

# Análisis fúngico marino y potencial patógeno sobre el delfín mular *Tursiops truncatus* en el estero El Morro, Guayas-Ecuador

Francisca, Hernandez-Tapia<sup>1\*</sup>

## Resumen

El turismo generado por la observación de delfines mular *Tursiops truncatus* es una de los principales atractivos turísticos en el estero El Morro, Guayas-Ecuador, sin embargo, la falta de caracterización de hongos en el medio acuático como fuentes principales infecciosas en *Tursiops truncatus*, genera preocupación sobre esta población, ante esto es necesario la caracterización fúngica del medio acuático en el estero El Morro. Para tal fin, se colectaron muestras de agua durante los meses enero y febrero de 2016, para realizar cultivos de hongos en Agar Sabouraud con dextrosa a temperatura de 30 °C por tres días; posteriormente, se realizó aislados de cepas para identificación morfológica y molecular. La identificación morfológica determinó 17,50% de especies como potencial agente patógeno, entre ellas *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis* y *Candida albicans*. A través del análisis molecular mediante la sección del espaciador interno transcrita ITS [Internal Transcribed Spacer (ITS)] se identificó a *Rhizopus oryzae*, especie reportada como agente causal de infección en delfines. Aunque se detectó *Aspergillus carbonarius* y *Heteroacanthella acanthothysa*, estas especies no están catalogadas como agentes patógenos para delfines. Este estudio permite concluir que parte de la diversidad fúngica del agua del estero El Morro representa un potencial riesgo para la salud de los delfines que habitan esta zona.

**Palabras clave:** Análisis molecular, Delfinidae, Hongos, Patología micótica, PCR.

## Marine fungal analysis and pathogenic potential of the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* estero El Morro, Guayas-Ecuador

### Abstract

The tourism generated by the observation of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* is one of the main tourist attractions in the El Morro estuary, Guayas-Ecuador. However, the lack of characterization of fungi in the aquatic environment as main infectious sources in *Tursiops truncatus*, generates concern about this population, before this is necessary the fungal characterization of the aquatic environment in the El Morro estuary. For this purpose, water samples were collected during the months of January and February 2016, to culture fungi in Sabouraud Agar with dextrose at 30 °C temperature for three days; later, isolates of strains were made for morphological and molecular identification. The morphological identification determined 17.50% of species as potential pathogenic agent, among them *Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis* and *Candida albicans*. Through molecular analysis using the Internal Transcribed Spacer (ITS) section, *Rhizopus oryzae*, a species reported as a causative agent of infection in dolphins, was identified. Although *Aspergillus carbonarius* and *Heteroacanthella acanthothysa* were detected, these species are not catalogued as dolphin pathogens. This study allows to conclude that part of the fungal diversity of the water of the El Morro estuary, which represents a potential risk to the health of the dolphins that inhabit this area.

**Keywords:** Delphinidae, Fungi, Molecular analysis, Mycological pathology, PCR

**Recibido:** 25 de noviembre de 2018

**Aceptado:** 05 de febrero de 2019

<sup>1</sup> Bióloga Marina; Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí-Ecuador; Docente en Unidad Educativa La Inmaculada; francis240@hotmail.com; orcid.org/0000-0002-4244-4158

\*Autor para correspondencia: francis240@hotmail.com

## I. INTRODUCCIÓN

El medio marino ha sido afectado por diversos factores como el cambio climático, derivando en un incremento paulatino de la temperatura superficial y aumento del nivel del mar, interfiriendo en la circulación de los océanos y la baja salinidad (Rocha, 2009). Además, la modificación o degradación del hábitat (Arbelo, 2007) por el crecimiento de la incursión humana y la ocupación de regiones antes consideradas como naturales hace que el contacto entre personas, animales domésticos y silvestres sea mayor por ende existe el riesgo de transmisión de enfermedades ya conocidas y el surgimiento de nuevas (Medina-Vogel, 2010). Siendo los delfines mulares uno de los mamíferos más sensibles al presentar características fisiológicas adaptadas al medio marino que favorecen en la amplificación de algunas alteraciones entre estas la presencia de una gran capa de grasa hipodérmica que recubre todo su cuerpo y almacena eficazmente compuestos lipofílicos, también una limitada capacidad para metabolizar y excretar compuestos; además de ser una especie que viven muchos años en el medio marino donde están aumentando las concentraciones de contaminantes y por su alta movilidad los convierte en dispersores potenciales de patógenos (Carballo y otros, 2004; Carballo y otros, 2004). Lo que comprende cada vez una situación de trascendencia para las poblaciones de delfines mulares que habita el estuario de

El Morro en el Golfo de Guayaquil, que son aprovechados como parte de la atracción turística formal de esta zona. Sin embargo, en Ecuador es una especie amenazada catalogado dentro de la categoría “vulnerable” –según la UICN– debido a que se teme que su población puede disminuir en un 50% en las próximas generaciones a causa de colisiones de embarcaciones y la presencia de enfermedades y lesiones en la piel, que según estudio del golfo de Guayaquil se debe a virus y hongos (Tirira, 2011). Hongos marinos que se encuentran como parásitos de plantas y animales, bajo condición de microorganismos saprobios de desechos orgánicos (Álvarez Montero, 2011) que provocan enfermedades (Audesirk, Audesirk, & Byers, 2008) respiratorias, digestivas, sistémicas y dérmicas (Arbelo, 2007), en que su carácter de

transmisión puede ser por vía oral en alimentos contaminados, vía aerógena, contacto directo con animales como también objetos infectados u otros mecanismos (Navarro, 2013). La vulnerabilidad de los delfines a patógenos fúngicos es una gran problemática debido a la falta de caracterización del ambiente donde habitan, por lo cual este trabajo se ha desarrollado basado en tres objetivos (1) Aislar hongos para su identificación mediante análisis molecular para el reconocimiento exacto de las especies, por lo cual se buscó realizar el secuenciamiento de cada cepa fúngica para su análisis *in silico* y ejecutar anotaciones sobre las características patógenas de los hongos que permitan en futuras investigaciones realizar medidas de control ante agentes contaminantes causantes de crecimientos fúngico; (2) Determinar las estructuras micro y macroscópica de los hongos mediante aislados en medio de cultivo específicos para su identificación morfológica, este objetivo buscó generar una base de datos de hongos y sus características, que están presentes en el área donde existen mayor avistamiento de delfines (3) Detectar el impacto de los parámetros físicos y químicos tales como temperatura, pH, salinidad, oxígeno disuelto, nitrito y nitratos del agua, para determinar su influencia en la diversidad fúngica del área de estudio, en el cual se buscó conocer la relación de las variables ambientales que se vuelven propicias para el crecimiento fúngico de especies patógenas mediante estos objetivos planteados se busca determinar la diversidad de hongos presentes en el agua del estero el Morro, como potencial patógeno del delfín mular *Turciops truncatus*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El Morro, Guayas– Ecuador, es una zona relevante por su diversidad en flora y fauna en el Golfo de Guayaquil, lo compone el “Estero Salado de Guayaquil”, denominado así por su influencia de cuerpos de agua de alta salinidad y que inicia en el Canal del Morro (frente a Posorja) y termina en la ciudad de Guayaquil, (MAE, 2010).

