Estadios larvales de digeneos parásitos de *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) en el estuario de Bahía Blanca



María del Pilar Alda

Trabajo de Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Estadios larvales de digeneos parásitos de

Heleobia australis (d'Orbigny 1835)

en el estuario de Bahía Blanca

MARÍA DEL PILAR ALDA

DIRECTOR: DR. SERGIO R. MARTORELLI CO-DIRECTOR: DR. DANIEL TANZOLA

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS NATURALES Alda, María Del Pilar

Estadios larvales de digeneos parásitos de Heleobia australis -d'Orbigny 1835- en el estuario de Bahía Blanca. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata, 2012. E-Book.

ISBN 978-950-34-0919-0

1. Zoología. 2. Tesis de Doctorado. I. Título CDD 590.711

Fecha de catalogación: 13/11/2012

AGRADECIMIENTOS

- A mi Director de Tesis, Dr. Sergio R. Martorelli, por enseñarme el mundo de los parásitos con humildad y cariño.
- A mi Co-director de Tesis, Dr. Daniel Tanzola, por cederme las instalaciones de su laboratorio durante los muestreos y por sus valiosas críticas y sugerencias.
- Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por brindar el financiamiento necesario para la realización del trabajo.
- Al Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) por brindarme las instalaciones y el material necesario.
- Al Dr. Néstor J. Cazzaniga por estar siempre presente y guiarme en mis primeros pasos en este cautivamente camino de la ciencia.
- A los técnicos del CEPAVE, Emilio Topa y Luis Giambelluca por la realización de los cortes histológicos y por la ayuda en la toma de las fotografías.
- A la Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata por brindarme las instalaciones y los pollos para las infestaciones experimentales.
- A Charly del Club de Pesca Gral. Daniel Cerri por la ayuda brindada durante los muestreos.
- A mis compañeros y amigos de laboratorio, Pau, Lici, Lucho, Martín y Sergio, por tantos momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio.
- A Vanesa Negrín por el material bibliográfico brindado.
- A todos mis compañeros de muestreo.
- A mi papá y a mi mamá por su apoyo incondicional durante todos estos años.
- A Manolo y Felipe por recibirme con tanto entusiasmo al llegar a casa.
- A Nico por todo.

ÍNDICE

Resumen	1						
Abstract	3						
Objetivos	5						
Introducción general	6						
Materiales y Métodos	9						
Caracterización del hospedador: Heleobia australis (d'Orbigny 1835)	9						
Caracterización del estuario de Bahía Blanca							
Sitios de muestreo							
Toma de muestras y trabajo de laboratorio	15						
<u>Capítulo I:</u> Estadios larvales de digeneos en <i>Heleobia australis</i>	20						
a. Objetivo del capítulo	21						
b. Antecedentes	21						
c. Trabajo de laboratorio							
d. Resultados y Discusión							
Superfamilia Opisthorchioidea Looss 1899							
Familia Heterophyidae Leiper 1909							
Pleurolophocercaria I cf. Ascocotyle (Phagicola)							
longa Ransom 1920	24						
cf. Familia Cryptogonimidae Ward 1917							
Pleurolophocercaria II = Cercaria							
Opisthorchioidea	31						
Superfamilia Lepocreadioidea Odhner 1905							
Cercaria Apocreadiinae	35						
Superfamilia Schistosomatoidea Stiles y Hassall 1898							
Familia Sanguinicolidae von Graff 1907							
Furcocercaria Sanguinicolidae	37						
Superfamilia Pronocephaloidea Looss 1899							
Familia Notocotylidae Lühe 1909							
Cercaria Notocotylidae	40						

Superfamilia Haploporoidea Nicoll 1914								
Familia Haploporidae Nicoll 1914								
Cercaria Haploporidae								
Superfamilia Echinostomatoidea Looss 1899								
Familia Psilostomidae Looss 1900								
Cercaria cf. Psilochasmus oxyurus (Creplin 1835)	51							
Metacercaria cf. Psilochasmus oxyurus								
Familia Echinostomatidae Looss 1899								
Echinocercaria I cf. Himasthla sp.	55							
Echinocercaria II cf. Stephanoprora uruguayense								
Holcman-Spector y Olagüe 1989	60							
Superfamilia Microphallidae Ward 1901								
Familia Microphallidae Ward 1901								
Xiphidiocercaria tipo Ubiquita I = <i>Maritrema</i>								
orensensis Cremonte y Martorelli 1998	64							
Xiphidiocercaria tipo Ubiquita II = Maritrema								
bonaerensis Etchegoin y Martorelli 1997	67							
Xiphidiocercaria tipo Ubiquita III cf.								
Levinseniella cruzi Travassos 1920	70							
Cercaria y Metacercaria de Microphallus								
simillimus (Travassos 1920)	74							
Otras Familias								
Xiphidiocercaria tipo Armatae	78							
Metacercaria sp.	84							
Capítulo II: Ciclos de vida de digeneos que involucran a Heleobia australis								
como hospedador intermediario	87							
a. Objetivo del capítulo								
b. Antecedentes 8								
c. Trabajo de laboratorio: hospedadores naturales y								
experimentales	89							

d.	Resultados y Discusión	92						
	Posible ciclo de vida de Ascocotyle (Phagicola) longa inferido a							
	partir de la bibliografía	92						
	Posible ciclo de vida de Pleurolophocercaria II inferido a							
	partir de la bibliografía							
	Metacercaria Opisthorchioidea sp.	95						
	Posible ciclo de vida de Cercaria Apocreadiinae inferido a							
	partir de la bibliografía							
	Posible ciclo de vida de Furcocercaria Sanguinicolidae							
	inferido a partir de la bibliografía	98						
	Posible ciclo de vida de Cercaria Notocotylidae inferido a							
	partir de la bibliografía	99						
	Posible ciclo de vida de Cercaria Haploporidae inferido a							
	partir de la bibliografía	100						
	Posible ciclo de vida de Psilochasmus oxyurus inferido a partir							
	de la bibliografía	101						
	Adulto de Psilochasmus oxyurus	101						
	Posible ciclo de vida de <i>Himasthla</i> sp. inferido a partir de							
	infestaciones experimentales y bibliografía	104						
	Metacercaria <i>Himasthla</i> sp.	105						
	Posible ciclo de vida de Stephanoprora uruguayense inferido a							
	partir de la bibliografía	107						
	Metacercaria de Stephanoprora uruguayense	108						
	Ciclo de vida de Maritrema orensensis inferido a partir de							
	infestaciones experimentales	110						
	Metacercaria de Maritrema orensensis	111						
	Adulto de Maritrema orensensis	112						
	Ciclo de vida de Maritrema bonaerensis inferido a partir de							
	infestaciones experimentales	115						
	Metacercaria de Maritrema bonaerensis	116						
	Adulto de Maritrema bonaerensis	118						

Posible ciclo de vida de Levinseniella cruzi inferido a partir de									
la bibliografía									
Metacercaria Levinseniella cruzi									
Adulto de Levinseniella cruzi									
Posible ciclo de vida de <i>Odhneria</i> sp. inferido a partir de la									
bibliografía									
Metacercaria de Odhneria sp.									
Ciclo de vida de Microphallus simillimus inferido a partir de									
infestaciones experimentales									
Otros ciclos de vida en el estuario de Bahía Blanca	134								
<u>Capítulo III:</u> Efectos de las larvas de digeneos y el ambiente sobre la	105								
morfología de Heleobia australis									
a. Objetivo del capítulo 1									
b. Antecedentes	136								
c. Hipótesis planteadas									
d. Trabajo de laboratorio y análisis estadístico									
e. Resultados									
f. Discusión	150								
Capítulo IV: Comunidades larvales de digeneos parásitos de Heleobia									
australis	155								
a. Objetivo del capítulo	156								
b. Antecedentes 156									
c. Hipótesis planteadas 157									
d. Trabajo de laboratorio y análisis estadístico 158									
e. Resultados 161									
f. Discusión 17									
Conclusión									
Bibliografía									
Publicaciones 2									

