organs and the expression of secondary sexual characteristics. This effect can be produced by a general reduction of the reserve substances of *N. uncinata* caused by the presence of the parasite. In order to evaluate the effect of the parasite on the nutritional status of the ghost shrimp we measured the concentration of some metabolites related to the nutritional physiology of *N. uncinata*. The results showed a greater frequency of infection in adult males, which suggests differential mortality by effect of the parasite through the host ontogeny. The parasitized individuals showed a reduction of the body mass and a diminution of both protein and haemocyanin levels. However, the measured lactate levels are smaller in parasitized individuals, but the levels of glucose were higher in this individuals, this relationships suggest the use of lactate as substrate for glucose synthesis. Finally the lipid reduction in parasitized ghost shrimps demonstrates the scarcity of the reserve substances in this species.

Key words: parasitism, physiology, hemolymph, isopod, ghost shrimp.

INTRODUCCION

La interacción parásito-hospedador genera una serie de efectos que estarían íntimamente concatenados, ya que los organismos implicados reaccionan uno frente al otro de una gran variedad de formas desde respuestas de tipo molecular hasta modificaciones de interacciones ecológicas (Noble & Noble 1965, Toft et al. 1993).

Una serie de estudios han intentado responder cómo la presencia del parásito afecta o modula el metabolismo del hospedador o viceversa. En general los autores han concluido que el metabolismo del parásito se encuentra íntimamente relacionado con la calidad y cantidad de metabolitos disponibles para la nutrición del hospedador; asimismo se ha sostenido que en la mayoría de los casos los hospedadores proveen una superabundancia de recursos a sus parásitos (Lee & Cheng 1972, Calow & Jennings 1974, Schmale & Becker 1977, Stanislawski & Becker 1979, Becker 1983, Tielens et al. 1984, Tielens et al. 1987, Duncan et al. 1987, Brouwers 1996, Olmos & George-Nascimento 1997).

Por otra parte, varios trabajos han descrito que los parásitos que habitan en la cámara branquial del hospedador afectan negativamente el éxito reproductivo de éste (Noble & Noble 1965, Pérez 1976, Toft et al. 1993, Muñoz & George-Nascimento 1999). Este tipo de infección branquial se encuentra comúnmente asociada a crustáceos isópodos de la familia Bopyridae (Isopoda, Epicaridea), los que en su mayoría son ectoparásitos de ciclo de vida indirecto, parasitando a dos hospedadores: el primero casi siempre es un copépodo calanoídeo, y el segundo es un crustáceo decápodo que actúa como hospedador definitivo. Estos parásitos se unen a su hospedador definitivo en su estadio juvenil, alcanzando en conjunto el estadio adulto, período durante el cual el parásito modifica sus mandíbulas y máxilas para absorber la hemolinfa del hospedador (Perez 1976).

Estudios recientes señalan que *Neotrypaea uncinata* se encuentra parasitado por isópodos de las especies *Ionella agassizi* e *Ione ovatta* (Shiino 1964), siendo la primera especie la que alcanza una mayor prevalencia (Muñoz & George-Nascimento 1999). Estos autores señalan que el parásito produce un notable efecto en la reproducción de *N. uncinata*, inhibiendo tanto el desarrollo gónadal de los napes como la expresión de los caracteres sexuales secundarios. Sin embargo, esta disminución en la asignación reproductiva de *N. uncinata* se deba probablemente a una respuesta de economía energética, debido a la reducción en la disponibilidad de nutrientes generado

por la presencia del parásito en la cámara branquial del hospedador, de donde obtiene los recursos necesarios para su desarrollo.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la presencia del parásito *Ionella agassizi* en la fisiología nutricional del nape *Neotrypaea uncinata*. Para esto se evaluaron las concentraciones de metabolitos hemolinfáticos asociados al estado nutricional del hospedador, además se determinó la proporción de substancias de reservas presentes en los tejidos del hospedador.

MATERIALES Y METODOS

Los individuos de la especie *Neotrypaea uncinata* fueron capturados utilizando una bomba extractora durante los meses de junio y julio de 1998 en el submareal somero en la localidad de Lengua, Bahía de San Vicente, Talcahuano (36° 45'S; 73° 10'W). Los ejemplares capturados fueron trasladados al Laboratorio de Fisiología Animal de la Universidad Católica de la Santísima Concepción, donde fueron mantenidos en recipientes de 40 litros con aireación constante, a una temperatura de 15° C por un período de 24 horas.

Cada individuo capturado fue sexado y medida su longitud cefalotorácica (LCT) utilizando un piedemetro ($\pm 0,1$ mm). A través de un examen visual de la cámara branquial de cada ejemplar se determinó la presencia de isópodos bopíridos de la especie *Ionella agassizi*. Napes y parásitos fueron secados en una estufa a 80 °C por 72 hr y posteriormente pesados en una balanza analítica «Bel» ($\pm 0,1$ mg).

La obtención de hemolinfa de *Neotrypaea uncinata* se realizó a través de una punción de la cavidad pericárdica entre el cefalotórax y el primer segmento abdominal; a cada ejemplar se le extrajo 0,4 ml de hemolinfa utilizando jeringas de 1,0 ml con 0,1 ml de una solución de EDTA (Bonaventura & Bonaventura 1980, Sanders & Childress 1990). Las muestras de hemolinfa fueron centrifugadas por 10 min. a 1200 rpm. Se obtuvo el sobrenadante y se determinó de inmediato las concentraciones de lactato y hemocianina; el sobrenadante restante fue refrigerado para su análisis posterior.