La ubicación de las estaciones de monitoreo fueron: La Islita, La Cruz, La Revesa y La Boca

(tabla 1; Figura 1). Lugares definidos por poseer un alto número de avistamientos de los delfines

Mulares *Tursiops truncatus*, por la Asociación Comunitaria Fragatas y Delfines (2013).

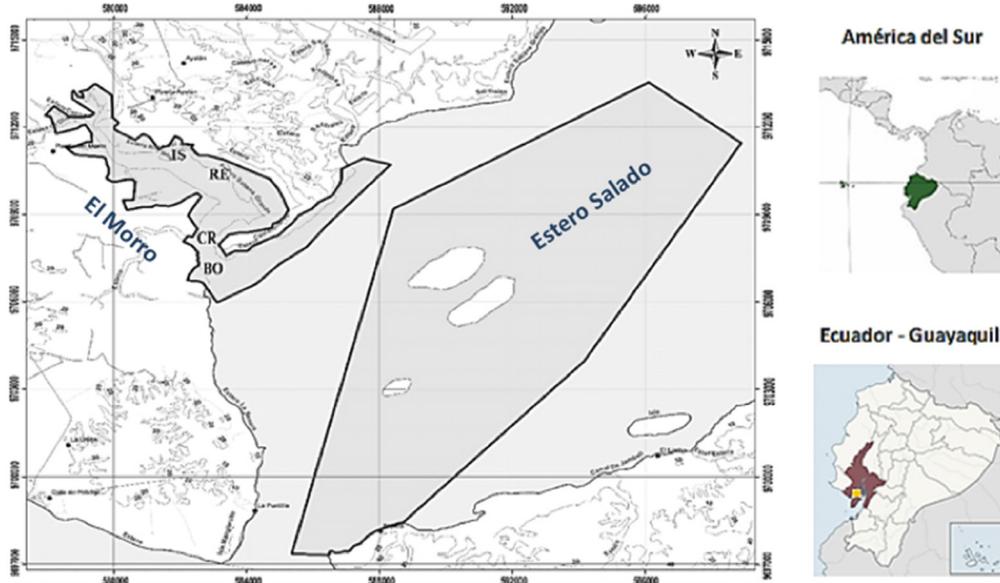


Figura 1. Ubicación geográfica de las zonas de estudio.

Fuente: MAE, 2011

Modificado: Hernández 2016

Tabla 1. Coordenadas geográficas de las estaciones de muestreo

Estación de muestreo	Código	Coordenadas geográficas	
		Sur (S)	Oeste (O)
La Islita	IS	02°36.949'	080°15.964'
La Cruz	CR	02°37.085'	080°15.604'
La Revesa	RE	02°37.683'	080°15.127'
La Boca	BO	02°38.423'	080°15.431'

### Monitoreo

Se realizaron monitoreos diurnos en el estero El Morro entre los meses de enero y febrero de 2015. En el que se usó un bote para el traslado a las diferentes estaciones de muestreo, para realizar extracciones de agua, tanto en la zonas superficial (0,50 m de profundidad) e intermedia (1,5 m de profundidad), utilizando una botella oceanográfica de tipo Van Dorn de posición horizontal (Zaixso, 2002).

### Obtención de Parámetros del agua

Para la obtención de parámetros ambientales del agua, en un envase se colocaron 250 ml de agua obtenida con botella oceanográfica para determinar los parámetros físico químicos tales como: oxígeno disuelto mediante un oxígeno-

metro (Sper scientific, modelo 850055), salinidad (Biomarine), pH y la temperatura (Hanna, modelo HI-98129), nitritos y dureza mediante métodos espectrometría UV.

### Aislamiento de hongos

A partir del agua obtenida en el campo, se realizaron cultivos fúngicos en agar Sabouraud con Dextrosa, en ocho bandejas de vidrio de 15 x 20 cm largo x ancho (superficie 300 cm<sup>2</sup>) a un volumen de 50 ml por bandeja, cuando el agar sabouraud enfrió y gelificó, se inoculó 400 µl de agua del estero El Morro en cada una de las bandejas y se extendió mediante barrido e incubado por 72 horas a 30±1 °C. A partir de los cultivos, se procedió a realizar aislados hasta obtener la purificación de las cepas para proceder a la extracción de ADN.

### Extracción de ADN

El ADN genómico se obtuvo directamente de las colonias puras, empleando el protocolo de PROMEGA (2010). En tubos eppendorf con 400 µl de Solución de Lisis Nuclear y la ayuda de un asa de platino estéril se sumergió una muestra significativa de esporas, para luego incubar a temperatura de

65°C por 15 minutos. Posteriormente, se añadió 3 µl de solución ARNase y se calentó a 37°C por 15 minutos. A continuación se realizaron dos lavados del ADN mediante la adición de isopropanol y centrifugado a 16,000 x g (dos veces). Finalmente el ADN se re suspendió en 25 µl de solución ADN hidratante. La cuantificación de concentración ADN fue mediante el uso de espectrofotómetro NanoDrop.

### Realización de Reacción en cadena de la Polimerasa PCR

Posterior a la cuantificación de ADN, se procedió a realizar PCR donde se usó la región del espaciador transcrito interno ribosómico nuclear (ITS) como marcador universal de código del ADN para hongos, acorde a la tabla 2.

