

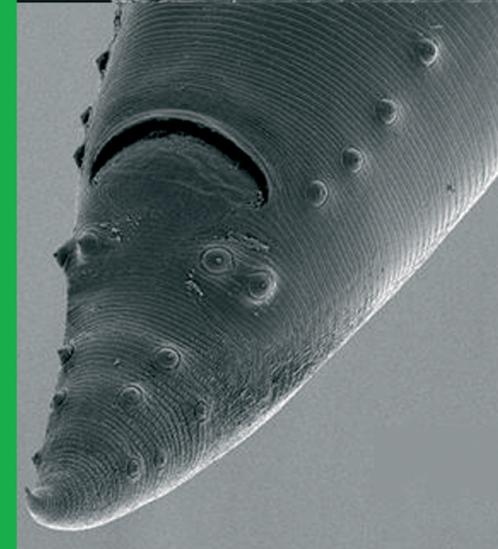
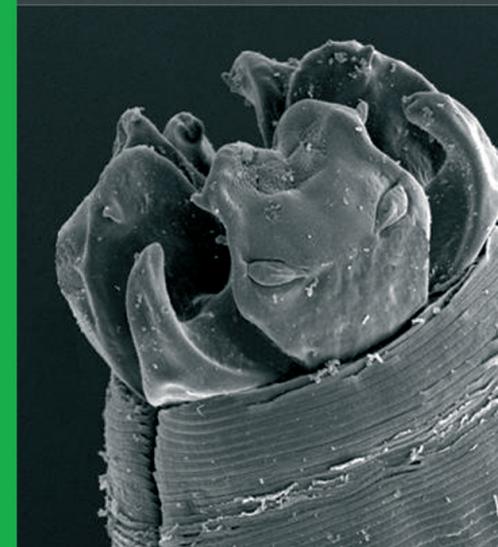
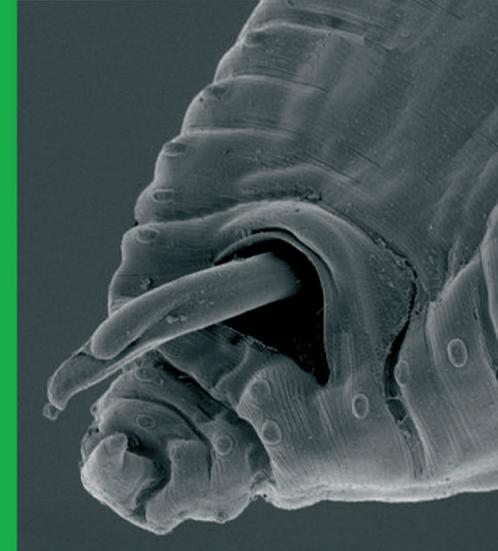
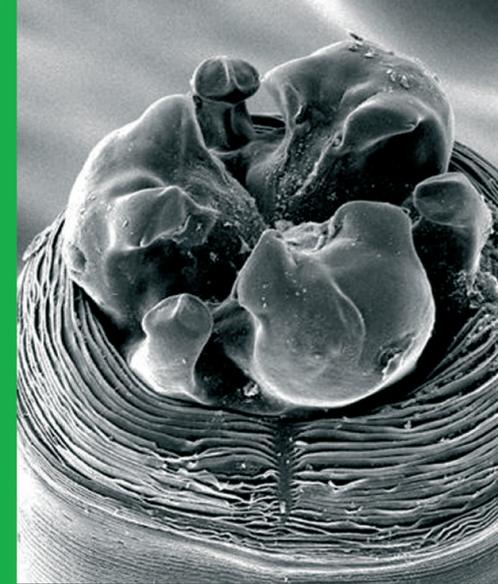
Universidad Nacional de La Plata  
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

**Taxonomía y evaluación de la especificidad hospedatoria  
de nematodos Anisakidae parásitos de aves marinas  
en el área de Península Valdés, Chubut, Argentina**

**Lucas E. Garbin**

Director: Dra. Graciela T. Navone  
Codirector: Dra. Florencia Cremonte

Trabajo de Tesis para optar por  
el Título de Doctor en Ciencias Naturales  
2009



*-Dedicado a mis padres  
incondicionales y a mi abuelo  
Vicente, mi mentor y ejemplo de  
vida...*

# Índice

---

<b>Agradecimientos</b>	I
<b>Resumen</b>	III
<b>Abstract</b>	VII
<b>Introducción General</b>	1
<b>Objetivos</b>	4
<b>Capítulo 1: Taxonomía de Anisakidae</b>	6
<b>Introducción</b>	6
<i>Áreas de muestreo</i>	6
<i>Los hospedadores</i>	11
<i>Los parásitos: Nematoda, Ascaridida, Anisakidae</i>	14
<i>Taxonomía</i>	15
Checklist del género <i>Contraecum</i>	16
<i>Antecedentes de investigación en Anisakidae</i>	24
<b>Materiales y Métodos</b>	26
<i>Toma de muestras y procesamiento de los hospedadores</i>	26
<i>Prospección de los nematodos</i>	27
<b>Resultados</b>	31
<b><i>Contraecum pelagicum</i></b> Johnston & Mawson, 1942	32
Redescripción	32
Resumen taxonómico	33
Comentarios	34
<b><i>Contraecum pelagicum</i></b> : Larva de cuarto estadio (L4)	42
Resumen taxonómico	42
Comentarios	42
<b><i>Contraecum chubutensis</i></b> Garbin, Díaz, Cremona & Navone, 2008	45
Descripción	45
Resumen taxonómico	46
Comentarios	46
<i>Contraecum</i> sp.: Larva de cuarto estadio (L4)	52
Resumen taxonómico	52

Comentarios	52
<b><i>Contracaecum bioccai</i></b> Mattiucci, Paoletti, Olivero, Baldiris, Arroyo, Garbin, Navone, Nascetti, 2008	56
Descripción	56
Resumen taxonómico	57
Comentarios	57
<b><i>Contracaecum n. sp.1</i></b>	60
Descripción	60
Resumen taxonómico	61
Comentarios	61
<b><i>Contracaecum mirounga</i></b> Nikolskiy, 1974	70
Redescripción	70
Resumen taxonómico	71
Comentarios	71
<b><i>Contracaecum sp. 2</i></b>	76
Descripción	76
Resumen taxonómico	77
Comentarios	77
<b>Capítulo 2: Caracterización molecular de Anisakidae</b>	82
<b>Introducción</b>	82
<i>Antecedentes</i>	83
<b>Materiales y Métodos</b>	84
<i>Especímenes analizados</i>	84
<i>Extracción del ADN</i>	85
<i>Amplificación y secuenciación del ADN</i>	86
<i>Análisis de secuencias</i>	86
<i>Electroforesis de alozimas multiloculares</i>	87
<b>Resultados</b>	89
<i>Análisis de ADN mitocondrial cox2</i>	89
<i>Análisis de alozimas multiloculares</i>	90
<b>Discusión</b>	103
<b>Capítulo 3: Desarrollo larvario, biología de la transmisión y asociación parasitaria en Anisakidae</b>	106
<b>Introducción</b>	106
<i>Antecedentes</i>	109
<b>Materiales y Métodos</b>	111
<b>Resultados</b>	114

<b><i>Contraecum pelagicum</i></b> Johnston & Mawson, 1942	115
Larva de tercer estadio (L3)	115
<i>Diversidad y reclutamiento de larvas de Anisakidae</i>	119
<i>Pruebas de biología molecular</i>	119
<i>Estado de desarrollo y distribución de Anisakidae en el tracto digestivo de</i> <i>Spheniscus magellanicus</i>	121
<i>Estudios de Asociación Parasitaria</i>	125
<i>Evaluación de la regurgitación como mecanismo de depuración de</i> <i>nematodos</i>	126
<b>Discusión</b>	130
<b>Capítulo 4: Especificidad hospedatoria en Anisakidae</b>	137
<b>Introducción</b>	137
<b>Materiales y Métodos</b>	140
<b>Resultados</b>	144
<b>Discusión</b>	153
<b>Discusión y Perspectivas</b>	156
<b>Conclusiones</b>	160
<b>Referencias bibliográficas</b>	164

---

# Agradecimientos

---

\*Quiero agradecer, ante todo, a mis padres, por su constante apoyo a ese hijo soñador que voló primero, quizás, estando lejos de casa para cumplir sus metas. Este es el fruto del esfuerzo y el sacrificio de ustedes también...

\*A mi abuelo Vicente, mi gran maestro, consejero y guía, nadie como vos para cuestionarse aspectos de la ciencia y la naturaleza. Tenías la visión de un científico nato, pero bueno, por esas cosas de la vida te tocó trabajar el campo. Sin embargo abuelo, ya ves, tu nieto sigue los pasos de tu influencia. Allá en el cielo, donde estés, muchas gracias abuelo querido...

\*A mis hermanos Marina y Lisandro, quienes siempre están presentes de cualquier forma, preguntando, dándome aliento, cuidándome. El diseño de tapa quedó divino Maio, sos una maestra diseñadora. Gracias a ambos...

\*A mi sobrina Valentina, lo más precioso que tengo y una divina razón de vivir, gracias Tinotera hermosa...

\*Quiero agradecer especialmente a mi directora de tesis, Dra. Graciela T. Navone, por haberme brindado la posibilidad de realizar mi tesis doctoral bajo su supervisión. Corría el año 2004 y antes de comenzar el doctorado me encontraba en España, terminando mi tesis de maestría. En aquel momento sentía un profundo sentimiento por volver y trabajar en el país, y fue Graciela quién me dio la posibilidad de hacerlo. Le agradezco la experiencia transmitida, la dedicación para conmigo y el esfuerzo para que se pudieran cumplir los objetivos de mi plan de trabajo, además del pensamiento crítico con el que me hizo cuestionar e influenciar mi curiosidad por los nematodos Anisakidae, parásitos de aves marinas. Gracias Gra, de todo corazón...

\*A mi codirectora, Dra. Florencia Cremona, su codirección y consejo en temas puntuales con respecto a la tesis, como el ofrecimiento de su laboratorio en el CENPAT para realizar la prospección y observación del material.

\*A Anita Huespe, ex compañera de Facultad en Córdoba y amiga, quién se brindó de forma incondicional dándome hospedaje en Puerto Madryn durante las campañas. Gracias negrita, de corazón...

\*A Natalia Ponce, por su incansable oído en mis días grises, gracias por escucharme, ser mi sustento y tranquilizarme en los momentos críticos de mi vida...

---

\*Al cuasi licenciado Gastón Berriex, por ayudarme en parte con las prospecciones de los pingüinos. Gracias Tongas, fue muy útil tu ayuda...

\*A mi compañera de trabajo, Dra. Julia Diaz, no solo compañera sino también una buena consejera, ayudándome con su visión objetiva siempre que fuera necesario. Tus consejos sirvieron de mucho, gracias Jules...

\*A Sonia Laurenti, “la tía Sonia”, por su entera disposición hacia mi, siempre tratando de asistirme ante alguna necesidad que pudiera surgir con respecto a las campañas y a la prospección de material en el CENPAT de Puerto Madryn. A Héctor Galelli también, por su desinteresada ayuda y disposición Gracias tía, de todo corazón...

\*A mi compañera, Dra. Juliana Notarnicola, por su revisión final de la tesis y su mirada atenta ante los pequeños detalles que a mi ojo pasarían desapercibidos. Gracias Juli...

\*A mi compañera, Dra. Rosario Robles, por su ayuda en el Capítulo 4, sus consejos y visión con respecto al tema.

\*A mi compañera Cecilia Carballo, por ayudarme en Capítulo 3, con su visión crítica y particular sobre el tema.

\*A mi compañero, Dr. Pablo Riccillo, por la revisión del Capítulo 2 con respecto a cuestiones puntuales de biología molecular.

\*A todos mis compañeros de trabajo que no he nombrado: Inés, Laurita, Chechu, Maru, Lorena, Marcela, Mariela y Cailo, que sin duda, en algún momento he necesitado de vuestra ayuda.

\*A la Dra. Simonetta Mattiucci, por darme la oportunidad de realizar una pasantía en los laboratorios de biología molecular del Instituto di Parassitologia, Università di Roma La Sapienza y el DECOS, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo, Italia.

\*Al Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), por haberme brindado el espacio físico para realizar mis trabajos de tesis doctoral.

\* A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por haberme otorgado la beca Doctoral Interna; y al CONICET por haberme otorgado la beca de Postgrado Tipo II, y por financiar el proyecto de investigación con la que pude realizar las campañas de muestreo.

\*Al Dr. Marcelo Bertellotti y Lic. Cecilia Villanueva, por permitir incorporarme a su grupo de trabajo durante las campañas en la Estancia San Lorenzo de Península Valdés.

\*Al Dr. Flavio Quintana y Walter Svagelj, por permitirme acoplar a sus campañas de muestreo en la cormoranera de Punta León.

\*A mis amigos, que de alguna u otra forma, estuvieron siempre presentes y ayudaron a la concreción de esta tesis doctoral.

---

# Resumen

---

Los nemátodos Anisakidae tienen una amplia distribución mundial y sus ciclos de vida transcurren principalmente en hospedadores marinos (peces, cefalópodos, reptiles, aves piscívoras y mamíferos). El ciclo de vida generalmente involucra a invertebrados acuáticos como hospedadores intermediarios, peces como hospedadores intermediarios y/o paraténicos, y peces, reptiles, aves y mamíferos marinos como hospedadores definitivos. Hasta el momento, son escasos los antecedentes de investigación de Anisakidae en Argentina, lo cual alentó llevar a cabo las investigaciones del presente trabajo de tesis, para lo cual se planteó estudiar la taxonomía de los nematodos Anisakidae parásitos de aves marinas en Península Valdés, Chubut, Argentina.

Las investigaciones se centralizaron en Península Valdés, aunque también se analizó material proveniente de Punta León y Bahía Bustamante (Chubut), Mar del Plata (Buenos Aires) y Cabo Vírgenes (Santa Cruz). Durante los años 2005 al 2008, se colectaron y examinaron un total de 161 ejemplares de *Spheniscus magellanicus*, 14 de *Phalacrocorax atriceps albiventer*, 12 de *Phalacrocorax atriceps atriceps*, 8 de *Phalacrocorax brasilianus*, 2 de *Phalacrocorax magellanicus* y 5 de *Thalassarche melanophris*.

En la diagnosis de los nematodos se utilizó la un microscopía óptica y un electrónica de barrido. Se realizaron pruebas genético-moleculares, PCR de secuencias mitocondriales *cox2* y electroforesis de alozimas. Se utilizaron el test de Anova a un factor y *t*-Student para evaluar la morfometría de las especies estudiadas, los tests de Máxima Parsimonia y Neighbour-Joining para analizar la diferenciación genética, los tests de Dice y Chi-cuadrado ( $X^2$ ) para evaluar la asociación parasitaria y los índices de Poulin & Muillot (2003, 2005) para evaluar la especificidad hospedatoria de los nematodos.

Se confeccionó un checklist con un total de 79 especies válidas del género *Contracaecum*. Se identificaron 5 especies del género *Contracaecum* en Península Valdés, y otros sitios costeros del Mar Argentino además de una especie parásita de *P. brasilianus* de Chile y otra de *Pelecanus occidentalis* de Colombia, las cuales permitieron establecer comparaciones con los demás hallazgos del presente estudio. Tres de las especies identificadas resultaron ser nuevas: *Contracaecum chubutensis*, parásita de *Phalacrocorax a. atriceps* de Bahía Bustamante, y *Contracaecum* n. sp.1, parásita de *Phalacrocorax magellanicus* de Punta Loma y *P. brasilianus* de Península Valdés, Bahía Blanca y Chile; y

---

*Contracaecum bioccai*, parásita de *Pelecanus occidentalis* de Colombia. Se redescubrieron 2 especies: *Contracaecum pelagicum*, parásita de *S. magellanicus*, *T. melanophris* y *P. a. albiventer*; y *Contracaecum mirounga*, parásita de *S. magellanicus*, hallazgo raro dado que esta especie parasita a fócidos. *Contracaecum* sp.2, parásita de *S. magellanicus*, representaría un nuevo taxón de Anisakidae, pero no pudo hacerse una diagnosis completa por la falta de material suficiente. *Contracaecum pelagicum* mostró una significativa cercanía genética con *Contracaecum variegatum*, que parasita a otros Spheniscidae australes y Alcidae boreales, y además una relación un poco más distante con *C. bioccai*, parásito de Pelecaniidae neotropicales. *Contracaecum* n. sp.1 mostró estar estrechamente emparentado con las especies de *Contracaecum* que parasitan a Phalacrocoracidae boreales: *Contracaecum rudolphii* A y B, parásitas de *Phalacrocorax carbo sinensis*; *C. rudolphii* C, parásita de *Phalacrocorax verrucosus*, y *C. septentrionale*, parásita de *Phalacrocorax carbo carbo* y *Phalacrocorax aristotelis*.

Se analizó también la correspondencia específica entre las larvas L3 de los ítems presa predilectos (*Engraulis anchoita*) de algunas especies de aves (*Spheniscus magellanicus*) y los adultos que ellas albergan. Se corroboró, mediante una diagnosis morfológica y genético-molecular, que *E. anchoita* es una especie hospedadora intermediaria/paraténica de *C. pelagicum*.

Se propuso inferir el proceso de maduración y distribución de los diferentes estadios en el hospedador definitivo (e.g. *S. magellanicus*) mediante el reclutamiento de larvas desde el primer mes de vida del pichón hasta los cuatro meses, cuando abandonan las costas y comienzan la migración. Se evaluó así el reclutamiento de larvas L3 y la distribución diferencial de larvas L4, preadultos y adultos en el esófago y estómago de *S. magellanicus*.

Los análisis de reclutamiento de larvas de Anisakidae en *S. magellanicus* mostraron que los géneros *Anisakis* sp. e *Hysterothylacium* sp. tienen una mayor intensidad y prevalencia que *C. pelagicum*, sin embargo *S. magellanicus* no es el hospedador definitivo para aquellos estadios larvales. El reclutamiento y distribución de nematodos en el tracto digestivo de pichones de *S. magellanicus* demostraron que los adultos de *C. pelagicum* aparecen recién al tercer mes de vida del ave, incrementando notablemente las intensidades de preadultos y adultos al cuarto mes, final de la etapa de cría de *S. magellanicus*.

Se identificaron las especies de Anisakidae presentes en los pellets y regurgitados de *Phalacrocorax* spp. y se analizó la asociación parasitaria con los ítems presa. Los datos de asociación parasitaria, tanto en pellets como en regurgitados, corroboran la estrecha relación de *C. pelagicum* y *E. anchoita* como hospedador intermediario/paraténico transmisor de

---

larvas L3 al cormorán real, hospedador definitivo. Si bien *Raneya brasiliensis* mostró una asociación positiva, el posible ingreso de larvas L3 de *C. pelagicum* a través de este pez merece ser corroborada.

Se estimó la especificidad hospedatoria de los anisákidos identificados en aves marinas de Península Valdés y en otras aves marinas neotropicales y antárticas.

Los análisis de especificidad hospedatoria indicaron que *C. mirounga* es la especie más generalista ( $S_{TD}= 4,00$ ), siendo específica a nivel de clase. *Contracaecum pelagicum*, en menor grado, resultó ser específica a nivel de orden de aves ( $S_{TD}= 3,83$ ). *Contracaecum chubutensis*, *C. bioccai* y *Contracaecum* sp. n.1 resultaron ser estrictamente específicos ( $S_{TD}= 0$ ), dado que parasitan a una sola especie hospedadora. Entre las restantes especies de distribución neotropical y antártica (24), *Contracaecum travassosi* y *Contracaecum caballeroi* ( $S_{TD}= 3,00$ ) resultaron ser las más generalistas, siendo específicas a nivel de orden de aves. *Contracaecum microcephalum* ( $S_{TD}= 2,91$ ), *Contracaecum multipapillatum* ( $S_{TD}= 2,67$ ) y *Contracaecum rudolphii* ( $S_{TD}= 2,55$ ) resultaron ser un poco más específicas también a nivel de orden. *Contracaecum ogmorhini* ( $S_{TD}= 2,40$ ) mostró ser específico a nivel de familia de pinnípedos de ambos hemisferios. *Contracaecum osculatum* y *Contracaecum radiatum* son aún más específicos ( $S_{TD}= 2,00$ ), parasitando a fócidos del hemisferio norte pertenecientes a tres géneros diferentes. *Contracaecum heardi* parasita a tres géneros diferentes de Spheniscidae antárticos ( $S_{TD}= 1,83$ ). *Contracaecum diomedae* lo hizo en dos géneros diferentes de Diomedidae también antárticos ( $S_{TD}= 1,50$ ). *Contracaecum ovale* resultó ser altamente específico para dos géneros de Podicipedidae ( $S_{TD}= 1,33$ ). Las especies *Contracaecum antarticum*, *Contracaecum crenulatum*, *Contracaecum granulosum*, *Contracaecum macronectidis*, *Contracaecum plagiaticium*, *Contracaecum scotti* y *Contracaecum spheniscus* resultaron ser estrictamente específicas al parasitar una sola especie hospedadora ( $S_{TD}= 0$ ).

De acuerdo al análisis morfométrico, genético-molecular y de revisión bibliográfica, se propuso diferenciar a *Contracaecum* spp. que parasitan aves marinas y mamíferos marinos neotropicales y antárticos en dos grandes grupos. El “morfo pelagicum”, caracterizado por tener un patrón de distribución de 7 papilas postcloacales: 2 pares paracloacales (o 1 par doble), 2 pares subventrales, 2 sublaterales y un par de fásmidos. En el se incluirían *C. pelagicum*, *C. chubutensis*, *C. bioccai*, *C. antarticum*, *C. caballeroi*, *C. crenulatum*, *C. diomedae*, *C. granulosum*, *C. heardi*, *C. macronectidis*, *C. microcephalum*, *C. ogmorhini*, *C. ovale*, *C. plagiaticium*, *C. scotti* y *C. spheniscus*. El subgrupo “morfo travassosi”, incluido dentro del grupo anterior, parasita generalmente a Palacrocoracidae y morfológicamente se

---

separa de otros *Contracaecum* spp. por tener labios sin hendiduras, interlabios con una pequeña o ausente bifurcación, espículas más largas y constricciones cuticulares caudales. En el se incluyen *C. travassosi*, *Contracaecum* n. sp.1 y el complejo *C. rudolphii*. El otro grupo se denomina “morfo multipapilado” y se caracteriza por poseer dos hileras dobles de 12-13 papilas precloacales y 10-11 pares de papilas postcloacales: 1 par doble paracloacal, 5-6 pares adacloacales, 3 pares subventrales, 1 par sublateral y 1 par de fásmidos. En este grupo se incluyen a las especies que parasitan a mamíferos marinos boreales y australes: *C. mirounga*, *C. osculatum*, *C. radiatum* y *C. multipapillatum*. *Contracaecum* sp.2 no se corresponde con ninguno de los morfos sugeridos debido al raro patrón de distribución de las papilas caudales y la forma de los labios e interlabios.

Los resultados muestran la necesidad de profundizar los estudios de especificidad hospedatoria en Anisakidae parásitos de Phalacrocoracidae, por estar bien respresentados a lo largo de la costa patagónica argentina y tener una especie continental (*P. brasilianus*).

Complementar estos estudios con el conocimiento del rol que cumplen los diferentes ítems presa en la transmisión de Anisakidae a las diferentes especies de Phalacrocoracidae, permitirá inferir los ciclos de vida y ampliar aún más el conocimeinto de los Anisakidae en la Argentina.

---

# Abstract

---

Anisakidae nematodes have a world wide distribution and their life cycles take place mainly in marine hosts: fish, cephalopods, reptiles, piscivorous birds and mammals. The life cycle usually involves aquatic invertebrates as intermediary hosts, fish as intermediary and/or paratenic hosts, and reptiles, birds and marine mammals as definitive hosts. At the moment, research reports on Anisakidae in Argentina are scarce which encouraged the research of the present thesis study to be carried out. The taxonomy of Anisakidae nematodes parasitizing marine birds from Península Valdés, Chubut, Argentina, was outlined to be studied.

The research was focused on the Península Valdés even though avian material from Punta León y Bahía Bustamante, Chubut province, Mar del Plata, Buenos Aires province, and Cabo Vírgenes, Santa Cruz province was analyzed during years 2005 to 2008. A total of 161 individuals of *Spheniscus magellanicus*, 14 of *Phalacrocorax a. albiventer*, 12 of *Phalacrocorax a. atriceps*, 8 of *Phalacrocorax brasilianus*, 2 of *Phalacrocorax magellanicus*, and 5 of *Thalassarche melanophris* were collected and examined.

Light and scanning electron microscopies were used in the nematode diagnosis. Molecular genetics from PCR of mitochondrial DNA sequences *cox2* and electrophoresis of alozimes were done. One-factor Anova and *t*-Student tests were used to evaluate the studied species morphometry, Maximum Parsimony and Neighbor-Joining tests to analyze the genetic differentiation, Dice and Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) tests to evaluate the parasite association, and the Poulin & Muillot indexes (2003, 2005) to evaluate the nematode host specificity.

A checklist with a total of 79 valid species from the genus *Contracaecum* was made up. Five species of the genus *Contracaecum* from Península Valdés and other coastal sites from the Argentinean Sea were identified. One species of *Contracaecum* was identified parasitizing *P. brasilianus* from Chile and another one from *Pelecanus occidentalis* from Colombia which allowed stablishing comparations with the other present study findings. Three indentified species turned out to be new: *Contracaecum chubutensis* parasitizing *Phalacrocorax a. atriceps* from Bahía Bustamante, Chubut, and *Contracaecum* n. sp.1 parasitizing *Phalacrocorax magellanicus* from Punta Loma, Chubut, and *P. brasilianus* from Península Valdés, Bahía Blanca, Buenos Aires, and Chile; and *Contracaecum bioccai* parasitizing *Pelecanus occidentalis* from Colombia. Two species were redescribed: *Contracaecum pelagicum* parasitizing *S. magellanicus*, *T. melanophris*, and *P. a. albiventer*;

---

and *Contracaecum mirounga* parasitizing *S. magellanicus*, rare finding since this species parasitize phocids. *Contracaecum* sp.2 parasitizing *S. magellanicus* would represent a new Anisakidae taxon but no complete diagnosis could be done the lack of enough material. *Contracaecum pelagicum* showed a significative proximity with *Contracaecum variegatum* parasitizing other austral Spheniscidae and boreal Alcidae, and also a little more distant relationship with *C. bioccai*, parasite of neotropical Pelecaniidae. *Contracaecum* n. sp.1 showed to be estar closely related with the *Contracaecum* species which parasitize boreal Phalacrocoracidae: *Contracaecum rudolphii* A and B parasitizing *Phalacrocorax carbo sinensis*; *C. rudolphii* C parasitizing *Phalacrocorax verrucosus*, and *C. septentrionale* parasitizing *Phalacrocorax carbo carbo* and *Phalacrocorax aristotelis*.

The specific correspondence between L3 larvae from main prey items (*Engraulis anchoíta*) from some marine birds (*Spheniscus magellanicus*) and adults that they host was analyzed. Through a morphological and molecular genetic diagnosis, the fact that *E. anchoíta* is an intermediate/paratenic from *C. pelagicum* was corroborated.

The maturation process and distribution of different *Contracaecum* stages in the definitive host (*S. magellanicus*) was proposed through the larvae recruitment from the one-month old nestling to the four-month old one, when they leave coast and begin migration. Larvae L3 recruitment and differential distribution of larvae L4, pre-adults and adults in penguin esophagus and stomach were evaluated.

Analysis of Anisakidae larvae recruitment from *S. magellanicus* showed that genera *Anisakis* sp. and *Hysterothylacium* sp. have a higger intensity and prevalence than that of *C. pelagicum*. However, *S. magellanicus* is not the definitive host to these two last larvae genera. Recruitment and distribution of nematodes in the digestive tract of *S. magellanicus* nestlings showed that *C. pelagicum* adults appear just in the third month age of nestlings increasing notably intensities of pre-adults and adults on the fourth month age, the breeding season ending of *S. magellanicus*.

The Anisakidae species in pellets and regurgitates from *Phalacrocorax* spp. were identified and the parasite association of cormorant prey items was analyzed. Parasite association data as much in pellets as regurgitates corroborate the close relationship of *C. pelagicum* and *E. anchoíta* as intermediate/paratenic host transmitter of larvae L3 to the royal cormorant, definitive host. Although *Raneya brasiliensis* showed a positive association, the possible *C. pelagicum* larvae L3 access through this fish species deserves to be corroborated.

Host specificity of the identified anisakids parasitizing marine birds from Península Valdés and other neotropical and antartic ones was estimated.

---

Host specificity analysis indicated that *C. mirounga* is the most generalist species ( $S_{TD}=4,00$ ), being specific at the class level. *Contracaecum pelagicum* turned out to be specific at a bird order level ( $S_{TD}=3,83$ ). *Contracaecum chubutensis*, *C. bioccai* and *Contracaecum* sp. n. 1 showed to be strictly specific ( $S_{TD}=0$ ) since they parasitize only one species. Among remaining neotropical and antartic species (24), *Contracaecum travassosi* and *Contracaecum caballeroi* ( $S_{TD}=3,00$ ) turned out to be the most generalists being specific at a bird order level. *Contracaecum microcephalum* ( $S_{TD}=2,91$ ), *Contracaecum multipapillatum* ( $S_{TD}=2,67$ ), and *Contracaecum rudolphii* ( $S_{TD}=2,55$ ) were more specific also at a bird order level. *Contracaecum ogmorhini* ( $S_{TD}=2,40$ ) was specific at a pinniped family level from both hemispheres. *Contracaecum osculatum* and *Contracaecum radiatum* were even more specific ( $S_{TD}=2,00$ ) parasitizing phocids from the boreal hemisphere belonging to three different genera. *Contracaecum heardi* parasitizes three different genera of antartic Spheniscidae ( $S_{TD}=1,83$ ). *Contracaecum diomedae* parasitizes two different genera of antartic Diomedidae too ( $S_{TD}=1,50$ ). *Contracaecum ovale* turned out to be highly specific to two genera of Podicipedidae ( $S_{TD}=1,33$ ). The species *Contracaecum antarticum*, *Contracaecum crenulatum*, *Contracaecum granulosum*, *Contracaecum macronectidis*, *Contracaecum plagiaticium*, *Contracaecum scotti* y *Contracaecum spheniscus* were strictly specific for parasitizing only one host species ( $S_{TD}=0$ ).

According to the morphological analysis, molecular genetic and bibliography revision, *Contracaecum* spp. parasitizing marine birds were proposed to be differentiated in two big groups. The “morpho pelagicum” is characterized a papillae distribution pattern as 7 postcloacal papillae pairs: 2 paracloacal pairs (or a double one), 2 subventral pairs, 2 sublateral pairs and a phasmid pair. This grupo would include *C. pelagicum*, *C. chubutensis*, *C. bioccai*, and the neotropical and antartic species *C. antarticum*, *C. caballeroi*, *C. crenulatum*, *C. diomedae*, *C. granulosum*, *C. heardi*, *C. macronectidis*, *C. microcephalum*, *C. ogmorhini*, *C. ovale*, *C. plagiaticium*, *C. scotti*, and *C. spheniscus*. The subgroup “morpho travassosi” is within the latter group and parasitizes usually Palacrocoracidae. Morphologically is separate from the other *Contracaecum* spp. for having lips without notches, interlabia with a tiny or absent bifurcation, longer spicules and caudal cuticular constrictions. Within it *C. travassosi*, *Contracaecum* n. sp.1 and the complex *C. rudolphii* A, B y C are included. The “morpho multipapilado” is characterized for having two double rows of 12-13 precloacal papillae and 10-11 postcloacal papillae pairs: 1 double paracloacal pair, 5-6 adacloacal pairs, 3 subventral pairs, 1 sublateral pair and 1 phasmid pair. Within this grup the species that parasitize boreal and austral marine mammals are included: *C. mirounga*, *C. osculatum*, *C. radiatum*, and *C.*

---

*multipapillatum*. *Contracaecum* sp.2 does not match with none of the suggested morphos due to the rare distribution pattern of caudal papillae and the interlabia and lip shape.

Results showed the need make further studies on Anisakidae host specificity parasitizing Phalacrocoracidae since is a well-represented grup with several species distributed along the Argentinean Patagonian cost with a continental representative (*P. brasilianus*). In the same way, what is the role that different prey items of Phalacrocoracidae attain in the Anisakidae transmittion to birds should be evaluated taking into account that those one are potential prey items and nematode transmitters to marine mammals from the zone. With the gathered information, infering on life cycles of identified Anisakidae species parasitizing marine birds could be done.

# **Introducción General**

---

El parasitismo es una interacción íntima y permanente entre dos organismos heteroespecíficos, el hospedador y el parásito, cuyas historias de vida están sincronizadas, de tal modo que el parásito depende metabólicamente del hospedador (Marcogliese & Price, 1997; Graczyk & Fried, 2001). Sin embargo, un parásito, bajo ciertas condiciones, puede actuar como un comensal, un mutualista o un predador, y en la mayoría de los casos se conoce muy poco acerca del parásito para establecer qué tipo de relación tiene con el hospedador (Rohde, 2005). De esta forma se trata de comprender la idea de complementación genética e interdependencia metabólica que demuestran los atributos esenciales de las asociaciones parasitarias (Esch & Fernández, 1993).

Así, los parásitos son componentes casi invisibles de las comunidades animales y generalmente ejercen una variada influencia sobre sus hospedadores. En este sentido los parásitos son capaces de promover que los hospedadores se vuelvan genéticamente más diversos, causando la evolución de los mismos en respuesta a nuevas adaptaciones parasitarias. Si un hospedador no evoluciona metabólicamente, muere y el parásito perece junto con él, impidiendo de esta forma el establecimiento del parasitismo (Combes, 2001).

En relación con este aspecto, debe considerarse también que los diferentes estadios larvales y adultos de los parásitos generan demandas energéticas que pueden afectar el estado nutricional y ocasionar deficiencias en el crecimiento de sus hospedadores, aumentando la mortalidad o disminuyendo la natalidad (Marcogliese & Price, 1997).

A pesar de estas consideraciones, los parásitos generalmente atraen la atención sólo cuando causan patologías, enfermedades o daños económicos, por el contrario, los parásitos resultan ignorados en los estudios de manejo y conservación de los ecosistemas (Marcogliese, 2004).

En este contexto, la enorme variedad de ambientes y las condiciones del medio marino particularmente, hacen que cada organismo marino sea un hospedador potencial para un parásito, dependiendo del sitio, la estación, la ecología local y la especie parásita en cuestión. Así cualquier hospedador es candidato y podría estar o no parasitado (Rohde, 2005). Pero el

modo de transmisión y habilidad de dispersión de los parásitos determinan el grado de especificidad parasitaria (Pedersen et al., 2005). La especificidad hospedatoria es uno de los principales atributos de los parásitos y se relaciona con el número de especies hospedadoras explotadas por una especie parásita, denominándose “específicos” a aquellos presentes en una sola especie hospedadora y “generalistas” a los parásitos hallados en diferentes especies hospedadoras (Poulin et al., 2006).

Entre los endoparásitos, el phylum Nematoda es biológica y ecológicamente diverso y es uno de los mayores y más exitosos grupos dentro del reino animal. Los nematodos son componentes ubicuos en las comunidades de la mayoría de los ambientes marinos y terrestres (Anderson, 2000). Pueden colonizar casi todos los ambientes del planeta, desde el fondo de los océanos, los desiertos helados de la Antártida, hasta los suelos y pantanos terrestres, con una abundancia numérica increíble (Kennedy & Harnett, 2001).

En el medio marino, los nematodos tienen una amplia distribución y la gran mayoría de las especies pertenece a formas de vida libre, sólo una minoría está conformada por los endoparásitos. Los Anisakidae son nematodos ascaridoideos cuyos ciclos de vida se cumplen en invertebrados y peces, como hospedadores intermediarios y/o paraténicos, y generalmente en peces, aves y mamíferos marinos, como hospedadores definitivos (Anderson, 2000; Rohde, 2005). La heteroxenia (uso de hospedadores intermediarios) caracteriza a los ciclos de vida y la paratenesis (uso de hospedadores de transporte) es muy común (Rohde, 2005).

Anderson (1996), consideró que los nematodos parásitos marinos evolucionaron primitivamente en hospedadores terrestres y posteriormente fueron capaces de invadir los ambientes acuáticos, luego de haber desarrollado los mecanismos de heteroxenia y paratenesis.

Varios estudios taxonómicos sobre Anisakidae han sido realizados hasta el presente, sobre todo en aquellos parásitos de peces, aves y mamíferos marinos boreales (Hartwich, 1964, Berland, 1989; Fagerholm, 1988; 1990, entre otros). Sin embargo la taxonomía de este grupo sigue siendo confusa en la actualidad, debido a la gran similitud que presentan los caracteres morfológicos diagnósticos entre las distintas especies, más aún si se consideran los estadios larvales, resultando casi imposible establecer la correspondencia específica entre larvas y adultos de una misma especie. No obstante, la aplicación de técnicas genético-moleculares aporta una solución a esta problemática (Orecchia et al., 1986; Mattiucci et al., 2003; Mattiucci & Nascetti, 2008).

En este contexto, los primeros estudios parasitológicos del Mar Argentino comenzaron en la década del '50 con los trabajos de Szidat (1950, 1962, 1963, entre otros) y entre los años

'70 y '80, Ostrowski de Núñez (1971, 1973), Suriano & Martorelli (1983 a, b), contribuyeron al conocimiento de la parasitofauna de ambientes marinos. Posteriormente, nuevas investigaciones permitieron ampliar el conocimiento sistemático-biológico de helmintos, con mayor preponderancia en peces e invertebrados de diferentes áreas del Mar Argentino (Ivanov et al., 1997; Sardella et al., 1997; Cremonte & Sardella, 1997; Tanzola et al., 1997; 1998; Martorelli & Cremonte, 1998; Navone et al., 1998; Cremonte, 1999; Cremonte & Navone, 1999; Cremonte et al., 1999; Martorelli et al., 2000; Timi et al., 2001; Timi, 2003; Tanzola & Sardella, 2006; Carballo & Navone, 2007; Carballo, 2008).

Si bien las aves marinas han recibido mucha atención con respecto a su ecología, comportamiento y sistemática, los estudios referidos a su parasitofauna han sido de poco interés para los investigadores (Hoberg, 1996). En Argentina, los primeros trabajos sistematizados de la fauna parasitaria de aves marinas y dulceacuícolas se conocen a través de Szidat (1964), Ostrowski de Núñez (1970), Martorelli (1981), Etchegoin & Martorelli (1997), Cremonte & Martorelli (1998), Digiani (1999) y Labriola (1999). Específicamente, en el área de Península Valdés, los trabajos parasitológicos se iniciaron a partir de 1999 en aves, peces y moluscos (Cremonte, 2001; Cremonte et al., 2001a, b; Cremonte & Etchegoin, 2002; Cremonte, 2004; Carballo et al., 2007). Paralelamente, algunos de estos trabajos se centralizaron en el conocimiento sistemático-biológico de los nemátodos de aves marinas (Laurenti et al., 1997; Diaz et al., 2001; Cremonte et al., 2002; Diaz et al., 2004; 2005, 2007; Diaz, 2006, Escudero et al., 2007), y unos pocos precisamente en nemátodos Anisakidae (Navone et al., 2000; Pazos et al., 2000; 2003).

Teniendo en cuenta los escasos aportes sobre la diversidad y biología de anisákidos en aves marinas del Mar Argentino, este trabajo de tesis indaga sobre las siguientes cuestiones:

- \* ¿Diferentes especies de aves marinas piscívoras están parasitadas por las mismas especies de anisákidos?
- \* ¿*Contracaecum pelagicum* parasita únicamente a *S. magellanicus* o lo hace también en otras aves ictiófagas de la zona (e.g., *Phalacrocorax* spp., *Talassarche* sp.)?
- \* ¿Qué especificidad hospedatoria poseen estas especies de Anisakidae?
- \* ¿Distintas especies de anisákidos coexisten en una misma especie hospedadora?
- \* ¿Las larvas de tercer estadio (e.g., *Contracaecum* spp.) encontradas en los peces ítems presa corresponden a las larvas de cuarto estadio y adultos encontradas en las aves?
- \* Si diferentes especies de aves son parasitadas por una misma especie parásita: ¿cuál o cuáles representan al hospedador primario o preferencial?

\*¿El conocimiento de las redes tróficas que involucran a los sistemas hospedador-presa estudiados y la identificación de cada estadio observado, permite sugerir el ciclo de vida de los anisákidos identificados?

\*¿El análisis de los bolos regurgitados y pellets de *Phalacrocorax* spp. permite identificar las especies de anisákidos que están presentes en la dieta de éstas aves? ¿Qué asociación parasitaria existe entre los anisákidos y los ítems presa encontrados?

\* ¿Es posible identificar las especies de Anisakidae que parasitan a los Phalacrocoracidae a través de los pellets?

\*¿El hábito de la regurgitación regula las poblaciones de esos parásitos?

### **Objetivos**

Para responder a estos interrogantes se plantearon los siguientes objetivos:

#### General:

- Conocer la diversidad de los Anisakidae adultos y evaluar su especificidad hospedatoria en aves marinas piscívoras que habitan el área de la Península de Valdés.

#### Específicos:

- Caracterizar cuali y cuantitativamente los nematodos adultos Anisakidae presentes en *S. magellanicus*, *Phalacrocorax* spp. y *T. melanophris*, que frecuentan las costas de la Península Valdés.

- Clarificar la composición taxonómica de los anisákidos adultos y estimar su diversidad describiendo o redescubriéndolos, mediante el uso de diferentes técnicas (MEB; electroforesis de isoenzimas, genética molecular cualitativa).

- Estimar siempre que fuese posible la prevalencia y abundancia de cada especie de Anisakidae en las diferentes especies hospedadoras, con el fin de dilucidar el carácter de hospedador primario o preferencial.

- Sobre la base del conocimiento de los ítems presa, coleccionar e identificar los individuos de los diferentes estadios juveniles y proponer el diseño de los ciclos de vida cuando fuera posible.

- Establecer la correspondencia específica de las larvas de tercer estadio (L3) encontradas en los peces ítems presa con las de cuarto estadio (L4) y adultos encontrados en las aves.

- Identificar las especies de Anisakidae presentes en los pellets de aves con hábitos regurgitadores (e. g. *Phalacrocorax* spp.), y analizar la asociación parasitaria de los ítems presa, larvas y de adultos de Anisakidae.

- Estimar la especificidad hospedatoria de los anisákidos que parasitan a estas aves y a los items presa de las mismas.

## Capítulo 1

# Taxonomía de Anisakidae

---

### Introducción

#### *Áreas de muestreo*

Las investigaciones de la presente Tesis se centralizaron en Península Valdés, aunque estudios complementarios fueron llevados a cabo en Punta León y Bahía Bustamante, ambos sitios pertenecientes a la provincia del Chubut; Mar del Plata, en la provincia de Buenos Aires y Cabo Vírgenes, en la provincia de Santa Cruz (Fig. 1). Todos los muestreos fueron realizados en colonias nidificantes de las aves objeto de estudio, de acuerdo a con la disponibilidad del material.

La **Península Valdés** se caracteriza por ser una amplia meseta con una extensión de aproximadamente 4.000 km<sup>2</sup> con suaves o bruscas vertientes hacia el mar. Se extiende desde los 42°04'13" a los 42°53'32" de latitud sur y desde los 63°35'51" a los 64°36'37" de longitud oeste. La mayor parte de los muestreos se realizaron en la estancia San Lorenzo, ubicada en el nordeste de Península Valdés, entre los 42° 04' y 42° 10' de latitud sur y los 63° 50' y 63° 56' de longitud oeste limitando al norte con el Golfo San Matías y al este, sur y oeste con campos de propiedad privada. La misma tiene una superficie de 5.134 ha. con unos 4,6 km de costa (totalmente sobre el Golfo San Matías) formada por playas de canto rodado con y sin acantilados y en menor proporción playas de sedimentos con restingas. Fisiográficamente el área está ubicada en una zona intermedia entre los denominados cordones litorales marinos y los acantilados de ambiente marino. En el centro del campo, se encuentran algunos médanos móviles frente a los acantilados (Fig. 2). La avifauna costera está constituida principalmente por una colonia de nidificación de pingüino de Magallanes, *Spheniscus magellanicus* Forster (Spheniscidae); además existe un núcleo de nidificación de la gaviota cocinera *Larus dominicanus* Lichtenstein (Laridae) y algunos nidos de garza bruja *Nycticorax nycticorax* Linnaeus (Ardeidae) (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

La Reserva Provincial de **Punta León** (43°04'44" S, 64°29'45" O), se sitúa a 80 km de la ciudad de Puerto Madryn, Chubut, y a 25 km al sur de la boca del Golfo Nuevo. Se extiende a lo largo de tres kilómetros de costa, al pie de acantilados de 70 m de altura. La costa posee playas de canto rodado y extensas restingas. En un sector de costa el mar está separado de los acantilados por una plataforma arcillosa cubierta por vegetación arbustiva (Fig. 2). Presenta una gran diversidad y abundancia de aves marinas, con importantes colonias de gaviota cocinera -*L. dominicanus*-, gaviotín real -*Thalasseus maximus* Boddaert-, gaviotín pico amarillo -*Thalasseus sandvicensis* Latham- (Laridae), cormorán real -*Phalacrocorax [atriceps] albiventer* Lesson- y biguá -*Phalacrocorax brasilianus* Gmelin- (Phalacrocoracidae). También nidifican el cormorán cuello negro -*Phalacrocorax magellanicus* Gmelin-, cormorán guanay -*Phalacrocorax bougainvillii* Lesson- (Phalacrocoracidae), ostrero negro -*Haematopus ater* Vieillot & Oudart- y ostrero común -*Haematopus palliatus* Temminck- (Haematopodidae). Se observa la presencia regular del gaviotín sudamericano -*Sterna hirundinacea* Lesson-, gaviota austral -*Larus scoresbii* Traill- (Laridae), petrel gigante del sur -*Macronectes giganteus* Gmelin- (Procellariidae) y paloma antártica -*Chionis alba* Gmelin- (Chionididae) (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

La **Bahía Bustamante** incluye sectores de playa, acantilados, plataformas de abrasión y marismas. Predomina la grava arenosa con restos de conchas de moluscos en diferente grado de conservación y las playas arenosas están restringidas a pequeñas bahías o caletas. Son áreas de poca profundidad y zonas con amplias restingas (Fig. 2). Es un área de nidificación de aves marinas y costeras, incluyendo aves playeras neárticas y patagónicas como el pingüino de Magallanes, el cormorán imperial -*Phalacrocorax [atriceps] atriceps* King- (Phalacrocoracidae), el cormorán roquero, el cormorán de cuello negro, el petrel gigante del sur, gaviotas, gaviotines, el playero rojizo -*Calidris canutus* Linnaeus, el playerito de rabadilla blanca -*Calidris fuscicollis* Vieillot-, la becasina de mar -*Limosa haemastica* Linnaeus- (Scolopacidae), pato vapor cabeza blanca -*Tachyeres leucocephalus* Humphrey & Thompson- (Anatidae) y la gaviota de Orlog -*Larus atlanticus* Orlog- (Laridae) (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

La costa de **Mar del Plata** posee acantilados labrados en loess y limos pampeanos, de altura cada vez mayor, mientras que las playas se reducen en tamaño. Al sur de Santa Clara del Mar dominan los acantilados, de hasta unos 20 m de altura, con pequeñas playas de bolsillo (Fig. 2). Abundan las aves marinas costeras y muchas de las típicas para las lagunas pampeanas como el cisne de cuello negro -*Cygnus melancoryphus* Molina-

(Anatidae), el cisne coscoroba -*Coscoroba coscoroba* Molina- (Anatidae) el pato maicero -*Anas georgica* Gmelin-, el pato colorado (*Anas cyanoptera* Vieillot) (Anatidae), el chorlo doble collar -*Charadrius falklandicus* Latham- (Charadriidae), la gaviota cocinera, la gaviota de capucho gris -*Larus cirrocephalus* Vieillot-, gaviota capucho café -*Larus maculipennis* Lichtenstein- (Laridae) y la gaviota de Olrog, entre otras (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

El **Cabo Vírgenes** (52°16' a 52°55' S, 68°02' a 69°22' O) presenta acantilados activos e inactivos con cordones que se adosan al pie. Es una lengua baja de arena y cascajo que se extiende al sudoeste del cabo; las costas este y oeste son playas. Al norte y al sur las costas son acantiladas, en todo ese sector se observan playas de grava y arenosas con alta pendiente (Fig. 2). Incluye una de las mayores colonias de la Patagonia del pingüino de Magallanes, con aproximadamente 90.000 parejas. También incluye colonias reproductivas de la gaviota cocinera, el cormorán de cuello negro, el cormorán imperial, el biguá y la bandurria austral -*Theristicus melanopis* Gmelin- (Threskiornithidae). Otras aves presentes en el área son el macá grande. *Podiceps major* Boddaert- (Podicipedidae), la garza bruja, el flamenco común -*Phoenicopterus ruber* Linnaeus- (Phoenicopteridae), el cauquén común -*Chloephaga picta* Gmelin- (Anatidae), el chorlito doble collar, la paloma antártica y el eskúa antártico -*Catharacta antarctica* Lesson- (Stercorariidae) (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

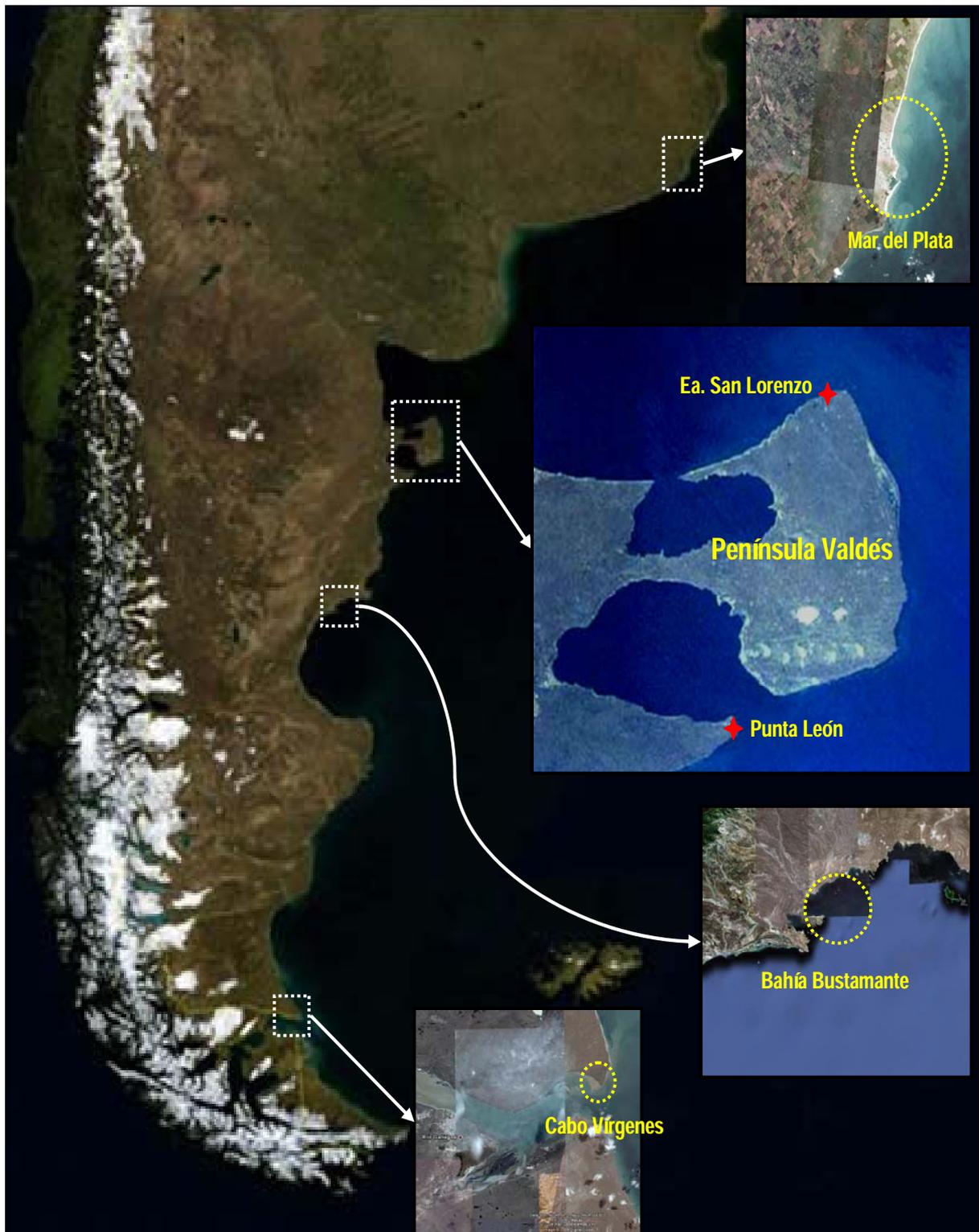
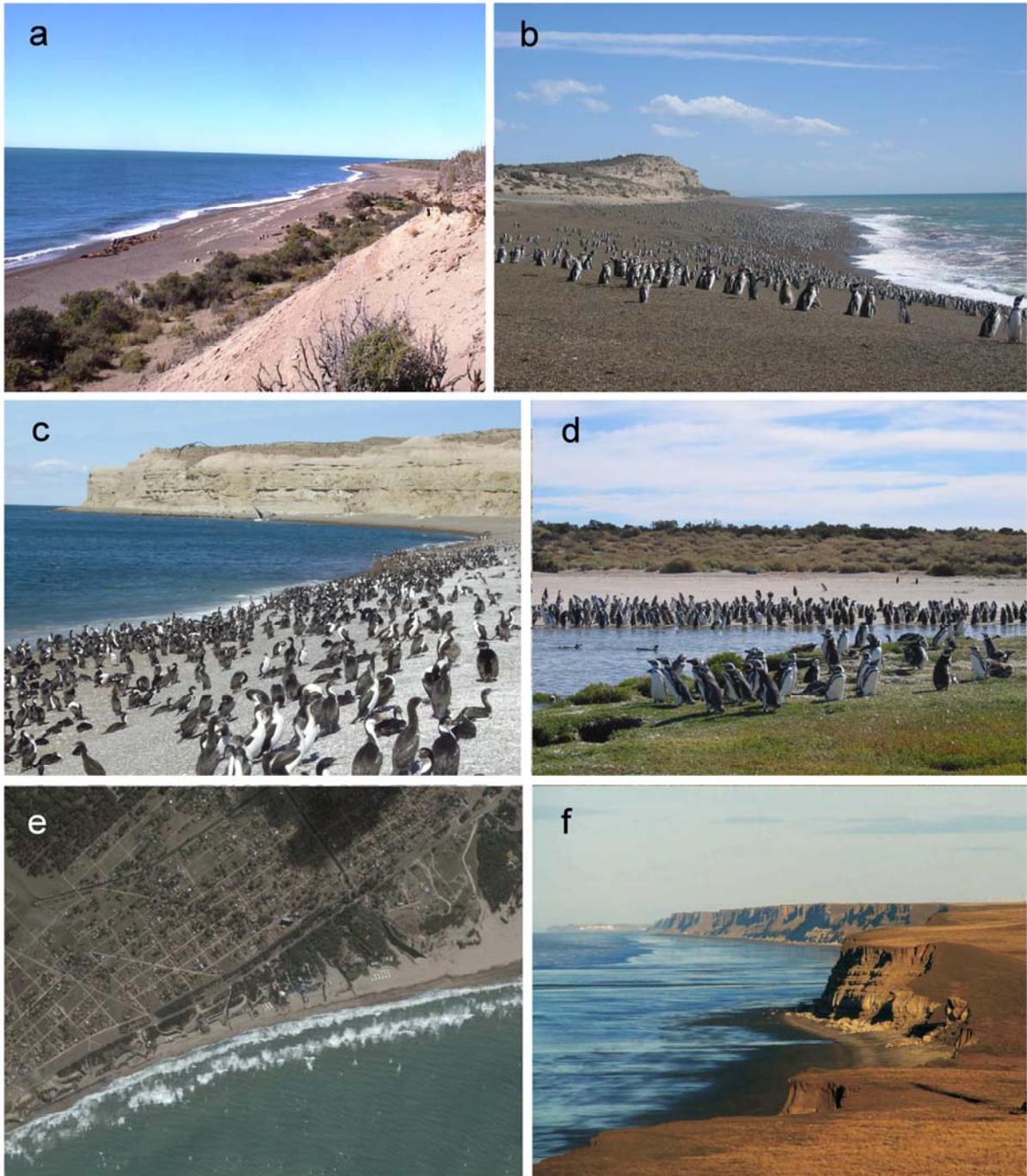


Figura 1. Fotografía satelital de la parte sur de Argentina con fotografías de los sitios de muestreo.



**Figura 2.** Fotografías de los sitios de muestreo mostrando el aspecto del relieve costero. a) Estancia San Lorenzo, Península Valdés; b) Pingüinera de la Estancia San Lorenzo; c) Punta León; d) Pingüinera de la Bahía Bustamante; e) Mar del Plata, foto aérea; f) Cabo Virgenes.

### ***Los hospedadores***

En la zona de Península Valdés y los golfos nordpatagónicos se han registrado un total de 73 especies de aves, de las cuales sólo 29 nidifican y se reproducen en el área, 10 de ellas no lo hacen aunque utilizan distintos ambientes de la península y 34 son de presencia accidental u ocasional. Entre las aves más frecuentes se pueden mencionar distintas especies de gaviotas *Larus* spp., cormoranes *Phalacrocorax* spp., albatros *Thalassarche* spp., petreles *Macronectes* spp., macáes *Podiceps* spp., ostreros *Haematopus* spp., flamencos *Phoenicopterus* spp., y aves migratorias, Spheniscidae, Charadriidae y Scolopacidae (Boltovskoy, <http://atlas.ambiente.gov.ar/>).

En la presente investigación se trabajó sobre el pingüino de Magallanes -*Spheniscus magellanicus* Forster- (Spheniscidae) (Fig. 3a), que se distribuye en varias colonias a lo largo de la costa de Península Valdés, siendo la colonia de la estancia San Lorenzo la más numerosa ( $\approx$  55.000 parejas) (Wilson et al., 1995; Sclaro et al., 1999). El pingüino de Magallanes nidifica desde el Cabo de Hornos hasta Península Valdés en el Océano Atlántico, desde Tierra del Fuego hasta el paralelo 29°S en Chile sobre el Pacífico y alrededor de las Islas Malvinas. Durante el período no reproductivo las aves realizan una migración hacia el norte llegando al sur de Brasil por el este y alcanzando la costa de Perú por el oeste (Frere et al., 1996; Yorio et al., 1998).

El cormorán real o de vientre blanco -*Phalacrocorax [atriceps] albiventer* (Lesson)- (Phalacrocoracidae) (Figs. 3c, d), se distribuye desde los 45°S hasta el Canal de Beagle, Tierra del Fuego, sobre la costa argentina; la distribución del lado chileno alcanza menores latitudes (Frere et al., 2005). También se localizan colonias en las Islas Malvinas, islas antárticas, algunas islas sudafricanas y Nueva Zelanda (Rasmussen, 1994; del Hoyo et al., 1996). En Península Valdés esta especie se distribuye en colonias nidificantes puntuales. Para esta investigación se escogió la colonia de Punta León, ubicada en el extremo sur del golfo Nuevo, constituida por unas 35.000 parejas (Svigelj & Quintana, 2007). En las colonias sureñas es común observar al cormorán real nidificando junto con el otro morfo de la especie, el cormorán imperial -*Phalacrocorax [atriceps] atriceps* King- (Phalacrocoracidae), de hábito trófico similar. La taxonomía de *Phalacrocorax atriceps* aún es motivo de discusión y podrían producirse cambios en su nomenclatura (Rasmussen, 1994).

El biguá o cormorán oliváceo -*Phalacrocorax brasilianus* Gmelin- (Phalacrocoracidae) (Fig. 3b), es uno de los cormoranes mayoritariamente distribuidos en casi todo el continente americano, desde el sur de los EEUU hasta el cabo de Hornos. Es notablemente

versátil en el uso de hábitats (Telfair & Morrison, 1995), habitando costas marítimas, lagos, lagunas y ríos de agua dulce. Es un residente permanente bien representado en Península Valdés y algunas poblaciones migran al norte durante el invierno (Quintana et al., 2002, 2004).

El cormorán roquero o de cuello negro -*Phalacrocorax magellanicus* Gmelin- (Phalacrocoracidae) (Fig. 3f), se distribuye desde el noroeste de Península Valdés, Chubut, hasta el Canal de Beagle, Tierra del Fuego, incluyendo Islas Malvinas e Isla de los Estados (Frere et al., 2005). Su población se distribuye en 143 colonias de tamaño pequeño y presenta una población reproductiva total de aproximadamente 7.000 parejas. La colonia de Punta Loma (Chubut), es una de las más numerosas a lo largo de todo el rango de distribución de esta especie (Sapoznikow, 2006).

El albatros ojeroso o de ceja negra -*Thalassarche* (=Diomedea) *melanophris* Temminck- (Diomedidae) (Fig. 3e) es una de las especies más comunes en aguas del Océano Atlántico Sur y norte de la Antártida. Por lo general se distribuye entre latitudes sur de 30° y 60°, aunque algunos se han registrado en las costas de Europa y Kenya. Es especialmente abundante en la costa patagónica argentina, tanto en invierno como en verano, donde forma bandadas de hasta varios miles de individuos que se concentran para alimentarse. Se reproduce de agosto a mayo en Islas del Cabo de Hornos, Islas de los Estados, Georgias del Sur y Malvinas. No posee colonias nidificantes en Península Valdés, su presencia en las costas se debe a la abundancia de sus presas en este sitio (Montalti & Orgeira, 1998).



**Figura 3.** Los hospedadores. a) *Spheniscus magellanicus*, b) *Phalacrocorax brasilianus*, c) *Phalacrocorax a. atriceps*, d) *Phalacrocorax a. albiventer*, e) *Thalassarche melanophris*, f) *Phalacrocorax magellanicus*.

**Los parásitos: Nematoda, Ascaridida, Anisakidae**

Los nematodos de la familia Anisakidae tienen una amplia distribución mundial y sus ciclos de vida transcurren principalmente en hospedadores marinos (peces, cefalópodos, tortugas, aves piscívoras y mamíferos). El ciclo de vida generalmente involucra invertebrados acuáticos como hospedadores intermediarios, peces como hospedadores intermediarios y/o paraténicos, y aves y mamíferos como hospedadores definitivos (Fagerholm, 1990; Anderson, 2000; Rhode, 2005). Los nematodos adultos maduran en el tubo digestivo de los hospedadores vertebrados acuáticos y eliminan los huevos junto con las heces del hospedador. En el agua, los huevos embrionan a larvas de primer estadio (L1), éstas se desarrollan y luego realizan la primera muda, convirtiéndose en larvas de segundo estadio (L2). Las larvas L2 retienen la cutícula del primer estadio, eclosionan dentro del agua y son ingeridas por invertebrados, generalmente copépodos, hospedadores intermediarios. En el hemocele, las larvas crecen levemente o considerablemente, dependiendo de la especie y mudan a larvas de tercer estadio (L3), según algunos autores. (Anderson, 2000, Rohde, 2005). Los peces ingieren estos invertebrados, la larva L3 migra en el interior del nuevo hospedador paraténico y/o intermediario, y se encapsula en el mesenterio. Posteriormente, los peces son ingeridos por los vertebrados homeotermos, las L3 se desenquistan instalándose en la mucosa esofágica y gástrica del hospedador y mudan, convirtiéndose en larvas del cuarto estadio (L4), las cuales al volver a mudar se convierten en adultos, continuando el ciclo de vida (Anderson, 2000; Rohde, 2005).

Con respecto a las patologías causadas por los Anisakidae en sus hospedadores definitivos, existen escasos estudios detallando estas afecciones por lo que se conoce muy poco. Fagerholm et al. (1996) observaron una respuesta inflamatoria de la mucosa del proventrículo de *Anus minutus* (Laridae) con altas cargas parasitarias de *Contraecum magnipapillatum* Chapin, 1925, formando lesiones nodulares fibrosas y ulceradas. Sin embargo, los autores sostienen que los nematodos no estarían alimentándose del tejido del hospedador y que este cuadro patológico no tendría el potencial para causar la muerte en el ave, salvo que se produjese alguna infección bacteriana secundaria que culmine en una peritonitis letal.

Por otra parte, es conocida la patología causada en el ser humano al consumir pescado crudo o mal cocido, la cual se denomina Anisakidosis. Ello ocurre cuando se ingieren larvas de tercer estadio de los géneros *Anisakis* y *Pseudoterranova* comúnmente, que se encapsulan en las paredes estomacales causando graves trastornos gástricos como náuseas, vómitos y alergias graves (Buendía, 1997; Beldsoe & Oria, 2001).

### ***Taxonomía***

La taxonomía de los anisákidos es todavía confusa, principalmente la de los estadios larvales y/o juveniles (Berland & Fagerholm, 1994) y es poco conocida aún la diversidad que muestra la familia.

La clasificación actual se basa principalmente en los rasgos morfológicos observados al microscopio óptico, tales como las estructuras cefálicas, bucales y faríngeas, detalles cuticulares, sistema reproductor masculino (espículas) y extremo posterior (papilas pre y postcloacales). Estos caracteres en algunos casos no resultan suficientes, por lo cual los estudios genético-moleculares contribuyen a su clasificación (D'Amelio et al., 2000; Mattiucci et al., 2003). En este sentido, los taxónomos han debido enfrentar los limitados caracteres morfológicos que ofrecen los anisákidos y frecuentemente resolver el problema de especies crípticas o gemelas (del inglés: *sibling*), cuando refieren a especies morfológicamente idénticas, pero genéticamente disímiles (Orecchia et al., 1986; Nascetti et al., 1993; D'Amelio et al., 2000; Mattiucci et al., 2003; Tanzola, 2004). Además resulta imposible establecer la correspondencia específica entre larvas y adultos si sólo se realizan estudios morfométricos. Por ello, el uso de técnicas moleculares, como la electroforesis multilocular de marcadores aloenzimáticos y la PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) de genes mitocondriales y ribosómicos, permiten avanzar en la verdadera identidad específica y en la dilucidación de la correspondencia entre larvas y adultos, entre otras aplicaciones (Kennedy & Harnett, 2001).

Particularmente, el género *Contraecum* se compone de 79 especies consideradas válidas (ver Checklist).

