

ALGAS PARÁSITAS DE METAZOOS

Rodrigo Rodríguez Grajel

e- mail: rodrirodriguez@alumnos.uvigo.es

Resumen

Trabajo Botánica I

Tutora:

- Aida Morales

Departamento de Biología

Vegetal y Ciencias del Suelo

Facultad de Biología

Universidad de Vigo.

A continuación se realiza una revisión bibliográfica de ciertas algas parásitas de metazoos (animales). Se tratan las afecciones de esta naturaleza en algunos invertebrados: cangrejo cacerola (*Limulus polyphemus*), diversos artrópodos (producidas por *Helicosporidium sp.*), corales de arrecife (producidas por *Phormidium corallyticum*) y moluscos (*Coccomyxa parasitica*); así como en vertebrados: prototecosis (infecciones por *Prototheca sp.*) en bóvidos y humanos.

INTRODUCCIÓN

Las algas son organismos autótrofos que colonizan prácticamente cualquier nicho ecológico. Existen algas adaptadas al ambiente terrestre, aunque la mayoría vive en ecosistemas acuáticos, en cuyo caso pueden hallarse formando parte del fitoplancton (flotando) o del bentos, esto es, asociadas a sustratos sólidos como rocas, lodo o arena. También podemos hallar algas que viven sobre vegetales o en el interior de éstos (epífitas/endófitas), así como sobre y en el interior de animales (epizóicas/endozóicas, respectivamente) o asociadas a hongos (micobióticas o liquénicas); entre ambos organismos se pueden establecer relaciones de simbiosis, mutualismo e incluso parasitismo.

Parasitismo de Invertebrados

Los invertebrados, en su mayoría marinos, son el principal hospedador de la mayor parte de las algas cuyo ciclo vital comprende, al menos, un estadio parásito. Muchas son epibiontes, desarrollándose sobre la cutícula de ciertos crustáceos (Pérez-Martínez & Barea-Arco, 2000); aunque en ocasiones, como veremos a continuación, penetran en el hospedador convirtiéndose en endobiontes.

Caso del cangrejo cacerola

El cangrejo cacerola o herradura americano (*Limulus polyphemus*), que vive en la región norte de la costa oeste del Atlántico, es un crustáceo acuático (subclase Xiphosura) cuya historia evolutiva ha permanecido prácticamente inmutable desde hace más de 200 millones de años (Braverman *et al.*, 2012), por lo que ha sido calificado como un fósil viviente (Smith & Berkson, 2005) y ha sido intensamente estudiado. Se ha convertido en un modelo para el estudio del sistema nervioso, la fagocitosis celular o el desarrollo embrionario de los invertebrados marinos, entre otros; tiene, además, gran importancia en diferentes industrias, como la pesca de cebo o a modo de fertilizante para la agricultura (Shuster *et al.*, 2003). Probablemente, su uso más sobresaliente sea en la industria bio-médica, dado que de su sangre (hemolinfa) se pueden aislar amebocitos que producen una sustancia útil en la detección de mínimas concentraciones de diferentes endotoxinas en humanos (Walls *et al.*, 2002).

Una patología común documentada por Leivobitz & Lewbart (1987) como causante de gran parte de las muertes en cangrejos cacerola, tanto salvajes como en cautiverio, está causada, según Braverman *et al.* (2012), por el parasitismo de un alga verde de la familia Ulvaceae (Figura. 1). Esta alga causa lesiones degenerativas en el dorso del exoesqueleto, los ojos y ocelos, la membrana artrodial (situada sobre el

corazón) y la base de su espina caudal o telson (Leivobitz & Lewbart, 1987). Estudios en microscopía óptica y cultivos in vitro del alga revelaron que los esporófitos jóvenes de ésta (zigotos) emplean sus procesos rizoidales para insertarse en la lámina quitinosa que compone la superficie del exoesqueleto y, en ocasiones, alcanzar los órganos internos.

Este ataque puede acarrear deformidades en el exoesqueleto, necrosis, degeneración de los tejidos oculares e incluso hemorragias cardíacas (Braverman *et al.*, 2012). Además, es frecuente que la herida resultante sea infectada de forma secundaria por otros patógenos, bacterianos o micóticos (Figura 2). Una de las razones por las que esta afección prevalece y entraña gravedad es que los cangrejos cacerola maduros cesan en la muda de la cutícula, por lo que no pueden librarse del alga de manera natural; tal es la importancia de este fenómeno que hay evidencias de que otro artrópodo acuático, la langosta americana (*Homerus americanus*), es también parasitado por esta alga, aunque con mínimas consecuencias debido a que sí se produce la ecdisis en individuos adultos. Además, se han hecho estudios que demuestran que el alga es resistente a las propiedades inmunológicas y al potencial de expulsión mecánica de bioinvasores que poseen los exudados generados en las glándulas hipodérmicas de *L. polyphemus* (Harrington *et al.*, 2008).

Helicosporidium sp.

Helicosporidium sp. es una alga verde apoclorótica unicelular de gran variabilidad fenotípica (Denton *et al.*, 2009). Su ciclo biológico comprende fases de vida vegetativa, fases filamentosas y hasta la formación de quistes, precisamente su estadio parásito. Es capaz de infectar a múltiples invertebrados ya que se desarrolla en ambientes acuáticos tan diversos como estanques, suelos húmedos o la savia de los árboles.