**Tabla 2.** Cantidad de oligonucleótidos de PCR

Kid de PCR	Cantidad de 8 muestras	Cantidad de 5 muestras
ddH <sub>2</sub> O	146 µl	91,25 µl
buffer PCR	20 µl	12,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	12 µl	7,5 µl
DNTPs	4 µl	2,5 µl
F primer	4 µl	2,5 µl
R primer	4 µl	2,5 µl
Taq Pol	2 µl	1,25 µl

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se desarrolló bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94°C y 30 s; la hibridación fue a 54°C por 30 s; y la extensión a 72°C, durante 1 min (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013). Siglas: Solución hidratante / agua purificada (ddH<sub>2</sub>O), Cloruro de Sodio (MgCl<sub>2</sub>), Desoxirribonucleótidos trifosfato (DNTPs), *Thermus aquaticus* Polimerasa (Taq Pol).

### Electroforesis en gel

Se realizó el gel de agarosa al 1%, en buffer TBS y Sybr® seb (5 µl). Los parámetros de corrida fueron a 90 voltios durante 30 min y la visualización fue mediante la cámara de UV.

La purificación del ADN se realizó usando ExoSAP-IT realizando una incubación de 30 min a 37°C, luego 80°C durante 15 y finalmente 4°C. Culminado el proceso se colocó en tubos eppendorf y se envió a secuenciación directa (USB, 2000) con la empresa Macrogen (Corea).

### Procesamiento de datos

Para el análisis molecular se utilizaron las secuencias obtenidas mediante la empresa Macrogen, editada con el software Geneious, analizadas en la herramienta básica de búsqueda de alineamiento local (siglas en ingles BLAST) y

la búsqueda de las especies fúngicas fue mediante la base de datos presentes del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), consultada en septiembre del 2017.

### Análisis estadístico

Los datos estadísticos obtenidos de cada muestreo, fueron tabulados en tablas de Excel 2013 y evaluados mediante el paquete estadístico RStudio versión 3.3.3 (R Core Team 2016). Se evaluaron Riqueza específica (S) (Mónica B *et al.*, 2012), Shannon- Winner (*H'*), índice de Simpson (*Dsi*). Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante el análisis de Escalamiento Multi-Dimensional No Métrico (MDS) y ANOSIM (Bray- Curtis), análisis de redundancia (db-RDA), y Análisis de Coordenadas Principales (PCoA).

## III. RESULTADOS

### Composición y abundancia fúngica del agua

Los hongos acuáticos del filo Ascomycotina con 4 especies del género *Aspergillus* fueron el más característico en este estudio. Se observaron cinco especies de *Aspergillus*: *A. carbonarius* (28% especies), *A. nidulans* (22% especies), *A. flavus* (13% especies) y *A. fumigatus* (9% especies), además de *Lulworthia grandispora* (7% especies), como se muestra en la figura 2.

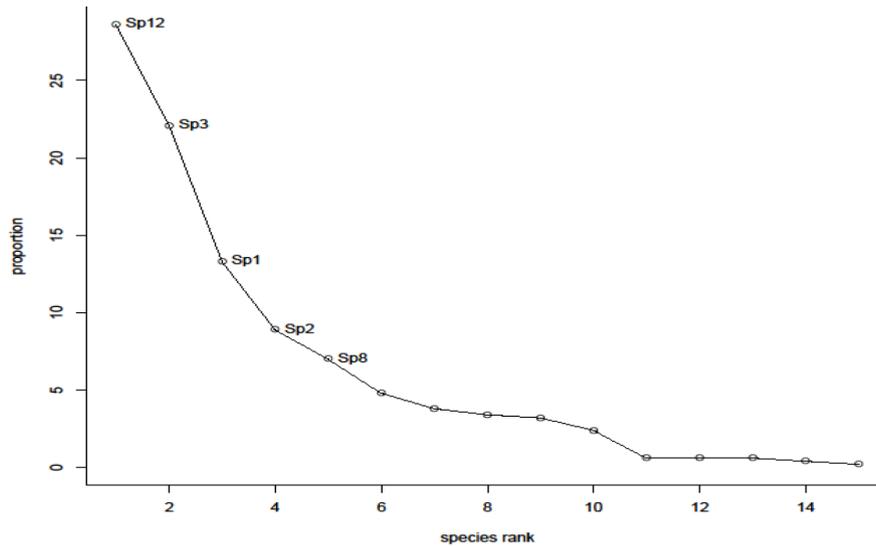


Figura 2. Curva de rango-abundancia de las especies de hongos marinos dominantes. Siglas: Sp 12= *Aspergillus carbonarius*, sp 3= *A. nidulans*, sp1= *A. flavus*, sp 2= *A. fumigatus* y sp 8= *Lulworthia grandispora*.

### Composición y abundancia fúngica del agua potencial patógeno del delfín mular *T. truncatus*

El 17,50 % de las especies identificadas en este estudio, consideradas como potenciales patógenos para los delfines molares, correspondieron a: *Aspergillus fumigatus* (8,85 %), *Blastomices dermatitidis* (3,82 %) y *Candida albicans* (4,83 %).

En el mes de enero *A. fumigatus* predominó en superficie de la columna de agua con ocho colonias en el sector de La Revesa, en La Cruz a profundidad intermedia se obtuvieron 14 colonias; en la Revesa

la especie predominante fue *B. dermatitidis* en la parte superficial con 6 colonias; en La Islita se observaron 6 colonias a profundidad intermedia y *C. albicans* predominó en la parte superficial con 5 colonias en La Revesa (figura 3).

En el mes de febrero no hubo presencia de *A. fumigatus* y *C. albicans*, la diversidad de especies patógenas fue relativamente menor en el cual se observó únicamente la presencia de *B. dermatitidis* en el sector de La Islita (5 colonias) y en La Revesa (1 colonia) en la parte superficial, como se aprecia en la figura 4.

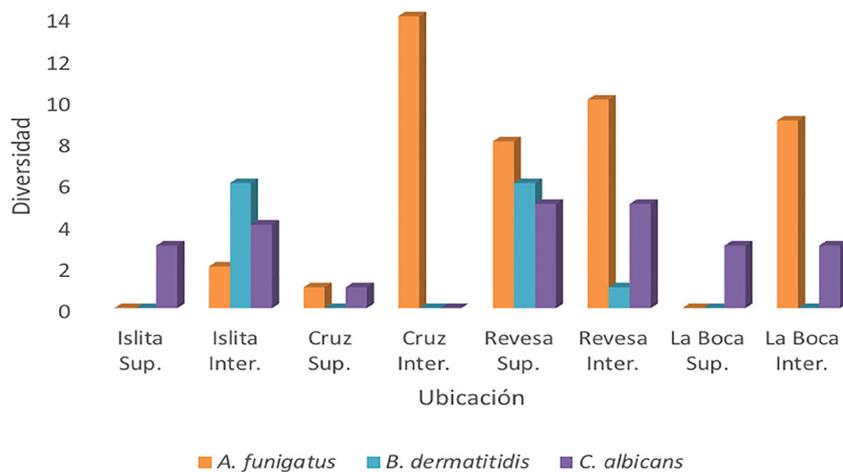


Figura 3. Diversidad de especies fúngicas potencial patológico para el Delfín mular en el mes de enero.