<i>Contraecum</i> spp.	Referencias	Hospedador Tipo	Otros Hospedadores	Area de Distribución
<i>C. accipiterum</i> Shen, 1981		<i>Accipiter gentilis</i>		China
<i>C. accipitris</i> Inglis, 1954		<i>Sarcogyps calvus</i>		India
<i>C. aduncum</i> Rudolphi, 1802	Baylis, 1920	<i>Gadus morhua</i>	<i>Gadus morhua</i>	Alemania EEUU
<i>C. antarcticum</i> Johnston, 1938		<i>Pygoscelis adelia</i>		Antártida
<i>C. bancrofti</i> Johnston & Mawson, 1941	Johnston & Mawson, 1941	<i>Pelecanus conspicillatus</i>	<i>Pelecanus erythrorhynchus</i>	Australia Méjico
<i>C. bioccai</i> Mattiucci et al., 2008		<i>Pelecanus occidentalis</i>		Colombia
<i>C. bodenheimeri</i> Witenberg, 1929		<i>Puffinus kuhli</i>		Egipto
<i>C. bubakii</i> Akram, 1996		<i>Phalacrocorax niger</i>		India
<i>C. caballeroi</i> Bravo Hollis, 1939	Lent & Freitas, 1948	<i>Anhinga anhinga</i>	<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Méjico Uruguay
<i>C. carlislei</i> Ortlepp, 1938	Barson & Marshall, 2004 Barson & Marshall, 2004	<i>Microcarbo africana africanoides</i>	<i>Phalacrocorax africanus</i> <i>Anhinga melanogaster</i>	Sudáfrica Zimbabwe Zimbabwe
<i>C. circi</i> Oschmarin, 1953		<i>Circus Cyaneus</i>	<i>Buteo buteo</i> <i>Buteo lagopus</i>	Rusia Rusia Rusia
<i>C. clavatum</i> Rudolphi, 1809		<i>Gadus morhua</i>		Alemania
<i>C. crenulatum</i> Schuurmans-Stekhoven, 1937		<i>Cancroma cochlearia</i>		Brasil
<i>C. chubutensis</i> Garbin et al., 2008		<i>Phalacrocorax a. atriceps</i>		Bahía Bustamante, Chubut

Checklist del género *Contraecum* (Anisakidae).

<b><i>C. diomedae</i></b>		<i>Diomedea brachyura</i>		Antártida
Linstow, 1888	Johnston, 1938		<i>Diomedea exulans</i>	Antártida
	Johnston, 1938		<i>Diomedea nigripes</i>	Antártida
	Johnston, 1938		<i>Phoebetria palpebrata</i>	Antártida
<b><i>C. equulai</i></b>		<i>Leiognathus daura</i>		India
Gupta & Srivastava, 1985				
<b><i>C. eudyptes</i></b>		<i>Eudyptes cristatus</i>		Nueva Zelanda
Johnston & Mawson, 1953	Johnston & Mawson, 1953		<i>Magadyptes antipoda</i>	Nueva Zelanda
<b><i>C. eudyptulae</i></b>		<i>Eudyptula minor</i>		Australia
Johnston & Mawson, 1942				
<b><i>C. gracile</i></b>		<i>Muraenesox cinereus</i>		Japón
Yamaguti, 1935				
<b><i>C. granulosum</i></b>		<i>Fregata magnificens</i>		Brasil
Schneider, 1866			<i>Fregata magnificens</i>	Trinidad & Tobago
<b><i>C. hagedashiae</i></b>		<i>Hagedashia hagedash nilotica</i>		Zambia
Sandground, 1933				
<b><i>C. haliaeti</i></b>		<i>Haliaeetus leucogaster</i>		India
Baylis & Daubney, 1923				
<b><i>C. heardi</i></b>		<i>Pygoscelis papua</i>		Australia
Johnston & Mawson, 1953	Johnston & Mawson, 1953		<i>Eudyptes cristatus</i>	Antártida
	Johnston & Mawson, 1953		<i>Eudyptes chrysolophus</i>	Antártida
	Johnston & Mawson, 1953		<i>Aptenodytes patagonica</i>	Antártida
<b><i>C. himeu</i></b>		<i>Phalacrocorax pelagicus</i>		Japón
Yamaguti, 1941	Nagasawa, 1999		<i>Phalacrocorax pelagicus</i>	Japón
	Barus et al., 2000		<i>Phalacrocorax capillatus</i>	Japón
<b><i>C. histiophori</i></b>		<i>Histiophorus orientalis</i>		Japón
Yamaguti, 1935				
<b><i>C. incurvum</i></b>		<i>Xiphias gladius</i>		Reino Unido
Rudolphi, 1819				
<b><i>C. macronectidis</i></b>		<i>Macronectes giganteus</i>		Argentina
Schuermans-Stekhoven, 1950				

**Checklist** del género *Contracaecum* (Anisakidae).

<b><i>C. magnipapillatum (=magnicollare)</i></b>	<i>Anous minutus</i>		Hawai
Chapin, 1925	Johnston & Mawson, 1941	<i>Anous stolidus</i>	Australia
	Fagerholm et al., 1996	<i>Anous melanogonyx</i>	Islas Jaluít
	Johnston & Mawson, 1941	<i>Diomedea sp.</i>	Australia
	Johnston & Mawson, 1941	<i>Sula serratör</i>	Australia
<b><i>C. margolisi</i></b>	<i>Zalophus californianus</i>		Canadá
Mattiucci et al., 2003			
<b><i>C. marinum</i></b>	<i>Lophius litulon</i>		Japón
Linnaeus, 1876			
<b><i>C. matwejewi</i></b>	<i>Sterna macrura</i>		Rusia
Layman & Murdrezova, 1926			
<b><i>C. mexicanum</i></b>	<i>Pelecanus occidentalis</i>		Méjico
Flores Barroeta, 1957			
<b><i>C. microcephalum</i></b>	<i>Ardeola ralloides</i>		Alemania
Rudolphi, 1809	Linstow, 1906	<i>Ardeola grayii</i>	Sri Lanka
	Mönnig, 1923	<i>Ardea cinerea</i>	Bélgica
	Layman & Andronova, 1926	<i>Ardea purpurea</i>	Israel
	Yamaguti, 1941	<i>Egretta garzetta</i>	Japón
	Hartwich, 1964	<i>Casmerodius albus egretta</i>	Brasil
	Creplin, 1846	<i>Nycticorax nycticorax</i>	Alemania
	Boero & Led, 1972	<i>Nycticorax nycticorax nycticorax</i>	Argentina
	Yamaguti, 1941	<i>Nycticorax nycticorax naevius</i>	Japón
	Yamaguti & Mitunaga, 1943	<i>Nycticorax caledonicus</i>	Formosa, Argentina
	Caballero & Peregrina, 1938	<i>Botaurus stellaris</i>	Méjico
	Hartwich, 1964	<i>Butorides virescens</i>	EEUU
	Creplin, 1846	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Alemania
	Walton, 1923	<i>Phalacrocorax africanus</i>	EEUU
	Vojtechovska Mayerova, 1952	<i>Pelecanus onocrotalus</i>	Rep. Checa
	Hartwich, 1964	<i>Pelecanus erythrorhynchus</i>	Africa
	Caballero & Peregrina, 1938	<i>Nycticorax nycticorax nycticorax</i>	Alemania
<b><i>C. micropapillatum</i></b>	<i>Pelecanus sp.</i>		Yugoslavia
Stossich, 1890	Stossich, 1893	<i>Pelecanus crispus</i>	Yugoslavia
	Hartwich, 1964	<i>Pelecanus rufescens</i>	Congo
	Ezzat & Tadros, 1958	<i>Pelecanus onocrotalus</i>	Congo
	Ybarra, 1948	<i>Pelecanus erythrorhynchus</i>	Méjico
	Kinsella et al., 2004	<i>Pelecanus erythrorhynchus</i>	EEUU
	Johnston & Mawson, 1941	<i>Pelecanus conspicillatus</i>	Australia
	Ezzat & Tadros, 1958	<i>Phalacrocorax africanus</i>	Congo
	Ezzat & Tadros, 1958	<i>Butorides striatus</i>	Congo
	Chow, 1939	<i>Nycticorax nycticorax nycticorax</i>	China
	Stossich, 1890	<i>Falconidae</i>	Indochina

Checklist del género *Contraecum* (Anisakidae).

<b><i>C. milvi</i></b> Yamaguti, 1935		<i>Milvus migrans</i>	Japón
<b><i>C. milviensis</i></b> Karokhin, 1937		<i>Milvus liaeatus</i>	Rusia
<b><i>C. mirounga</i></b> Nikolskiy, 1974	Fagerholm, 1990 Fagerholm, 1990 Mattiucci et al., 2003 Presente estudio	<i>Mirounga leonina</i> <i>Mirounga leonina</i> <i>Hidrurga leptonyx</i> <i>Mirounga leonina</i> <i>Spheniscus magellanicus</i>	Antártida Antártida Australia Argentina Península Valdés, Chubut
<b><i>C. multipapillatum</i></b> von Drasche 1882	Lucker, 1941 Navone et al., 2000 Vidal Martínez, 1994 Labriola & Suriano, 1996 Labriola & Suriano, 1996 Labriola & Suriano, 1996 Kinsella et al., 2004 Lucker, 1941 Huizinga, 1967 Deardoff & Oversteet, 1980	<i>Mycteria americana</i> <i>Ardea herodias</i> <i>Ardea alba</i> <i>Ardea alba</i> <i>Ardea alba</i> <i>Egretta thula</i> <i>Bobulcus ibis</i> <i>Pelecanus erythrorhynchus</i> <i>Anhinga anhinga</i> <i>Anhinga anhinga</i> <i>Mugil cephalus</i>	Brasil EEUU Argentina Méjico Argentina Argentina Argentina EEUU EEUU EEUU Golfo de Méjico
<b><i>C. muraenesoxi</i></b> Luo & Fang, 1999		<i>Muraenesox cinereus</i>	China
<b><i>C. nehli</i></b> Karokhin, 1949		<i>Colymbus nigricollis</i>	Rusia
<b><i>Contraecum</i> n. sp.1</b> Presente estudio		<i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Phalacrocorax magellanicus</i>	Chile Península Valdés, Chubut Bahía Blanca, Bs. As. Punta Loma, Chubut
<b><i>Contraecum</i> sp.2</b> Presente estudio		<i>Spheniscus magellanicus</i>	Costa Bonaerense
<b><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></b> Johnston & Mawson, 1941	Mattiucci et al., 2003 Fagerholm & Gibson, 1987 Lent & Freitas, 1948 Fagerholm & Gibson, 1987 Fagerholm & Gibson, 1987 Fagerholm, 1990 Timi et al., 2003	<i>Hydrurga leptonyx</i> <i>Mirounga leonina</i> <i>Zalophus californianus</i> <i>Arctocephalus australis</i> <i>Arctocephalus tropicalis</i> <i>Eumetopias jubatus</i> <i>Arctocephalus spp.</i> <i>Arctocephalus australis</i>	Argentina Méjico Uruguay Sudáfrica EEUU Finlandia Argentina

Checklist del género *Contraecum* (Anisakidae).

<b><i>C. osculatum</i></b>		<i>Phoca vitulina</i>		
Rudolphi, 1802	Valter, 1979		<i>Halichoerus grypus</i>	Finlandia
	Fagerholm, 1990		<i>Phoca hispida</i>	Mar Báltico
	Kloser & Plotz, 1992		<i>Erignathus barbatus</i>	Japón
	Mattiucci et al., 1998		<i>Erignathus barbatus</i>	Japón
	Mattiucci et al., 1998		<i>Theragra chalcogramma</i>	Japón
	Mattiucci et al., 2003		<i>Mirounga leonina</i>	Argentina
<b><i>C. oshmarini</i></b>		<i>Uria lomvia</i>		Rusia
Mozgovoi, 1950			<i>Uria aalge</i>	
<b><i>C. otolithii</i></b>		<i>Otolithus argenteus</i>		India
Bilqees & Rashid, 1982				
<b><i>C. ovale</i></b>		<i>Podiceps cristatus</i>		Alemania
Linstow, 1907	Macko, 1961		<i>Podiceps griseigena</i>	Rep. Checa
	Mozgovoi, 1953		<i>Podiceps auritus</i>	Rusia
	Mozgovoi, 1953		<i>Podiceps ruficollis</i>	Rusia
	Vuylsteke, 1953		<i>Podiceps ruficollis capensis</i>	Congo
	Macko, 1961		<i>podiceps negricollis</i>	Rep. Checa
	Hartwich, 1964		<i>Podilymbus podiceps</i>	Brasil
<b><i>C. pagrosomi</i></b>		<i>Pagrosomus unicolor</i>		Japón
Yamaguti, 1935				
<b><i>C. pandioni</i></b>		<i>Pandion haliaetus</i>		Rusia
Sobolev & Sudarikov, 1936				
<b><i>C. pelagicum</i></b>		<i>Thalassarche melanophris</i>		Australia
Johston & Mawson, 1942	Lent & Freitas, 1948		<i>Thalassarche melanophris</i>	Uruguay
	Portes Santos, 1984		<i>Spheniscus magellanicus</i>	Brasil
	Silva et al., 2005		<i>Sula leucogaster</i>	Brasil
	Garbin et al., 2007		<i>Spheniscus magellanicus</i>	Península Valdés, Chubut
	Garbin et al., 2007		<i>Spheniscus magellanicus</i>	Mar del Plata, Bs As.
	Garbin et al., 2007		<i>Thalassarche melanophris</i>	Península Valdés, Chubut
	Presente estudio		<i>Phalacrocorax albiventer</i>	Punta León, Chubut
<b><i>C. plagiaticium</i></b>		<i>Nycticorax nycticorax naevius</i>		Uruguay
Lent & Freitas, 1948				
<b><i>C. podicipitis</i></b>		<i>Podiceps cristatus</i>		Australia
Johnston & Mawson, 1949				

Checklist del género *Contraecum* (Anisakidae).

<b><i>C. punctatum</i></b> Gedoelst, 1916		<i>Pseudotantalus ibis</i>		Congo Belga
<b><i>C. pyripapillatum</i></b> Shamsi et al., 2008		<i>Pelecanus conspicillatus</i>		Australia
<b><i>C. quincuspis</i></b> Lucker, 1941		<i>Anhinga anhinga</i>		EEUU
<b><i>C. radiatum</i></b> Linstow, 1907	Kloser & Plotz, 1992 Fagerholm, 1990 Baylis, 1936 Baylis, 1936	<i>Leptonychotes weddelli</i>	<i>Leptonychotes weddelli</i> <i>Leptonychotes weddelli</i> <i>hydrurga leptonyx</i> <i>Ommatophoca rossi</i>	Antártida Antártida Antártida Antártida
<b><i>C. rodhaini</i></b> Gedoelst, 1916	Schuurmans-Stekhoven, 1937 Schuurmans-Stekhoven, 1937	<i>Anhinga rufa</i>	<i>Bagrus sp.</i> <i>Clarias sp.</i>	Congo Belga Argentina Argentina
<b><i>C. rosarium</i></b> Connal, 1912		<i>Nycticorax sp.</i>		Africa, India
<b><i>C. rudolphii</i></b> Hartwich, 1964	Baer, 1959 Yamaguti, 1941 Li et al., 2005 Abollo et al., 2001 Huizinga, 1966 Hartwich, 1964 Hartwich, 1964 Torres et al., 2000 Amato et al., 2006 Linstow, 1888 Hartwich, 1964 Hartwich, 1964 Hartwich, 1964 Hartwich, 1964	<i>Phalacrocorax carbo</i>	<i>Phalacrocorax carbo lugubris</i> <i>Phalacrocorax carbo hanedae</i> <i>Phalacrocorax carbo sinensis</i> <i>Phalacrocorax aristotelis</i> <i>Phalacrocorax aristotelis aristoteli</i> <i>Phalacrocorax auritus</i> <i>Phalacrocorax capensis</i> <i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Phalacrocorax penicillatus</i> <i>Phalacrocorax verucosus</i> <i>Mergus merganser</i> <i>Mergus serrator</i> <i>Bucephala clangula</i>	Alemania Alemania Congo Japón España Alemania España EEUU Sudafrica Brasil Uruguay Chile Brasil EEUU Islas Kerguelen
<b><i>C. rufai</i></b> Gupta & Johri, 1989		<i>Anhinga rufa</i>		Congo
<b><i>C. ruficolle</i></b> Vuyksteke, 1953		<i>Poliiocephalus ruficollis capensis</i>		Congo Belga

Checklist del género *Contraecaecum* (Anisakidae).

<b><i>C. scotti</i></b> Leiper & Atkinson, 1914		<i>Diomedea melanophris</i>		Antártida
<b><i>C. indicum</i></b> Akram, 1997		<i>Phalacrocorax niger</i>		India
<b><i>C. sinipercae</i></b> Dogiel & Achmerov, 1946		<i>Siniperca sp.</i>		Rusia
<b><i>C. sinulabiatum</i></b> Johnston & Mawson, 1941	Johnston & Mawson, 1941	<i>Phalacrocorax sp.</i>	<i>Plotus novae</i>	Australia Australia
<b><i>C. septentrionale</i></b> Kreis, 1955	Nadler, 2000 Abollo et al., 2001 Li et al., 2005	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	<i>Phalacrocorax carbo</i> <i>Phalacrocorax aristotelis aristoteli</i> <i>Alca torda</i>	Islandia Islandia España España
<b><i>C. spheniscus</i></b> Boero & Led, 1970		<i>Spheniscus magellanicus</i>		Argentina
<b><i>C. squalii</i></b> Linstow, 1908		<i>Squalius schmidtii</i>		Bulgaria
<b><i>C. torquatum</i></b> Yamaguti, 1935		<i>Larus canus</i>		Japón
<b><i>C. travassosi</i></b> Gutierrez 1943	Lent & Freitas, 1948 Morgan et al., 1949	<i>Phalacrocorax a. albiventer</i>	<i>Phalacrocorax brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus carolinensis</i>	Argentina Uruguay EEUU
<b><i>C. trichiuri</i></b> Thwaite, 1927		<i>Leiognathus daura</i>		India
<b><i>C. tricuspis</i></b> Geddoelst, 1916	Barson & Marshall, 2004 Barson & Marshall, 2004	<i>Ardea sp.</i>	<i>Anhinga sp.</i> <i>Anhinga melanogaster</i> <i>Plotus sp.</i>	Congo Congo Zimbabwe Australia
<b><i>C. turgidum</i></b> Chapin, 1927	Fagerholm, 1990	<i>Monachus schauislandii</i>	<i>Monachus schauislandii</i>	Hawai Hawai
<b><i>C. umiu</i></b> Yamaguti, 1941	Mozgovoï, 1953	<i>Phalacrocorax capillatus</i>	<i>Phalacrocorax capillatus</i>	Japón

**Checklist** del género *Contraecaecum* (Anisakidae).

<b><i>C. variegatum (=yamaguti)</i></b>		<i>Gavia stellata</i>	Alemania
Rudolphi, 1809	Hartwich, 1964	<i>Gavia immer</i>	Alemania
	Hartwich, 1964	<i>Alca torda</i>	Alemania
	Hartwich, 1964	<i>Uria aalge</i>	Alemania
	Mozgovoi, 1950	<i>Uria lomvia</i>	Rusia
	Yamaguti, 1935	<i>Larus canus</i>	Japón
	Hartwich, 1964	<i>Rissa tridactyla</i>	Alemania
	Hartwich, 1964	<i>Anous melanogenys</i>	Alemania
	Chapin, 1927	<i>Anous hawajiensis</i>	Hawai
	Johnston & Mawson, 1941	<i>Anous stolidus</i>	Australia
		<i>Mergus merganser</i>	Japón
<b><i>C. zenis</i></b>		<i>Zeus capensis</i>	Reino Unido
Baylis, 1929	Baylis, 1929		
<b><i>C. zenopsis</i></b>		<i>Zenopsis nebulosa</i>	Japón
Yamaguti, 1941		<i>Peristedion orientale</i>	Japón

**Checklist** del género *Contraecum* (Anisakidae).

---

### *Antecedentes de investigación en Anisakidae*

Si bien son escasos los reportes de anisákidos en aves marinas de Sudamérica, algunos estudios indican la presencia de adultos de *Contracaecum* spp. y *Anisakis* spp. En Chile y Brasil, *Contracaecum rudolphii* (= *C. spiculigerum*) (Hartwich, 1964) fue observado en *P. brasiliensis* (= *olivaceus*) (Torres et al., 1991, 1993; Fedynich et al., 1997; Vicente et al., 1997; Torres et al., 2000), en *P. a. albiventer* (Gutiérrez, 1943; Torres et al., 1992) de Brasil, y en *Larus dominicanus*, *Larus maculipennis* y *Larus serranus* (Tschudi) (Laridae) (Torres et al., 1983; 1993, 2000) de Chile.

En Argentina, la mayoría de los trabajos sobre Anisakidae han sido referidos a ambientes lacustres o salobres. Kreiter & Semenas (1997) señalaron la presencia de juveniles de *Contracaecum* sp. en *L. dominicanus* de Bariloche (provincia de Río Negro) y Labriola & Suriano (1996) observaron la presencia de *Contracaecum philomultipapillatum* en *Ardea alba* Linnaeus (Ardeidae) de la provincia de Buenos Aires. Esta especie fue redesignada y sinonimizada como *Contracaecum multipapillatum* (von Drasche, 1882) a partir de ejemplares obtenidos en el mismo hospedador (Navone et al., 2000). *Contracaecum microcephalum* (Rudolphii, 1809) fue observado en la garza blanca *Ardea* (= *Casmerodius*) *alba* (Gmelin) (Ardeidae) en la provincia de Tucumán y *Contracaecum longicaecum* Schuurmans-Stekhoven, 1951 fue registrado en el pez de agua dulce *Platystoma* sp. (Pimelodidae) en el río Paraná, Santa Fe (Schuurmans-Stekhoven, 1951). Esta última especie fue denominada como “species inquirenda” por Navone et al. (2000) debido a que su descripción fue basada sólo en larvas.

Los reportes de Anisakidae en aves marinas se restringen al hallazgo de Malacalza et al. (1998), quienes al estudiar la dieta del cormorán real *P. a. albiventer* en Punta León, Chubut, hallaron ejemplares de *Contracaecum* sp. en bolos regurgitados y sugirieron que éste hábito (regurgitación) contribuiría a disminuir la intensidad parasitaria y a controlar las infrapoblaciones. Boero et al. (1972) hallaron a *Contracaecum microcephalum* parasitando especies de Ardeidae, tales como *Ardea cocoi* Linnaeus y *Ncticorax ncticorax* (Gmelin). *Contracaecum spheniscus* Boero & Led, 1970 fue descrito sobre la base de un único ejemplar macho hallado en un pingüino de Magallanes del zoológico de La Plata, Buenos Aires (Boero & Led, 1970). En la costa patagónica, *Contracaecum travassosi* Gutiérrez, 1943 fue descrito parasitando a *P. a. albiventer* de la Península Valdés, Chubut (Gutiérrez, 1943); y Schuurmans-Stekhoven (1950) describió a *Contracaecum macronectidis* parasitando al petrel gigante, *Macronectes giganteus*.

En mamíferos marinos, Timi et al. (2003) reportaron la ocurrencia de *Contracaecum ogmorhini* s. s. Johnston & Mawson, 1941 en *Arctocephalus australis* (Zimmermann) (Otariidae) de la costa bonaerense y discutieron el estatus taxonómico de esta especie y de *Contracaecum corderoi* Lent & Freitas, 1948, colectado en el mismo hospedador. Mattiucci et al. (2003) estudiaron el estatus taxonómico mediante el análisis genético molecular de *C. ogmorhini* parasitando a *A. australis* y *Mirounga leonina* Linnaeus (Phocidae) de la costa del Mar Argentino. Este último hospedador además albergó especímenes de *Contracaecum osculatum* Rudolphi, 1802 y *Contracaecum mirounga* Nikolskiy, 1974. Posteriormente, Mattiucci et al. (2008b) estudiaron las relaciones genéticas de *C. ogmorhini*, encontrado en *A. australis* de la costa argentina, y *C. mirounga* parasitando a *Mirounga leonina* de Península Valdés, con otras 9 especies del género *Contracaecum* de diferentes regiones del mundo.

En peces, Cremonte & Sardella (1997) reportaron la presencia de larvas L3 de *Contracaecum* sp. en ejemplares de *Scomber japonicus* Houttuyn (Scombridae) provenientes de dos sitios costeros diferentes del Mar Argentino. Posteriormente Sardella et al. (1998) hallaron larvas L3 de *Contracaecum* sp. en *Genypterus blacodes* Schneider (Ophidiidae) provenientes de diversos sitios de la costa atlántica argentina. Timi et al. (2001) y Timi (2003) registraron larvas de tercer estadio (L3) de *Contracaecum* sp. parasitando a *Engraulis anchoita* Hubbs & Marini (Engraulidae) a lo largo de la plataforma del Mar Argentino. Sardella & Timi (2004) reportaron larvas L3 de *Contracaecum* sp. en *Merluccius hubbsi* Marini (Merluciidae) proveniente de la zona marítima pesquera común argentino-uruguayo. Posteriormente Timi et al. (2005) reportaron larvas (L3) de *Contracaecum* en *Cynoscion guatucupa* (Cuvier) proveniente de muestras de la costa atlántica sudamericana y recientemente, Braicovich & Timi (2008) reportaron que *Percophis brasiliensis* Quoy & Gaimard (Percophidae) es hospedador de las L3 de *Contracaecum*.

Estadios larvales de *Contracaecum* spp. fueron reportados por Diaz (2006) en *L. dominicanus* de la costa atlántica. En varias especies de peces de agua dulce provenientes del río Paraná, Santa Fe, Moravec (1998) describió larvas L3 de *Contracaecum* sp. a las cuales denominó larvas “Tipo 2”.

Si bien investigaciones recientes permitieron ampliar el conocimiento sistemático-biológico de nematodos Anisakidae en algunas especies de aves (Navone et al., 2000; Pazos et al., 2000; Cremonte et al., 2001; Diaz et al., 2001; Cremonte et al., 2002; Diaz & Pazos, 2004; Pazos et al., 2003), diferentes especies de aves deberían ser analizadas con el fin de

conocer la fauna de nematodos que albergan. Sobre esta base se intentó responder a la siguiente pregunta:

\*¿Diferentes especies de aves marinas piscívoras están parasitadas por las mismas especies de anisákidos?

Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos

- Caracterizar cuali y cuantitativamente los nematodos adultos Anisakidae, parásitos de aves marinas, presentes en *S. magellanicus*, *P. a. albiventer*, *P. a. atriceps*, *P. brasilianus*, *P. magellanicus* y *T. melanophris*.

- Clarificar la composición taxonómica de los anisákidos adultos y estimar su diversidad describiendo o redescribiéndolos, mediante el uso de diferentes técnicas (microscopio óptico y electrónico de barrido; electroforesis de isoenzimas, genética molecular cualitativa).

## **Materiales y Métodos**

### ***Toma de muestras y procesamiento de los hospedadores***

Para la realización de los muestreos se contó con los permisos pertinentes, tanto de la Dirección de Fauna y Flora como de la Secretaría de Turismo y Áreas Protegidas de la Provincia de Chubut.

Se realizaron diferentes campañas de investigación sobre las distintas especies de aves seleccionadas para este trabajo desde el año 2005 al 2008, aunque el número de muestras se incrementó aún más con el uso de ejemplares capturados con anterioridad, entre los años 1990 y 2003. Todas las aves fueron colectadas muertas, excepto aquellas moribundas a las cuales se les permitió morir naturalmente en el campo y luego fueron colectadas. Siempre que fuera posible, los hospedadores se trasladaron inmediatamente al laboratorio para realizar la prospección helmintológica en fresco y lograr una buena fijación de los nematodos y/o su observación en vivo. De lo contrario se realizó la disección en el campo y las vísceras se congelaron o bien se fijaron en formol 10% o se conservaron en alcohol 70%. La misma metodología se empleó para los pellets y regurgitados de los cormoranes.

Para *Spheniscus magellanicus* se realizaron 5 campañas en la estancia San Lorenzo de Península Valdés, Chubut, de no más de tres días de duración cada una, desde la eclosión

de los huevos (fines de noviembre) hasta su ingreso al mar (finales de marzo) durante los años 2005 a 2008. Se colectó un total de 106 individuos muertos correspondientes, en su mayoría pichones ( $n = 78$ ), el resto fueron adultos y juveniles. Las fechas de campaña fueron elegidas de acuerdo al estado de desarrollo de las crías, de manera de indagar acerca del reclutamiento de larvas con la ingestión de sus presas, el estado de desarrollo de los nematodos en el estómago y su distribución a lo largo del tracto digestivo del hospedador.

Además se trabajó sobre 25 pingüinos que habían sido colectados a intervalos irregulares desde el año 1990 al 2003 en sectores costeros de Península Valdés: estancia San Lorenzo, Playa Fracasso, Puerto Madryn, Punta Pardelas y Punta Norte; 4 adultos provenientes de Mar del Plata, 2 de Claromecó, 13 de Cabo Vírgenes, 11 de Tierra del Fuego y uno del Zoológico de La Plata.

El total de pingüinos examinados fue de 161 ejemplares, 38 adultos, 14 juveniles y 109 pichones.

-*Phalacrocorax a. albiventer*: se colectaron 14 individuos a intervalos irregulares desde el año 1994 al 2008 en diferentes sitios de Península Valdés y en Punta León, Chubut. El total de individuos fue de 9 adultos y 5 pichones. Además se realizaron 3 campañas de recolección de pellets al azar en la cormoranera de Punta León y también una recolección de regurgitados en el mismo sitio durante los períodos reproductivos de la especie desde el año 2005 al 2008. Se colectó un total de 140 pellets y 28 regurgitados.

-*Phalacrocorax a. atriceps*: se colectaron 12 individuos a intervalos irregulares durante los años 1999 a 2006, 10 provenientes de Bahía Bustamante y 2 de Puerto Madryn.

-*Phalacrocorax brasilianus*: se colectaron 3 individuos provenientes de diferentes sitios costeros de Playa Fracasso, Península Valdés, desde el año 2000 al presente. Complementariamente, se colectó 1 individuo de la Isla Norte, Bahía Blanca, Buenos Aires, y 4 de la Laguna Santa Elena, VIII Región, Chile.

-*Phalacrocorax magellanicus*: sólo se colectaron 2 ejemplares provenientes de Punta Loma, Chubut ( $42^{\circ} 49' S$ ,  $64^{\circ} 53' O$ ), en diciembre del 2000. Además se colectaron 30 pellets en una campaña realizada en enero del 2002 en el mismo sitio. Cabe aclarar que esta especie presenta una alta dificultad para ser muestreada debido a su hábito de nidificación en acantilados, lo cuál hace casi imposible su acceso.

-*Thalassarche melanophris*: se colectaron 5 ejemplares en playas de Península Valdés y alrededores desde el año 2000 al presente. Dos ejemplares fueron obtenidos por medio de barcos pesqueros que los capturaron accidentalmente con sus redes.

### ***Prospección de los nematodos***

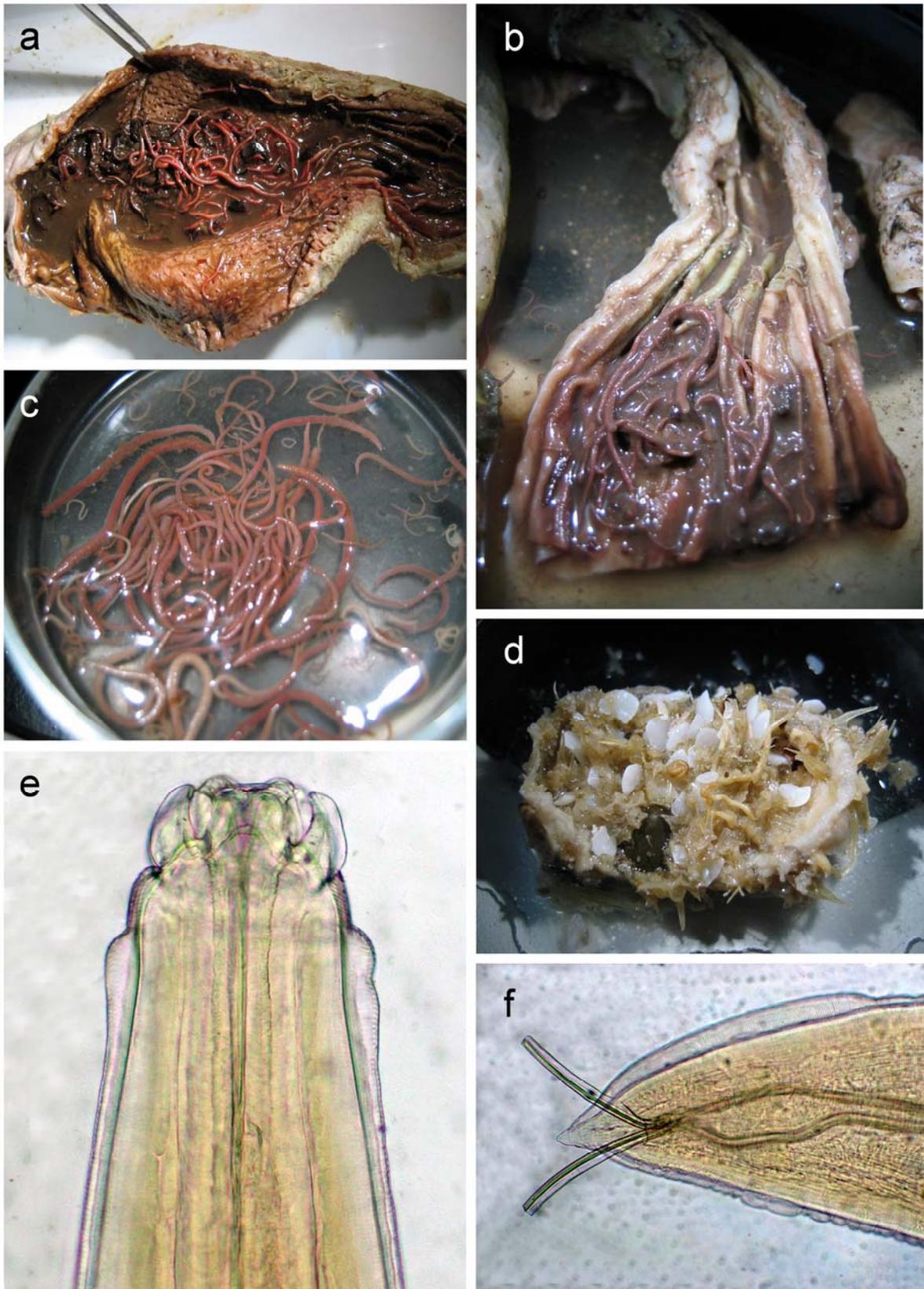
Las aves muertas, preferentemente en buena condición, fueron disecadas en el campo o en el laboratorio (Fig. 4). El tracto digestivo fue colocado en bolsas zip-loc y conservado en formol 10% o alcohol 100%, dependiendo si el destino final era realizar estudios de biología molecular o únicamente morfológicos. En el laboratorio las vísceras se examinaron bajo lupa estereoscópica y los nematodos recolectados fueron conservados en alcohol 70%. Se examinaron el esófago y el estómago preferentemente, aunque en algunas aves se realizó la prospección del aparato digestivo completo (Fig. 5). En pingüinos, el esófago se disecó en 5 secciones iguales y el estómago se prospectó como una única unidad.

Para su diagnosis, los nematodos fueron transparentados con lactofenol y estudiados utilizando un microscopio óptico (Olympus BX51). Se hicieron dibujos con la ayuda de la cámara clara incorporada al microscopio. Adicionalmente, algunos especímenes fueron estudiados con la ayuda del microscopio electrónico de barrido (MEB, Marca LV), perteneciente al Museo de La Plata. Para el MEB, se les realizó punto crítico a los nematodos y posteriormente fueron metalizados con baño de osmio, se observaron a diferentes magnificaciones y se fotografiaron. Las medidas de los caracteres morfológicos están expresadas en milímetros (mm), para los adultos se expresa la media seguida por el rango entre paréntesis. Para las larvas se expresa la media seguida por el desvío estándar y el rango entre paréntesis. Se realizaron análisis estadísticos de ANOVA a 1 factor para comparar medias de los caracteres morfológicos (e.g. adultos de *C. pelagicum* provenientes de *S. magellanicus* y *T. melanophris* de Península Valdés) ( $P < 0.05$ ). En otros casos se realizaron además pruebas de *t*-Estudent.

Para la determinación e identificación de las especies de Anisakidae se utilizaron manuscritos con las descripciones originales y algunas claves (e.g. Hartwich, 1974; Fagerholm, 1990).



**Figura 4.** Trabajo de campo. a, c) Recolección de aves muertas; b, d, e, f) Diseción de las aves; e) almacenaje de vísceras en bolsas zip-loc.



**Figura 5.** Trabajo de Laboratorio: a) Prospección de un estómago de pingüino infestado con anisákidos bajo lupa estereoscópica; b) prospección de un esófago de pingüino infestado con anisákidos; c) nematodos anisákidos en una cápsula de Petri; d) prospección de un pellet de cormorán real, e-f) visualización de anisákidos bajo microscopio óptico.

---

## Resultados

Se describieron 3 nuevas especies del género *Contracaecum* y se redescubrió a *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942, la cual fue encontrada parasitando el tracto digestivo de *S. magellanicus*, *T. melanophris* y *P. a. albiventer* provenientes de Península Valdés, Chubut. Los individuos pertenecientes a la primera especie descrita, *Contracaecum chubutensis* Garbin, Diaz, Navone & Cremonese, 2008, fueron colectados del proventrículo de *Phalacrocorax a. atriceps* proveniente de Bahía Bustamante y Puerto Madryn, Chubut. La segunda especie descrita fue *Contracaecum* n. sp.1, la cual parasita a ejemplares de *P. brasilianus* provenientes de tres sitios diferentes: laguna Santa Elena, VIII Región, Chile; Playa Fracasso, Península Valdés, Chubut; Bahía Blanca, Buenos Aires; y *Phalacrocorax magellanicus* proveniente de Punta Loma, Chubut. La tercera especie descrita fue *Contracaecum bioccai* Mattiucci, Paoletti, Olivero-Verbel, Baldiris, Arroyo-Salgado, Garbin, Navone, Nascetti, 2008, la cual parasita al pelícano marrón *Pelecanus occidentalis* Linnaeus (Pelecanidae) del pantano Totumo, Colombia, que si bien no forma parte de los objetivos de este trabajo, contribuye a comprender la caracterización específica de las especies de *Contracaecum* mediante estudios de genética molecular (Mattiucci et al., 2008). Asimismo se describen otras dos especies que parasitan al pingüino de Magallanes, *Contracaecum mirounga* y *Contracaecum* sp.2. La primera fue hallada en un ejemplar de *S. magellanicus* de Península Valdés, la segunda pertenecería a una nueva especie y fue encontrada en un único ejemplar de *S. magellanicus* del Zoológico de La Plata, cuyo origen sería algún sitio de la costa bonaerense. Se presentan datos morfométricos y fotos al MEB para cada una de las especies descritas, excepto para *C. bioccai*. Paralelamente se brindan, para todas las especies, dibujos realizados con la ayuda de una cámara clara. Para *C. pelagicum*, *Contracaecum* n. sp.1 y *C. bioccai*, se aporta además una exhaustiva caracterización genético-molecular comparándolas con otras especies del género *Contracaecum* analizadas con la misma metodología (ver Capítulo 2).

*Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942**\*Redescripción**

*Adulto* (20 especímenes provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés, Tablas 1 y 2, Figs. 6, 7, 8 y 9): Cutícula completamente estriada transversalmente (Figs. 7b, e). Collar cefálico conspicuo, con los bordes libres concéntricos profundos y con una región lateral estrecha en forma de “V” sin estriaciones (Figs. 7a, c). Tres interlabios bifurcados (Figs. 7a, c, d), labios más altos que los interlabios con 3 muescas o hendiduras apicales, la central más profunda y amplia que las laterales (Figs. 7a, c). Presentan 2 aurículas, cada una con procesos puntiagudos dirigidos lateralmente hacia las esquinas anteriores, ambos con 2 extremos sensoriales (tips) (Figs. 7a, c, d); papilas grandes dobles, 2 sobre el labio dorsal y 1 en cada labio ventrolateral (Figs. 7a, c). Anfidos redondeados localizados en los labios ventrolaterales (Fig. 7a). Deiridos inconspicuos y de forma redondeada (Figs. 6, 7b, ver flechas). Ventrículo con el apéndice posterior sólido, ciego intestinal bien desarrollado, más largo que el apéndice ventricular (Fig. 6).

*Macho* (10 especímenes provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés):

Longitud del cuerpo 17,56 (11,00–25,08). Ancho máximo del cuerpo 0,67 (0,56–0,96). Distancia del extremo anterior al anillo nervioso 0,46 (0,36–0,51) y a los deiridos 0,65 (0,57–0,73). Longitud del esófago 2,78 (1,90–3,97); longitud del ciego intestinal 1,97 (1,56–2,68); longitud del ventrículo 0,22 (0,16–0,26); longitud del apéndice ventricular 0,74 (0,63–0,83). Espículas de igual longitud 4,10 (3,07–5,07). Distancia de la cloaca al extremo posterior 0,18 (0,11–0,29). Extremo caudal cónico presentando 25–31 pares de papilas precloacales, los primeros 18 pares proximales son bien notorios. Pts-zone abarca 3 pares de papilas precloacales (Fig. 7e). Siete pares de papilas postcloacales: 2 pares subventrales paraclloacales grandes situadas lado a lado, 2 pares subventrales, 2 pares sublaterales y 1 par de fásmidos cercano al par de papilas sublaterales distales (Fig. 7e). Extremo distal de la espícula extenso y puntiagudo; longitud del mismo mayor al ancho de la espícula (0,063 vs. 0,020) (Figs. 7f, g). Valvas de la espícula insertadas en puntos diferentes (Fig. 7f, flecha).

*Hembra* (10 especímenes provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés): Longitud del cuerpo 24,17 (17,56–33,05). Ancho máximo del cuerpo 0,94 (0,52–1,48). Distancia del extremo anterior al anillo nervioso 0,55 (0,48–0,65) y a los deiridos 0,72 (0,62–0,90). Longitud del esófago 3,03 (2,81–3,32); longitud del ciego intestinal 2,38 (2,10–2,74); longitud del ventrículo 0,22 (0,17–0,26); longitud del apéndice ventricular 0,72 (0,65–0,82). Vulva en la mitad anterior del cuerpo, distancia al extremo anterior 6,94 (5,28–9,23). Diámetro de huevos embrionados 0,06 (0,057–0,064). Distancia del ano al extremo posterior 0,41 (0,30–0,63).

### Resumen taxonómico

Hospedadores: *Spheniscus magellanicus* Forster (Spheniscidae), *Thalassarche melanophris* Temminck (Diomedidae) y *Phalacrocorax a. albiventer* Lesson (Phalacrocoracidae).

Localidades: Península Valdés, Chubut (42°04' – 42°53' S, 63°38' - 64°30' O), Mar del Plata, Buenos Aires (38°05' S, 57°38' O), Cabo Vírgenes, Santa Cruz (52°16' - 52°55' S, 68°02' - 69°22' O), y Punta León, Chubut (43°04' S, 64°29' O).

Sitio de infección: estómago.

Prevalencia: 40% para *S. magellanicus* de Península Valdés (n=20), 100% para *S. magellanicus* de Mar del Plata (n=4) y 100% para *T. melanophris* de Península Valdés (n=3).

Intensidad media: 149 para *S. magellanicus* de Península Valdés.

Depósito de los especímenes: Colección Helminológica del Museo de La Plata (5591 CHMLP), Buenos Aires. Paratipos: 10 hembras y 20 machos.

### Comentarios

De las especies de *Contracaecum* encontradas en mamíferos marinos, *Contracaecum ogmorhini* y *Contracaecum margolisi* Mattiucci et al., 2003 son muy similares a *C. pelagicum* en cuanto a la distribución espacial de las papilas caudales, sin embargo ellos no exhiben interlabios bífidos y sus espículas son más largas (Mattiucci et al., 2003; Timi et al., 2003). *Contracaecum osculatum*, *C. mirounga* y *Contracaecum radiatum* (Linstow, 1907), poseen interlabios no bifurcados, papilas paraclocales dobles y 2 filas de papilas preclocales de cada lado (Baylis, 1936; Fagerholm, 1988; Fagerholm et al., 1996).

De las especies de *Contracaecum* que parasitan aves marinas, *C. magnipapillatum* (= *C. magnicollare*) Johnston & Mawson, 1941, que parasita a *Anous minutus* Chapin (Laridae)

y *Contracaecum septentrionale* Kreis, 1955, parásita de *Phalacrocorax aristotelis* (Linnaeus), comparten casi todos los rasgos morfológicos, como el patrón de distribución espacial de las papilas caudales, pero carecen de interlabios bifurcados (Johnston & Mawson, 1941; Kreis, 1955; Hartwich, 1964; Fagerholm et al., 1996). En contraste, *C. multipapillatum* (von Drasche, 1882) procedente de *Ardea alba* (Ardeidae), *Contracaecum heardi* Mawson, 1953 de *Pygoscelis papua* Forster (Spheniscidae) y *Contracaecum eudyptes* Johnston & Mawson, 1953 de *Eudyptes* sp. (Spheniscidae) pueden distinguirse de *C. pelagicum* por tener interlabios no bifurcados, un par de papilas paraclocales dobles y 2 filas de papilas precloacales proximales de cada lado cerca de la cloaca (Mawson, 1953; Portes-Santos, 1984; Navone et al., 2000). *Contracaecum spheniscus* Boero & Led, 1970 que también posee interlabios no bifurcados, tiene un número menor de papilas pre- y postcloacales y un apéndice ventricular más corto que el de *C. pelagicum* (Boero & Led, 1970).

*Contracaecum travassosi* Gutiérrez, 1943 de *Phalacrocorax a. albiventer*, *C. rudolphii* de *Phalacrocorax carbo* Linnaeus (Phalacrocoracidae), *Contracaecum eudyptulae* Johnston y Mawson, 1944, de *Eudyptula minor* (Forster) (Spheniscidae) y *Contracaecum variegatum* Rudolphii, 1809 de *Colymbus septentrionalis* (= *Gavia stellata*) (Pontoppidan) (Gaviidae), poseen interlabios bifurcados y son muy similares a *C. pelagicum* (Gutiérrez, 1943; Johnston & Mawson, 1944; Hartwich, 1964; Fagerholm et al., 1996). Sin embargo, el macho de *C. travassosi* posee interlabios tan altos como los labios, más anchos en la base con el surco menos notorio y espículas más largas (7,7–11,1 vs. 3,07–5,07 mm) y, por consiguiente, una relación menor: longitud del cuerpo / longitud de espícula (2,1–2,3 vs. 3,4–5,1 mm). La cola de *C. travassosi* es más roma y constreñida notoriamente a nivel de las papilas subventrales y sublaterales (Gutiérrez, 1943). *Contracaecum rudolphii* tiene las espículas más largas (4,1–10,0 vs. 3,07–5,07 mm) y una relación menor cuerpo / longitud de espícula (2,7–3,4 vs. 3,4–5,1), las espículas más romas y las papilas paraclocales más pequeñas con disposición oblicua. Además, la cola de *C. rudolphii* también es más roma con una marcada constricción distal (Hartwich, 1964; Barus et al., 2000; Abollo et al., 2001). *Contracaecum eudyptulae* tiene una cola más roma, las papilas paraclocales con una disposición oblicua, menos pares de papilas precloacales y una relación menor cuerpo / longitud de espícula (1,70–2,80 vs. 3,41–5,10) (Johnston & Mawson, 1944). *Contracaecum variegatum* posee las extensiones de las aurículas labiales en forma de gancho, el interlabio es menos robusto con un surco más marcado y el número de pares de papilas precloacales es mayor (29–46 vs. 25–31). Además, *C. variegatum* tiene una relación mayor: longitud del

cuerpo / ancho del cuerpo (29,1-55,0 vs. 17,7-30,5 en los machos; 34,0-98,7 vs. 19,0-33,8 en las hembras) (Hartwich, 1964; Fagerholm et al., 1996).

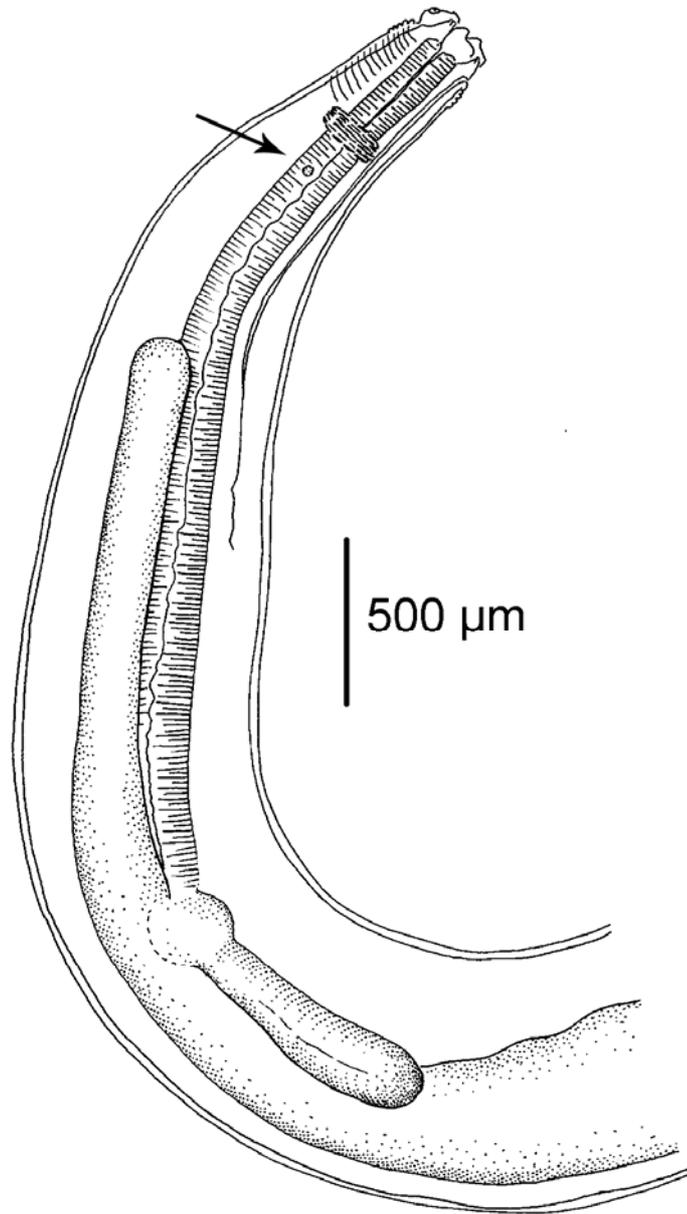
Las pruebas de ANOVA corroboraron que no hubieron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los caracteres morfológicos de los especímenes provenientes de *S. magellanicus* y *T. melanophris* de Península Valdés.

Referencia	Johnston & Mawson (1942)	Lent & Freitas (1948)	Portes Santos (1984)	Fagerholm (1996)	Presente estudio	Presente estudio
Especie hospedadora	<i>T. melanophris</i>	<i>T. melanophris</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>T. melanophris</i>	<i>S. magellanicus</i>
Localidad	New South Wales Australia	Costa de Maldonado, Uruguay	Bahía Guanavara Río de Janeiro, Brazil	Costa Sudafricana	Playa Fracasso Península Valdés	Ea. San Lorenzo, Punta Norte Península Valdés
<i>Macho</i> (n)	-	7	3	2	4	10
Longitud del cuerpo	30-33	25,12-28,81	31,03-31,77	20,10-23,0	22,18 (20,44-25,52)	17,56 (11,00-25,08)
Ancho máximo del cuerpo	-	0,80-0,90	0,53-0,55	0,40-0,41	0,75 (0,55-0,90)	0,67 (0,56-0,96)
Distancia del EA al AN	-	0,50-0,53	0,55-0,75	0,86-0,88	0,48 (0,38-0,61)	0,46 (0,36-0,51)
Distacia del EA a D	-	0,61-0,70	0,60-0,86	0,66-0,65	0,61 (0,53-0,69)	0,65 (0,57-0,73)
Longitud del esófago	2,61-3,40	2,88-3,55	3,47-3,95	2,28-2,94	2,88 (2,36-3,88)	2,78 (1,90-3,97)
Longitud del ciego intestinal	1,74-2,26	2,10-2,68	2,11-3,08	1,80-2,30	2,23 (1,88-2,98)	1,97 (1,56-2,68)
Longitud del ventrículo	-	0,23-0,25	-	0,16-0,17	0,21 (0,18-0,23)	0,22 (0,16-0,26)
Longitud del apéndice ventricular	0,53-0,69	0,67-0,91	0,64-0,95	0,63-0,66	0,64 (0,59-0,80)	0,74 (0,63-0,83)
Longitud de las espículas	5,23	4,32-4,48	4,10-4,75	4,25-4,45	4,87 (4,81-4,90)	4,10 (3,07-5,07)
Longitud de la cola	0,18	0,20-0,23	0,09-0,22	0,14	0,16 (0,12-0,20)	0,18 (0,11-0,29)
P papilas precloacales	numerosas	25	28-31	-	30-31	25-31
P papilas postcloacales	6	7	7	-	7	7
P papilas paracloacales	2	2	2	2	2	2
P papilas distales subventrales	2	2	2	2	2	2
P papilas distales sublaterales	2	2	2	2	2	2
Papila medial	-	-	-	1	-	-

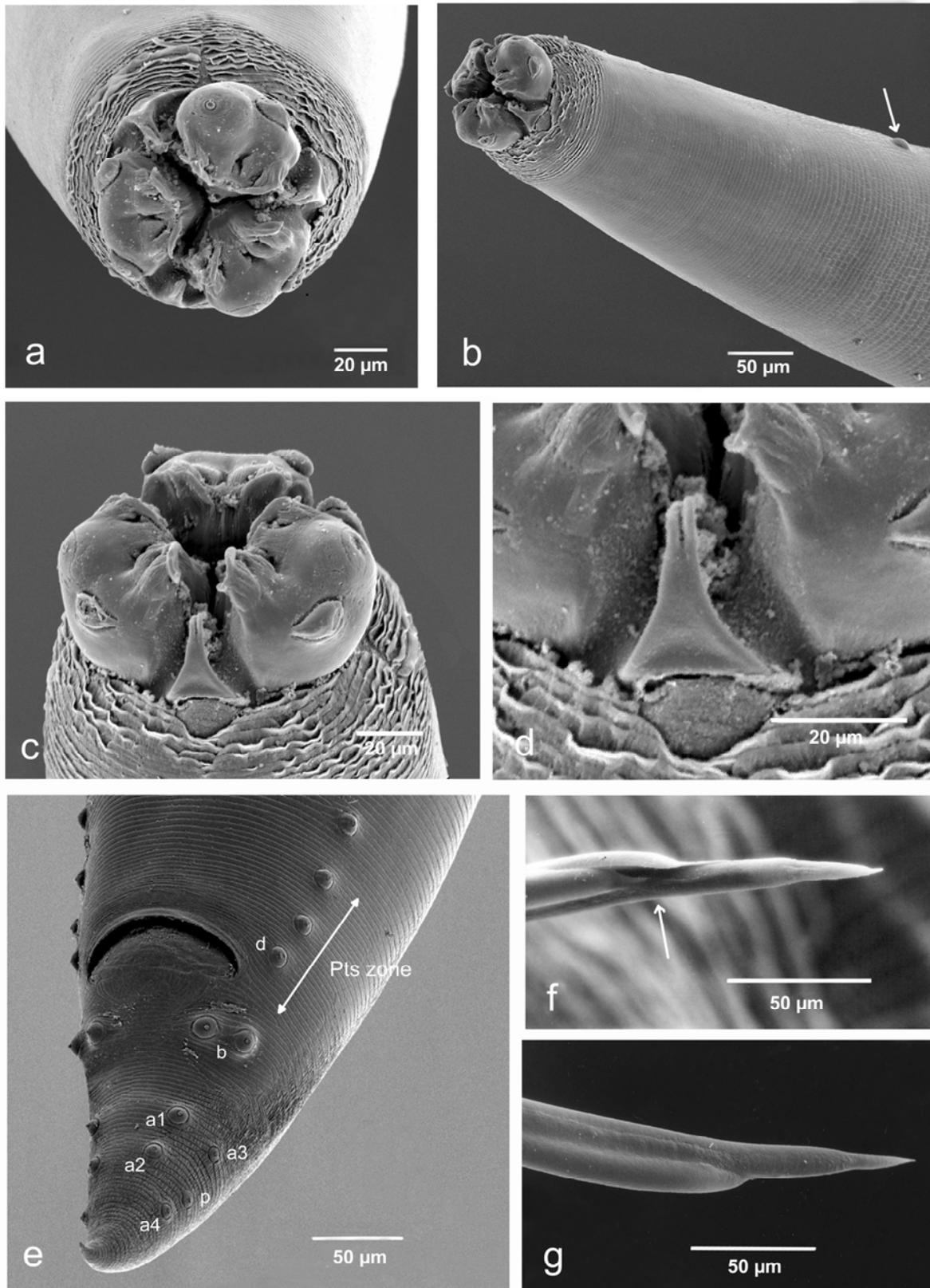
**Tabla 1.** Datos morfométricos de machos adultos de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Spheniscus magellanicus* y *Thalassarche melanophris* de Península Valdés, Chubut. Referencias: EA= extremo anterior, P= pares, AN= anillo nervioso, D= deiridos.

Referencia	Johnston & Mawson (1942)	Lent & Freitas (1948)	Portes Santos (1984)	Fagerholm (1996)	Presente estudio	Presente estudio
Especie hospedadora	<i>T. melanophris</i>	<i>T. melanophris</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>T. melanophris</i>	<i>S. magellanicus</i>
Localidad	New South Wales Australia	Costa de Maldonado, Uruguay	Bahía Guanavara Río de Janeiro, Brazil	Costa Sudafricana	Playa Fracaso Península Valdés	Ea. San Lorenzo, Punta Norte Península Valdés
Hembra (n)	-	4	11	1	4	10
Largo del cuerpo	35,00-38,00	31,15-36,01	40,96-52,53	26,10	35,33 (32,60-39,20)	24,17(17,56-33,05)
Ancho máximo del cuerpo	-	1,07-1,14	0,69-0,75	0,85	0,82 (0,79-0,85)	0,94 (0,52-1,48)
Distancia del EA al AN	-	0,55-0,61	0,47-0,56	0,54	0,57 (0,51-0,61)	0,55 (0,48-0,65)
Distacia del EA a D	-	0,66-0,83	0,58-0,95	0,60	0,64 (0,58-0,71)	0,72 (0,62-0,90)
Longitud del esfago	-	2,98-3,52	2,99-3,77	2,96	3,74 (3,22-4,60)	3,03 (2,81-3,32)
Longitud del ciego intestinal	-	2,18-2,85	2,34-3,90	2,23	2,73 (2,28-3,20)	2,38 (2,10-2,74)
Longitud del ventriculo	-	0,25-0,31	-	0,21	0,21 (0,16-0,26)	0,22 (0,17-0,26)
Longitud del apéndice ventricular	-	0,63-0,76	0,39-0,76	0,68	0,86 (0,79-0,91)	0,72 (0,65-0,82)
Distancia del EA a vulva	11,66-12,66	6,70-12	7,91-15,12	8,41	9,75 (8,20-11,90)	6,94 (5,28-9,23)
Longitud de la cola	0,32	0,33-0,43	0,27-0,61	0,41	0,36 (0,31-0,43)	0,41 (0,30-0,63)
Huevo embrionado	0,04-0,05/ 0,07-0,08	0,050/ 0,067	0,05-0,06	0,06-0,068	0,064 (0,062-0,066)	0,060

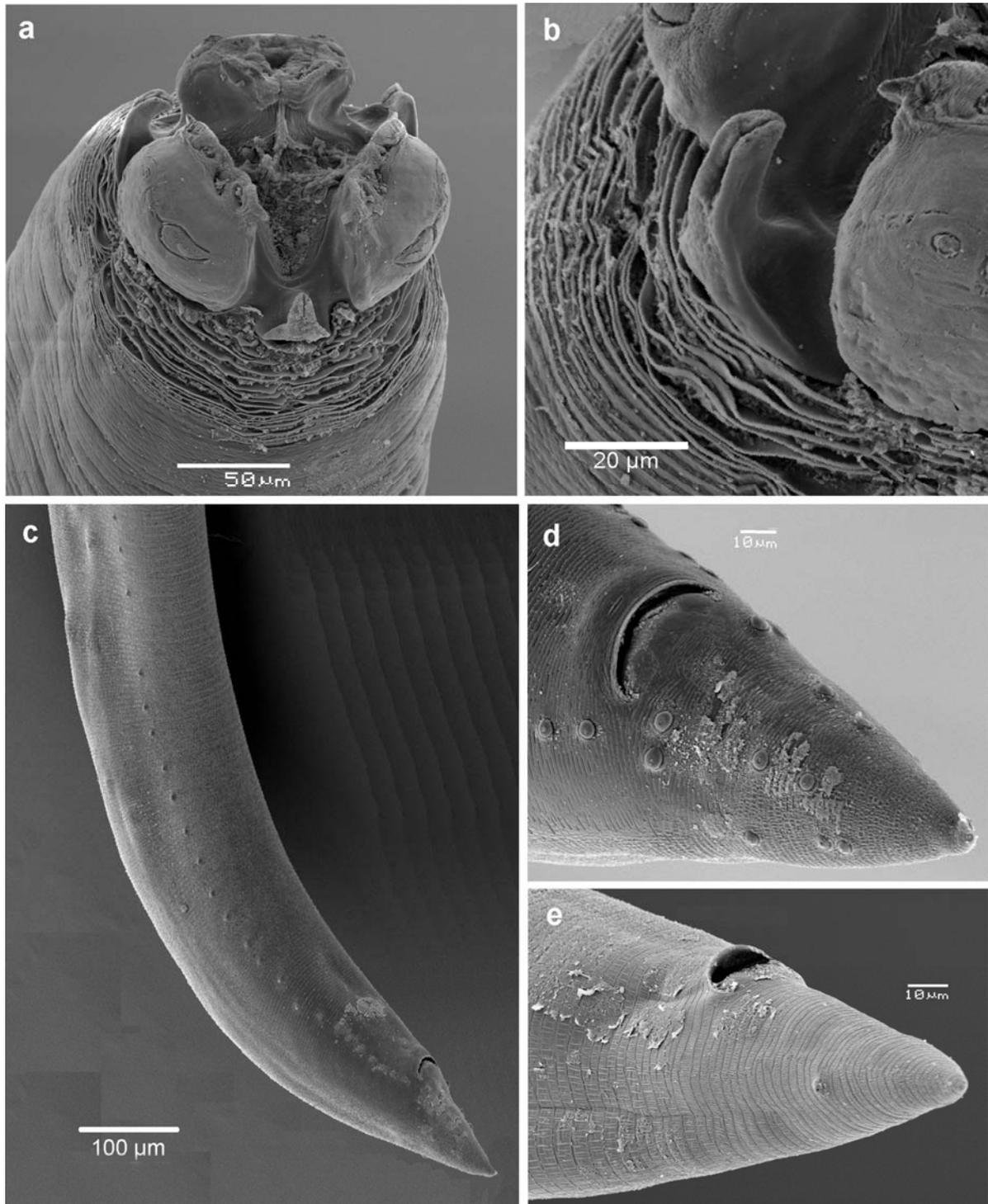
**Tabla 2.** Datos morfométricos de hembras adultas de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 provenientes de *Spheniscus magellanicus* y *Thalassarche melanophris* de Península Valdés, Chubut. Referencias: EA= extremo anterior, P= pares, AN= anillo nervioso, D= deiridos.



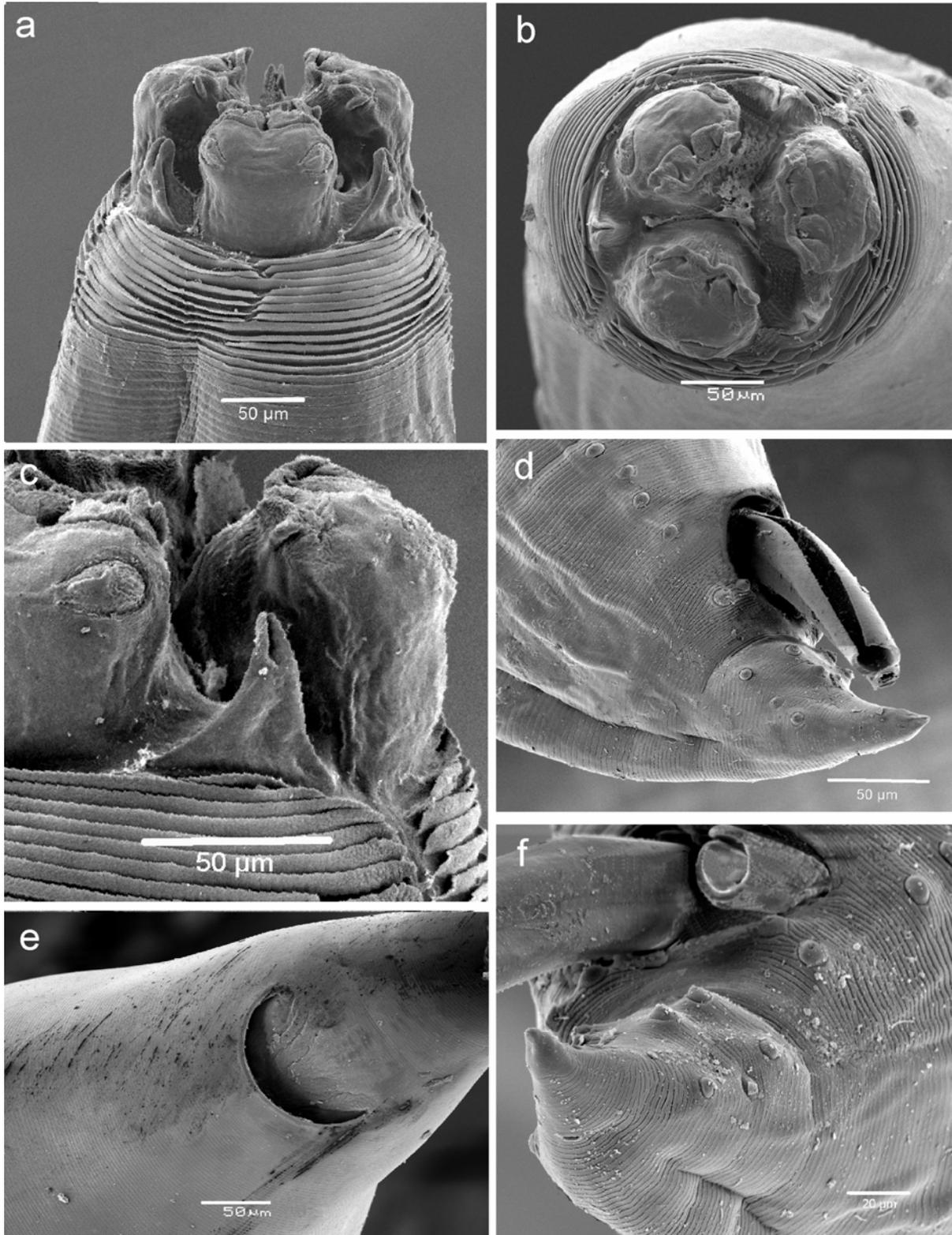
**Figura 6.** *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Spheniscus magellanicus* de Península Valdés, Chubut. Adulto: extremo anterior, anillo nervioso, ducto excretor, esófago, ciego intestinal, ventrículo, apéndice ventricular, y deirido (flecha).