Dada su importancia en la fisiología energética, variaciones en los niveles de glucosa, proteínas totales y lactato pueden ser utilizados como indicadores de alteraciones fisiológicas provocadas por la acción de agentes externos al organismo en estudio. La determinación de estos metabolitos en la hemolinfa se efectuó mediante técnicas colorimétricas utilizando un espectrofotómetro Milton Roy modelo Spectronic 401.

Proteínas totales: La determinación del contenido proteico fue realizada mediante la técnica colorimétrica de Biuret (Layne 1957).

Hemocianina: La determinación de los niveles de hemocianina se llevó a cabo a través de la siguiente metodología (Pritchard & Eddy 1979, Chen & Cheng 1993). Se determinó el máximo de absorción de la oxihemocianina de *N. uncinata*, ajustando el pH de la hemolinfa a 8 con tampón Tris. Posteriormente, 100 µl de hemolinfa fueron diluidos en 900 µl de agua destilada y rápidamente oxigenados, registrándose los valores de absorbancia a una longitud de onda de 335 nm, utilizando el coeficiente de extinción de 17,26 E mM/1cm, calculado de E 1%/1 cm=2,83 por Nickerson & Van Holde (1971).

Lactato: La determinación de las concentraciones de lactato se realizó utilizando la reacción colorimétrica de la enzima lactato oxidasa (Sigma Chem. Co). Previo al análisis, las muestras fueron tratadas con ácido tricloroacético (TCA) al 5%.

Glucosa: La determinación del contenido de glucosa en la hemolinfa se realizó a través de la técnica enzimática de punto final Trinder, basada en la reacción glucosa oxidasa (GOD)/peroxidasa (POD).

Lípidos: El porcentaje de lípidos totales en *N. uncinata* se determinó por gravimetría, mediante extracción con solventes orgánicos etanol, metanol y éter en una proporción de 1:1:3 (Bettin et al. 1996).

Los datos se presentan como media y error estándar ($X \pm ES$). Se realizó un análisis de covarianza de dos vías (ANCOVA), para evaluar el efecto del parasitismo y del sexo en la relación entre masa corporal y longitud cefalotorácica del hospedador. Para analizar el efecto del parasitismo y sexo del hospedador sobre los parámetros fisiológicos, se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías para cada una de las variables, estandarizadas por la masa corporal. Los datos fueron transformados logarítmicamente, el porcentaje de lípidos totales fue transformado a arcoseno (Zar 1996).

RESULTADOS

Se capturaron un total de 232 individuos de *Neotrypaea uncinata*. Del total capturado 147 fueron hembras y 85 machos, observándose diferencias significativas en la proporción sexual en esta especie ($X^2_1 = 6,20$; $P < 0,05$). En hembras un 71,43% no se encontraron parasitadas frente a un 28,57% en que sí se detectó la presencia del isópodo ($\chi^2_1 = 18,01$; $P < 0,01$). En machos no se observaron diferencias significativas entre indi-

viduos no parasitados (56,47%) y parasitados (43,53%) ($\chi^2_1 = 0,20$; $P = 0,65$). Del total de la muestra, los machos presentan significativamente una mayor frecuencia de parásitos que las hembras ($\chi^2_1 = 5,37$; $P < 0,05$). Sin embargo, los individuos de menor tamaño ($< 1g$) no presentaron diferencias significativas en la proporción de individuos parasitados entre ambos sexos ($\chi^2_1 = 0,01$; $P = 0,92$).

Tamaño corporal

La masa corporal de los individuos de *Neotrypaea uncinata* (Tabla 1) mostró una fuerte influencia de la presencia del parásito *Ionella agassizi* (ANDEVA: $F_{(1,226)} = 57,81$; $P < 0,001$), siendo mayor la masa promedio de los individuos no parasitados ($1,49 \pm 0,06 g$) por sobre los parasitados ($1,02 \pm 0,06 g$). No se observaron efectos significativos del sexo de los individuos ni de la interacción entre ambas variables (ANDEVA: $F_{(1,226)} = 3,11$; $P = 0,08$ para sexo; $F_{(1,226)} = 0,25$; $P = 0,61$ para interacción entre sexo y parasitismo). Por otra parte, la longitud cefalotorácica fue significativamente afectada por la variable sexo, siendo mayor en los machos ($1,79 \pm 0,05 cm$) que en las hembras ($1,72 \pm 0,02 cm$) (ANDEVA: $F_{(1,226)} = 4,33$; $P < 0,05$), no se detectó efectos de la presencia del parásito o de la

TABLA 1

Masa corporal (g seco) y longitud cefalotorácica (cm) de la especie *Neotrypaea uncinata*, clasificados de acuerdo al sexo de los individuos y la presencia o ausencia del isópodo *Ionella agassizi*. ($X =$ media, $ES =$ error estándar)

Body mass (g dry) and cephalothoracic length (cm) of male and female individuals of *Neotrypaea uncinata*, parasitized and non-parasitized by the isopod *Ionella agassizi*. ($X =$ mean, $ES =$ standard error)

	Masa corporal (g) $X \pm ES$	Longitud cefalotórax (cm) $X \pm ES$
No parasitados		
Hembras (n = 105)	1,43 \pm 0,004	1,72 \pm 0,01
Machos (n = 48)	1,55 \pm 0,009	1,76 \pm 0,03
Parasitados		
Hembras (n = 42)	0,95 \pm 0,005	1,72 \pm 0,03
Machos (n = 37)	1,09 \pm 0,007	1,82 \pm 0,08
Total (n = 232)	1,31 \pm 0,003	1,74 \pm 0,01

interacción entre ambas variables (ANDEVA: $F_{(1,226)} = 1,03$; $P = 0,31$ para parasitismo; $F_{(1,226)} = 0,58$; $P = 0,44$ para la interacción parasitismo-sexo).