RESUMEN

Se identificaron 15 especies de digeneos que parasitan al caracol Heleobia australis (Mollusca: Cochliopidae) en el estuario de Bahía Blanca (N = 7.504). El caracol es utilizado por los parásitos como primer, segundo o único hospedador intermediario. Se describieron los estadios intramolusco y las cercarias de (Phagicola) longa (Heterophyidae), Cercaria Opisthorchioidea, Ascocotyle Cercaria Apocreadiinae (Lepocreadioidea), Psilochasmus oxyurus (Psilostomidae), Cercaria Sanguinicolidae, Cercaria Notocotylidae, Cercaria Haploporidae, Himasthla sp. (Echinostomatidae), Stephanoprora uruguayense (Echinostomatidae), Maritrema bonaerensis (Microphallidae), Maritrema orensensis (Microphallidae), Levinseniella cruzi (Microphallidae) V Xiphidiocercaria tipo Armatae. También, se describió a la metacercaria de P. oxyurus que enquista entre el manto y la conchilla del caracol, a la Metacercaria sp. que enquista en la cabeza y a la metacercaria de Microphallus simillimus (Microphallidae) que posee un ciclo abreviado cuyas cercarias enquistan dentro de los esporocistos.

Se revisaron potenciales segundos hospedadores intermediarios de las larvas de digeneos halladas en *H. australis*. Mediante infestaciones experimentales se logró relacionar a la cercaria *Himasthla* sp. con la metacercaria hallada en poliquetos y a las cercarias de *M. orensensis* y *M. bonaerensis* con las metacercarias halladas en los cangrejos *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus*. La metacercaria de *L. cruzi* fue hallada en la gónada de los cangrejos. Con respecto a los peces, *Ramnogaster arcuata* mostró una metacercaria enquistada en la musculatura y en las aletas que podría relacionarse con la Cercaria Opisthorchioidea. El pejerrey *Odontesthes argentinensis* presentó la metacercaria de *S. uruguayense* enquistada en la branquia.

Se examinó un ejemplar del tero real, *Himantopus melanurus*, hallado en una laguna costera del estuario de Bahía Blanca y entre los digeneos hallados se encontraron los adultos de *P. oxyurus* y *L. cruzi*. Se realizaron infestaciones experimentales en pollos *Gallus gallus* y se recuperaron adultos de *M. simillimus*, *M. orensensis* y *M. bonaerensis*. Factores ambientales y parásitos afectarían el tamaño de la conchilla de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca. El menor tamaño de los caracoles en la desembocadura del estuario podría deberse a la mayor exposición a las olas, la mayor mortalidad extrínseca causada por depredación o por parásitos, al mayor impacto antropogénico o a una combinación de estos factores.

Los caracoles infectados con *M. simillimus*, el parásito más abundante en el estuario, tuvieron conchillas más angostas que los no infectados. *Microphallus simillimus* no solo castra a las hembras de *H. australis* sino que también induciría la re-asignación de energía destinada al crecimiento para aumentar las posibilidades del éxito reproductivo en caracoles infectados.

La comunidad larval de digeneos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca no estuvo distribuida de manera homogénea en el tiempo ni en el espacio. Se observaron dos picos anuales de prevalencia, uno a finales de verano y otro a finales del invierno y comienzos de la primavera. Esta distribución temporal podría relacionarse con el ciclo anual del caracol y condiciones ambientales. La composición específica de la comunidad larval de digeneos se relacionaría con la presencia de los hospedadores definitivos.

ABSTRACT

Fifteen species of digeneans were recovered from 7.504 specimens of Heleobia australis (Mollusca: Cochliopidae) from Bahía Blanca estuary, Argentina. Parasites use the snail as first and/or second intermediate host. I described intramolluscan stages and cercariae of Ascocotyle (Phagicola) longa (Heterophyidae), Cercaria Opisthorchioidea, Cercaria Apocreadiinae (Lepocreadioidea), Psilochasmus (Psilostomidae), Cercaria oxyurus Sanguinicolidae, Cercaria Notocotylidae, Cercaria Haploporidae, Himasthla sp. (Echinostomatidae), Stephanoprora uruguayense (Echinostomatidae), Maritrema bonaerensis (Microphallidae), Maritrema orensensis (Microphallidae), Levinseniella cruzi (Microphallidae) y Xiphidiocercaria tipo Armatae. Also I described the metacercariae of *P. oxyurus* that encyst in paleal cavity. Metacercaria sp. encyst in the head of the snail and the metacercariae of Microphallus simillimus (Microphallidae) that encyst inside sporocysts.

I examined possible second intermediate hosts of the larval digeneans found in *H. australis*. With experimental infections, we related the cercaria of *Himasthla* sp. with the metacercaria found in polychaetes and the cercariae of *M. orensensis* y *M. bonaerensis* with the metacercariae found in the crabs *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus*. The metacercaria of *L. cruzi* was found in the gonad of crabs. Concerning fishes, *Ramnogaster arcuata* showed a metacercaria encysted in muscle and fins that could be related with Cercaria Opisthorchioidea. The silverside *Odontesthes argentinensis* showed the metacercaria of *S. uruguayense* encysted in gills.

I examined a specimen of white-backed stilt, *Himantopus melanurus*, found in a coastal lagoon of the Bahía Blanca estuary and among the digeneans found, *P. oxyurus* and *L. cruzi* were recovered. The adult digeneans of *M. simillimus*, *M. orensensis* and *M. bonaerensis* were recovered from chicks experimentally infected.

Shell size of *Heleobia australis* in Bahía Blanca estuary is affected by a variety of environmental factors and parasites. The smaller snail size recorded at the mouth of the estuary may be a consequence of greater wave strength,

allocation of energy to reproduction induced by predators or parasitic castratos, anthropogenic stressors, or perhaps a combination of these factors.

Parasitism by *Microphallus simillimus*, the most common parasite in the estuary, causes variations in the shell dimensions of *H. australis*, the shells of infected snails being narrower than those of uninfected snails. *Microphallus simillimus* not only castrate the females of *H. australis* but it may induce the allocation of energy to reproduction rather than growth.

I reported temporal and spatial heterogeneity in larval digeneans communities of *H. australis* in Bahía Blanca estuary. Two annual peaks of prevalence were observed, the first in late summer and the second in late winter and early spring. Host life cycle and environmental conditions might explain this seasonal pattern in larval digeneans communities. Specific composition of larval digenenans communities would be related with the occurrence of definitive hosts.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL: Estudiar aspectos taxonómicos y ecológicos de los digeneos que parasitan al molusco *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) en el estuario de Bahía Blanca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

a) Identificar las formas larvales de los digeneos que parasitan al molusco *Heleobia australis* en el estuario de Bahía Blanca;

b) Establecer los posibles hospedadores de los estadios restantes del ciclo de vida de los digeneos;

c) Evaluar los efectos morfológicos que causan las larvas de digeneos y el ambiente en el hospedador;

d) Describir las infracomunidades y las comunidades componentes de las especies parásitas a nivel del primer hospedador intermediario.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El parasitismo es una interacción biológica entre organismos de diferentes especies en la que uno de los organismos, el parásito, se beneficia metabólicamente de otro, el hospedador. El parasitismo es la forma de vida más común sobre la tierra (Windsor, 1998).