**Figura 7.** *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Spheniscus magellanicus* de Península Valdés. Adulto: (a) detalle del extremo anterior, vista apical; (b) extremo anterior, vista lateroventral, collar cefálico y deiridos (flecha); (c) extremo anterior, collar cefálico mostrando zonas sin estriaciones en V, poro excretor, labios, interlabios, papilas labiales, aurículas y hendiduras; (d) detalles del interlabio y el poro excretor; (e) extremo del macho, detalles de las papilas pre y postcloacales: a1–a2= papilas subventrales, a3–a4= papilas sublaterales, b= papilas paraclocales, d= papilas preclocales proximales, p= fásmido; (f) vista apical ventral de una espícula; (g) vista apical dorsal de una espícula.



**Figura 8.** *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Thalassarche melanophris* de Península Valdés, Chubut. Adulto: (a) detalle del extremo anterior, vista apical; (b) detalle del interlabio, aurícula labial; (c) extremo posterior del macho, disposición de papilas pre y postcloacales; (d) extremo posterior del macho, detalles de las papilas postcloacales; (e) extremo posterior de la hembra.



**Figura 9.** *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Phalacrocorax a. albiventer* de Punta León, Chubut. Adulto: (a) detalle del extremo anterior, vista lateral; (b) extremo anterior, vista apical; (c) detalle del interlabio, aurícula y papila labial; (d, f) extremo posterior del macho, disposición de papilas pre y postcloacales; (e) extremo posterior de la hembra.

***Contracecum pelagicum*** Johnston & Mawson, 1942

*Larva de cuarto estadio* (L4) (20 especímenes de *S. magellanicus* de Península Valdés, Tabla 3, Figs. 10a–e): cutícula transversalmente estriada especialmente marcada en la extremidad anterior formando un notorio collar cefálico con una región lateral en forma de V sin estriaciones (Figs. 10b, c, d). Extremo oral con 3 labios bien desarrollados con extensiones en forma de ala en sus esquinas anteriores (Figs. 10b, c). Labio dorsal con 2 papilas cefálicas y 2 papilas pequeñas interiores. Cada labio ventrolateral tiene una papila interior pequeña, una papila cefálica doble y un ánfido (Figs. 10b, c). Glándula excretora bien desarrollada, localizada posteriormente al apéndice ventricular, cerca del núcleo (Fig. 10a). Deiridos inconspicuos localizados posteriormente al anillo nervioso (Figs. 10a, d, ver flechas). Ventrículo pequeño y subsférico. Ciego intestinal ubicado dorsalmente al esófago, más largo que el apéndice ventricular (Fig. 10a). Cola cónica sin mucrón (Fig. 10e). Fásmidos bien desarrollados (Fig. 10e, ver flecha).

**Resumen taxonómico**

Sitios de infección: esófago y estómago.

Prevalencia: 100% para *S. magellanicus* de Península Valdés (n= 20); 100% para *S. magellanicus* de Mar del Plata (n= 4) y 100% para *T. melanophris* de Península Valdés (n= 3).

Intensidad media: 283 para *S. magellanicus* de Península Valdés.

Depósito de especímenes: Colección Helminológica del Museo de La Plata (5592 CHMLP), Buenos Aires.

**Comentarios**

La presencia de ciego intestinal y apéndice ventricular permite incluir a estos especímenes dentro del género *Contracecum*. Los labios están bien desarrollados pero carecen de interlabios lo cual caracteriza normalmente a las larvas de cuarto estadio (Berland, 1989; Fagerholm, 1990; Fagerholm et al., 1996). Hasta el presente existen pocas descripciones de larvas de *Contracecum* de cuarto estadio. Las larvas L4 de *Contracecum pelagicum* del presente estudio parecen ser muy similares a aquellas de *C. magnipapillatum* descritas por Fagerholm et al. (1996) en *A. minutus*. Sin embargo, las extensiones alares de las aurículas labiales son más grandes en los especímenes anteriores. Las medidas de las larvas de cuarto estadio de *C. rudolphii* también son muy similares a aquéllas estudiadas

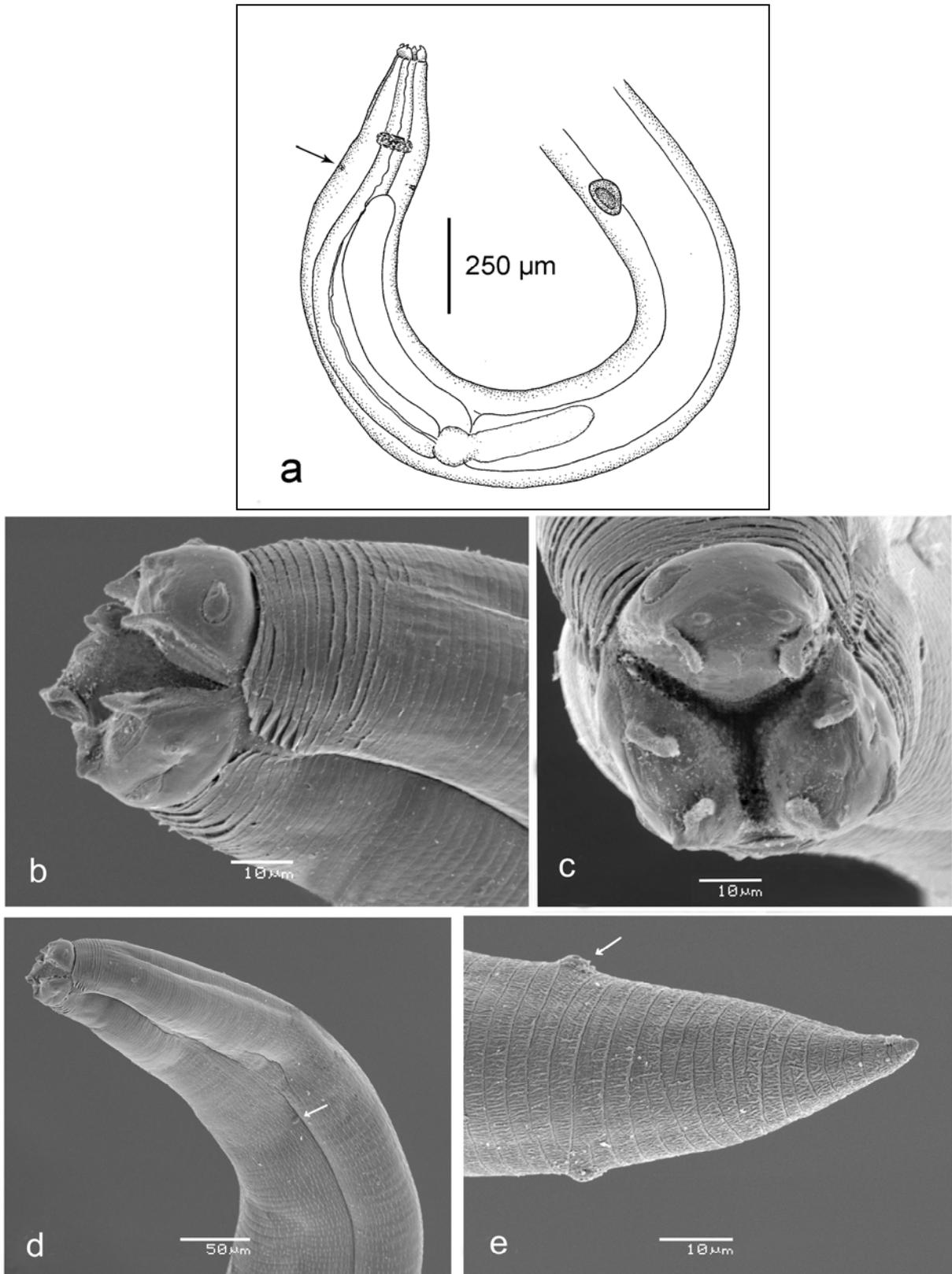
aquí aunque estas poseen interlabios, rasgo normalmente ausente en larvas de cuarto estadio (Barus et al., 2000); quizás estos especímenes podrían pertenecer a un estadio preadulto o adulto inmaduro. Las larvas de cuarto estadio de *C. osculatum* no tienen expansiones auriculares lo cual las diferencia de las L4 encontradas en *S. magellanicus* (Fagerholm, 1988).

Carácter morfológico	Península Valdés, Chubut	Mar del Plata, Buenos Aires	Probabilidad (p)
Longitud del cuerpo	6,40 (4,52-7,84)	5,23 (3,77-6,68)	0,014
Ancho máximo del cuerpo	0,20 (0,16-0,24)	0,20 (0,12-0,27)	0,943
Distancia del EA al AN	0,24 (0,08-0,33)	0,24 (0,17-0,28)	0,959
Distancia del EA a D	0,29 (0,21-0,38)	0,33 (0,22-0,43)	0,385
Longitud de la cola	0,14 (0,12-0,16)	0,13 (0,10-0,16)	0,418
Longitud del esófago	0,99 (0,74-1,26)	1,08 (0,76-1,38)	0,229
Longitud del ciego intestinal	0,56 (0,41-0,70)	0,74 (0,50-0,94)	0,011
Longitud del apéndice ventricular	0,41 (0,30-0,67)	0,34 (0,22-0,43)	0,374
Longitud del ventrículo + AV	0,43 (0,36-0,64)	0,42 (0,28-0,51)	0,745
Distancia del EA a la glándula excretora	5,03 (4,01-5,47)	3,64 (2,80-4,60)	0,003

**Tabla 3.** Datos morfométricos y ANOVA de larvas de cuarto estadio (L4) de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 en *Spheniscus magellanicus* de Península Valdés y Mar del Plata. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos, AV= apéndice ventricular.

Carácter morfológico	Larva de tercer estadio	Larva de cuarto estadio
	Timi et al., 2001	Presente estudio
Longitud del cuerpo	5,01 (4,06-5,82)	5,23 (3,77-6,68)
Ancho máximo del cuerpo	0,19 (0,16-0,24)	0,20 (0,12-0,27)
Distancia del EA al AN	0,20 (0,16-0,24)	0,24 (0,17-0,28)
Distancia del EA a D	0,29 (0,24-0,34)	0,33 (0,22-0,43)
Longitud de la cola	0,10 (0,09-0,13)	0,13 (0,10-0,16)
Longitud del esófago	0,5 (0,40-0,63)	1,08 (0,76-1,38)
Longitud del ciego intestinal	0,26 (0,21-0,34)	0,74 (0,50-0,94)
Longitud del apéndice ventricular	-	0,34 (0,22-0,43)
Longitud del ventrículo + AV	0,36 (0,30-0,43)	0,42 (0,28-0,51)
Distancia del EA a la glándula excretora	0,69 (0,39-0,96)	3,64 (2,80-4,60)

**Tabla 4.** Datos morfométricos de larvas de tercer estadio (L3) de *Contracaecum* sp. provenientes de *Engraulis anchoita* de Mar del Plata comparadas con larvas de cuarto estadio de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 de *Spheniscus magellanicus* del mismo sitio.



**Figura 10.** *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *Spheniscus magellanicus* de Península Valdés, Chubut. Larvas de cuarto estadio (L4): (a) extremo anterior, glándula excretora, ciego intestinal, ventrículo, apéndice ventricular, y deiridos (flecha); (b) extremo anterior, vista lateral; (c) extremo anterior, vista sagital; (d) extremo anterior, vista lateral, deirido (flecha); (e) extremo posterior, vista dorsal, fémidos (flecha).

---

***Contracecum chubutensis*** Garbin, Díaz, Cremonte & Navone, 2008**\*Descripción**

*Morfología general* (20 especímenes adultos provenientes de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante, Tablas 5 y 6, Figs. 11 y 12): cutícula completamente estriada transversalmente (Figs. 11a, b, e, f), collar cefálico conspicuo con bordes libres concéntricos profundos y con una región lateral estrecha en forma de “V” sin estriaciones (Figs. 11b-e). Labios con 3 muescas o hendiduras apicales, una central más profunda y grande que las laterales (Figs. 11b-e); con 2 aurículas cada uno y extensiones ubicadas oblicuamente al eje longitudinal del cuerpo, con botones sensoriales (tips) a nivel de las hendiduras apicales (Figs. 11b-e, ver flechas). Papilas labiales grandes, 2 sobre el labio dorsal y 1 en cada labio ventrolateral (Figs. 11b, c, e). Tres interlabios de forma triangular más cortos que los labios con una profunda bifurcación (Figs. 11a-e). Deiridos discretos con forma de botón (Figs. 11a, 10a, ver flechas).

*Macho* (holotipo): longitud del cuerpo 25,92, ancho máximo del cuerpo 0,83. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y a los deiridos: 0,58 y 0,66, respectivamente. Longitud del esófago 3,62; longitud del ciego intestinal 2,41; longitud del ventrículo 0,30; longitud del apéndice ventricular 0,80 (Fig. 12a). Espículas de igual longitud alcanzando casi la mitad de cuerpo. Longitud de las espículas 10,82 (Fig. 12b). Longitud de la cola 0,19 (Fig. 12c). Extremidad caudal cónica mostrando 39 pares de papilas precloacales. Pts-zone abarcando 3 pares de papilas precloacales (Fig. 11f). Siete pares de papilas postcloacales; 2 pares de papilas paracloacales grandes situadas al lado de la cloaca en posición transversal al eje del cuerpo, 2 pares subventrales, 2 pares sublaterales y 1 par de fásmidos ubicados entre estas últimas (Figs. 11f, 12c). Extremo distal de la espícula extendido y puntiagudo, de longitud mayor al ancho de la espícula (0,057 vs. 0,024). Valvas de la espícula insertadas distalmente y en puntos diferentes (Figs. 11g, 12c) (Machos paratipos, ver Tabla 5).

*Hembra* (alotipo): longitud del cuerpo 29,20. Ancho máximo del cuerpo 0,99. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y deiridos: 0,54 y 0,63, respectivamente. Longitud del esófago 3,12; longitud del ciego intestinal 2,08; longitud del ventrículo 0,25; longitud

del apéndice ventricular 0,66. Vulva en la mitad anterior de cuerpo. Distancia del extremo anterior a la vulva 8,72. Longitud de la cola 0,40. Diámetro de huevos (n = 10) embrionados 0,069 (0,065-0,074). (Hembras paratipos, Ver tabla 6)

### Resumen taxonómico

Hospedador tipo: *Phalacrocorax a. atriceps* King (Aves: Phalacrocoracidae).

Localidad tipo: Bahía Bustamante (45°11'S, 66°30'O), Chubut.

Otros sitios: Puerto Madryn (42°47' S, 65°02'O), Chubut.

Sitios de infección: estómago.

Prevalencia: 60% (6/10) para *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante.

Intensidad media: 4,0 para *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante.

Depósito de los especímenes: Holotipo (macho) (5748 CHMLP), alotipo (hembra) (5749 CHMLP) y 18 paratipos (5750 CHMLP), Colección Helmintológica del Museo de La Plata, Buenos Aires.

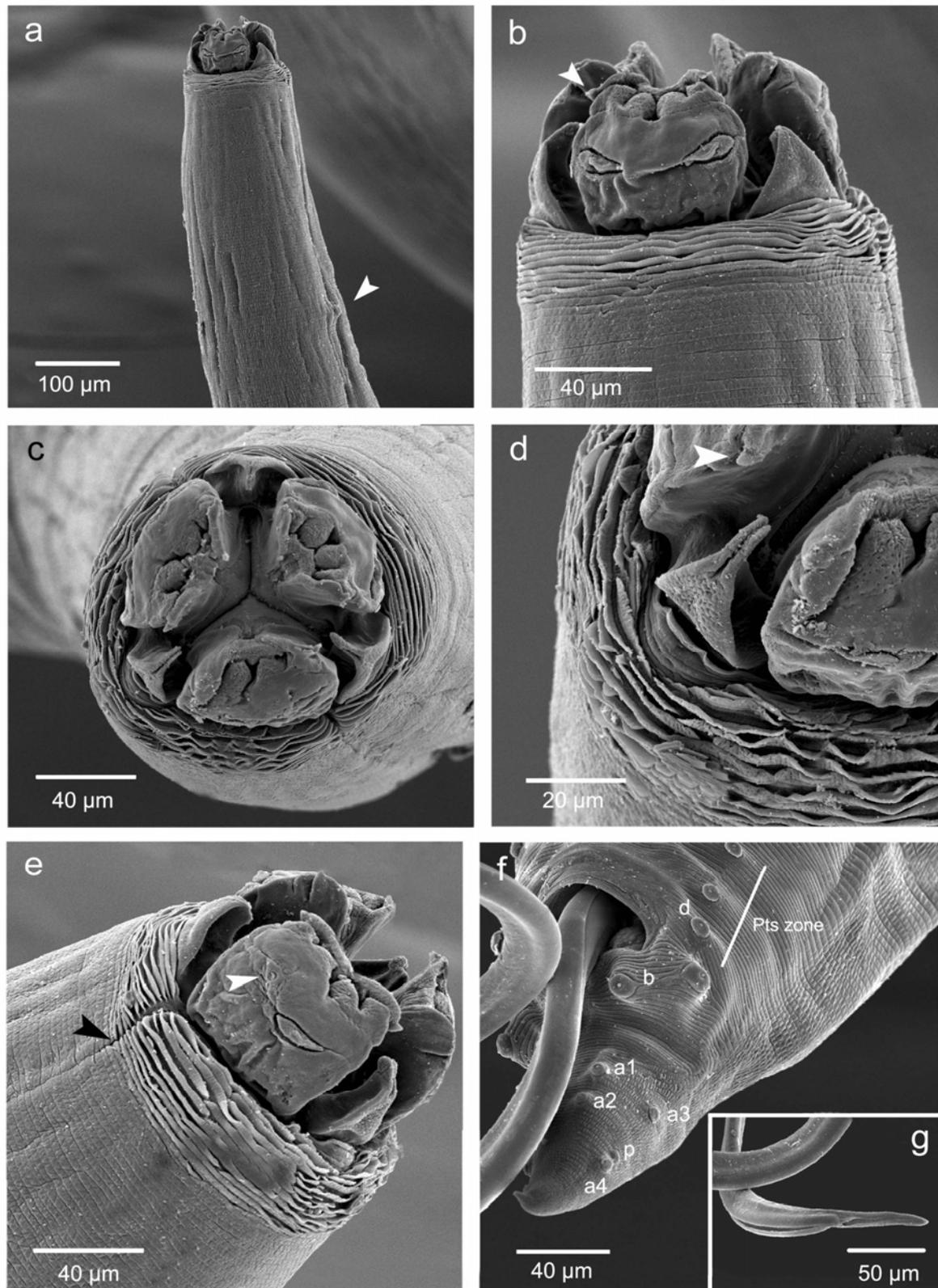
### Comentarios

*Contraecaecum chubutensis* se diferencia de otras especies de *Contraecaecum* que parasitan mamíferos marinos y que solapan su distribución geográfica en el Océano Atlántico sur, tales como *C. osculatum*, *C. radiatum*, *C. ogmorhini* s. s. Johnston & Mawson, 1941, *C. mirounga* y *C. margolisi* Mattiucci et al., 2003, por tener el interlabio bifido (Baylis, 1936; Fagerholm, 1988; Fagerholm et al., 1996; Mattiucci et al., 2003).

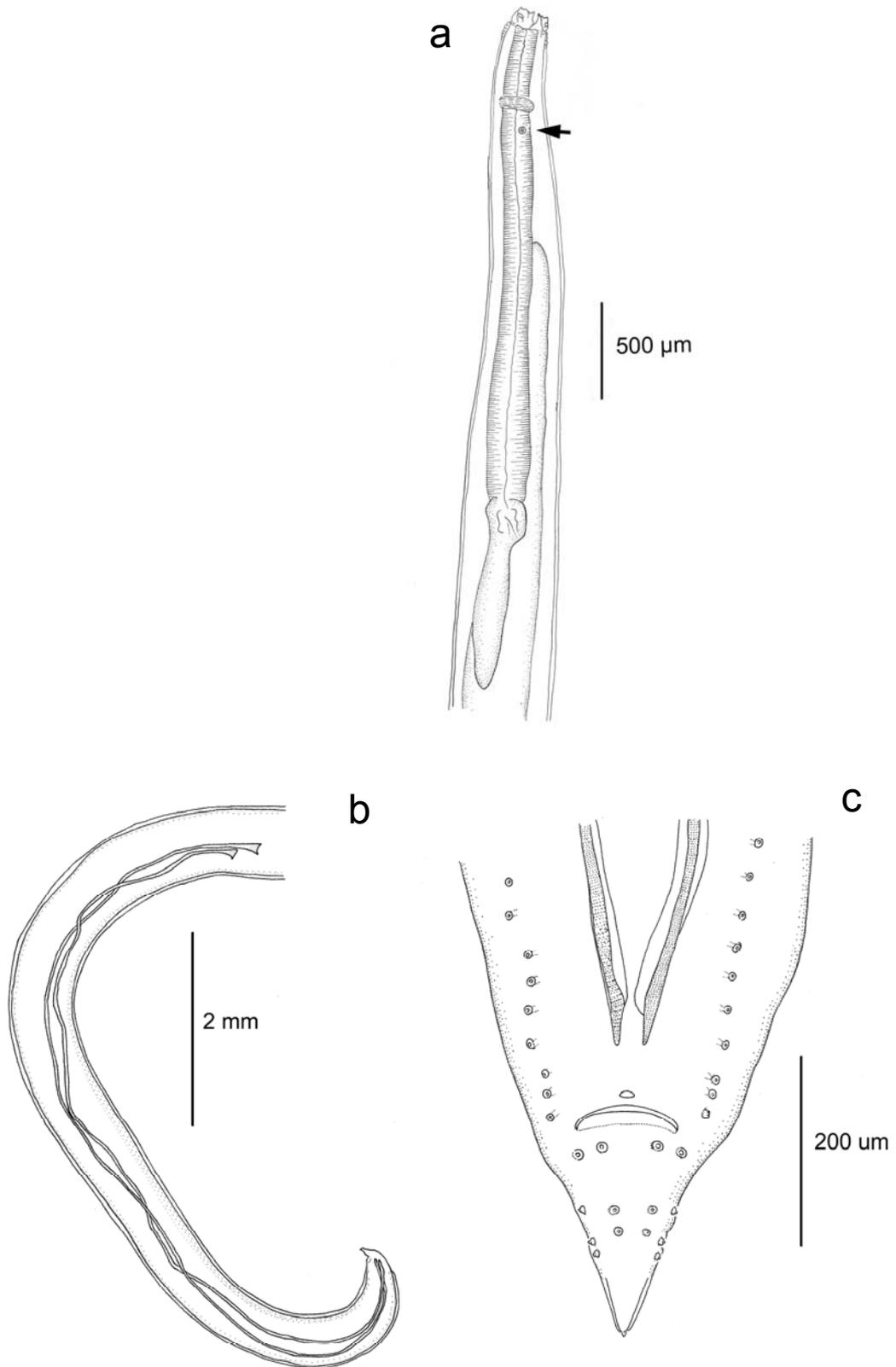
De las especies del género *Contraecaecum* que parasitan aves marinas, *C. variegatum* Rudolphi, 1809 de *Gavia stellata* (Pontoppidan) (Gaviidae), *C. pelagicum* de *S. magellanicus* Foster (Spheniscidae), *C. eudyptulae* Johnston & Mawson, 1944 de *Eudyptula minor* (Forster) (Spheniscidae) y *C. plagiaticium* Lent & Freitas, 1948 de *Nycticorax nycticorax naevius* (Bodd.) (Ardeidae), son similares a *C. chubutensis* por tener interlabios bifurcados (Johnston & Mawson, 1944; Fagerholm et al., 1996). Sin embargo, *C. variegatum* posee un interlabio más largo, más delgado en la base y con un surco más notorio. Además posee más del doble de papilas precloacales, sus espículas son más cortas (4,40-4,86 vs. 5,88-12,60) y por consiguiente, la relación longitud del cuerpo / longitud de espícula (LC/LEs) es mayor (4,00-6,50 vs. 2,18-3,13) (Fagerholm et al., 1996). *Contraecaecum pelagicum* puede diferenciarse de *C. chubutensis*, principalmente por sus muescas o hendiduras labiales menos profundas, la forma redondeada de sus labios, aurículas y papilas labiales más conspicuas y espículas más cortas (3,07-5,07 vs. 5,88-

12,60), por lo tanto la relación LC/LEs es mayor (3,40-5,10 vs. 2,18-3,13) (Garbin et al., 2007). *Contracaecum eudypulae* posee un ciego intestinal más corto, menor número de papilas precloacales y postcloacales (12 y 6 pares respectivamente) y una disposición oblicua de las papilas paraclacales (Johnston & Mawson, 1944). *Contracaecum plagiaticium* tiene las espículas más cortas (2,32-3,49 vs. 5,88-12,60), una relación LC/LEs mayor (4,80-5,40 vs. 2,18-3,13) y 8 pares de papilas postcloacales (1 par más de papilas subventrales) (Lent & Freitas, 1948). *Contracaecum magnipapillatum* (= *C. magnicollare*) Johnston & Mawson, 1941, de *Anous minutus* y *C. septentrionale* Kreis, 1955 de *Phalacrocorax aristotelis* (Linnaeus) (Phalacrocoracidae) comparten algunos rasgos morfológicos con *C. chubutensis*, tales como el número y el patrón de distribución espacial de papilas postcloacales. Sin embargo, difieren de *C. chubutensis* por la ausencia de interlabios bifurcados (Johnston & Mawson, 1941; Gutiérrez, 1943; Kreis, 1955; Hartwich, 1964; Fagerholm et al., 1996).

Entre las especies de *Contracaecum* que parasitan cormoranes (Phalacrocoracidae) de las costas sureñas de América del Sur, *C. travassosi* en *P. a. atriceps* puede diferenciarse de *C. chubutensis* por la forma roma de su cola con una constricción a nivel de las papilas distales subventrales, una disposición de las papilas paraclacales oblicua a 45° con respecto al eje longitudinal del cuerpo y las muescas del labio poco profundas (Gutiérrez, 1943). *Contracaecum caballeroi* Bravo Hollis, 1939, en el biguá *P. brasilianus*, puede distinguirse de *C. chubutensis* por tener interlabios no bifurcados, espículas muy cortas (0,90-1,09 vs. 5,88-12,60) y por lo tanto la relación LC/LEs mucho mayor (24,74-26,98 vs. 2,18-3,13) (Lent y Freitas, 1948). *Contracaecum rudolphi* en *P. carbo* es la especie más similar a *C. chubutensis*. Sin embargo, puede distinguirse por sus labios redondeados con papilas más conspicuas, forma de la cola roma con una constricción a nivel de las papilas distales subventrales, disposición oblicua de las papilas paraclacales, papilas del primer par distal subventral más separadas (42-50  $\mu\text{m}$  vs. 37  $\mu\text{m}$ ) y el extremo distal de la espícula más corto y romo ( $\approx 30$   $\mu\text{m}$  vs. 58  $\mu\text{m}$ ) (Hartwich, 1964; Barus et al., 2000; Abollo et al., 2001; Amato et al., 2006).



**Figura 11.** *Contracaecum chubutensis* Garbin, Díaz, Cremonte & Navone, 2008, proveniente de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante, Chubut. (a) Detalles de extremo anterior, deiridos (flecha); (b) extremo anterior, vista laterodorsal, collar cefálico, labio dorsal, interlabio, papilas labiales, botón sensorial de la aurícula (flecha); (c) extremo anterior, vista apical, labios, interlabios, papilas labiales, aurículas y hendiduras labiales; (d) detalles del interlabio, hendiduras labiales, botón sensorial auricular (flecha), y poro excretor; (e) extremo anterior, vista laterodorsal, labio ventrolateral, papila labial doble, ánfido (flecha blanca), collar cefálico, región sin estriaciones en V (flecha negra); (f) extremo posterior del macho, distribución del papilas postcloacales: a1–a2= papilas distales subventrales, a3–a4= papilas distales sublaterales, b= papilas post paraocloacales, d= papilas proximales precloacales, p= fásmidos; (g) extremo distal de la espícula, vista lateroventral.



**Figura 12.** *Contracaecum chubutensis* Garbin, Díaz, Cremonte & Navone, 2008 proveniente de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante, Chubut. (a) Extremo anterior de un espécimen adulto; (b) extremo posterior del macho mostrando las espículas; (c) extremo posterior del macho mostrando la disposición de las papilas pre y postcloacales, y ambos extremos de las espículas.

Especie	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. caballeroi</i> Bravo Hollis, 1939	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>C. chubutensis</i>	<i>C. chubutensis</i>
<b>Referencias</b>	Hartwich, 1964 Barus, 2000 Abollo, 2001	Lent & Freitas, 1948	Gutiérrez, 1943	Presente estudio	Presente estudio
<b>Hospedador tipo</b>	<i>P. carbo</i>	<i>Anhinga anhinga</i>	<i>P. a. albiveter</i>	<i>P. a. atriceps</i>	<i>P. a. atriceps</i>
<b>Otros hospedadores</b>	<i>Phalacrocorax</i> spp. Phalacrocoracidae Charadriiformes Ciconiiformes	<i>P. brasilianus</i>	<i>P. brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus</i>	-	-
<b>Localidades</b>	Cosmopolita	México Uruguay	Chubut, Argentina	Bahía Bustamante Chubut, Argentina	Puerto Madryn Chubut, Argentina
<b>Machos (n)</b>	39	3	Sin datos	10	5
Longitud del cuerpo	12,10 - 33,90	24,29 - 26,97	16,10-25,40	25,06 (14,32-38,58)	19,39 (11,60-28,51)
Ancho máximo del cuerpo	0,24 - 0,95	0,53 - 0,64	0,70-1,10	0,77 (0,43-0,98)	0,65 (0,58-0,74)
Distancia del EA al AN	-	0,43 - 0,45	0,45-0,64	0,52 (0,36-0,60)	0,47 (0,33-0,55)
Distancia del EA a D	-	0,44 - 0,48	-	0,64 (0,46-0,84)	0,57 (0,43-0,66)
Longitud del esófago	2,03 - 4,26	3,18 - 3,48	2,80-4,10	3,39 (2,32-4,50)	2,83 (2,08-3,93)
Longitud del ciego intestinal	1,53 - 3,68	2,71 - 3,01	1,90-3,20	2,25 (1,50-2,76)	2,17 (1,58-3,04)
Longitud del ventrículo	-	0,10 - 0,10	-	0,23 (0,13-0,30)	0,18 (0,15-0,21)
Longitud del apéndice ventricular	-	0,51 - 0,61	0,74-1,30	0,67 (0,46-0,80)	0,64 (0,48-0,75)
Longitud de las espículas	4,05 - 9,98	0,90 - 1,09	7,70-11,10	9,95 (6,40-12,60)	8,43 (5,34-10,35)
Longitud de la cola	0,14 - 0,24	0,13 - 0,15	0,19-0,26	0,20 (0,17-0,26)	0,20 (0,15-0,25)
P papilas precloacales	27-43	40	26 - 30	35-43	35-36
LC/ AMC	52,3 (29,4 - 98,1)	42,14 - 45,83*	23,00 - 23,09*	33,19 (27,68 - 39,32)	29,76 (19,97 - 46,66)
LC/ LE	8,0 (5,25 - 10,8)	7,64 - 7,75*	5,75 - 6,19*	7,33 (6,15 - 9,27)	6,74 (4,87 - 7,54)
LC/ LCo	131,8 (74,1 - 197,2)	179,80 - 186,84*	84,74 - 97,69*	124 (83,74 - 214,32)	94,5 (72,34 - 113,13)
LE/ LCI	1,3 (1,11 - 1,54)	1,16 - 1,17*	1,28 - 1,49*	1,52 (1,44 - 1,63)	1,30 (1,26 - 1,36)
LE/ LAV	3,25 (1,82 - 4,25)	5,70 - 6,23*	3,15 - 3,78*	4,90 (3,49 - 6,02)	4,78 (4,20 - 5,20)
LC/ LEs	3,86 (2,06 - 5,69)	24,74 - 26,99*	2,09 - 2,28*	2,58 (2,18 - 3,14)	2,51 (2,24 - 2,75)

**Tabla 5.** Datos morfométricos de machos adultos de *Contraecaecum chubutensis* Garbin, Díaz, Cremonte & Navone, 2008, provenientes de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante y Puerto Madryn, Chubut. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos, P= pares; LC/ AMC = relación longitud cuerpo / ancho máximo del cuerpo; LC/ LE = relación longitud cuerpo / longitud del esófago; LC/ LCo = relación longitud del cuerpo / largo de cola; LE/ LCI = relación longitud del esófago / longitud del ciego intestinal; LE/ LAV = relación longitud del esófago / longitud del apéndice ventricular; LC/ LEs = relación longitud del cuerpo / longitud de espícula; \* = relación calculada con valores máximos y mínimos.

Especie	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. caballeroi</i> Bravo Hollis, 1939	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>C. chubutensis</i>	<i>C. chubutensis</i>
Referencias	Hartwich, 1964 Barus, 2000 Abollo, 2001	Lent & Freitas, 1948	Gutiérrez, 1943	Presente estudio	Presente estudio
Hospedador tipo	<i>P. carbo</i>	<i>Anhinga anhinga</i>	<i>P. a. albiventer</i>	<i>P. a. atriceps</i>	<i>P. a. atriceps</i>
Otros hospedadores	<i>Phalacrocorax</i> spp. Phalacrocoracidae Charadriiformes Ciconiiformes	<i>P. brasiliensis</i>	<i>P. brasiliensis</i> <i>Pandion haliaetus</i>	-	-
Localidades	Cosmopolita	México Uruguay	Chubut, Argentina	Bahía Bustamante Chubut, Argentina	Puerto Madryn Chubut, Argentina
Hembras (n)	36	-	Sin datos	10	2
Longitud del cuerpo	10,10 - 57,60	-	22,7 - 31,5	29,60 (21,98 - 35,33)	17,97 (15,30 - 20,64)
Ancho máximo del cuerpo	0,29 - 1,51	-	1,10 - 1,50	0,90 (0,61 - 1,27)	0,75 (0,61 - 0,89)
Distancia del EA al AN	-	-	0,59 - 0,73	0,56 (0,48 - 0,62)	0,63 (0,52 - 0,74)
Distancia del EA a D	-	-	-	0,69 (0,58 - 0,80)	0,66 (0,55 - 0,76)
Longitud del esófago	1,62 - 5,48	-	3,50 - 4,80	3,05 (1,19 - 4,28)	2,74 (2,36 - 3,12)
Longitud del ciego intestinal	1,28 - 4,12	-	2,70 - 4,20	1,91 (1,08 - 2,93)	1,88 (1,60 - 2,16)
Longitud del ventrículo	-	-	0,89 - 1,60	0,24 (0,16 - 0,26)	0,18 (0,16 - 0,21)
Longitud del apéndice ventricular	-	-	-	0,74 (0,66 - 0,94)	0,63 (0,58 - 0,68)
Distancia de vulva al EA	5,12 - 17,7	-	18,60 - 21,00	9,57 (8,32 - 11,56)	7,63 (6,54 - 8,72)
Longitud de la cola	0,19 - 0,63	-	0,43 - 0,54	0,41 (0,30 - 0,65)	0,36 (0,30 - 0,41)
Huevo embrionado	0,059 - 0,073	-	0,068	0,070 (0,06 - 0,07)	0,068

**Tabla 6.** Datos morfométricos de hembras adultas de *Contraecacum chubutensis* Garbin, Díaz, Cremonte & Navone, 2008, provenientes de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante y Puerto Madryn, Chubut. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos.

***Contracaecum* sp.**

*Larva de cuarto estadio* (L4) (10 especímenes de Bahía Bustamante, Tabla 7; Fig. 13): Cutícula estriada transversalmente especialmente marcada en la extremidad anterior formando un collar cefálico bien desarrollado (Figs. 13b, c). Abertura oral con 3 labios bien desarrollados con extensiones en forma de ala dispuestas en sus esquinas anteriores (Figs. 13b, c). Labio dorsal con 2 papilas interiores y 2 papilas cefálicas pequeñas (Fig. 13b). Cada labio ventrolateral posee una sola papila interior (Fig. 13b). Poro excretor abierto justo debajo de los labios ventrolaterales (Fig. 13b, ver flecha). Deiridos inconspicuos localizados posteriormente al anillo nervioso (Fig. 13a, ver flecha). Ventrículo pequeño y subsférico. Ciego intestinal dorsal al esófago, más largo que el apéndice ventricular (Fig. 13a). Cola estriada cónica (Fig. 13d).

**Resumen taxonómico**

Sitios de infección: esófago y estómago.

Prevalencia: 80% (8/10) para *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante.

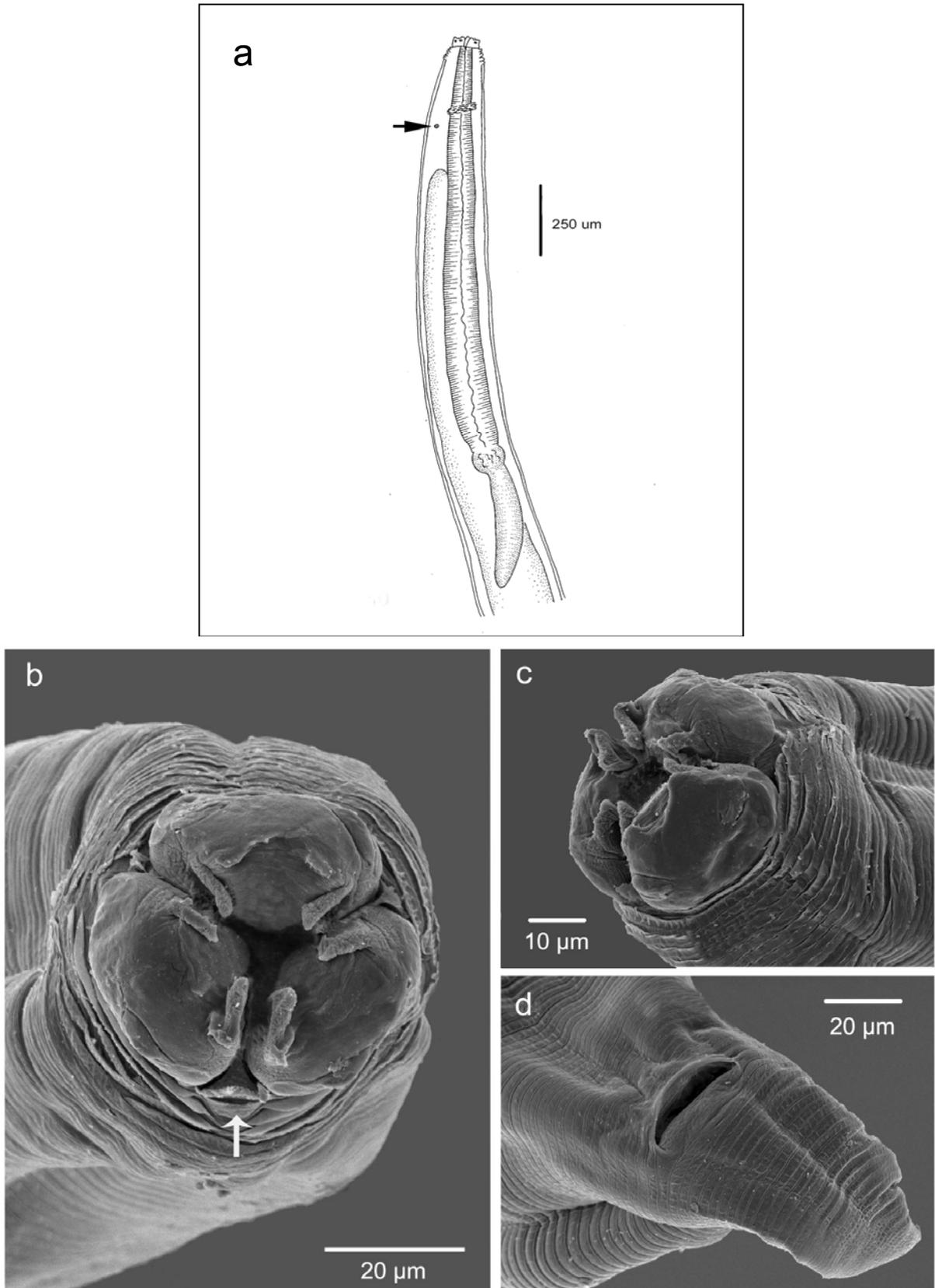
Intensidad media: 8,5 para *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante.

Depósito de los especímenes: Paratipos: 20 larvas de cuarto estadio. Colección Helminológica del Museo de La Plata (5751 CHMLP), Buenos Aires.

**Comentarios**

La presencia de un ciego intestinal y un apéndice ventricular además de la posición del poro excretor justo debajo de los labios ventrolaterales permite incluir a esta larva dentro del género *Contracaecum*. Los labios están bien desarrollados pero carece de interlabios lo cual caracteriza a la larva de cuarto estadio (L4) (Berland, 1989; Fagerholm, 1990; Fagerholm et al., 1996). Hasta el presente hay pocas descripciones de larvas de cuarto estadio de *Contracaecum* spp. parasitando aves. Las L4 de *C. magnipapillatum* encontradas por Fagerholm et al. (1996) en *Anous minutus* poseen grandes expansiones auriculares en las esquinas de los labios. Las L4 de *C. rudolphiii* de *P. carbo* exhiben interlabios, un rasgo normalmente ausente en esta fase larval (Barus et al., 2000); es probable que estos especímenes hayan pertenecido a ejemplares adultos inmaduros (Garbin et al., 2007). Las L4 de *C. osculatum* no tienen expansiones auriculares lo cual las diferencia de los especímenes larvales descritos en este trabajo. Las L4 presentes parecen similares a aquéllas descritas por Garbin et al. (2007) en *S. magellanicus*. Ambas especies concuerdan

en casi todos los rasgos morfométricos excepto en la longitud del apéndice ventricular y en la longitud del ventrículo más el apéndice ventricular, mayores en la primera; y en la distancia de la glándula excretora al extremo anterior, mayor en la última. De acuerdo con las similitudes entre las larvas de este género es imposible asignar los especímenes presentes a una especie determinada sin realizar infecciones experimentales o un análisis genético molecular.



**Figura 13.** *Contracaecum* sp. proveniente de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante, Chubut. Larva de cuarto estadio (L4): (a) extremo anterior, esófago, ciego intestinal, ventrículo, apéndice ventricular, y deirido (flecha); (b) extremo anterior, vista apical, labios con expansiones auriculares en forma de alas, papilas labiales internas y cefálicas, poro excretor (flecha), collar cefálico; (c) extremo anterior, vista laterodorsal, labios con expansiones, papilas labiales internas y cefálicas, collar cefálico; (d) extremo posterior, ano y estriaciones cuticulares.

Especie	<i>Contracaecum</i> sp.	<i>Contracaecum</i> sp.
Referencias	Presente estudio	Presente estudio
Hospedador tipo	<i>P. a. atriceps</i>	<i>P. a. atriceps</i>
Localidad	Bahía Bustamante, Chubut, Argentina	Puerto Madryn, Chubut, Argentina
Individuos (n)	10	10
Longitud del cuerpo	5,67 ± 2,05 (3,22-7,88)	7,23 ± 1,28 (5,72-9,14)
Ancho máximo del cuerpo	0,24 ± 0,08 (0,13-0,36)	0,25 ± 0,04 (0,18-0,32)
Distancia del EA al anillo nervioso	0,24 ± 0,05 (0,15-0,29)	0,28 ± 0,05 (0,21-0,36)
Distancia del EA a los deiridos	0,30 ± 0,11 (0,17-0,40)	0,39 ± 0,11 (0,24-0,56)
Longitud del esófago	1,14 ± 0,44 (0,51-1,72)	1,17 ± 0,16 (0,93-1,43)
Longitud del ciego intestinal	0,74 ± 0,35 (0,26-1,24)	0,69 ± 0,12 (0,56-0,90)
Longitud del apéndice ventricular	0,48 ± 0,11 (0,36-0,60)	0,45 ± 0,14 (0,40-0,52)
Longitud del ventrículo + apéndice ventricular	0,50 ± 0,14 (0,28-0,70)	0,55 ± 0,09 (0,45-0,70)
Distancia del EA a la glándula excretora	2,31 ± 0,22 (2,16-2,56)	2,57 ± 0,28 (2,35-2,98)
Longitud de la cola	0,15 ± 0,04 (0,10-0,22)	0,13 ± 0,01 (0,12-0,16)

**Tabla 7.** Datos morfométricos de larvas de cuarto estadio *Contracaecum* sp. en *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante y Puerto Madryn, Chubut. Referencias: EA= extremo anterior.

***Contracaecum bioccai*** Mattiucci, Paoletti, Olivero, Baldiris,  
Arroyo, Garbin, Navone, Nascetti, 2008

**\*Descripción**

*Morfología general* (11 especímenes adultos provenientes de *Pelecanus occidentalis*, pantano Totumo, Colombia, Fig. 14): Cutícula estriada transversalmente. Collar cefálico presente (Fig. 14a). Labios dorsales y ventrolaterales con una marcada depresión sobre el margen superior. Labio dorsal con 2 papilas dobles, labios ventrolaterales con 1 papila doble, 1 simple y 1 ánfido. Interlabios bien desarrollados con una punta bifurcada marcada (Fig. 14a). Esófago con un ventrículo globular. Ventrículo con un apéndice posterior. Ciego intestinal presente (Fig. 14b). Poro excretor en la base de los labios ventrolaterales.

*Macho* (holotipo): longitud del cuerpo 26,00. Distancia del anillo nervioso al extremo anterior 0,55. Longitud del esófago 4,70. Apéndice ventricular 0,80. Ciego intestinal 3,4. Espículas levemente desiguales; espícula derecha 6,20; espícula izquierda 6,50; extremo distal de la espícula redondeado, largo 40  $\mu\text{m}$  (Fig. 14c). Relación longitud del cuerpo / longitud de espícula: 4,0. Largo de la cola 0,24; extremo distal redondeado. Papilas precloacales numerosas y dispuestas en 2 hileras simples anteriores a la cloaca. Pts-zone abarcando 2-3 pares de papilas precloacales. Dos pares de papilas paraclloacales (b), diámetro (d):  $d_b = 15 \mu\text{m}$ ; 4 pares de papilas distales (a1, a2, a3, a4) (Fig. 14d), diámetro:  $d_{a1} = 10 \mu\text{m}$ ,  $d_{a2} = 10 \mu\text{m}$ ,  $d_{a3} = 10 \mu\text{m}$ ,  $d_{a4} = 10 \mu\text{m}$ ; papilas distales a1, a2 y a4 dispuestas en una fila longitudinal, con la a3 al lado de la a1; distancia entre la a1 y la a2 ( $a1-a2$ ) = 30  $\mu\text{m}$ , entre la a2 y a4 ( $a2-a4$ ) = 30  $\mu\text{m}$ , entre la a1 y a4 ( $a1-a4$ ) = 60  $\mu\text{m}$ , entre la a3 y a4 ( $a3-a4$ ) = 55  $\mu\text{m}$ , entre la a1 y la a3 ( $a1-a3$ ) = 35  $\mu\text{m}$ ; distancia entre las b y la a3 ( $b-a3$ ) = 60  $\mu\text{m}$ . Un par de fásmidos (p) situados al lado de la a4 (Fig. 14d).

*Macho* (paratipos): longitud del cuerpo 21,00 – 26,00. Distancia del anillo nervioso al extremo anterior 0,50–0,60. Longitud del esófago 4,10–4,80. Apéndice ventricular 0,60–0,90. Ciego intestinal 3,20–3,50. Espículas levemente desiguales; espícula derecha 5,80–6,20; espícula izquierda 6,00–6,50; extremo distal de la espícula redondeado, largo 40  $\mu\text{m}$  (Fig. 14c). Relación longitud del cuerpo / longitud de espícula: 3,57-4,00. Largo de la cola 0,24–0,28; extremo distal redondeado.

*Hembra* (alotipo): longitud del cuerpo 26,00–34,00. Longitud del esófago 4,40–4,60, ancho 0,40–0,50. Apéndice ventricular 0,60–0,90. Ciego intestinal 3,20–3,60. Vulva ubicada en el primer tercio del cuerpo. Huevos subsféricos 40–50  $\mu\text{m}$ .

### Resumen taxonómico

Hospedador tipo: *Pelecanus occidentalis* (Linnaeus) (Aves: Pelecanidae).

Localidad tipo: Pantano Totumo, Colombia.

Sitios de infección: estómago.

Depósito de los especímenes: Holotipo (BMNH 2007.6.15-1). Museo de Historia Natural, Londres. Paratipos: 3 machos y 1 hembra: Colección de la Sección de Parasitología, Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica. Università di Roma "La Sapienza", BMNH 2007.6.15-2-3, Museo de Historia Natural, Londres, UK.

### Comentarios

De acuerdo a los caracteres morfológicos considerados de valor diagnóstico para las especies de *Contracaecum* de aves piscívoras, el espécimen colectado de *Pelecanus occidentalis* de Colombia sería asignado a *C. rudolphiii* (*sensu lato*). Sin embargo los marcadores genéticos moleculares de electroforesis multilocular han demostrado que este espécimen pertenece a un taxón claramente distinto de la especie críptica reconocida previamente como *C. rudolphiii* A y *C. rudolphiii* B. Por otra parte otras especies de *Contracaecum* reportadas parasitando a *P. occidentalis* incluyen a *C. mexicanum* Flores-Barroeta, 1957 y *C. multipapillatum* (Dyer et al., 2002), de los cuales *C. bioccai* puede ser fácilmente distinguida por no tener papilas paracloacales dobles (b), por el patrón de distribución de las papilas proximales y por la longitud de las espículas. Además *C. bioccai* es una especie distinta a nivel genético de alozimas con respecto a *C. multipapillatum* (s. l.) colectada en la misma localidad del hospedador (Mattiucci et al., datos no publicados.).

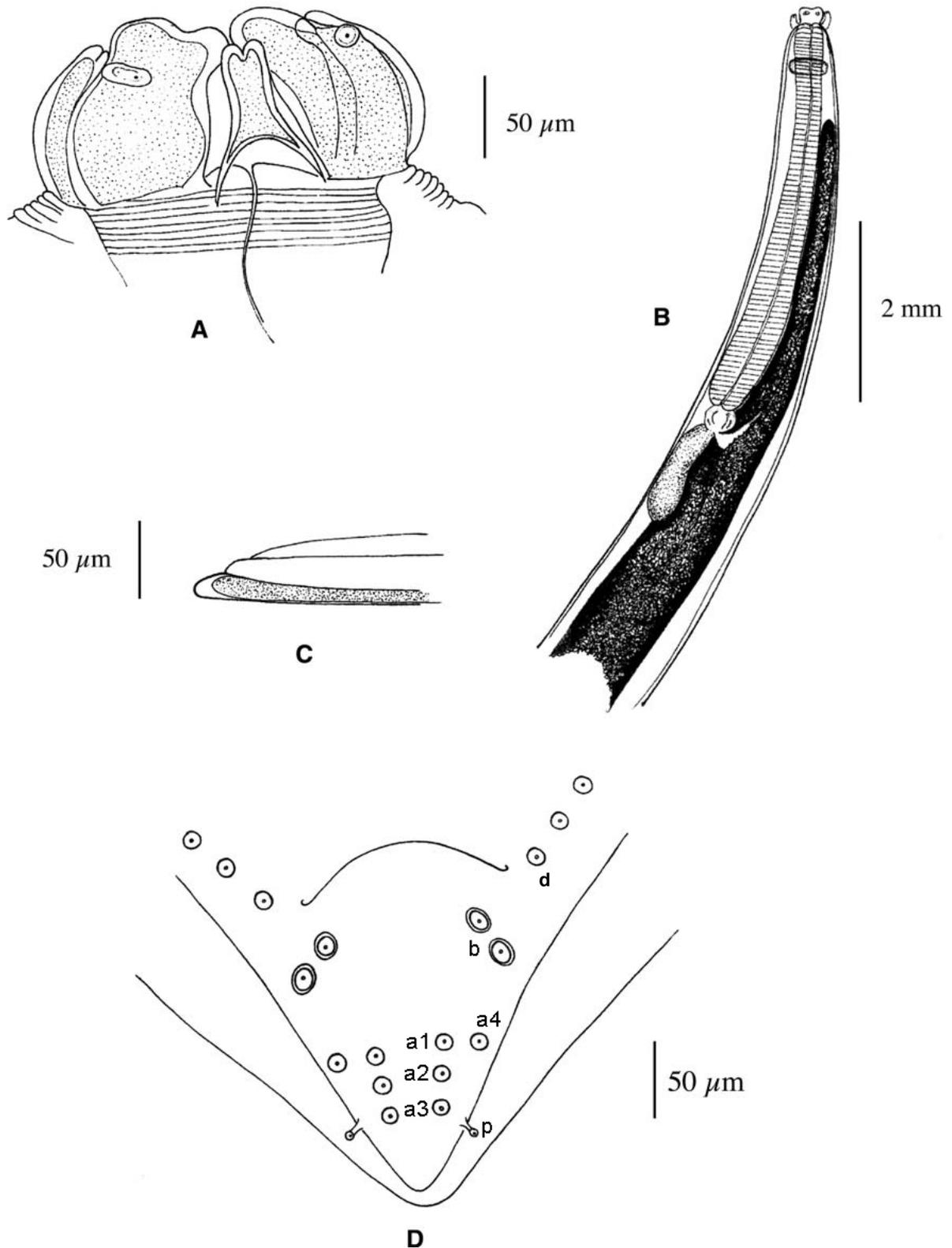
Deardoff & Overstreet (1980) reportaron, en *P. occidentalis* y *P. erythrorhynchus* (Gmelin) del golfo de México, infecciones con *C. microcephalum*, *C. multipapillatum* (s. l.) y *C. rudolphiii* (s. l.). Sin embargo de acuerdo con la longitud de las espículas y la distintiva bifurcación del interlabio, *C. bioccai* no puede ser asignada a *C. microcephalum*, lo cual se constata a nivel de alozimas y de ADN mitocondrial (ver Capítulo 2).

De acuerdo a los caracteres morfológicos la nueva especie se diferencia de *C. variegatum* (Rudolphi, 1809) por la forma de las espículas, las cuales son más aguzadas distalmente en *C. variegatum* (Hartwich, 1964; Barus et al., 1978).

También difiere de *C. oschmarini* Mosgovoy, 1950, descrito de *Uria lomvia* de Europa del Este, en términos de espículas más cortas (4,6–4,9 vs. 5,8–6,5), con una forma diferente del extremo distal. En cambio, *C. bioccai* se diferencia de *C. septentrionale* por sus espículas más cortas (5,8–6,5 vs. 12,57–15,16). Además es genéticamente bien diferenciada a nivel de alozimas y de ADN mitocondrial de *C. septentrionale* (ver Capítulo 2).

Entre las especies similares a *C. bioccai* se encuentra *C. travassosi* Gutiérrez, 1943, originalmente descrita de *Phalacrocorax a. albiventer* (Lesson) de Argentina. El examen de un macho paratipo de *C. travassosi* no mostró evidencias de que las papilas paraclorales estén separadas, además el largo de las espículas es mayor en esta especie (9,3 vs. 5,8–6,5), y por lo tanto la relación largo del cuerpo / largo de espícula es menor: 2,94 vs. 3,97-4,00.

Cabe señalar que si bien el hospedador tipo de esta especie de anisákido no habita en las costas argentinas, las secuencias de ADN mitocondrial obtenidas de esta especie fueron comparadas con las secuencias de *C. pelagicum* provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés y *P. a. albiventer* de Punta León, Chubut, y *Contracaecum* n. sp.1 de *P. brasiliensis* de Chile, resultando ser un nuevo taxón. Las experiencias se realizaron en colaboración con la Sección de Parasitología. Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica. Università di Roma "La Sapienza" (Ver Capítulo 2).



**Figura 14.** *Contracaecum bioccai* Mattiucci, Paoletti, Olivero, Baldiris, Arroyo, Garbin, Navone, Nascetti, 2008, proveniente de *Pelecanus occidentalis* del pantano Totumo, Colombia. (a) extremo anterior de un espécimen adulto (vista lateral), labios, interlabios, anillo nervioso; (b) extremo anterior, esófago, ciego intestinal, apéndice ventricular; (c) extremo distal de la espícula; (d) extremo posterior del macho (vista ventral). Referencias: a1–a2= papilas distales subventrales, a3–a4= papilas distales sublaterales, b= papilas paracloacales, d= papilas precloacales proximales, p= fásmido.

## ***Contracaecum n. sp.1***

### ***\*Descripción***

*Morfología general* (20 especímenes adultos provenientes de *P. brasilianus* de la laguna Santa Elena, VIII Región, Chile; Tablas 8 y 9, Figs. 15, 16, 17 y 18): Cuerpo completamente estriado (Figs. 15a, b, e-g). Collar cefálico conspicuo con regiones laterales desnudas en forma de V sin estriaciones (Figs. 15a, b). Tres interlabios con una pequeña o ausente bifurcación (Figs. 15a-c, 16c, 17c, 18c, ver flecha). Labios más largos que los interlabios con una hendidura poco profunda (Figs. 15a, c, 16c, 18c). Labios con 2 aurículas conspicuas, cada uno con 2 botones sensoriales (tip) en el extremo externo (Figs. 15a-c). Papilas labiales presentes, 2 sobre el labio dorsal y 1 sobre cada labio ventrolateral (Figs. 15a, c). Ventrículo con un sólido apéndice ventricular, ciego intestinal bien desarrollado más largo que el apéndice ventricular.

*Macho* (holotipo): longitud del cuerpo 24,30, ancho máximo del cuerpo 0,78. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y a los deiridos: 0,60 y 0,66, respectivamente. Longitud del esófago 3,85; longitud del ciego intestinal 2,78; longitud del ventrículo 0,32; longitud del apéndice ventricular 1,22. Espículas de igual longitud alcanzando casi la mitad de cuerpo. Longitud de las espículas 12,54. Longitud de la cola 0,21. Extremo caudal cónico con 27-32 pares de papilas precloacales. Pts-zone incluyendo 2 pares de papilas precloacales (Fig. 15e). Seis pares de papilas postcloacales: 2 pares paracloacales situadas lado a lado, 2 pares subventrales, 2 pares sublaterales y 1 par de fásmidos próximos al par sublateral más distal (Figs. 15e-g). Cutícula constreñida a nivel de las papilas precloacales, con una constricción distal de la cola bien notoria entre las papilas paracloacales y subventrales (Figs. 15e-g, 16e, d, 17e, d, 18e, d, ver flecha). Papila medial conspicua yaciendo en el borde proximal de la cloaca (Fig. 15g). Extremo distal de la espícula aguzado y redondeado; largo del extremo libre distal más corto que el ancho de la espícula (0,021 vs. 0,030) (Fig. 15d). Valvas espiculares insertadas en puntos diferentes (Fig. 15d) (Machos paratipos, ver Tabla 8).

*Hembra* (alotipo): longitud del cuerpo 34,20. Ancho máximo del cuerpo 0,85. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y deiridos: 0,63 y 0,72, respectivamente. Longitud del esófago 3,43; longitud del ciego intestinal 2,38; longitud del ventrículo 0,23; longitud

del apéndice ventricular 0,72. Vulva en la mitad anterior de cuerpo. Vulva ubicada a un tercio del largo del cuerpo desde el extremo anterior. Distancia del extremo anterior a la vulva 9,52. Longitud de la cola 0,44. Diámetro de huevos (n = 10) embrionados 0,070. (Hembras paratipos, Ver Tabla 9)

### Resumen Taxonómico

Hospedador tipo: *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) (Phalacrocoracidae).

Otros hospedadores: *Phalacrocorax magellanicus* (Gmelin) (Phalacrocoracidae).

Localidad tipo: Laguna Santa Elena, Region VIII, Chile.

Otras Localidades: Península Valdés, Chubut; Bahía Blanca, Buenos Aires; Punta Loma, Chubut.

Sitios de infección: Estómago

Prevalencia: 100 % (4 /4) para *P. brasilianus* de Chile.

Intensidad media: 2,75 para *P. brasilianus* de Chile.

Especímenes depositados: Colección Helmintológica del Museo de La Plata (CHMLP XXX), Buenos Aires.

### Comentarios

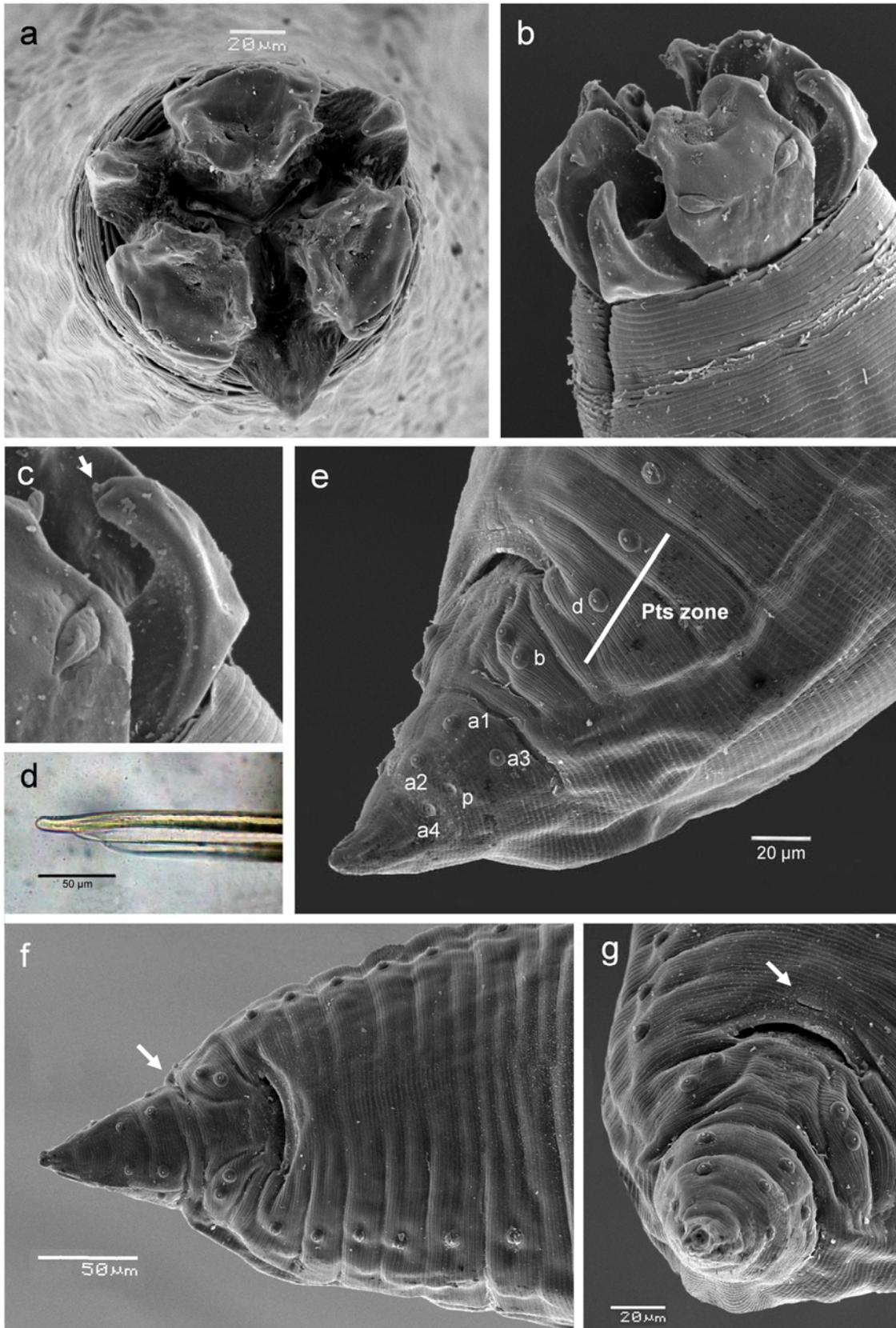
Luego de una comparación morfológica de los especímenes estudiados, este material ha sido denominado *Contracaecum* n. sp.1. En este sentido, se diferencia de aquellos *Contracaecum* spp. que parasitan mamíferos marinos en la misma área de distribución geográfica. *Contracaecum ogmorhini* s. s. Johnston & Mawson, 1941, que parasita a *Arctocephalus australis* (Zimmermann) posee espículas mucho más cortas que la nueva especie (3,98-7,89 vs. 9,60-15,88), constricción distal ausente y sus botones auriculares son poco notorios (Timi et al., 2003). *Contracecum mirounga*, parásito de *M. leonina*, posee un número mayor de papilas caudales (60-70) y un patrón de distribución de las mismas totalmente diferente. Lo mismo ocurre con *C. osculatum* (Rudolphii, 1802) y *C. radiatum* (Linstow, 1907), parásitos de fócidos boreales (Baylis, 1936; Fagerholm, 1988; Fagerholm et al., 1996). *Contracaecum margolisi* Mattiucci et al., 2003, es similar a *Contracaecum* n. sp., aunque sus espículas son más cortas (6,10-6,30 vs. 9,60-15,88) (Mattiucci et al., 2003).