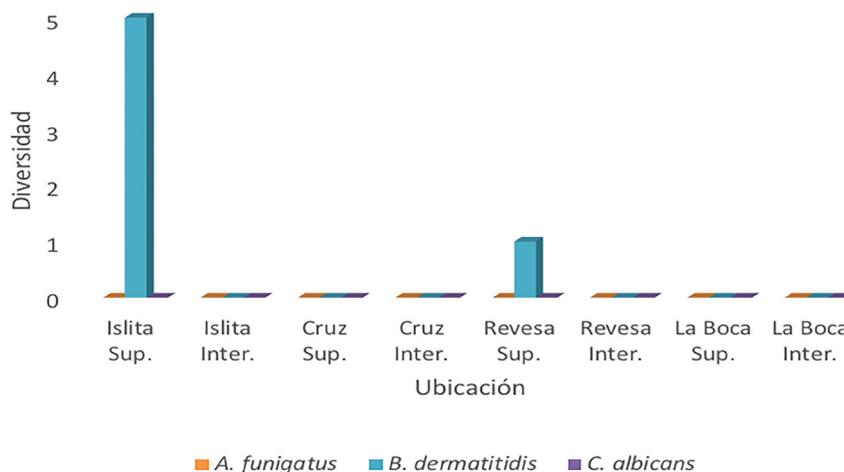


Figura 4. Diversidad de especies fúngicas potencial patológico para el Delfín mular en el mes de febrero.

**Diversidad fúngica marina general**

La riqueza específica de 15 especies de los hongos acuáticos, presentó una curva de riqueza

acumulada que se estabilizó luego del muestreo N° 13, registrado de forma general (figura 5).

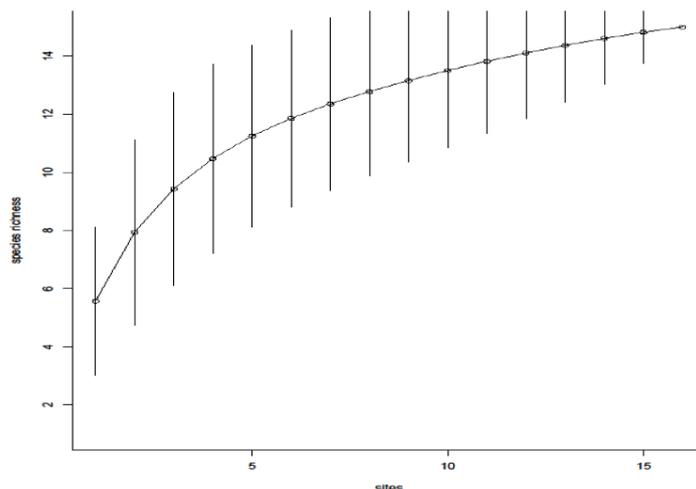


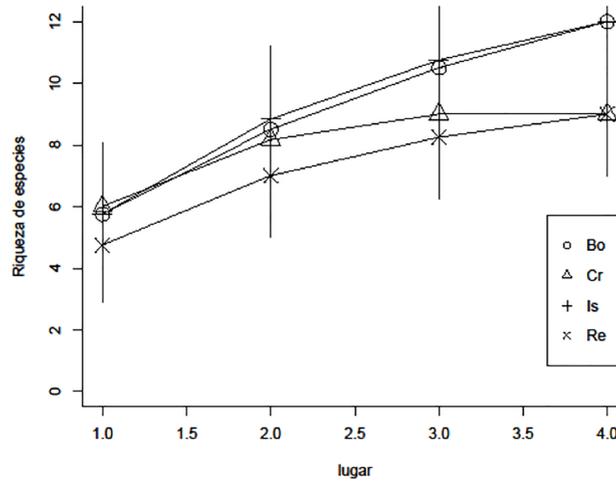
Figura 5. Curva de acumulación de las especies de hongos marinos. En el eje X se muestra el esfuerzo de muestreo ejecutados de forma general (estaciones, zonas del agua y meses). El eje Y representa el número de especies encontradas por cada muestreo.

La diversidad fúngica del agua en los dos meses de estudio aplicada mediante el índice de Shannon, presentó en enero un total de  $H'' = 3,3$  y en el periodo de febrero de  $H'' = 2,1$ , índice bajo respecto a enero.

de 11 especies, Cr= La Cruz desde 8 especies y en Re= La Revesa en 7 especies (figura 6).

**Diversidad fúngica acuáticos en las estaciones de monitoreo**

La riqueza en las estaciones de monitoreo donde se encuentra Is= La Islita y Bo= La Boca mostró estabilidad de los datos en un número de riqueza

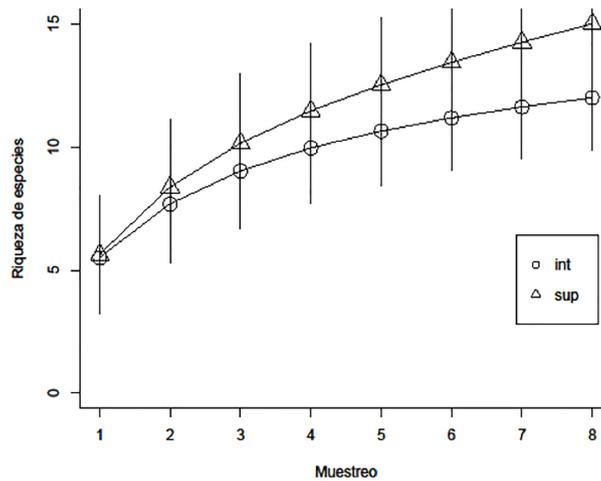


**Figura 6.** Curva de acumulación de las especies de hongos marinos. En el eje X se muestra el esfuerzo de muestreo ejecutados en cuatro estaciones de monitoreo. El eje Y representa el número de especies encontradas por cada muestreo.

La diversidad en las estaciones de monitoreo estimada en el índice de Shannon en La Islita y La Revesa presento de  $H''=2,7$ , en La Boca fue de  $H''=3,3$  y en La Cruz  $H''=3,2$ .