Los digeneos (Platyhelminthes: Trematoda) son los metazoos parásitos más abundantes y comunes, después de los nematodes. Enfermedades conocidas a nivel mundial como fasciolasis, esquistosomiasis y otras enfermedades humanas y veterinarias, son producidas por éstos. Los digeneos se caracterizan por la alternancia de generaciones, normalmente con generaciones asexuales en moluscos y una generación sexual en vertebrados, raramente en invertebrados.

En el ciclo de vida típico de un digeneo, la larva ciliada de vida libre, el **miracidio**, se libera del huevo y penetra en el primer hospedador intermediario, que suele ser un gasterópodo (algunos sanguinicólidos parasitan poliquetos como primer hospedador intermediario). En algunos casos, el huevo es ingerido directamente por el molusco, libera al miracidio en el intestino y éste penetra el epitelio intestinal. Luego se transforma en una estructura simple, en forma de saco, llamada **esporocisto**. Dentro de él, se forman asexualmente un gran número de embriones, que dan origen a **esporocistos hijos** o **redias**. Las redias presentan mayor grado de complejidad que los esporocistos ya que desarrollan, a diferencia de éstos, una faringe y un saco intestinal. A partir de sus células germinales, la redia o el esporocisto hijo desarrollan **cercarias** que normalmente emergen del molusco y nadan hasta penetrar en el próximo hospedador o enquistar en el sustrato (Schmidt y Roberts, 2000).

Aparentemente, existen comportamientos específicos desencadenados por el hospedador que ayudan al encuentro de la cercaria con el invertebrado o vertebrado en el que penetrará. La cercaria llega de este modo al segundo hospedador intermediario, que normalmente forma parte de una trama trófica que incluye al hospedador definitivo (Combes et al., 2002). Generalmente la cercaria está provista de estructuras que ayudan a la penetración, como glándulas o estilete u órgano de penetración (Komiya, 1965). En algunos casos (Sanguinicolidae y Schistosomatidae), la cercaria penetra en el hospedador definitivo, desarrollando el adulto, pero en la mayoría de los digeneos la cercaria enquista en el medio o en un segundo y hasta en un tercer hospedador intermediario, dando lugar al desarrollo de una **metacercaria**.

Finalmente, la metacercaria ingresa al hospedador definitivo cuando éste se alimenta del segundo o tercer hospedador intermediario. Gracias a las condiciones fisicoquímicas del estómago e intestino del vertebrado, la metacercaria desenquista y da lugar al **adulto**, que se reproduce sexualmente, produciendo huevos que se liberan con las heces o la orina (Schmidt y Roberts, 2000).

Debido a que los digeneos presentan generalmente mayor especificidad por sus hospedadores moluscos que por los vertebrados, probablemente se establecieron primero como parásitos de moluscos y luego de vertebrados (Pearson, 1972). Sin embargo esta hipótesis es menos parsimoniosa que la hipótesis de la adquisición de hospedadores vertebrados primero (Cribb et al., 2001).

La enorme variabilidad entre los ciclos de vida de digeneos posiblemente sea la clave del éxito de este grupo. A pesar de poseer ciclos de vida que involucran varios hospedadores y diferentes mecanismos de transmisión, los digeneos poseen estrategias adaptativas que facilitan este proceso: alta tasa de fecundidad de los adultos, reproducción asexual en el hospedador molusco, eficiencia en los mecanismos de detección del hospedador por parte de los miracidios y las cercarias, y el aumento de la susceptibilidad del segundo hospedador, inducida por el parásito, a ser consumido por el hospedador definitivo. Sin embargo, la abreviación del ciclo de vida es un carácter que ha surgido independientemente más de 20 veces en el grupo (Poulin y Cribb, 2002). Algunas especies de varias familias, incluida Microphallidae, eliminan el segundo hospedador intermediario. El hospedador definitivo se alimenta del único hospedador intermediario. Según Oliva y Huaquin (2000) los ciclos de vida abreviados son más comunes a mayores latitudes. Esto les permitiría a las especies expandirse hacia aguas más frías reduciendo los estadios de vida libre y la dependencia a los hospedadores.

El conocimiento de los estadios larvales de digeneos es todavía escaso a nivel mundial. Dado que muchas especies de digeneos, se han descripto sólo a partir de su estadio adulto sin conocer su ciclo de vida, se corre el riesgo de no determinar correctamente una especie. Puede ocurrir que estadios adultos de diferentes especies no difieran significativamente y sí lo hagan sus estadios larvales, como es el caso de *Ascocotyle (Ascocotyle) secunda* Ostrowski de Núñez 2001 y *Ascocotyle (Ascocotyle) tertia* Ostrowski de Núñez 2001.

Existen varios estudios taxonómicos sobre estadios larvales de digeneos en ambientes marinos y estuariales de la Argentina (Graefe, 1968; Martorelli, 1986b; 1988; 1989a; 1990; 1991a; 1991b; Etchegoin, 1997; Etchegoin y Martorelli, 1997a; Martorelli y Cremonte, 1998; Martorelli y Morriconi, 1998; Cremonte, 1999; 2001; Cremonte et al., 2001; Cremonte, 2004; Alda y Martorelli, 2009). Sin embargo, al igual que en el resto del mundo, existen más trabajos relativos a los estadios adultos, parásitos de peces y aves (ver referencias en Kohn et al., 2007; Lunaschi et al., 2007).

Los aspectos ecológicos sobre la interacción entre digeneos larvales y sus hospedadores intermediarios se están estudiando desde hace varios años en América del Norte, Oceanía y Europa (Esch et al., 2010). En América del Sur, por el contrario, tales trabajos son escasos. En la Argentina, los estudios sobre parasitofauna de moluscos han sido mayoritariamente de índole taxonómica y sólo se han realizado estudios de algunos aspectos de la interacción entre larvas de digeneos y los gasterópodos de agua dulce *Drepanotrema* sp., *Biomphalaria occidentalis* Paraense 1981, *Biomphalaria peregrina* d'Orbigny 1835, *Potamolithus agapetus* Pilsbry 1911 y *Chilina dombeyana* (Bruguiere 1789) (Ostrowski de Núñez et al., 1991; Hamann et al., 1993; López Armengol y Martorelli, 1997; Flores y Semenas, 2008; Flores et al., 2010) y en los hidróbidos de la laguna costera de Mar Chiquita, *Heleobia conexa* (Gaillard 1974) y *H. australis* (Etchegoin, 1997; Merlo y Etchegoin, 2011; Merlo et al., 2010). Sin embargo, para el estuario de Bahía Blanca no existen aún trabajos publicados al respecto.

Caracterización del hospedador: Heleobia australis (d'Orbigny 1835)

Heleobia australis (Cochliopidae) es el único caracol hidróbido que habita en el estuario de Bahía Blanca (Elías et al., 2004). Esta especie tiene una amplia distribución geográfica, desde Río de Janeiro, Brasil, hasta San Antonio Oeste, Argentina (Gaillard y Castellanos, 1976), y es citada como un componente principal de las comunidades bentónicas de la costa Atlántica de Sudamérica (de Francesco e Isla, 2003).