Los quistes están formados por una película inerte que contiene una única célula con forma de filamento espiral, en torno a tres células ovoides (Figura 3). Después de su ingestión por un hospedador, normalmente un insecto, las enzimas digestivas del mismo provocan la ruptura de la película protectora y la liberación de las células ovoides, que dañan el tejido del intestino, y la célula filamentosa (Bläske-Lietze *et al.*, 2006). Ésta consigue atravesar el epitelio intestinal y alcanzar el hemocele, donde su escisión libera gran cantidad de células hijas, las cuales auto-esporulan y dejan en el insecto la descendencia vegetativa (Denton *et al.*, 2009).

Mal de la banda negra de los corales: *Phormidium corallyticum*

Algunos corales constructores de arrecifes en el Atlántico occidental, como *Montastraea annularis*, *M. cavernosa*, *Colpophyllia natans*, *Diploria clivosa*, *D. labyrinthiformis* y *D. strigosa* (Kuta & Richardson, 1996), son susceptibles a una infección conocida como enfermedad de la banda negra (Figura 4).

Rützler *et al.* (1983) confirman que la cianobacteria filamentosa *Phormidium corallyticum* es el agente etiológico, y especulan que la histólisis observada en el coral penetrado se debe a la producción de un exudado tóxico por parte de este organismo (Figura 5). De forma inmediata, el tejido coralino se ve invadido por numerosas bacterias sulforreductoras, densas poblaciones de la bacteria sulfooxidante *Beggiatoa spp.*, y numerosas bacterias heterotróficas (Richardson & Kuta, 2003), que conforman un tapete microbiano. El cultivo de *P. corallyticum* fuera del coral anfitrión (Rützler *et al.*, 1983) reveló que esta alga requiere de ciertas sustancias orgánicas para su crecimiento óptimo, todavía no identificadas, contenidas en el tejido del coral. Kuta & Richardson (1996), en un estudio de casi 1.400 colonias de coral, obtuvieron que un 0,72 % de las especies estaban afectadas con esta enfermedad (Figura 6). Además, la supervisión a lo largo del año dilucidó que una gran parte de las especies se correspondían con un patrón de patogenicidad estacional, estando limitada en estos casos la infección a los meses más cálidos, en los que la temperatura del agua es superior a 25 °C; a esta temperatura, *P. corallyticum* realiza la fotosíntesis oxigénica de manera óptima (Richardson & Kuta, 2003).

Afecciones en Moluscos: *Coccomyxa parasitica*

Del género *Coccomyxa* se conocen principalmente algas de agua dulce, o epífitas y ficobiontes de líquenes. Sin embargo, el alga *Coccomyxa parasitica* fue descrita por primera vez por Stevenson y South (1974) como un parásito de la vieira gigante de Terranova (*Placopecten magellanicus*), una especie de gran valor comercial que se ve reducido por la intensa coloración verde que imprime el alga (Cremonte & Vázquez, 2012).

Coccomyxa parasitica (Figura 7b), organismo unicelular morfológicamente heterogéneo, con capacidad de reproducción mediante autosporas, forma colonias de morfologías muy diversas que se distribuyen por varios órganos del hospedador, fundamentalmente por los pliegues superior e inferior del manto (Stevenson & South, 1974); una infección masiva causa importantes daños en el hospedador (Naidu, 1971). El análisis de un elevado número de vieiras constató que la concentración de la infección disminuye exponencialmente desde el exterior al interior del animal (Stevenson y South, 1974) (Figura 8). Naidu (1971) añade que los requerimientos fotosintéticos del alga provocan un descenso en la presencia de infección directamente proporcional a la profundidad a la que se encuentran los ejemplares de *P. magellanicus*, esto es, al descenso de iluminación.

Existen abundantes documentos que señalan a *Coccomyxa parasitica* como causante de infecciones en otras especies de bivalvos. La almeja panopea (*Panopea abbreviata*), que en los últimos años ha adquirido gran interés comercial (Ciocco, 2000), es endémica del suroeste atlántico, un bivalvo de gran tamaño que vive enterrado a más de 70 cm en sedimentos blandos de tipo fangoso, prolongando sus sifones 20 cm sobre la superficie. El alga fue hallada en el interior de los hemocitos (Figura 7.A) que se infiltran en el tejido conectivo del extremo terminal de los sifones, en los cuales se estabilizó y logró reproducirse (Figura 9). Esto está de nuevo relacionado con las necesidades fotosintéticas del alga; los tejidos del sifón tendrían una exposición a la luz mínima para la supervivencia de *C. parasitica* (Vázquez *et al.*, 2010). Así es que la luz ha sido considerada un factor esencial para el control de la distribución y abundancia del alga en el interior tisular. Vázquez *et al.* (2000) hacen también referencia a que los daños producidos en *P. abbreviata* están causados, principalmente, por la provocación de trastornos en la disposición de los músculos y fibras conectivas de los sifones. Asimismo, el alga es combatida por la almeja panopea mediante la formación de vacuolas digestivas en el interior de los hemocitos, provocando su reabsorción; esto podría suponer un continuo desgaste energético perjudicial para el animal.

