

**TESIS DE MAESTRÍA EN MEDICINA DE LA CONSERVACIÓN CON ÉNFASIS  
EN MEDICINA INTERNA DE FAUNA SILVESTRE.**

**POSGRADO REGIONAL EN CIENCIAS VETERINARIAS TROPICALES,  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA, UNIVERSIDAD NACIONAL**

**TÍTULO: “AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN  
OCTOCORALES DEL CARIBE DE COSTA RICA”**

**ESTUDIANTE: ALEJANDRA MARÍA CALDERON HERNÁNDEZ.**

**TUTORA: MS.C. ANDREA URBINA VILLALOBOS (LABORATORIO DE  
MICOLOGÍA, ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA, UNIVERSIDAD  
NACIONAL).**

**CO-TUTOR: PH.D. JORGE CORTÉS NUÑEZ (CENTRO DE INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE COSTA RICA).**

**ASESORA: MS.C. INGRID SALAS CAMPOS (LABORATORIO DE MICOLOGÍA,  
FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE COSTA RICA).**

**DEFENDIDA EL 06 DE ABRIL DE 2016**

Instituciones participantes e investigadores que colaboraron en el proyecto:

Institución	Participación	Investigadores que colaboraron
Laboratorio de Micología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional	Financiamiento de la tesis Financiamiento del Curso de Micología Médica en el Instituto Pasteur, París-Francia Préstamo de equipos, materiales e instalaciones	Dra. Andrea Urbina Villalobos (tutora y participó en la toma y procesamiento de las muestras)
Junta de Becas, Universidad Nacional	Financiamiento del Seminario de Hongos Emergentes, Royal Society, Londres-Inglaterra	
Consejo Nacional para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) Ministerio de Ciencia, Tecnología y Telecomunicaciones (MICITT)	Financiamiento de los Estudios de Posgrado	
Servicio de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional	Procesamiento de los cortes histopatológicos y con tarifa especial para el proyecto	Dr. Juan Alberto Morales (asesoría en la visualización de cortes histopatológicos). Lic. Laura Alvarado y Dipl. Laura Orozco (realización de los cortes histopatológicos y tinciones)
Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad de Costa Rica (CIMAR)	Préstamo de equipos	Dr. Jorge Cortés Núñez (co-tutor, participó en la toma de muestras). Dra. Cindy Fernández (identificó las algas que se encontraron en los octocorales). Estudiante Cristian Mora y Dra. Odalisca Breed (Identificaron los octocorales).
Escuela de Biología, Universidad Nacional		Lic. Nelson Muñoz Simón (identificó invertebrados y algas de los sedimentos).
Universidad George Manson, Estados Unidos		Dra. Ester Peters (brindó asesoría en la histopatología de octocorales)

Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Países Bajos		Dr. Pedro Crous (identificó dos hongos)
Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, Universidad Nacional	Préstamo de equipos	
Laboratorio de Entomología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional	Financiamiento parcial de insumos para el análisis molecular y secuenciación	Lic. Antony Solórzano (asesoría en análisis molecular)
Área de Conservación La Amistad Caribe, Sistema Nacional de Áreas de Conservación	Permisos de acceso e investigación	
Comisión Nacional para la Gestión de la Biodiversidad	Permisos de investigación	

Adicionalmente, el pescador Rafael Hernández y su esposa ayudaron en la localización de los octocorales y el alquiler del bote. El instructor de buceo Javier Araya me dio las clases de buceo y Gabriel Ortiz nos acompañó durante las inmersiones. Así como, Ciudad Perdida Ecolodge, Escape Caribeño y Cahuita Tours, brindaron tarifas especiales de hospedaje y alquiler de bote.

### **Resumen General de la Tesis**

Los octocorales (Cnidaria: Octocorallia) son organismos importantes en los ecosistemas marinos. Los octocorales crean complejidad ambiental y por lo tanto aumentan la biodiversidad, son importantes productores de metabolitos secundarios y son de gran belleza, favoreciendo el turismo. Cuatro enfermedades infecciosas descritas en octocorales están asociadas con hongos y una de las cuales ha causado altas tasas de mortalidad en las poblaciones de abanicos de mar en distintos países del Caribe durante los últimos Fenómenos de El Niño. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar hongos presentes en los octocorales del Caribe de Costa Rica, describir macroscópicamente y microscópicamente las lesiones presentes en ellos e investigar si había compromiso fúngico. Durante El Niño 2015