#### Diversidad fúngica acuática por la ubicación en el agua

Los cuerpos de agua catalogados como superficial presentaron estabilidad en 3 especies y en la profundidad intermedia es decir a 1,5 m la estabilidad fue a 9 especies (figura 7).



**Figura 7.** Curva de acumulación de las especies de hongos marinos. En el eje X se muestra el esfuerzo de muestreo ejecutados en las zonas en el agua superficial y profundidad intermedia. El eje Y representa el número de especies encontradas por cada muestreo.

La diversidad registrada en las zonas de agua, determinado por el índice de Shannon, en que la zona superficial e intermedia dió un valor de  $H''=3,1$ , siendo equivalente la diversidad específica en los cuerpos de agua.

#### Distribución espacial y temporal fúngica marina

##### Abundancia absoluta

En febrero presentó mayor abundancia de 60% y en el mes de enero fue de 38%, es decir más bajo. Las estaciones de monitoreos más abundantes corresponden a La Cruz con el 29% y La Revesa

con 27%. En La Islita 22% y en La Boca se encontró el 21%. Referente a la abundancia que presentaron en las zonas acuáticas, la parte superficial fue 47% y en la parte intermedia 53%, teniendo claro que la mayor abundancia estuvo presente a profundidad intermedia.

**Riqueza y Dominancia de Simpson**

Sin embargo, enero fue el mes en que se presenció mayor riqueza de 13 especies (87 %) y un dominio  $Dsi=0,122$  donde la más representativa fue *Aspergillus carbonarius* y de menor valor fueron *A. wentii*, *Saccardoella sp.*, *Trichocladium achrasporum* y *Rhizopus oryzae*, y en febrero la riqueza fue de 6 especies (40%) con una dominancia de  $Dsi=0,3$  donde la más representativa correspondió a *A. nidolons* y la más baja *A. wentii*.

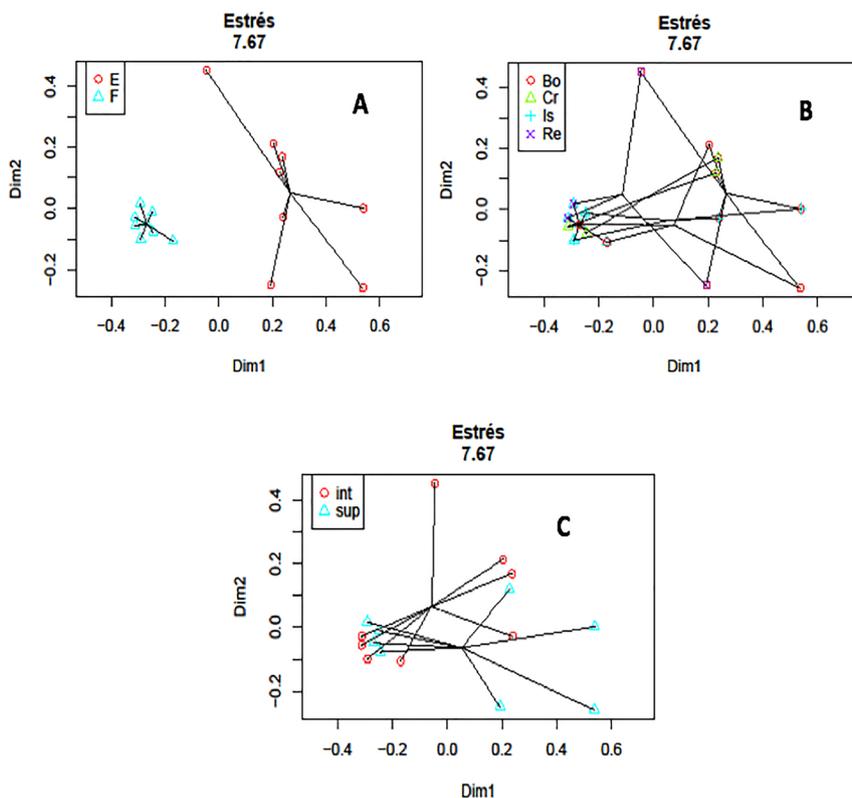
En cuanto a la riqueza fúngica, entre las estaciones de monitoreo las más características fueron La Islita y La Boca con 12 especies, que es el 80% y la Boca fue la zona de mayor dominio

$Dsi=0,9$ .

Según la ubicación en los cuerpos de agua: la zona superficial obtuvo 100% de las especies y a profundidad intermedia es decir a 1.5 m en el agua fue del 80% de las especies, presentaron un dominio de  $Dsi=0,8$

**Estructura y abundancia**

La estructura y abundancia fúngica marina presentó diferencias significativas entre los meses de muestreo ( $r= 0,853$ ;  $p= 0,002$ ), los muestreos de enero y febrero no fueron similares entre sí. No se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la estructura comunitaria por estación de muestreo ( $r= -0,158$ ;  $p= 0,94$ ). En el análisis por ubicación en el agua se observó que no hay diferencias significativas ( $r= -0,0379$ ;  $p= 0,597$ ), con un patrón claro de agrupación según las zonas superficiales y las presentes en 1.5 m. El estrés generado en la prueba MDS (7,67) indicó una confiabilidad moderada de la ordenación de las muestras en el plano bidimensional (figura 8).



**Figura 8.** Ordenación mediante MDS para las especies fúngicas marinas durante A) los dos meses de muestreo enero y febrero. B) las cuatro estaciones de muestreo La Boca, La Cruz, La Islita y Revesa, C) la ubicación en el agua superficial y en profundidad intermedia.

**Relación existente entre las comunidades fúngicas marinas, parámetros del agua y su distribución en el estero El Morro**

Los resultados del mes de enero (E) determinaron que las especies *Rhizopus oryzae* (sp14) distribuidas en la zona intermedia (Int) de La Cruz (Cr), *Candida albicans* (sp11) y *Heteroacanthella acanthothysa* en la zona superficial (sup) de La Boca (Bo) se encuentran altamente relacionadas con temperaturas (temp) y a salinidad (S). Por otro lado la especie *Aspergillus niger* (sp13) ubicado en zona superficial de La Boca se encuentra relacionada con la alcalinidad (Alcali) y la dureza (Hard). Las comunidades de *Saccardoella* sp (sp5), *Trichocladium achrasporum* (sp7) y *Fusarium* spp (sp6) con

nitratos en la zona superficial de La Boca. Los ejemplares *Blastomyces dermatitidis* (sp9) detectados en la zona superficial de La Isleta (Is) y *A. fumigatus* (sp2) a profundidad intermedia de La Revesa (Re) tienen relación con el oxígeno disuelto (O2), mientras que *Scopulariopsis brevicaulis* (sp10) ubicado a profundidad intermedia de La Cruz tienen gran relación con la salinidad y el oxígeno disuelto.