El mejillón azul (*Mytilus edulis*) es otra especie de bivalvo no exenta del parasitismo de *Coccomyxa*. El alga fue hallada formando pústulas verdes en los tejidos gonadales y en la región del manto y el músculo aductor posteriores (Rodríguez *et al.*, 2008) (Figura 10). Dado que los componentes de las valvas de estos animales son secretados por el manto, la invasión de éste en individuos juveniles conlleva su deformación y el consecuente crecimiento anormal de la concha. También cabe añadir a la problemática generada por *C. parasitica* (Mortensen *et al.*, 2005) la esterilidad parcial o total de los ejemplares cuyas gónadas fueron infectadas, así como la pérdida de interés comercial (Cremonte y Vázquez, 2012).

Parasitismo de Vertebrados: Infecciones por *Prototheca sp.*

La mayoría de las infecciones provocadas por algas en animales vertebrados están causadas por organismos del género *Prototheca* (Figura 11). Alguna excepción la componen patologías producidas por *Shewanella algae*, que se cree responsable de la infección secundaria en diversas heridas, como las generadas por mordedura de cobra (Liu *et al.*, 2013); o una clorofícea parásita de un pez japonés, *Sillago japonica* (Koike *et al.*, 2013), entre otros.

Existen diferentes casos documentados de infecciones por *Prototheca*. De 1969 a 1974, aproximadamente 250 ejemplares de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) de una piscifactoría murieron debido a una infección que afectó principalmente a los riñones; la posterior necropsia reveló que la mayoría de los órganos estaban infestados de una nueva especie del género *Prototheca*, *P. salmonis* (Gentles & Bond, 1977). Desde entonces se han registrado patologías provocadas por esta alga en

multitud de animales, como ranas, murciélagos (Mettler, 1975), perros o gatos; de estos dos últimos casos los síntomas son variados: diarreas, formación de nódulos cutáneos, ceguera, encefalitis y disfunciones multiorgánicas (Font & Hook, 1984; Kaplan *et al.*, 1976; Schulz *et al.*, 1998).

Mastitis bovina

La mastitis bovina es una de las principales enfermedades infecciosas del ganado lechero que produce cuantiosas pérdidas económicas. Consiste en una infección intramamaria provocada por alguno de múltiples organismos patógenos que pueden causar la enfermedad. *Prototheca*, más concretamente *P. zopfii* (Zaror *et al.*, 2011) (Figuras 12 y 13), no es un causante habitual de mastitis, sino que más bien se trata de un parásito ocasional, que aparece bajo rutinas de ordeño deficientes y malas condiciones de higiene. Se ha conseguido aislar de entre, además de las ubres, una gran variedad de muestras ambientales, como plantas, suelo, barro, arroyos, patios de estabulación, agua de bebederos, agua de drenaje, material de cama, unidades de ordeño e incluso heces de vaca (Porrás-Almeraya, 1994; Zaror *et al.*, 2011). La infección provocada por el alga se podría prevenir en alto grado mediante una adecuada higiene de los recintos, las unidades de ordeño y las ubres de los animales, lo cual no siempre se cumple rigurosamente (Porrás-Almeraya (1994) encontró que en un hato se utilizaba una única toalla para limpiar y secar la ubre de todas las vacas).

Las glándulas mamarias de las vacas donde se aisló *Prototheca* presentaron tres hallazgos constantes: reducción de tamaño e incremento a la palpación en la consistencia de las glándulas infectadas, sin presentar signos de inflamación marcada; disminución de la producción láctea y, fundamentalmente, refracción al tratamiento por los antibióticos comerciales convencionalmente utilizados en ganadería (Porrás-Almeraya, 1994). Esto supone grandes pérdidas comerciales, a las que se suma de manera secundaria la eliminación de la leche contaminada con antibióticos. A pesar de que existen ciertos tratamientos no frecuentes que consiguen erradicar la infección, su elevado coste convierte al sacrificio del animal en la práctica más común entre los ganaderos para evitar que la enfermedad se propague por el rebaño (Zaror *et al.*, 2011).

Infección en humanos

Las afecciones por *Prototheca* en humanos son extremadamente raras y están limitadas, principalmente, al tejido cutáneo de las extremidades (Gentles & Bond, 1977), en que se produce la formación de úlceras purulentas (Figura 14); también se pueden producir, sin embargo, infecciones intestinales y prototecosis diseminada en pacientes inmunodeprimidos (Zaror *et al.*, 2011). Esto queda patente en estudios de Klintworth *et al.* (1968), en que la infección ocurrió en una mujer con diabetes mellitus y un carcinoma mamario con metástasis generalizada; y Davies *et al.* (1964), en que la infección por una nueva especie, *P. segbwema*, se extendió por los nódulos linfáticos de la pierna de un productor de arroz de Sierra Leona. El tratamiento usual para *Prototheca*, resistente a los antibióticos convencionales y con gran capacidad reproductiva, consiste en un efecto sinérgico de un antibiótico de la familia de las tetraciclinas, de amplio espectro, y anfotericina B, este último el que resultados más positivos ha obtenido contra *Prototheca spp.* (Lee *et al.*, 1975; Lass-Flörl & Mayr, 2007).

Cabe mencionar un estudio que García-Cuevas y Suárez-Delgadillo (2009) realizaron en un hospital mexicano con el fin de determinar la influencia de *Prototheca*, como parte de las infecciones nosocomiales (adquiridas en el hospital), sobre niños en período neonatal. Los factores determinantes a la hora de producirse la infección son la cada vez más acentuada inmadurez de los niños prematuros y, en consecuencia, la utilización de tecnología más especializada, que actúa como nuevas fuentes de entrada para las infecciones. De entre los niños infectados por el alga, alrededor de un 25% falleció, bien por la acción directa del parásito (el 16% de ellos), bien por consecuencias derivadas del mismo.