- 2016 se realizaron buceos en 11 sitios con arrecifes de coral de tres localidades (Cahuita, Punta Uva y Manzanillo) del Área de Conservación La Amistad Caribe, Limón, Costa Rica, con el fin de tomar muestras de tejido de octocorales para el objetivo propuesto. Se recolectó muestras de 55 octocorales, de los cuales 17 (30.9 %) tenían lesión y 38 (69.1 %) no tenían alteraciones evidentes. Las colonias fueron de cinco géneros: 23 individuos de *Gorgonia* spp. (41.8 %), 20 especímenes de *Eunicea* spp. (36.3 %), seis *Plexaurella* spp. (10.9 %), tres *Pseudopterogorgia acerosa* (5.4 %) y tres *Muricea atlantica* (5.4 %). Se aislaron hongos en 127 cultivos (50.4 %), en tejidos sanos se encontraron diez géneros de hongos y tres géneros en tejidos enfermos; siendo *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Zygosporium* los más frecuentes en colonias sanas y *Aspergillus*, *Penicillium* y *Zygosporium*, en zonas con lesión. No se encontró relación entre las dimensiones del octocoral y parámetros abióticos con la presencia de lesiones y/o aislamientos de los hongos, pero sí hubo una mayor diversidad de hongos y mayor cantidad de octocorales con lesiones en los sitios 7 y 9. De los 17 individuos con lesiones, se pudo demostrar, mediante histopatología, un compromiso fúngico con una respuesta celular asociada en dos de ellos (11.7 %) y parasitismo por algas en siete (41.2 %). En cuatro colonias de *Eunicea* spp. (20 %) se evidenció una reacción de acumulación de escleritos y zonas de necrosis de causa no determinada. Diatomeas, cianobacterias y nematodos fueron observados en los lavados de los tejidos e histopatologías, pero no se asociaron con las lesiones. Este es el primer estudio en el que se analizan la microbiota e histopatología en octocorales de Costa Rica.

## **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS EN OCTOCORALES DEL CARIBE DE COSTA RICA, DURANTE EL NIÑO 2015-2016**

**Resumen:** Las poblaciones de corales a nivel mundial están siendo amenazadas por fenómenos ambientales y acciones antropogénicas, razón por la que han sido sujetas a diversos estudios ecológicos y en las últimas décadas se ha iniciado la investigación de agentes infecciosos que podrían estar comprometiendo su salud y la del ecosistema. Dentro de las enfermedades infecciosas descritas en octocorales cuatro están asociadas con hongos y una de las cuales ha causado altas tasas de mortalidad en las poblaciones de abanicos de mar en distintos países del Caribe durante los últimos Fenómenos de El Niño. El objetivo de este estudio fue aislar e identificar hongos presentes en los octocorales del Caribe de Costa Rica y relacionar los hallazgos con las dimensiones de la colonia, presencia o no de lesiones y mediciones de temperatura y profundidad. Durante El Niño 2015-2016 se realizaron buceos en tres localidades del Área de Conservación La Amistad Caribe, Limón, Costa Rica, para tomar muestras de tejido de octocorales, medidas abióticas (profundidad, temperatura, salinidad y pH) y medidas bióticas (tamaño de los octocorales y presencia de *Cyphomma gibbosum*). De los 252 cultivos realizados, se aislaron hongos en 127 de ellos (50.4 %), en tejidos sanos se encontraron diez géneros de hongos y tres en tejidos enfermos; siendo *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Zygosporium* los más frecuentes en colonias sanas y *Aspergillus*, *Penicillium* y *Zygosporium* en zonas con lesión. No se encontró relación entre las dimensiones del octocoral y parámetros abióticos con la presencia de lesiones y/o aislamientos de los hongos. Sin embargo, se encontró una mayor diversidad de

hongos y presencia de octocorales con lesiones en los sitios 7 y 9. Este es el primer estudio sobre identificación micológica en octocorales de Costa Rica, que contribuye al conocimiento del microbioma en estos animales. Son necesarios estudios longitudinales para determinar si hay estacionalidad de los hongos y monitorizar el estado de salud de los octocorales mediante la presencia de lesiones.

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA E HISTOPATOLÓGICA DE LESIONES EN OCTOCORALES DEL CARIBE DE COSTA RICA, DURANTE EL NIÑO 2015-2016**

**Resumen:** En los últimos 40 años, la investigación de enfermedades en octocorales se ha enfocado en la identificación de lesiones durante exploraciones de campo y detección de microorganismos mediante cultivos, dejando de lado los análisis histopatológicos, por lo que son escasos los informes que describan los hallazgos a nivel tisular. Los objetivos de este estudio fueron: identificar y describir lesiones en octocorales y realizar estudio micológico e histopatológico para evidenciar compromiso fúngico. Durante El Niño 2015-2016 se estudiaron tres localidades del Área de Conservación La Amistad Caribe, Limón, Costa Rica. Se recolectaron muestras de 55 octocorales, de los cuales 17 tenían al menos una alteración en su estructura (30.9 %), nueve *Gorgonia* spp. (52.9 %), siete *Eunicea* spp. (41.1 %), y una *Plexaurella dichotoma* (5.9 %). De los 11 sitios estudiados, en siete se detectaron colonias con lesiones, en dos se halló la mayor proporción de colonias enfermas y en tres, los octocorales estaban sanos. Se observó lesiones independientemente de la región anatómica del octocoral, con una distribución tipo focal en *Eunicea* spp. y sin un patrón específico en *Gorgonia* spp. Los cambios en la coloración del tejido fueron el hallazgo más frecuente, detectándose en ocho

*Gorgonia* spp. (88.8 %), en cuatro *Eunicea* spp. (57.1 %) y en el único ejemplar de *P. dichotoma* con lesión. Mediante histopatología, se pudo demostrar que las lesiones tenían un compromiso fúngico con una respuesta celular asociada en dos *Gorgonia* spp. (11.7 %), y en cuatro especímenes de *Eunicea* spp. (23.5 %) se evidenció una reacción de acumulación de escleritos y zonas de necrosis de causa desconocida. Adicionalmente, se hallaron diatomeas, cianobacterias y nematodos pero no se asociaron con las lesiones. Los estudios histopatológicos son indispensables para analizar los cambios que suceden en un tejido para evaluar el estado de salud de los octocorales.