Según Wilke et al. (2001), el género *Heleobia* Stimpson 1865 pertenece a la familia Cochliopidae Tryon 1866. Sin embargo, este género fue incluido durante muchos años dentro de la familia Hydrobiidae Troschel 1857 y existen algunos autores que aún lo hacen (Liu et al., 2001). Ambas familias pertenecen a la superfamilia Rissooidea Gray 1847 y se los conoce comúnmente como hidróbidos. Los hidróbidos han sido muy estudiados ya que están ampliamente distribuidos en estuarios y lagunas costeras de Europa y América (Hershler y Davis, 1980; Bodon et al., 1999; De Francesco e Isla, 2003; 2004a; 2004b; Martin, 2008). En Sudamérica, todos los hidróbidos estuariales conocidos pertenecen al género *Heleobia*, anteriormente conocido como *Littoridina* Souleyet 1852 (Gaillard y Castellanos, 1976). Davis et al. (1982) trasladaron todas las especies del género *Littoridina* al género *Heleobia*.

Los hidróbidos han sido ampliamente citados mundialmente como hospedadores intermediarios de digeneos (Deblock, 1980; Galaktionov y Skirnisson, 2007). En Argentina, se describieron varios parásitos de hidróbidos del género *Heleobia* (ver referencias en Tabla II del Capítulo I), incluyendo cercarias causantes de dermatitis humanas (Szidat, 1958). Varios parásitos que infectan hidróbidos utilizan crustáceos y vertebrados de importancia económica y ecológica como segundos hospedadores intermediarios y definitivos.

El ciclo de vida del primer hospedador intermediario es uno de los tantos factores que influyen sobre la distribución temporal de la comunidad larval de digeneos (Kube et al., 2002a). En el estuario de Bahía Blanca, no existen estudios sobre la dinámica poblacional o la historia de vida de *H. australis*. Sin embargo,

en la laguna costera tropical Imboassica, Brasil, el reclutamiento de *H. australis* ocurre en el otoño (mayo-junio) (Figueiredo-Barros et al., 2006). El reclutamiento de *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita, Argentina, ocurre en el verano, de enero a marzo (de Francesco e Isla, 2004a). La nueva cohorte alcanza el tamaño de sub-adulto en aproximadamente tres meses y el tamaño promedio de los caracoles no varía considerablemente durante el resto del año. De Francesco e Isla (2004a) determinaron que el ciclo de vida de *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita es de un año.

Caracterización del estuario de Bahía Blanca

El estuario de Blanca Bahía, ubicado en el sudoeste de la Provincia de Buenos Aires (Fig. 1), es el segundo estuario más grande en Argentina después del Río de la Plata.



Figura 1. Ubicación del estuario de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Sus dos ciudades principales, Bahía Blanca y Punta Alta, están localizadas cerca de la orilla este del estuario (Fig. 2). Ambas ciudades liberan efluentes de aguas residuales domésticas directamente al estuario. A lo largo de la misma orilla se encuentran varias terminales portuarias que exportan granos, derivados de petróleo y fertilizantes químicos. El canal principal de navegación es dragado desde la desembocadura hasta Puerto Galván.



Figura 2. Ubicación de los sitios de muestreo: Sitio 1 (Puerto Cuatreros), Sitio 2 (Villa del Mar) y Sitio 3; las ciudades: Bahía Blanca y Punta Alta; los principales puertos: Puerto Galván (P1), Puerto Ingeniero White (P2), Puerto Belgrano (P3) y Puerto Rosales (P4); las principales descargas de agua dulce: Sauce Chico (D1) y Napostá Grande (D2) y la descarga de efluentes cloacales (C). Escala: 10 km.

El extremo noroeste del estuario es estrecho y consiste en un sistema complejo de canales enlazados separados por extensas planicies de marea, parches de humedales bajos e islas. La boca del estuario es más amplia y se abre en el Océano Atlántico. La circulación general del estuario es dominada por una onda de marea semidiurna (Perillo y Piccolo, 1991) cuyo rango promedio

aumenta desde la boca (2,2 m) hacia el extremo norte (3,5 m) (Perillo y Piccolo, 1991). En el estuario el aporte de agua dulce por el río Sauce Chico y el arroyo Napostá Grande es escaso (Fig. 2), es por esto que prevalecen las condiciones marítimas. Las concentraciones de salinidad fluctúan a lo largo del año, estas fluctuaciones son más pronunciadas en el extremo noroeste, por ejemplo en Puerto Cuatreros la salinidad varía desde 22,8 ‰ hasta 41,0 ‰ en verano (Gayoso, 1998). La temperatura anual media superficial del agua es de 13 °C, variando de 21,6 °C en el verano a 8,5 °C en el invierno (Perillo et al., 2001).

Una de las principales características biológicas del estuario es la floración de fitoplancton durante el invierno que consiste principalmente en diatomeas centrales, predominantemente *Thalassiosira curviseriata* Takano 1981, que comprende aproximadamente el 90 % de la biomasa algal (Gayoso, 1998; Popovich y Gayoso, 1999). La concentración de clorofila a alcanza niveles de 54 µg L⁻¹ durante la floración de fitoplancton, con una productividad máxima de 200 mg C m⁻³ h⁻¹ (Perillo et al., 2001). La disponibilidad de nutrientes (NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺, PO₄³⁻, SiO₄⁴⁻) es por lo tanto mínima en el invierno (agosto-julio) y la disponibilidad máxima coincide con la ausencia de floraciones algales a finales de la primavera (noviembre) y otoño (mayo-junio). El nivel más alto de productividad primaria fue encontrado en la zona interna del estuario, es decir en Puerto Cuatreros (Gayoso, 1998). Las características físicas y biológicas del estuario de Bahía Blanca han sido recopiladas por Perillo et al. (2001).

Pocas especies, pero con muchos individuos por especie, proliferan en el estuario, especialmente en zonas donde las condiciones de salinidad son muy fluctuantes. Debido a estas altas abundancias, muchas especies de peces y aves entran al estuario a alimentarse, desovar o para que los juveniles crezcan en condiciones de mayor protección (López Cazorla, 1989). Entre los organismos bentónicos predominan los poliquetos, seguidos por moluscos y crustáceos, que forman extensas áreas de cangrejales (Piccolo y Hoffmeyer, 2004). Se han registrado 19 especies de moluscos (15 de bivalvos y 4 de gasterópodos); entre ellos, *H. australis* es el organismo bentónico más abundante en la cabecera.

El estuario de Bahía Blanca es una zona muy productiva, con gran heterogeneidad de hábitats y abundancia de alimento, que alberga una alta riqueza de aves acuáticas, incluyendo especies marinas y costeras. Las aves residentes usan el estuario en mayor o menor medida durante todo el año, pero las migradoras, incluyendo especies neárticas, patagónicas y oportunistas, cumplen sólo una parte de su ciclo anual en la Argentina. Las aves migradoras neárticas nidifican en la tundra ártica y luego migran hacia el sur (zona de invernada) llegando a la Provincia de Buenos Aires en primavera; emprenden el viaje de regreso al hemisferio norte en marzo o abril. Algunas de estas especies permanecen todo el verano en esta región como el chorlo pampa, mientras que otras siguen hacia el sur, como el playerito rabadilla blanca y la becasa de mar. Las migradoras patagónicas nidifican en la Patagonia y, luego de la temporada de cría (zona de invernada), migran hacia latitudes menores, llegando a la Provincia de Buenos Aires en el otoño. Algunos ejemplos son el sobrepuesto, el cauquén común, el petrel gigante y la gaviota cangrejera (Larus atlanticus Olrog 1958). Las especies oportunistas realizan desplazamientos más cortos y sin un patrón definido de migración, en búsqueda de condiciones favorables para alimentarse o reproducirse. Entre ellos se encuentran los macaes, patos y gallaretas (Petracci y Delhey, 2005).