De aquellas especies que parasitan aves marinas, *Contracaecum variegatum* Rudolphii, 1809 de *Gavia stellata* (Pontoppidan) (Gaviidae), posee casi el doble de papilas precloacales y espículas significativamente más cortas (4,40-4,86 vs. 9,60-15,88) y por lo

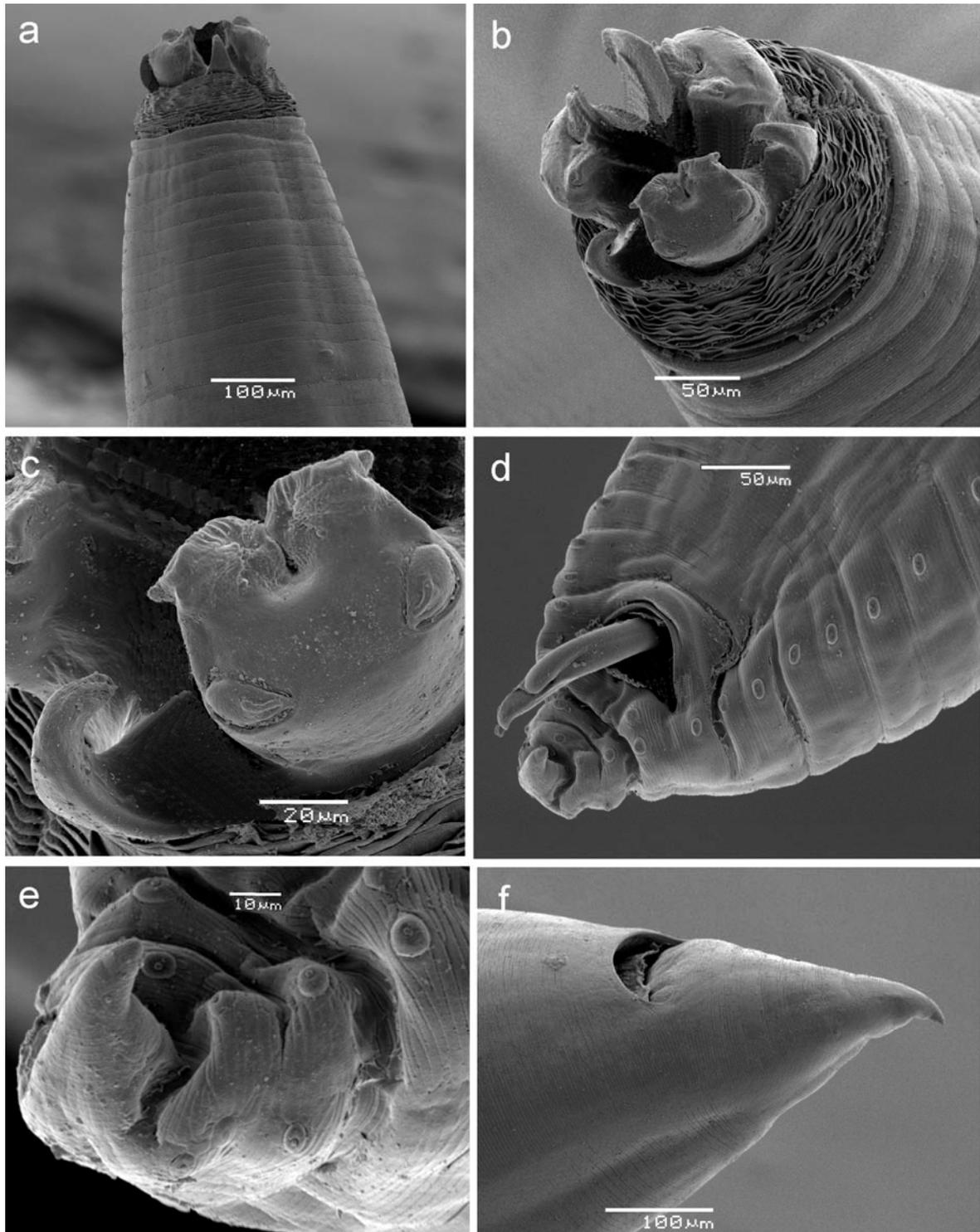
tanto mayor relación longitud del cuerpo / longitud de espículas (4,00-6,50 vs. 1,41-2,77) (Fagerholm et al., 1996). *Contracaecum magnipapillatum* (= *C. magnicollare*) Johnston & Mawson, 1941, de *Anous minutus* Chapin (Laridae), difiere de la nueva especie por tener interlabios enteros, constricción distal ausente y espículas más pequeñas y una relación longitud del cuerpo / longitud de espículas: 3,85-4,48 vs. 1,41-2,77 (Fagerholm et al., 1996). *Contracaecum plagiaticium* posee espículas más cortas (2,32-3,49 vs. 9,60-15,88), mayor relación longitud del cuerpo / longitud de espículas (4,80-5,40 vs. 1,41-2,77), y un par más de papilas postcloacales (8) (Lent & Freitas, 1948). *Contracaecum pelagicum* se diferencia de *Contracaecum* n. sp. por su bifurcación interlabial más profunda y espículas más cortas (3,07-5,07 vs. 9,60-15,88) (Garbin et al., 2007). *Contracaecum multipapillatum* (von Drasche, 1882) de *Ardea* (= *Egretta*) *alba*, se diferencia de la nueva especie por el patrón de distribución de las papilas cloacales y además los interlabios son enteros (Navone et al., 2000).

De las especies de *Contracaecum* que parasitan Phalacrocoracidae se diferencia de *Contracaecum caballeroi*, que parasita al mismo hospedador (*P. brasiliensis*), por tener las espículas significativamente mayores en longitud (9,60-15,88 vs. 0,90-1,09) y en consecuencia menor relación largo del cuerpo / largo de espículas (LC/LEs): 1,41-2,77 vs. 24,74-26,98 (Lent & Freitas, 1948) (Tabla 8). Se separa de *C. rudolphii*, parásito de *P. carbo* y *P. brasiliensis*, por la morfología del interlabio (Hartwich, 1964; Barus et al., 2000; Amato et al., 2006) (Figs. 15a-c). La constricción distal de la cola parece estar ausente en la descripción original de *C. rudolphii*, aunque sí está presente en otras descripciones, como la de Abollo et al. (2001) (Figs. 15e-g). La placa medial está ausente en *C. rudolphii* o podría no haber sido advertida por los autores (Hartwich, 1964; Abollo et al., 2001; Amato et al., 2006) (Fig. 15g). Los especímenes de *Contracaecum* n. sp. son además más cortos y gruesos que *C. rudolphii*, ello se demuestra en la relación largo del cuerpo / ancho máximo 29,4 - 98,1 vs. 28,31 - 39,12 (Tabla 8). Las espículas de *Contracaecum* n. sp. son más largas que las de *C. rudolphii* (9,60-15,88 vs. 4,05-9,98) y en consecuencia es mayor la relación LC/LEs: 1,41-2,77 vs. 2,06-5,69. Además *C. rudolphii* tiene una gran variabilidad de tamaño en las espículas (Hartwich, 1964) (Tabla 8). *Contracaecum travassosi* es la especie más similar a *Contracaecum* n. sp., se diferencia sólo por poseer espículas más cortas (7,70-11,10 vs. 9,60-15,88) y la relación LC/LEs es poco variable comparada con la de *Contracaecum* n. sp. (2,09-2,28 vs. 1,41-2,77). La bifurcación del interlabio es más conspicua y el ancho del cuerpo es mayor en *C. travassosi*, reflejado en la relación menor LC/AMC: 23,00-23,09 vs. 28,31-39,12. Sin embargo, los especímenes de

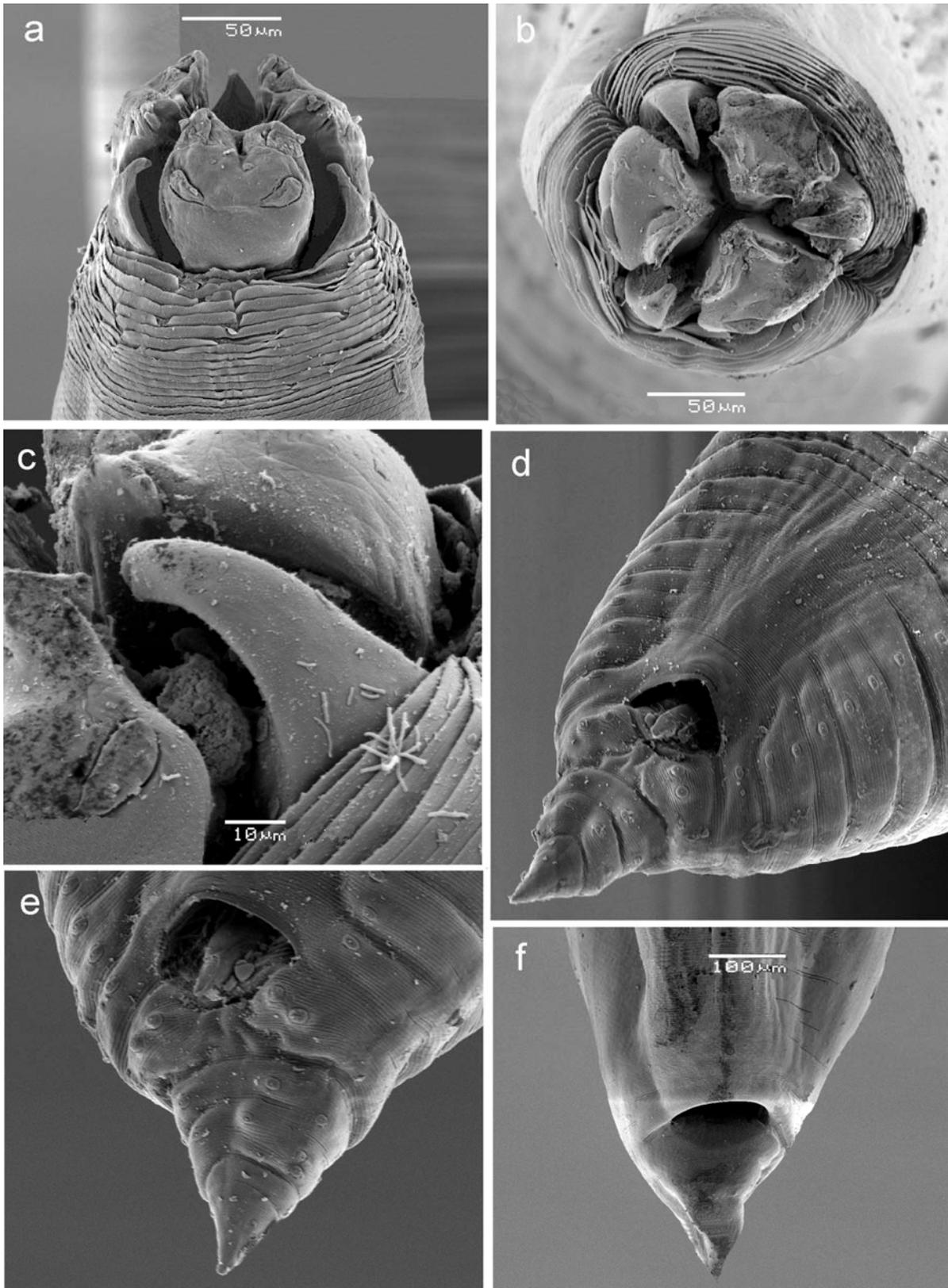
*C. travassosi* descritos en *Pandion haliaetus* son significativamente más angostos (Tabla 8). Otra diferencia notable es el largo de la cola mayor en *C. travassosi*, relación LC/LCo: 84,74-97,69 vs. 97,92–138,89.



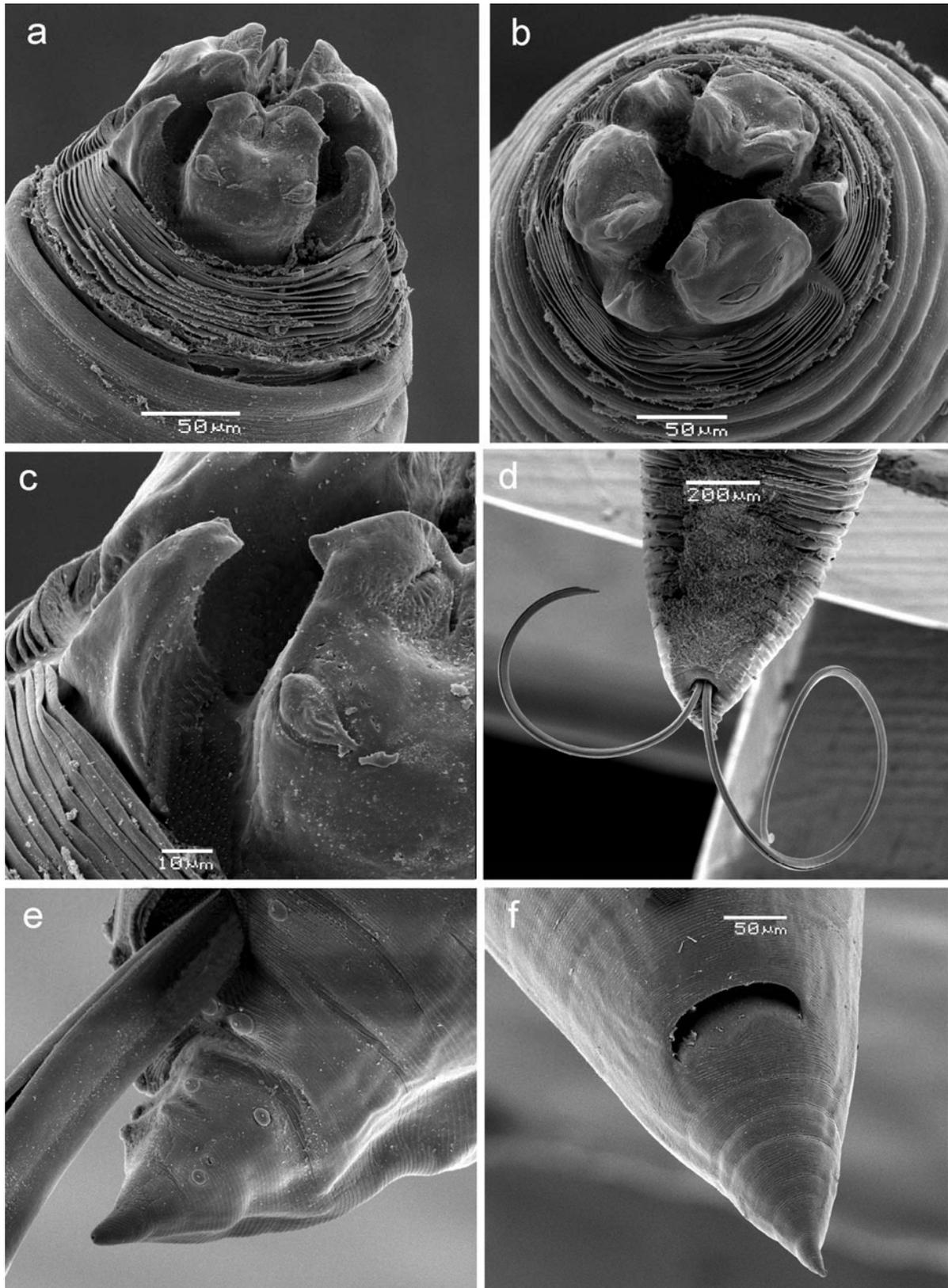
**Figura 15.** *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. brasiliensis* de la Laguna Santa Elena, VIII Región, Chile. (a) Detalles de extremo anterior, vista apical; (b) extremo anterior, vista laterodorsal, collar cefálico, labio dorsal, interlabio, papilas labiales, botón sensorial de la aurícula; (c) interlabio, leve bifurcación (flecha); (d) extremo distal de la espícula (e) extremo posterior del macho, a1–a2= papilas distales subventrales, a3–a4= papilas distales sublaterales, b= papilas paracloacales, d= papilas precloacales proximales, p= fásmido; (f, g) extremo posterior del macho, papilas pre y postcloacales, constricción distal (flecha), papila medial (flecha).



**Figura 16.** *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. brasiliensis* de Península Valdés, Chubut. (a) Detalles de extremo anterior, vista lateral; (b) extremo anterior, vista laterodorsal, collar cefálico, labio dorsal, interlabio, papilas labiales, botón sensorial de la aurícula; (c) detalle de interlabio y labio dorsal; (d) extremo posterior del macho, papilas pre y postcloacales, espícula; (e) detalle del extremo posterior del macho, constricción distal, distribución de papilas postcloacales: papilas distales subventrales, distales sublaterales, paracloacales y fásmidos; (f) extremo posterior de la hembra.



**Figura 17.** *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. brasiliensis* de Bahía Blanca, Buenos Aires. (a) Extremo anterior, vista lateral; (b) extremo anterior, vista sagital; (c) detalle de interlabio; (d) extremo posterior del macho, papilas pre y postcloacales; (e) detalle del extremo posterior del macho, constricción distal, espícula, distribución de papilas postcloacales: papilas distales subventrales, distales sublaterales, paracloacales y fásmidos; (f) extremo posterior de la hembra.



**Figura 18.** *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. magellanicus* de Punta Loma, Chubut. (a) detalles de extremo anterior, vista lateral; (b) extremo anterior, vista sagital; (c) detalle de interlabio y labio dorsal; (d) extremo posterior del macho, espículas evertidas; (e) detalle del extremo posterior del macho, constricción distal, distribución de papilas postcloacales: papilas distales subventrales, distales sublaterales, paracloacales y fásmidos; (f) extremo posterior de la hembra.

Especie	<i>C. caballeroi</i> Bravo Hollis, 1939	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>Contracaecum</i> n. sp.1
Referencias	Gutiérrez, 1948	Hartwich, 1964	Barus et al., 2000	Amato et al., 2006	Gutiérrez, 1943	Morgan et al., 1949	Presente estudio
Hospedador tipo	<i>Anhinga anhinga</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. a. albiventer</i>	<i>P. a. albiventer</i>	<i>P. brasilianus</i>
Otros hospedadores	<i>P. brasilianus</i>	<i>Phalacrocorax</i> spp. <i>Phalacrocoracidae</i> Charadriiformes Ciconiiformes	<i>Phalacrocorax</i> spp. <i>Phalacrocoracidae</i> Charadriiformes Ciconiiformes	<i>Phalacrocorax</i> spp. <i>Phalacrocoracidae</i> Charadriiformes Ciconiiformes	<i>P. brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus</i>	<i>P. brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus</i>	<i>P. magellanicus</i>
Localidades	México Uruguay	Cosmopolita	Cosmopolita	Cosmopolita	Chubut, Argentina	EEUU	Laguna Santa Elena VIII Región, Chile
Machos (n)	3	39	15	30	Sin datos	5	10
Longitud del cuerpo	24,29 - 26,97	12,10 - 33,90	15,8 - 29,5	25 (18 - 31)	16,10-25,40	42 (34 - 58)	23,24 (13,90 - 28,40)
Ancho máximo del cuerpo	0,53 - 0,64	0,24 - 0,95	0,45 - 0,86	0,48 (0,31 - 0,60)	0,70-1,10	0,74 (0,58 - 0,85)	0,75 (0,64 - 0,93)
Distancia del EA al AN	0,43 - 0,45	-	-	-	0,45-0,64	0,61 (0,49 - 0,70)	0,63 (0,58 - 0,68)
Distancia del EA a D	0,44 - 0,48	-	-	-	-	-	0,65 (0,58 - 0,79)
Longitud del esófago	3,18 - 3,48	2,03 - 4,26	-	3,10 (2,40 - 3,80)	2,80-4,10	4,6 (3,5 - 7,0)	3,62 (2,62 - 4,60)
Longitud del ciego intestinal	2,71 - 3,01	1,53 - 3,68	-	2,40 (2,10 - 2,90)	1,90-3,20	3,1 (2,1 - 4,4)	2,41 (1,56 - 3,24)
Longitud del ventrículo	0,10 - 0,10	-	-	-	-	-	0,28 (0,2 - 0,38)
Longitud del apéndice ventricular	0,51 - 0,61	-	-	1,00 (0,80 - 1,20)	0,74-1,30	-	1,17 (0,87 - 1,41)
Longitud de la espículas (+)	0,90 - 1,09	4,46 - 9,19	-	6,20 (4,50 - 7,50)	7,70-11,10	8,9 (7,2 - 11,4)	11,86 (9,60 - 15,88)
(-)	-	4,05 - 9,98	-	7,10 (5,90 - 8,20)	-	9,4 (7,5 - 12,9)	-
Longitud de la cola	0,13 - 0,15	0,14 - 0,24	-	0,21 (0,14 - 0,24)	0,19-0,26	0,30 (0,26 - 0,38)	0,22 (0,18 - 0,24)
P papilas precloacales	40	27-43	-	30	26 - 30	30	27-32
LC / AMC	42,14 - 45,83*	52,3 (29,4 - 98,1)	-	52,9 (47,9 - 68,6)	23,00 - 23,09*	58,62 - 68,23*	28,31 - 39,12 (34,12)
LC / LE	7,64 - 7,75*	8,01 (5,25 - 10,78)	-	7,1 - 10,9 (8,1)	5,75 - 6,19*	8,28 - 9,71*	6,03 - 8,87 (7,14)
LC / LCo	179,80 - 186,84*	131,8 (74,1 - 197,2)	-	91,3 - 145,5 (122,7)	84,74 - 97,69*	130,76 - 152,63*	97,92 - 138,89 (117,42)
LE / LCI	1,16 - 1,17*	1,3 (1,11 - 1,54)	-	0,9 - 1,6 (1,3)	1,28 - 1,49*	1,59 - 1,67*	1,37 - 1,68 (1,52)
LE / LAV	5,70 - 6,23*	3,25 (1,82 - 4,25)	-	2,8 - 3,6 (3,2)	3,15 - 3,78*	-	2,25 - 3,99 (3,13)
LC / LEs	24,74 - 26,99*	3,86 (2,06 - 5,69)	-	3,1 - 5,4 (3,8)	2,09 - 2,28*	4,49 - 4,72*	1,41 - 2,77 (1,90)

**Tabla 8.** Datos morfométricos de machos adultos de *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. brasilianus* de la Laguna Santa Elena, VIII Región, Chile. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos, P= pares; (+) espícula derecha; (-) espícula izquierda; LC/AMC = relación longitud del cuerpo / ancho máximo del cuerpo; LC/LE = relación longitud del cuerpo / longitud del esófago; LC/LCo = relación longitud del cuerpo / largo de cola; LE/LCI = relación longitud del esófago / longitud del ciego intestinal; LE/LAV = relación longitud del esófago / longitud del apéndice ventricular; LC/LEs = relación longitud del cuerpo / longitud de espícula; (\*) = relación calculada con valores máximos y mínimos.

Especie	<i>C. caballeroi</i> Bravo Hollis, 1939	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. rudolphii</i> Hartwich, 1964	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>C. travassosi</i> Gutiérrez, 1943	<i>Contracaecum</i> n. sp.1
<b>Referencias</b>	Gutiérrez, 1948	Hartwich, 1964	Barus et al., 2000	Amato et al., 2006	Gutiérrez, 1943	Morgan et al., 1949	Presente estudio
<b>Hospedador tipo</b>	<i>Anhinga anhinga</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. carbo</i>	<i>P. a. albiventer</i>	<i>P. a. albiventer</i>	<i>P. brasilianus</i>
<b>Otros hospedadores</b>	<i>P. brasilianus</i>	<i>Phalacrocorax</i> spp. Phalacrocoracidae Charadriiformes Ciconiiformes	<i>Phalacrocorax</i> spp. Phalacrocoracidae Charadriiformes Ciconiiformes	<i>Phalacrocorax</i> spp. Phalacrocoracidae Charadriiformes Ciconiiformes	<i>P. brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus</i>	<i>P. brasilianus</i> <i>Pandion haliaetus</i>	<i>P. magellanicus</i>
<b>Localidades</b>	México Uruguay	Cosmopolita	Cosmopolita	Cosmopolita	Chubut, Argentina	EEUU	Laguna Santa Elena VIII Región, Chile
<b>Hembras (n)</b>	-	36	15	30	Sin datos	2	10
Longitud del cuerpo	-	10,10 - 57,60	21,10 - 50,8	41,8 (23-52)	22,7 - 31,5	53 - 55	31,60 (25,44 - 41,23)
Ancho máximo del cuerpo	-	0,29 - 1,51	0,75 - 1,42	0,8 (0,5-1,1)	1,10 - 1,50	1,1 - 1,3	0,94 (0,66 - 1,16)
Distancia del EA al AN	-	-	-	-	0,59 - 0,73	0,75 - 0,76	0,58 (0,50 - 0,68)
Distancia del EA a D	-	-	-	-	-	-	0,68 (0,57 - 0,82)
Longitud del esófago	-	1,62 - 5,48	-	4,2 (2,4-5,4)	3,50 - 4,80	5,0 - 5,1	3,24 (1,52 - 3,95)
Longitud del ciego intestinal	-	1,28 - 4,12	-	2,9 (1,6-3,6)	2,70 - 4,20	4,0 - 4,3	2,13 (1,30 - 2,86)
Longitud del ventrículo	-	-	-	-	0,89 - 1,60	-	0,25 (0,14 - 0,28)
Longitud del apéndice ventricular	-	-	-	1,2 (0,6-1,5)	-	-	0,70 (0,57 - 0,91)
Distancia de vulva al EA	-	5,12 - 17,7	-	15,2 (9,7-21,3)	18,60 - 21,00	24	9,26 (8,25 - 10,87)
Longitud de la cola	-	0,19 - 0,63	-	0,4 (0,2-0,6)	0,43 - 0,54	0,43 - 0,45	0,39 (0,28 - 0,58)
Huevo embrionado	-	0,059 - 0,073	-	0,105 (0,099-0,106)	0,068	0,062	0,068 (0,063 - 0,071)

**Tabla 9.** Datos morfométricos de hembras adultas de *Contracaecum* n. sp.1 proveniente de *P. brasilianus* de la Laguna Santa Elena, Región VIII, Chile. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos.

*Contracaecum mirounga* Nikolskiy, 1974**\*Redescripción**

*Morfología general* (5 machos y 8 hembras provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés, Tablas 10 y 11, Fig. 19): Cuerpo completamente estriado (Figs. 19a-d). Collar cefálico conspicuo con bordes concéntricos libres notorios y una zona desnuda en forma de V (Figs. 19a, b). Tres interlabios con una pequeña o ausente bifurcación (Fig. 19c). Labios más altos que los interlabios con una hendidura simple y una quilla central (Fig. 19b). Labios con 2 aurículas con botones terminales sensoriales poco notorios (Figs. 19a-c). Papilas labiales pequeñas (Figs. 19a, b). Anfidos pequeños (Fig. 19b). Deiridos redondos y conspicuos (Fig. 19a). Ventrículo con apéndice, ciego intestinal bien desarrollado.

*Macho* (5 especímenes provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés): Longitud del cuerpo 17,32 (15,6-18,6). Ancho máximo 0,63 (0,58-0,67). Distancia del extremo anterior al anillo nervioso 0,39 (0,35-0,43) y a los deiridos 0,53 (0,41-0,58). Longitud del esófago 2,55 (2,48-2,64); longitud del ciego intestinal 1,56 (1,44-1,68); longitud del ventrículo 0,21 (0,16-0,26); longitud del apéndice ventricular 0,50 (0,46-0,53). Espículas de desigual longitud: derecha 8,97 (8,12-10,71) e izquierda 7,60 (5,89-10,59). Distancia de la cloaca al extremo posterior 0,20 (0,19-0,23). Extremo caudal cónico presentando 68-74 pares de papilas precloacales, los primeros 12-13 pares proximales son dobles ubicados en doble hilera (Fig. 19d). Pts-zone abarca 5-6 pares de papilas precloacales (Fig. 19d). Diez u once pares de papilas postcloacales: 1 par doble paracloacal, 5-6 pares adacloacales, 3 pares subventrales, 1 par sublateral y 1 par de fásmidos por debajo de las papilas subventrales (Figs. 19e, f) (Tabla 10).

*Hembra* (8 especímenes provenientes de *S. magellanicus* de Península Valdés): Longitud del cuerpo 24,17 (17,56-33,05). Ancho máximo del cuerpo 0,94 (0,52-1,48). Distancia del extremo anterior al anillo nervioso 0,55 (0,48-0,65) y a los deiridos 0,72 (0,62-0,90). Longitud del esófago 3,03 (2,81-3,32); longitud del ciego intestinal 2,38 (2,10-2,74); longitud del ventrículo 0,22 (0,17-0,26); longitud del apéndice ventricular 0,72 (0,65-0,82). Vulva en la mitad anterior del cuerpo, distancia al extremo anterior 6,94

(5,28–9,23). Distancia del ano al extremo posterior 0,41 (0,30–0,63). Diámetro de huevos embrionados 0,06 (0,057–0,064) (Tabla 11).

### Resumen taxonómico

Hospedadores: *Spheniscus magellanicus* Forster (Spheniscidae).

Localidades: Península Valdés, Chubut (42° 04'– 42° 53' S, 63° 38'–64° 30' O).

Sitios de infección: estómago.

Prevalencia: 0,008% (1 / 131) para *S. magellanicus* de Península Valdés.

Intensidad: 13 para *S. magellanicus* de Península Valdés.

Depósito de los especímenes: Colección Helmintológica del Museo de La Plata (CHMLP XXX), Buenos Aires.

### Comentarios

El espécimen aquí descrito, encontrado en un único ejemplar de *S. magellanicus* de Península Valdés y de acuerdo con el análisis morfométrico y el patrón de distribución de las papilas caudales del macho, se asigna a la especie *Contracaecum mirounga* Nikolskiy, 1974. La misma se asemeja a otros congéneres que parasitan fócidos: *C. osculatum* que parasita a *Phoca vitulina* Linnaeus, *C. radiatum* a *Leptonychotes weddellii* Lesson y *Contracaecum turgidum* (Chapin, 1925) a *Monachus monachus* Hermann (Phocidae). Sin embargo se distingue de las dos primeras por poseer una desigual distribución de las papilas distales, el primer par de papilas sublaterales se une a los dos pares de papilas subventrales, conformando dos hileras de 3 pares. El par de papilas sublaterales restante se ubica junto al fásmido, como se observa también en *C. turgidum* (Figs. 19e, f), al igual que los especímenes descritos por Fagerholm (1988). Sin embargo se diferencia de esta última especie por presentar un mayor número de papilas preclocales en la Pzs-zone (10-12 vs. 8) (Fagerholm, 1988).

El hallazgo de *C. mirounga* en *S. magellanicus* podría ser accidental u ocasional debido a que las especies de *Contracaecum* que presentan este patrón de distribución de papilas caudales parasitan únicamente pinípedos y fócidos, exceptuando a *C. multipapillatum* que parasita a Ardeidae (Navone et al., 2000). O bien que estos especímenes de *C. mirounga* observados en *S. magellanicus* una única vez puedan parasitar una nueva especie hospedadora. *C. mirounga* había sido citado por otros autores en otáridos que habitan la zona (*Arctocephalus australis* y *Mirounga leonina*) (Mattiucci et al., 2003, 2008b). No ocurre lo mismo con *C. turgidum*, que a pesar de guardar una gran similitud con el

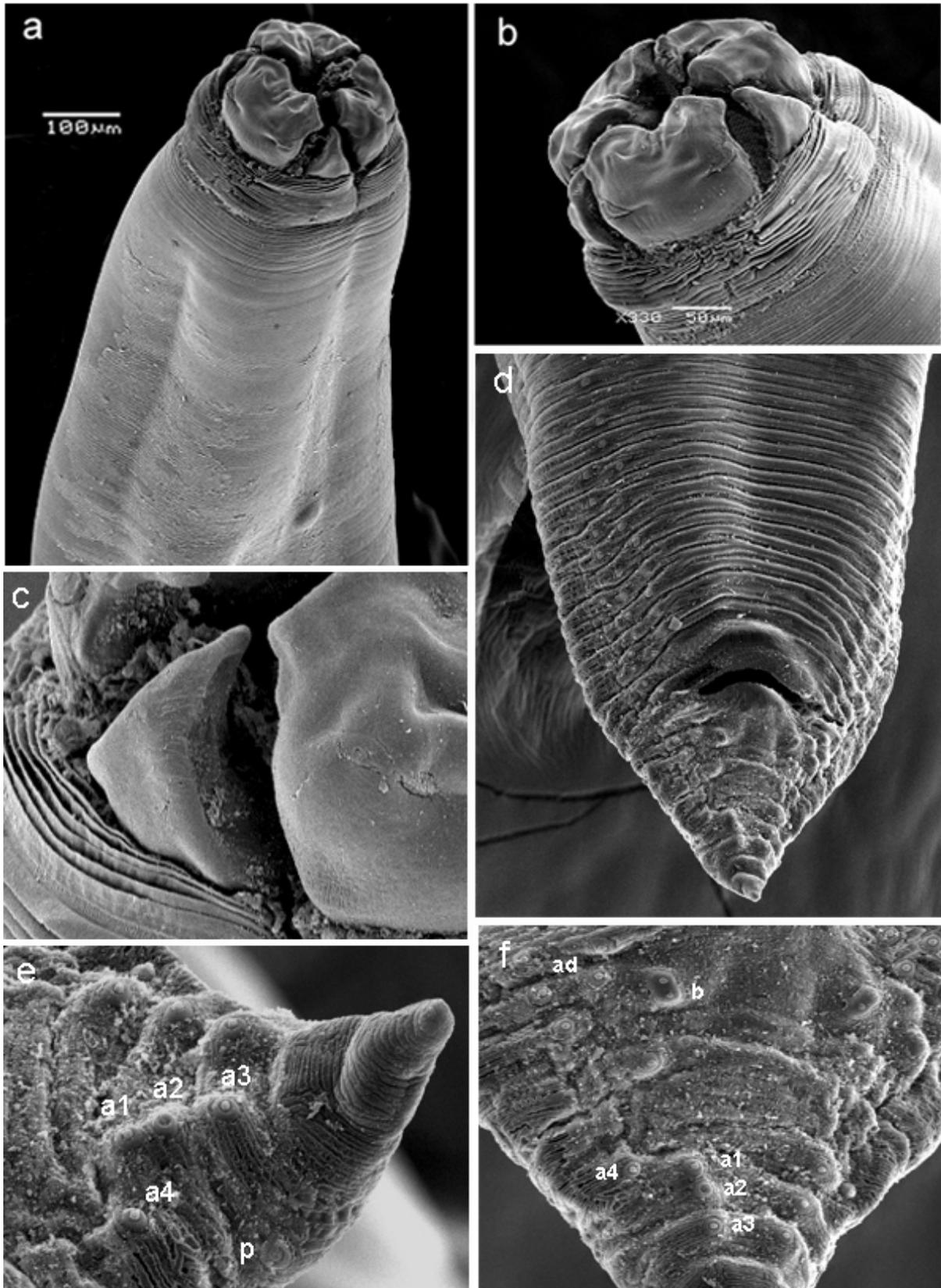
especimen descrito parasita a fócidos boreales como *Monachus schauinslandi* Matschie (Phocidae) (Chapin, 1927, Fagerholm et al., 1988).

Especie	<i>C. osculatum</i>	<i>C. osculatum</i>	<i>C. radiatum</i>	<i>C. turgidum</i>	<i>C. mirounga</i>	<i>C. mirounga</i>
Referencia	Baylis, 1936	Fagerholm, 1989	Linstow, 1907	Chapin, 1927	Nikolskiy, 1974	Presente estudio
Especie hospedadora	<i>Phoca vitulina</i>	<i>Phoca hispida</i>	<i>Leptonychotes weddellii</i>	<i>Monachus schauinslandii</i>	<i>Mirounga leonina</i>	<i>S. magellanicus</i>
Localidad	Mar Báltico	Mar Báltico	Mar de Wedell, Antártida	Miami, EEUU	Islas Balleni, Antártida	Península Valdés, Chubut
Machos (n)	sin datos	19	8	4	10	5
Longitud del cuerpo	15,0-70,0	37,9 (34,0-47,0)	12,0-30,0	45	17,30 (12,00-28,70)	17,32 (15,6-18,6)
Ancho máximo del cuerpo	0,8-1,5	1,17 (1,01-1,34)	0,8-1,5	1,8	0,70 (0,57-1,30)	0,63 (0,58-0,67)
Distancia del EA al AN	0,5-1,0	0,75 (0,51-0,82)	-	-	0,21 (0,29-0,33)	0,39 (0,35-0,43)
Distancia del EA a D	0,6-1,2	0,91 (0,75-1,06)	-	-	-	0,53 (0,41-0,58)
Longitud del esófago	2,75-6,00	4,55 (3,70-5,40)	-	6,3	2,31 (2,01-4,75)	2,55 (2,48-2,64)
Longitud del ciego intestinal	1,9-4,0	3,51 (2,68-3,96)	-	-	0,92 (1,26-2,85)	1,56 (1,44-1,68)
Longitud del apéndice ventricular	1,0-1,6	-	-	-	0,68 (0,65)	0,50 (0,46-0,53)
Longitud del ventrículo	-	-	-	-	0,15 (0,08-0,25)	0,21 (0,16-0,26)
Longitud ventrículo + AV	-	1,52 (1,00-2,03)	-	-	-	0,70 (0,62-0,79)
Longitud de la cola	0,15-0,30	0,24 (0,18-0,30)	-	0,39	0,22 (0,18-0,33)	0,20 (0,19-0,23)
Longitud de las espículas (+)	5,0-8,0	8,75 (7,25-11,35)	4,0-5,0	12	8,93 (6,38-11,09)	8,97 (8,12-10,71)
(-)	-	-	-	11,8	-	7,60 (5,89-10,59)
LC / AMC	18,75-46,67	33,66-35,07	-	-	27,52 (23,78-31,14)	27,52 (23,78-31,14)
LC / LE	5,45-11,66	8,46 (7,3-10,7)	-	-	6,93 (6,10-7,50)	6,93 (6,10-7,50)
LC / Co	100-233	156,67-188,88	-	-	83,62 (73,10-90,73)	83,62 (73,10-90,73)
LE / CI	1,44-1,5	1,29 (1,11-1,40)	-	-	1,62 (1,54-1,76)	1,62 (1,54-1,76)
LE / LAV	-	-	-	-	5,5	5,5
LC / LEs	3,0-8,75	4,34 (3,71-6,10)	3,00-6,00	-	1,94 (1,69-2,24)	1,94 (1,69-2,24)

**Tabla 10.** Datos morfométricos de machos adultos de *Contraecum mirounga* Nikolskiy, 1974, proveniente de *S. magellanicus* de Península Valdés, Chubut, en contraste con aquellas especies de *Contraecum* que parasitan a pinípedos. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos, P= pares, AV= apéndice ventricular; (+) espícula derecha; (-) espícula izquierda; LC/AMC = relación longitud del cuerpo / ancho máximo del cuerpo; LC/LE = relación longitud del cuerpo / longitud del esófago; LC/LCo = relación longitud del cuerpo / largo de cola; LE/LCI = relación longitud del esófago / longitud del ciego intestinal; LE/LAV = relación longitud del esófago / longitud del apéndice ventricular; LC/LEs = relación longitud del cuerpo / longitud de espícula.

Especie	<i>C. osculatum</i>	<i>C. osculatum</i>	<i>C. radiatum</i>	<i>C. turgidum</i>	<i>C. mirounga</i>	<i>C. mirounga</i>
<b>Referencia</b>	Baylis, 1936	Fagerholm, 1989	Linstow, 1907	Chapin, 1927	Nikolskiy, 1974	Presente estudio
<b>Especie hospedadora</b>	<i>Phoca vitulina</i>	<i>Phoca hispida</i>	<i>Leptonychotes weddelli</i>	<i>Monachus schauinslandii</i>	<i>Mirounga leonina</i>	<i>S. magellanicus</i>
<b>Localidad</b>	Mar Báltico	Mar Báltico	Mar de Wedell, Antártida	Miami, EEUU	Islas Balleni, Antártida	Península Valdés, Chubut
<b>Hembras (n)</b>	sin datos	5	sin datos	sin datos	4	8
Longitud del cuerpo	15,0-90,0	48,00 (44,0-53,0)	13,4-40,0	62,0	22,22 (19,5-26,8)	24,17 (17,56-33,05)
Ancho máximo del cuerpo	0,8-2,0	1,60 (1,39-1,8)	1,2	2,8	0,65 (0,5-1,4)	0,94 (0,52-1,48)
Distancia del EA al AN	0,5-1,0	0,89 (0,84-0,97)	-	-	0,26 (0,2-0,3)	0,55 (0,48-0,65)
Distancia del EA a D	0,6-1,2	1,09 (0,99-1,19)	-	-	0,37 (0,35-0,4)	0,72 (0,62-0,90)
Longitud del esófago	2,75-6,0	4,67 (4,44-5,02)	-	6,0	2,91 (2,9-4,9)	3,03 (2,81-3,32)
Longitud del ciego intestinal	1,9-4,0	3,39 (3,14-3,75)	-	-	1,97 (2,0-2,65)	2,38 (2,10-2,74)
Longitud del ventrículo	-	-	-	-	0,16 (0,2-0,25)	0,22 (0,17-0,26)
Longitud del apéndice ventricular	1,0-1,6	-	-	-	0,84 (0,6-0,84)	0,72 (0,65-0,82)
Distancia de vulva al EA	-	14,9 (11,0-17,3)	-	-	7,14 (5,25-9,0)	6,94 (5,28-9,23)
Longitud de la cola	0,22-0,55	0,44 (0,39-0,51)	-	0,8	0,3 (0,3-0,35)	0,41 (0,30-0,63)
Huevo embrionado	0,06-0,096	0,072 (0,063-0,085)	-	0,06-0,054	-	0,06 (0,057-0,064)

**Tabla 11.** Datos morfométricos de hembras adultas de *Contraecum mirounga* Nikolskiy, 1974, proveniente de *S. magellanicus* de Península Valdés, Chubut, en contraste con aquellas especies de *Contraecum* que parasitan a pinípedos. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos.



**Figura 19.** *Contracaecum mirounga* Nikolskiy, 1974, proveniente de *S. magellanicus* de Península Valdés, Chubut. (a) Extremo anterior, labios, interlabios, deirido; (b) extremo anterior, vista laterodorsal, labios, interlabios, collar cefálico; (c) detalle del interlabio; (d) extremo posterior del macho, vista ventral, papilas pre y postcloacales; (e-f) extremo posterior del macho, papilas poscloacales, a1-a3 = subventrales, a4 = sublaterales, p = fásmido, ad = adacloacales, b = paracloacales.

---

## *Contracaecum* sp. 2

### *\*Descripción*

*Morfología general* (4 especímenes provenientes de un ejemplar de *S. magellanicus* del Zoológico de La Plata, Tablas 12 y 13, Fig. 20): cutícula completamente estriada transversalmente (Figs. 20a-d), collar cefálico muy desarrollado con bordes libres concéntricos profundos y con una región lateral estrecha en forma de “V” sin estriaciones (Figs. 20a, b). Labios sin hendiduras apicales, con 2 aurículas prominentes en forma de lóbulo con una terminación sensorial (tip) bien notoria (Figs. 20a, b). Papilas labiales conspicuas, 2 sobre el labio dorsal y 1 en cada labio ventrolateral (Figs. 20a, b). Anfidos pequeños. Tres interlabios no bífidos bien desarrollados con el ápice en forma de trapecio (Figs. 20a, b).

*Macho* (holotipo): longitud del cuerpo 25,92, ancho máximo del cuerpo 0,83. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y a los deiridos: 0,58 y 0,66, respectivamente. Longitud del esófago 3,62; longitud del ciego intestinal 2,41; longitud del ventrículo 0,30; longitud del apéndice ventricular 0,80. Espículas de igual longitud (10,82) alcanzando casi la mitad de cuerpo. Longitud de la cola 0,19. Extremidad caudal cónica mostrando 35 pares de papilas precloacales conspicuas, sobreelevadas en la cutícula. Pts-zone abarcando 5 pares de papilas precloacales (Fig. 20d). Nueve pares de papilas postcloacales; 3 pares de papilas paracloacales pequeñas, situadas al lado de la cloaca, 3 pares subventrales, 2 pares sublaterales y 1 par de fásmidos ubicado más arriba entre estos dos último pares (Figs. 20c-e) (Tabla 12).

*Hembra* (alotipo): longitud del cuerpo 29,20. Ancho máximo del cuerpo 0,99. Distancia del extremo anterior al anillo nervioso y deiridos: 0,54 y 0,63, respectivamente. Longitud del esófago 3,12; longitud del ciego intestinal 2,08; longitud del ventrículo 0,25; longitud del apéndice ventricular 0,66. Vulva en la mitad anterior de cuerpo. Distancia del extremo anterior a la vulva 8,72. Longitud de la cola 0,40. Diámetro de huevos embrionados 0,069 (n = 10) (Tabla 13).

**Resumen taxonómico**

Hospedador tipo: *Spheniscus magellanicus* Forster (Spheniscidae).

Localidad tipo: Zoológico de La Plata, Buenos Aires (procedencia: costa bonaerense).

Sitios de infección: estómago.

Prevalencia: n = 1.

Intensidad: 4

Depósito de los especímenes: Colección Helmintológica del Museo de La Plata (CHMLP XXX), Buenos Aires.

**Comentarios:**

El hecho de haber hallado sólo un ejemplar macho y 3 hembras de *Contracaecum* sp.2 hizo dificultosa la diagnosis. Sin embargo, al comparar estos especímenes con otras especies del género que parasitan a Spheniscidae puede observarse que los caracteres morfométricos estudiados se aproximan a las especies comparadas: *C. pelagicum*, *C. spheniscus* y *C. mirounga* (Boero & Led, 1970, Portes-Santos, 1984; Garbin et al., 2007) (Tablas 12 y 13). Únicamente la hembra presenta un ciego intestinal y un apéndice ventricular más pequeños, en contraste con *C. pelagicum* encontrados en *S. magellanicus* y *T. melanophris* de Península Valdés. En cambio ambos órganos son más largos comparados con hembras de *C. mirounga* que parasitan a *S. magellanicus* del mismo sitio (Tabla 13).

Sin embargo, los especímenes exhiben marcadas diferencias en cuanto a la morfología del labio e interlabio y a la distribución de las papilas caudales en el macho respecto a las especies del género *Contracaecum* mencionadas anteriormente. *Contracaecum* sp.2 muestra 35 pares de papilas precloacales conspicuas, levemente pedunculadas, que se observan sobreelevadas en la cutícula, 3 pares de papilas paracloacales, 3 pares de papilas distales subventrales y 2 pares de papilas distales sublaterales. El fásmidio se ubica por encima de la línea trazada por el par de papilas distales sublaterales en forma de trapecio (Figs. 20c, e). Este patrón de distribución de papilas postcloacales es muy peculiar puesto que no es compartido por ninguna otra especie del género *Contracaecum*, teniendo en cuenta que el patrón de distribución general de papilas postcloacales de las especies de *Contracaecum* que parasitan aves está conformado por 2 pares paracloacales, 2 pares subventrales, 2 pares sublaterales y un par de fásmidios localizado entre estos últimos 2 pares (Fagerholm, 1990). Sin embargo, algunas excepciones a este patrón han sido

observadas en *C. multipapillatum*, que parasita Ardeidae (Huizinga 1967; Navone et al., 2000).

Otro rasgo diferencial de *Contracaecum* sp.2 es la forma trapezoidal del extremo interlabial y las conspicuas aurículas de sus labios (Fig. 20a, b), carácter no compartido por ninguna otra especie del género.

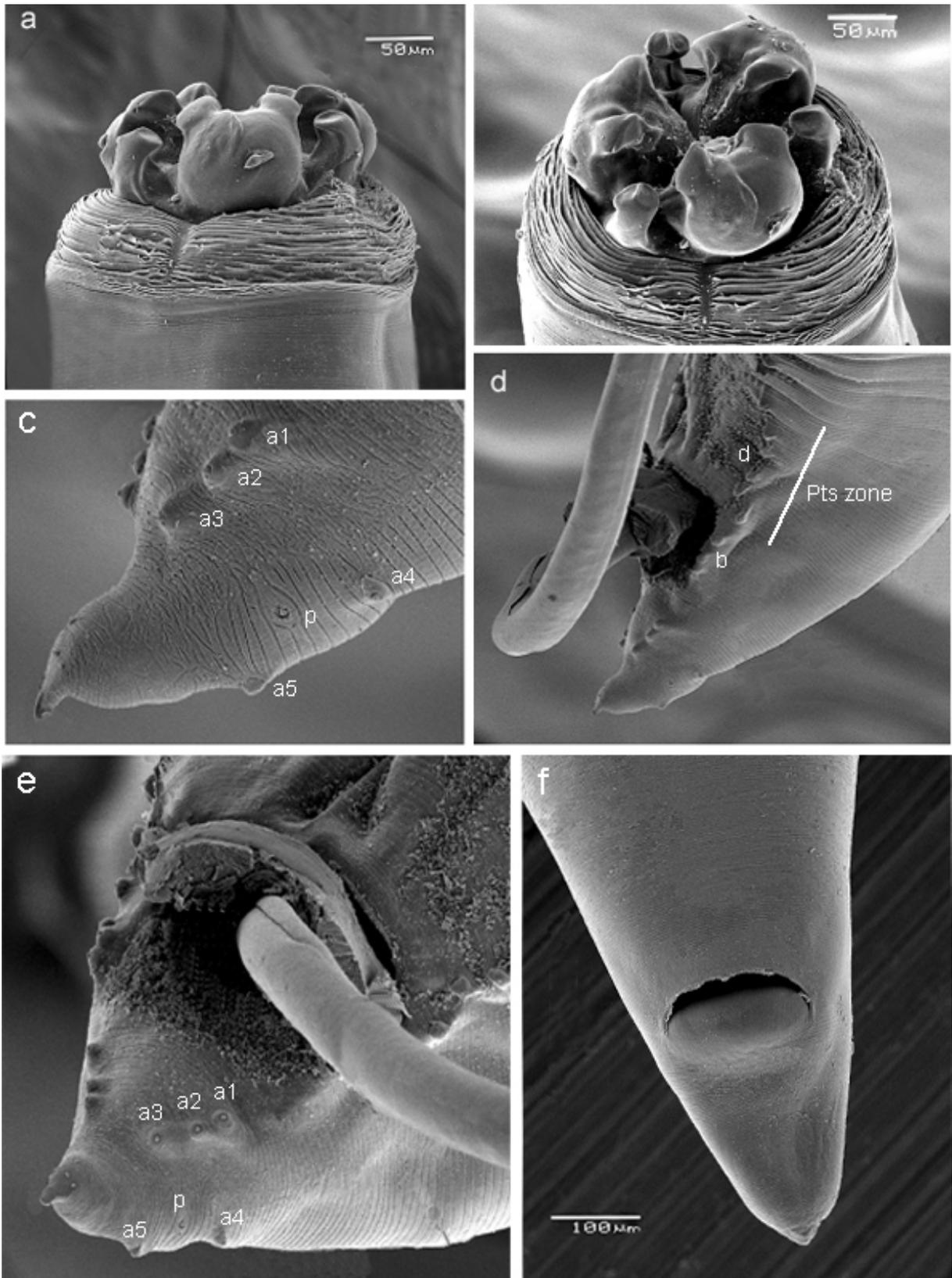
Nuevos hallazgos permitirán realizar un estudio exhaustivo y permitirán establecer la identidad de *Contracaecum* sp.2.

Especie	<i>Contraecaeum</i> sp.2	<i>C. mirounga</i>	<i>C. spheniscus</i>	<i>C. pelagicum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<b>Referencia</b>	Presente estudio	Presente estudio	Boero & Led., 1970	Presente estudio	Presente estudio
<b>Especie hospedadora</b>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>T. melanophris</i>
<b>Localidad</b>	Costa bonaerense	Península Valdés	Costa bonaerense	Ea. San Lorenzo Península Valdés	Playa Fracasso Península Valdés
<b>Macho (n)</b>	1 (holotipo)	5	-	10	4
Longitud del cuerpo	25,92	17,32 (15,6-18,6)	28,8	17,56 (11,00-25,08)	22,18 (20,44-25,52)
Ancho máximo del cuerpo	0,83	0,63 (0,58-0,67)	0,72	0,67 (0,56-0,96)	0,75 (0,55-0,90)
Distancia del EA al AN	0,58	0,39	0,55	0,46 (0,36-0,51)	0,48 (0,38-0,61)
Distancia del EA a D	0,66	0,53	-	0,65 (0,57-0,73)	0,61 (0,53-0,69)
Longitud del esófago	3,62	2,55 (2,48-2,64)	3,24	2,78 (1,90-3,97)	2,88 (2,36-3,88)
Longitud del ciego intestinal	2,41	1,56 (1,44-1,68)	2,45	1,97 (1,56-2,68)	2,23 (1,88-2,98)
Longitud del ventrículo	0,30	0,21 (0,16-0,26)	-	0,22 (0,16-0,26)	0,21 (0,18-0,23)
Longitud del apéndice ventricular	0,80	0,5 (0,46-0,53)	1,22	0,74 (0,63-0,83)	0,64 (0,59-0,80)
Longitud de las espículas (+)	10,82	8,97 (8,12-10,71)	4,5	4,10 (3,07-5,07)	4,87 (4,81-4,90)
(-)	-	7,60 (5,89-10,59)	4,32	-	-
Longitud de la cola	0,19	0,20 (0,19-0,23)	-	0,18 (0,11-0,29)	0,16 (0,12-0,20)
P papilas precloacales	35	68-74	-	25-31	30-31
P papilas postcloacales	8	10-11	-	7	7
P papilas paracloacales	3	2	-	2	2
P papilas adacloacales	-	5	-	-	-
P papilas distales subventrales	3	2	-	2	2
P papilas distales sublaterales	2	2	-	2	2
Papila medial	-	-	-	-	-

**Tabla 12.** Tabla comparativa de machos adultos de *Contraecaeum* sp.2 provenientes de *S. magellanicus* de la costa bonaerense en contraste con aquellas especies del género *Contraecaeum* que parasitan a *S. magellanicus* encontradas en el presente trabajo y por otros autores. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos, P= pares, (+) espícula derecha; (-) espícula izquierda.

Especie	<i>Contraecaeum</i> sp.2	<i>C. mirounga</i>	<i>C. spheniscus</i>	<i>C. pelagicum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<b>Referencia</b>	Presente estudio	Presente estudio	Boero & Led, 1970	Presente estudio	Presente estudio
<b>Especie hospedadora</b>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>S. magellanicus</i>	<i>T. melanophris</i>
<b>Localidad</b>	Costa bonaerense	Península Valdés	Costa bonaerense	Ea. San Lorenzo Península Valdés	Playa Fracasso Península Valdés
<b>Hembra (n)</b>	3	8	-	4	10
Longitud del cuerpo	32,55 (29,20 -35,10)	20,36 (14,60-39,84)	-	35,33 (32,60-39,20)	24,17(17,56-33,05)
Ancho máximo del cuerpo	1,09 (0,99-1,20)	0,70 (0,44-1,09)	-	0,82 (0,79-0,85)	0,94 (0,52-1,48)
Distancia del EA al AN	0,58 (0,54-0,61)	0,48 (0,38-0,71)	-	0,57 (0,51-0,61)	0,55 (0,48-0,65)
Distancia del EA a D	0,65 (0,63-0,68)	-	-	0,64 (0,58-0,71)	0,72 (0,62-0,90)
Longitud del esófago	3,30 (3,12-3,64)	2,51 (1,49-3,07)	-	3,74 (3,22-4,60)	3,03 (2,81-3,32)
Longitud del ciego intestinal	2,14 (2,08-2,36)	1,59 (1,00-2,04)	-	2,73 (2,28-3,20)	2,38 (2,10-2,74)
Longitud del ventrículo	0,25 (0,23-0,28)	0,17 (0,11-0,25)	-	0,21 (0,16-0,26)	0,22 (0,17-0,26)
Longitud del apéndice ventricular	0,69 (0,66-0,72)	0,55 (0,45-0,66)	-	0,86 (0,79-0,91)	0,72 (0,65-0,82)
Distancia del EA a la vulva	8,87 (8,72-9,07)	6,25 (5,69-7,44)	-	9,75 (8,20-11,90)	6,94 (5,28-9,23)
Longitud de la cola	0,46 (0,40-0,52)	0,25 (0,16-0,42)	-	0,36 (0,31-0,43)	0,41 (0,30-0,63)
Huevo embrionado	0,069 (0,068-0,070)	-	-	0,064 (0,062-0,066)	0,060

**Tabla 13.** Tabla comparativa de hembras adultas de *Contraecaeum* sp.2 provenientes de *S. magellanicus* de la costa bonaerense en contraste con aquellas especies del género *Contraecaeum* que parasitan a *S. magellanicus* encontradas en el presente trabajo y por otros autores. Referencias: EA= extremo anterior, AN= anillo nervioso, D= deiridos.



**Figura 20.** *Contracaecum* sp.2 proveniente de *S. magellanicus* de la costa bonaerense. (a) Extremo anterior, vista lateral; (b) extremo anterior, vista laterodorsal, collar cefálico, labio dorsal, interlabio, papilas labiales, botón sensorial de la aurícula; (c, d, e) extremo posterior del macho, papilas pre y postcloacales: a1-a3 = subventrales, a4-a5 = sublaterales, b = paracloacales, d = precloacales y p = fásmido; (f) extremo posterior de la hembra.

## Capítulo 2

# Caracterización molecular de Anisakidae

---

### Introducción

En décadas recientes, las técnicas de genética molecular han contribuido a encontrar marcadores moleculares que permitieron reconocer especies verdaderas dentro de la familia Anisakidae. La controversia en la sistemática de los anisákidos, radica en posiciones taxonómicas confusas cuando la clasificación se basa solamente en caracteres morfológicos (Kennedy & Harnett, 2001; Blaxter, 2001). La pérdida de diferencias morfológicas en estos nematodos podría deberse a factores tales como una presión de selección similar, que causa la conservación de la morfología. Consecuentemente, algunos caracteres morfológicos tienen poco o ningún valor taxonómico debido a la co-adaptación evolutiva de estos endoparásitos a un hábitat estable representado por su hospedador definitivo (Kennedy & Harnett, 2000).

En las últimas dos décadas, la detección por marcadores moleculares permitieron identificar nuevas especies crípticas ó “sibling” dentro de los Anisakidae. Estas especies se asemejan demasiado en apariencia y en otras características, pero no pueden cruzarse entre sí. Las mismas poseen *pooles* de genes reproductivamente aislados, correspondiendo a verdaderas “especies biológicas” (Mattiucci & Nascetti, 2008). Según Mayr (1970), una especie corresponde a un grupo de poblaciones naturales, genéticamente similares, interfértiles y aisladas de otros grupos análogos. Actualmente existen morfoespecies o complejos de especies basados en especies cosmopolitas previamente reconocidas (*sensu lato*), que puede comprender varias especies, tal es el caso del complejo *Contraecaecum rudolphii* en aves y *C. osculatum* en pinípedos (Mattiucci & Nascetti, 2008). Las morfoespecies podrían presentar varias especies hospedadoras, esto se refiere a poblaciones parásitas aisladas en sus hospedadores que han divergido genéticamente pero que han conservado sus caracteres morfológicos (Mattiucci & Nascetti, 2008).

Las pruebas iniciales para aplicar genética de poblaciones al estudio de la variación genética en anisákidos fueron realizadas mediante marcadores enzimáticos en electroforesis de varias alozimas multiloculares. Estas pruebas han permitido caracterizar genéticamente a las diferentes especies de Anisakidae, estimar su diferenciación genética, identificar sus estadios larvales, los cuales carecen de caracteres morfológicos diagnósticos y establecer sus relaciones genéticas (Bullini et al., 1986; Arduino et al., 1995; Mattiucci & Nascetti, 2006; Mattiucci et al., 1997, 2004, 2008, 2008b; Nascetti et al., 1993; Paggi et al., 1991, entre otros). Posteriormente, la introducción de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitió revisar el estatus taxonómico de las especies de anisákidos previamente basadas en marcadores enzimáticos.

Hasta el momento se han usado un número de genes diferentes en nematodos ascaridoideos tales como las regiones transcriptas internas de ARN ribosómico ITS-1 e ITS-2, 5.8S, y los genes de ADN mitocondrial citocromo-oxidasa 2 (*cox2*) y citocromo-oxidasa b (*Cytb*) (Gasser et al., 1993, 1997; Kennedy & Harnett, 2000; Blaxter, 2001). Otros genes utilizados en nematodos, carecen de aplicabilidad en la sistemática molecular de Anisakidae (Mattiucci & Nascetti, 2008). Los genes más utilizados como marcadores genéticos en el género *Contraecum* son los *cox2*, genes altamente conservados de las mitocondrias, de herencia maternal y cuya variación genética en algunos pares de bases determina la divergencia de especies (D'Amelio et al., 2000, 2007; Mattiucci et al., 2004, 2005, 2007a, 2008a, Mattiucci & Nascetti, 2006). Además, estos genes poseen una alta tasa de mutación y sustitución de nucleótidos en donde se puede evidenciar claramente la variabilidad genética (Paggi et al., 1991, Zhu et al., 1998).

De todos modos, la validez taxonómica de una especie diferenciada solamente mediante marcadores moleculares, es motivo de controversia entre taxónomos tradicionales y biólogos moleculares, ya que se plantea si un sólo gen puede ser un carácter diagnóstico suficiente y confiable para la diferenciación entre especies.

Teniendo en cuenta estos aspectos, el presente capítulo intenta establecer la identidad genética de las especies de *Contraecum* caracterizadas morfológicamente y diagnosticadas mediante métodos convencionales de taxonomía en este estudio.

### ***Antecedentes***

Los antecedentes en el uso de marcadores moleculares en anisákidos parásitos de organismos marinos del Mar Argentino son escasos y en aves marinas son nulos. Mattiucci et al. (2003) dieron a conocer la validez taxonómica de *Contraecum ogmorhini* Johnston &

Mawson, 1941, que parasita a *Arctocephalus australis* (Otaridae) y *Mirounga leonina* (Phocidae) de la costa del Mar Argentino, mediante el uso de marcadores alozimáticos y moleculares. Mattiucci et al. (2008b) establecieron las relaciones filogenéticas de *C. ogmorhini* y *Contracaecum mirounga* que parasitan pinípedos de la costa del Mar Argentino, *A. australis* y *M. leonina* respectivamente, con otros taxa del género *Contracaecum* provenientes de pinípedos de otros lugares del mundo. Otro estudio genético-molecular, llevado a cabo en peces pelágicos del Mar Argentino, fue el de *Anisakis pegreffii* Campana-Rouget & Biocca, 1955, que parasita a *Merluccius hubbsi* Marini (Merluciidae) en aguas cercanas a las Islas Malvinas (Mattiucci et al., 1997).

En este marco se plantearon los siguientes objetivos:

\* Establecer la identidad genética de las especies de Anisakidae que parasitan aves marinas de Península Valdés, *Spheniscus magellanicus*, *Phalacrocorax a. albiventer*, *Phalacrocorax a. atriceps*, *Phalacrocorax brasilianus*, *Phalacrocorax magellanicus* y *Thalassarche melanophris*, estableciendo las relaciones filogenéticas con sus congéneres pertenecientes a otras áreas geográficas.

## **Materiales y Métodos**

Todas las pruebas de biología molecular se realizaron en el Dipartimento di Ecologia e Sviluppo Economico Sostenibile, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo, Italia, a cargo del Dr. Giuseppe Nascetti y con su colaboración. Las pruebas de electroforesis de alozimas se llevaron a cabo en la Sezione di Parassitologia, Dipartimento di Scienze di Sanità Pubblica, Università di Roma "La Sapienza", a cargo de la Dra. Simonetta Mattiucci.

### ***Especímenes analizados***

Para las pruebas de biología molecular y de electroforesis de alozimas se analizaron nematodos de todos los hospedadores estudiados.

\* *Spheniscus magellanicus*: se procesaron 20 adultos y 20 larvas L4 de *Contracaecum pelagicum* provenientes de la estancia San Lorenzo, Península Valdés y 17 adultos de la misma especie provenientes de Cabo Vírgenes, Santa Cruz.

\**Phalacrocorax brasilianus*: 11 ejemplares de Laguna Santa Helena, VIII Región, Chile, de *Contracaecum* n. sp.1, 5 individuos de *Contracaecum* n. sp.1 de Playa Fracasso, Península Valdés y 8 de *Contracaecum* n. sp.1 de Bahía Blanca, Buenos Aires.

\**Phalacrocorax a. albiventer*: 16 ejemplares de *C. pelagicum* de Punta León, Chubut.

\**Phalacrocorax a. atriceps*: 28 ejemplares de *Contracaecum chubutensis* y 10 de *Pseudoterranova* sp. de Bahía Bustamante, Chubut.

\**Phalacrocorax magellanicus*: 2 ejemplares de *Contracaecum* sp. de Punta Loma, Chubut.

\**Thalassarche melanophris*: 4 ejemplares de *C. pelagicum* de Península Valdés.

Las muestras fueron contrastadas genéticamente con secuencias de genes mitocondriales *cox2* de otras especies de *Contracaecum* que parasitan a aves piscívoras de diferentes regiones del mundo, tales como *Contracaecum bioccai* Mattiucci, Paoletti, Olivero-Verbel, Baldiris, Arroyo-Salgado, Garbin, Navone, Nascetti, 2008, colectada del estómago de *Pelecanus occidentalis* Linnaeus (Pelecanidae) del norte colombiano; *Contracaecum septentrionale* Kreiss, 1955 de *Phalacrocorax aristotelis* Linnaeus (Phalacrocoracidae) de Islandia y Noruega, *Contracaecum microcephalum* (Rudolphii, 1809) de *Phalacrocorax pygmaeus* (Pallas) (Phalacrocoracidae) de Montenegro; *Contracaecum micropapillatum* Stossich, 1890 de *Pelecanus onocrotalus* (Linnaeus) (Pelecanidae) de Aswan, Egipto; *Contracaecum variegatum* Rudolphii, 1809 de *Spheniscus demersus* (Linnaeus) (Spheniscidae) de las costas sudafricanas; las especies crípticas del complejo *Contracaecum rudolphii* (Hartwich, 1964) conocidas como *C. rudolphii* A, B de *Phalacrocorax carbo sinensis* (Linnaeus) (Phalacrocoracidae), procedentes de ejemplares de Polonia e Italia respectivamente y *C. rudolphii* C de *Phalacrocorax verrucosus* (Cabanis) (Phalacrocoracidae) de las islas Kerguelen, Océano Índico; y del complejo *Contracaecum multipapillatum* (von Drasche, 1882), tales como *C. multipapillatum* A, B, C y D de diferentes aves de Europa y Norteamérica. No se detallan el número de ejemplares de estas especies de *Contracaecum* analizados, la cantidad de hospedadores prospectados y el sitio de muestreo puesto que no son objeto de estudio de este trabajo de tesis.

### **Extracción del ADN**

Se utilizó el método CTAB (Bromuro de Cetiltrimetilamonio), que consistió en colocar una pequeña porción de la región central del cuerpo del nematodo (2-10 mg) en un tubo eppendorf de 1,5 ml con 500 µl de CTAB más 5 µl de Proteinasa K. Se digirió durante 3 hs a 56°C. Se agregaron 500 µl de fenol-cloroformo, se agitó durante 5 min., y se centrifugó dos

veces durante 15 min. Se agregaron 500 µl de Cloroformo, se agitó durante 5 min. y se centrifugó otros 15 min. Se aspiró el sobrenadante y se agregaron 1000 µl de etanol absoluto + 20 µl de NaCl 5M. Luego se precipitó durante 30 min. a -20°C. Se centrifugó durante 15 min. y se eliminó el sobrenadante. Se agregaron 500 µl de Etanol 70% y se centrifugó durante 10-15 min. Se eliminó el sobrenadante y se dejó reposar a temperatura ambiente durante toda la noche o bien durante media hora a 50°C en un termoblock. El pellet precipitado se suspendió en 100 µl de TE, en este paso se puede conservar en frío por un período limitado y después se debe conservar a -20°C. Posteriormente se diluyó la muestra (30 µl/ml) hasta obtener bandas nítidas (se debe tener cuidado con los individuos que muestren poco ADN).