El análisis de la covarianza para la relación entre la masa corporal y la LCT de *Neotrypaea uncinata*, utilizando parasitismo y sexo como variables categóricas indica un fuerte efecto del parasitismo sobre la masa corporal del hospedador ($F_{(1,227)} = 80,12$; $P < 0,001$). El sexo ($F_{(1,227)} = 0,83$; $P = 0,36$) y la interacción ($F_{(1,227)} = 0,06$; $P = 0,81$) de ambas variables fueron no significativas (Fig. 1).

La relación masa isópodo/masa hospedador no mostró diferencias significativas entre los sexos ($t_{(1,85)} = -0,91$ $P = 0,08$), representando el isópodo en promedio el $5,94 \pm 0,29\%$ ($n = 87$) de la masa del hospedador en ambos sexos.

Parámetros fisiológicos

Proteínas Totales: La concentración de proteínas totales en la hemolinfa se determinó en un total de 97 individuos. Las hembras no parasitadas presentan una concentración de $0,044 \pm 0,002$ $\text{g ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, en cambio la media en hembras parasitadas fue de $0,031 \pm 0,002$ $\text{g ml}^{-1}\text{g}^{-1}$. En machos no parasitados el promedio obtenido fue de $0,035 \pm 0,002$ $\text{g ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, mayor que la media observada en machos parasitados, la cual fue de $0,026 \pm 0,001$ $\text{g ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ (Fig. 2a)

El análisis de la varianza de dos vías indica que los niveles de proteínas totales se ven significativamente afectados por la presencia del parásito, además de mostrar un efecto significativo del

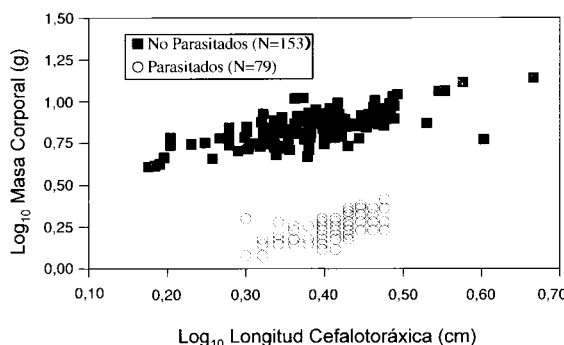


Fig. 1. Relación entre la masa corporal y la longitud cefalotorácica en individuos de *Neotrypaea uncinata*.

Relationship between body mass and cephalothoracic length in parasitized and non-parasitized individuals of *Neotrypaea uncinata*.

sexo de los individuos. No existiendo una interacción entre ambas variables (Tabla 2a).

Hemocianina: La concentración de hemocianina fue medida en 98 individuos de *Neotrypaea uncinata*. Los niveles de hemocianina fueron en general mayores en individuos no parasitados con valores de $3,54 \pm 0,20$ $\mu\text{mol ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ para hembras y $2,73 \pm 0,21$ $\mu\text{mol ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ en machos; en cambio, los individuos parasitados presentaron un promedio de $2,84 \pm 0,27$ $\mu\text{mol ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ para hembras y de $2,21 \pm 0,16$ $\mu\text{mol ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ para machos (Fig. 2b).

En la Tabla 2b se indican los valores de probabilidad obtenidos del análisis de la varianza para este parámetro, existiendo un efecto significativo del parasitismo y del sexo; no detectándose interacción de ambas variables.

Lactato: La concentración de lactato en la hemolinfa fue medida en 68 individuos. En hembras no parasitadas la concentración media fue de $0,38 \pm 0,03$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, y en las parasitadas de $0,28 \pm 0,04$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$. Los machos no parasitados presentaron una media de $0,32 \pm 0,07$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, mayor que la observada en los individuos parasitados que fue de $0,26 \pm 0,03$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ (Fig. 2c).

La tabla 2c señala los valores de probabilidad obtenidos del análisis de la varianza, indicando la existencia de una diferencia significativa de las concentraciones de lactato entre naves parasitados y no parasitados. No se observaron efectos significativos del sexo de los individuos y en la interacción de ambas variables en este parámetro.

Glucosa: Las concentraciones de glucosa fueron cuantificadas en un total de 98 individuos. Las hembras no parasitadas presentaron una media de $0,16 \pm 0,01$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, a diferencia de la evaluada en hembras parasitadas que fue de $0,24 \pm 0,03$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$. En machos no parasitados la media fue de $0,11 \pm 0,02$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$, menor que la determinada en machos parasitados ($0,23 \pm 0,03$ $\text{mg ml}^{-1}\text{g}^{-1}$) (Fig. 2d).