El estuario de Bahía Blanca es especialmente importante para un grupo de aves migratorias, llamadas aves playeras, que reúne especies adaptadas a vivir en humedales y comparten las siguientes condiciones: alta supervivencia del adulto, baja tasa reproductiva, con un solo intento de cría por año y sitios puntuales de migración con alta productividad, donde las aves se alimentan intensamente, acumulando energía para continuar la migración. Estos aspectos hacen a estas aves muy susceptibles a las alteraciones ambientales, resultando en muchos casos en una drástica disminución de sus poblaciones. Entre las aves playeras, se desatacan el chorlito pecho canela, el chorlito doble collar y el chorlito ceniciento (Petracci y Delhey, 2005).

Sitios de muestreo

Las muestras se recolectaron en dos sitios del estuario de Bahía Blanca (Fig. 2, 3A y 3B): Sitio 1 (38° 44' S - 62° 22' O), localizado en Puerto Cuatreros, en la parte interna del estuario; y Sitio 2 (38° 51' S - 62° 07' O) ubicado en Villa del Mar, en el centro del estuario. La fluctuación de salinidad, la exposición al oleaje, la velocidad corriente, las actividades de dragado, la composición del bentos y de los sedimentos, y la cantidad de materia orgánica de origen antropogénico, así como otros factores de stress diferencian ambos sitios. El Sitio 1 se caracteriza por sedimentos de barro arcilloso y una fauna macrobentónica dominada por poliquetos, mientras que el Sitio 2 tiene una mayor proporción de sedimentos limo-arenoso y una rica composición macrobentónica dominada por crustáceos, moluscos y poliquetos (Elías, 1985). El Sitio 2 está cerca de un punto de descarga de aguas residuales y es muy utilizado por aves marinas y costeras para la alimentación (Petracci y Delhey, 2005).

Además se realizaron muestreos esporádicos en el Sitio 3 (38° 46' S - 62° 18' O), localizado en una playa cercana a Puerto Galván (Fig. 2). Este sitio fue elegido debido a que se encuentra al margen de una importante planta destiladora de gas (Mega) y presenta una alta influencia antropogénica. Sin embargo, en noviembre de 2007 se suspendieron los muestreos en este sitio debido al relleno con arena por parte de la empresa diezmando a la población de *H. australis* (Fig. 3C). Por esta razón, este sitio no fue incluido en algunos de los análisis.



Figura 3. Sitios de muestreo. **A.** Puerto Cuatreros (Sitio 1); **B.** Villa del Mar (Sitio 2); **C.** Playa cercana a Mega (Sitio 3) antes y después del relleno con arena.

Toma de muestras y trabajo de laboratorio

Desde julio de 2006 hasta julio de 2008 se realizaron 16 muestreos en el estuario de Bahía Blanca, dos en cada estación del año. Además se realizaron 3 muestreos pilotos, en marzo, abril y mayo de 2006, con el fin de seleccionar los lugares de muestreo y adquirir conocimientos sobre el área, técnica de muestreo y reconocimiento de las larvas de digeneos en el laboratorio. Sin tener en cuenta

ī

estos muestreos pilotos, se recolectaron 2.984, 3.223 y 1.297 individuos de la especie *H. australis* en el Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3, respectivamente. En el mes de septiembre de 2007 sólo se muestreó en el Sitio 2 debido a la intensidad de las lluvias que impidieron la entrada a Puerto Cuatreros. La Tabla I muestra las fechas de muestreo para cada sitio.

Tabla I. Fechas de muestreo para cada sitio: Sitio 1 (Puerto Cuatreros), Sitio 2 (Villa del Mar) y Sitio 3 (playa cercana a Puerto Galván). *Muestreos pilotos.

	mar-06 *	abr-06 *	may-06 *	jul-06	sept-06	90-vou	dic-06	ene-07	mar-07	abr-07	jun-07	jul-07	sept-07	nov-07	dic-07	ene-08	feb-08	abr-08	jul-08
Sitio 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Sitio 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sitio 3			+	+	+	+	+	+				+	+						

Los moluscos fueron colectados durante la marea baja en la franja intermareal mediante un tamiz de 1,19 mm de malla (Fig. 4A y 5A) y transportados luego al laboratorio del CEPAVE en la ciudad de La Plata. Allí fueron colocados en acuarios con agua de origen a temperatura ambiente. Se seleccionó una sub-muestra para cada fecha y sitio de muestreo (199 ± 18 individuos para el Sitio 1, 201 ± 26 individuos para el Sitio 2, 185 ± 50 individuos para el Sitio 3). Se tomaron medidas de la conchilla del caracol utilizando un ocular micrométrico (0,2 mm de precisión) incorporado a una lupa estereoscópica Marca Hokenn Optik Modelo ZTX E ZOOM, utilizando el mínimo aumento. Parte de los caracoles recolectados en los meses de noviembre de 2007 y en julio de 2008 fueron medidos utilizando un método más preciso y exacto. A cada individuo se lo fotografió con una cámara digital Marca Canon Modelo PowerShot A80 incorporada a la misma lupa utilizando el mínimo aumento. Luego, se midieron utilizando el programa ImageTool. Las medidas registradas en ambos casos fueron el largo total y el ancho total. Luego, se determinó la presencia de parásitos, el sexo de los caracoles por la presencia de

pene en los machos y la presencia de hembras maduras e inmaduras por presencia y ausencia de ovocitos.

Los otros hospedadores intermediarios fueron recolectados en el Sitio 1, Puerto Cuatreros. Los cangrejos *Cyrtograpsus angulatus* Dana 1851 (N = 65; Fig. 4B) y Neohelice granulata (Dana 1851) (N = 36; Fig. 4C) fueron recolectados en 7 fechas de muestreos durante 2008 (marzo, abril, julio, septiembre y noviembre) y en 2009 (febrero y abril). Los cangrejos fueron recolectados usando redes y trampas (Fig. 5B y 5C). Periódicamente y de la misma manera, se recolectaron sergéstidos Peisos petrunkevitchi Burkenroad 1945 (N = 28) y camarones Artemesia longinaris Bate 1888 (N = 26). Los cirripedios Balanus glandula Darwin 1854 y Balanus amphitrite Darwin 1854 (N = 2.025), el mejillón Brachidontes rodriguezi (d'Orbigny 1842) (N = 43) y la ostra Ostrea spreta d'Orbigny 1846 (N = 144) fueron extraídos manualmente. Anfípodos (N = 167), isópodos (N = 120) y copépodos (N = 100) fueron recolectados utilizando redes de plancton. Todos ellos fueron transportados vivos al laboratorio y mantenidos en acuarios con agua del lugar hasta su examinación. Para la recolección de los poliquetos, se extrajo sedimento con una pala y se lo transportó al laboratorio en un balde de 20 l (Fig. 5D). Allí se separaron filtrando el sedimento con un tamiz de 1,19 mm de malla (Fig. 5A). Se revisaron 311 individuos del género Nereis Linnaeus 1758. Se recolectaron 10 pejerreyes [Odontesthes argentinensis (Valenciennes 1835)] y 7 saraquitas (Ramnogaster arcuata (Jenyns 1842)) en Puerto Cuatreros utilizando redes (Fig. 5C). Los mismos se fijaron y se almacenaron en formalina 10 %.