ANEXO DE FIGURAS



Figura 1. Fotografía in vivo del prosoma (cefalotórax) en la región del gran ojo lateral compuesto (LE). Ambos, caparazón y ojo, están parcialmente cubiertos por algas verdes. Tomado de Braverman *et al.* (2012).

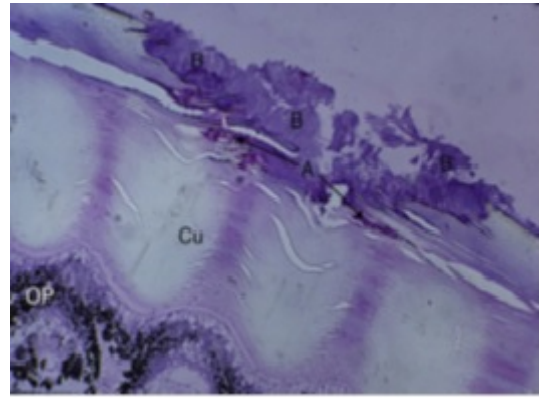


Figura 2. Microfotografía de un ocelo (OP) afectado por las algas verdes invasivas (A), que han erosionado la cutícula (Cu), favoreciendo la infección secundaria por bacterias (B). Tomado de Braverman *et al.* (2012).

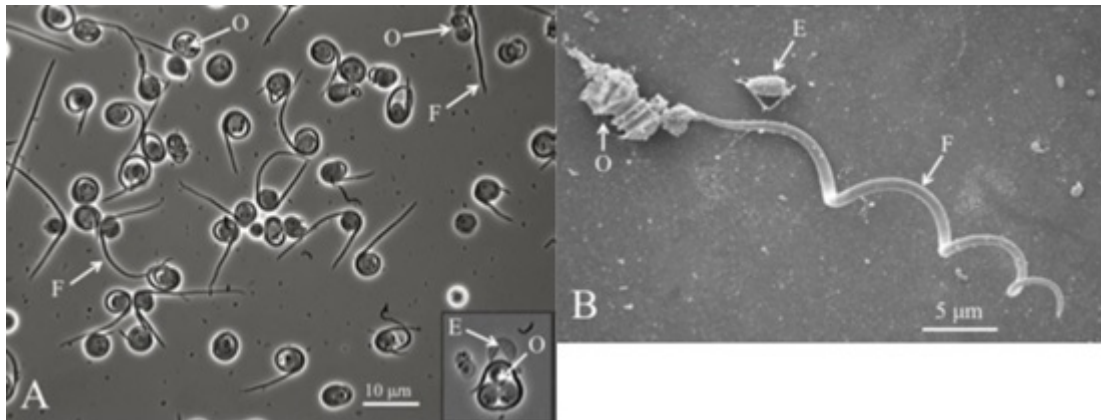


Figura 3. Ruptura del quiste de *Helicosporidium* observada bajo el microscopio óptico [A] y detalle de una célula filamentosa bajo el microscopio electrónico de barrido [B]. Se observan grupos de tres células ovoides (O), células filamentosas (F) y películas vacías (E). Tomado de Tartar (2013).



Figura 4. Mal de la banda negra en el coral *Colpophyllia natans*. Tomado de Richardson (1998).

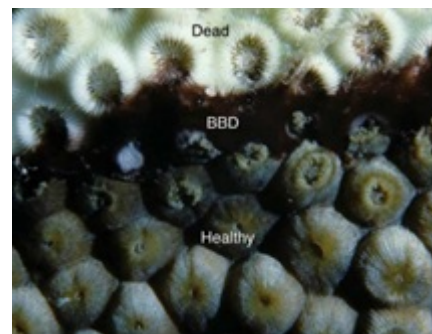


Figura 5. Fotografía in situ del de la banda negra en el coral *Montastraea cavernosa*. Se aprecia el esqueleto (Dead), la banda de patógenos (BBD) y el tejido todavía saludable (Healthy). Modificado de Richardson & Kuta (2003).

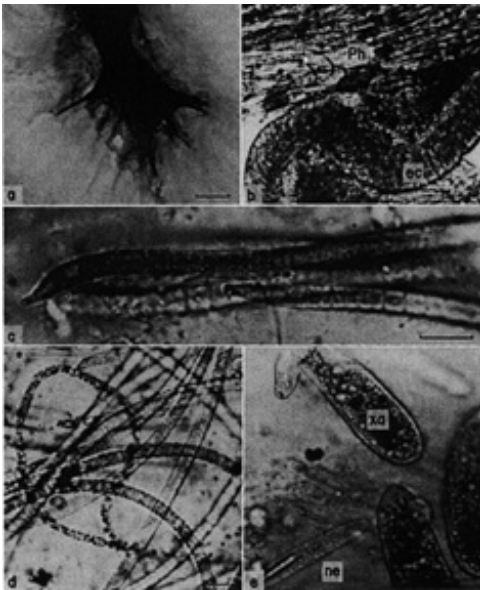


Figura 6. Fotografías a diferentes aumentos de: filamentos de *Phormidium* penetrando en el ectodermo del coral (a); (b) una visión similar a (a) en sección transversal, en donde "Ph" representa el alga y "ec" el ectodermo del coral; detalle de los filamentos de *Phormidium* (c, d: filamentosos) y *Beggiatoa* (d: granular); ciliados (*Philaster* sp.) llenos con zooxantelas consumidas del coral: "xa", distíngase un nematocisto aislado sin explotar: "ne". Tomado de Rützler *et al.* (1983).