En la Tabla 2d se observan los valores de probabilidad obtenidos del análisis de la varianza para las concentraciones de glucosa, las concentraciones de este parámetro se ven influenciadas de manera significativa por el parasitismo. No se observa un efecto significativo del sexo ni una interacción entre ambas variables.

Lípidos: La determinación porcentual de lípidos se efectuó en un total de 36 individuos, las hembras no parasitadas presentaron una media de $17,23 \pm 1,37\%$, en las parasitadas la media fue de $10,00 \pm 1,53\%$. En cuanto a los machos no parasitados se obtuvo un promedio de $20,80 \pm 2,1\%$, y de $9,86 \pm 0,93\%$ para machos parasitados (Fig. 2e).

El análisis de la varianza de dos vías realizado para este parámetro muestra que existen diferen-

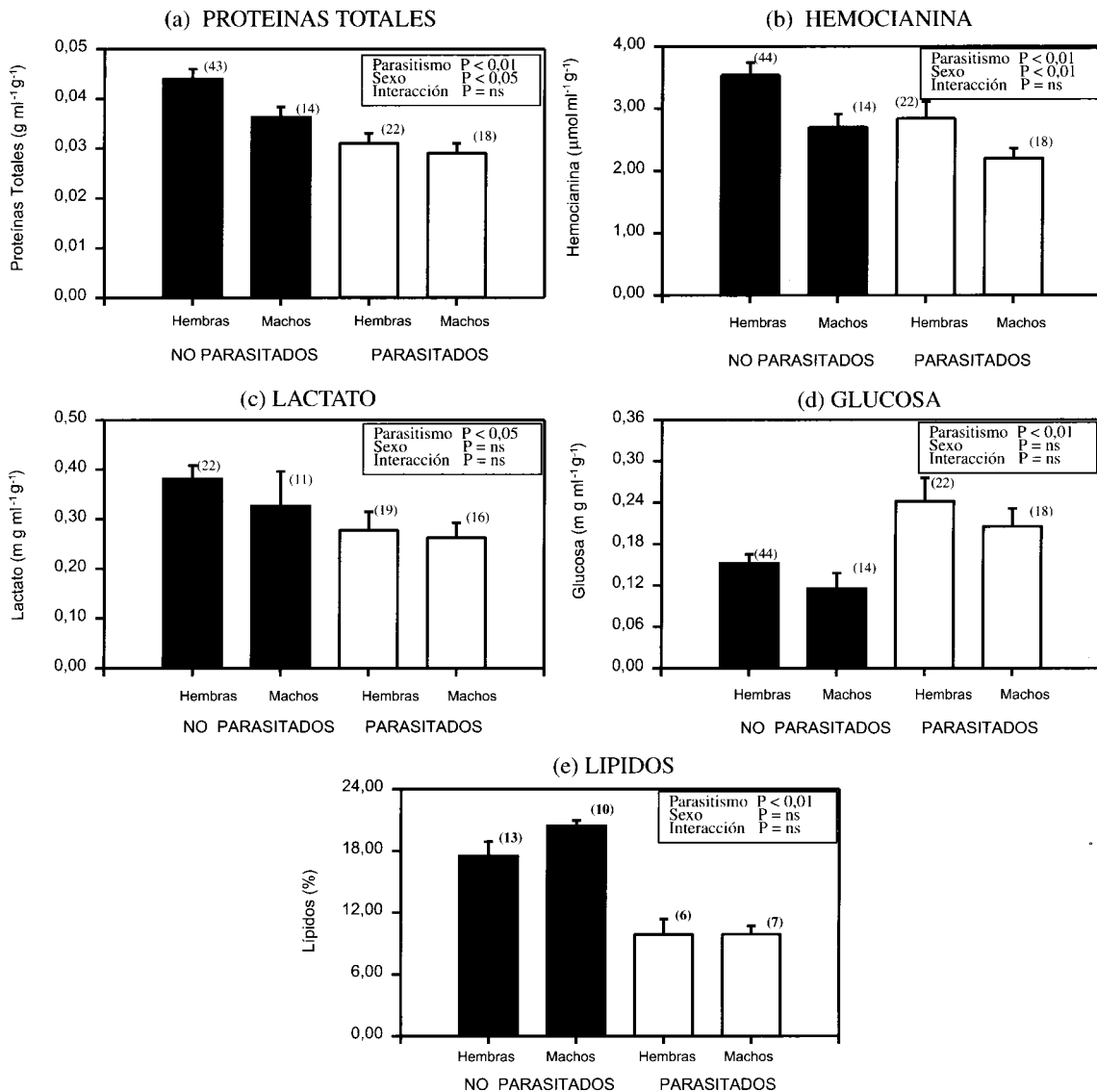


Fig. 2. Concentraciones de metabolitos hemolinfáticos y proporción de lípidos en individuos machos y hembras de *Neotrypaea uncinata* parasitados y no parasitados por el isópodo *Ionella agassizi*: a: Concentración de proteínas totales, b: Concentración de hemocianina; c: Concentración de lactato; d: Concentración de glucosa; e: Proporción de lípidos. (Los números en paréntesis indican el tamaño de la muestra).