En marzo de 2008, se recolectó un ejemplar del tero real, *Himantopus melanurus* Vieillot 1817 (Fig. 4D), encontrado en una laguna costera (38° 49′ S - 62° 06′ O). La misma forma parte de un conjunto de lagunas costeras ubicadas a 3,5 km de Villa del Mar y que presenta conexión con este sitio por medio de canales de marea. El individuo fue encontrado muerto y se mantuvo congelado hasta su examinación.

La metodología seguida para el estudio de los digeneos hallados, se describe en los capítulos I y II, según se trate de estadios intramolusco o metacercarias y adultos, respectivamente. En el capítulo II se describen las infestaciones experimentales realizadas. Además, se realizaron cortes histológicos para localizar la ubicación de cada especie de digeneo (Ver Cap. I y II).



Figura 4. Algunos hospedadores de digeneos del estuario de Bahía Blanca. A. *Heleobia australis;*B. *Cyrtograpsus angulatus;* C. *Neohelice granulata;* D. *Himantopus melanurus.*



Figura 5. Material de muestreo. **A.** Tamiz utilizado para la recolección de caracoles y poliquetos; **B.** Trampa utilizada para la recolección de cangrejos y camarones; **C.** Red tipo mediomundo para la recolección de peces y camarones; **D.** Pala y balde utilizados para la recolección y transporte de poliquetos.

Capítulo I: Estadios larvales de digeneos en *Heleobia australis*



a. Objetivo del capítulo

Identificar las formas larvales de los digeneos que parasitan al molusco *Heleobia australis* en el estuario de Bahía Blanca.

b. Antecedentes

Los digeneos son más diversos en ramas más alejadas de la base del cladograma de los gasterópodos, por ejemplo la familia Hydrobiidae ha sido citada como hospedador intermediario de 25 familias de digeneos (Cribb et al., 2001). Los parásitos de caracoles del género *Heleobia* han sido ampliamente estudiados en Argentina, especialmente en Provincia de Buenos Aires (Tabla II).

 Tabla II. Estudios sobre larvas de digeneos parásitas de caracoles del género Heleobia en la

 Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Especie	Sitio	Bibliografía
Heleobia piscium	Río de La Plata	Ostrowski de Núñez, 1974a; 1975a; 1975b;
(d'Orbigny 1835)		1976a; 1981
Heleobia castellanosae	laguna de Los Talas	Martorelli, 1986a
(Gaillard 1974)	Zoológico de la ciudad de	Ostrowski de Núñez, 1987; Ostrowski de
	Buenos Aires	Núñez y Haas, 1991; Ostrowski de Núñez,
		1993; 1996; 1998; 2001
Heleobia parchappei	arroyo Los Ranchos	Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra,
(d'Orbigny 1835)		1991; Ostrowski de Núñez, 1992
	laguna de Los Talas	Martorelli, 1985; 1986b; 1986c; 1988; 1989b
	río Luján	Ostrowski de Núñez, 1995
	laguna Chascomús	Martorelli, 1988; Szidat, 1956; 1957; 1970
	río Quequén	Szidat y Szidat, 1961
	Zoológico de la ciudad de	Ostrowski de Núñez, 1993; 2001; 2007
	Buenos Aires	
Heleobia conexa	laguna costera de Mar	Martorelli, 1986b; 1988; 1989a; 1990; 1991b;
(Gaillard 1974)	Chiquita	Martorelli y Etchegoin, 1996; Etchegoin,
		1997; Etchegoin y Martorelli, 1998
Heleobia australis	laguna costera de Mar	Etchegoin, 1997; Etchegoin y Martorelli,
(d'Orbigny 1835)	Chiquita	1997a

Szidat (1956; 1957) estudió los parásitos de un hidróbido colectado en la laguna de Chascomús, al cual determinó como *H. australis*. Sin embargo Martorelli (1984) considera que esta cita de hospedador es errónea y debe tratarse de *H. parchappei* dado que *H. australis* es una especie marina que soporta ambientes estuariales. En trabajos posteriores, Szidat (1970) menciona a *H. parchappei* como el caracol más abundante de la laguna.

También se han realizado algunos estudios parasitarios para la especie patagónica *Heleobia hatcheri* (Pilsbry 1911) (Flores, 2004; Flores y Brugni, 2006; Ostrowski de Núñez et al., 1999).

Heleobia australis es hospedador intermediario de varios estadios larvales de distintas especies de digeneos, incluyendo: *Maritrema bonaerensis* Etchegoin y Martorelli 1997 (Microphallidae) en Argentina (Etchegoin y Martorelli, 1997a); *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom 1920 (Heterophyidae) en Uruguay (Carnevia et al., 2004) y en Brasil (Simões et al. 2010); y *Pygidiopsis macrostomum* Travassos 1928 (Heterophyidae) y *Acanthocollaritrema umbilicatum* Travassos, Freitas y Bührnheim 1965 (Cryptogonimidae) en Brasil (Simões et al. 2008; 2009). Etchegoin (1997) describe en su tesis doctoral a 13 tipos morfológicos de cercarias que parasitan a *H. australis* y a *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita, esta última especie ausente en el estuario de Bahía Blanca. Castro (2000) y Castro et al. (2006) identificaron siete especies que corresponden a cuatro tipos morfológicos (oculocercarias, xifidiocercarias, furcocercarias y magnacaudas) parasitando a *H. australis* en la costa uruguaya del Río de La Plata, sin embargo ninguna de ellas fue descripta formalmente.

c. Trabajo de laboratorio

Para promover la emergencia de cercarias, los caracoles fueron aislados en frascos de 2 ml conteniendo agua del estuario, a temperatura ambiente, durante 8 horas aproximadamente y durante tres días consecutivos, bajo iluminación constante (Fig. 6). La detección de caracoles infectados fue realizada bajo lupa binocular. Las cercarias fueron estudiadas "in vivo" bajo microscopio óptico. En el caso de las cercarias de la familia Microphallidae y Heterophyidae se utilizó el colorante vital rojo neutro con el fin de colorear las glándulas de penetración. Los caracoles fueron posteriormente disecados para el estudio de los estadios intramolusco (esporocistos, redias y metacercarias) y para corroborar la ausencia de infección. En el caso de las infecciones tempranas (infecciones prepatentes), la identificación de las especies de digeneos no fue posible. Se realizaron cortes histológicos de 5-6 micras de espesor de los caracoles parasitados y se colorearon con la técnica hematoxilina-eosina (H-E) a fin de localizar la ubicación de cada especie de digeneo.



Figura 6. Placas utilizadas para la emergencia de cercarias.