### ***Amplificación y secuenciación del ADN***

Todos los especímenes se caracterizaron genéticamente utilizando genes Citocromooxidasa II (*cox2*) de ADN mitocondrial (ADNmit). Se analizó un fragmento de 519 pares de bases de *cox2* para algunos especímenes de *Contracaecum*. El gen *cox2* de cada especie de *Contracaecum* fue amplificado usando los primers 211F 5'-TTT TCT AGT TAT ATA GAT TGR TTY AT-3' y 210R 5'-CAC CAA CTC TTA TTA AAA TC-3' (Nadler & Hudspeth, 2000) definidos para *Ascaris suum* (Genbank X54253). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) fue llevada a cabo en un volumen de 50 µl conteniendo 30 pmol. de cada primer, MgCl<sub>2</sub> 2.5mM, buffer PCR 1 X, DMSO 0.08 mM, 0.4 mM de dNTPs, 5 U de Taq polimerasa y 10 ng. de ADN total. La mezcla fue desnaturalizada a 94°C durante 3 min., seguido por 34 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 46°C durante 1 min. y 72°C durante 1.5 min., seguido por una post-amplificación a 72°C durante 10 minutos. El producto de la PCR fue purificado usando el método de precipitación PEG y la secuenciación automatizada del ADN fue llevada a cabo por Macrogen Inc., Seúl, Corea, usando los primers 210 y 211. Las muestras de referencia y las muestras aisladas de ADN fueron preservadas en la Sección de Parasitología (DSSP), Universidad de Roma "La Sapienza".

### ***Análisis de secuencias***

Las secuencias de ADN mitocondrial *cox2* fueron alineadas usando el programa ClustalW (Thompson et al., 1994) (Fig. 23) y la matriz cuadrada basada en "p-distance" y K-2P se llevó a cabo usando el programa MEGA 3.1 (Kumar et al., 2001). El análisis filogenético a nivel interespecífico se realizó usando Máxima Parsimonia (MP) con el programa PAUP\* versión 4.0 (Swofford, 2003). Los análisis de UPGMA y Neighbour-

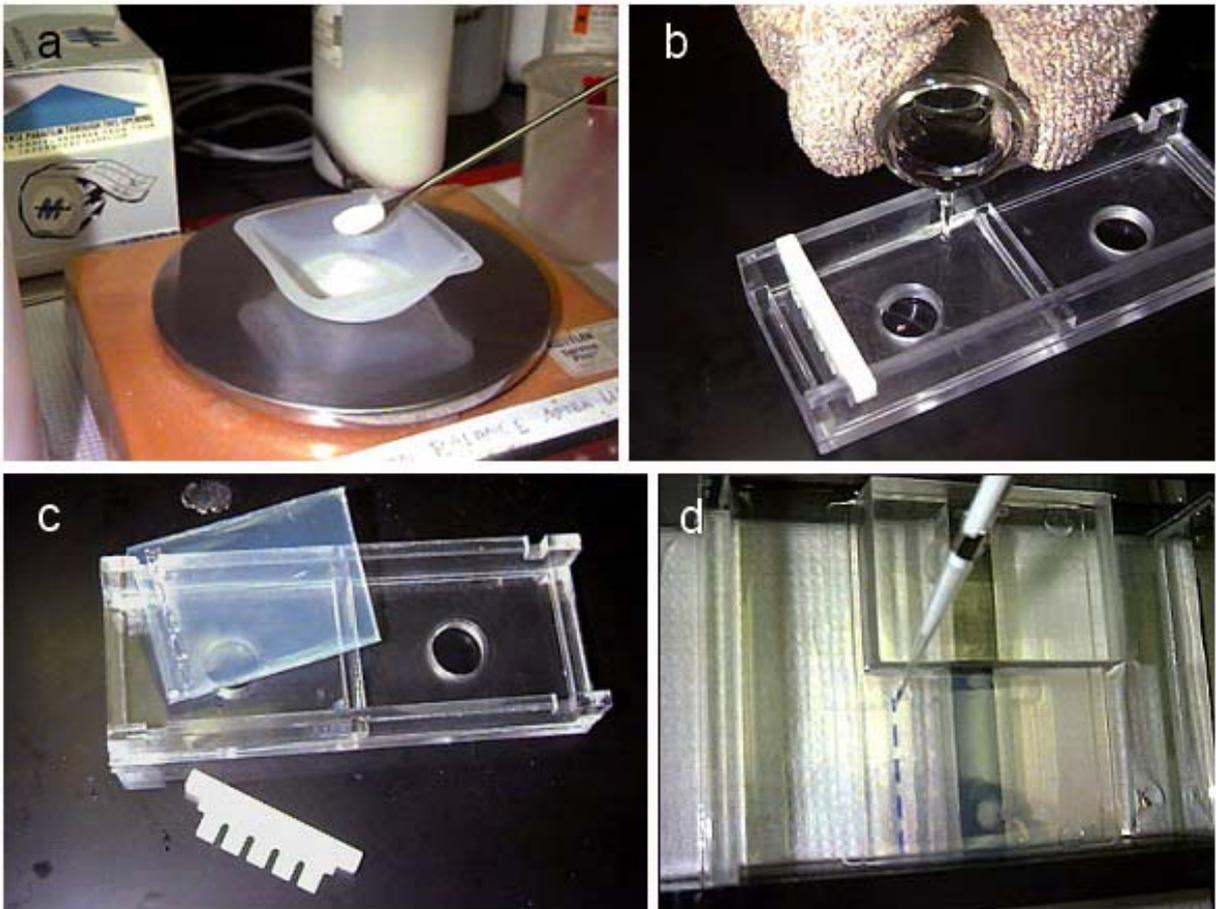
Joining (NJ), basados en valores de K-2P, se realizaron con MEGA 3.1 (Kumar et al., 2001). La confiabilidad de las relaciones filogenéticas fueron evaluadas usando análisis de bootstrap no paramétrico (Felsenstein, 1985) para los árboles de MP y NJ. El análisis de componentes principales (ACP) sobre las secuencias de ADNmit fue llevado a cabo usando el programa SYN-TAX 2000 (Podani, 2005). Las secuencias obtenidas fueron depositadas en el GenBank. Los valores de bootstrap  $\geq 70$  fueron considerados bien soportados (Hills & Bull, 1993). Las secuencias de ADNmit *cox2* de *Pseudoterranova ceticola* Deardoff & Overstreet, 1982, proveniente de *Kogia breviceps* (Genbank DQ116435) y *Contracaecum osculatum* (Rud., 1802) (*sensu stricto*) (Nascetti et al., 1993) de *Halichoerus grypus* (Genbank EF122211), fueron usadas como outgroups para enraizar los árboles filogenéticos (Nadler et al., 2000, 2005).

### ***Electroforesis de alozimas multiloculares***

Esta técnica se utilizó únicamente para contrastar a *C. pelagicum* con otras especies del género *Contracaecum*, no pudiendo ser realizada en *Contracaecum* n. sp.1 debido a la falta de material vivo o congelado.

La variación genética de los especímenes de *Contracaecum* spp. se estudió mediante electroforesis de gel de almidón horizontal usando 20 loci enzimáticos: idditol-deshidrogenasa (Iddh), malato-deshidrogenasa (Mdh-1, Mdh-2, Mdh-3, Mdh-4), isocitrato-deshidrogenasa (Icdh), 6-fosfogluconato-deshidrogenasa (6Pgdh), gliceraldehído-deshidrogenasa-3-fosfato (Gapdh), superóxido-dismutasa (Sod-1, Sod-2), nucleósido-fosforilasa (Np), aspartato-amino-transferasa (Aat-2), adenilato-kinasa (Adk-2), esterasa-colorimétrica (cEst-1), leucina-alanina-peptidasa (PepC-1, PepC-2), manosa-isomerasa-fosfato (Mpi), glucosa-fosfato-isomerasa (Gpi) y fosfoglucomutasa (Pgm-1, Pgm-2). El método de tinción se encuentra detallado en Nascetti et al. (1993) y Mattiucci et al. (1997). Las isozimas se numeraron de acuerdo al orden decreciente de movilidad desde la más anodal. Las alozimas fueron nombradas usando números que indican su movilidad expresada en milímetros (condiciones estandarizadas) relativos al alelo más común, designado con el número 100, y encontrado en la población de referencia de *C. rudolphii* proveniente de *P. carbo sinensis*. La significancia estadística del equilibrio de Hardy-Weingber fue estimada usando el test  $X^2$ . La divergencia genética de las poblaciones y las especies fueron calculadas usando los siguientes índices: Distancia Genética Estándar -  $D_{Nei}$  (Nei, 1972), y “Chord-Distance” (Dc) (Cavalli-Sforza & Edwards, 1967). El análisis genético de las poblaciones se llevó a cabo usando el programa BIOSYS-2 (Swofford & Selander, 1989). Las relaciones

genéticas entre las diferentes especies de *Contracaecum* fueron evaluadas mediante UPGMA y análisis de clusters Neighbour-Joining (NJ) usando el programa PHYLIP versión 3.57 (Felsenstein, 1995). El análisis de consenso de bootstrap (500 replicas) fue llevado a cabo para verificar la robustez de las topologías obtenidas (Felsenstein, 1995). El análisis ACP se realizó con SYN-TAX 2000 (Podani, 2005).



**Figura 21.** Trabajo en laboratorio para pruebas de PCR. a-c) Preparación de los geles; d) Inoculación del producto de PCR.

## Resultados

### *Análisis de ADN mitocondrial cox2*

La amplificación de la región de 519 pb de ADN mitocondrial correspondiente al gen *cox2* fue exitosa, arrojando bandas nítidas, para el material de *Contracaecum* spp. proveniente de *S. magellanicus* de Península Valdés, *P. albiventer* de Punta León, Chubut y *P. brasiliensis* de la laguna Santa Elena, VIII Región, Chile (Fig. 22a). La secuenciación posterior de las diferentes amplificaciones correspondientes a las distintas especies de *Contracaecum* analizadas y la alineación de las mismas mediante el programa Bioedit se observan en la Figura 23.

Los fragmentos de ADN mitocondrial *cox2* de todas las especies analizadas resultaron ricos en AT en un 64,2%, 70,1% y 60,7% en el primer, segundo y tercer codón respectivamente. Se identificaron 155 (30%) sitios variables para las 519 pb analizadas. A nivel de aminoácidos, un total de 28 posiciones variables fueron encontradas en las especies de *Contracaecum* comparadas (Fig. 23).

Los especímenes de *Contracaecum* que parasitan a *S. magellanicus* de Península Valdés y *P. albiventer* de Punta León, caracterizados genéticamente a nivel de genes de ADN mitocondrial *cox2* y de alozimas, se correspondieron con *Contracaecum pelagicum*.

Los valores de distancia genética inferidos de genes *cox2* se muestran en la Tabla 14 y las relaciones genéticas establecidas para todas las especies de *Contracaecum* estudiadas se muestran en los árboles de MP, UPGMA y NJ (Figs. 24-28). *Contracaecum pelagicum* también mostró estar genéticamente más cercano a *C. rudolphii* A (K-2P= 0.12) y *C. bioccai* (K-2P= 0.13) (Tabla 14). De acuerdo con el test de MP usando PAUP (Fig. 24) y UPGMA (Fig. 25), *C. pelagicum* se mostró cercanamente relacionado con *C. bioccai*, no obstante, mediante el test de NJ, la especie se aleja bastante de este taxón. Análisis posteriores mediante NJ y MP, con la inclusión de nuevas especies, relacionan estrechamente a *C. pelagicum* con *C. variegatum* (Fig. 27, 28), el segundo test además la relaciona, algo más alejada, con *C. bioccai* (Fig. 28).

El análisis de componentes principales (ACP) inferidos de genes *cox2* muestra la relación de *C. pelagicum* con el resto de las especies estudiadas, observándose que la especie se aleja genéticamente de las restantes especies estudiadas (Fig. 29).

Los especímenes de *Contracaecum* sp. provenientes de *P. brasiliensis* de Chile correspondieron a un nuevo taxón, el cuál fue nombrado como *Contracaecum* n. sp.1. Las relaciones genéticas de esta especie con las otras del mismo género se muestran en las Figuras 26-28. De acuerdo con el test de NJ (Fig. 26), se observó que *Contracaecum* n. sp.1 constituye

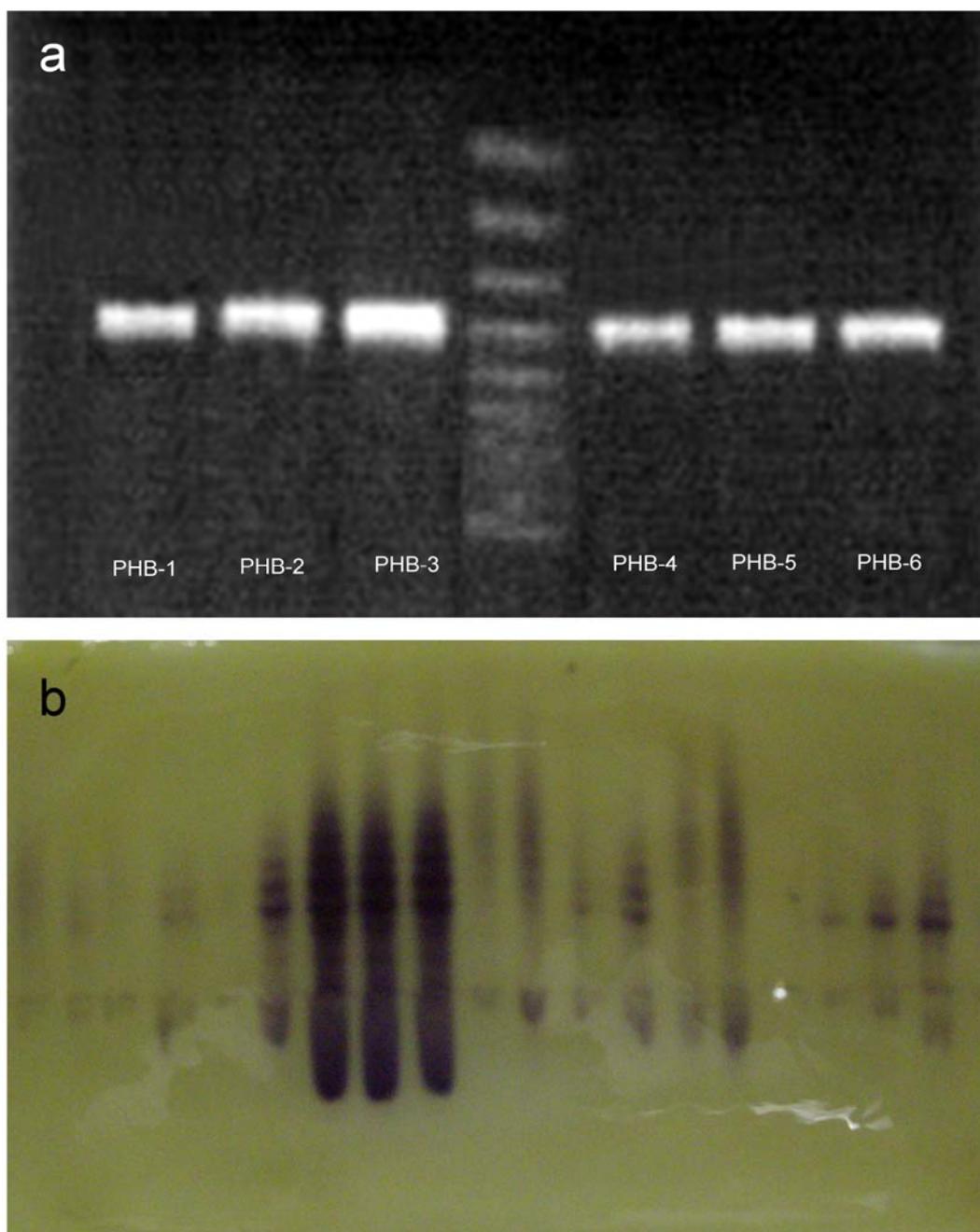
un clado separado de sus congéneres pero cercano a *C. rudolphii* A y algo más alejado de *C. rudolphii* B y *C. septentrionale*. Un análisis posterior mediante el mismo método pero incluyendo mayor número de especies (Fig. 27), lo acercan a *C. rudolphii* C y *C. septentrionale* y lo alejan un poco más de *C. rudolphii* A y *C. rudolphii* B. Por el contrario, el análisis de MP lo acerca a estas dos últimas especies y lo aleja de *C. rudolphii* C y *C. septentrionale* (Fig. 28).

#### **Análisis de alozimas multiloculares**

Los valores de las frecuencias alélicas de 20 loci enzimáticos para *C. pelagicum* en comparación con otras especies congéneres que parasitan aves marinas de otras regiones del mundo se detallan en la Tabla 15. Un ejemplo del patrón de coloración de bandas correspondiente a la electroforesis de las alozimas estudiadas puede observarse en la Figura 22b.

Los valores de distancia genética ( $D_{Nei}$  y  $D_c$ ) inferidos de alozimas entre *C. pelagicum* y sus congéneres, mostraron que la especie se encuentra genéticamente relacionada con *C. rudolphii* A ( $D_{Nei}= 0.96$ ,  $D_c= 0.71$ ) que con las otras especies de género estudiadas (Tabla 16). Los test de UPGMA (Fig. 30) mostraron que *C. pelagicum*, además de separarse como un taxón bien definido, se relaciona con *C. bioccai* y *C. micropapillatum* según la  $D_{Nei}$ . En cambio, según la  $D_c$  se acerca genéticamente a *C. micropapillatum* y a *C. microcephalum*.

El análisis de componentes principales (ACP) inferidos de las alozimas multiloculares mostró que *C. pelagicum* se aleja bastante del resto de las especies estudiadas, observándose a *C. bioccai* y a *C. micropapillatum* como las más cercanas (Fig. 31).



**Figura 22.** a) Amplificación PCR del ADN mitocondrial *cox2* (519 pb) correspondiente a 6 especímenes de *Contracaecum* n. sp.1 provenientes de *P. brasilianus* (PHB). b) Gel de almidón correspondiente a la electroforesis de la enzima malato-deshidrogenasa para diferentes especímenes de *C. pelagicum* de *S. magellanicus*.

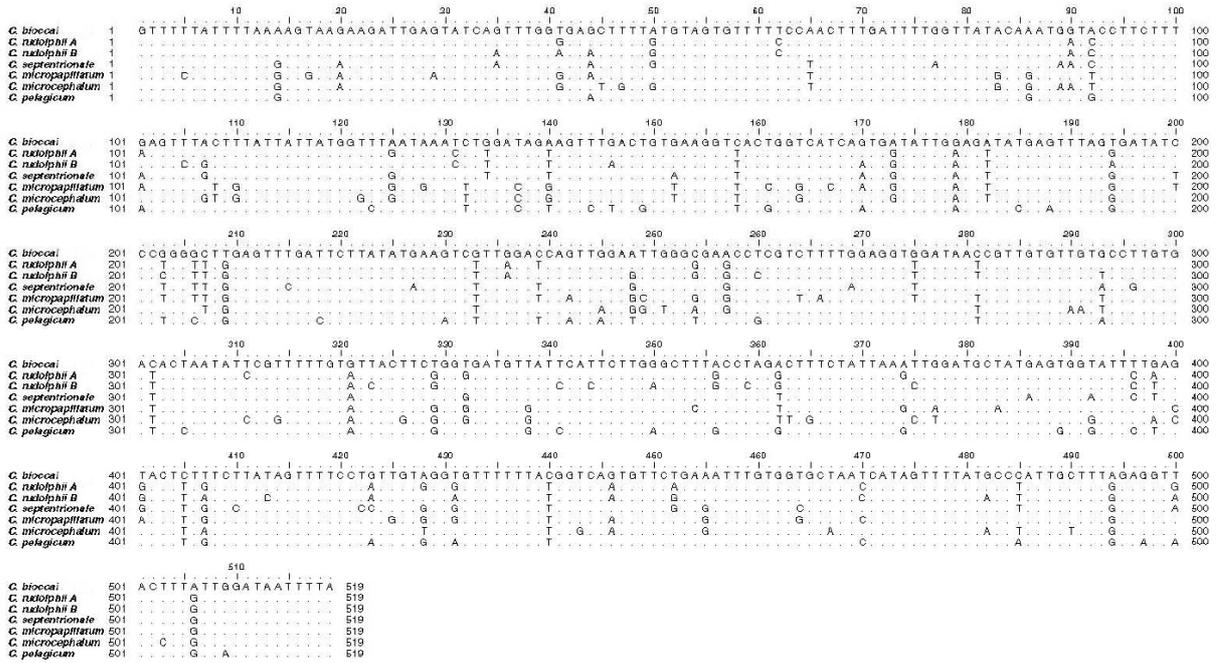
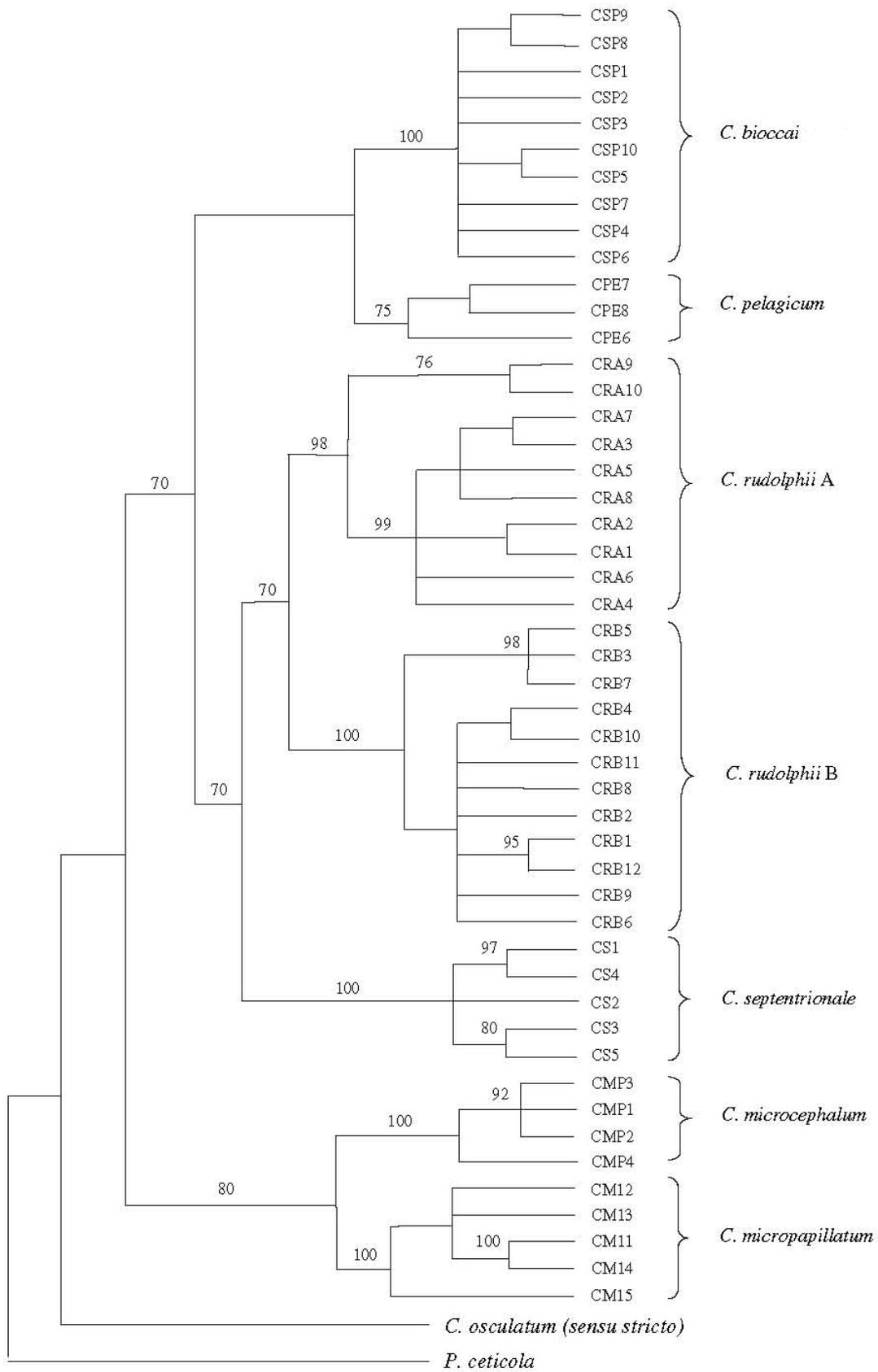


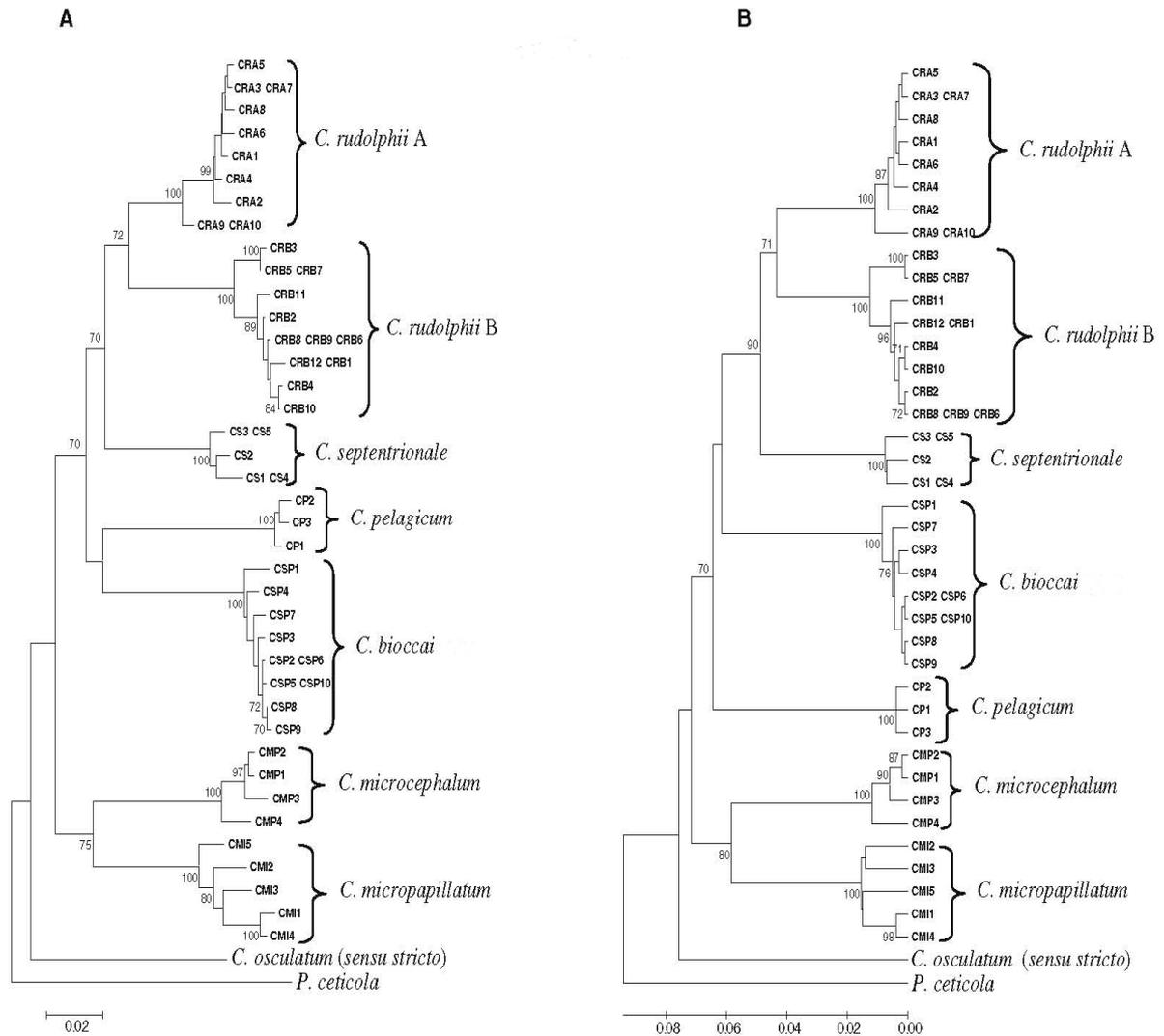
Figura 23. Secuencias alineadas de genes de ADN mitocondrial *cox2* (519 pb) de las especies de *Contracaecum* mediante el programa BioEdit. Los puntos indican igualdad de nucleótidos.

Species	<i>C. bioccai</i> n. sp.	<i>C. rudolphii</i> A	<i>C. rudolphii</i> B	<i>C. septentrionale</i>	<i>C. microcephalum</i>	<i>C. micropapillatum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<i>C. bioccai</i>	–	0.12	0.13	0.12	0.14	0.15	0.13
<i>C. rudolphii</i> A	0.11	–	0.09	0.09	0.14	0.13	0.12
<i>C. rudolphii</i> B	0.12	0.08	–	0.11	0.15	0.16	0.14
<i>C. septentrionale</i>	0.11	0.08	0.10	–	0.13	0.12	0.14
<i>C. microcephalum</i>	0.12	0.13	0.14	0.12	–	0.12	0.17
<i>C. micropapillatum</i>	0.14	0.12	0.14	0.11	0.11	–	0.14
<i>C. pelagicum</i>	0.11	0.11	0.12	0.12	0.15	0.13	–

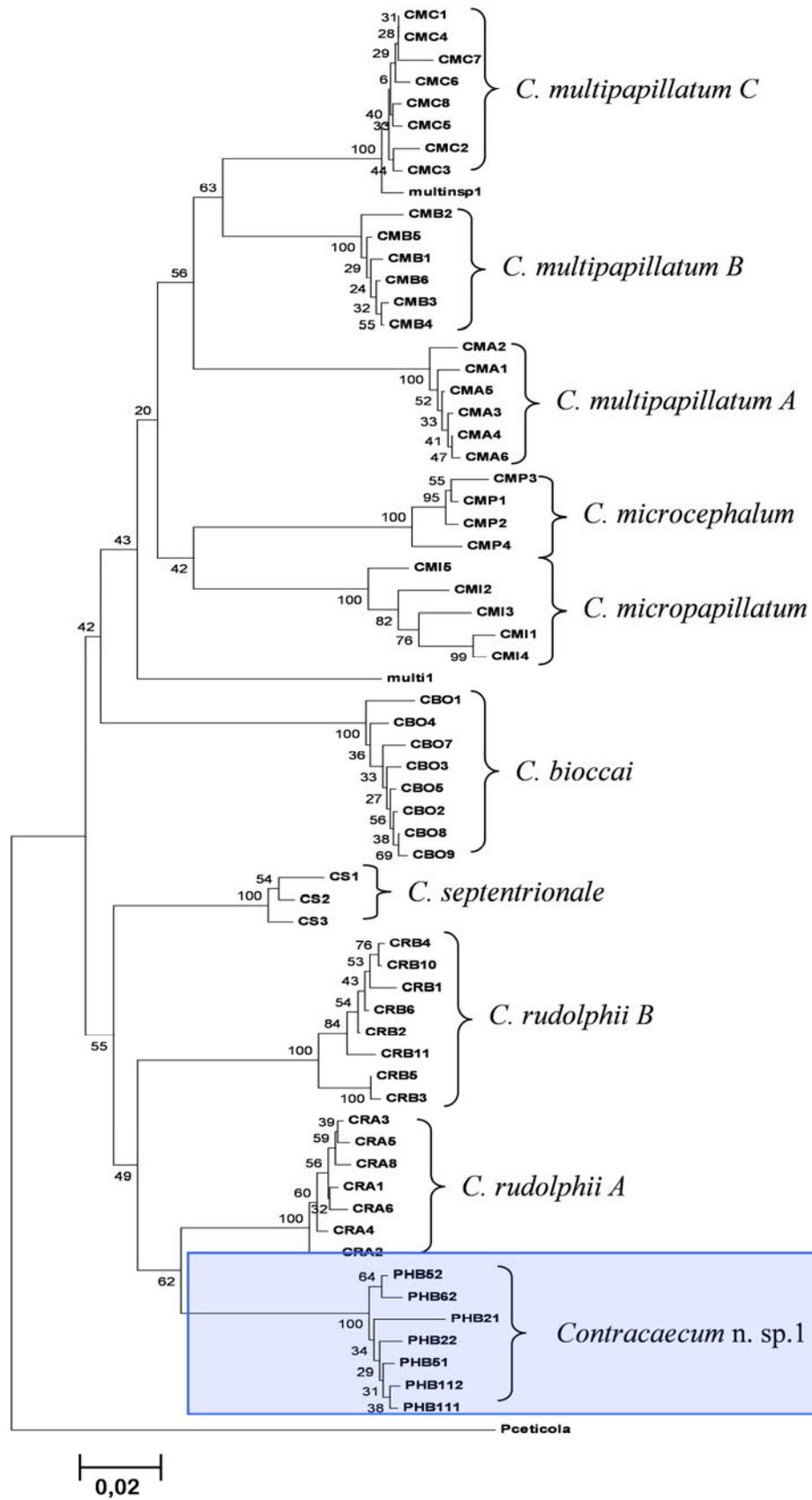
Tabla 13. Valores de distancia genética calculados mediante Kimura-2-parameter (K2P) (sobre la diagonal) y p-distance (debajo de la diagonal), entre *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés y otros *Contracaecum* spp. de aves piscívoras inferidos de genes de ADN mitocondrial *cox2*.



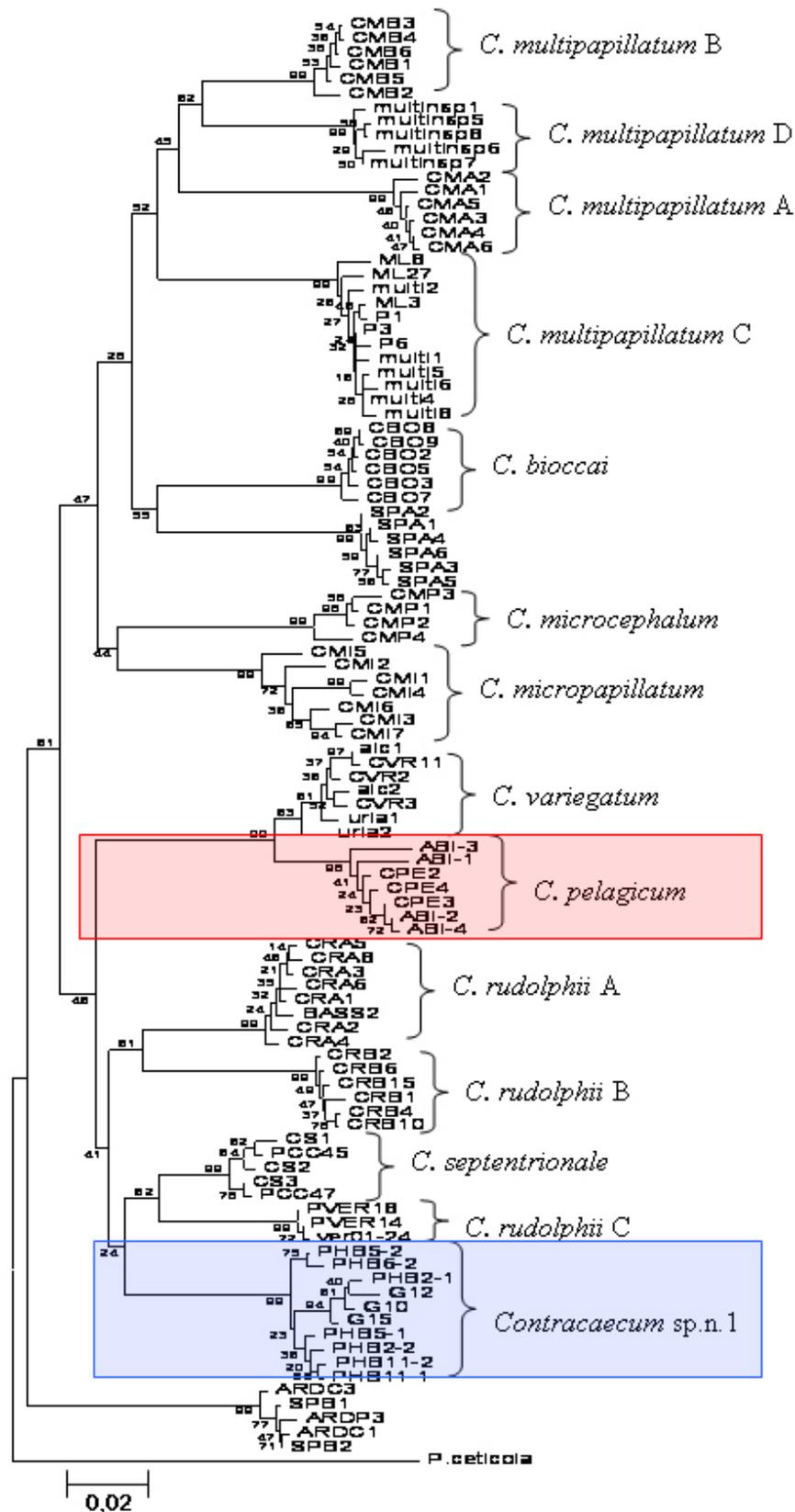
**Figura 24.** Árbol de Máxima Parsimonia (MP) usando PAUP derivado de genes *cox2* para *C. pelagicum* y otras las especies de *Contracaecum* secuenciadas. Los valores de bootstrap  $\geq 70\%$  se muestran en los nodos internos. *C. osculatum* y *P. ceticola* son los outgrups.



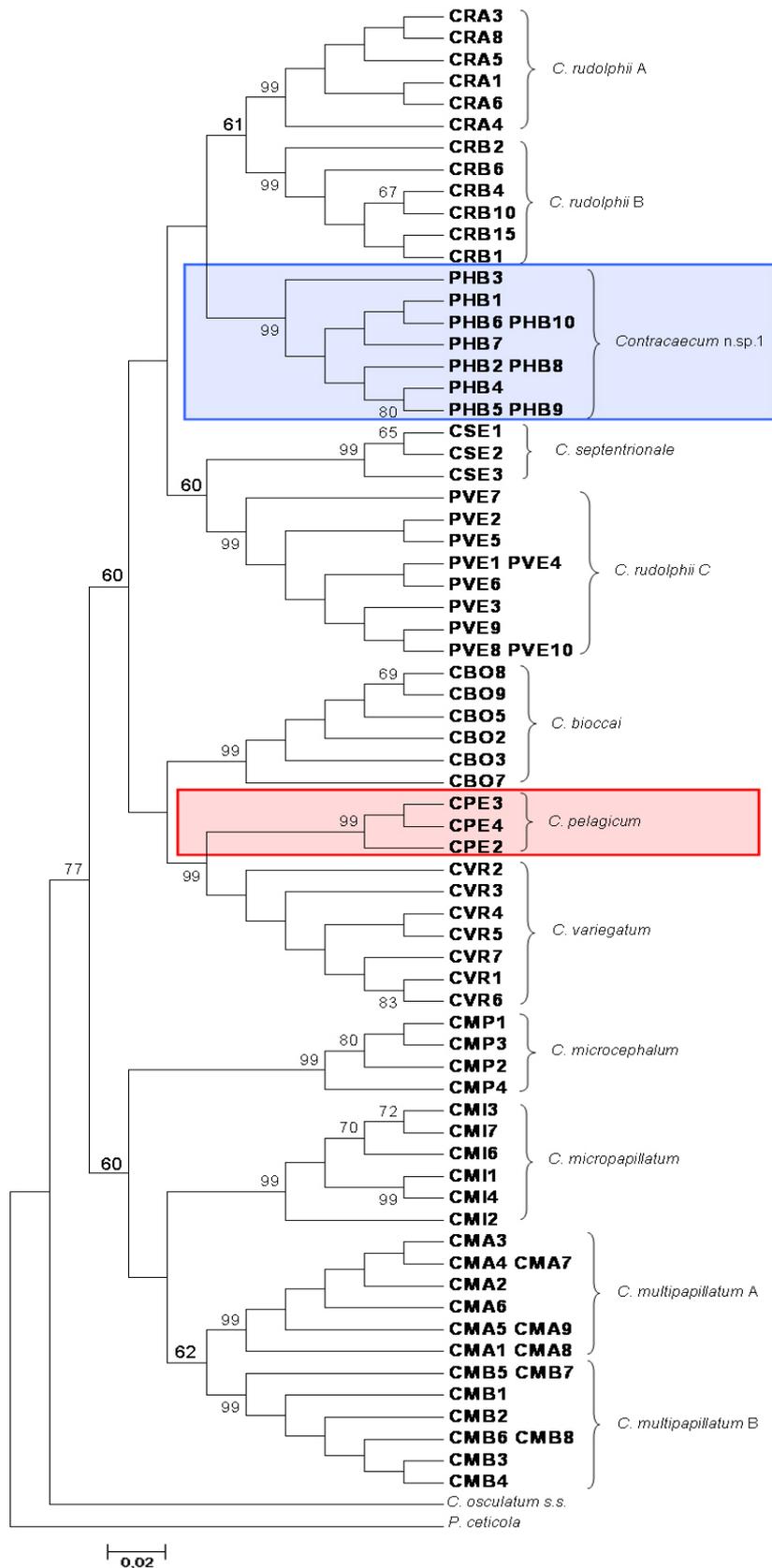
**Figura 25.** Árboles UPGMA (A) y Neighbour-Joining (NJ) (B) inferidos de valores de distancia K-2P usando MEGA 3.1, mostrando las relaciones genéticas entre *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés y otros *Contracaecum* spp. La escala indica la distancia en sustitución por nucleótido. Los valores de bootstrap fueron calculados en base a 1000 réplicas; *C. osculatum* (sensu stricto) y *P. ceticola* son los outgroups.



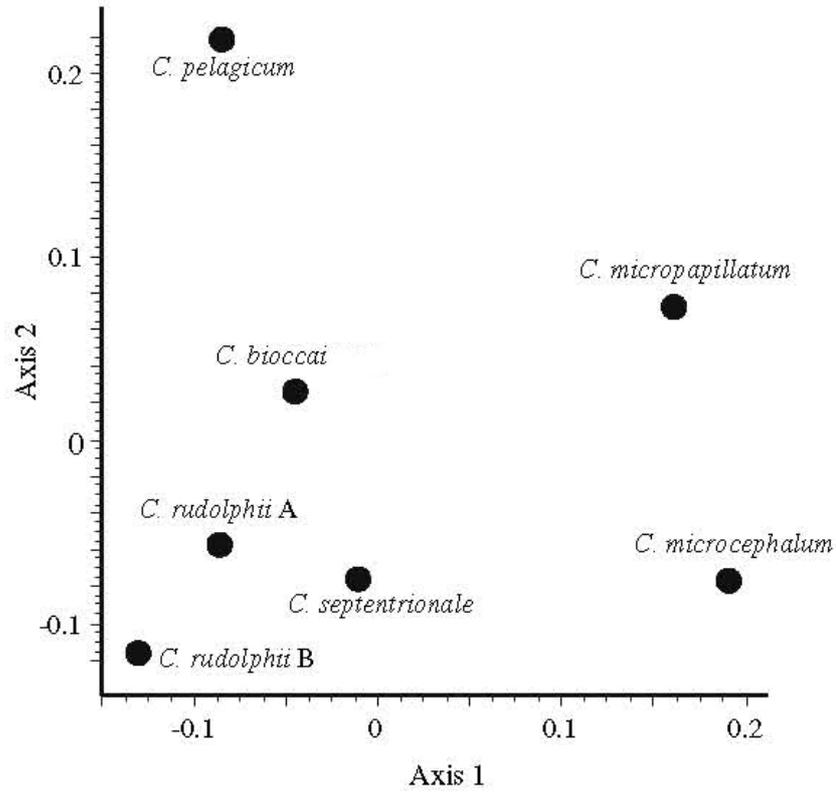
**Figura 26.** Arbol Neighbour-Joining (NJ) inferido de valores de distancia K-2P usando MEGA 3.1, mostrando las relaciones genéticas entre la especie *Contracaecum n. sp.1* de *P. brasiliensis* de la laguna Santa Elena, Chile (PHB) y otras especies de *Contracaecum spp.* comparadas. La escala indica la distancia en sustituciones por nucleótido. Los valores de bootstrap fueron calculados en base a 1000 réplicas; *P. ceticola* es el outgroup.



**Figura 27.** Arbol Neighbour-Joining (NJ) inferido de valores de distancia K-2P usando MEGA 3.1, mostrando las relaciones genéticas entre las especies *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés (CPE) y *P. a. albiventer* de Punta León Chubut (ABI), y *Contracaecum* n. sp.1 de *P. brasiliensis* de la laguna Santa Elena, Chile (PHB), y otras especies de *Contracaecum* spp. de aves piscívoras comparadas. La escala indica la distancia en sustituciones por nucleótido. Los valores de bootstrap fueron calculados en base a 1000 réplicas. *P. ceticola* es el outgroup.



**Figura 28.** Árbol de Máxima Parsimonia (MP) usando PAUP inferido de genes *cox2*, mostrando las relaciones genéticas entre las especies *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés (CPE) y *P. a. albiventer* de Punta León Chubut (ABI), y *Contracaecum* n. sp.1 de *P. brasilianus* de la laguna Santa Elena, Chile (PHB), y otras *Contracaecum* spp. de aves piscívoras. La escala indica la distancia en sustituciones por nucleótido. Los valores de bootstrap fueron calculados en base a 1000 réplicas. *P. ceticola* y *C. osculatum* son los outgroups.



**Figura 29.** Análisis de Componentes Principales (ACP) basados en valores de distancia K-2P de las secuencias de ADN mitocondrial *cox2*, mostrando las relaciones genéticas entre *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés y otras *Contracaecum* spp. de diferentes aves piscívoras.

Locus	<i>C. bioccai</i>	<i>C. rudolphii</i> A	<i>C. rudolphii</i> B	<i>C. septentrionale</i>	<i>C. micropapillatum</i>	<i>C. microcephalum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<i>Iddh</i>							
80	–	0.03	0.11	–	1.00	–	–
90	–	0.08	0.85	0.08	–	–	–
95	–	0.02	–	–	–	–	–
100	0.98	0.82	0.02	0.92	–	0.98	1.00
109	0.02	0.03	0.02	–	–	0.02	–
115	–	0.02	–	–	–	–	–
<i>Mdh-1</i>							
72	–	–	–	0.05	–	–	–
84	–	0.01	0.02	0.02	1.00	–	–
90	–	–	–	0.93	–	–	–
96	–	–	–	–	–	1.00	–
100	1.00	0.80	0.98	–	–	–	–
108	–	0.19	–	–	–	–	1.00
<i>Mdh-2</i>							
100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Mdh-3</i>							
100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Mdh-4</i>							
100	–	1.00	–	–	–	–	–
103	–	–	1.00	1.00	–	–	–
104	1.00	–	–	–	–	–	–
105	–	–	–	–	–	1.00	–
107	–	–	–	–	–	–	1.00
113	–	–	–	–	1.00	–	–
<i>Icdh</i>							
90	–	0.02	–	–	–	–	–
97	–	–	–	–	–	–	1.00
100	1.00	0.51	1.00	0.99	–	1.00	–
107	1.00	–	–	–	–	–	–
112	–	0.47	–	0.10	1.00	–	–
<i>6Pgdh</i>							
80	–	0.05	0.02	–	–	–	–
85	–	0.03	–	0.03	–	–	–
92	–	–	–	–	–	0.02	–
95	–	–	–	–	1.00	–	–
98	0.02	–	–	0.94	–	0.98	–
100	–	0.87	0.98	–	–	–	1.00
114	0.98	0.05	–	0.03	–	–	–
<i>Gapdh</i>							
100	1.00	1.00	1.00	–	1.00	1.00	–
107	–	–	–	1.00	–	–	–
110	–	–	–	–	–	–	1.00

**Tabla 14.** Frecuencias alélicas de 20 loci enzimáticos para *Contraecaecum pelagicum* proveniente de *S. magellanicus* de Península Valdés en contraste con *Contraecaecum* spp. que parasitan otras aves piscívoras.

Locus	<i>C. bioccai</i>	<i>C. rudolphii</i> A	<i>C. rudolphii</i> B	<i>C. septentrionale</i>	<i>C. micropapillatum</i>	<i>C. microcephalum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<i>Sod-1</i>							
87	–	–	1.00	–	–	–	–
97	–	1.00	–	1.00	–	–	1.00
100	1.00	–	–	–	1.00	1.00	–
<i>Sod-2</i>							
100	–	1.00	1.00	–	1.00	1.00	–
105	1.00	–	–	1.00	–	–	–
110	–	–	–	–	–	–	1.00
<i>Np</i>							
80	1.00	–	–	0.03	–	–	–
88	–	0.29	0.01	0.95	–	–	–
92	–	–	–	–	–	–	1.00
100	–	0.71	0.99	0.02	–	–	–
136	–	–	–	–	1.00	–	–
138	–	–	–	–	–	1.00	–
<i>Aat-2</i>							
87	–	–	–	0.03	–	–	–
90	–	–	–	–	1.00	–	–
92	1.00	–	–	–	–	1.00	–
100	–	1.00	1.00	0.97	–	–	–
105	–	–	–	–	–	–	1.00
<i>Adk-2</i>							
90	–	–	–	1.00	–	–	–
100	–	1.00	1.00	–	–	1.00	1.00
102	–	–	–	–	1.00	–	–
105	1.00	–	–	–	–	–	–
<i>cEst-1</i>							
90	1.00	–	0.02	–	–	–	1.00
94	–	–	0.01	–	–	–	–
98	–	0.07	0.07	0.06	–	–	–
100	–	0.90	0.90	0.94	–	–	–
104	–	0.03	–	–	–	1.00	–
106	–	–	–	–	1.00	–	–
<i>PepC-1</i>							
100	–	1.00	–	1.00	–	1.00	–
105	–	–	1.00	–	1.00	–	–
108	–	–	–	–	–	–	1.00
110	1.00	–	–	–	–	–	–
<i>PepC-2</i>							
80	–	–	–	–	1.00	–	–
100	1.00	0.94	0.99	–	–	1.00	–
104	–	0.06	0.01	–	–	–	–
108	–	–	–	–	–	–	1.00
110	–	–	–	1.00	–	–	–

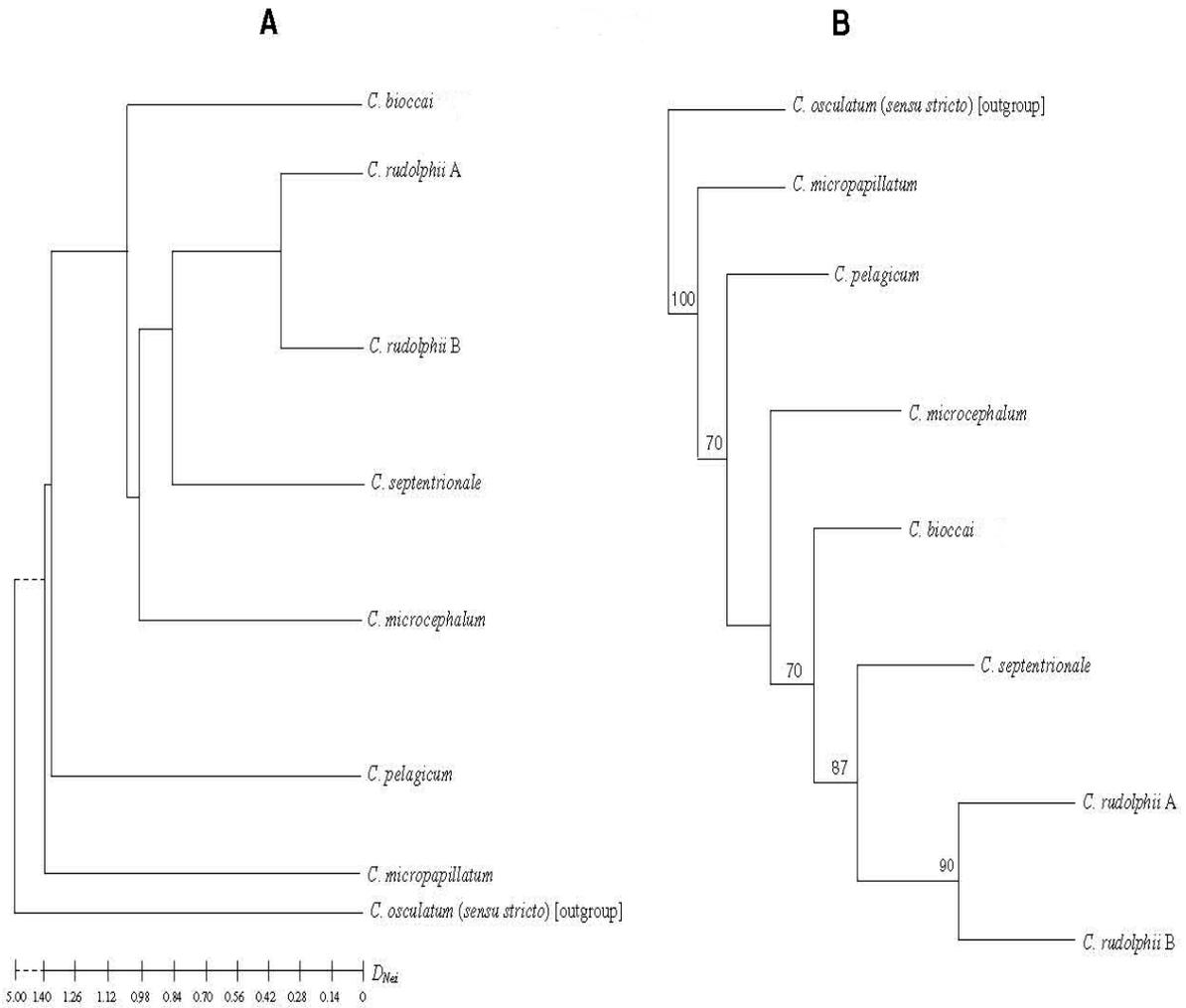
Tabla 14 continuación.

Locus	<i>C. bioccai</i>	<i>C. rudolphii</i> A	<i>C. rudolphii</i> B	<i>C. septentrionale</i>	<i>C. micropapillatum</i>	<i>C. microcephalum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<i>Mpi</i>							
75	–	0.01	0.02	0.17	–	–	–
80	–	0.04	0.08	–	–	–	–
88	–	0.26	0.54	–	–	–	–
93	–	0.02	0.01	–	–	–	–
95	0.40	–	–	–	1.00	–	–
100	–	0.43	0.28	–	–	0.40	–
107	–	0.22	0.07	0.50	–	–	1.00
110	0.60	0.02	–	0.33	–	0.60	–
<i>Gpi</i>							
94	1.00	0.04	0.92	–	–	–	–
100	–	0.95	0.08	1.00	1.00	–	1.00
108	–	0.01	–	–	–	1.00	–
<i>Pgm-1</i>							
88	–	–	–	0.02	–	–	1.00
90	–	–	0.02	–	–	–	–
94	1.00	–	–	0.43	–	1.00	–
98	–	–	–	–	1.00	–	–
100	–	0.99	0.98	–	–	–	–
105	–	0.01	–	0.52	–	–	–
110	–	–	–	0.03	–	–	–
<i>Pgm-2</i>							
100	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

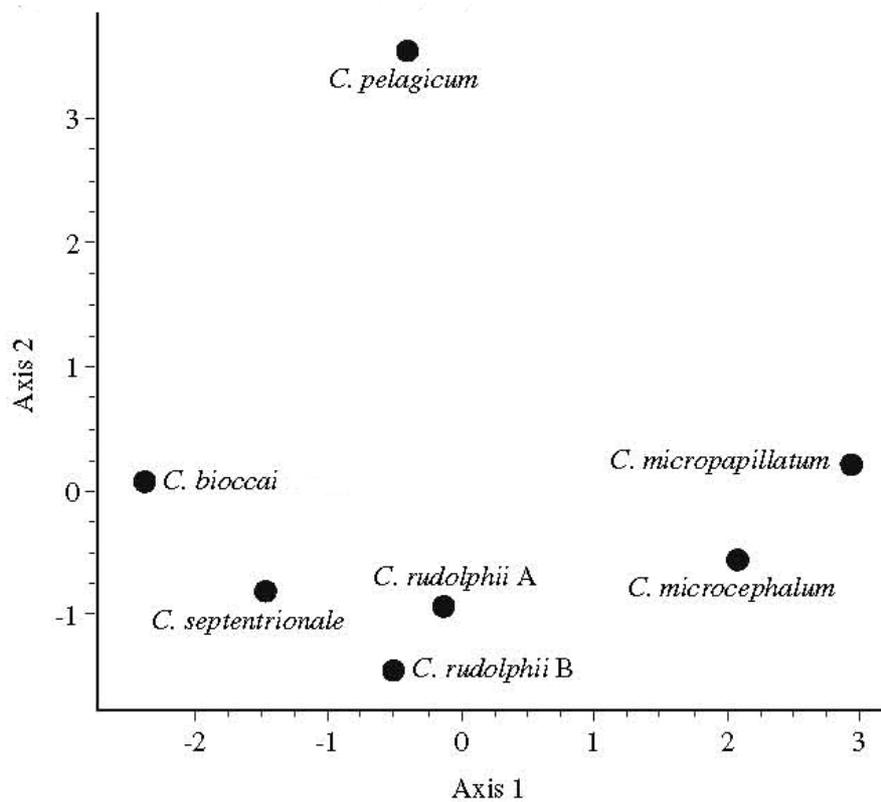
Tabla 14 continuación.

Species	<i>C. bioccai</i> n. sp.	<i>C. rudolphii</i> A	<i>C. rudolphii</i> B	<i>C. septentrionale</i>	<i>C. microcephalum</i>	<i>C. micropapillatum</i>	<i>C. pelagicum</i>
<i>C. bioccai</i>	–	0.70	0.66	0.60	0.78	0.79	0.75
<i>C. rudolphii</i> A	0.90	–	0.44	0.61	0.60	0.73	0.71
<i>C. rudolphii</i> B	0.91	0.35	–	0.68	0.68	0.76	0.78
<i>C. septentrionale</i>	0.80	0.70	0.88	–	0.72	0.80	0.76
<i>C. microcephalum</i>	1.20	0.58	0.98	0.84	–	0.65	0.75
<i>C. micropapillatum</i>	1.40	1.03	1.34	1.70	0.70	–	0.75
<i>C. pelagicum</i>	1.19	0.96	1.32	1.25	1.19	1.20	–

Tabla 15. Promedios de la distancia genética de Nei (1972) ( $D_{Nei}$ , debajo de la diagonal) y la Chord Distance (Dc) de Cavalli-Sforza & Edwards (1967) (arriba de la diagonal), proveniente de 20 loci enzimáticos, contrastando a *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés con otros *Contracecum* spp. de aves piscívoras.



**Figura 30.** Dendrogramas UPGMA: (A) valores de distancia genética de  $D_{Nei}$  y (B) Neighbour-Joining (NJ) usando la “Chord-Distance” (Dc) de Cavalli-Sforza & Edwards (1967), basada en 20 loci enzimáticos, mostrando las relaciones genéticas entre *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés y otros *Contracaecum* spp. de aves piscívoras.



**Figura 31.** Análisis de Componentes Principales (ACP) basados en la frecuencia alélica obtenida de 20 loci enzimáticos, mostrando las relaciones genéticas entre *C. pelagicum* de *S. magellanicus* de Península Valdés y otras *Contracaecum* spp. de diferentes aves piscívoras.

## Discusión

Los análisis de secuencia de MP, UPGMA y NJ inferidos de los genes *cox2* ubican a *C. pelagicum* en el mismo claster junto a *C. bioccai*, *C. septentrionale* y el complejo *C. rudolphii*, todas especies parásitas de Pelecaniformes. *Contracaecum pelagicum* aparece genéticamente relacionado con *C. bioccai*, aunque este clado formado por ambas especies no está bien sostenido por un alto valor de bootstrap. Esto ocurre en todos los análisis UPGMA y NJ inferidos de alozimas y genes *cox2* (UPGMA, NJ y MP) para la asociación de *C. pelagicum* con *C. bioccai*, en la cual los valores de bootstrap son  $< 70\%$ . En cambio la asociación de *C. septentrionale* y el complejo *C. rudolphii* A y B, provenientes de Phalacrocoracidae boreales, presenta un gran sustento en todos los análisis de alozimas y de genes *cox2*, con valores de bootstrap  $\geq 70\%$ . Además, *C. pelagicum* no muestra estar genéticamente relacionada con *C. bioccai* basado en el análisis UPGMA de alozimas y genes *cox2*. Lo mismo ocurre si observamos la representación espacial mediante ACP, la cual

muestra una gran divergencia de *C. pelagicum* aislándolo con respecto al resto de las especies contrastadas, mayor aún si observamos el análisis de los datos alozimáticos.

Los análisis posteriores de NJ y MP mostraron una relación genética muy estrecha de *C. pelagicum* con *C. variegatum* proveniente de *Uria algee* (Alciidae), sustentada por el alto valor de bootstrap (99%) (Figs. 27, 28). Fagerholm et al. (1996) encontró a *C. variegatum* parasitando *S. demersus* de las costas sudafricanas, por lo tanto se podría hipotetizar que además de existir una gran similitud morfológica entre ambas especies también existiría un fuerte parentesco evolutivo, puesto que parasitan Spheniscidae australes.

Este resultado generaría otra hipótesis de que los Anisakidae que parasitan Spheniscidae australes se separan genéticamente de aquellos que lo hacen en Pelecaniformes boreales. Sin embargo, este argumento parece no tener fortaleza entre los anisákidos de Spheniscidae y Pelecaniformes australes, ya que *C. pelagicum*, se encontró tanto en *S. magellanicus* de Península Valdés como en *P. albiventer* de Punta León, Chubut, los cuales comparten seguramente el mismo hospedador paraténico (e.g. *Engraulis anchoita*).

Las incongruencias entre los resultados obtenidos a través de los diferentes análisis realizados, no resuelven el posicionamiento genético de *C. pelagicum* con el resto de sus congéneres. Tampoco esclarece el interrogante de que *C. pelagicum* y *C. bioccai* estarían emparentados genéticamente formando un subclado de acuerdo a los análisis de MP y NJ de los genes *cox2*, o bien formarían dos clados separados con una gran divergencia genética entre ambos como lo indican los datos de alozimas y UPGMA de genes *cox2*. Además aparecen bajos valores de bootstrap en todos los árboles excepto para UPGMA de alozimas, lo cual sugiere que deben aplicarse mayor cantidad de marcadores moleculares tanto para *C. pelagicum* como para *Contracaecum* spp. provenientes de Pelecaniformes, y de esta forma resolver el posicionamiento filogenético de *C. pelagicum* parásito de Spheniscidae.

Los análisis de clasteres llevados a cabo en las especies de *Contracaecum* de acuerdo a los datos alozimáticos determinados por los métodos UPGMA y NJ, generaron topologías similares. *Contracaecum pelagicum* forma un clado separado, al igual que *C. micropapillatum* de las especies *C. septentrionale*, *C. microcephalum*, *C. bioccai* y el complejo *C. rudolphii*, las cuales se clasterizan usando UPGMA. La posición de *C. pelagicum* en relación con las otras especies de *Contracaecum* está bien sustentado mediante el análisis de NJ con los valores de distancia genética Dc. Los valores de  $D_{Nei}$  y Dc de alozimas relacionan a *C. pelagicum* con *C. rudolphii* A, especie morfológicamente similar.

Sin embargo, mediante los análisis UPGMA -  $D_{Nei}$  y NJ - Dc, *C. pelagicum* se aleja de *C. rudolphi* y forma un clado cercano a *C. micropapillatum*, especie notoriamente diferente en su

morfología. Algo similar ocurre con el análisis ACP, el cuál separa a *C. pelagicum*, única especie proveniente de un Spheniscidae, del resto de las especies comparadas, provenientes de Pelecaniformes.

Por otro lado, *Contracaecum* n. sp.1 se clasteriza con las especies parásitas de Phalacrocoracidae boreales *C. rudolphii* A, *C. rudolphii* B, *C. rudolphii* C y *C. septentrionale* de acuerdo al análisis de NJ de genes *cox2*, aunque mayormente emparentada con estas dos últimas. Sin embargo, el sustento de bootstrap es bajo entre algunos clados formados (< 70%), lo cual cuestiona la verdadera posición filogenética de esta nueva especie respecto a sus congéneres. Lo que si queda claro es que *Contracaecum* n. sp.1 está estrechamente relacionada con los Phalacrocoracidae y no con otras aves marinas, lo cuál supondría una especificidad hospedatoria elevada. No ocurriría lo mismo con *C. pelagicum*, que se relaciona con Pelecaniformes (*C. bioccai*) y Charadriiformes (*Uria aalge*), tanto australes como boreales, bajando notablemente la especificidad. Al parecer, *Contracaecum multipapillatum* se comportaría de la misma forma parasitando a Phalacrocoracidae y Ardeidae boreales y australes. Por otro lado, las especies que forman el otro gran claster y parasitan Pelecaniformes (*C. bioccai*, *C. micropapillatum*, *C. microcephallum*, *C. multipapillatum* A y B) y Ardeidae boreales (*C. multipapillatum* C y *C. multipapillatum* D), están sustentados por altos valores de bootstrap (99%).

Estos resultados muestran que la caracterización genética podría resultar insuficiente para determinar el status de una nueva especie, dado que se usa un único gen mitocondrial (*Cox2*) cuando se las contrasta con otras especies del género *Contracaecum* analizadas del mismo modo. Esta situación evidencia que para caracterizar a una nueva especie y discutir su validez taxonómica en el seno de un género (*Contracaecum* en este estudio) deberían realizarse estudios exhaustivos tendientes a combinar una mayor cantidad de marcadores moleculares como las alozimas y la taxonomía morfométrica convencional.