Hemolymphatic concentrations and lipid proportion in male and female individuals of *Neotrypaea uncinata* parasitized and no parasitized by the isopod *Ionella agassizi*: a: Protein concentration, b: Hemocyanin concentration; c: Lactate concentration; d: Glucose concentration; e: Lipids proportion. (The numbers in brackets showed sample size).

cias significativas entre los porcentajes por efecto del parasitismo, no así por efecto del sexo o de la interacción entre ambas variables (Tabla 2e).

DISCUSION

Tradicionalmente las asociaciones isópodos-crustáceos han sido abordadas desde un punto de vista

ecológico, y en muy pocos casos se han abordado las relaciones fisiológicas involucradas en esta interacción (Warren 1974, Truesdale & Mermilliod 1977, Anderson 1977, Wenner & Windsor 1979, Beck 1980, Anderson & Dale 1981, McDermott 1991, Muñoz & George-Nascimento 1999).

En este estudio se encontraron diferencias significativas asociadas al sexo del hospedador encontrándose una mayor proporción de hembras y

una mayor presencia del parásito en los machos. Los antecedentes obtenidos permiten sugerir, que la mayor frecuencia de infección en los machos adultos es producto de que las hembras parasitadas se encontrarían sometidas a un mayor esfuerzo metabólico (parasitismo más reproducción) durante su ontogenia que las hembras no parasitadas, no logrando regular eficientemente su metabolismo; afectando de esta manera su sobrevivencia. Este hecho no es evidente en naves machos principalmente porque son las hembras quienes invierten una mayor energía en el almacenamiento de vítelo. Respaldada esta afirmación el hecho que

individuos juveniles de clases de tamaño menores no presentan diferencias en la proporción de individuos parasitados en los dos sexos, lo cual sugiere un proceso de infección al azar en los estadios tempranos, lo cual concuerda con resultados reportados en la literatura para la infección por parásitos bopíridos (Truesdale & Mermilliod 1977, Warren 1974). En consecuencia, la mayor frecuencia de infección en machos adultos supone la ocurrencia de mortalidad diferencial al comenzar la infección, hecho que afectaría fundamentalmente a las hembras en el inicio de su primer ciclo reproductivo.

TABLA 2

Resultados del análisis de la varianza de dos vías realizado para determinar la relación de los metabolitos hemolinfáticos con respecto al efecto del parasitismo y el sexo del nape *Neotrypaea uncinata*. Donde: gl = grados de libertad, MS=cuadrados medios; F= razón de F y P= valor de probabilidad. * P < 0,05

ANOVA tables of the relationship between measured concentrations and (1) parasitism and (2) sex. gl = degrees of freedom, MS= mean square, P = probability value. * P < 0,05

a) Análisis de las concentraciones de Proteínas Totales:				
EFFECTO	gl	MS	F	P
Parasitismo (1)	1	0,00043	14,33	< 0,001*
Sexo (2)	1	0,00017	5,80	0,02*
1 x 2	1	0,00002	0,62	0,43
Error	93	0,00003		
b) Análisis de las concentraciones de Hemocianina:				
EFFECTO	gl	MS	F	P
Parasitismo (1)	1	0,09798	7,21	< 0,01*
Sexo (2)	1	0,10516	7,74	< 0,01*
1 x 2	1	0,00032	0,02	0,88
Error	94	0,01358		
c) Análisis de las concentraciones de Lactato:				
EFFECTO	gl	MS	F	P
Parasitismo (1)	1	0,01115	4,88	0,03*
Sexo (2)	1	0,00241	1,05	0,31
1 x 2	1	0,00114	0,50	0,48
Error	64	0,00228		
d) Análisis de las concentraciones de Glucosa:				
EFFECTO	gl	MS	F	P
Parasitismo (1)	1	0,02305	14,63	< 0,001*
Sexo (2)	1	0,00268	1,70	0,20
1 x 2	1	0,00134	0,85	0,36
Error	94	0,00158		
e) Análisis de la proporción de Lípidos:				
EFFECTO	gl	MS	F	P
Parasitismo (1)	1	0,06789	26,15	< 0,001*
Sexo (2)	1	0,00024	0,93	0,34
1 * 2	1	0,00028	1,09	0,30
Error	32	0,00259		

En los sistemas hospedador-parásito, el tamaño corporal del hospedador ha sido considerado como un factor relevante, ya sea para explicar variaciones de intensidad de infección, y de prevalencia, o relacionar el impacto que puede tener el huésped en el metabolismo del hospedador (Gérard & Théron 1996, 1997). En el sistema estudiado se observa que la presencia del parásito *I. agassizi* influye considerablemente en la masa corporal de su hospedador *N. uncinata*, el cual presenta una reducción de hasta un 43% de su masa en presencia del parásito. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Marks et al. (1996), quienes al estudiar el efecto del isópodo *Lironeca ovalis* en el pez *Pomatomus saltatrix* encontraron que los individuos parasitados presentan una menor masa corporal que los no parasitados. La menor masa corporal detectada en individuos parasitados de *N. uncinata* posiblemente se deba a una disminución de las principales sustancias de reserva, como consecuencia del consumo por parte del parásito de gran parte de los metabolitos sintetizados por el hospedador, esto concuerda con lo descrito por Gérard & Théron (1996) y Toft et al. (1993). Estos autores afirman que los efectos del parasitismo a nivel nutricional se encuentran relacionados con una reducción en la eficiencia de conversión de energía del hospedador provocada por la presencia del parásito, el cual interfiere en los procesos de conversión y asignación de nutrientes y energía.