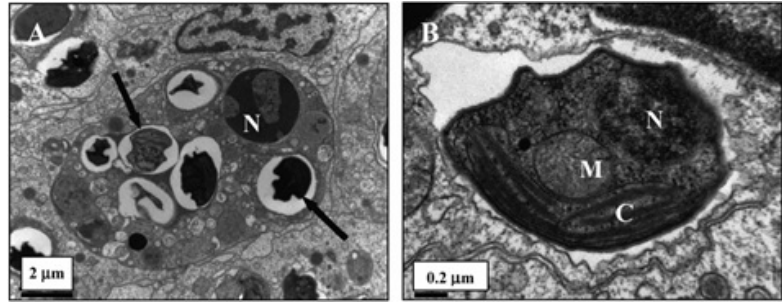


Figura 7. Micrografía electrónica del alga *Coccomyxa*. Se aprecia una célula (hemocito, N: núcleo) afectada con numerosas inclusiones de células del alga (A) y el detalle de una de éstas (B), en donde se aprecian cloroplastos: C, una mitocondria: M y su núcleo: N. Modificado de Rodríguez *et al.* (2008).

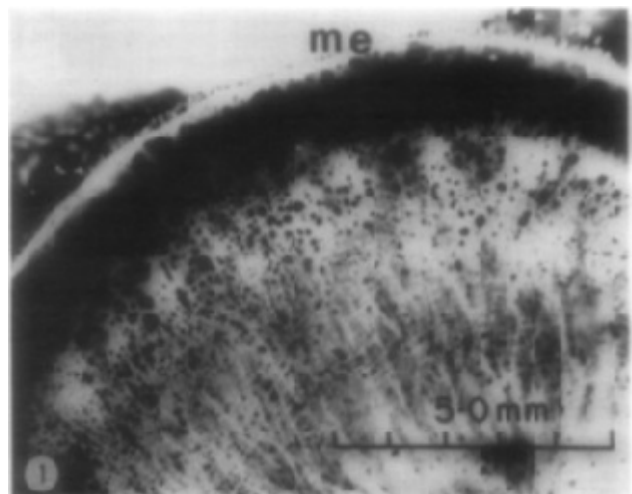


Figura 8. Superficie del manto de una vieira gigante (*Placopecten magellanicus*), en que se aprecia un decrecimiento de la infección desde el exterior (me) hacia el interior. Tomado de Naidu (1971).

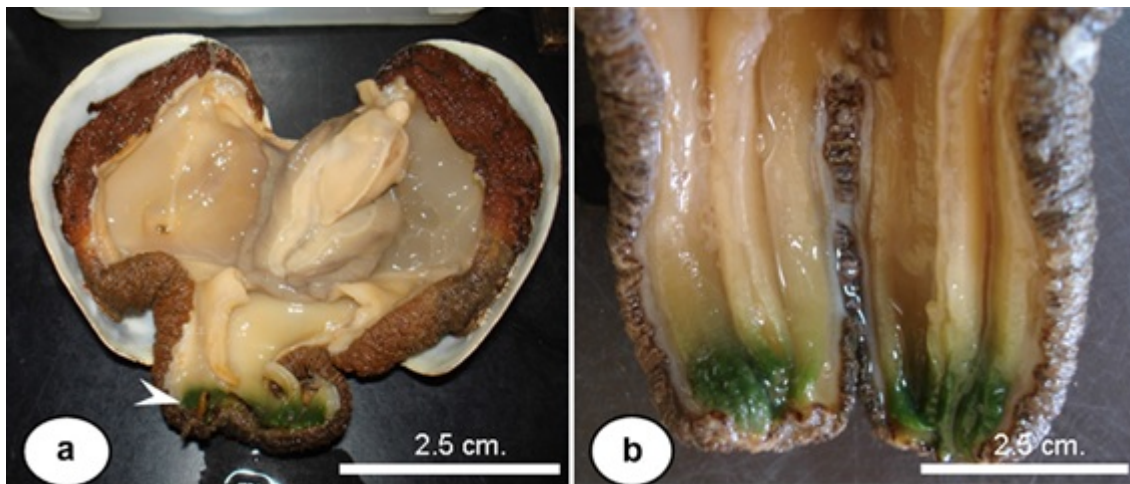


Figura 9. *Panopea abbreviata* con infección por *Coccomyxa* (manchas verdes). Almeja diseccionada (a) y detalle de los sifones (b). Modificado de Vázquez *et al.* (2010).