## Capítulo 3

# Desarrollo larvario, biología de la transmisión y asociación parasitaria en Anisakidae

---

### Introducción

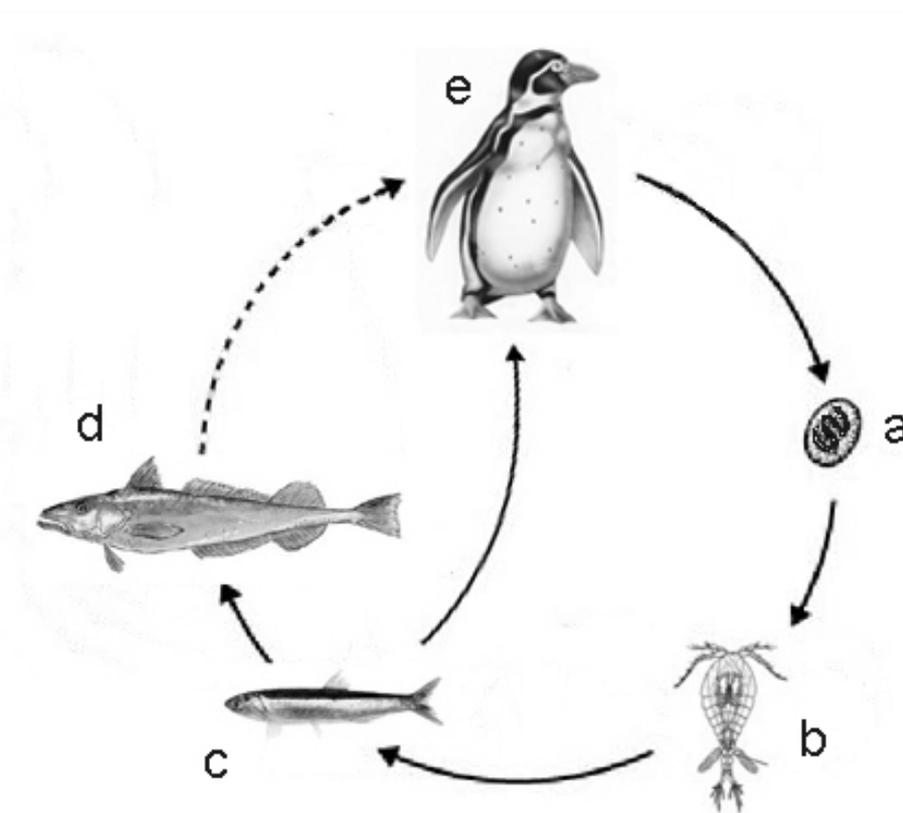
En la mayoría de las especies de Anisakidae, el uso de invertebrados como hospedadores intermediarios es una característica básica de la transmisión larvaria. En los invertebrados se desarrolla el estado infectivo (L3), que son ítems en la cadena trófica del hospedador vertebrado paraténico (generalmente peces). El estado infectivo sobrevive y no cambia de estadio, aunque en raras ocasiones puede tener lugar el desarrollo del cuarto estadio o bien el tercero aumenta de tamaño y avanza en el desarrollo del primordio genital, en un proceso conocido como fenómeno de precocidad (Berland, 1989; Anderson, 2000). Este proceso puede ocurrir también en el invertebrado hospedador intermediario, cuando los hospedadores definitivos son peces teleósteos (e.g. *Hysterothylacium* spp.).

En el género *Contraecaecum* en particular, los copépodos (especialmente) ingieren las L2 libres o los huevos larvados y luego las transmiten a los peces que actúan como hospedadores intermediarios. En este caso los invertebrados actúan como hospedadores de transporte entre los estados libres y el hospedador intermediario, en el cual tiene lugar el desarrollo de las L3 (Anderson, 2000). El rol que juegan los invertebrados en la transmisión larvaria a los peces hospedadores intermediarios aún no está claro. En *Hysterothylacium aduncum*, parásito de peces predadores, el estado infectivo se desarrolla en crustáceos y poliquetos, pero puede persistir sin cambios en el tejido de peces que se alimentan de estos invertebrados hasta ser comido por el hospedador definitivo (peces teleósteos) (Anderson, 2000, Navone et al, 1998). *Pseudoterranova dicipiens* (Krabbe, 1878) necesita de un segundo hospedador crustáceo antes de ser ingerido por un pez, en este caso un anfípodo, el cual cumple el rol de

hospedador paraténico ingiriendo copépodos infestados con larvas de Anisakidae (transmisión serial) (McClelland et al., 1990).

Los ciclos de vida de los Anisakidae resultan difíciles de ser estudiados *in situ*, ante la imposibilidad de reproducirlos experimentalmente por su alta complejidad. Requiere del manejo de hospedadores intermediarios y paraténicos, sumado a que los estadios larvales son muy similares morfológicamente entre las diferentes especies de Anisakidae. Sin embargo algunos estudios de transmisión larvaria han podido desarrollarse experimentalmente para establecer la correspondencia del ciclo de vida (Huizinga, 1967; Semenova, 1974; 1979, Bartlett, 1996). Huizinga (1966) colectó huevos maduros de hembras de *Contracaecum rudolphii* (= *spiculigerum*) provenientes de *Phalacrocorax* spp., los incubó en diferentes condiciones ambientales y utilizó las larvas L2 que eclosionaron para infectar copépodos (*Cyclops vernalis*), que fueron ofrecidos como alimento a varias especies de peces que desarrollaron larvas L3 y se encapsularon en sus mesenterios. Semenova (1979) estudió el ciclo de *Contracaecum micropapillatum* y logró infectar experimentalmente a varias especies de copépodos, los cuales sirvieron posteriormente para infectar ranas y peces. Las larvas L3 migraron a la cavidad del cuerpo de estos hospedadores, se encapsularon y fueron infectivas para pelícanos, en los cuales desarrolló el estadio adulto.

Respecto a *Contracaecum pelagicum*, se sugiere un ciclo con un solo hospedador paraténico, copépodos u otros crustáceos (eufáusidos, anfípodos), e intermediarios y/o paraténicos, peces teleósteos (*Engraulis anchoita* y *Merluccius hubbsi*) ítems presa del pingüino de Magallanes (Garbin et al., 2007, 2007b). Se parte de la presunción que el ciclo de *C. pelagicum* se desarrolla como muestra la Fig. 32. Los huevos son eliminados con las heces de *S. magellanicus* cayendo al mar y desarrollando larvas L1, las cuales realizan su primera muda dentro del huevo para transformarse en L2, conservando la cubierta de la L1 (Fig. 32a). Posteriormente las larvas eclosionan y los crustáceos (copépodos en su mayoría) ingerirían las larvas L2 o bien deglutirían los huevos larvados (Fig. 32b). Las larvas crecen en el hemocele del invertebrado pudiendo o no mudar a larvas L3, siendo infectivas para peces que actuarían como hospedadores intermediarios/paraténicos. La anchoita sería el vehículo por el cual *S. magellanicus* adquiriría al parásito y desarrollaría las L4 y el estadio adulto de esta especie (Fig. 32c). Inclusive podría existir un segundo hospedador intermediario/paraténico, *M. hubbsi*, quien predaría sobre la anchoita y transmitiría las larvas L3 al pingüino de Magallanes (Fig. 32d).



**Figura 32.** Ciclo de vida hipotético de *Contracaecum pelagicum*. a) Huevo embrionado; b) crustáceo: copépodo, c) *Engraulis anchoita*; d) *Merluccius hubbsi*; e) *Spheniscus magellanicus*. La línea punteada significa "posible vía de ingreso".

El proceso de transmisión larvaria está estrechamente relacionado con la intensidad de infección parasitaria, ya que a medida que las aves ingieren el alimento, incrementan las intensidades de larvas y de adultos de Anisakidae, pero también aumentan la fuga de larvas que no pueden instalarse a lo largo del tracto intestinal del hospedador porque no son los adecuados (especificidad) o porque el recurso espacio es limitado (Garbin et al., 2007).

Respecto de las otras especies hospedadoras analizadas en el presente trabajo, se conoce muy poco acerca de la parasitofauna en general del cormorán real (*Phalacrocorax a. albiventer*) y menos aún con respecto al parasitismo por parte de nematodos Anisakidae, sólo unos pocos trabajos hablan de ello (Gutiérrez, 1943; Garbin et al., 2008). Sin embargo son numerosos los estudios sobre dieta de las especies de aves marinas en la Península Valdés y sus alrededores costeros (Scolaro, 1998; Bertellotti & Yorio, 1999, Quintana et al., 2000). Puntualmente, la dieta del cormorán real (*Phalacrocorax. a. albiventer*) fue estudiada en la colonia de Punta León, Chubut, a través del análisis de pellets y regurgitados (Malacalza et al., 1994). Ese trabajo permitió conocer que los peces bentónicos *Raneya brasiliensis*

Miranda-Ribeiro (Ophidiidae) y *Triathalassothia argentina* Berg (Batrachoididae), constituyen los principales ítems presa y con menor frecuencia *Engraulis anchoita* Hubbs & Marini (Engraulidae); los octópodos *Octopus tehuelchus* D'Orbigny y *Enteroctopus megalocyathus* Gould, algunas especies de poliquetos y crustáceos. Otros trabajos han sido realizados por Gosztonyi & Kuba (2003) y Punta et al. (2003) sobre la dieta del cormorán imperial (*P. a. atriceps*), morfo de mejillas blancas que anida más al sur.

Sobre esta base, conocer la fauna de Anisakidae presente en estas especies de Phalacrocoracidae y asociarla con los ítems presa observados en cada una de las especies hospedadoras examinadas, permitirá inferir el proceso de transmisión parasitaria. Sin embargo, la baja especificidad hospedatoria que presentan algunos anisákidos a nivel del hospedador intermediario/paraténico y el amplio espectro trófico de las aves, hace que las vías de ingreso de las larvas infectivas resulten inciertas y dificulten la comprensión de los ciclos de transmisión. En este contexto, los métodos de genética molecular mediante el uso de marcadores mitocondriales se erigen como una buena herramienta para resolver interrogantes en el proceso de transmisión larvaria (Nascetti et al., 1993; Orecchia et al., 1994; Mattiucci & Nascetti, 2008).

### ***Antecedentes***

El único estudio de asociación parasitaria realizado hasta el momento en aves que habitan las costas de Península Valdés, fue llevado a cabo por Diaz (2006). La autora estudió la composición taxonómica y la estructura de todas las infracomunidades que parasitan al pingüino de Magallanes y a la gaviota cocinera *Larus dominicanus* (Laridae). Luego, a través del espectro trófico de estas especies de aves y de la estimación de las asociaciones parasitarias, sugirió las vías de transmisión de la mayoría de las especies parásitas halladas.

Estudios similares sobre peces fueron realizados por Ivanov (1996) sobre tres especies de peces con diferente comportamiento en el Mar Argentino (*Mustelus smitti*, *Parona signata* y *Raja castelnaui*). Mas recientemente, Carballo (2008) trabajó sobre los pejerreyes (*Odontesthes smitti* y *O. nigricans*) de los golfos nordpatagónicos y analizó el rol que cumplen estos hospedadores en el ciclo de vida de las especies parásitas halladas, teniendo en cuenta el lugar que los pejerreyes ocupan en las tramas tróficas y las características biológicas de las especies identificadas.

Estos estudios despertaron la inquietud de analizar las vías de transmisión de las especies de *Contracaecum* estudiadas en el presente trabajo. Surgieron así las siguientes preguntas:

\* ¿*Engraulis anchoita* es el hospedador paraténico de *Contracaecum pelagicum*? ¿Podría cumplir ese rol para otra especie del género *Contracaecum*?

\* ¿El reclutamiento de larvas L3 en *S. magellanicus* a través de la ingesta de anchoita se corresponde con las intensidades de Anisakidae registradas?

\* ¿Cómo es la distribución de las larvas L4, preadultos (Pad) y adultos (Ad) en el esófago y estómago de *S. magellanicus*?

\* ¿Coexisten distintas especies de anisákidos en una misma especie hospedadora?

\* ¿Permite el análisis de los bolos regurgitados y de pellets de *Phalacrocorax* spp. identificar las especies de anisákidos que están presentes en la dieta de éstas aves?

\* ¿Qué asociación parasitaria existe entre los anisákidos y los ítems presa encontrados?

Para responder estos interrogantes se plantearon los siguientes objetivos:

-Evaluar si *Engraulis anchoita* (Engraulidae), ítem presa predilecto de *S. magellanicus*, representa un hospedador intermediario/paraténico de *Contracaecum pelagicum*.

-Establecer la correspondencia específica entre las larvas L3 que parasitan a la anchoita y los adultos y larvas de cuarto estadio (L4) que parasitan a *S. magellanicus*.

-Evaluar el reclutamiento de larvas L3 de anisákidos y la infección causada por la ingesta regular de anchoita en el pingüino de Magallanes.

-Evaluar la distribución diferencial de larvas L4, preadultos (Pad) y adultos (Ad) en el esófago y estómago de *S. magellanicus*.

- Conocer la diversidad de los Anisakidae adultos y sugerir las vías de transmisión en aves marinas piscívoras que habitan el área de la Península Valdés.

- Identificar las especies de Anisakidae presentes en los pellets de aves con hábitos regurgitadores (e. g. *Phalacrocorax* spp.) y analizar la asociación parasitaria de los ítems presa, larvas y de adultos de Anisakidae.

## Materiales y Métodos

Se colectó un total de 202 ejemplares de anchoíta (*Engraulis anchoíta*) durante el mes de enero de 2007, los cuales fueron obtenidos frescos de barcos pesqueros del Puerto de Rawson, Chubut. Estos barcos pescan en el sector costero de la Bahía Engaño, zona de forrajeo del pingüino de Magallanes.

Un porcentaje de las anchoítas prospectadas (20%) (40/202), fueron pesadas y medidas. La metodología utilizada para examinar los peces fue la empleada para pingüinos descripta en el capítulo 2.

Se calcularon los índices ecológicos de Prevalencia (P) e Intensidad Media (IM) para todos los individuos pertenecientes a un mismo género de Anisakidae encontrados (Bush et al., 1997). Se propuso el Índice de Reclutamiento (R) de larvas L3:

$$R_o = IM \times \#Pi$$

Donde:

IM= intensidad media de las larvas de Anisakidae encontradas en la anchoíta;

#Pi= número de peces ingeridos por el hospedador.

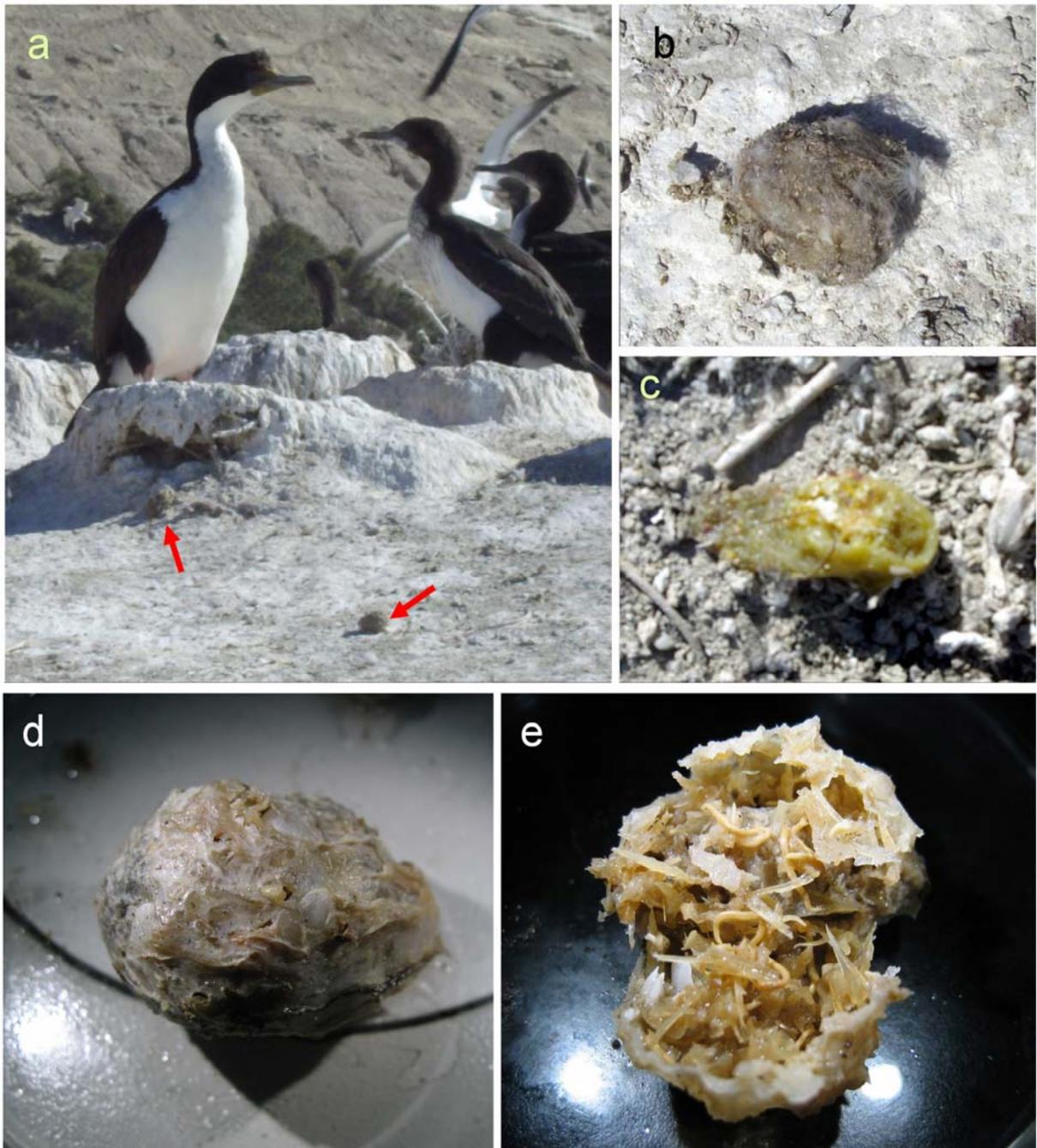
Para estimar las intensidades de infección y la composición de las infrapoblaciones de larvas L4, Pad (preadultos) y Ad (adultos) de anisákidos en el tracto digestivo de pichones de *S. magellanicus*, se realizaron 4 campañas a la estancia San Lorenzo, Península Valdés. La etapa de cría de *S. magellanicus* tiene una duración aproximada de 18 semanas (4 meses y medio), luego emprenden la etapa de migración al mar junto con los adultos. En consecuencia, se realizaron 4 campañas, una en cada mes de cría (diciembre, enero, febrero y marzo) alternadas en 2 años sucesivos.

Se colectó un total de 78 pichones hallados muertos durante los recorridos por los sectores de cría y playa del sitio de muestreo. La metodología empleada para la disección de las aves, la recolección y el almacenado de vísceras está detallada en el Capítulo 1. Se calcularon los índices de P e IM para cada estadio observado y para todos los Anisakidae

encontrados. Se calculó la intensidad media diferencial (IMD) de las larvas L4, preadultos y adultos de Anisakidae establecidas en el tracto digestivo de los pichones de *S. magellanicus* utilizando el índice de IM sobre el esófago (dividido en 5 secciones) y el estómago. En aquellos casos en que la intensidad fue muy alta ( $N \geq 300$  nematodos / sección), se analizaron alícuotas del tracto digestivo que superaban, en todos los casos, el 15% del total de individuos hallados en cada sección.

Para establecer la correspondencia específica entre las larvas L3 encontradas en peces ítems presa (*E. anchoita*) y los adultos y L4 de *Contracaecum* spp. hallados en las aves estudiadas, se realizaron pruebas de genética molecular de larvas L3 mediante PCR de genes mitocondriales *cox2*. La metodología se encuentra detallada en el Capítulo 2.

Para estimar la asociación entre Anisakidae e ítems presa se colectaron 113 pellets en 2 campañas diferentes durante la etapa reproductiva de *P. a. albiventer* en la Reserva Provincial de Punta León, Chubut, la primera fue realizada en diciembre del 2006 y la segunda en enero de 2008 (Fig. 33). También se colectaron 28 regurgitados frescos de *P. a. albiventer* en una única campaña en diciembre de 2005. Tanto pellets como regurgitados fueron colocados en frascos con alcohol 70% y la prospección de los mismos se realizó con lupa estereoscópica en laboratorio. La identificación de los Anisakidae se llevó a cabo como se detalló en el Capítulo 1. Se denomina “pellet” a la egagrópila formada por los restos de alimentos no digeridos (otolitos, espinas, dientes, mandíbulas de poliquetos, escamas de peces, picos córneos de cefalópodos, etc.), el tamaño oscila entre 3 y 7 cm. de diámetro (Fig. 33). Se estima que el cormorán real expulsa generalmente un pellet por día, correspondiente al alimento digerido del día anterior. El regurgitado proviene del alimento correspondiente a la alimentación diaria del ave, que sirve para alimentar a las crías y que el cormorán real puede expulsar en caso de sentirse amenazado (Svigelj, com. pers.).



**Figura 33.** Pellets de *Phalacrocorax a. albiventer* de la cormoranera de Punta León, Chubut. a) Pellets esparcidos en el suelo de la cormoranera (flechas); b) aspecto de un pellet normal; c) pellet recién expulsado; d) pellet entero bajo lupa estereoscópica; e) pellet abierto para ser prospectado bajo lupa estereoscópica, obsérvese los nematodos Anisakidae en su interior.

La relación entre la presencia de los diferentes ítems presa y la presencia de las distintas especies parásitas se analizó utilizando el índice de asociación de Dice (Combes, 1983).

$$D = \frac{2a}{2a + b + c}$$

Donde:

a: número de pellets/regurgitados donde la especie parásita y el ítem presa se hallaron presentes;

b: número de pellets/regurgitados donde se halló la especie parásita pero no el ítem presa;

c: número de pellets/regurgitados donde se halló el ítem presa pero no la especie parásita.

La significancia de la asociación observada se evaluó utilizando la prueba de  $X^2$  (Combes, 1983). El valor de significancia utilizado fue 3,84 con un grado de libertad, siendo significativos aquellos valores mayores o iguales que este valor. Para estos análisis se utilizaron aquellos pellets/regurgitados en los cuales las especies parásitas poseían prevalencias superiores al 10% (Combes, 1983).

Para evaluar si la regurgitación actúa como un mecanismo depurador de nematodos se compararon los volúmenes estomacales de un ave regurgitadora (*P. a. albiventer*) y otra no regurgitadora (*S. magellanicus*), la intensidad media (IM) de *Contracaecum* en todas las aves adultas prospectadas y las IM de *Contracaecum* registradas en pellets y regurgitados del cormorán real.

## Resultados

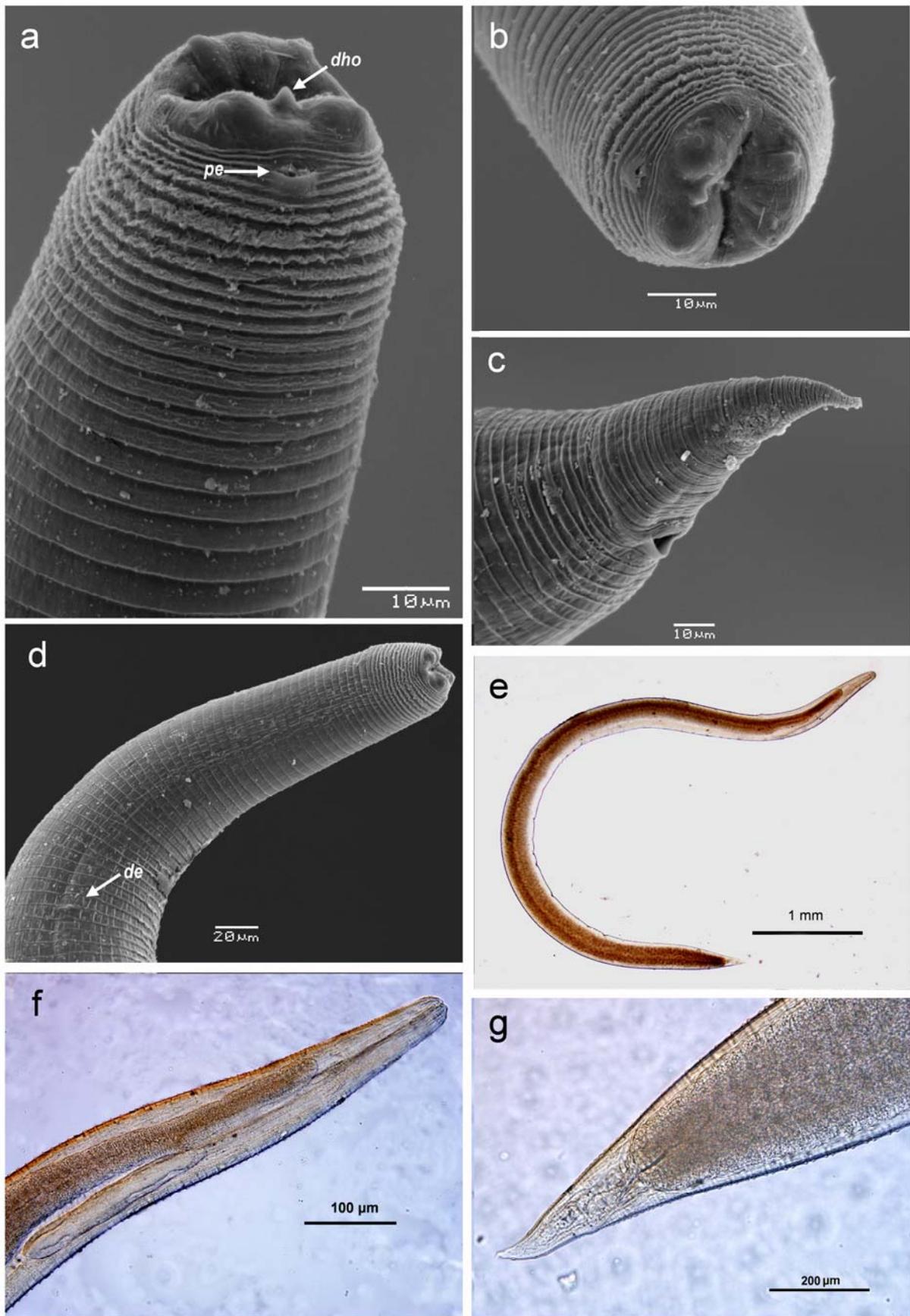
Se obtuvieron larvas L3 de *Contracaecum pelagicum* y de los géneros: *Anisakis* spp. e *Hysterothylacium* spp. en los ejemplares de *E. anchoita* prospectados (Figs. 34, 35 y 36 respectivamente). A continuación se describe morfológicamente únicamente a las L3 de *C. pelagicum* dado que las aves marinas objeto de estudio no son los hospedadores definitivos de los otros dos géneros de Anisakidae hallados.

***Contracaecum pelagicum*** Johnston & Mawson, 1942

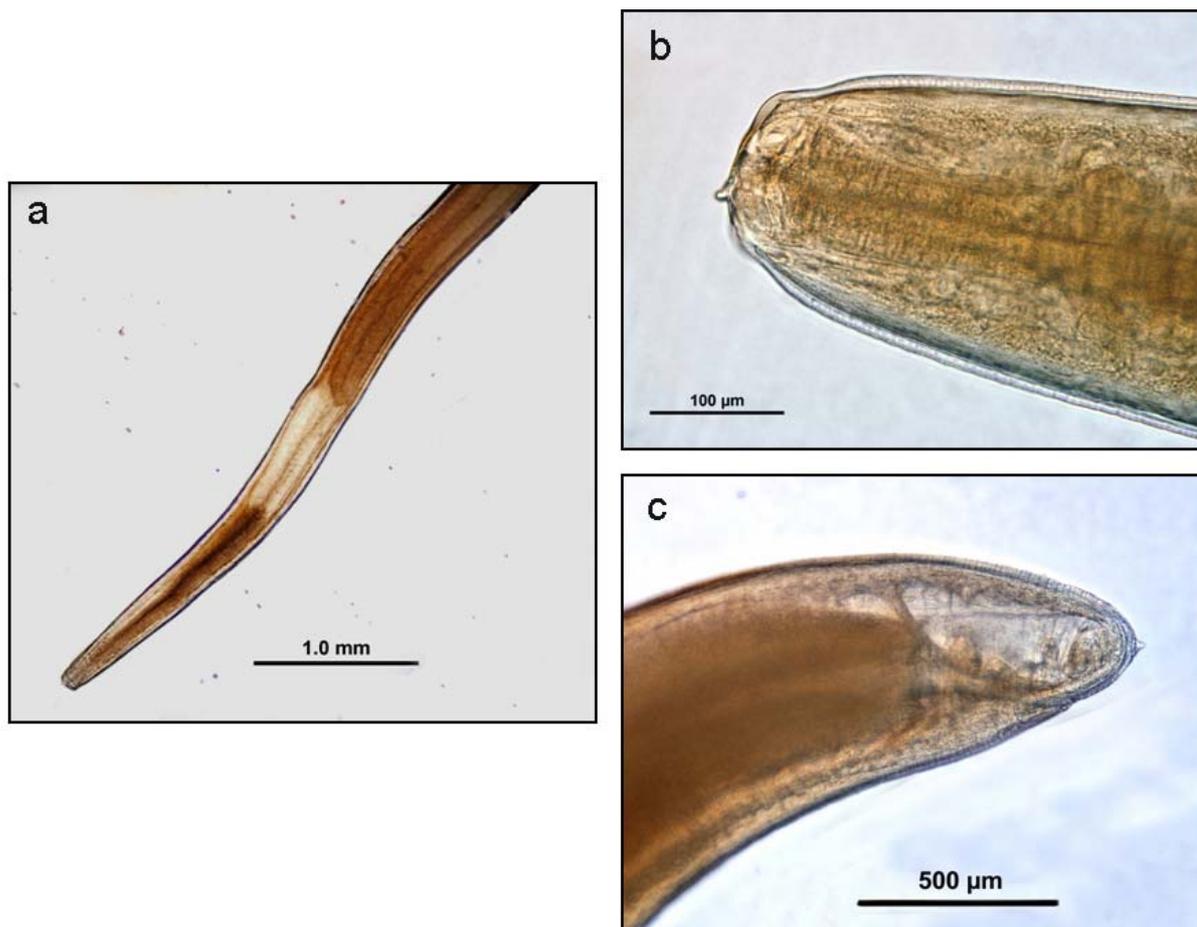
*Larva de tercer estadio (L3)* (10 especímenes de *E. anchoita* de Bahía Engaño, Tabla 17, Fig. 34): cutícula transversalmente estriada (Figs. 34a-d), collar cefálico vestigial sin región lateral en forma de V y desprovista de estriaciones (Figs. 34a, b, d). Labios no desarrollados con papilas labiales vestigiales muy pequeñas (Figs. 34a, b). Ánfidos e interlabios no visibles. Deiridos inconspicuos (Fig. 34c). Ventrículo pequeño. Ciego intestinal ubicado dorsalmente al esófago más corto que el apéndice ventricular (Fig. 34f). Cola cónica sin mucrón. Fásmidos no visibles (Fig. 34c, g).

Especie	<i>Contracaecum</i> sp.	<i>Contracaecum pelagicum</i>	<i>Contracaecum pelagicum</i>
<b>Estadio larval</b>	L3	L3	L4
<b>Hospedador</b>	<i>E. anchoita</i>	<i>E. anchoita</i>	<i>S. magellanicus</i>
<b>Procedencia</b>	Mar del Plata	Península Valdés	Mar del Plata
<b>Carácter morfológico</b>	Timi et al., 2001	Presente estudio	Presente estudio
Longitud del cuerpo	5,01 (4,06-5,82)	4,78 (3,89-6,20)	5,23 (3,77-6,68)
Ancho máximo del cuerpo	0,19 (0,16-0,24)	0,18 (0,15-0,22)	0,20 (0,12-0,27)
Distancia del EA al AN	0,20 (0,16-0,24)	0,19 (0,13-0,22)	0,24 (0,17-0,28)
Distancia del EA a D	0,29 (0,24-0,34)	0,26 (0,22-0,30)	0,33 (0,22-0,43)
Longitud de la cola	0,10 (0,09-0,13)	0,12 (0,10-0,16)	0,13 (0,10-0,16)
Longitud del esófago	0,5 (0,40-0,63)	0,47 (0,38-0,59)	1,08 (0,76-1,38)
Longitud del ciego intestinal	0,26 (0,21-0,34)	0,18(0,12-0,30)	0,74 (0,50-0,94)
Longitud del apéndice ventricular	-	0,24 (0,17-0,36)	0,34 (0,22-0,43)
Longitud del ventrículo + AV	0,36 (0,30-0,43)	0,32 (0,23-0,41)	0,42 (0,28-0,51)
Distancia del EA a la GE	0,69 (0,39-0,96)	0,75 (0,63-0,98)	3,64 (2,80-4,60)

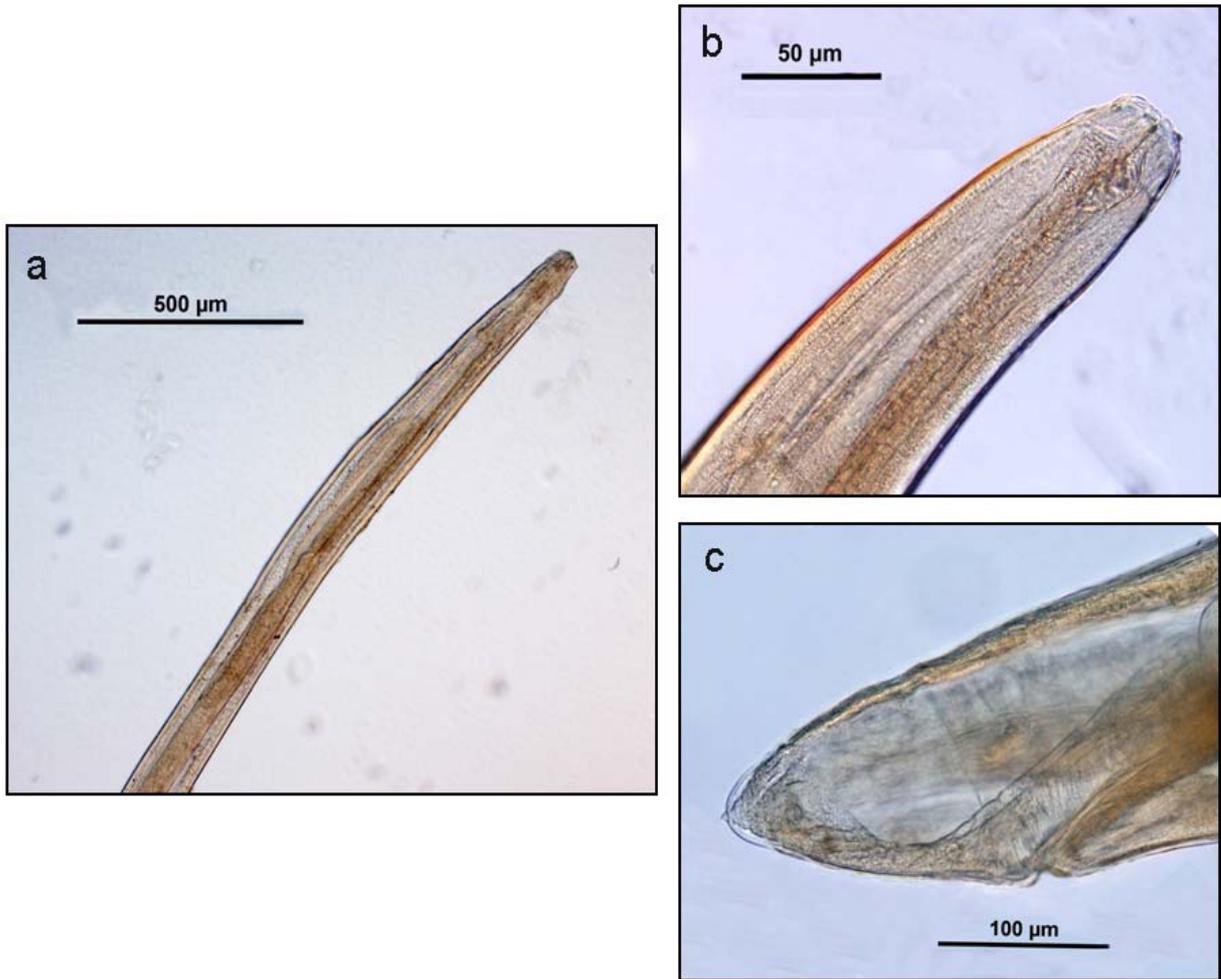
**Tabla 17.** Datos morfométricos de larvas de tercer estadio (L3) de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 provenientes de *Engraulis anchoita* de la Bahía Engaño, costas de Chubut, comparadas con larvas L3 descritas por Timi et al. (2001) y larvas de cuarto estadio (L4) provenientes de *Spheniscus magellanicus* de Mar del Plata. Referencias: EA = extremo anterior, AN = anillo nervioso, D = deiridos, AV = apéndice ventricular, GE = glándula excretora.



**Figura 34.** Fotografías al MEB y al microscopio óptico de la larva de tercer estadio (L3) de *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson, 1942 proveniente de *E. anchoita*. a) Extremo anterior, poro excretor (pe), diente horadador (dho); b) extremo anterior, vista sagital; c) extremo posterior; d) extremo anterior, deirido (de); e) L3 de cuerpo entero; f) extremo anterior, ciego intestinal, apéndice ventricular; g) extremo posterior.



**Figura 35.** Fotografías al microscopio óptico de la larva de tercer estadio (L3) de *Anisakis* sp. a) Extremo anterior, ventrículo; b) extremo anterior, región cefálica, diente horadador; c) extremo posterior, cloaca, mucrón.



**Figura 36.** Fotografías al microscopio óptico de la larva de tercer estadio (L3) de *Hysterothylacium* sp. a) extremo anterior, b) extremo anterior, región cefálica, c) extremo posterior, cloaca, mucrón espinoso.

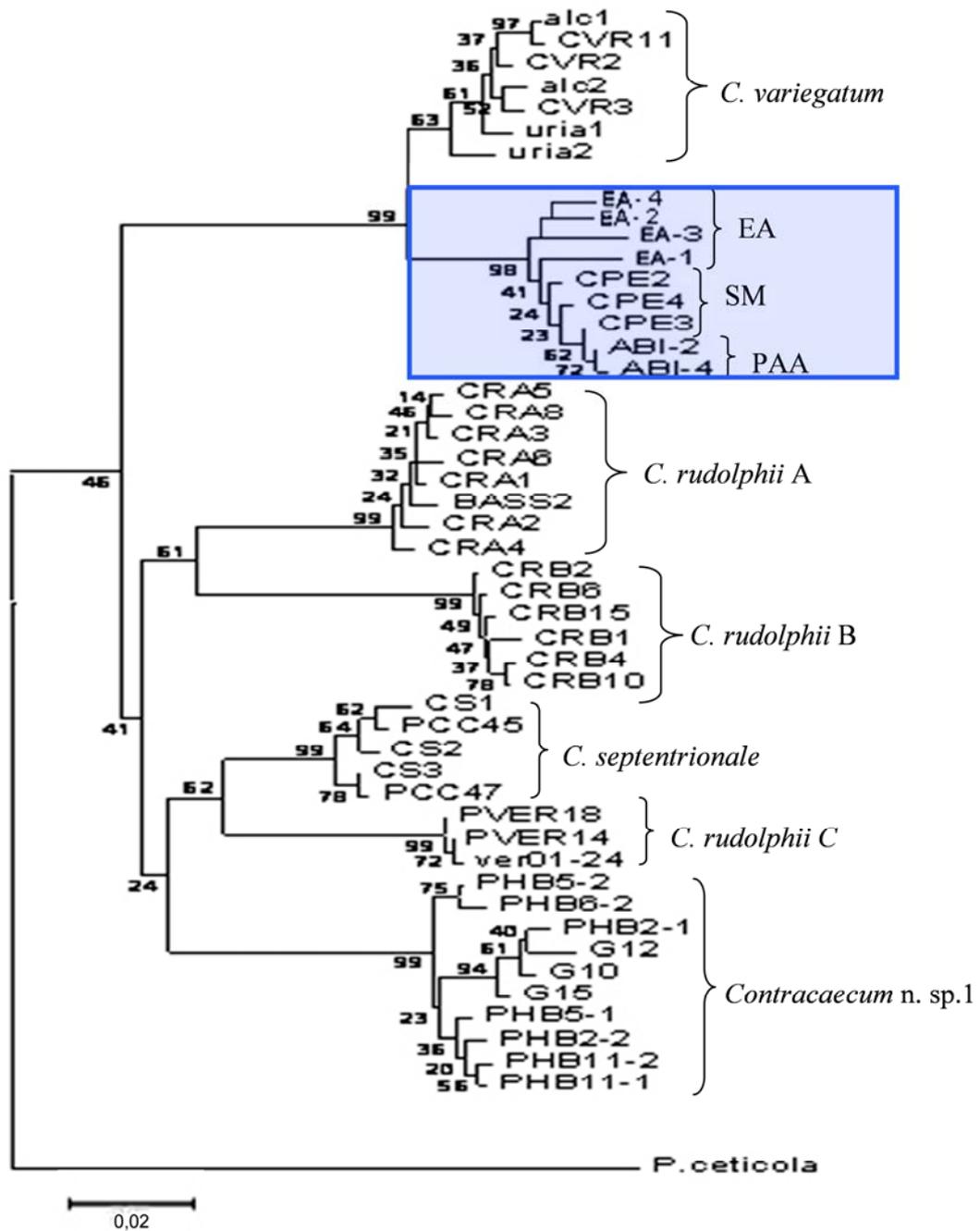
### ***Diversidad y reclutamiento de larvas de Anisakidae***

Se analizaron 60 ejemplares de *E. anchoita* y los índices ecológicos registrados fueron los siguientes: P= 52,5% e IM= 2,81 para larvas L3 de *C. pelagicum*; P= 25% e IM= 1,40 para larvas L3 de *Anisakis* spp.; y P= 90% e IM= 6,97 para larvas L3 de *Hysterothylacium* spp.

El peso promedio de los ejemplares de la submuestra de anchoíta fue de 19,08 gr (12,89 – 29,45 gr). La masa de ingesta promedio del pingüino de Magallanes es de 430 gr., con un rango de 80 a 1183 gr. (Scolaro et al., 1999). Por lo tanto, un pingüino consume en promedio 22,5 anchoítas por ingesta (4,9 - 62 individuos). De esta forma el reclutamiento promedio ( $R_0$ ) de larvas por ingesta correspondería a 63,22 (13,77-174,22) larvas L3 de *Contracaecum* spp.; 31,50 (6,86-86,80) larvas L3 de *Anisakis* spp.; y 156,82 (34,15-432,14) larvas L3 de *Hysterothylacium* spp. Sólo las larvas de *Contracaecum* se instalarán en el estómago del pingüino puesto que *Hysterothylacium* es parásito de peces teleósteos y *Anisakis* de mamíferos marinos.

### ***Pruebas de biología molecular***

Se obtuvieron secuencias de 519 pb de ADN mitocondrial *cox2* de larvas L3 de *Contracaecum* sp. provenientes de los ejemplares de *E. anchoita*, las cuales se correspondieron genéticamente con la especie *Contracaecum pelagicum* encontradas en *S. magellanicus* mediante el análisis de secuencias de Neighbour-Joining (NJ) (Fig. 37). En consecuencia se corrobora que *E. anchoita* es el hospedador intermediario/paraténico de *C. pelagicum*.



**Figura 37.** Árbol de Neighbour-joining (NJ) derivado de genes de ADN mitocondrial *cox2* mostrando la relación genética entre larvas L3 de *Contracaecum pelagicum* provenientes de *E. anchoita* (EA) y los adultos de la misma especie hallados en *S. magellanicus* (SM) y *P. a. albiventer* (PAA), y otras especies de *Contracaecum* que parasitan aves marinas. La escala indica la distancia en sustituciones por nucleótido; *P. ceticola* es el outgroup.

### ***Estado de desarrollo y distribución de Anisakidae en el tracto digestivo de Spheniscus magellanicus***

En el primer mes de vida (diciembre) de *S. magellanicus* se observaron únicamente larvas L4 de *Contracaecum* spp., con una baja prevalencia e intensidad media (IM) (Tabla 18, Fig. 38, 39). Los preadultos (Pad) de *Contracaecum* se observaron a partir del segundo mes de vida (enero), mientras que los adultos (Ad) lo hicieron a partir del tercero (febrero) (Tabla 18, Fig. 38). En el cuarto mes de vida (marzo), la prevalencia (P) de las L4 de *Contracaecum* spp. es máxima (100%), al igual que Pad y Ad (Tabla 18, Fig. 38). La IM de los Pad aumenta a medida que crecen los pichones, siendo mínima en los 2 primeros meses de cría y máxima en los 2 últimos meses (Tabla 18, Fig. 39). Los Ad de *Contracaecum* spp. presentan una IM muy baja en el tercer mes de vida alcanzando el valor máximo en el cuarto mes (Tabla 18, Fig. 39).

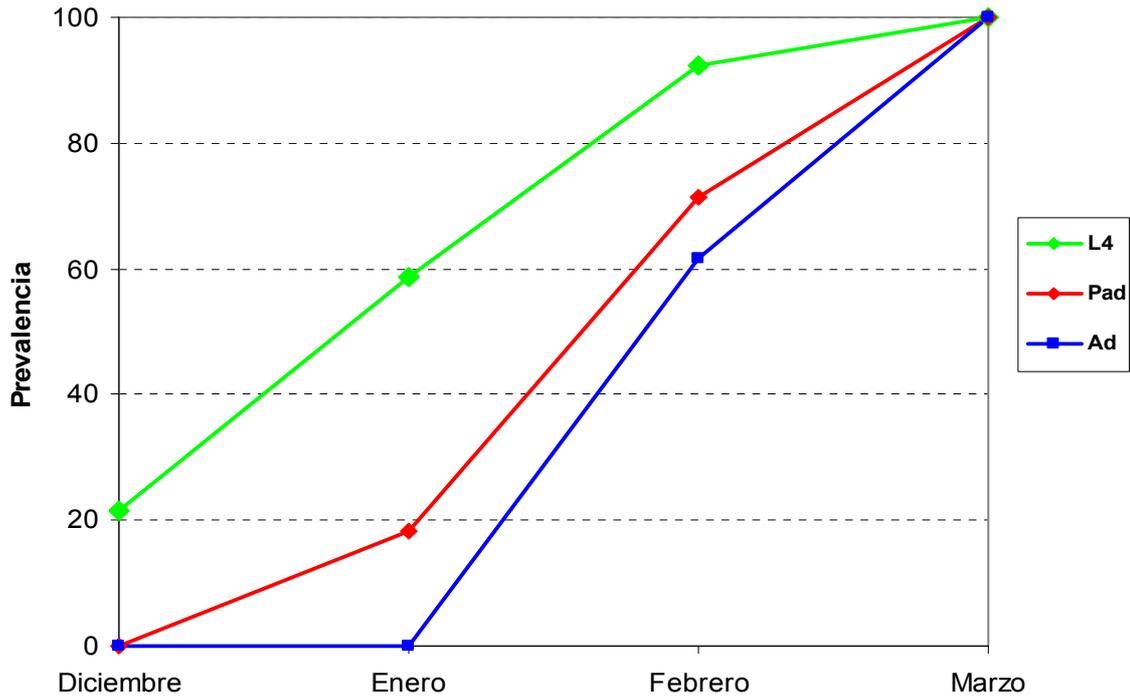
Se observó que la intensidad media diferencial (IMD) de las L4, Pad y Ad de *Contracaecum* spp. varía en la etapa de crecimiento del pichón de *S. magellanicus* (Tabla 18, Figs. 40, 41). En el tercer mes vida (febrero), la IMD de las larvas L4 de *Contracaecum* spp. es bastante mayor que la de Pad y Ad en las diferentes secciones del esófago y estómago de los pichones, registrándose el valor máximo en el estómago (Tabla 19, Figs. 40). La IMD de los Pad y Ad de *Contracaecum* spp. es mínima, incrementándose algo en el estómago (Tabla 19, Fig. 40). En cambio, en el cuarto mes (marzo), la IMD de las larvas L4 desciende y la de Pad y Ad aumenta a valores similares a lo largo de todo el esófago del pichón (Tabla 19, Fig. 41). En el estómago, la IMD de todos los estadios aumenta, la de L4 se duplica con respecto al mes anterior y la de Pad y Ad aumenta significativamente (Tabla 19, Fig. 41).

	Estadio	Diciembre n = 28	Enero n = 21	Febrero n = 16	Marzo n = 13
Prevalencia	L4	21,43	58,65	92,31	100
	Pad	0	18,28	71,43	100
	Ad	0	0	61,54	100
Intensidad Media	L4	11,16	35,2	338,5	308,5
	Pad	0	12	19	147,5
	Ad	0	0	8,25	234,67

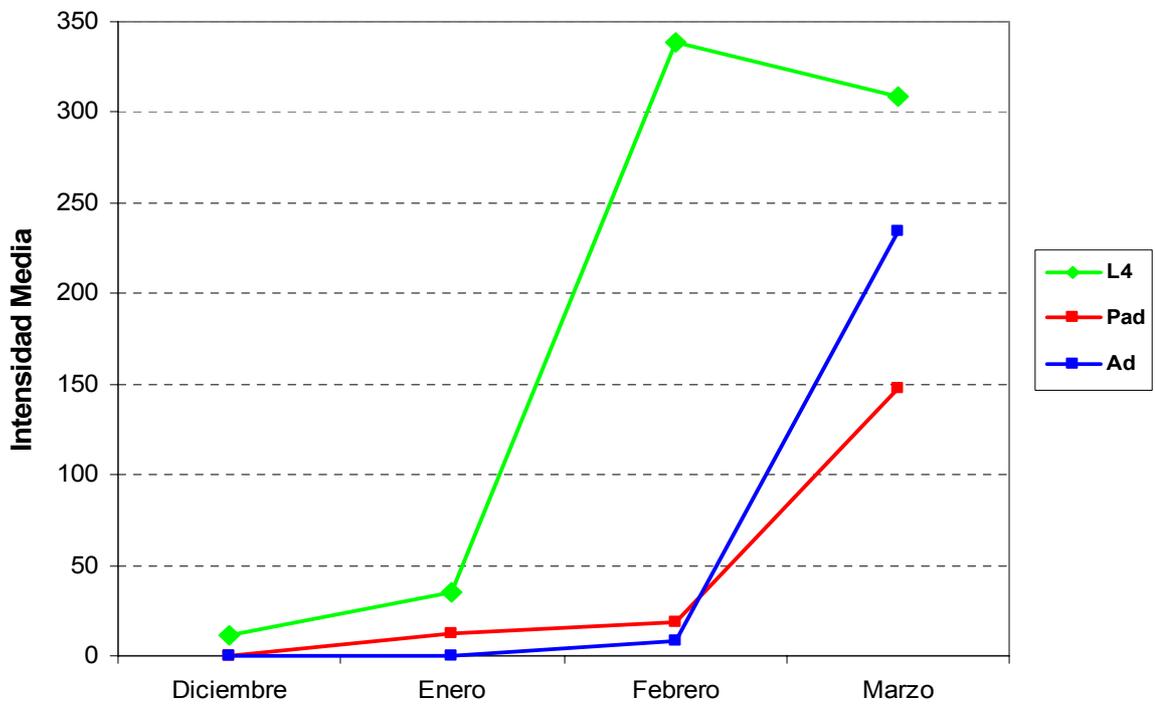
**Tabla 18.** Valores de Prevalencia (P) e Intensidad Media (IM) en larvas de cuarto estadio (L4), preadultos (Pad) y adultos (Ad) de *Contracaecum* spp. en pichones de *S. magellanicus* durante la etapa de cría. Referencias: n= número de pichones examinados.

Sección	Febrero (n = 16)			Marzo (n = 13)		
	L4	Pad	Ad	L4	Pad	Ad
E1	42,5	3,75	0	80,5	14,16	8,83
E2	34	3,75	0,5	14	7,5	20,33
E3	49,25	2,5	0,25	13,5	14,67	16,5
E4	44,25	1	0	24,33	20,33	24,17
E5	33,75	0	0	8,5	21,33	26,17
Est	134,75	8	6,5	225,17	69,5	138,67

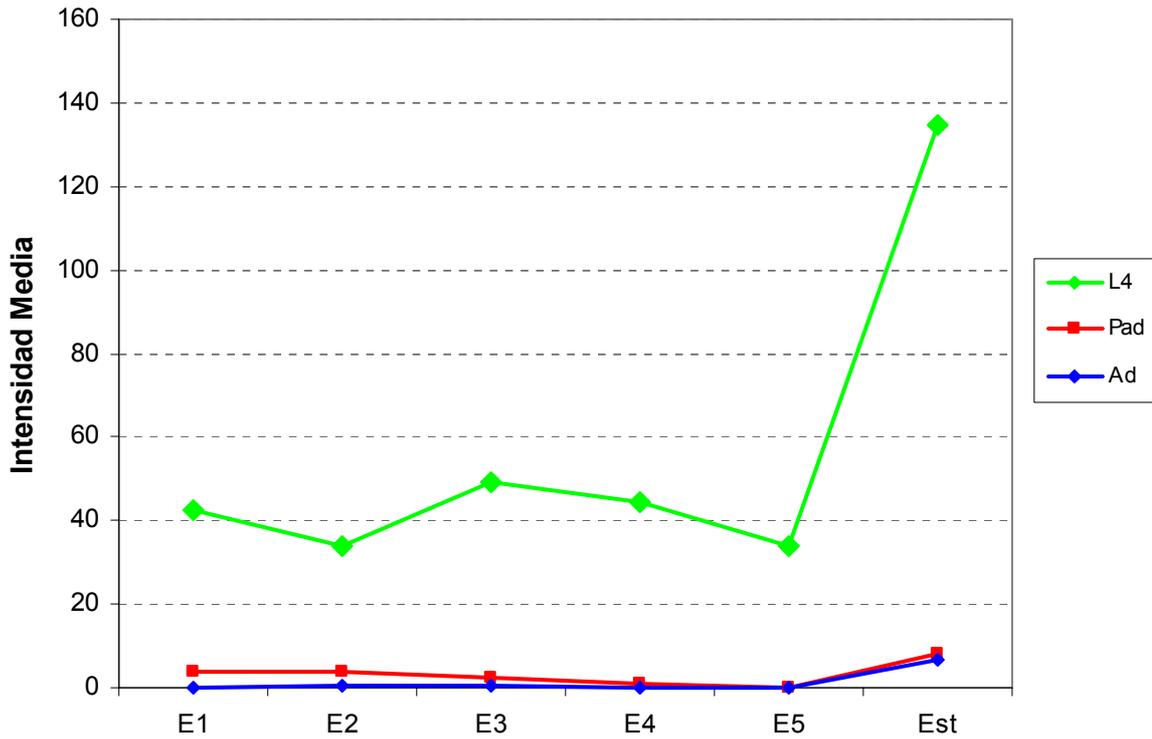
**Tabla 19.** Intensidad media diferencial (IMD) de *Contracaecum* spp. en pichones de *S. magellanicus* durante los meses de febrero y marzo. Referencias: E = sección de esófago, Est = estómago, L4= larvas de cuarto estadio, Pad= preadultos, Ad= adultos, n= número de pichones examinados.



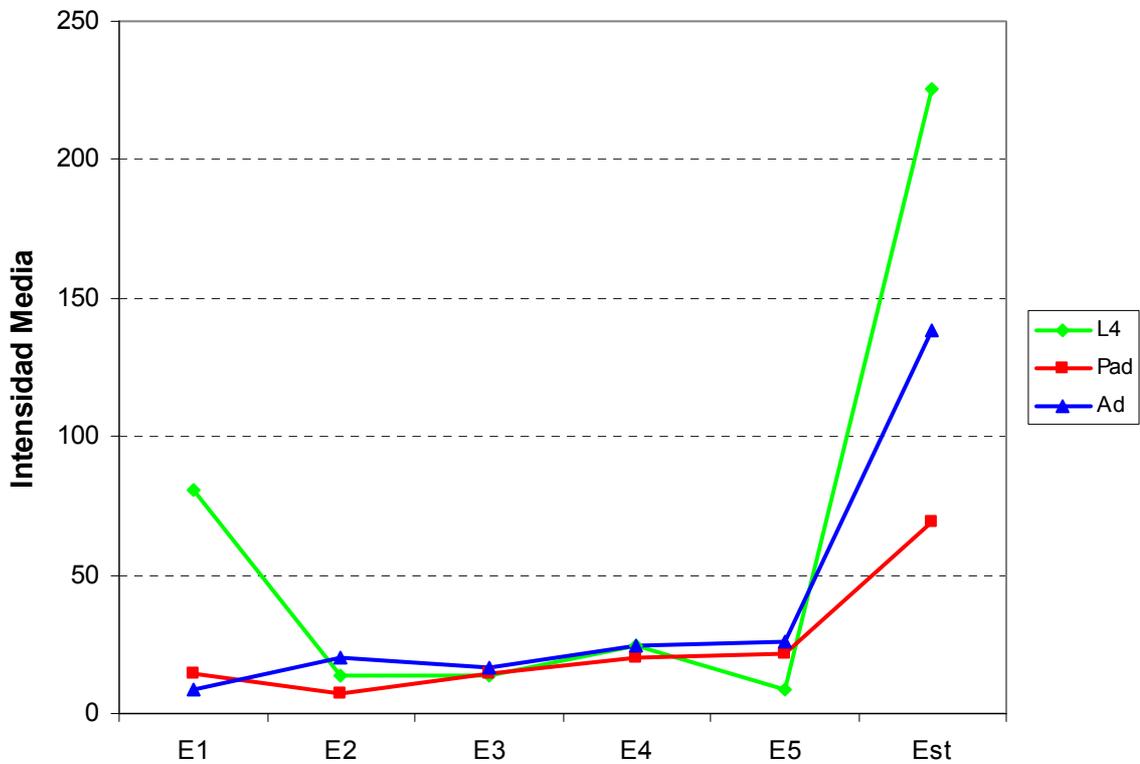
**Figura 38.** Gráfico de Prevalencia (P) de *Contracaecum* spp. durante la etapa de cría de los pichones de *S. magellanicus*. Referencias: L4= larvas de cuarto estadio, Pad= preadultos, Ad= adultos.



**Figura 39.** Gráfico de Intensidad media (IM) de *Contracaecum* spp. durante la etapa de cría de los pichones de *S. magellanicus*. Referencias: L4= larvas de cuarto estadio, Pad= preadultos, Ad= adultos.



**Figura 40.** Gráfico de Intensity Media Diferencial (IMD) de *Contracaecum* spp. en el esófago y estómago de pichones de *S. magellanicus* durante el mes de febrero. Referencias: E = sección de esófago, Est = estómago, L4= larvas de cuarto estadio, Pad= preadultos, Ad= adultos.



**Figura 41.** Gráfico de Intensity Media Diferencial (IMD) de *Contracaecum* spp. en el esófago y estómago de pichones de *S. magellanicus* durante el mes de marzo. Referencias: E = sección de esófago, Est = estómago, L4= larvas de cuarto estadio, Pad= preadultos, Ad= adultos.

### ***Estudios de Asociación Parasitaria***

En los 28 regurgitados y 60 pellets (30 por cada campaña) de *P. a. albiventer* examinados, se identificaron otolitos y restos corporales de varias especies pertenecientes a diferentes familias de peces (Tabla 20), crustáceos, moluscos y poliquetos (Tabla 20 continuación). La dieta del cormorán real estuvo compuesta en proporción numérica por un 75,73% de peces, 17,47% de crustáceos y un 6,80% de moluscos regurgitados. En cambio, en pellets se observó un 67,04% de peces, 21,21% de moluscos, 6,06% de poliquetos y 5,30% de crustáceos.

En regurgitados se identificaron las especies de Anisakidae, *Contraecum pelagicum*, *Pseudoterranova* sp., *Anisakis* sp. y *Terranova* sp. Además se encontraron acantocéfalos del género *Corynosoma* y cestodes. Los índices ecológicos se detallan en la Tabla 21, excepto para cestodes, cuya prevalencia fue sólo del 3% (sólo en 2 pellets infectados).

En los pellets de la primera y de la segunda campaña se identificaron los mismos taxa. En la Tabla 21 se muestran los parámetros ecológicos de P e IM.

Las prevalencias fueron significativamente mayores en pellets para todos los Anisakidae y el acantocéfalo *Corynosoma* sp.; *Pseudoterranova* sp. mostró la mayor prevalencia tanto en regurgitados como en pellets y las intensidades fueron las más altas, junto a *Corynosoma* sp.; *Anisakis* sp. fue el segundo género más prevalente, seguido de *C. pelagicum* y *Terranova* sp. (Tabla 21).

Los cálculos de asociación parasitaria demostraron que *C. pelagicum* se asocia con *E. anchoita* y anfípodos Gammaridae ( $D= 0,5$ ;  $X^2= 5,71$ ) en regurgitados, aunque el valor del índice de Dice (D) no fue significativo para ambos ítems presa (Tabla 22). En pellets, *C. pelagicum* se asocia con *Raneya brasiliensis*, mostrando un valor de D significativo y *E. anchoita* ( $X^2 = 4,2$ ) (Tabla 23). *Pseudoterranova* sp. se asocia con *Ribeiroclinus eigenmanni* en regurgitados y con *R. brasiliensis*, *Triathalassothia argentina*, una especie de gastrópodo y otra de cefalópodo, no identificadas (Tablas 22, 23). *Anisakis* sp. se asocia con el prosobranquio *Tegula* sp. y el crustáceo Caridea *Campinolotus* sp. en regurgitados (Tabla 22), y con los peces *R. brasiliensis*, *T. argentina* y *A. chiloensis* en pellets (Tabla 23). *Terranova* sp. se asoció únicamente con el género de poliquetos *Eunice* sp. en pellets (Tabla 23).

*Corynosoma* se asoció con *R. brasiliensis* tanto en regurgitados como en pellets y además lo hizo con *R. eigenmanni* en pellets (Tablas 22, 23).

***Evaluación de la regurgitación como mecanismo de depuración de nematodos***

El volumen estomacal de *P. a. albiventer* representa el 60% del volumen correspondiente a *S. magellanicus*. El valor de IM de *Contraecum* spp. calculado para todos los ejemplares adultos de *S. magellanicus* de Península Valdés fue de 135,64 y para *P. a. albiventer* de Punta León fue de 15,70. Los valores de IM para *Contraecum pelagicum* fueron de 2,6 y 3,13 en pellets y 1,0 en regurgitados (Tabla 21). Al observar las prevalencias e intensidades medias de los géneros de Anisakidae que estuvieron presentes en los pellets y regurgitados se corrobora que este hábito y comportamiento contribuiría a expulsar los anisákidos que no se instalan en esta especie hospedadora por no ser la adecuada (*Pseudoterranova*, *Anisakis* y *Terranova*). Esto conlleva entonces a la presunción de que existe también un mecanismo de depuración para *Contraecum*, dado que la prevalencia en pellets osciló entre el 35 y el 47%.

Familia	Especie	Regurgitados	Pellets	Pellets
		Campaña 2005	Campaña 2006	Campaña 2008
Ophididae	<i>Raneya brasiliensis</i>	44,44	96,15	92
	<i>Genypterus blacodes</i>	-	3,85	-
Batrachoididae	<i>Triathalassothia argentina</i>	33,33	76,92	88
Clinidae	<i>Ribeiroclinus eigenmanni</i>	81,48	42,31	28
Nototheniidae	<i>Patagonotothen sp.</i>	-	38,46	20
Pinguipedidae	<i>Pinguipes brasilianus</i>	29,63	-	-
	<i>Pseudoperca sp.</i>	-	19,23	16
Agonidae	<i>Agonopsis chilensis</i>	14,81	11,54	12
Serranidae	<i>Acanthistius brasilianus</i>	14,81	-	-
Zoarcidae	<i>Austrolycus laticinctus</i>	11,11	-	-
Engraulidae	<i>Engraulis anchoita</i>	7,4	3,85	8
Paralichthyidae	<i>Paralichthys isosceles</i>	3,7	-	-
	<i>Paralichthys sp.</i>	7,4	7,69	8
	<i>Xystreurus rasile</i>	7,4	-	-
Cheilodactylidae	<i>Nemadactylus bergi</i>	11,11	3,85	4
Percophidae	<i>Percophis sp.</i>	-	7,69	-
Merlucciidae	<i>Merluccius hubbsi</i>	3,7	-	-
Atherinopsidae	<i>Odontesthes argentinensis</i>	3,7	-	4
Triglidae	<i>Prionotus sp.</i>	-	-	4
Myxinidae	<i>Myxine sp.</i>	-	-	4
Rajidae	<i>Raja sp.</i>	3,7	-	-

**Tabla 20.** Taxa y prevalencias (expresada en porcentaje) de los peces ítems presa de *P. a. albiventer* observados en los regurgitados y pellets colectados. Referencias: (-) ítem presa ausente.

Taxa	Especie	Regurgitados	Pellets	Pellets	
		Campaña 2005	Campaña 2006	Campaña 2008	
Cephalopoda Octopodidae	<i>Enteroctopus megalocyathus</i>	-	38,46	28	
	<i>Octopus tehuelchus</i>	-	30,77	24	
	Pulpo*	11,11	-	-	
	Calamar*	11,11	30,77	4	
Bivalvia	Almeja*	3,7	19,23	12	
Gastropoda Prosobranchia	<i>Tegula sp.</i>	3,7	23,08	-	
Crustacea	Crustáceo*	-	11,54	16	
	Ostracoda	Ostrácodo*	-	-	7
	Amphipoda	Gammaridea*	7,4	-	-
	Anomura	<i>Pachycheles chubutensis</i>	7,4	-	-
	Caridea	<i>Atlantopandalus sp.</i>	14,81	-	-
		<i>Nauticaris sp.</i>	3,7	-	-
		<i>Chorismus sp.</i>	3,7	-	-
		<i>Campinolotus sp.</i>	3,7	-	-
		<i>Bateus sp.</i>	3,7	-	-
		<i>Pterygosquilla sp.</i>	3,7	-	-
	Brachiura	<i>Coenophthalmus sp.</i>	11,11	-	-
	Solenoceridae	<i>Pleoticus muelleri</i>	3,7	-	-
	Polychaeta	Eunicidae*	-	15,38	20
		Polynoidae*	-	11,54	4
		Aphroditidae*	-	11,54	-
Nemertea	Nemertino*	-	3,85	-	

**Tabla 20 continuación.** Taxa y prevalencias (expresada en porcentaje) de los invertebrados ítems presa de *P. a. albiventer* observados en los regurgitados y pellets colectados. Referencias: (\*) ítem presa indeterminado, (-) ítem presa ausente.

Anisakidae	Regurgitados Campaña 2005		Pellets Campaña 2006		Pellets Campaña 2008	
	P	IM	P	IM	P	IM
<i>Contracecum pelagicum</i>	7,41	1	35,71	2,6	46,67	3,13
<i>Pseudoterranova</i> sp.	40,74	1,54	85,71	6,87	93,33	7,36
<i>Anisakis</i> sp.	18,52	1,8	64,29	2	73,33	2,11
<i>Terranova</i> sp.	3,7	2	32,14	3,67	33,33	2,5
<i>Corynosoma</i> sp.	37,03	4,8	39,28	7,82	66,67	3,8

**Tabla 21.** Índices ecológicos de Anisakidae y *Corynosoma* en regurgitados y pellets de *P. a. albiventer*. Referencias: P = prevalencia (%), IM= intensidad media.