En el mes febrero (F) las especies de *A. wentii* (sp15), *A. carbonarius* (sp12), *A. flavus* (sp1) ubicadas en la zona superficial/La Boca y *A. nidulans* (sp3), *Lulworthia grandispora* (sp8) presentes a profundidad intermedia en La Cruz mostraron alta relación con el pH y los nitritos, como se observa en la figura 9.

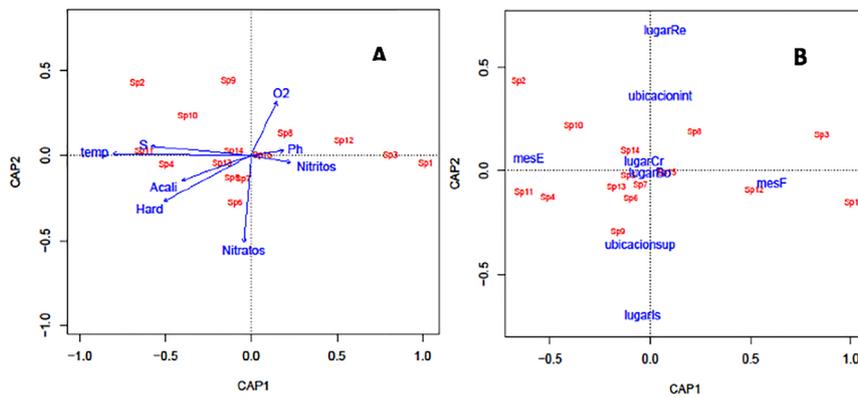


Figura 9. Ordenación lineal mediante el análisis de redundancia (db-RDA) basado en la distancia de las especies de hongos marinos en el plano formado por los dos ejes, realizado a partir de la A) densidad y las variables ambientales. B) la densidad y las estaciones de muestreo presentes en los dos meses y la ubicación en el medio acuático.

**Identificación molecular**

La caracterización genómica se atribuye a la amplificación de los cebadores conocidos como espaciadores internos transcritos ITS1 –ITS4 por sus siglas en Inglés (Internal Transcribed Spacer) contenidos en el RNA ribosomal 18S y 28S, de los cuales tres especímenes sus códigos genéticos fueron ingresados en el programa BLAST para la detección en relación con la base de datos en el banco genético de la NCBI 2016 donde se identificaron las especies *Heteroacanthella acanthophysa* (NCBI No. JF838359,1), *Aspergillus carbonarius* (NCBI No. HQ441574,1) y *Rhizopus oryzae* (NCBI No. GQ280336,1) información que fue concordante con las observaciones de las estructuras morfológicas tanto micro como macroscópicas. Por otra parte

las muestras que se denominaron 3FH, 4FH, 5FH y 7FH no se obtuvieron datos genéticos por lo que únicamente existen los resultados morfológicos, como se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados del BLAST según la base de datos de la NCBI del 2016.

N° de Muestra	N° de accesión	Nombre del organismo	Familia	País	pares de bases	Valor Esperado	E value	% Ident
1 FH	HQ441574,1	<i>Heterocanthella acanthophysa</i>	Basidiomycota	Uk (1999)	629 bp	99%	0,0	99%
2 FH	HQ441574,1	<i>Heterocanthella acanthophysa</i>	Basidiomycota	Uk (1999)	629 bp	99%	0,0	99%
3 FH	-	-	-	-	-	-	-	-
4 FH	-	-	-	-	-	-	-	-
5 FH	-	-	-	-	-	-	-	-
6 FH	AB109754,1	<i>Rhizopus oryzae</i>	Mucorineae	Japón (2010)	807 bp	98%	0,0	99%
7 FH	-	-	-	-	-	-	-	-
8 FH	JF838359,1	<i>Aspergillus carbonarius</i>	Ascomycota	Portugal	922 bp	100%	0,0	99%

#### IV. DISCUSIÓN

El incremento y aparición de nuevas enfermedades micóticas que pueden afectar la salud de los delfines molares hace necesaria la caracterización micro y macroscópica de especies fúngicas de alta patogenicidad de aquellos que no afectan a la salud de los delfines (Bonifaz, 2012; Arbelo, 2007). La composición y abundancia fungica presente en el estuario estudiado estuvo formado por el género *Aspergillus* (75.6%) los cuales son levaduras que componen procesos de degradación en ecosistemas principalmente en sedimentos costeros (Sosa-Rodríguez, Sánchez-Nieves, & Melgarejo, 2009). Chavarria, González, & Dantán (2010) indicaron que este grupo fúngico posee la capacidad evolutiva de adaptación a ambientes acuáticos similares a otras especies tales como *Saccardoella sp.*, *T. achrasporum* y *L. grandispora* que fueron registradas en el manglar del Palmar de Santa Elena, Ecuador por Álvarez Montero (2011).

En mamíferos marinos evaluaciones fúngicas se ha reportado la especie *Fusarium spp* como agente causal infeccioso en muestras clínicas de aleta de falsa orca (Días-Delgado, 2015).

Al realizar la identificación de hongos presentes en el agua del estero El Morro se tomaron varias muestras aleatorias para su aislamiento donde se sospechó que existe gran diversidad de especies micóticas potenciales patógenas para delfines (Reidarson, MacBain, Dalton, & Rinaldi, 2001; Arbelo, 2007; Díaz-Delgado, 2015), como es el caso de *Lacazia loboi* en delfines molares en Ecuador (Francoise *et al.*, 2015). Sin embargo, en el estudio no se obtuvo presencia de *L. lobo*.

Esto podría deberse a que *L. loboi* es una especie parásito obligatorio por lo que lo hace una especie no cultivable (Gutiérrez, 2009; Arenas, Torres Guerrero & Vazquez, 2011; Bonifaz, 2012) o podría tratarse de un microorganismo más riguroso en el requerimiento óptimo de nutrientes, siendo necesario agaros específicos, según Navarro (2013).