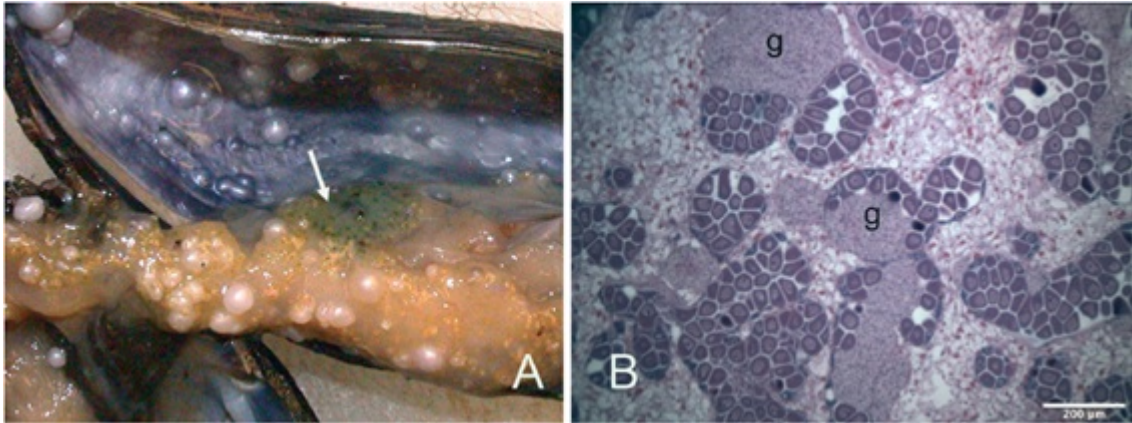


Figura 10. *Mytilus edulis* con numerosas perlas (A) en que se aprecian áreas infectadas con *Coccomyxa*. (B) Sección histológica de las áreas afectadas en que se aprecia que la infección produce grandes lesiones granulomatosas: g. Modificado de Rodríguez *et al.* (2008).

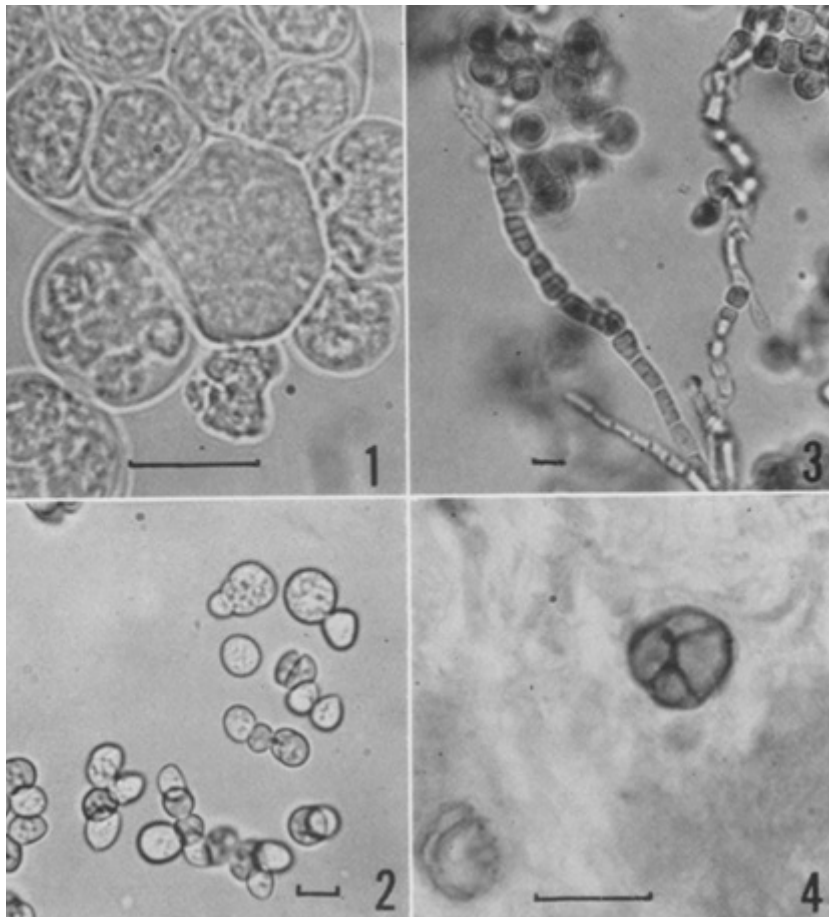
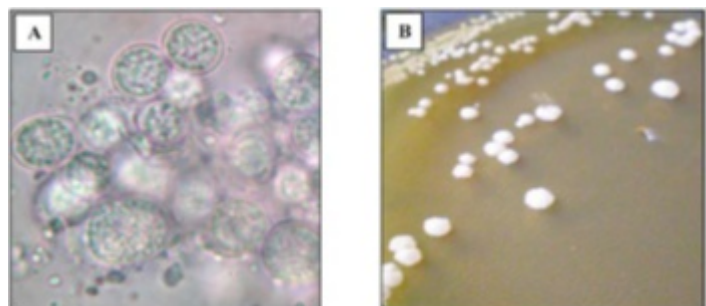


Figura 11. Esporangio y aplanosporas de diferentes especies de *Prototheca*. A saber: *P. zopfii* (1), *P. filamenta* (2, 3) y *P. wickerhamii* (4). Tomado de Arnold & Ahearn (1972).

Figura 12. Examen microscópico directo (preparación en fresco) de una muestra de leche positiva a *Prototheca zopfii* (A) y de colonias típicas de *Prototheca zopfii* (B). Tomado de Zaror *et al.* (2011).