Anisakidae	Ítem presa asociado	D	$\chi^2$	p
<i>Contracecum pelagicum</i>	Gammaridae*	0,5	5,71	< 0,05
	<i>Engraulis anchoita</i>	0,5	5,71	< 0,05
<i>Pseudoterranova</i> sp.	<i>Ribeiroclinus eigenmanni</i>	0,67	4,22	< 0,05
<i>Anisakis</i> sp.	<i>Tegula</i> sp.	0,4	4,57	< 0,05
	<i>Campinolutus</i> sp.	0,4	4,57	< 0,05
<i>Corynosoma</i> sp.	<i>Raneya brasiliensis</i>	0,18	3,84	< 0,05

**Tabla 22.** Valores observados de asociación parasitaria de Anisakidae y *Corynosoma* en regurgitados de *P. a. albiventer*. Referencias: (\*) ítem presa indeterminado, D= valores del índice de Dice,  $\chi^2$ = Chi-cuadrado.

Anisakidae	Ítem presa asociado	D	X <sup>2</sup>	p
<b>Contracaecum pelagicum</b>	<i>Engraulis anchoita</i>	0,24	4,2	< 0,05
	<i>Raneya brasiliensis</i>	0,6	0,12	> 0,05
<b>Pseudoterranova sp.</b>	<i>Raneya brasiliensis</i>	0,91	0,35	> 0,05
	<i>Triathalassothia argentina</i>	0,91	6,84	< 0,05
	Cefalópodo*	0,04	11,65	< 0,05
	Gasterópodo*	0,15	4,25	< 0,05
<b>Anisakis sp.</b>	<i>Raneya brasiliensis</i>	0,76	1,01	> 0,05
	<i>Triathalassothia argentina</i>	0,68	0,16	> 0,05
	<i>Agonopsis chiloensis</i>	0,05	5,55	< 0,05
<b>Terranova sp.</b>	<i>Eunice sp.</i>	0,46	5,46	< 0,05
<b>Corynosoma sp.</b>	<i>Raneya brasiliensis</i>	0,78	1,18	> 0,05
	<i>Ribeiroclinus eigenmanni</i>	0,7	1,5	> 0,05

**Tabla 23.** Valores observados de asociación parasitaria de Anisakidae y *Corynosoma* en pellets de *P. a. albiventer* de ambas campañas. Referencias: (\*) ítem presa indeterminado, D= valores del índice de Dice, X<sup>2</sup>= valores de Chi-cuadrado.

## Discusión

Mediante técnicas de genética molecular se comprobó que las larvas L3 de *Contracaecum sp.* halladas en la anchoita pertenecen a *Contracaecum pelagicum* que parasita al pingüino de Magallanes y al cormorán real (*P. a. albiventer*). De esta forma se corroboró la hipótesis que *E. anchoita* es el hospedador paraténico de *C. pelagicum*, cuyas larvas del tercer estadio se transmiten cuando el pingüino de Magallanes y el cormorán real (hospedadores definitivos) se alimentan de este pez.

Las larvas L3 de *C. pelagicum* halladas en *E. anchoita* provenientes del litoral marítimo de Península Valdés presentaron pocas diferencias morfométricas con respecto a aquellas descritas por Timi et al. (2001) en anchoitas del litoral de Mar del Plata. Sólo el ciego intestinal y el apéndice ventricular son más cortos en las halladas en el presente trabajo. No obstante, cuando se analizaron las L3 de *C. pelagicum* con respecto a las larvas L4 de *C.*

*pelagicum* de *S. magellanicus* de Mar del Plata se observaron diferencias significativas. El esófago presenta el doble de longitud y el ciego intestinal es mucho más largo en las últimas; la glándula excretora se ubica notoriamente más atrás con respecto al extremo anterior. Estas diferencias morfométricas obedecerían a los cambios que sufren las larvas L3 al mudar a larvas L4 en el hospedador definitivo (metamorfosis). Varios autores dan cuenta de ello en estudios del ciclo de vida de otras especies de *Contracecum* (Huizinga, 1966, Fagerholm et al., 1990, Bartlett, 1996). En el mismo sitio (Mar del Plata), Timi et al. (2001) encontraron larvas L3 de *Contracecum* sp. en anchoitas, Garbin et al. (2007) identificaron nematodos adultos de *C. pelagicum* parasitando a pingüinos provenientes de la misma área. Es probable que las larvas L3 encontradas por Timi et al (2001) pertenezcan a *C. pelagicum*, determinando un amplio rango de distribución para esta especie. Podría especularse que *E. anchoita* sea el hospedador paraténico de otras especies de *Contracecum*, tal es el caso *C. chubutensis*, que parasita al cormorán imperial (*P. a. atriceps*) de Bahía Bustamante, dado que la anchoita es un ítem presa moderadamente consumido por este cormorán (Malacalza et al., 1994; Gosztonyi & Kuba, 1998; Punta et al., 2003). También *E. anchoita* cumpliría el rol de hospedador paraténico de las especies de *Contracecum* que parasitan a pinnípedos en la zona (e.g. *Contracecum ogmorhini* de *Arctocephalus australis* y *Contracecum mirounga* de *A. australis* y *Mirounga leonina*) (Timi et al., 2003; Mattiucci et al., 2003; 2008b). Sin embargo, las secuencias de genes mitocondriales *cox2* obtenidas correspondieron a *C. pelagicum*. Quizás debería realizarse un exhaustivo análisis molecular de un mayor número de larvas L3 de *Contracecum* sp. provenientes de anchoitas y otros peces ítems presa en el mismo sitio de forrajero del cormorán real y de los pinnípedos para dilucidar este interrogante. En este sentido, *Cynoscion guatucupa*, *Merluccius hubbsi*, *Trachurus lathami*, *Paralonchurus brasiliensis* y *Micropogonias furnieri* entre otras (Pinedo & Barros, 1983; Crespo et al., 1997, Naya et al., 2000) serían otras especies de peces componentes de la dieta de estos mamíferos marinos.

A pesar de que la correspondencia establecida entre preadultos y adultos de *C. pelagicum* representan un importante avance en términos de transmisión parasitaria en Anisakidae, quedaría por resolver cuál o cuáles son los hospedadores intermediarios de esta especie. Varios estudios de transmisión señalan a los copépodos como los principales transmisores de L3 del género *Contracecum* y en menor medida eufáusidos y anfípodos (Huizinga, 1966, Bartlett, 1996, Anderson, 2000); todos estos invertebrados constituyen ítems presa de la anchoita (Capitanio et al., 2005).

Se conoce que los hospedadores definitivos del género de *Anisakis* son mamíferos marinos (Anderson, 2000). Por lo tanto las L3 de *Anisakis* sp. encontradas en la anchoíta no son capaces de instalarse y desarrollarse en el tracto digestivo de *S. magellanicus* y *P. a. albiventer*, constituyendo ambas especies una vía muerta en estas aves hospedadoras.

*Hysterothylacium* spp. podrían desarrollarse en *E. anchoíta* dado que los peces teleósteos son sus hospedadores definitivos. Sin embargo la ausencia de individuos adultos de *Hysterothylacium* spp. en la anchoíta permite sugerir que no es un hospedador adecuado para estas especies de Anisakidae, en cambio lo serían otros peces teleósteos que predan sobre la misma (e.g. *Merluccius hubbsi*). Al respecto Navone et al. (1998) hallaron *Hysterothylacium aduncum* en *M. hubbsi* y *Scomber japonicus* y sugirieron el ciclo de vida.

En estudios de desarrollo y distribución de Anisakidae, la aparición de los individuos adultos de *Contracaecum* en el tercer mes de vida (febrero) concuerdan con el hallazgo de Semenova (1974), quién logró obtener adultos de *Contracaecum microcephallum* a los 35-40 días post-infección de pichones de Anatidae, a los que se les suministró como alimento anfibios y peces infestados con L3. Sin embargo parecería que *C. pelagicum* sería menos precoz en alcanzar la madurez sexual, dado que en el presente trabajo los adultos se observaron a los 60-90 días de vida de *S. magellanicus*. Quizás en condiciones naturales el tiempo de desarrollo se prolonga ya que este estudio ha seguido la evolución de los diferentes estadios en los hospedadores capturados en el ambiente natural.

Por otro lado, la IM de L4 de *Contracaecum* es máxima en los pichones durante el tercer mes de vida, esto podría deberse a la alta capacidad de ingesta de pescado que presentan los pichones de esta edad, teniendo en cuenta el índice de reclutamiento ( $R_0$ ) calculado para el pingüino de Magallanes. Sin embargo, ese aumento en la carga de L4 luego no encontraría espacio físico para desarrollar el estadio adulto.

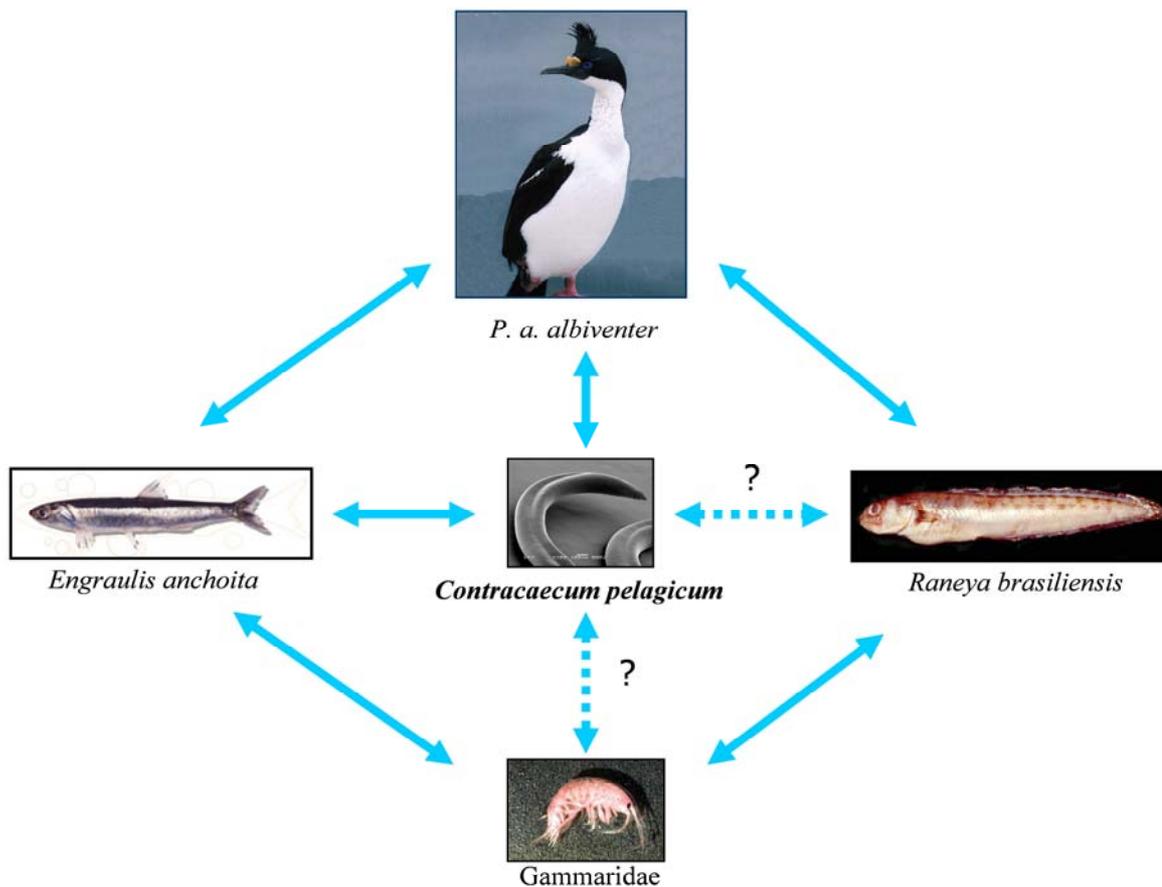
Los resultados de Intensidad Media Diferencial muestran que en el tercer mes de vida de los pichones de *S. magellanicus* hubo una significativa intensidad de L4 en todas las secciones del esófago y el estómago. Sin embargo, se observa una baja IMD de preadultos y adultos. Por el contrario, en el cuarto mes de vida, la IMD de las larvas L4 baja en esófago y aumenta en estómago, y la IMD de preadultos y adultos aumenta considerablemente en esófago y abruptamente en estómago. Esto podría deberse a que en el transcurso del 3° al 4° mes de vida del pichón, las L4 estarían mudando al estadio adulto y desplazándose hacia el estómago. Por lo cual es probable que en algún momento del año y durante la migración de *S. magellanicus* hacia aguas más cálidas, las infrapoblaciones de *Contracaecum pelagicum* estén compuestas mayormente por adultos.

El análisis de los regurgitados y pellets mostró similitudes y diferencias. En los regurgitados no se hallaron poliquetos, mixínidos ni nemertinos, aunque la proporción de crustáceos fue mucho mayor que la de pellets.

Estas diferencias se fundamentan en el hecho que los regurgitados muestran el consumo diario del ave y aquel suministrado a los pichones, el cual se digerirá al día siguiente. En cambio, el pellet muestra el espectro trófico de un período mayor.

El análisis arrojó resultados similares a aquellos observados por Malacalza et al., (1994) para *P. a. albiventer* en el mismo sitio de muestreo. Sin embargo el presente estudio mostró una mayor prevalencia de *R. eigenmanni* en regurgitados y muy baja para *E. anchoita* en todos los análisis. Se encontraron además algunos taxa de peces no observados hasta el momento, tales como los Paralichthyidae, Nototheniidae, Zoarcidae, Cheilodactylidae, Percophidae, Merlucciidae, Atherinopsidae, Triglidae, Myxinidae y Rajidae. De la misma forma, los invertebrados predominantes fueron los cefalópodos Octopodidae *E. massyae* y *O. tehuelchus*, aunque el calamar *Loligo* sp. estuvo ausente.

Los resultados de asociación parasitaria corroboran la estrecha relación de *C. pelagicum* y *E. anchoita* como hospedador paraténico transmisor de larvas L3 al cormorán real, hospedador definitivo. Se desconoce el rol de la especie *R. brasiliensis*, que mostró asociación con *C. pelagicum* de acuerdo al valor de D ( $D= 0,60$ ). Vales et al. (2009) determinaron la presencia de larvas de anisákidos en ejemplares de este pez provenientes del Golfo San Jorge pero no hallaron *Contracaecum* spp. Quizás *R. brasiliensis* se podría sugerir como hospedador paraténico de *Contracaecum* spp. (Fig. 42), aunque esta asociación merece ser comprobada mediante nuevas prospecciones de los peces. Es destacable la asociación positiva de Gammaridae con *C. pelagicum* observada en regurgitados. Varios autores señalan a los anfípodos como hospedadores intermediarios de *Contracaecum* spp. (Huzinga, 1966; Fagerholm, 1990; Bartlett, 1996; Anderson, 2000), aunque estos serían presas de peces teleósteos que actuarían como hospedadores paraténicos y transmitirían las larvas L3 a las aves. Es improbable que exista una transmisión directa de larvas L3 de *C. pelagicum* del anfípodo al cormorán, puesto que estos crustáceos son muy pequeños y la presencia de gamáridos en la dieta del cormorán real serían el resultado de haber ingresado junto con sus ítems presa más frecuentes (peces) que sí predan sobre los crustáceos. Se podría sugerir a Gammaridae el rol de hospedador intermediario de *C. pelagicum*, aunque ésto merece también ser comprobado (Fig. 42).



**Figura 42.** Representación de las asociaciones parasitarias para *Contracaecum pelagicum* de acuerdo a los valores de Dice y  $\chi^2$ . La línea punteada significa "posible asociación".

El género *Pseudoterranova* se asoció estrechamente con las especies *Triathalassotia argentina* y *Raneya brasiliensis* en pellets, corroborado por los altos valores de D y en menor medida lo hizo con la especie *Ribeiroclinus eigenmanni*. De cualquier forma, este género de Anisakidae utiliza a los pinípedos y cetáceos como hospedadores definitivos, por lo tanto el cormorán real sería una vía muerta para las larvas L3 de este género. Es probable que estos peces sean presa de mamíferos marinos que habitan en la misma área, o bien, sean predados por peces teleósteos que actúen como segundo hospedador intermediario de *Pseudoterranova* sp. La asociación con gasterópodos coincide con lo observado por McClelland (1990) quien indicó la presencia de larvas de *Pseudoterranova* sp. en el manto de gasterópodos que ingerían anfípodos. Es sorprendente la asociación observada de este género de Anisakidae con cefalópodos, no reportada hasta el momento. Los cefalópodos son algunos de los

principales ítems presa de pinípedos, como el elefante marino austral (*Mirounga leonina*) en el área de estudio (Daneri et al., 2000).

El género *Anisakis* sp. se asoció estrechamente con *R. brasiliensis*, en menor grado con *T. argentina* y con *Agonopsis chiloensis* según ambos análisis. Sin embargo, y al igual que *Pseudoterranova* sp., los hospedadores definitivos del género *Anisakis* corresponden a cetáceos, resultando *P. a. albiventer* un hospedador inadecuado. Berón-Vera et al. (2001; 2007) encontraron adultos de *Anisakis simplex* parasitando a los cetáceos *Delphinus delphis* y *Cephalorhynchus commersonii* que se alimentan del pez *Cynoscion guatucupa* y del calamar *Loligo sanpaulensis*. Es probable que los peces *R. brasiliensis*, *T. argentina* y *A. chiloensis* sean presa de estos mamíferos marinos o bien actúen como primer hospedador paraténico de *Anisakis* sp., siendo predados por *C. guatucupa* (segundo hospedador paraténico) y presa del lobo marino de dos pelos. Este rol también sería cumplido por la merluza *Merluccius hubbsi*, presa del lobo marino de uno y dos pelos, parasitada por larvas L3 de *Anisakis pegreffii* en aguas cercanas a las Islas Malvinas (Mattiucci et al., 1997). Como ocurre con *C. pelagicum*, la asociación con *Campylonotus* sp., es irrelevante para *P. albiventer* puesto que los crustáceos actúan como hospedadores intermediarios de larvas del género *Anisakis*. Sin embargo los decápodos Caridea forman parte de la dieta de cetáceos marinos, los cuáles están presentes en el área de estudio (Anderson, 2000). Sería novedoso el reporte de una asociación entre *Tegula* sp. y *Anisakis* sp. al menos no existen reportes que una la asociación con prosobranquios.

El género *Terranova* sp. se observó asociado al poliqueto *Eunice* sp. Esta asociación resulta extraña o novedosa puesto que los poliquetos no han sido reportados hasta el momento como hospedadores intermediarios de éste género de Anisakidae. Sin embargo sí han sido observados como hospedadores intermediarios de los géneros *Pseudoterranova* y *Contracecum* (Anderson et al, 2000). Se conoce que *Terranova* spp. parasita a reptiles marinos y elasmobranquios, por lo tanto Eunicidae sería un recurso alimenticio de peces ítems presa del cormorán real.

Por último, *R. brasiliensis* se observó asociada con *Corynosoma* sp. tanto en regurgitados como en pellets y en menor medida *R. eigenmanni* y *T. argentina* en pellets. Los estadios inmaduros de *Corynosoma* spp. utilizan peces como hospedadores intermediarios. Varios estudios en peces del Mar Argentino dan cuenta de la presencia de acantocéfalos en *Micropogonias furnieri* (Sardella et al. 1995), *E. anchoita* (Timi 1999), *Porichthys porosissimus* (Tanzola et al. 1997), *Scomber japonicus* (Cremonte & Sardella, 1997), *Sympterygia bonapartei* (Tanzola et al. 1998), *Conger orbignianus* (Tanzola & Guagliardo,

2000), e *Hippocampus* sp. (Braicovich et al., 2005). Sardella et al. (2005) hallaron y definieron el estatus taxonómico de *Corynosoma australe* Johnston, 1937 and *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae) en peces y mamíferos del Mar Argentino. Recientemente, Diaz (datos no publicados) encontró adultos de *Corynosoma* sp. en el intestino anterior de *P. a. albiventer*. En consecuencia, es altamente probable que *R. brasiliensis* desempeñe el rol de hospedador intermediario de este acantocéfalo debido a su asociación positiva con el mismo tanto en regurgitados como en pellets.

Dado que el cormorán real está parasitado por *C. pelagicum*, corroborado por técnicas genético-moleculares, la posible vía de ingreso de esta especie sería *E. anchoita* y en menor medida, *Raneya brasiliensis*, aunque esta última posibilidad merece ser comprobada. *Pseudoterranova* sp. es muy probable que sea transmitida por medio de *T. argentina*, dada su alta significancia de asociación arrojada por ambas pruebas y en menor medida por *R. brasiliensis* y *R. eigenmanni*. Sin embargo el destino final de estas larvas será parasitar a mamíferos marinos que habitan en la zona y en los cuales se cumple el ciclo de vida. Lo mismo ocurre con *Anisakis* sp.

Una mayor prospección de pellets y regurgitados debería ser llevada a cabo, al igual que análisis genético-moleculares que ayuden a establecer las verdaderas asociaciones parasitarias entre los Anisakidae y los ítem presa de *Phalacrocorax* spp..

Sin dudas la expulsión de pellets por parte de *P. a. albiventer* es un mecanismo de depuración de nematodos Anisakidae en comparación con un ave no regurgitadora como *S. magellanicus*. Si bien las IM registradas en pellets son bajas, la periodicidad con que expulsan los mismos determina un decremento en la IM de *Contracaecum* en individuos adultos del cormorán real (IM= 15,70). Dado que el volumen estomacal de *P. a. albiventer* es del 60% del estómago de *S. magellanicus*, si el cormorán real no fuese un ave regurgitadora, la IM de *Contracaecum* sería de 81,38 nematodos. Esto significa que mediante el mecanismo de regurgitación, que corresponde a la alimentación de los pichones (regurgitados) y a la expulsión de pellets diaria, el ave eliminaría o provocaría un decremento de la IM en un 80,07% de los nematodos ingeridos por el ave a través de la ingesta. Estudios más prolongados con un monitoreo individual podrían arrojar resultados más precisos en cuanto a este mecanismo de depuración de nematodos.

## **Capítulo 4**

# **Especificidad hospedatoria en Anisakidae**

---

### **Introducción**

La especificidad hospedatoria es uno de los principales atributos que poseen los parásitos y se relaciona con el número de especies hospedadoras explotadas por una población parásita (Poulin et al., 2006), o bien con la restricción de los parásitos a ciertas especies hospedadoras (Rohde, 1993). El número de diferentes especies hospedadoras que una única especie parásita puede infectar es limitado y el máximo número de especies hospedadoras registradas para una especie parásita es menor a cien. Aún cuando un parásito pueda desarrollarse en un amplio rango de especies hospedadoras, lo hará generalmente mejor en una o dos especies que en el resto. De este modo, la mayoría de los parásitos están restringidos a una o unas pocas especies hospedadoras cercanamente emparentadas. Así, la posibilidad que una especie parásita colonice nuevos hospedadores depende del grado de especialización de la misma sobre su hospedador original. Consecuentemente, es común encontrar similitudes en cuanto a las especies parásitas presentes en hospedadores emparentados debido a que estos presentan similares características fisiológicas, inmunológicas, ecológicas y de distribución. Por lo tanto, en general la habilidad de una especie parásita de explotar diferentes especies hospedadoras depende de las relaciones filogenéticas que las especies hospedadoras tengan entre sí (Poulin et al., 2006).

Las especies parásitas que explotan una sola especie hospedadora se denominan específicas, mientras que las que lo hacen en diferentes especies hospedadoras y no relacionadas entre sí se refieren como generalistas (Poulin et al., 2006). En este marco conceptual, también los parásitos que utilizan dos hospedadores intermediarios muestran una menor especificidad por sus hospedadores definitivos que aquellas especies parásitas que tienen un sólo hospedador intermediario (Poulin, 1998). Rhode (1979) indicó que los monogéneos, parásitos con ciclos de vida monóxenos (con un único hospedador) son los que

exhiben el mayor grado de especificidad hospedatoria en peces marinos. El autor analizó 435 especies de monogeneos de los cuales el 78% estaba restringido a una única especie de pez, el 89% a un género, el 96% a una familia y el 98% a un orden. Los nematodos parásitos de peces marinos son mucho menos específicos. Polyanski (1966) demostró que de 12 especies de nematodos marinos sólo el 9,1% parasitaba a una especie de pez, aunque el 36,1% parasitaba a una familia de peces. Al parecer, los anisákidos parásitos de mamíferos marinos también serían poco específicos. *Pseudoterranova decipiens*, parásito de pinípedos principalmente, exhibiría una muy baja especificidad hospedatoria, puesto que se han registrado en 18 especies de focas como hospedadores definitivos (Myers, 1959; Hartwich, 1975; King, 1983). Sin embargo, existirían casos de estricta especificidad dentro de los Anisakidae, tal es el caso de *Contracaecum osculatum baicalensis* Moszgovoi & Ryzhykov, 1950, el cual parasitaría únicamente a *Phoca sibirica* (Phocidae), endémica del lago Baikal, Rusia (Mattiucci & Nascetti, 2008).

La especificidad hospedatoria puede variar en los diferentes estadios del ciclo de vida de una especie parásita, tal es el caso de los digeneos, las cuales son altamente específicos al estadio de miracidio, pero significativamente menos específicos con respecto a sus hospedadores vertebrados definitivos. Sin embargo, con los nematodos, la situación es diferente. Klimpel et al. (2004) postularon la baja especificidad que tienen las larvas de *Anisakis simplex* al parasitar varias especies de eufáusidos del Mar Noruego por lo cual quedaría asegurada la transmisión a las diferentes especies de cetáceos que se alimentan en la zona. Los mismos autores, al hacer una comparación del rango de hospedadores de *A. simplex* y *A. physeteris*, sugirieron que la especificidad hospedatoria de esta última especie es elevada ya que se restringe a cetáceos de las familias Kogiidae y Physeteridae (Klimpel et al., 2008).

Los parásitos que infectan un único taxón hospedador o taxa emparentados exhibirían una especificidad hospedatoria filogenética. Tal podría ser el caso de *Anisakis physeteris*, *A. brevispiculata* y *A. paggiae* que parasitan a los cetáceos *Physeter catodon*, *Kogia breviceps* y *K. sima* (Ziphiidae) respectivamente. Por el contrario, *A. simplex* sería muy poco específica, parasitando un amplio rango de familias de cetáceos emparentadas (Mattiucci & Nascetti, 2008).

Son muy escasos los estudios relacionados con la especificidad hospedatoria de parásitos en Argentina. Respecto de ellos en aves marinas, Diaz (2006) observó en el Pingüino de Magallanes la existencia de una sola especie generalista, *Cosmocephalus obvelatus*, (Nematoda, Acuariidae) caracterizada por poseer un amplio rango de hospedadores no

relacionados filogenéticamente, mientras que el resto de las especies halladas, *Tetrabothrius lutzi* (Cestoda, Tetrabothridae), *Cardiocephaloides physalis* (Digenea, Strigeidae) y *C. pelagicum* (Nematoda, Anisakidae) poseen una alta especificidad hospedatoria a nivel de género o de familias hospedadoras. Por otra parte, Diaz observó en el mismo trabajo que en la gaviota cocinera las especies *Odhneria odhneri*, *Parorchis acanthus* (Digenea) *Cosmocephalus obvelatus*, *Paracuaria adunca* (Nematoda) y *Profilicollis* sp. (Acanthocephala) son claramente generalistas en cuanto a su hospedador definitivo, mientras que el resto de las especies estudiadas (Dilepididae, *Tetrabothrius* sp., *Maritrema* spp., Gymnophallidae, *Brachylecithum* sp. y *H. escamosa*) son especialistas o no han sido aún suficientemente estudiadas como para poder asignarles un atributo de especificidad.

Robles (2008), recientemente, realizó un exhaustivo estudio de especificidad hospedatoria de nematodos Oxyuridae, Trichuridae y Capillariidae en roedores Akodontini de la Cuenca del Plata. La autora observó que uno de los géneros (*Syphacia*) era altamente específico restringiéndose principalmente a roedores Cricetidae, las especies del género *Trichuris* son menos específicas, distribuyéndose en 9 familias de roedores, y los Capillariidae exhiben la menor especificidad, parasitando tanto roedores (Muridae y Cricetidae) como insectívoros (Soricidae), probablemente en virtud de su ciclo heteroxeno. Sin duda el comportamiento de los hospedadores en el medio terrestre y las características del ciclo de vida de las especies de nematodos involucradas, distan de las particularidades que pueden observarse en el medio marino. Sin embargo, dado los escasos antecedentes acerca de la evaluación de la especificidad en nematodos parásitos en ambientes marinos, hacen que estos aportes resulten significativos desde lo metodológico y las interpretaciones que surjan al respecto.

Con la necesidad de conocer acerca de la especificidad de parásitos de aves en general y de los Anisakidae en particular, se plantearon los siguientes interrogantes:

\* ¿Diferentes especies de aves marinas piscívoras están parasitadas por las mismas especies de anisákidos?

\* ¿Distintas especies de anisákidos coexisten en una misma especie hospedadora?

\* ¿Cuál es el grado de especificidad hospedatoria de las diferentes especies del género *Contracaecum* que parasitan aves marinas en Península Valdés?

\* ¿Cuál es la especificidad hospedatoria de las diferentes especies del género *Contracaecum* que parasitan aves marinas sudamericanas?

Para responder a estos interrogantes se plantearon los siguientes objetivos:

- Conocer la diversidad de Anisakidae en sus hospedadores definitivos (aves marinas piscívoras) que habitan el área de Península Valdés.

- Estimar la especificidad hospedatoria de los anisákidos identificados en aves marinas en Península Valdés y en otras especies de aves marinas sudamericanas obtenidas desde la bibliografía.

### Materiales y Métodos

Con el fin de conocer la especificidad hospedatoria ( $S_{TD}$ ) de cada especie de nematodo encontrada, se calculó el índice de especificidad propuesto por Poulin & Mouillot (2005).

$$S_{TD}^* = \frac{\sum_{i < j} \omega_{ij} (p_i p_j)}{\sum_{i < j} (p_i p_j)}$$

Donde:

$i = 1, \dots, s$

$j = 1, \dots, s$

$\omega_{ij}$  = distancia taxonómica entre las especies hospedadoras  $i$  y  $j$  (número de pasos taxonómicos requeridos para alcanzar un punto común entre ambos).

$p_i p_j$  = prevalencias de los parásitos en las especies hospedadoras  $i$  y  $j$ , respectivamente.

En este índice se toma en cuenta la distancia taxonómica, que resulta de considerar todos los pares de especies hospedadoras posibles y la prevalencia parasitaria de cada especie parásita en el par. La distancia taxonómica es obtenida ubicando a las especies hospedadoras en un árbol jerárquico basado en la clasificación Linneana o considerando su filogenia, en los casos que se encuentre disponible. De esta forma, 1 paso es necesario para alcanzar un punto (nodo) común en la estructura taxonómica entre dos congéneres, 2 pasos para alcanzar el punto común de familia, etc.

Para estimar la especificidad hospedatoria de cada especie de nematodo estudiada se utilizó el índice de especificidad de Poulin & Mouillot (2003).

$$S_{TD} = 2 \frac{\sum_{i \neq j} \omega_{ij}}{s(s-1)}$$

Donde:

$i = 1, \dots, s$

$j = 1, \dots, s$

$s$  = número de hospedadores utilizados por el parásito.

$\omega_{ij}$  = distancia taxonómica entre las especies hospedadoras  $i$  y  $j$  (número de pasos taxonómicos requeridos para alcanzar un punto común entre ambos).

Este índice toma en cuenta únicamente la distancia taxonómica entre las especies hospedadoras. Debido a que el índice no puede ser computado para especies que parasitan a un único hospedador se asigna un valor de  $S_{TD} = 0$  (cero) a las especies que reflejan una estricta especificidad. Se usó la clasificación taxonómica de Del Hoyo et al. (1996) para ubicar a las especies hospedadoras en una estructura jerárquica.

Los datos ecológicos y filogenéticos influyen independientemente el valor de  $S_{TD}^*$  y  $S_{TD}$ . El valor de estos índices es inversamente proporcional a la especificidad. Un alto valor del índice muestra el número de especies hospedadoras más frecuentemente usadas por el parásito que no están filogenéticamente relacionadas.

Se estudió la distribución de los Anisakidae entre las diferentes especies hospedadoras para distinguir el nivel jerárquico superior a considerarse y obtener un mismo número de niveles taxonómicos. Se contemplaron 5 niveles jerárquicos, siendo el máximo valor de  $S_{TD}$  5 y el mínimo 0:

-Clase (5), Orden (4), Familia (3), Género (2) y Especie (1).

Este índice se calculó únicamente para 24 especies del género *Contracaecum* que parasitan aves y mamíferos neotropicales y antárticos (e.g. *T. melanophris*, *M. leonina*) (Tabla 24). En este sentido, sólo las especies *C. microcephalum* y *C. rudolphii* se distribuyen tanto en el nuevo como en el viejo mundo. No se tuvo en cuenta a aquellas especies que fueron descritas parasitando a peces, puesto que los anisákidos del género *Contracaecum* no desarrollan el estadio adulto en los mismos (e.g. *C. multipallatum*) (Deardoff & Overstreet, 1980). Se utilizaron las monografías de Yamaguti (1961), Hartwich (1964), Fagerholm

(1990) para recopilar esta información, además de las publicaciones referidas a este grupo de nematodos existentes en las bases de datos tales como Helminthological Abstracts, Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)), Global Biodiversity Information Facility ([www.gbif.org](http://www.gbif.org)), Integrated Taxonomic Information System ([www.itis.gov](http://www.itis.gov)) y la checklist del Museo de la Texas A&M University, EEUU:

<http://insects.tamu.edu/research/collection/hallan/Nematoda/Family/Anisakidae.txt>.

El índice  $S_{TD}$  puede ser computado utilizando el programa Builder 6.0 (Borland C++), disponible en <http://www.otago.ac.nz/zoology/downloads/poulin/TaxoBiodiv1.2>.

Contraeaecum spp.	Autor	Hospedador Tipo	Familia	Distribución
<i>C. antarcticum</i>	Johnston, 1938	<i>Pygoscelis adelia</i>	Spheniscidae	Antártida
<i>C. bioccai</i> *	Mattiucci et al., 2008	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Pelecanidae	Colombia
<i>C. caballeri</i>	Bravo Hollis, 1939	<i>Anhinga anhinga</i>	Anhingidae	Uruguay
<i>C. crenulatum</i>	Schuurman-Stekhoven, 1937	<i>Cancroma cochlearia</i>	Euryalimidae	Brasil
<i>C. chubutensis</i> *	Garbin et al., 2008	<i>Phalacrocorax a. atriceps</i>	Phalacrocoracidae	Argentina
<i>C. diomedea</i>	Linstow, 1888	<i>Diomedea brachyura</i>	Diomedidae	Antártida
<i>C. granulosum</i>	Schneider, 1866	<i>Fregata magnificens</i>	Fregatidae	Brasil
<i>C. heardi</i>	Johnston & Mawson, 1953	<i>Pygoscelis papua</i>	Spheniscidae	Antártida
<i>C. macronectidis</i>	Schuurman-Stekhoven, 1950	<i>Macronectes giganteus</i>	Procellariidae	Argentina
<i>C. microcephalum</i>	Rudolphi, 1809	<i>Ardeola ralloides</i>	Ardeidae	Argentina, Brasil
<i>C. mirounga</i> *	Nikolskiy, 1974	<i>Mirounga leonina</i>	Phocidae	Argentina
<i>C. multipapillatum</i>	Von Drasche, 1882	<i>Mycteria americana</i>	Ciconiidae	Argentina, Brasil
<i>Contraeaecum n. sp.1</i> *	Presente estudio	<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Phalacrocoracidae	Argentina, Chile
<i>Contraeaecum sp.2</i> *	Presente estudio	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Spheniscidae	Argentina
<i>C. ogmorhini</i>	Johnston & Mawson, 1941	<i>Hydrurga leptonyx</i>	Phocidae	Argentina
<i>C. osculatum</i>	Rudolphi, 1802	<i>Phoca vitulina</i>	Phocidae	Argentina
<i>C. ovale</i>	Linstow, 1907	<i>Podiceps cristatus</i>	Podicipedidae	Brasil
<i>C. pelagicum</i> *	Johnston & Mawson, 1942	<i>Thalassarche melanophris</i>	Diomedidae	Argentina, Brasil
<i>C. plagiaticium</i>	Lent & Freitas, 1948	<i>Nycticorax nycticorax</i>	Ardeidae	Uruguay
<i>C. radiatum</i>	Linstow, 1907	<i>Leptonychotes weddelli</i>	Phocidae	Antártida
<i>C. rudolphii</i>	Rudolphi, 1819	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Phalacrocoracidae	Brasil, Chile
<i>C. scotti</i>	Leiper & Atkinson, 1914	<i>Thalassarche melanophris</i>	Diomedidae	Antártida
<i>C. spheniscus</i>	Boero & Led, 1970	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Spheniscidae	Argentina
<i>C. travassosi</i>	Gutiérrez, 1943	<i>Phalacrocorax a. albiventer</i>	Phalacrocoracidae	Argentina

Tabla 24. Especies de *Contraeaecum* que parasitan a aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos. (\*) Especies estudiadas en el presente trabajo.

## Resultados

La Figura 43 muestra el listado y ordenamiento de las especies hospedadoras, aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos, que son parasitados por las diferentes especies del género *Contracaecum*. Los órdenes Pelecaniformes y Ciconiformes agrupan a la mayoría de las especies de aves parasitadas por *Contracaecum* spp., y dentro del primer orden, los Phalacrocoracidae reúnen el mayor rango de especies de aves parasitadas y los Ardeidae se ubican en el segundo orden.

Los valores obtenidos de especificidad hospedatoria ( $S_{TD}$  y  $S_{TD}^*$ ) calculados de acuerdo a Poulin & Mouillot (2003; 2005) se detallan en las Tablas 25 y 26, y las Figuras 44 y 45. De las especies de *Contracaecum* analizadas en el presente estudio, *C. chubutensis*, *Contracaecum* n.sp.1, *Contracaecum* sp.2 y *C. bioccai*, mostraron una estricta especificidad, puesto que parasitan una sola especie hospedadora ( $S_{TD}= 0$  y  $S_{TD}^*= 0$ ). En cambio, *C. pelagicum* exhibió una baja especificidad hospedatoria tendiente a parasitar diferentes órdenes de aves ( $S_{TD} = 3,83$  y  $S_{TD}^* = 3,85$ ). *Contracaecum mirounga*, mostró la especificidad más baja ( $S_{TD} = 4,00$  y  $S_{TD}^* = 5$ ) al parasitar a hospedadores de diferente orden y clase, siendo en consecuencia la especie más generalista. Con respecto a las otras especies que parasitan aves y mamíferos de Sudamérica no estudiadas en el presente trabajo, *C. travassosi* y *C. caballeroi* mostraron una baja especificidad que recae en el límite entre familia y orden ( $S_{TD} = 3,00$ ). *Contracaecum microcephalum* parasita especies de diferentes familias y órdenes, al igual que *C. multipapillatum*, *C. rudolphii* (Tablas 24, 25). *Contracaecum ogmorhini* tiene una tendencia a parasitar distintas familias dentro del mismo orden de acuerdo a su  $S_{TD}$  (2,00). *Contracaecum osculatum*, *C. radiatum*, *C. heardi*, *C. diomedae* y *C. ovale* son específicas, parasitan especies de diferente género dentro de una misma familia (Tablas 25, 26). *Contracaecum antarticum*, *C. crenulatum*, *C. granulosum*, *C. macronectidis*, *C. plagiaticium*, *C. scotti* y *C. spheniscus* fueron las especies más específicas, puesto que parasitan a una única especie hospedadora (Tablas 25, 26).

El número máximo de especies hospedadoras parasitadas por las diferentes especies de *Contracaecum* fue de 13 y el mínimo de 1. La distribución de frecuencias indica que de las 24 especies analizadas, 11 parasitaron sólo una especie hospedadora, 2 parasitaron a 2, 3 a 3, 3 a 4, y así sucesivamente (Fig. 46). Es decir que las especies del género *Contracaecum* que parasitan aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos tienen tendencia a parasitar sólo una especie hospedadora.

Sphenisciformes	Spheniscidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Spheniscus magellanicus</li> <li>Pygoscelis papua</li> <li>Pygoscelis adelia</li> <li>Eudyptes cristatus</li> <li>Eudyptes chrysolophus</li> <li>Aptenodytes patagonica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>Contraeaecum sp2</i></b></li> <li><b><i>C. mirounga</i></b></li> <li><b><i>C. spheniscus</i></b></li> <li><b><i>C. pelagicum</i></b></li> <li><b><i>C. heardi</i></b></li> <li><b><i>C. antarcticum</i></b></li> <li><b><i>C. heardi</i></b></li> <li><b><i>C. heardi</i></b></li> <li><b><i>C. heardi</i></b></li> </ul>			
			<ul style="list-style-type: none"> <li>Phalacrocorax a. atriceps</li> <li>Phalacrocorax a. albiventer</li> <li>Phalacrocorax brasilianus</li> <li>Phalacrocorax carbo</li> <li>Phalacrocorax aristotelis</li> <li>Phalacrocorax auritus</li> <li>Phalacrocorax capensis</li> <li>Phalacrocorax penicillatus</li> <li>Phalacrocorax verucosus</li> <li>Phalacrocorax africanus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. chubutensis</i></b></li> <li><b><i>C. travassosi</i></b></li> <li><b><i>C. pelagicum</i></b></li> <li><b><i>C. travassosi</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>Contraeaecum n. sp.1</i></b></li> <li><b><i>C. caballeroi</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> </ul>		
Pelecaniformes	Phalacrocoracidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Phalacrocorax a. atriceps</li> <li>Phalacrocorax a. albiventer</li> <li>Phalacrocorax brasilianus</li> <li>Phalacrocorax carbo</li> <li>Phalacrocorax aristotelis</li> <li>Phalacrocorax auritus</li> <li>Phalacrocorax capensis</li> <li>Phalacrocorax penicillatus</li> <li>Phalacrocorax verucosus</li> <li>Phalacrocorax africanus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. chubutensis</i></b></li> <li><b><i>C. travassosi</i></b></li> <li><b><i>C. pelagicum</i></b></li> <li><b><i>C. travassosi</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>Contraeaecum n. sp.1</i></b></li> <li><b><i>C. caballeroi</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. rudolphii</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> </ul>			
			Pelecanidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pelecanus onocrotalus</li> <li>Pelecanus erythrorhynchus</li> <li>Pelecanus occidentalis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> <li><b><i>C. bioccai</i></b></li> </ul>	
				Anhingidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Anhinga anhinga</li> <li>Anhinga anhinga</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. caballeroi</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> </ul>
				Fregatidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fregata magnificens</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. granulosum</i></b></li> </ul>
			Sulidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sula leucogaster</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. pelagicum</i></b></li> </ul>	
Ciconiiformes	Ardeidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ardea alba</li> <li>Ardea cinerea</li> <li>Ardea purpurea</li> <li>Ardea herodias</li> <li>Ardeola grayii</li> <li>Ardeola ralloides</li> <li>Egretta garzetta</li> <li>Nycticorax nycticorax</li> <li>Nycticorax caledonicus</li> <li>Botaurus stellaris</li> <li>Butorides virescens</li> <li>Egretta thula</li> <li>Bobulcus ibis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. plagiaticium</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. microcephalum</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> </ul>			
			Ciconiidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mycteria americana</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b><i>C. multipapillatum</i></b></li> </ul>	

**Figura 43.** Lista de los taxa (aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos) que albergan *Contraeaecum* spp.

Procellariiformes	Diomedeidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Thalassarche melanophris</li> <li>Thalassarche exulans</li> <li>Thalassarche nigripes</li> <li>Phoebetria palpebrata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>C. pelagicum</i></li> <li><i>C. scotti</i></li> <li><i>C. pelagicum</i></li> <li><i>C. diomedae</i></li> <li><i>C. diomedae</i></li> <li><i>C. diomedae</i></li> </ul>
	Procellariidae	Macronectes giganteus	<i>C. macronectidis</i>
Podicipediformes	Podicipedidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Podiceps cristatus</li> <li>Podiceps griseigena</li> <li>Podiceps auritus</li> <li>Podiceps ruficollis</li> <li>Podiceps nigricollis</li> <li>Podilymbus podiceps</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>C. ovale</i></li> <li><i>C. ovale</i></li> <li><i>C. ovale</i></li> <li><i>C. ovale</i></li> <li><i>C. ovale</i></li> <li><i>C. ovale</i></li> </ul>
Anseriformes	Anatidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mergus merganser</li> <li>Mergus serrator</li> <li>Mergus merganser</li> <li>Bucephala clangula</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>C. rudolphii</i></li> <li><i>C. rudolphii</i></li> <li><i>C. rudolphii</i></li> <li><i>C. rudolphii</i></li> </ul>
Falconiformes	Accipitridae	Pandion haliaetus	<i>C. travassosi</i>
Passeriformes	Euryalmyidae	Cancroma cochlearia	<i>C. crenulatum</i>
Carnivora	Otariidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Arctocephalus australis</li> <li>Arctocephalus tropicalis</li> <li>Eumetopias jubatus</li> <li>Zalophus californianus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> </ul>
	Phocidae	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mirounga leonina</li> <li>Hidrurga leptonyx</li> <li>Ommatophoca rossi</li> <li>Leptonychotes weddelli</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> <li><i>C. mirounga</i></li> <li><i>C. osculatum</i></li> <li><i>C. mirounga</i></li> <li><i>C. radiatum</i></li> <li><i>C. ogmorhini (=corderoi)</i></li> <li><i>C. radiatum</i></li> <li><i>C. radiatum</i></li> </ul>

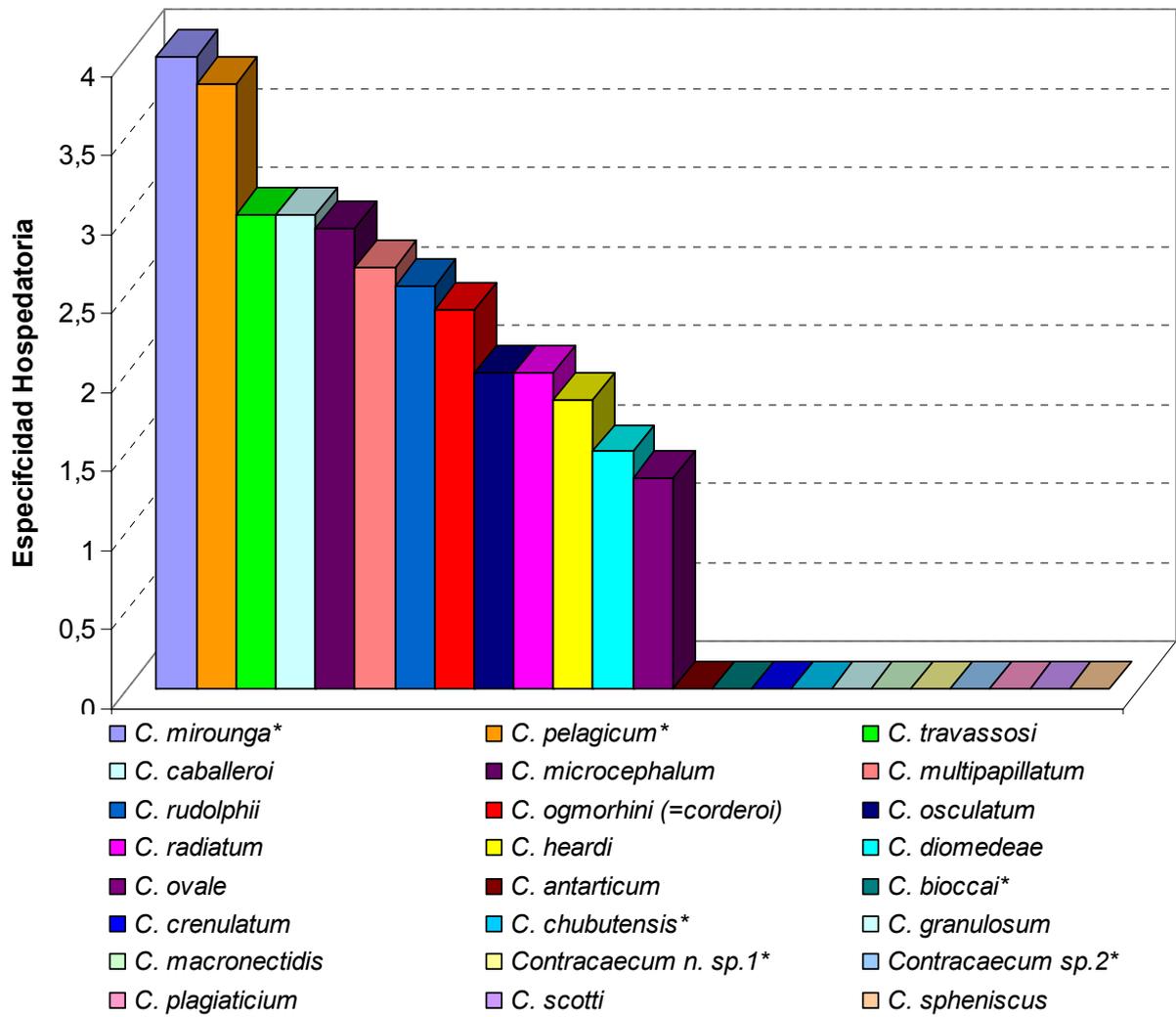
**Figura 43 continuación.** Lista de los taxa (aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos) que albergan *Contraecum* spp.

<b>Contracaecum spp.</b>	<b>S</b>	<b><math>\Sigma\omega_{ij}</math></b>	<b>S<sub>TD</sub></b>
<i>C. mirounga*</i>	3	12	4
<i>C. pelagicum*</i>	4	23	3,83
<i>C. travassosi</i>	3	9	3
<i>C. caballeroi</i>	2	3	3
<i>C. microcephalum</i>	13	227	2,91
<i>C. multipapillatum</i>	7	56	2,67
<i>C. rudolphii</i>	9	92	2,55
<i>C. ogmorhini (=corderoi)</i>	6	36	2,4
<i>C. osculatum</i>	4	12	2
<i>C. radiatum</i>	3	6	2
<i>C. heardi</i>	4	11	1,83
<i>C. diomedea</i>	4	9	1,5
<i>C. ovale</i>	6	20	1,33
<i>C. antarticum</i>	1	0	0
<i>C. bioccai*</i>	1	0	0
<i>C. crenulatum</i>	1	0	0
<i>C. chubutensis*</i>	1	0	0
<i>C. granulosum</i>	1	0	0
<i>C. macronectidis</i>	1	0	0
<i>Contracaecum sp. n.1*</i>	1	0	0
<i>Contracaecum sp.2*</i>	1	0	0
<i>C. plagiaticium</i>	1	0	0
<i>C. scotti</i>	1	0	0
<i>C. spheniscus</i>	1	0	0

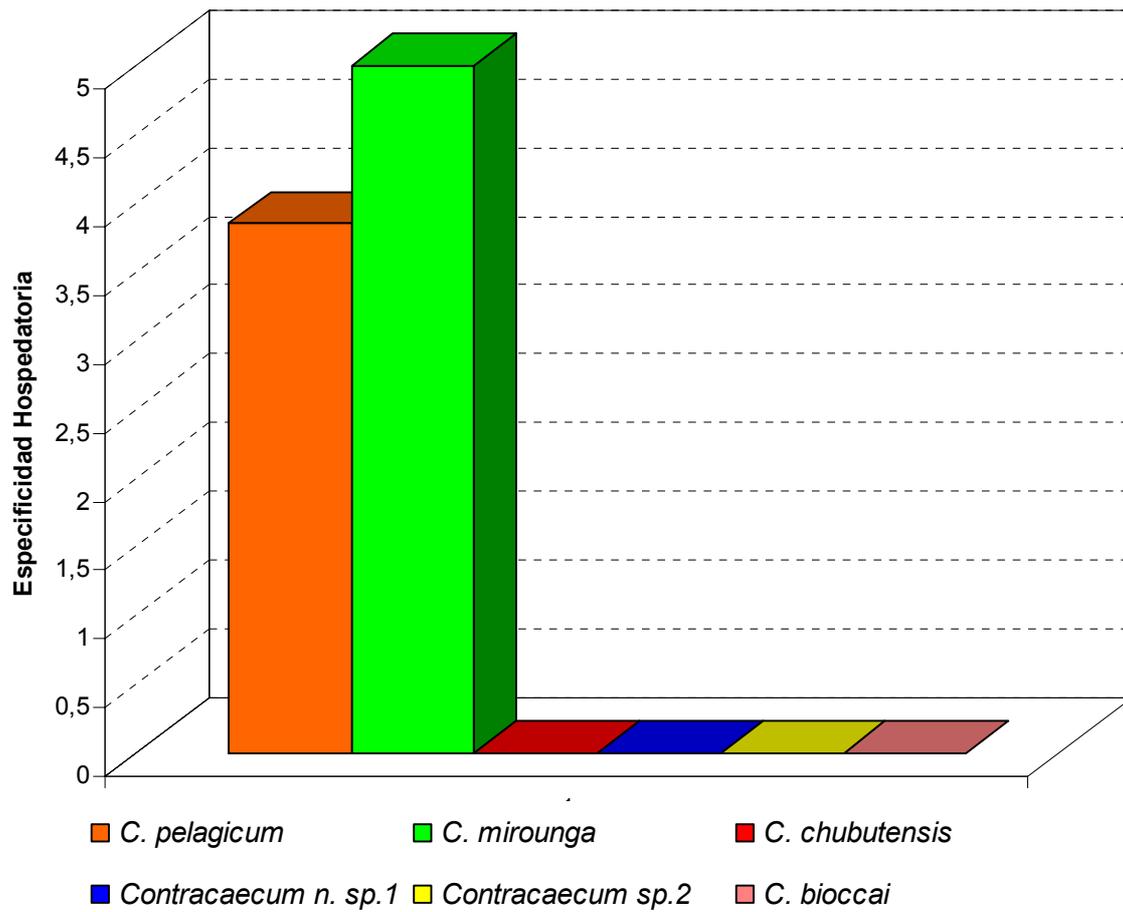
**Tabla 25.** Valores de S<sub>TD</sub> de las especies de *Contracaecum* que parasitan aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos. Referencias: S= número de especies parasitadas,  $\Sigma\omega_{ij}$ = sumatoria de la distancia taxonómica entre las diferentes especies hospedadoras, (\*) especies estudiadas en el presente trabajo.

<i>Contracecum</i> spp.	Par de hospedadores	$\omega$	$p_i p_j$	$\omega(p_i p_j)$	$S_{TD}^*$
<i>C. pelagicum</i>	<i>S. magellanicus</i> - <i>T. melanophris</i>	4	0,76	3,04	3,85
	<i>S. magellanicus</i> - <i>P. albiventer</i>	4	0,49	1,96	
	<i>S. magellanicus</i> - <i>S. leucogaster</i>	4	0,76	3,04	
	<i>T. melanophris</i> - <i>P. albiventer</i>	4	0,64	2,56	
	<i>T. melanophris</i> - <i>S. leucogaster</i>	4	1	4	
	<i>P. albiventer</i> - <i>S. leucogaster</i>	3	0,64	1,92	
	Total	23	4,29	16,52	
<i>C. mirounga</i>	<i>S. magellanicus</i> - <i>M. leonina</i>	5	0,009	0,045	5
	Total	5	0,009	0,045	
<i>C. chubutensis</i>	-	-	-	-	0
<i>Contracecum</i> n. sp.1	-	-	-	-	0
<i>Contracecum</i> sp.2	-	-	-	-	0
<i>C. bioccai</i>	-	-	-	-	0

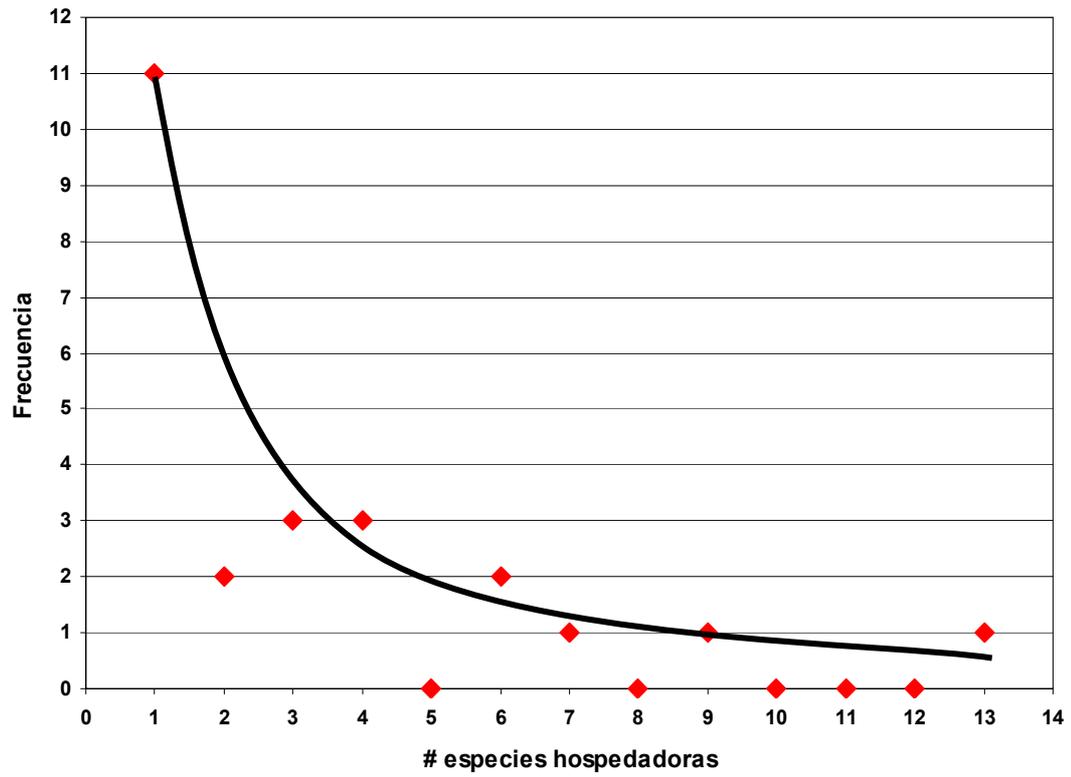
**Tabla 26.** Valores de  $S_{TD}^*$  de las especies de *Contracecum* que parasitan aves de Península Valdés. Referencias: S= número de especies parasitadas,  $\omega$ = distancia taxonómica entre especies hospedadoras,  $p_i p_j$ = producto de prevalencias de especies hospedadoras.



**Figura 44.** Especificidad hospedatoria ( $S_{TD}$ ) de las especies de *Contraecum* que parasitan aves y mamíferos marinos neotropicales y antárticos. Referencias: (\*) especies objeto de estudio del presente trabajo.



**Figura 45.** Especificidad hospedatoria ( $S_{TD}^*$ ) de las especies de *Contracaecum* objeto de estudio del presente trabajo.



**Figura 46.** Distribución de frecuencias del número de *Contracaecum* spp. (24) y el número de especies hospedadoras que parasitan.

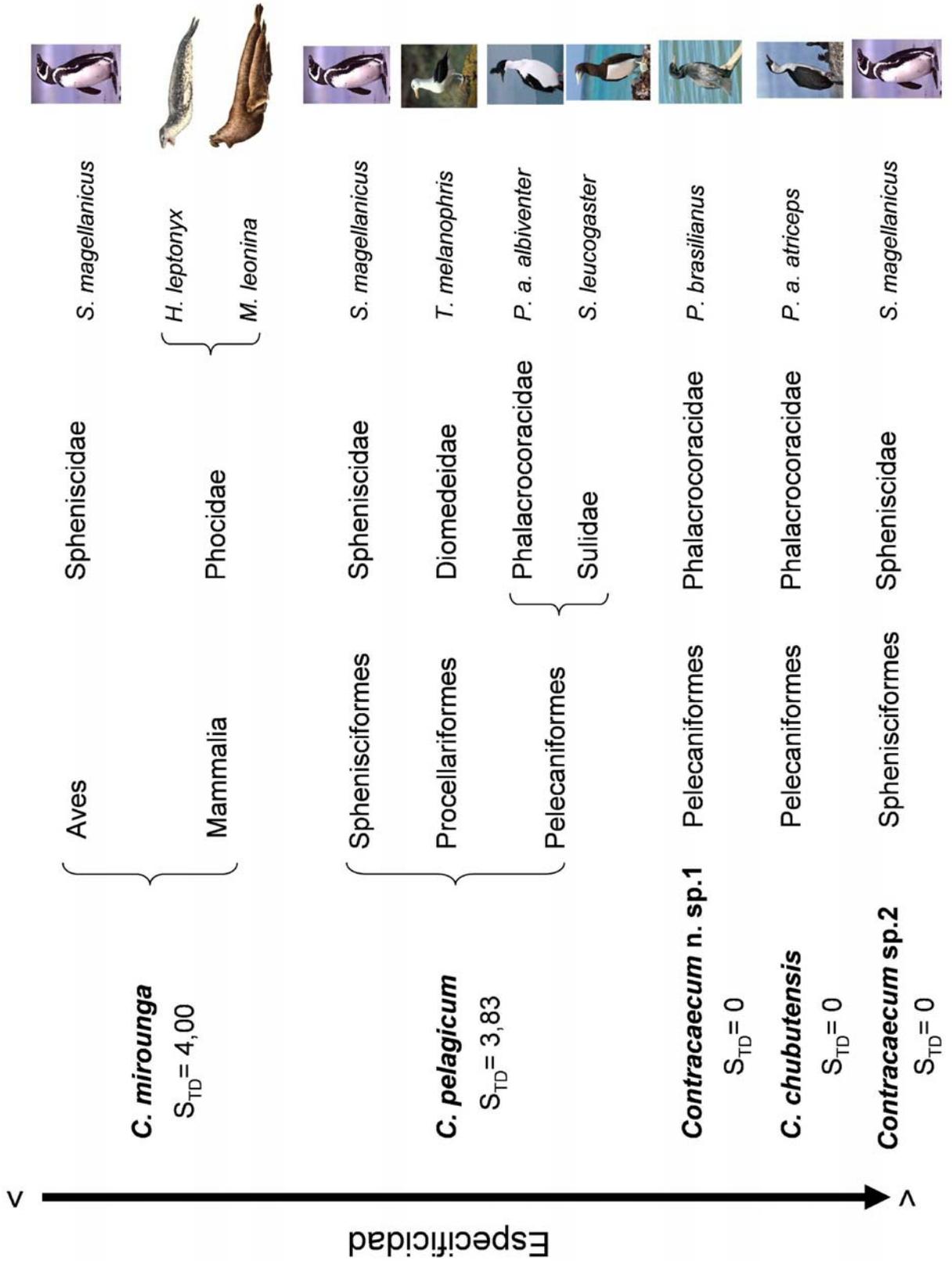


Figura 47. Representación de la especificidad ( $S_{TD}$ ) en orden decreciente de las especies de *Contracaecum* objeto de estudio y los taxa que parasitan.

## Discusión

El estudio realizado permitió evaluar el grado de especificidad de las especies halladas en el presente trabajo y aquellas de distribución neotropical y antártica registradas hasta el presente. *Contracaecum mirounga* nunca había sido descrita en un ave y a partir de este hallazgo se convierte en una especie generalista. Ello se fundamenta en el hecho que el elefante marino comparte algunos ítems presa (e.g. *Loligo* sp., *Ilex* sp.) y el área de distribución con *S. magellanicus* en las costas de Península Valdés. De cualquier forma, *C. mirounga* es una especie que parasita además a especies de fócidos (*Hidrurga leptonyx* y *Mirounga leonina*). Habría que dilucidar si el hallazgo en *S. magellanicus* es accidental y si el pingüino de Magallanes es un hospedador definitivo adecuado para *C. mirounga*, dado que la especie fue hallada sólo en un adulto de *S. magellanicus* de Península Valdés.

*Contracaecum pelagicum* también mostró baja especificidad con ambos índices calculados, siendo específica a nivel de órdenes en las aves: Sphenisciformes (*S. magellanicus*), Procellariiformes (*T. melanophris*) y Pelecaniformes (*P. a. albiventer*) de Península Valdés. Sin embargo existe incertidumbre con respecto al parasitismo de *C. pelagicum* en *Sula leucogaster*, debido a la breve descripción taxonómica realizada por Silva et al. (2005). Si se comprobara que la especie de *Contracaecum* que parasita a *Sula leucogaster* fuera *C. pelagicum*, su especificidad sería aún menor al incorporarse una familia más del orden Pelecaniformes (Sulidae).

La especificidad de *C. caballeroi* es dudosa debido a que el valor de  $S_{TD}$  cae en el límite familia-orden y parasita a dos especies pertenecientes a dos familias diferentes dentro del orden Pelecaniformes. Sin duda, el análisis de un mayor número de especies de Phalacrocoracidae permitirá conocer mejor la distribución de *C. caballeroi* y determinar un valor de  $S_{TD}$  más acotado.

El alto valor de  $S_{TD}$  (3,00) para *C. travassosi* se corresponde con el hecho de hallarse parasitando a dos órdenes muy diferentes de aves, Pelecaniformes (*P. a. albiventer* y *P. brasiliensis*) y Falconiformes (*P. haliaetus*).

La baja especificidad de *C. microcephalum* ( $S_{TD} = 2,91$ ) se relaciona con el hecho que este anisákido parasita a 13 especies de aves pertenecientes a tres familias de tres órdenes diferentes, la mayoría Ciconiiformes. Debería esperarse una especificidad mucho menor si se tiene en cuenta que es la especie con mayor espectro hospedatorio, sin embargo el valor de  $S_{TD}$  no supera el límite familia-orden. Estos datos concuerdan con el carácter cosmopolita

que presenta la especie según la cantidad de registros hallados hasta el momento, pertenecientes a aves tanto del hemisferio sur como del hemisferio norte.

*Contracaecum multipapillatum* mostró una especificidad bastante alta ( $S_{TD} = 2,67$ ) y, al igual que *C. microcephallum*, es mayoritariamente parásita de Ciconiiformes, aunque su espectro hospedatorio es menor.

*Contracaecum rudolphii* es la segunda especie de baja especificidad ( $S_{TD} = 2,55$ ) en cuanto a la cantidad de especies hospedadoras parasitadas y posiblemente la más cosmopolita, parasitando aves marinas en todo el planeta, aunque algunas descripciones morfológicas son algo pobres o escuetas. Sin embargo, su  $S_{TD}$  es bastante menor al de *C. microcephalum* debido a que todos los hospedadores se distribuyen en sólo dos familias de dos órdenes diferentes, Pelecaniformes y Anseriformes.