En cuanto a las especies determinadas en este estudio como referentes de infecciones en delfines molares se encontraron: *A. fumigatus*, *B. dermatitidis* y *C. albicans* las cuales forman parte del grupo de levaduras presentes en el mar, reportados en datos similares por varios autores (Sánchez-Saldaña & Cabanillas-Becerra 2010; Díaz-Delgado, 2015; Latisnere, Virgen, Martínez & Ochoa, 2016).

La distribución entre los meses de estudio presentó diferencias significativas, donde se observó también diferencias en la riqueza y diversidad de la especie a lo que Navarro (2013) y Panchana Tircio (2009) explican que esto podría ser por las condiciones ambientales que intervienen en el crecimiento de los hongos y la distribución de los delfines acorde al factor temperatura, cuyas temperaturas más altas se presentaron en el mes de enero en comparación de febrero en el presente estudio.

La distribución de hongos en los niveles del agua (zonas acuáticas superficial y 1,5 metros de profundidad) procede de lo señalado por Latisnere, Virgen, Martínez & Ochoa (2016) que el origen de las levaduras marinas se puede derivar de levaduras terrestres que son transportadas mediante las precipitaciones pluviales y corrientes superficiales.

No obstante, la sobrevivencia en cuerpos de agua está determinada por su capacidad de adaptación en dichas condiciones.

Los parámetros del agua en relación a la estructura comunitaria fúngica marina, permitieron comprobar que ciertas especies presentan mayor afinidad a ciertos factores de distribución como: temperatura, salinidad, existencia de hospederos, sustratos disponibles, presión hidrostática, iluminación, contaminación, oleaje y oxígeno disuelto (Panchana Tircio, 2009), aunque los hongos han desarrollado diferentes adaptaciones al hábitat marino que les ha permitido sobrevivir, establecerse y reproducirse en ambientes adversos tales como estuarios, marismas, dunas costeras y arrecifes.

Mediante el análisis molecular se logró identificar a *H. acanthothysa*, especie que concuerda con la descrita por Robert (1998) ya que poseen basidios de acantosis con esterigmas grandes y únicos que dan lugar a basidiosporas globosas capaces de autorreplicarse (Oberw, 1990), que comprende una especie saprofita presentes en bosques costeros y en el talo de *Lecanora carpineae*. El registro para *H. acanthothysa* está establecido para América del Norte y Europa (Zamora, Pérez-Ortega, & Rico, 2014), por lo que en este estudio se hace registro de esta especie en América del sur y particularmente en Ecuador.

Con relación al hongo *R. oryzae*, tiene una amplia distribución mundial, aislado en la descomposición de alimentos, suelo, cereales, agua contaminada y vegetales (Carrillo, Zavala, & Alvarado, 2007). Palmero, García-Párraga, Martínez & García-Hartmann (2014) reportó mediante análisis molecular (región ITS1-5,8S-ITS2 del rADN) a *R. oryzae* en muestras clínicas de vías respiratorias de delfines molares en cautiverio, este hecho evidencia por primera vez que se trata de una especie de hongo de carácter perjudicial en delfines molares con inmunodeficiencia (Arias Cifuentes & Piñeros Espinosa, 2008).

La aspergilosis es una infección fúngica de alto riesgo perteneciente a diversas especies que se encuentran dispersas en la naturaleza mediante esporas por medio del aire y polvo (Navarro, 2013). *A. carbonarius* no se ha reportado como infeccioso en el Delfín mular a pesar de ser una especie que

contiene ocratoxina A (OTA) que comprende una toxina altamente nociva carcinogénica en animales y el humano (González y Patiño, 2010).

## V. CONCLUSIÓN

El análisis molecular permitió la detección de hongos presuntivos como *H. acanthophysa* (NCBI No. JF838359,1), *A. carbonarius* (NCBI No. HQ441574,1) y *R. oryzae* (NCBI No. AB109754,1). Donde *H. acanthophysa* comprende un nuevo reporte para América del Sur y *R. oryzae* posee un antecedente de infecciones en delfines mulares en cautiverio, sucedido en Europa.

El factor de dispersión y abundancia fúngicas marinas en las estaciones de monitoreo, estableció que ciertamente cada especie hongos presentaba mayor afinidad que otros a los diferentes parámetros ambientales del agua como: temperatura, salinidad, pH, oxígenos disueltos, dureza, nitritos y nitratos, interviniendo en su distribución. Lo cual se manifestó con mayor relevancia en la diversidad en el mes de enero, en la estación de la Boca y se mostró equitativo en las profundidades estimadas.

La identificación de hongos en la flora acuática del estero El Morro, permitió el hallazgo de *A. fumigatus*, *B. dermatitidis* y *C. Albicans*, que comprenden especímenes con registros patógenos en delfines mulares a diferencia de los otros especímenes encontrados, en su mayoría pertenecientes al género *Aspergillus*, que intervienen en la descomposición de la materia orgánica del estero y son facultativos.

## Agradecimientos

El autor desea agradecer el apoyo económico y educativo brindado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador de Quito, principalmente el Fungario QCAM y PUCE sede Manabí por la orientación en la ejecución del estudio.

## VI. REFERENCIAS

Acres, C. (2018). Evaluating skin disease in common bottlenose dolphins near brunswick and Sapelo Island, Georgia (Thesis of the Master). *ProQuest*, University of Charleston, South Carolina at the College of Charleston, United States Code.