Los dibujos fueron hechos con la ayuda de una cámara clara en un microscopio Wild M20. Las medidas de los parásitos están basadas en 10-30 especímenes, excepto en los casos en donde se indica lo contrario, fijados en formol 10 % caliente. Se expresan en milímetros con el promedio y el rango mínimo-máximo entre paréntesis. Todas las medidas de las cercarias están tomadas de cercarias recién emergidas, excepto por Cercaria Haploporidae, debido a que enquistaban rápidamente luego de emerger, y Furcocercaria Sanguinicolidae, Cercaria Homalometronine y la cercaria de *Psilochasmus oxyurus* (Creplin 1835) Lühe 1909, donde no se pudo observar su emergencia. La comparación con otras larvas de digeneos descriptas en la literatura se basó en el rango mínimo-máximo, o en el promedio cuando no se mencionaba el anterior. Además, se tomaron fotografías con una cámara digital en un microscopio Olympus BX51.

d. Resultados y Discusión

A continuación se describen las larvas de digeneos halladas en el caracol *H. australis* del estuario de Bahía Blanca. En ningún caso se observó el estadio intramolusco esporocisto madre, generalmente descripto en los estudios de ciclos de vida con infestaciones experimentales en el primer hospedador intermediario.

SUPERFAMILIA OPISTHORCHIOIDEA Looss 1899 FAMILIA HETEROPHYIDAE Leiper 1909

Pleurolophocercaria I cf. Ascocotyle (Phagicola) longa Ransom 1920

Procedencia: Sitio 1 y Sitio 2

Sitio de infección: gónada (Fig. 7)

Prevalencia: 1,24 % (Sitio 1) y 0,99 % (Sitio 2)

Descripción de la cercaria (Fig. 8A y 8C): Cuerpo piriforme de 0,144 (0,119-0,190) de largo y 0,078 (0,056-0,107) de ancho, cubierto con diminutas espinas que comienzan a disminuir de tamaño a nivel de los cuerpos glandulares, sin pelos sensitivos. Ventosa oral esférica de 0,030 (0,019-0,037) de largo y 0,029 (0,024-0,042) de ancho, con abertura subterminal. Espinas aciculares anteriores a la abertura oral, dispuestas en dos hileras, 6-8 anteriores y 5-7 posteriores. Papilas en posición lateral y posterior a la abertura oral en número de 6 a 8. Un par de ocelos pigmentados de 0,007 (0,007-0,008) de largo y 0,009 (0,007-0,011) de ancho, 0,018 (0,012-0,027) distanciados entre sí y 0,038 (0,019-0,051) del borde anterior del cuerpo. Ocelos con lente. Faringe y ciegos intestinales ausentes. Siete pares de glándulas de penetración, posteriores a los ocelos, dispuestas en dos hileras a cada lado del cuerpo. La interna, compuesta por cuatro glándulas se tiñe levemente con rojo neutro, mientras que la externa, compuesta por tres glándulas, se tiñe de manera más intensa. Los conductos glandulares desembocan en el extremo anterior con la fórmula 3-4-4-3. Ventosa ventral ausente, observándose en su lugar un pequeño grupo de células. Vesícula excretora epiteliocística, en forma de V con células epiteliales bien evidentes. Conducto excretor corto que finaliza en dos poros excretores laterales, en el primer tercio de la cola. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Cola levemente estriada de 0,155 (0,119-0,186) de largo y 0,021 (0,015-0,025) de ancho, sin cutícula engrosada, con una pequeña aleta ventral y una espina caudal. Inserción de la cola postero-ventral, con un cuerpo de inserción que se tiñe fuertemente con rojo neutro ubicado por debajo de la vesícula. Al emerger, las cercarias nadan batiendo enérgicamente la cola de lado a lado.

<u>Descripción de la redia</u> (Fig. 8B): Cuerpo de 0,356 (0,258-0,443) de largo y 0,117 (0,073-0,160) de ancho, que aumentan su tamaño al madurar. Faringe de 0,030 (0,027-0,033) de largo y 0,021 (0,017-0,027) de ancho y ciego intestinal muy corto. El desarrollo de cercarias es ascendente hacia la faringe.

<u>Discusión</u>: Según Schell (1970), la Pleurolophocercaria se caracteriza por la presencia de una vesícula bilobada de pared epitelial gruesa, por presentar una aleta dorsoventral en la cola y la ausencia de ventosa ventral y aletas natatorias laterales en la cola. La Pleurolophocercaria I presenta gran semejanza con la cercaria de *A*. (*P*.) longa descripta por Simões et al. (2010) en *H. australis* de la laguna Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil. Se diferencia de esta última por desarrollarse en una redia más corta (0,258-0,443 vs. 0,470-0,500), aunque esta diferencia podría deberse al grado de madurez de las redias medidas. En el presente estudio, las redias fueron observadas parasitando sólo la gónada, en cambio Simões et al. (2010) observaron redias en la glándula digestiva y en la gónada. Castro et al. (2006) identificaron, con infestaciones experimentales, a la