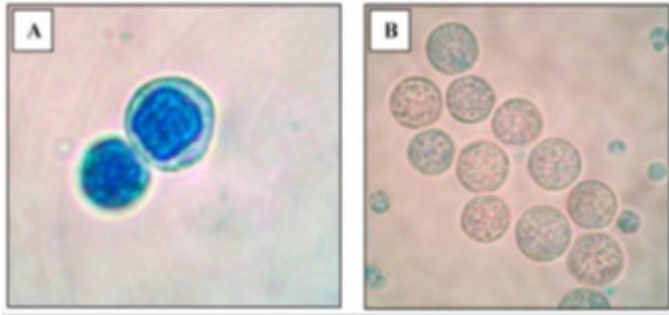


Figura 13. Células de *Prototheca zopfii* en diferentes estados del ciclo de vida (A y B). Tomado de Zaror *et al.* (2011).

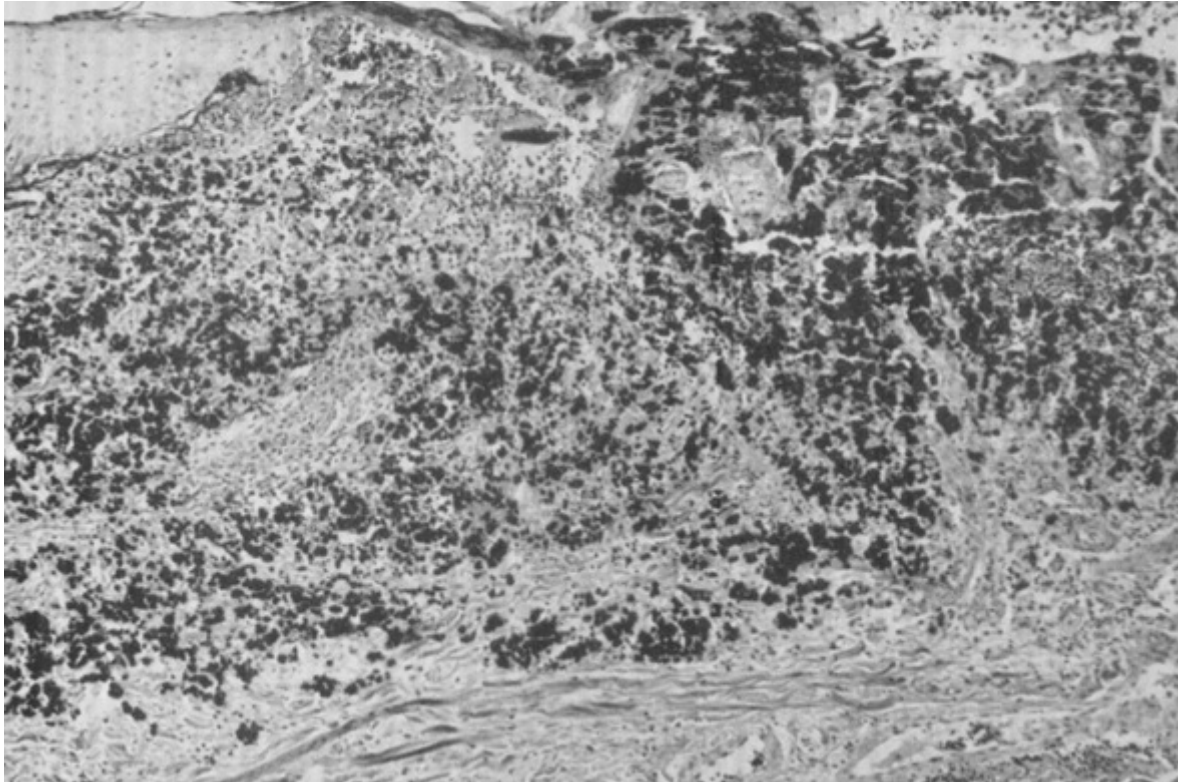


Figura 14. El alga *Prototheca wickerhamii* (puntos negros) se extiende a una profundidad de 5 mm en esta úlcera cutánea. Tomado de Klintworth *et al.* (1968).

BIBLIOGRAFÍA

- Arnold, P. y Ahearn, D. G. (1972). The Systematics of the Genus *Prototheca* with a Description of a New Species *P. filamenta*. *Mycologia* 64: 265–275.
- Bláske- Lítze, V.-U., Shapiro, A. M., DENTON, J. S., Botts, M., Becnel, J. J. y Boucias, D. (2006). The development of the algal entomopathogen *Helicosporidium*. *J Eukaryot Microbiol* 53: 165–176.
- Braverman, H., Leibovitz, L. y Lewbart, G. A. (2012). Green algal infection of American horseshoe crab (*Limulus polyphemus*) exoskeletal structures. *J Invert Pathol* 111: 90–93.
- Ciocco, N. F. (2000). Almeja panopea, un nuevo recurso pesquero para el Mar Argentino. *Infopesca Internacional* 6: 36–39.
- Cremonte, F. y Vázquez, N. (2012). Estado sanitario de las poblaciones de Moluscos Bivalvos en Argentina. *Rev Arg Parasitol* 1: 137–139.
- Davies, R. R., Spencer, H., y Wakelin, P. O. (1964). A case of Human *Protothecosis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 58: 448–451.