El valor de  $S_{TD}$  (2,40) para *C. ogmorhini* tendría fundamento puesto que parasita a fócidos y otáridos al igual que *C. mirounga*, aunque *C. ogmorhini* es parásita estricta de pinnípedos de ambos hemisferios. Más específico aún lo es *C. osculatum* y *C. radiatum*, que parasitan únicamente a fócidos del hemisferio norte pertenecientes a tres géneros diferentes, reflejado en el  $S_{TD}$  (2,00) que cae justo en el límite género-familia. De la misma forma, *C. heardi* parasita a tres géneros diferentes de Spheniscidae antárticos, lo cual queda evidenciado en su índice de especificidad ( $S_{TD} = 1,83$ ). *Contracaecum diomedae* lo hace en dos géneros diferentes de Diomedidae también antárticos, reflejado en su  $S_{TD}$  (1,50).

*Contracaecum ovale* fue altamente específico ( $S_{TD} = 1,33$ ) para dos géneros de Podicipedidae, principalmente *Podiceps* spp.

De las especies estrictamente específicas ( $S_{TD} = 0$  y  $S_{TD*} = 0$ ) analizadas en el presente estudio, *Contracaecum* n. sp.1 corroboraría el valor de  $S_{TD}$  debido a que es una especie que parasita únicamente a *P. brasiliensis* de tres sitios diferentes de Sudamérica: laguna Santa Elena, VII Región, Chile, Península Valdés y Bahía Blanca en Argentina. Análisis morfológicos y moleculares respaldan esta afirmación (ver Capítulo 1 y 2).

*Contracaecum chubutensis* es una especie descrita recientemente, su estricta especificidad podrá ser confirmada en la medida que se realicen una mayor cantidad de prospecciones de diferentes especies del género *Phalacrocorax* y otras aves marinas que habitan el área de Península Valdés. Lo mismo ocurre con *C. bioccai*, parásito de Pelecanidae sudamericanos (*Pelecanus occidentalis*).

La especificidad de *Contracaecum* sp.2 no pudo ser corroborada hasta el momento puesto que proviene de un único ejemplar de *S. magellanicus* del Zoológico de La Plata, cuya

procedencia se supone de algún sitio de la costa bonaerense. La descripción fue realizada en base a un único ejemplar macho y tres hembras. Lo mismo ocurre con *C. spheniscus*, descrito a partir de un único espécimen macho hallado en un pingüino del Zoológico de La Plata, que se supone capturado en la costa bonaerense. Hasta el momento estas especies no han podido ser encontradas en los pingüinos analizados en el presente trabajo (n= 161), los cuales han sido colectados en diferentes sitios de muestreo de la costa atlántica argentina.

La estricta especificidad atribuida a las especies *C. antarcticum*, *C. crenulatum*, *C. granulosum*, *C. macronectidis*, *C. plagiaticium* y *C. scotti* se debe a que han sido descritas parasitando un sólo hospedador, no existiendo otros registros para las mismas.

Estudios futuros que abarquen un espectro más amplio de aves marinas que habitan la Península Valdés y otros sitios costeros del Mar Argentino, ayudarán a comprender, en un sentido más preciso, la especificidad hospedatoria de nematodos Anisakidae.

---

## Discusión y Perspectivas

---

El presente trabajo mostró el estudio descriptivo y el estatus taxonómico del género *Contracaecum* en tres órdenes de aves marinas (Sphenisciformes, Pelecaniformes y Procellariiformes) de Península Valdés y otros sitios costeros del Mar Argentino.

De las 79 especies de *Contracaecum* conocidas hasta el momento, y consideradas válidas, solo se pudieron identificar dos de ellas, *Contracaecum pelagicum* y *C. mirounga*, ambas parásitas del pingüino de Magallanes. La primera especie ha sido confirmada morfológica y molecularmente y fue hallada en casi todos los ejemplares de *Spheniscus magellanicus*, *Thalassarche melanophris* y *Phalacrocorax a. albiventer* prospectados. Genéticamente se separa como un taxón bien diferenciado y se emparenta estrechamente con *C. variegatum*, quién además de parasitar Alciidae boreales parasita Spheniscidae sudafricanos. Resulta raro el hallazgo de *C. mirounga* en *S. magellanicus*, lo cual se podría interpretar como un caso de parasitismo accidental o una colonización reciente dada la bajísima prevalencia observada, puesto que esta es una especie que principalmente parasita a fócidos.

A través del análisis morfométrico, genético-molecular y de revisión bibliográfica realizado en el presente trabajo, se propone diferenciar a los nematodos del género *Contracaecum* que parasitan aves marinas en dos grandes grupos. El “morfo pelagicum”, caracterizado por tener un patrón de distribución de 7 papilas postcloacales, conformado por 2 pares paracloacales (o 1 par doble), 2 pares subventrales, 2 sublaterales y un par de fásmidos (ver Capítulo 1). Dentro de este grupo estarían incluidos *Contracaecum pelagicum*, *C. chubutensis*, y *C. bioccai* del presente estudio, y las especies neotropicales y antárticas: *C. antarticum*, *C. caballeroi*, *C. crenulatum*, *C. diomedae*, *C. granulosum*, *C. heardi*, *C. macronectidis*, *C. microcephalum*, *C. ogmorhini*, *C. ovale*, *C. plagiaticium*, *C. scotti* y *C. spheniscus*. *Contracaecum ogmorhini* es la única excepción puesto que parasita a pinípedos. Contenido en este grupo habría un subgrupo “morfo travassosi”, el cual es específico, en su mayoría, de Palacrocoracidae, de acuerdo a los análisis genético-moleculares realizados hasta el momento (Mattiucci et al., 2008; Garbin et al., en prensa).

Morfológicamente se separan de sus otros congéneres, en general, por tener labios sin hendiduras, interlabios con una pequeña o ausente bifurcación, espículas más largas y constricciones cuticulares caudales. En el estarían incluidos y *C. travassosi*, *Contracaecum* n. sp.1, *C. septentrionale* y el complejo *Contracaecum rudolphii* A, B y C.

El “morfo multipapilado” se caracteriza por poseer dos hileras dobles de 12-13 papilas precloacales y 10-11 pares de papilas postcloacales: 1 par doble paracloacal, 5-6 pares adacloacales, 3 pares subventrales, 1 par sublateral y 1 par de fásmidos. Este patrón de distribución está conformado, en su mayoría, por las especies del género que parasitan a mamíferos marinos boreales y australes, tales como *C. mirounga*, que ahora se observó en un ave austral, *S. magellanicus*. También se incluyen *C. osculatum*, *C. radiatum* y la única excepción correspondería a *C. multipapillatum*, encontrada en *Ardea* (= *Egretta*) *alba* de la laguna Mar Chiquita, Buenos Aires (Navone et al., 2000). Hasta el presente, este es el único registro de una especie de *Contracaecum* “morfo multipapilado” parasitando a aves dulceacuícolas. Asimismo, el único registro de este tipo de morfo en mamíferos marinos de la costa del Mar Argentino corresponde a *C. mirounga* y *C. osculatum*, ambos provenientes de *Mirounga leonina*, en infección mixta con *C. oghmorini* (Mattiucci et al., 2003).

El hallazgo de *Contracaecum* sp.2 en el pingüino de Magallanes no se corresponde con los morfos sugeridos, dado que el patrón de distribución de papilas postcloacales no ha sido descrito hasta el momento en ninguna especie de *Contracaecum*, al igual que la forma de los labios e interlabios. El mismo está conformado por 3 pares de papilas paracloacales, 3 pares subventrales, 2 pares sublaterales y 1 par de fásmidos. Futuros estudios permitirán confirmar si constituye un morfo separado o no.

Los estudios de especificidad hospedatoria revelaron que los nematodos Anisakidae del género *Contracaecum* son, en cierta medida, específicos, al menos para aquellos que tienen una distribución neotropical y antártica, excepto el caso de *C. mirounga* que parasitaría tanto a aves como mamíferos marinos. La mayor parte de las especies de *Contracaecum* neotropicales y antárticas parasitan a un único hospedador ( $11/24 \approx 46\%$ ), mostrando una estricta especificidad; algunas pocas lo hacen con 2, 3 y 4 especies hospedadoras, y solo *C. rudolphii* y *C. microcephalum* lo hacen con 9 y 13 especies respectivamente. Estas últimas 2 especies parasitan aves de todo el mundo, no obstante, los cálculos de especificidad parasitaria no las ubica entre las especies más generalistas. Luego de *C. mirounga*, la menos específica entre las neotropicales resultó ser *C. pelagicum*, porque si bien es una especie que no posee un amplio espectro de hospedadores, parasita a tres órdenes de aves, lo cual disminuye significativamente su especificidad.

Futuros estudios en los cuales se incluyan la totalidad de las especies de *Contracaecum*, mostrarán un panorama más certero respecto a la especificidad hospedatoria de este género de Anisakidae en el mundo.

La confirmación de que la anchoita es el hospedador intermediario/paraténico de larvas L3 de *C. pelagicum* mediante pruebas de genética molecular resulta un aporte novedoso, ya que los estudios morfológicos convencionales resultan insuficientes en este sentido. Consecuentemente estos estudios sobre larvas permitieron determinar, que ítems presa están asociados a la transmisión de estadios infectivos de *C. pelagicum* en la Península Valdés.

Por otra parte, a pesar que los estudios de desarrollo larvario no han sido reproducidos experimentalmente, se ve una clara tendencia de la especie *C. pelagicum* a alcanzar la madurez sexual a partir de los 60 días de vida de los pichones, con las máximas intensidades parasitarias a partir del cuarto mes.

Reproducir el ciclo de vida permitirá determinar cuál o cuáles son los hospedadores intermediarios invertebrados de la especie; ó si existe un hospedador paraténico secundario, como el caso de *M. hubbsi*.

Otro aspecto interesante para estudiar sería el patológico, dado que altas intensidades parasitarias podrían causar la muerte de los pichones. En este sentido, en una de las campañas de muestreo, se observó un individuo pichón agonizante. El individuo murió al día siguiente y luego de la necropsia se observó una elevada intensidad parasitaria (n= 1471 individuos entre larvas y adultos). Sin embargo no pudo determinarse si la muerte se debió o no a la alta intensidad parasitaria observada.

Por otra parte los estudios de asociación entre ítems presa en el cormorán real postularon a *Raneya brasiliensis* como posible hospedador paraténico de larvas L3 de *Contracaecum* spp. No obstante, recientes estudios sobre la helmintofauna de este pez proveniente del golfo San Jorge, determinaron la ausencia de *Contracaecum* y la presencia de otros anisákidos (Vales et al., 2009). A pesar que *Merluccius hubbsi*, *Genypterus blacodes*, y *Percophis* sp. son hospedadores de larvas L3 de *Contracaecum* spp. e ítems presa de *P. a. albiventer*, los valores obtenidos en los índices de asociación no fueron significativos. Nuevas prospecciones sobre éstos y otros peces en el área de Península Valdés debieran realizarse y corroborar si hospedan larvas L3 de *Contracaecum* spp. mediante pruebas de genética molecular, y determinar así su rol como hospedadores intermediarios y/o paténicos en la transmisión.

Otras evaluaciones de asociación parasitaria realizadas en pellets como en regurgitados destacaron que las larvas L3 de *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Terranova* se asociaron con los

ítems presa de *P. a. albiventer* (*Raneya brasiliensis*, *Triathalassothia argentina*, *Ribeiroclinus eigenmanni*, *Agonopsis chiloensis*, *Tegula* sp., *Campinolotus* sp., *Eunice* sp.), pero no lo parasitan, por lo cual podría inferirse que estas larvas son transferidas a mamíferos marinos que habitan la Península Valdés. Otros autores han estudiado la dieta de pinípedos y cetáceos que habitan el Mar Argentino, y mostraron algunos de estos ítems están presentes en su dieta (Crespo, 2002; Eder, 2003, Berón-Vera et al., 2007).

---

## Conclusiones

---

- Se identificaron cinco especies del género *Contracaecum* que parasitan a *Spheniscus magellanicus*, *Phalacrocorax a. albiventer*, *Phalacrocorax brasilianus*, *Phalacrocorax magellanicus* y *Thalassarche melanophris*, en Península Valdés, Chubut y *S. magellanicus*, *Phalacrocorax a. atriceps* y *P. brasilianus* de otros sitios costeros del Mar Argentino.
- Complementariamente se identificaron una especie del género *Contracaecum* en *P. brasilianus* de Chile y otra en *Pelecanus occidentalis* de Colombia.
- Tres de las especies identificadas resultaron ser nuevas: *Contracaecum chubutensis*, parásita de *P. a. atriceps* de Bahía Bustamante (Chubut), y *Contracaecum* n. sp.1, parásita de *P. magellanicus* de Punta Loma, Chubut y *P. brasilianus* de Península Valdés (Chubut), Bahía Blanca (Bs. As.) y VIII Región (Chile); y *Contracaecum bioccai*, parásita de *Pelecanus occidentalis* de Colombia.
- Se redescubrieron dos especies: *Contracaecum pelagicum*, parásita de *S. magellanicus*, *T. melanophris* y *P. a. albiventer*, y *Contracaecum mirounga*, parásita de *S. magellanicus*.
- *Contracaecum chubutensis* en *P. a. atriceps* representa el primer registro de un Anisakidae para la especie hospedadora en Sudamérica.
- *Contracaecum* n. sp.1 en *P. brasilianus* y *P. magellanicus* representa una nueva especie que comparten dos especies de Phalacrocoracidae.
- *Contracaecum* sp.2, parásita de *S. magellanicus* representaría un nuevo taxón de Anisakidae.

- 
- *Contracaecum mirounga* en *S. magellanicus* representa el primer registro de este Anisakidae en una especie hospedadora ave.
  - Punta León, Bahía Bustamante (Chubut) y Cabo Vírgenes (Santa Cruz) representan nuevos registros geográficos para la familia Anisakidae.
  - *Spheniscus magellanicus* fue el hospedador estudiado que presentó una mayor diversidad de especies de Anisakidae (*C. pelagicum*, *C. mirounga* y *Contracaecum* sp.2).
  - Todas las especies de Phalacrocoracidae presentaron una sola especie de Anisakidae: *P. a. atriceps* (*C. chubutensis*), *P. a. albiventer* (*C. pelagicum*), *P. brasilianus* y *P. magellanicus* (*Contracaecum* n. sp.1). Lo mismo ocurrió con *Thalassarche melanophris* (sólo *C. pelagicum*).
  - *Contracaecum pelagicum* en *P. a. albiventer* y *T. melanophris* representan nuevos registros hospedatorios.
  - *Engraulis anchoita* es una especie hospedadora intermediaria de L3 de *Contracaecum pelagicum*, responsable de la transmisión a *S. magellanicus* y *P. a. albiventer*.
  - Los estudios de desarrollo e intensidad media diferencial en el tracto digestivo de pichones de *S. magellanicus* demostraron que los adultos de *C. pelagicum* aparecen recién al tercer mes de vida del ave, incrementando notablemente las intensidades de adultos inmaduros y maduros al cuarto mes, final de la etapa de cría.
  - Los cálculos de asociación parasitaria demostraron que *C. pelagicum* se asocia con *E. anchoita* y anfípodos Gammaridae en regurgitados; en pellets lo hace con *R. brasiliensis* y *E. anchoita*, y los sugiere como posible vía de ingreso de larvas L3 a *P. a. albiventer*.
  - La dieta del cormorán real, analizada a través de regurgitados, estuvo compuesta por un 75,73% de peces, un 17,47% de crustáceos y un 6,80% de moluscos. En cambio en
-

---

pellets se observó un 67,04% de peces, un 21,21% de moluscos, un 6,06% de poliquetos y un 5,30% de crustáceos.

- *Pseudoterranova* sp. se asoció con *Ribeiroclinus eigenmanni* en regurgitados y con *Raneya brasiliensis*, *Triathalassothia argentina*, una especie de gastrópodo y otra de cefalópodo, en pellets.
- *Anisakis* sp. se asoció con *Tegula* sp. y *Campinolotus* sp. en regurgitados, y con los peces *R. brasiliensis*, *T. argentina* y *Agonopsis chiloensis* en pellets.
- *Terranova* sp. se asoció en pellets únicamente con poliquetos del género *Eunice*.
- *Contracaecum pelagicum* mostró una significativa cercanía genética con *C. variegatum*, especie poco específica que parasita a individuos pertenecientes a varios ordenes de aves y más distante de *C. bioccai*, parásito de Pelecaniidae neotropicales (*Pelecanus occidentalis*).
- *Contracaecum* n. sp.1 en *P. brasilianus* estuvo estrechamente emparentada con el complejo *Contracaecum rudolphii* A, B y C, y *Contracaecum septentrionale*, especies que parasitan a Phalacrocoracidae boreales, exceptuando a *C. rudolphii* C de distribución austral. Este hallazgo corroboraría el resultado observado de especificidad estricta para *Contracaecum* n. sp. 1.
- Los análisis de especificidad hospedatoria indicaron que *C. mirounga* es la especie más generalista, siendo específica a nivel de clase; *C. pelagicum* fue específica a nivel de orden de aves.
- *Contracaecum chubutensis*, *C. bioccai* y *Contracaecum* n. sp.1 fueron estrictamente específicos.
- Entre las otras especies de distribución neotropical y antártica, *C. travassosi* y *C. caballeroi* se comportaron como las más generalistas, siendo específicas a nivel de orden de aves. *Contracaecum microcephalum*, *C. multipapillatum* y *C. rudolphii* fueron específicas, aunque siempre a nivel de orden.

- *Contracaecum ogmorhini* resultó ser específico a nivel de familia de pinnípedos en ambos hemisferios, *C. radiatum* fue más específico, sólo parasita a fócidos del hemisferio norte pertenecientes a tres géneros diferentes.
- *Contracaecum heardi* parasita a tres géneros diferentes de Spheniscidae antárticos. *Contracaecum diomedae* lo hizo en dos géneros diferentes de Diomedidae antárticos. *Contracaecum ovale* es específico para dos géneros de Podicipedidae.
- Las especies *C. antarcticum*, *C. crenulatum*, *C. granulosum*, *C. macronectidis*, *C. plagiaticium*, *C. scotti* y *C. spheniscus* son estrictamente específicas.

---

## Referencias bibliográficas

---

- Abollo, E., C. Gestal & S. Pascual. 2001. Anisakid infection in the European shag *Phalacrocorax aristotelis aristotelis*. *Journal of Helminthology* 75: 209-214.
- Amato, J. F. R., C. M. Monteiro & S. B. Amato. 2006. *Contracaecum rudolphii* Hartwich (Nematoda, Anisakidae) from the Neotropical Cormorant, *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) (Aves, Phalacrocoracidae) in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 23(4): 1284–1289.
- Anderson, R. C. 1996. Additional observations on the development and transmission of *truttaedacnitis pybusae* Anderson, 1992 (Seuratoidea: Cucullanide) of the brook lamprey *Lampreta appendix* (De Kay, 1842). *Parasite* 3: 33-37.
- Anderson, R. C. 2000. Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission, 2<sup>nd</sup> Ed. CAB International (Eds). Wallingford, Oxon, U.K., 650 p.
- Arduino, P., G. Nascetti, R. Cianchi, J. Plötz, S. Mattiucci, S. D'Amelio, L. Paggi, P. Orecchia & L. Bullini. 1995. Isozyme variation and taxonomic rank of *Contracaecum radiatum* (v. Linstow, 1907) from the Antarctic Ocean (Nematoda, Ascaridoidea). *Systematic Parasitology* 30: 1–9.
- Baer, J. G. 1959. Helminthes parasites. Exploration des Parcs Nationaux du Congo Belge, Mission Baer et Gerber 1: 3–163.
- Bartlett, C. M. 1996, Morphogenesis of *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Ascaridoidea), a parasite of fish-eating birds, in its copepod precursor and fish intermediate hosts. *Parasite* 4: 367-76.
- Barson, M. & B. E. Marshall. 2004. First record of *Contracaecum* spp. (Nematoda: Anisakidae) in fish-eating birds from Zimbabwe. *Journal of the South African Veterinary Association* 75: 74–78.
- Barus, V., F. Tenora & M. Prokes. 2000. The head end morphology of *Contracaecum rudolphii* with remarks on *C. himeu* and *C. umiu* (Nematoda, Anisakidae). *Acta Universitat Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 58: 69-76.

- Baylis, H. A. 1920. On the classification of the Ascarididae. The systematic value of certain characters of the alimentary canal. *Parasitology* 12(3): 253-264.
- Baylis, H. A. 1929. Records of some parasitic worms from British vertebrates. *Annals and Magazine of Natural History*, 10th Series 1: 329–343.
- Baylis, H. A. 1936. On the ascarids parasitic in seals, with special reference to the genus *Contracaecum*. *Parasitology* 29: 121-150.
- Beldsoe, G. E & M. P. Oria. 2001. Potential hazards in cold smoked fish: parasite. *Journal of Food Science* 66(7): 1100-1103.
- Berland, B. 1989. Identification of larval nematodes from fish. In: *Nematode problems in north Atlantic fish*, H. Möller (Eds.). Report from a workshop in Kiel, Norway. International Council for the Exploration of the Sea. C. M./F 6: 16-22
- Berland, B. & H.-P. Fagerholm. 1994. Thirty years of anisakid research (Nematoda, Ascaridoidea) and future trends. *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*. 4(2): 40-46.
- Berón-Vera, B., S. N. Pedraza, J. A. Raga, A. Gil de Pertierra, E. A. Crespo, M. Koen Alonso, & R. N. Goodall. 2001. Gastrointestinal helminths of Commerson's dolphins *Cephalorhynchus commersonii* from central Patagonia and Tierra del Fuego. *Diseases of Aquatic Organisms* 47: 201-208.
- Berón-Vera, B., E. A. Crespo, J. A. Raga & M. Fernández. 2007. Parasite communities of common dolphins (*Delphinus delphis*) from Patagonia: the relation with host distribution and diet and comparison with sympatric hosts. *Journal of Parasitology* 93(5): 1056–1060.
- Bertellotti, M. & P. Yorio. 1999. Spatial and temporal patterns in the diet of the Kelp Gull in Patagonia. *Condor* 101: 790-798.
- Blaxter, M. L. 2001. Molecular analysis of nematode evolution. En Kennedy, M. W. & W. Harnett. 2001. *Parasitic nematodes: Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*. Cabi Publishing, 486 p.
- Boero, J. J. & J. E. Led. 1970. El parasitismo de la fauna autóctona. VI. Los parásitos de la avifauna argentina. 5° Jornadas de Veterinaria. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, Buenos Anires, Argentina, pp. 65-71.
- Boero, J. J., J. E. Led & E. Brandetti. 1972. El parasitismo de la fauna autóctona. *Revista de Agronomía y Veterinaria* 1: 17-29.
- Boltovskoy, D. Atlas de Sensibilidad Ambiental de la Costa y el Mar Argentino <http://atlas.ambiente.gov.ar/>.

- Braicovich, P. E. & J. T. Timi. 2008. Parasites as biological tags for stock discrimination of the Brazilian flathead *Percophis brasiliensis* in the south-west Atlantic. *Journal of Fish Biology* 73: 557–571.
- Braicovich, P. E., R. A. González & R. D. Tanzola. 2005. First record of *Corynosoma australe* (Acanthocephala, Polymorphidae) parasitizing seahorse, *Hippocampus* sp. (Pisces, Syngnathidae) in Patagonia (Argentina). *Acta Parasitologica* 50(2): 145–149.
- Buendía, E. 1997. *Anisakis*, anisakidosis, and allergy to *Anisakis*. *Allergy* 52: 481–482.
- Bullini, L., G. Nascetti, L. Paggi, P. Orecchia, S. Mattiucci & B. Berland. 1986. Genetic variation of ascaridoid worms with different life cycles. *Evolution* 40: 437–440.
- Bush, A. O. 1990. Helminth communities in avian hosts: determinants of patterns. En: *Parasite communities: Patterns and Processes*. Esch, G. W., A. Bush & J. Aho (Eds), Chapman y Hall. London, UK, 335 p.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz & A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575–583.
- Caballero, C. E. & D. I. Peregrina. 1938. Contribución al conocimiento de los nematodos de las aves de México. VII Anales del Instituto de Biología 9(1-2):151-163.
- Campbell, R. A., R. L. Headrich & T. A. Munroe. 1980. Parasitism and ecological relationships among deep-sea benthic fishes. *Marine Biology* 57: 301–313.
- Capitanio, F. L., M. Pájaro & G. B. Esnal. 2005. Appendicularians: an important food supply for the Argentine anchovy *Engraulis anchoita* in coastal waters. *Journal of Applied Ichthyology* 21: 414–419.
- Carballo, M. C. 2008. Rol de los pejerreyes *Odontesthes smitti* y *O. nigricans* (Pisces: Atherinopsidae) como hospedadores de helmintos en los golfos Norpatagónicos, Chubut, Argentina. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 228 p.
- Carballo, M. C. & G. T. Navone. 2007. A new *Huffmanella* species (Nematoda: Trichosomoididae) parasitizing atherinid fishes in north Patagonian gulfs, Argentina. *Journal of Parasitology* 93: 377–382.
- Carballo, M. C., J. I. Diaz, L. Garbin, F. Cremonte & G. Navone. 2007. Parasite fauna of two sympatric silversides species (*Odontesthes smitti* and *O. nigricans*, Atherinopsidae) from the Patagonian coast. VII International Symposium of Fish Parasites (Abs.). *Parasitologia* 49: 298.
- Cavalli-Sforza, L. L. & A. W. F. Edwards. 1967. Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* 19: 233–257.

- Chapin, E. A. 1927. Descriptions of new internal parasites. Proceedings of the U.S. National Museum 68(2): 1-4.
- Chow, C. Y. 1939. Notes sur quelques nematodes d'Indochine française. Annals of Tropical Medicine and Parasitology 17(1): 21-23.
- Combes, C. 1983. Application à l'écologie parasitaire des indices d'association fondés sur les caractère presence-absence. Vie et Milieu 33: 203-212.
- Combes, C. 2001. Parasitism: The Ecology and Evolution of Intimate Interactions. University of Chicago Press, Chicago, EEUU, 552 p.
- Cremonte, F. 1999. Estudio parasitológico de bivalvos que habitan ambientes marinos y mixohalinos en Argentina. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 197 p.
- Cremonte, F. 2001. *Bartolius pierrei* n. g. n. sp. (Digenea: Gymnophallidae) from Península Valdés, Argentina. Systematic Parasitology 49(2): 159-147.
- Cremonte, F. 2004. Life cycle and geographic distribution of the gymnophallid *Bartolius pierrei* (Digenea) on the Patagonian coast, Argentina. Journal of Natural History 38: 1591-1604.
- Cremonte, F. & J. A. Etchegoin. 2002. First report of the microphallid digenean *Odhneria odhneri* Travassos, 1921 parasite of two birds from Patagonian coast, Argentina. Neotrópica 48: 58-60.
- Cremonte, F. & S. R. Martorelli. 1998 Description of a new species of *Maritrema* (Digenea: Microphallidae) from *Larus dominicanus* (Aves: Laridae) in Buenos Aires coast, Argentina. Folia Parasitologica 45: 230-232.
- Cremonte, F. & G. T. Navone. 1999. Co-ocurrence of *Pectinospirura argentata* Wehr, 1933, *Skryabinoclava andersoni* n. sp. and larvae (Nematoda: Acuariidae) in the proventriculus of *Larus dominicanus* Lichtestein (Aves: Laridae), with notes on their attachment. Systematic Parasitology 42(3): 203-212.
- Cremonte, F. & N. H. Sardella. 1997. The parasitofauna of *Scomber japonicus* Hottuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. Fisheries Research 31(1-2): 1-9.
- Cremonte, F., J. I. Diaz & G. T. Navone. 2002. Nuevo registro de *Stegophorus diomedeeae* (Nematoda: Acuariidae) parásito del Albatros de Ceja Negra en la Argentina. Neotrópica 48: 61-64.
- Cremonte, F., J. A. Etchegoin & S. R. Martorelli. 1999. Nuevos hospedadores de los digeneos *Maritrema bonaerensis* (Microphallidae) y *Stephanoprora podicipiei*

- (Echinostomatidae) en Argentina. *Stephanoprora manei* Holcman-Spector & Olagüe, 1986 como un *nomen nudum*. Neotrópica 45(115-114): 105-107.
- Cremonte, F., M. C. Digiani, L. O. Bala & G. T. Navone. 2001a. *Tetrameres (Tetrameres) megaphasmidiata* n. sp. (Nematoda: Tetrameridae) parasite of the two-banded plover, *Charadrius falklandicus*, and white-rumped sandpiper, *Calidris fuscicollis*, from Patagonia, Argentina. Journal of Parasitology 87 (1): 148-151.
- Cremonte, F., M. A. Kroeck & S. R. Martorelli. 2001b. A new monorchiid (Digenea) cercaria parasitising the purple clam *Amiantis purpurata* (Veneridae) from the Southwest Atlantic Ocean, with notes on its gonadal effect. Folia Parasitologica 48 (3): 217-223.
- Creplin, F. C. H. 1846. Nachtrage ze gurlt's verzeichniss der thiere, bei welchen entozoan gefunden. Archir für Naturgeschichte 12:129–160.
- Crespo E. A., S. N. Pedraza, S. L. Dans, M. Koen Alonso, L. M. Reyes, N. A. Garcia, M. Coscarella, A. C. M. Schiavini. 1997. Direct and indirect effects of the highseas fisheries on the marine mammal populations in the northern and central patagonian coast. Journal of the Northwest Atlantic Fishery Science 22: 189-207.
- D'Amelio, S., N. B. Barros, S. Ingrosso, D. A. Fauquier, R. Russo & L. Paggi. 2007. Genetic characterization of members of the genus *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) from fish-eating birds from west-central Florida, USA, with evidence of new species. Parasitology 134: 1041–1051.
- D'Amelio, S., K. Mathiopoulos, C. P. Santos, O. N. Pugachev, S. C. Webb, M. Picando & L. Paggi. 2000. Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase chain reaction based restriction fragment length polymorphism. International Journal of Parasitology 30: 223–226.
- Daneri, G. A., A. R. Carlini & P. G. K. Rodhouse. 2000. Cephalopod diet of the southern elephant seal, *Mirounga leonina*, at King George Island, South Shetland Islands. Antarctic Science 72 (7): 76-79.
- Deardoff, T. L. & R. M. Overstreet. 1980. *Contracaecum multipapillatum* (= *C. robustum*) from fishes and birds in the northern Gulf of Mexico. Journal of Parasitology 66: 853–856.
- Del Hoyo, J., A. Elliott & J. Sargatal. 1996. Handbook of the Birds of the World. Vol 3. Lynx (Eds). Barcelona, Spain, 821 p.

- Díaz, J. I. 2006. Las comunidades parasitarias como expresión de distinto comportamiento trófico en aves del Mar Argentino. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 259 p.
- Díaz, J. I. & G. E. Pazos. 2004. Structure of the helminth community of the Magellanic penguin: first results from northern Argentinian coast. Abs. International Penguin Conference, Ushuaia, Argentina, pp. 56.
- Díaz, J. I., F. Cremonte & G. T. Navone. 2001. New host and distribution record of *Cosmocephalus obvelatus* (Creplin, 1825) (Nematoda: Acuariidae) with morphometric comparisons. *Comparative Parasitology* 68: 277-282.
- Díaz, J. I., F. Cremonte & G. T. Navone. 2004. First record of the Acuarioid Nematode *Paracuaria adunca* from South America, with new morphological details and discussion of cordons. *Comparative Parasitology* 71(2): 238-242.
- Díaz, J. I., M. S. Sepúlveda & J. M. Kinsella. 2007. A new genus and species of acuarioid nematode (Acuariidae: Seuratiinae) in petrels *Pterodroma externa* and *P. neglecta* from the Juan Fernández Islands, Chile. *Journal of Parasitology* 93(3): 650–654.
- Díaz, J. I., F. Cremonte, G. Navone & S. Laurenti. 2005. Adults and larvae of *Skrjabinocerca canutus* n. sp. (Nematoda: Acuariidae) from *Calidris canutus rufa* (Aves: Scolopacidae) on the Southwestern Atlantic coast. *Systematic Parasitology* 60(2): 115-126.
- Digiani, M. C. 1999. Estudios helmintológicos en aves limnícolas del litoral rioplatense. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 150 p.
- Dyer, W. G., E. H. Williams, A. A. Mignucci-Giannoni, N. M. Jimenez-Marrero, L. Bunkley-Williams, D. P. Moore & D. B. Pence. 2002. Helminth and arthropod parasites of the brown pelican, *Pelecanus occidentalis*, in Puerto Rico, with a compilation of all metazoan parasites reported from this host in the Western Hemisphere. *Avian Pathology* 31: 441–448.
- Eder, E. L. 2003. Calidad de la dieta del elefante marino del sur, *Mirounga leonina*, en Patagonia. Seminario de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de la Patagonia, 125 p.
- Esch, G. W. & J. C. Fernández. 1993. A Functional Biology of Parasitism. Ecology and evolutionary implications, Chapman & Hall (Eds.), 337 p.

- Escudero, G., J. I. Diaz & J. Notarnicola. 2007. New host and distribution records of *Pelecitus fulicaeatrae* (Diesing, 1861) (Nematoda, Onchocercidae). *Acta Parasitologica* 52(4): 419-421.
- Etchegoin, J. A. & S. R. Martorelli. 1997. Description of a new species of *Maritrema* (Digenea: Microphallidae) from Mar Chiquita coastal lagoon (Buenos Aires, Argentina) with notes on its life cycle. *Journal of Parasitology* 83: 709-713.
- Ezzat, M. A. & G. Tadros. 1958. Contribution to the helminth fauna of Belgian Congo birds. *Annales Du Musée Royal Du Congo Belge*, Tervuren: Musée Royal du Congo Belge, pp. 69.
- Fagerholm, H. P. 1988. Patterns of caudal papillae in *Contracaecum osculatum* (Nematoda) and some related species from different regions of the world. *International Journal for Parasitology* 18: 1039-1051.
- Fagerholm, H. P. 1990. Systematic position and delimitation of ascaroid nematode parasites of the genus *Contracaecum* with a note on the superfamily Ascaridoidea. Ph.D. Thesis. Department of Biology, Abo and National Veterinary Institute, Helsinki, Finland, 127p.
- Fagerholm, H. P., R. M. Overstreet & I. Humphery-Smith. 1996. *Contracaecum magnipapillatum* (Nematoda, Ascaridoidea): Resurrection and pathogenic effects of a common parasite from the proventriculus of *Anous minutus* from the Great Barrier Reef, with a note on *C. variegatum*. *Helminthologia* 33: 195-207.
- Fedynich, A. M, D. B. Pence & J. F. Bergan. 1997. Helminth community structure and pattern in sympatric populations of Double-Crested and Neotropical cormorants. *Journal of the Helminthological Society of Washington* 64:176–218.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783–791.
- Felsenstein, J. 1995. PHYLIP: Phylogeny inference package, Ver. 3.572. Seattle: University of Washington.
- Frere, E., P. A. Gandini & V. Lichtschein. 1996. Variación Latitudinal en la dieta del Pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en la costa Patagónica, Argentina. *Ornitología Neotropical* 7: 35-41.
- Frere, E., F. Quintana & P. Gandini. 2005. Cormoranes de la costa patagónica: estado poblacional, ecología y conservación. *Hornero* 20: 35-52.

- Garbin L., J. I. Diaz, F. Cremonte & G. T. Navone. 2008. New anisakid species parasitizing the Imperial Cormorant *Phalacrocorax atriceps* from the North Patagonian coast, Argentina. *Journal of Parasitology* 94(4): 852-859.
- Garbin, L. E., G. T. Navone, J. I. Diaz & F. Cremonte. 2007. Further study of *Contracaecum pelagicum* (Nematoda: Anisakidae) in *Spheniscus magellanicus* (Aves: Spheniscidae) from Argentinean coasts. *Journal of Parasitology* 93(1): 143–150.
- Garbin, L., J. I. Diaz, C. Carballo, F. Cremonte & G. Navone. 2007b. Recruitment and ecological parameters of three Anisakid larvae (Nematoda: Anisakidae) parasites of *Engraulis anchoita* (Pisces: Engraulidae) from South West Atlantic Ocean. VII International Symposium of Fish Parasites (Abs.). *Parassitologia* 49: 219.
- Gasser, R. B., N. B. Chilton, H. Hosten & I. Beveridge. 1993. Rapid sequencing of rDNA from single worms and eggs of parasitic helminths. *Nucleic Acids Research* 21: 2525–2526.
- Gosztonyi, A. E. & L. Kuba. 1998. Fishes in the diet of the Imperial Cormorant *Phalacrocorax atriceps* at Punta Lobería (Chubut, Argentina). *Marine Ornithology* 26: 59–61.
- Graczyk, T. K. & B. Fried. 2001. Helminths biology, adaptation, transmission, and survival. Recent research development. *Microbiology* 5: 171-185.
- Gutiérrez, R. O. 1943. Sobre la morfología de una nueva especie de *Contracaecum* (Nematoda: Ascarioidea). *Revista Brasileira de Biologia* 3: 159-172.
- Hartwich, G. 1964. Die Typen Parasitischer Nematoden in der Helminthen- Sammlung des Zoologischen Museums in Berlin. I. Ascaridoidea. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum* 40: 1-53.
- Hartwich, G. 1974. CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates. Part II. Keys to Genera of the Ascaridoidea. Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, 153 p.
- Hartwich, G. 1975. Rhabditida und Ascaridida. *Tierwelt Dtl.* 62: 1–256.
- Hoberg, E. P. 1996. Faunal diversity among avian parasite assemblages: the interactions of history, ecology and biogeography in marine systems. *Bulletin of the Scandinavian Society of Parasitology* 6: 65-89.
- Huizinga, H. 1966. Studies on the life cycles and development of *Contracaecum spiculigerum* (Rudolphi, 1809) (Ascaridoidea: Heterocheilidae) from marine piscivorous birds. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 82(1): 181-195.
- Huizinga, H. 1967. The life cycle of *Contracaecum multipapillatum* (Von Drasche, 1882) Lucker, 1941 (Nematoda: Heterocheilidae). *Journal of Parasitology* 53: 368–375.

- Ivanov, V. A. 1996. Ecología de helmintos parásitos de peces marinos. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 116 p.
- Ivanov, V., G. T. Navone & S. R. Martorelli. 1997. *Ascarophis marina* (Szidat, 1961) n. comb. (= *Cystidicola marina*) (Spirurida-Cystidicolidae) from *Paraona signata* and *Urophycis brasiliensis* (Piscis-Teleostii) in South Western Atlantic. Redescription and zoogeographic affinity. *Journal of Parasitology* 83(5): 917-921.
- Johnston. T. H. 1938. Parasitic Nematoda. Australasian Antarctic Expedition Scientific Reports, Series C 10(5): 3-31.
- Johnston, T. H. & P. M. Mawson. 1941. Some parasitic nematodes in the collection of the Australian Museum. *Records of the Australian Museum* 21: 9-16.
- Johnston, T. H. & P. M. Mawson. 1942. Nematodes from Australian albatrosses and petrels. *Transactions of the Royal Society of South Australia* 66: 66-70.
- Johnston, T. H. & P. M. Mawson. 1944. Remarks on some parasitic nematodes from Australia and New Zealand. *Transactions of the Royal Society of South Australia* 68: 60-66.
- Johnston, T. H. & P. M. Mawson. 1953. Parasitic nematodes and trematodes from Campbell and Auckland Islands (Cape Expedition). *Records Dominion Museum of Wellington* 2: 63-71.
- Kennedy, M. W. & W. Harnett. 2001. Parasitic Nematodes. *Molecular Biology, Biochemistry and Immunology*. CABI Publishing, 486 p.
- King, J. E. 1983. *Seals of the World*. British Museum Natural History. 2nd Ed. London and Oxford University Press, Oxford, UK, 240 p.
- Kinsella, J. M., M. G. Spalding & D. J. Forrester. Parasitic Helminths of the American White Pelican, *Pelecanus erythrorhynchos*, from Florida, U.S.A. *Comparative Parasitology* 71(1): 29-36.
- Klimpel, S., E. Kellermanns & H. W. Palm. 2008. The role of pelagic swarm fish (Myctophidae: Teleostei) in the oceanic life cycle of *Anisakis* sibling species at the Mid-Atlantic Ridge, Central Atlantic. *Parasitology Research* 104: 43-53.
- Klöser, H., J. Plötz, H. Palm, A. Bartsch & G. Hubold. 1992. Adjustment of anisakid nematode life cycles to the high Antarctic food web as shown by *Contracaecum radiatum* and *C. osculatum* in the Weddell Sea. *Antarctic Science* 4: 171-178.

- Kreis, H. A. 1955. *Contracaecum septentrionale*, ein neuer parasit aus dem Kormoran; sein Lebenslauf, sowie Angaben über die Entwicklung der Anisakinae. Zeitschrift für Parasitenkunde 17: 106-121.
- Kreiter, A. & L. Semenas. 1997. Helminth parasites of *Larus dominicanus* in Argentinean Patagonia. Boletín Chileno de Parasitología 52: 39-42.
- Labriola, J. B. 1999. Estudio sistemático de los parásitos helmintos de *Larus dominicanus*, *L. maculipennis* y *L. cirrocephalus* de Mar del Plata. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 180 p.
- Labriola, J. & D. M. Suriano. 1996. Parasitic nematodes of birds from De Monte Pond, Buenos Aires, Argentina. Boletín Chileno de Parasitología 51: 59-65.
- Laurenti, S., L. Syathmary & G. T. Navone. 1997. Helmintos parásitos del Pinguino de Magallanes en Península Valdés, Chubut, Argentina. XIII Congreso Latinoamericano de Parasitología FLAP, La Habana, Cuba, pp. 268-269.
- Layman, E. M. & E. V. Andronova. 1926. A new nematode from the heron. Rabot. Prazit. Lab. Mosk. Gosudarst. Univ. (Skrjabin), pp. 47-49.
- Lent, H. & J. F. T. Freitas. 1948. Uma coleção de nematódeos parasitos de vertebrados do Museu de Historia Natural de Montevideo. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 46: 1-71.
- Li, A. X., S. D'Amelio, L. Paggi, F. He, R. B. Gasser, Z. R. Lun, E. Abollo, M. Turchetto & X. Q. Zhu. 2005. Genetic evidence for the existence of sibling species within *Contracaecum rudolphii* (Hartwich, 1964) and the validity of *Contracaecum septentrionale* (Kreis, 1955) (Nematoda: Anisakidae). Parasitology Research 96: 361-366.
- Linstow, O. von. 1888. Beobachtungen an bekannten und neuen Nematoden und Trematoden. Archiv für Naturgeschichte 51: 235-255.
- Linstow, O. Von. 1906. Helminthes from the Collection of the Colombo Museum. Spolia Zeylanica II (3): 163-188.
- Lucker, J. T. 1941. A redescription of *Contracaecum multipapillatum* (von Drasche, 1882) (Nematoda: Anisakinae). Journal of Parasitology 27: 505-512.
- Malacalza, V., M. Bertellotti & T. Poretti. 1998. Presencia de nematodos (*Contracaecum* sp.) en "pellets" del cormorán real (*Phalacrocorax albiventer*) en Punta León, Chubut, Argentina. Naturalia Patagónica - Ciencias Biológicas 6: 29-34.

- Malacalza, V. E., T. I. Poretti & N. M. Bertellotti. 1994. La dieta de *Phalacrocorax albiventer* en Punta León (Chubut, Argentina) durante la temporada reproductiva. *Ornitología Neotropical* 5: 91–97.
- Marcogliese, D. J. 2003. Food webs and biodiversity: are parasites the missing link? *Journal of Parasitology* 89: 106-113.
- Marcogliese, D. J. 2004. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theater. *EcoHealth Journal* 1(2): 151-164.
- Marcogliese, D. J. & D. K. Cone. 1997. Food webs: a plea for parasites. *Trends in Ecology & Evolution* 12: 320-325.
- Marcogliese, D. J. & J. Price. 1997. The paradox of parasites. *Global Biodiversity* 7: 7-5.
- Martorelli, S. R. 1981. *Dendritobilharzia rionegrensis* sp. nov. (Digenea, Schistosomatidae) parásita de las venas mesentéricas de *Fullica rufifrons* (Aves, Rallidae). *Neotrópica* 27(78):171-77.
- Martorelli, S. R. & F. Cremonte. 1998. A proposed three-host life-history of *Monascus filiformis* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Fellodistomidae) in the Southwest Atlantic. *Canadian Journal of Zoology* 76: 1198-1203.
- Martorelli, S. R., G. T. Navone & V. Ivanov. 2000. Life cycle of *Ascarophis marina* (Szidat, 1961) (Nematoda: Cystidicolidae) in Argentine waters. *Journal of Parasitology* 86(5): 1047-1050.
- Mattiucci, S. & G. Nascetti. 2008. Advances and Trends in the Molecular Systematics of Anisakid Nematodes, with Implications for their Evolutionary Ecology and Host–Parasite Co-evolutionary Processes (Chapter 2). In: *Advances in Parasitology* #66. Academic Press, London, UK. pp. 47-148.
- Mattiucci, S., P. Abaunza, L. Ramadori & G. Nascetti. 2004. Genetic identification of *Anisakis* larvae in European hake from Atlantic and Mediterranean waters for stock recognition. *Journal of Fish Biology* 65: 495–510.
- Mattiucci S., R. Cianchi, G. Nascetti, L. Paggi, N. Sardella, J. Timi, S. C. Webb, R. Bastida, D. Rodriguez & L. Bullini. 2003. Genetic evidence for two sibling species within *Contraecum ogmorhini* Johnston and Mawson, 1941 (Nematoda: Anisakidae) from otariid seals of boreal and austral regions. *Systematic Parasitology* 54: 15-23.
- Mattiucci, S., M. Paoletti, J. Olivero-Verbel, R. Baldiris, B. Arroyo-Salgado, L. Garbin, G. Navone & G. Nascetti. 2008. *Contraecum bioccai* n. sp. from the brown pelican *Pelecanus occidentalis* (L.) in Colombia (Nematoda: Anisakidae): Morphology,

- molecular evidence and its genetic relationship with congeners from fish-eating birds. *Systematic Parasitology* 69: 101–121.
- Mattiucci, S., M. Paoletti, S. C. Webb, N. Sardella, J. T. Timi, B. Berland & G. Nascetti. 2008b. Genetic relationships among species of *Contracaecum* Railliet and Henry, 1912 and *Phocasaris* Höst, 1932 (Nematoda: Anisakidae) from pinnipeds based on mitochondrial *cox2* sequences, and congruence with allozyme data. *Parasite* 15(3).
- Mawson, P. M. 1953. Parasitic Nematoda collected by the Australian National Antarctic Research Expedition: Heard Island and Macquarie Island, 1948-1951. *Parasitology* 43: 291-297.
- Mayr, E. 1970. Populations, Species and Evolution: an Abridgment of Animal Species and Evolution. Harvard University Press, USA, 453 p.
- McClelland, G., G. R. K. Misra & D. J. Martell. 1990. Larval anisakine nematodes in various fish species from Sable Island Bank and vicinity. *Canadian Bulletin of Fishery Aquatic Sciences* 222: 83–113.
- Monnig, H. O. 1923. On some new south african parasitic nematodes. *Transactions of the Royal Society of South Africa* 11(2): 105-117.
- Montalti, D. & J. L. Orgeira. 1998. Distribución de aves marinas en la costa patagónica argentina. *Ornitología Neotropical* 9: 193–199.
- Moravec, F. 1998. Nematodes of freshwater fishes of the Neo-tropical region, Academia, Prague, Czech Republic, 464 p.
- Morgan, B. B., E. Schiller & R. Rausch. 1949. The occurrence of *Contracaecum travassosi* (Nematoda) in North America. *Journal of Parasitology* 35: 541–542.
- Mozgovoï, A. A. 1953. Study of phylogenetic relationships and evolutionary pathways of ascaridates. In *Contributions to helminthology (Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1966)*. Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Moskva, pp. 425–434.
- Myers, B. J. 1959. *Phocanema*, a new genus for the anisakid nematode of seals. *Canadian Journal of Zoology*, 37: 459–465.
- Nadler, S. A. 2005. Speciation and species delimitation. In: *Marine Parasitology*. K. Rohde (Eds.). CABI Publishing, Oxon, UK, pp. 339–345.
- Nadler, S. A. & D. S. Hudspeth. 2000. Phylogeny of the Ascaridoidea (Nematoda: Ascaridida) based on three genes and morphology: Hypotheses of structural and sequence evolution. *Journal of Parasitology* 86: 380–393.
- Nascetti, G., R. Cianchi, S. Mattiucci, S. D'amelio, P. Orecchia, L. Paggi, J. Bratney, B. Berland, J. W. Smith & L. Bullini. 1993. Three sibling species within *Contracaecum osculatum*

- (Nematoda, Ascaridida, Ascaridoidea) from the Atlantic arctic-boreal region: Reproductive isolation and host preferences. *International Journal for Parasitology* 23: 105–120.
- Navone, G., J. A. Etchegoin & F. Cremonese. 2000. *Contracaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakidae) from *Egretta alba* (Aves: Ardeidae), and comments on other species of this genus in Argentina. *Journal of Parasitology* 86: 807-810.
- Navone, G. T.; N. H. Sardella & J. Timi. 1998. Occurrence of the larvae and adults of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda-Anisakidae) in fishes and invertebrates in the Argentine Sea. *Parasite, Journal de la Société Française de Parasitologie* 5: 127-156.
- Naya, D., R. Vargas & M. Arim. 2000. Análisis preliminar de la dieta del león marino del sur (*Otaria flavescens*) en Isla de Lobos, Uruguay. *Boletín de La Sociedad Zoológica del Uruguay* 12: 14-21.
- Nikolskiy, O. L. 1974. *Contracaecum mirounga* sp. n. (Nematoda: Anisakidae), a new nematode of the elephant seal from the Antarctic. *Izvestiya Tikhookeanskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Rybnogo Khozyaystva i Okeanografii* 83: 107–109.
- Orecchia, P., L. Paggi, S. Mattiucci, G. Nascetti, J. W. Smith & L. Bullini. 1986. Electrophoretic identification of larvae and adults of *Anisakis* (Ascaridida: Anisakidae). *Journal of Helminthology* 60: 331–339.
- Orecchia, P., S. Mattiucci, S. D'Amelio, L. Paggi, J. Plotz, R. Cianchi, G. Nascetti, P. Arduino & L. Bullini. 1994. Two new members in the *Contracaecum osculatum* complex (Nematoda, Ascaridoidea) from the Antarctic. *International Journal for Parasitology* 24: 367–377.
- Ostrowski de Núñez, M. 1970. Estudios sobre la fauna parasitaria del biguá, *Phalacrocorax b. brasilianus*. II. Trematodes pertenecientes a la familia Diplostomidae Poirier, 1886. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales «Bernardino Rivadavia», Zoología* 10: 199-214.
- Ostrowski de Nuñez, M. 1971. Estudios preliminares sobre la fauna parasitaria de algunos elasmobranquios del litoral bonaerense, Mar del Plata, Argentina. I: Cestodes y trematodes de *Psammobatis microps* (Gunther) y *Zapteryx brevirostris* (Muller y Henle). *Physis* 30: 425-446.
- Ostrowski de Nuñez, M. 1973. Estudios preliminares sobre la fauna parasitaria de algunos elasmobranquios del litoral bonaerense, Mar del Plata, Argentina. II: Cestodes de *Mustelus schmitti* Springer, 1939. *Physis* 32: 1-14.

- Paggi, L., G. Nascetti, R. Cianchi, P. Orecchia, S. Mattiucci, S. D'Amelio, B. Berland, J. Brattey, J. W. Smith & L. Bullini. 1991. Genetic evidence for three species within *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridida, Ascaridoidea) in the North Atlantic and Norwegian and Barents Seas. *International Journal for Parasitology* 21: 195–212.
- Pazos, G., S. Laurenti & J. I. Diaz. 2000. Nematodes parásitos del Pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en una colonia de Península de Valdés, Chubut. (Res.) III Congreso Argentino de Parasitología, Mar del Plata, pp. 347.
- Pazos, G., S. Laurenti & J. I. Diaz. 2003. Helmintofauna del pingüino de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) en Península Valdés, provincia del Chubut. Resultados preliminares. *Historia Natural (2<sup>da</sup> Serie) II (10)*: 85-94.
- Pedersen A. B., S. Altizer, M. Poss, A. A. Cunningham & C. L. Nunn. 2005. Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *International Journal for Parasitology* 35: 647–657.
- Pinedo, M. C. & N. Barros. 1983. Análises dos conteúdos estomacais do leão marinho *Otaria flavescens* e do lobo marinho *Arctocephalus australis* na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. (Res.) VIII Simpósio Latinoamericano sobre Oceanografía Biológica, Montevideo, Uruguay, pp. 25.
- Podani, J. 2005. Multivariate exploratory analysis of ordinal data in ecology: Pitfalls, problems and solutions. *Journal of Vegetation Science* 15: 497–510.
- Polyanski, Y. I. 1966. Parasites of the fish of the Barents Sea. *Trudy Zoologicheskogo Instituta Akademii Nauk SSSR*, 19: 1–155.
- Portes-Santos, C. P. 1984. Um nematodeo parasito de pinguim *Spheniscus magellanicus* (Forster) (Ascaridoidea: Anisakidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 79: 233-237.
- Poulin, R. 1998. Evolutionary ecology of parasites. From individual to communities. Chapman & Hall (Eds), 212 p.
- Poulin, R. & D. Mouillot. 2003. Parasite specialization from a phylogenetic perspective: A new index of host specificity. *Parasitology* 126: 473–480.
- Poulin, R. & D. Mouillot. 2005. Combining phylogenetic and ecological information into a new index of host specificity. *Journal of Parasitology* 91: 511–514.
- Poulin, R., B. R. Krasnov & S. Morand. 2006. Patterns of host specificity in parasites exploiting small mammals. En: *Micromammals and Macroparasites*. Morand, S., B. R. Krasnov & R. Poulin (Eds.) Springer, New York, pp. 233-256.

- Punta, G. E., J. R. Saravia & P. M. Yorio. 1993. The diet and foraging behavior of two Patagonian cormorants. *Marine Ornithology* 21: 27-36.
- Punta, G., P. Yorio & G. Herrera. 2003. Temporal patterns in the diet and food partitioning in imperial cormorants (*Phalacrocorax atriceps*) and rock shags (*P. magellanicus*) breeding at Bahía Bustamante, Argentina. *The Wilson Bulletin* 115(3): 307-315.
- Quintana, F. 2001. Foraging behavior and feeding locations of rock shags at a colony of Patagonia, Argentina. *Ibis* 143: 547-553.
- Quintana, F., P. Yorio & P. García Borboroglu. 2002. Aspects of the breeding biology of the Neotropic Cormorant (*Phalacrocorax olivaceus*) at Golfo San Jorge, Patagonia, Argentina. *Marine Ornithology* 30: 25-29.
- Quintana, F., P. Yorio, N. Lisnizer, A. Gatto & G. Soria. 2004. Diving behavior and foraging areas of the neotropic cormorant at a marine colony in Patagonia, Argentina. *The Wilson Bulletin* 116(1): 83-88.
- Rasmussen, P. C. 1994. Geographic variation in morphology and allozymes of South American imperial shags. *The Auk* 111(1):143-161.
- Robles, M. R. 2008. Nematodes Oxyuridae, Trichuridae y Capillariidae en roedores Akodontini (Cricetidae, Sigmodontinae) de la cuenca del Plata, Argentina: su importancia en la interpretación de las relaciones parásito-hospedador-ambiente. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, 248 p.
- Rohde, K. 1979. A critical evaluation of intrinsic and extrinsic factors responsible for niche restriction in parasites. *The American Naturalist* 114 (5): 648-671.
- Rohde, K. 1993. *Ecology of Marine Parasites*, 2<sup>nd</sup> Ed. CAB International. Commonwealth Bureaux of Agriculture. Wallingford, Oxon, U.K, 298 p.
- Rohde, K. 2005. *Marine Parasitology*. Csiro Publishing (Eds.), 592 p.
- Sapoznikow, A. 2006. Ecología reproductiva y trófica del Cormorán de las rocas (*Phalacrocorax magellanicus*) en relación a las características de su fuente de alimento. Tesis Doctoral. FCEyN, UBA, 197 p.
- Sardella, N. H. & J. T. Timi. 2004. Parasites of Argentine hake in the Argentine Sea: population and infracommunity structure as evidence for host stock discrimination. *Journal of Fish Biology* 65: 1472–1488.
- Sardella, N. H., M. F. Avendano & J. T. Timi. 1998. Parasite communities of *Genypterus blacodes* and *G. brasiliensis* (Pisces: Ophidiidae) from Argentina. *Helminthologia* 35(4): 209-218.

- Sardella, N. H., J. A. Etchegoin, S. R. & Martorelli. 1995. Las comunidades parasitarias de *Micropogonias furnieri* (corvina) en Argentina. Boletín del Instituto Oceanográfico. Universidad del Oriente, Venezuela, 34: 41-47.
- Sardella, N. H., G. T. Navone & J. Timi. 1997. A new species of *Cucullanus* (Nematoda: Cucullanidae) parasite of the *Genypterus blacodes* and *G. brasiliensis* (Pisces: Ophidiidae) in the South West Atlantic. Parasite, Journal de la Société Française de Parasitologie 4: 41-47
- Sardella, N. H., S. Mattiucci, J. T. Timi, R. Bastida, D. Rodríguez & G. Nascetti. 2005. *Corynosoma australe* Johnston, 1937 and *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals and fish in Argentinean waters: genetic differentiation and taxonomic status. Systematic Parasitology. 61: 143-156.
- Scolaro, J. A., R. P. Wilson, S. Laurenti, M. A. Kierspel, H. Gallelli & J. A. Upton. 1999. Feeding preferences of the Magellanic Penguin over its breeding range in Argentina. Waterbirds 22(1): 104-110.
- Schuurmans-Stekhoven, J. H. 1950. Nematodos parasitarios del chaco Paraguayo y de Argentina del museo de Estocolmo. Acta Zoológica Lilloana 9:325–345.
- Schuurmans-Stekhoven, J. H. 1951. Nematodos parasitarios de anfibios, pájaros y mamíferos de la República Argentina. Acta Zoologica Lilloana 10: 315-400.
- Semenova, M. K. 1974. The development of *Contracaecum microcephalum* (Anisakidae) in the definitive host. Trudy Gel'mintologicheskoi Laboratorii 24: 153-160.
- Semenova, M. K. 1979. The role of copepods in the life cycle of *Contracaecum micropapillatum* (Ascaridata, Anisakidae). Trudy Gel'mintologicheskoi Laboratorii. 29: 126-129.
- Silva, R. J., T. F. Raso, P. J. Faria & F. P. Campos. 2005. Occurrence of *Contracaecum pelagicum* Johnston & Mawson 1942 (Nematoda, Anisakidae) in *Sula leucogaster* Boddaert 1783 (Pelecaniformes, Sulidae). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 57: 565-567.
- Stossich, M. 1889. I distomi degli anfibi. Lavoro monografico. Bollettino della Società Adriatica di Scienze Naturali in Trieste 11:60–74.
- Stossich, M. 1893. I distomi degli uccelli. Lavoro monografico. Bollettino della Società Adriatic di Scienze, Trieste 13:143–196.
- Suriano, D. M. & S. R. Martorelli. 1983a. Estudios parasitológicos en la albufera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires, República Argentina I: *Stringotrema*

- microacetabularis* sp.nov., *Proisorhynchus longisaccatus* Durio & Manter, 1969 y *Lobatostoma ringens* (Linton) Eckman, 1932 (Trematoda), parásitos de peces pleuronectiformes. *Neotrópica* 29(82):195-207
- Suriano, D. M. & S. R. Martorelli. 1983b. Monogeneos parásitos de peces Gadiformes de la plataforma del mar argentino. *Revista del Museo de Ciencias Naturales y Zoología*. 15(140): 195-210.
- Svagelj, W. S. & F. Quintana. 2007. Sexual Size Dimorphism and Sex Determination by Morphometric Measurements in Breeding Imperial Shags (*Phalacrocorax atriceps*). *Waterbirds* 30(1): 97-102.
- Szidat, L. 1950. Los parásitos del róbalo (*Eleginops maclovinus* Cuv. et Val.). Primer Congreso Nacional de Pesquerías Marítimas e Industrias derivadas 2: 235-270.
- Szidat, L. 1955. La fauna de parásitos de *Merluccius hubbsi* Marini como carácter auxiliar para la solución de problemas sistemáticos y zoogeográficos del género *Merluccius*. *Comunicaciones del Instituto Nacional de Investigación en Ciencias Naturales, Buenos Aires*, 3: 1-54.
- Szidat, L. 1962. Über eine ungewöhnliche Form parthenogenetischer Vermehrung bei Metacercarien einer *Gymnophallus*-art aus *Mytilus platensis*, *Gymnophallus australis* n. sp. des Sudatlantik. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 22: 196–215.
- Szidat L. 1963. Los parásitos de los mitílidos y los daños por ellos causados. *Neotrópica* 9: 80-85.
- Szidat, L. 1964. Vergleichende helminthologische Untersuchungen an den argentinischen Grossmöwen *Larus marinus dominicanus* Lichtenstein und *L. ridibundus maculipennis* Lichtenstein nebst neuen Beobachtungen über die Artbildung bei Parasiten. *Parasitenkunde* 24: 351-414.
- Tanzola, R. 2004. Aspectos sistemáticos, biológicos y patológicos de *Terranova* sp. (Nematoda; Anisakidae) en la provincia zoogeográfica argentina. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 289 p.
- Tanzola, R. D. & S. E. Guagliardo. 2000. Helminth fauna of the Argentine conger, *Conger orbignyanus* (Pisces: Anguiliforme). *Helminthologia* 37: 229-232.
- Tanzola, R. D. & N. H. Sardella. 2006. *Terranova galeocerdonis* (Thwaite, 1927) (Nematoda: Anisakidae) from *Carcharias taurus* (Chondrichthyes: Odontaspidae) off Argentina, with comments on some related species. *Systematic Parasitology* 64:27–36.

- Tanzola, R. D., S. E. Guagliardo, S. M. Brizzola & M. B. Arias. 1997. Helminthofauna of *Porichthys porosissimus* (Pisces: Batrachoidiformes) in the estuary of Bahía Blanca, Argentina. *Helminthologia* 34: 221-227.
- Tanzola, R. D., S. E. Guagliardo, S. M. Brizzola, M. V. Arias & S. E. Botte. 1998. Parasite assemblage of *Sympterygia bonapartei* (Pisces: Rajidae), an endemic skate of the Southwest Atlantic. *Helminthologia* 35:123–129.
- Telfair, R. C. & M. L. Morrison. 1995. Neotropic Cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*). In: Poole, A. & F. Gill (Eds). *The birds of North America*. The Birds of North America, Philadelphia, Pa, USA, 257 p.
- Timi, J. T. 2003. Parasites of Argentine anchovy in the south-west Atlantic: latitudinal patterns and their use for discrimination of host populations. *Journal of Fish Biology* 63: 90–107.
- Timi, J. T., N. H. Sardella & S. Mattiucci. 2003. *Contracaecum ogmorhini* s. s. Johnston et Mawson, 1941 (Nematoda: Anisakidae), parasite of *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) off the Argentinean coast. *Helminthologia* 40: 25-31.
- Timi, J. T., N. H. Sardella & G. T. Navone. 2001. Parasitic nematodes of *Engraulis anchoita* (Pisces: Engrauliidae) from the Argentine and Uruguayan Seas. *Acta Parasitologica* 46: 186-193.
- Torres, P., V. Sierpe & R. Schlatter. 1983. Occurrence of *Contracaecum rudolphii* in new hosts in Chile. *Parasitenkunde* 69:397–399.
- Torres P., E. Ruiz, W. Gesche & A. Montefusco. 1991. Gastrointestinal Helminths of fish-eating birds from Chiloe Island, Chile. *Journal of Wildlife Diseases* 27 (1): 178-179.
- Torres, P., M. Contreras, A. Cubillos, W. Gesche, A. Montefusco, A. Rebolledo, C. Mira, A. Arenas, J. Miranda, S. Asenjo & R. Schlatter. 1992. Parasitism in fishes, fish-eating birds and human communities from Yelcho and Tagua-Tagua Lakes, X Region of Chile. *Archivos de Medicina Veterinaria* 24(19): 77-92.
- Torres, P., R. Schlatter, A. Montefusco, W. Gesche, E. Ruiz & A. Contreras. 1993. Helminth parasites of piscivorous birds from lakes in the south of Chile. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 88: 341-343.
- Torres, P., J. Valdivieso, R. Schlatter, A. Montefusco, J. Revenga, F. Marin, J. Lamilla & G. Ramallo. 2000. Infection by *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae) in the Neotropic cormorant *Phalacrocorax brasilianus*, and fishes from the estuary of the Valdivia River, Chile. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 35: 101–108.

- Vicente, J. J., R. M. Pinto, D. Noronha & P. G. Carvalho. 1997. Nematode parasites of Brazilian Pelecaniformes and Trogoniformes birds: a general survey with new records for the species. *Revista Brasileira de Zoologia* 15(4): 891-901.
- Vidal-Martínez, V. M., D. Osorio-Sarabia & R. M. Overstreet. 1994. Experimental infection of *Contracaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakinae) from Mexico in the domestic cat. *Journal of Parasitology* 80: 576–579.
- Vojtechovska-Mayerova, M. 1952. Neue Funde parasitischer Wurmer bei unseren Vogeln. *Vest. cs. zemed. Mus., Prague*, 16: 71-88.
- Vuytsteke, C. 1953. Nematodes parasites d'oiseaux. *Parc National de L'Upemba* 17: 1–41.
- Walton, A. C. 1923. Some new and little known nematodes. *Journal of Parasitology* 10: 60-73.
- Wilson, R. P., J. A. Scolaro, G. Peters, S. Laurenti, M. Kierspel, H. Gallelli & J. Upton. 1995. Foraging areas of Magellanic penguins breeding at San Lorenzo, Argentina, during the incubation period. *Marine Ecology Progress Series* 129:1-6.
- Yamaguti, S. 1941. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 34. Amphibian nematodes, II. *Japanese Journal of Zoology* 9: 397–408.
- Yamaguti, S. 1961. *Systema Helminthum*. Vol 3. The Nematodes of Vertebrates. Interscience Publisher, John Wiley & Sons, New York, 1261 p.
- Yamaguti, S. & I. Mitunaga. 1943. Intestinal helminths from *Bufo melanostictus* of Formosa. *Transactions of the Natural History Society of Taiwan* 33:142–154.
- Yorio, P. M., E. Frere, P. Gandini & G. Harris. 1998. Atlas de la distribución reproductiva de aves marinas en el litoral Patagónico Argentino. Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica. Fundación Patagonia Natural y Wildlife Conservation Society. Instituto Salesiano de Artes Gráficas, Buenos Aires, 221 p.
- Zhu, X. Q., R. B. Gasser, M. Podolska & N. B. Chilton. 1998. Characterisation of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal for Parasitology* 28: 1911–1921.