Los niveles de proteínas totales en *N. uncinata* se encuentran reducidos por la presencia del parásito, similar a lo encontrado en los sistemas *Biomphalaria glabrata-Schistosoma mansoni* (gastropodo-digéneo), *Nephrops norvegicus-Hematodinium* sp. (crustáceo-protocoo) y en *Lymantria dispar-Glyptapanteles liparidis* (Lepidoptera-Hymenoptera) (Lee & Cheng 1972, Taylor et al. 1996, Bischof & Ortel 1996).

Una reducción de los niveles de proteínas hemolinfáticas puede estar relacionada directamente con una disminución de los niveles de hemocianina. Se ha señalado que aproximadamente el 85% -90 % de las proteínas que circulan en la hemolinfa de artrópodos corresponden a la proteína transportadora de oxígeno hemocianina (Chen & Cheng 1993). De acuerdo a los resultados, se presume que alteraciones de los niveles de hemocianina responden a la disminución de los niveles de proteínas, dado que *N. uncinata* absorbería y utilizaría a la hemocianina como fuente proteica, compensando de esta forma la reducción de proteínas provocadas por un período de infección prolongado. Diversos autores han propuesto la existencia de una relación positiva entre la cantidad de proteínas aportadas por el alimento

y el estado nutricional de un organismo (Hagerman 1983, Hagerman 1986, Hagerman & Baden 1988, Senozan & Briggs 1989, Baden et al. 1990, 1994). Esto indicaría que los niveles de hemocianina son regulados no sólo por los niveles de oxígeno, sino también por un factor nutricional. Un ejemplo de este mecanismo es el observado en el crustáceo *Homarus gammarus*, quien al estar sometido a prolongados períodos de inanición reduce sus niveles de hemocianina (Hagerman 1983).

La presencia del isópodo en las branquias de *Neotrypaea uncinata* desde su fase juvenil provocaría un efecto no sólo en la disponibilidad de recursos energéticos, sino que además indirectamente afectaría su sistema respiratorio, ya que al disminuir los niveles de hemocianina decaería la capacidad transportadora de oxígeno; provocando un estado de hipoxia interna que involucraría una reducción en la entrada de oxígeno a los tejidos. Además *N. uncinata*, es un organismo que habita en la zona intermareal y submareal de playas y esteros con hábitos excavadores, construyendo numerosos túneles. Este modo de vida somete a estos organismos a constantes fluctuaciones de oxígeno; lo que sumado a la presencia del parásito podría condicionar su metabolismo hacia una anaerobiosis funcional (Van Aardt & Wolmarans 1987, Anderson et al. 1994, Taylor et al. 1996).

En *Neotrypaea uncinata* se determinó que tanto los individuos parasitados como los no parasitados presentan una concentración significativa de lactato, hecho que se explica por las condiciones de hipoxia en las que habitan, generadas por las fluctuaciones de los niveles de oxígeno (condiciones de anaerobiosis). La menor concentración de lactato encontrada en los individuos parasitados indica una posible utilización de este compuesto como sustrato gluconeogénico (anaerobiosis funcional), en vez de ser completamente oxidado o excretado al medio ambiente, aumentando de esta manera las concentraciones de glucosa en la hemolinfa; sin embargo aún no existen antecedentes sobre las vías metabólicas utilizadas por los crustáceos en este mecanismo de reconversión (Gäde 1986, Hagerman & Baden 1988, Baden et al. 1990). Sustenta lo escrito anteriormente los resultados obtenidos para los niveles de glucosa circulante siendo estos niveles significativamente mayores en individuos parasitados con respecto a los no parasitados. Otros autores sostienen que un aumento de los niveles de glucosa en crustáceos puede ser inducido por la presencia de un agente estresante, en nuestro caso el parásito, el cual estaría estimulando la secreción de la hormona hiperglicémica, provocando una rápida degradación del glicógeno aumentando los

niveles de glucosa circulante (Santos et al. 1988, 1997, Santos & Keller 1993).

Los lípidos son un importante constituyente de las membranas biológicas y forman parte importante como sustancias de reserva al ser almacenados en los tejidos de los organismos constituyendo una forma potencial de energía (Strayer 1995). La proporción de lípidos determinada en *Neotrypaea uncinata* representa un valor importante de la masa total de los individuos. De esta forma este parámetro explica el fuerte efecto que tiene el parásito en la masa corporal de *N. uncinata* dada la reducción de las sustancias de reserva y otros metabolitos fundamentales en el desarrollo de un organismo. Esta deficiencia a nivel energético en el nape, provocaría la reducción del tejido gonadal dado el alto costo energético que le genera el parásito al hospedador lo que imposibilita la utilización de energía para su reproducción.

Los antecedentes obtenidos en este estudio permiten señalar que el parásito ejerce un efecto importante a nivel nutricional en *N. uncinata*, dada la significativa reducción de la masa corporal de los individuos parasitados. Este efecto se ve corroborado por la disminución de los niveles de proteínas totales y la concomitante reducción de los niveles de hemocianina.