- Adebiyi, A., & Oluwayelu, D. (2017). Zoonotic fungal diseases and animal ownership in Nigeria. *ELSELVIER*, 1-6. doi: 10.1016/j.ajme.2017.11.007
- Área Marina de Ecologistas en Acción (2018). Cetáceos: Los mamíferos más salados informe sobre las interacciones entre cetáceos y actividades humanas. Recuperado de <http://www.ecologistasenaccion.org/article35006.html>
- Ávalos Lázaro, A., Rosique Gil, J., Cappello García, S., & Villarruel Ordaz, J. (2018). Ascomycetes (Fungi: Ascomycota) del Parque Estatal Agua Blanca, Macuspana, Tabasco, México. *Acta Botanica*, 122: 141-154. doi: 10.21829/abm122.2018.1261
- Bayas, R. (2015). Pollution Structure and Conservation Status of the Bottlenose Dolphin Population in Gulf of Guayaquil, Ecuador (Tesis de Maestría). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Bimbi, C., & Brzezinski, P. (2017). Cutaneous sporotrichosis as an occupational disease: Case report. *ResearchGate, Our Dermatol Online*, 8(1), 37-39. doi: 10.7241/ourd.20171.09
- Bunskoek, P., Seyedmousavi, S., Gans, S., Van Vierzen, P., Melchers, W., Elk, C.,...Verweij, P. (2017). Successful treatment of azole-resistant invasive aspergillosis in a bottlenose dolphin with high-dose posaconazole. *ELSELVIER*, 16, 16-19. doi: 10.1016/j.mmcr.2017.03.005
- Contreras, A., Gómez, A., Paterna, A., & Tatay Dualde, J. (2016). Papel epidemiológico de las aves en la transmisión y mantenimiento de zoonosis. *Rev. Sci*, 35(3) 1-21.
- Díaz-Delgado, J. (2015). Patología y causas de la muerte de los cetáceos varados en las Islas Canarias (2006-2012), (Tesis de Doctorado). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España.
- Echevarría García, L. (2016). Diversidad ecológica de hongos filamentosos en la arena de las playas (Tesis Doctoral). Universidad del Turabo, Gurabo, Puerto Rico.
- Félix, F. (2015). *Los bufeos del Golfo de Guayaquil, guía de campo*. Guayaquil, Ecuador: ResearchGate. Recopilado de <https://www.researchgate.net/publication/281286634>
- Fernández da Silva, R., & Smits Briedis, G. (2015). Actualización de inventario de especies de hifomicetos acuáticos en Venezuela. *Gestión y Ambiente*, 18(2), 153-180.
- Ferrier, K., van Elk, C., Bunskoek, P., & van den Broek, M. (2017). Dosing and therapeutic drug monitoring of voriconazole in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *ISHAM*, 55(2), 155-163. doi: 10.1093/mmy/myw062
- Fuentes Manríquez, M. (2015). Metabolismo de especies de hongos aisladas de la zona costera frente a Chile central: rol en procesos de respiración y asimilación de nutrientes (Tesis de doctorado). Universidad de Concepción, Chile.
- Groch, K., Díaz-Delgado, J., Sacristán, C., Oliveira, D., Souza, G., Sánchez-Sarmiento, A., . . . Catão-Dias, J. (2018). Pulmonary and systemic fungal infections in an Atlantic spotted dolphin and a Bryde's whale, Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 128(22), 73-79. doi: 10.0.3354/dao03207
- Hernández Montiel, L., Rivas García, T., Romero Bastidas, M., Chiquito Contreras, C., Ruiz Espinoza, F., & Chiquito Contreras, R. (2018). Potencial antagonico de bacterias y levaduras marinas para el control de hongos fitopatógenos. *Rev Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (20), 4311-4321.
- Herra-Miranda, D., Pacheco-Polanco, J., Oviedo, L., & Iñiguez, M. (2016). Análisis espacial de los hábitats críticos del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) y la ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*) en el Golfo Dulce, Costa Rica: Consideraciones acerca de un proyecto de construcción de marina. *Rev. Mar. Cost*, 8(1), 9-27. doi:10.15359/revmar.8-1.1
- Huckabone, S. E., Gulland, F. M., Johnson, S. M., Colegrove, K. M., Dodd, E. M., Pappagianis, D., . . . Miller, M. A. (2015). Coccidioidomycosis and other systemic mycoses of marine mammals stranding

- along the central California, USA COAST: 1998–2012. *Wildlife Disease Association*, 51(2), 1-14. doi: 10.7589/2014-06-143
- Jiménez Díaz, R. M. (2017). Las enfermedades de las plantas: impactos, amenazas y control. *ResearchGate*, 166, 111-130. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/324091733>
- Jiménez, P., & Alava, J. (2015). Strand-feeding by coastal bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Gulf of Guayaquil, Ecuador. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, 10(1), 33-37. doi: 10.5597/lajam00191
- Ka-Lai, P., & Gareth, J. (2017). *Recent advances in marine mycology*. Recent advances in marine mycology, 60 (4) 361–362. doi: 10.1515/bot-2017-0048
- Lukassen, M., Saei, W., Sondergaard, T., Tamminen, A., Kumar, A., Kempken, F., . . . Sørensen, J. (2015). Identification of the Scopularide Biosynthetic Gene Cluster in *Scopulariopsis brevicaulis*. *Marine Drugs*, 13, 4331-4343. doi: 10.3390/md13074331
- Marie-Francoise, V., Simoes-Lopes, P., Fernando, F., Jeremy, K., Fabio, D., Isabel, A., . . . Koen, W. (2015). Epidemiology of lobomycosis-like disease in bottlenose dolphins *Tursiops spp.* From South America and southern Africa. *Disease of Aquatic Organisms*, 117(17), 59-75. doi: 10.3354/dao02932
- Refai, M., El-Hariri, M., & Alarousy, R. (2017). Cryptococcosis in Animals and Birds: A Review. *European Journal of Academic Essays*, 4(8), 202-223.
- Reidarson, T., García-Párraga, D., & Wiederhold N. (2018). Marine Mammal Mycoses. En F, Gulland, L, Dierauf, & K, Whitman. (Ed.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine* (pp.1 - 201). California, USA: CRC Press.
- Rubio Guerri, C. (2015). Detección, prevalencia y epidemiología molecular de virus en cetáceos del Mediterráneo (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España.
- Sánchez Martínez, L., Fernández Ruenes, G., Guevara March, C., Cruz Martínez, D., Sánchez Campos, L., López León, N., . . . Campos Talavera, R. (2015). Lesiones cutáneas similares observadas en tres delfines *Tursiops truncatus* mantenidos en cautiverio nacional de Cuba: estudio de casos. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(10), 1-12. Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101015.html>
- Schaefer, A. M., Reif, J. S., Guzmán, E. A., Bossart, G. D., Ottuso, P., Snyder, J., . . . McCarthy, P. J. (2016). Toward the identification, characterization and experimental culture of *Lacazia loboi* from Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *ISHAM*, 54, 659–665. doi: 10.1093/mmy/myw011
- Seyedmousavi, S., Guillot, J., Tolooe, A., Verweij, P. E., & Hoog, G. S. (2015). Neglected fungal zoonoses: hidden threats to man and animals. *Clinical Microbiology and Infection*, 21, 416-425. doi: 10.1016/j.cmi.2015.02.031
- Zavala Villacís, M. (2017). Área de ocupación y estructura social del bufeo costero *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) (Cetacea: Delphinidae) en la Puntilla de Santa Elena (Ecuador) desde Noviembre 2015 hasta Julio 2016 (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencia Naturales, Guayaquil, Ecuador.