- Denton, J. S., Bläske-Lietze, V.-U., Boucias, D. (2009). Host age and pathogen dosage impact cyst morphogenesis in the invertebrate pathogenic alga *Helicosporidium* sp. (Chlorophyta: Trebouxiophyceae). *J Invert Pathol* 102: 36–39.
- Font, R. L. y Hook, S. R. (1984). Metastatic Protothecal Retinitis in a Dog. *Electron Microscopic Observations*. *Vet Pathol* 21: 61–66.
- García-Cuevas, G. y Suárez-Delgadillo, M. S. (2009). Evolución clínica de un brote por *Prototheca* sp. *Archivos de Investigación Materno Infantil* 1 (1): 22–23.
- Gentles, J. C. y Bond, P. M. (1977). Protothecosis of Atlantic Salmon. *Sabouraud* 15: 133–139.
- Harrington, J., Leippe, M. y Armstrong, P. B. (2008). Epithelial immunity in a marine invertebrate: a cytolytic activity from a cuticular secretion of the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Mar Biol* 153: 1165–1171.
- Kaplan, W., Chandler, F. W., Holzinger, E. A., Plue, R. E. y Dickinson, R. O. (1976). Protothecosis in a cat: First recorded case. *Med Mycol* 14: 281–286.
- Klintworth, G. K., Fetter, B. F. y Nielsen Jr., H. S. (1968). Protothecosis, an algal infection: report of a case in man. *J Med Microbiol* 1: 211–216.
- Koike, K., Akai, N., Liao, L. M., Ikeda, K. y Yoshimatsu, S. (2013). Chlorophycean parasite on a marine fish, *Sillago japonica* (Japanese sillago). *Parasitol Int* 62: 586–589.
- Kuta, K. G. y Richardson, L. L. (1996). Abundance and distribution of black band disease on coral reefs in the northern Florida Keys. *Coral Reefs* 15: 219–223.
- Lass-Flörl, C. y Mayr, A. (2007). Human Protothecosis. *Clin Microbiol Rev* 20: 230–242.
- Lee, W.-S., Lagios, M. D. y Leonards, R. (1975). Wound infection by *Prototheca wickerhamii*, a saprophytic alga pathogenic for man. *J Clin Microbiol* 2: 62–66.
- Leibovitz, L. y Lewbart, G. A. (1987). A green algal (Chlorophycophyta) infection of the exoskeleton and associated organ structures in the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Biol Bull* 173: 430.
- Liu, P.-Y., Shi, Z.-Y., Shyu, C.-L., Wu, Z.-Y., Lai, K.-L., Chang, C.-Y., Chen, Y.-J., Huang, J.-A., Mao, Y.-Chiao y Tung, K.-C. (2013). Cobra bite wound infection caused by *Shewanella* algae. *Int J Infect Dis*, disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.08.014> [07/12/2013].
- Mettler, F. (1975). Generalisierte Protothecose bei einem Flughund (*Pteropus lylei*). *Vet Pathol* 12: 118–124.
- Naidu, K. S. (1971). Infection of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin) from Newfoundland with an endozoic alga. *J Invert Pathol* 17: 145–157.
- Pérez-Martínez, C. y Barea-Arco, J. (2000). Relación entre el tamaño del hospedador y la intensidad de infección de un alga epibionte. *Limnetica* 19: 193–198.
- Porras-Almeraya, A. (1994). Aislamiento de *Prototheca* en un brote de mastitis bovina. *Vet Mex* 25 (1).
- Richardson, L. L. (1998). Coral diseases: What is really known? *Trends Ecol Evol* 13: 438–443.
- Richardson, L. L. y Kuta, K. G. (2003). Ecological physiology of the black band disease cyanobacterium *Phormidium corallyticum*. *FEMS Microbiol Ecol* 43: 287–298.
- Rodríguez, F., Feist, S. W., Guillou, L., Harkestad, L. S., Bateman, K., Renault, T. y Mortensen, S. (2008). Phylogenetic and morphological characterisation of the green algae infesting blue mussel *Mytilus edulis* in the North and South Atlantic oceans. *Dis Aquat Organ* 81: 231–240.
- Rützler, K., Santavy, D. L., y Antonius, A. (1983). The Black Band Disease of Atlantic Reef Corals. *Mar Ecol* 4: 329–358.
- Schultze, Ring, Morgan y Patton (1998). Clinical, cytologic and histopathologic manifestations of protothecosis in two dogs. *Vet Ophthalmol* 1: 239–243.
- Shuster, C. N., Barlow, R. B., Brockmann, H. J. (2003). *The American Horseshoe Crab*. Cambridge, USA: Harvard University Press.

- Smith, S. A. y Berkson, J. (2005). Laboratory culture and maintenance of the horseshoe crab (*Limulus polyphemus*). *Lab Anim* 34: 27–34.
- Stevenson, R. N. y South, G. R. (1974). *Coccomyxa parasitica* sp. nov. (Coccomyxaceae, Chlorococcales), a parasite of giant scallops in Newfoundland. *Brit Phycol J* 9: 319–329.
- Tartar, A. (2013). The Non-Photosynthetic Algae *Helicosporidium* spp.: Emergence of a Novel Group of Insect Pathogens. *Insects* 4: 375–391.
- Vázquez, N., Rodríguez, F., Ituarte, C., Klaich, J. y Cremonte, F. (2010). Host–parasite relationship of the geoduck *Panopea abbreviata* and the green alga *Coccomyxa parasitica* in the Argentinean Patagonian coast. *J Invert Pathol* 105: 254–260.
- Walls, E., Berkson, J., Smith, S. A. (2002). The horseshoe crab, *Limulus polyphemus*: 200 million years of existence, 100 years of study. *Rev Fish Sci* 10: 30–73.
- Zaror, L., Valenzuela, K. y Kruze, J. (2011). Mastitis bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile. *Arch Med Vet* 43: 173–176.