Los niveles de lactato y glucosa se encuentran íntimamente relacionados (Strayer 1995), dada la posible capacidad de este crustáceo para utilizar al lactato como sustrato para la gluconeogénesis. Sin embargo, tal afirmación necesita de la investigación de los mecanismos de regulación que le permitirían a *N. uncinata* utilizar esta vía de reconversión, principalmente por las diversas controversias que existen sobre este tema en crustáceos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen de manera especial a Pablo Quijada, Marcelina Peñaloza, Xímena Urrutia y a José Constanzo por su ayuda en el trabajo de laboratorio, a Carmen Gloria Narváez por sus sugerencias en los análisis bioquímicos. Se agradece a Don José Escobar por su ayuda en la captura de especímenes y al Dr. Patricio Camus por sus valiosos comentarios a versiones previas de este manuscrito. Este trabajo forma parte de la Tesis para optar al grado de Licenciatura en Cs. Biológicas de la Srta. Lorena Astete-Espinoza. Financio Proyecto Fondecyt 1980442.

LITERATURA CITADA

- ANDERSON G (1977) The effects of parasitism on energy flow through laboratory shrimp populations. *Marine Biology* 42: 229-251.
- ANDERSON G & W DALE (1981) *Probopyrus pandalicola* (Packard) (Isopoda, Epicaridea): Morphology and development of larvae culture. *Crustaceana* 41: 143-161.
- ANDERSON SJ, AC TAYLOR & RJA ATKINSON (1994) Anaerobic metabolism during anoxia in burrowing shrimp *Calocaris macandreae* Bell (Crustacea: Thalassinidea). *Comparative Biochemistry and Physiology* 108A: 515-522.
- BADEN PS, L PIHL & R ROSENBERG (1990) Effects of oxygen depletion on the ecology, blood physiology and fishery of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Marine Ecology Progress Series* 67: 141-155.
- BADEN PS, MH DEPLEDGE & L HAGERMAN (1994) Glycogen depletion and altered copper and manganese handling in *Nephrops norvegicus* following starvation and exposure to hypoxia. *Marine Ecology Progress Series* 103: 65-72.
- BECK JT (1980) Population interactions between a parasitic castrator, *Probopyrus pandalicola* (Isopoda: Bopyridae), and one of its freshwater shrimp hosts, *Palaemonetes paludosus* (Decapoda: Caridea). *Parasitology* 79: 341-449.
- BECKER W (1983) Purine metabolism in *Biomphalaria glabrata* under starvation and infection with *Shistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 76B: 215-219.
- BETTIN C, J OEHLMANN E STROBEN (1996) TBT induced imposex in marine neogastropods is mediated by an increasing androgen level. *Helgolander Meeresuntersuchungen* 50: 299-317.
- BISCHOF C & J ORTEL (1996) The effect of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Braconidae: Hymenoptera) on the hemolymph and body composition of gypsy moth larvae *Lymantria dispar*. (Lymantridae: Lepidoptera). *Parasitology Research* 82: 87-692.
- BONAVENTURA J & C BONAVENTURA (1980) Hemocyanins: Relationships in their structure, function and assembly. *American Zoology* 20: 7-17.
- BROUWERS MH, JJ VAN HELLEMOND & MGA TIELENS (1996) Adaptations in the lipid and energy metabolism of parasitic helminths. *Netherlands Journal of Zoology* 46: 206-215.
- CALOW P & J JENNINGG (1974) Calorific values in the phylum Platyhelminthes: The relationship between potential energy, mode of life, and evolution of endoparasitism. *Biological Bulletin*. 147: 81-94.
- CHEN J & S CHENG (1993) Hemolymph PCO₂, hemocyanin, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquatic Toxicology* 27: 281-292.
- DUNCAN M, B FRIED & J SHERMA (1987) Lipids in fed and starved *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda). *Comparative Biochemistry and Physiology* 86A: 663-665.
- GERARD T & A THERON (1996) Altered nutrition and assimilation of the snail host (*Biomphalaria glabrata*)

- as a consequence of the parasitic spatial constraint (*Schistosoma mansoni*). *Acta Tropica* 61: 51-55.
- GERARD T & A THERON (1997) Age/size and time-specific effects *Schistosoma mansoni* on energy allocation patterns of its snail host *Biomphalaria glabrata*. *Oecologia* 112: 447-452.
- GÄDE G, RA GRAHAM & WR ELLINGTON (1986) Metabolic disposition of lactate in the horseshoe crab *Limulus polyphemus* and the stone crab *Menippe mercenaria*. *Marine Biology* 91: 473-479.
- HAGERMAN L (1983) Haemocyanin concentration of juvenile lobsters (*Homarus gammarus*) in relation to moulting cycle and feeding. *Marine Biology* 77: 11-17.
- HAGERMAN L (1986) Haemocyanin concentration in the shrimp *Crangon crangon* (L.) after exposure to moderate hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology* 85A: 721-724.
- HAGERMAN L & SP BADEN (1988) *Nephrops norvegicus*: Field study of effects of oxygen deficiency on haemocyanin concentration. *Journal Experimental Marine Biology Ecology* 116: 135-142.
- LAYNE E (1957) Spectrographic and turbidimetric methods for measuring proteins. En: Kolowich SP & NO Kaplan (eds) *Methods in enzymology*: 447-454. Academic Press, New York.
- LEE F & T CHENG (1972) *Schistosoma mansoni*: Alterations in total protein and hemoglobin in the hemolymph of infected *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology* 31: 203-216.
- MARKS RE, F JUANES, JA HARE & DO CONOVER (1996) Occurrence and effect of the parasitic isopod, *Lironeca ovalis* (Isopoda: Cymothoidae), on young-of-the-year bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Pisces: Pomatomidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 2052-2057.
- MCDERMOTT JJ (1991) Incidence and host-parasite relationship of infection (Crustacea, Isopoda, Bopyridae) in the Brachyuran crab *Pachygrapsus transversus* from Bermuda. *Ophelia* 33: 71-95.
- MUÑOZ GI & M GEORGE-NASCIMENTO (1999) Comparaciones de los efectos recíprocos en la simbiosis entre camarones fantasmas (Decapoda: Thalassinidea) e isopodos bopíridos (Isopoda: Epicaridea). *Revista Chilena Historia Natural* 72:49-58.
- NICKERSON KW & KE VAN HOLDE (1971) A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin. I. Circular dichroism and absorption spectrum. *Comparative Biochemistry and Physiology* 39B: 855-872.
- NOBLE ER & AG NOBLE (1965) *Parasitología: Biología de los parásitos animales*. Editorial Interamericana, México. 675 pp.
- OLMOS V & M GEORGE-NASCIMENTO (1997) El gremio de larvas de Digenea en el caracol del sur de Chile *Chilina dombeyana*: ¿qué indica la tasa metabólica de los hospedadores parasitados? *Revista Chilena Historia Natural* 70: 109-118.
- PEREZ C (1976) *Parasitología*. Hermann Blume Ed., Madrid, España. 422 pp.
- PRITCHARD AW & S EDDY (1979) Lactate formation in *Callinassa californiensis* and *Upogebia pugettensis*. *Marine Biology* 50: 249-253.
- RUPPRECHT H, W BECKER & A SCHWANBEK (1989) Alterations in hemolymph components in *Biomphalaria glabrata* during long-term infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasitological Research* 75: 233-237.
- SANDERS NK & JJ CHILDRESS (1990) Adaptations to the deep-sea oxygen minimum layer: Oxygen binding by the hemocyanin of the bathypelagic Mysid, *Gnathopausia ingens* Dohrn. *Biological Bulletin*. 178: 286-294.
- SANTOS AE, MENERY & GC MANZONI (1988) Action of the crustacean hyperglycemic hormone of *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) (Decapoda: Grapsidae). *Comparative Biochemistry and Physiology* 89A: 329-332.
- SANTOS AE & R KELLER (1993) Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A: 405-411.
- SANTOS EA, MENERY, R KELLER & AA GONÇALVES (1997) Evidence for the involvement of the crustacean hyperglycemic hormone in the regulation of lipid metabolism. *Physiological Zoology* 70:415-420.
- SENOZAN NM & M BRIGGS (1989) Hemocyanin levels in the giant key hole limpet, *Megathura crenulata*, from the coast of California. *Comparative Biochemistry and Physiology* 94A: 195-199.
- SCHMALE H & W BECKER (1977) Studies on the cycle of *Biomphalaria glabrata* during normal feeding activity in starvation and with infection of *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 58B: 321-330.
- STANISLAWSKI E & W BECKER (1979) Influences of semi-synthetic diets, starvation and infection with *Schistosoma mansoni* (Trematoda) on the metabolism of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda). *Comparative Biochemistry and Physiology* 63A: 527-533.
- STRAYER L (1995) *Biochemistry*. Fourth Edition. WH Freeman and Company. New York, USA 1089 pp.
- TAYLOR AC, RH FIELD & PJ PARSLow-WILLIAMS (1996) The effects of *Hematodinium* sp. infection on aspects of the respiratory physiology of the Norway lobsters, *Nephrops norvegicus* (L). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 207: 217-228.
- TIELENS GMA, MJ VAN DEN HEUVEL & GS VAN DEN BERGH (1984) The energy metabolism of *Fasciola hepatica* during its development in the final host. *Molecular. Biochemical Parasitology* 13: 301-307.
- TIELENS GMA, MJ VAN DEN HEUVEL & GS VAN DEN BERGH (1987) Differences in intermediary energy metabolism between juvenile and adult *Fasciola hepatica*. *Molecular Biochemical Parasitology* 24: 273-281.
- TOFT AC, A AESCHLIMANN & L BOLIS (1993) *Parasite-Host associations: coexistence or conflict?* Redwood Books, Trowbridge, Great Britain. 383 pp.
- TRUESDALE F & W MERMILLIOD (1977) Some observations on the host-parasite relationship of *Macrobrachium ohione* (Smith) (Decapoda, Palaemonidae) and *Probopyrus bithynis* Richardson (Isopoda, Bopyridae). *Crustaceana* 32: 216-220.

- VAN AARDT JW & TC WOLMARANS (1987) Effects of anoxia on the haemolymph physiology and lactate concentrations in the freshwater crab *Potamon warreni* calman. *Comparative Biochemistry and Physiology* 88A: 671-675.
- WARREN PJ (1974). Some observations on the relationship of the bopyrid parasite *Hemiarthus abdominalis* (Krøyer) with *Pandalus montagui leacch* and *Pandalus borealis* Krøyer. *Crustaceana* 27: 21-26.
- WENNER EL & NT WINDSOR (1979) Parasitism of the galatheid crustaceans from the Norfolk canyon and middle Atlantic bight by bopyrid isopods. *Crustaceana* 37: 293-303.
- ZAR JH (1996). *Biostatistical analysis*. Third edition, Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. 662 pp.