cercaria de A. (P.) longa parasitando a H. australis en la costa norte del estuario del Río de La Plata, Uruguay, sin embargo los autores no brindaron medidas ni figuras. Existen 15 Pleurolophocercarias sin aletas caudales o con una pequeña aleta dorsoventral, o cresta, citadas en Sudamérica: Ascocotyle (Leighia) hadra Ostrowski de Núñez 1992 parásito de H. parchappei en el arroyo Ranchos (Ostrowski de Núñez, 1992); Ascocotyle (Phagicola) diminuta (Stunkard y Haviland 1924) parásito de H. castellanosae y H. parchappei en un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires y del arroyo Ranchos, respectivamente (Ostrowski de Núñez, 1993); Ascocotyle (Phagicola) angeloi, Travassos 1928 parásito de H. castellanosae en un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1998); Ascocotyle (Ascocotyle) tenuicollis Price 1935 parásito de H. piscium en el Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1976a); Ascocotyle (Ascocotyle) secunda y de Ascocotyle (Ascocotyle) tertia, parásitos de H. castellanossae y H. parchappei en un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires y del arroyo Ranchos (Ostrowski de Núñez, 2001); Pygidiopsis crassus Ostrowski de Núñez 1995 parásito de H. parchappei en el río Luján y en diferentes estanques de la Provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1995); Pygidiopsis pindoramensis Travassos 1928 parásito de H. piscium en el Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1976a); Pygidiopsis macrostomun Travassos 1928 parásito de H. australis en la laguna Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil, (Simões et al., 2009); Pygidiopsis australis Ostrowski de Núñez 1996 parásito de H. castellanossae en un estanque artificial de Zoológico de la ciudad de Buenos Núñez, 1996); Aires (Ostrowski de Pleurolophocercaria II, V Pleurolophocercaria III, Pleurolophocercaria IV, Pleurolophocercaria V y Pleurolophocercaria VI descriptas por Martorelli y Etchegoin (1996). La cercaria aquí descripta se diferencia de A. (L.) hadra porque la cercaria de esta especie posee pelos sensitivos en el cuerpo, 3 hileras de espinas aciculares, 24 protonefridios, cola más larga y gruesa (0,235-0,277 x 0,032-0,042 vs. 0,119-0,186 x 0,015-0,025), fuertemente estriada, y desarrollándose en una de mayor tamaño (0,512-1,134 vs. 0,258-0,443); de A. (P.) diminuta difiere por poseer pelos sensitivos en la redia y en el cuerpo de la cercaria, una hilera de espinas aciculares y vesícula alargada transversalmente; de A. (P.) angeloi se distingue por poseer pelos sensitivos en la redia y en el cuerpo de la cercaria y una vesícula ovalada; de A. (A.) tenuicollis difiere por carecer de espinas aciculares, por presentar pelos sensitivos en el cuerpo de la cercaria, el cual presenta menor tamaño (0,083-0,094 x 0,035-0,043 vs. 0,119-0,190 x 0,056-0,107), vesícula excretora ovalada y la cola más corta (0,067-0,086 vs. 0,119-0,186) con la cutícula engrosada en los dos primeros tercios de la cola; de A. (A.) secunda y de A. (A.) tertia difere porque poseen pelos sensitivos en la redia y en el cuerpo de la cercaria, 3-4 hileras de espinas aciculares, cuatro pares de glándulas de penetración, ventosa anterior protrusible en una invaginación del tegumento y ventosa ventral redonda. Además, se diferencia de A. (A.) secunda porque esta última posee el cuerpo más pequeño (0,101-0,117 x 0,041-0,051 vs. 0,119-0,190 x 0,056-0,107) y una cola más corta (0,077-0,101 vs. 0,119-0,186) con tegumento engrosado en el margen anterior. Se diferencia también de la cercaria de P. crassus por carecer de espinas aciculares, y por poseer papilas con pequeños pelos sensitivos en el cuerpo y una cola más corta (0,023-0,034 vs. 0,119-0,186) fuertemente estriada; de P. pindoramensis poque posee una hilera de espinas aciculares, vesícula excretora ovalada, pelos sensitivos en el cuerpo de la cercaria y de la redia y un cuerpo más corto (0,105-0,116 vs. 0,119-0,190); de P. macrostomun por la ausencia de espinas aciculares y por poseer 24 protonefridios, una cercaria con un cuerpo más ancho (0,137-0,146 vs. 0,056-0,107) y una cola más larga (0,256-0,265 vs. 0,119-0,186) fuertemente estriada y una redia de mayor tamaño (0,56-0,691 vs. 0,258-0,443); de P. australis por poseer pelos sensitivos en el cuerpo de la cercaria y de la redia, una hilera de espinas aciculares, una vesícula elongada transversalmente y por la disposición 2-5-5-2 de los poros de las glándulas de penetración. Además, la cercaria aquí descripta se diferencia de Pleurolophocercaria II porque posee 3 hileras de espinas aciculares, 24 protonefridios, una cola más larga (0,250-0,280 vs. 0,119-0,186) fuertemente estriada y una redia más larga (1,05-1,1 vs. 0,258-0,443); de Pleurolophocercaria IV por poseer 24 protonofredios, una vesícula que sobrepasa anteriormente los cuerpos de las glándulas, una cola más larga (0,230-0,390 vs. 0,119-0,186) fuertemente estriada y una redia más corta (0,09-0,11 vs. 0,258-0,443); de Pleurolophocercaria V por la ausencia de espinas aciculares y poseer 4 pares de glándulas de penetración, una vesícula redonda, un cuerpo de menor tamaño (0,073-0,087 x 0,030-0,050 vs. 0,119-0,190 x 0,056-0,107), una cola más corta (0,065-0,095 vs. 0,119-0,186) con cutícula engrosada en su mitad anterior y una redia más larga (0,258-0,443 vs. 0,5-0,8); y de Pleurolophocercaria VI por la ausencia de espinas aciculares y poseer pelos sensitivos en el cuerpo de la cercaria, 4 pares de glándulas de penetración, una vesícula redonda, un cuerpo más corto (0,072-0,104 vs. 0,119-0,190), una cola más corta (0,080-0,110 vs. 0,119-0,186) fuertemente estriada y una redia más larga (0,9-1,2 vs. 0,258-0,443). En cambio, la morfología y los valores morfológicos son similares a los de Pleurolophocercaria III. Etchegoin (1997) cita a esta misma cercaria en *H. australis* para el mismo sitio. Sin embargo, se diferencia por el número de hileras de espinas aciculares, una en la descripta por Etchegoin (1997) y Martorelli y Etchegoin (1996), y dos en la del presente trabajo y en la cercaria de *A*. (*P*.) longa (Simões et al., 2010).


Figura 7. Corte histológico (H-E) de tejido gonadal de *Heleobia australis* parasitado por Pleurolophocercaria I (**gl**: glándula digestiva; **go**: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos; **r**: redia; **c**: cercaria).



Figura 8. Pleurolophocercaria I cf. *Ascocotyle (Phagicola) longa*. **A.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía; **B.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Detalle de la ventosa oral de la cercaria, **g**: poros de las glándulas de penetración, **e**: espinas aciculares, **p**: papilas (Vista ventral; Barra de escala: 0,01 mm).

cf. FAMILIA CRYPTOGONIMIDAE Ward 1917

Pleurolophocercaria II = Cercaria Opisthorchioidea

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: gónada (Fig. 9)

Prevalencia: 0,30 % (Sitio 1), 0,19 % (Sitio 2) y 0,39 % (Sitio 3)

Descripción de la cercaria (Fig. 10A y 10B): Cuerpo piriforme de 0,187 (0,153-0,214) de largo y 0,083 (0,051-0,110) de ancho, cubierto de espinas a nivel de la ventosa oral. Un par de ocelos pigmentados posteriores a la ventosa oral, de 0,012 (0,007-0,015) de largo y 0,019 (0,006-0,029) de ancho, 0,012 (0,008-0,017) distanciados entre sí y 0,045 (0,032-0,063) del borde anterior del cuerpo. Ocelos con forma de rombo y con lente. Espinas aciculares dorsales a la ventosa oral, dispuestas en tres hileras (4-1-2). Ventosa oral de 0,031 (0,019-0,038) de largo y 0,028 (0,024-0,033) de ancho. Faringe y ciegos intestinales ausentes. Ventosa ventral ausente, en su lugar un cúmulo de células. Siete pares de glándulas de penetración posteriores a las manchas oculares y dispuestas en dos hileras a cada lado del cuerpo de 3-4-4-3 células. Sus conductos desembocan en el extremo anterior, dorsales a la ventosa oral. Vesícula excretora epiteliocística, en forma de V, con células epiteliales bien evidentes. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Cola de 0,398 (0,331-0,450) de largo y 0,030 (0,023-0,036) de ancho, con una amplia aleta dorsoventral. Cuando emergen, las cercarias nadan batiendo la cola de lado a lado. En la posición de descanso, caen al fondo adaptando el cuerpo en forma de "pipa".

<u>Descripción de la redia</u> (Fig. 10C): La talla varía con el estado de desarrollo. Las redias maduras miden 0,356 (0,246-0,597) de largo y 0,134 (0,123-0,151) de ancho y pueden albergar hasta 20 cercarias. La faringe de 0,028 (0,012-0,035) de largo y 0,028 (0,021-0,040) de ancho, se comunica con un intestino sacular pequeño.

<u>Discusión</u>: Según Schell (1970), la Pleurolophocercaria se caracteriza por la presencia de una vesícula bilobada de pared epitelial gruesa y una aleta dorsoventral en la cola y la ausencia de ventosa ventral y aletas natatorias laterales en la cola. La Superfamilia Opisthorchioidea, que incluye a las familias

Cryptogonimidae, Opisthorchiidae Looss 1899 y Heterophyidae, posee este tipo morfológico de cercaria. Según Dunagan (1960) los caracteres se distribuyen indistintamente en las cercarias de las familias mencionadas, sin embargo, la presencia de una aleta dorsoventral bien desarrollada es característica de las cercarias de la familia Cryptogonimidae [sinónimo de Acanthocollaritrematidae Travassos, Freitas y Bührnheim 1965 según Miller y Cribb (2008)]. De las Pleurolophocercarias con aleta caudal dorsoventral bien desarrollada descriptas para Sudamérica, la del presente estudio se diferencia de Acanthocollaritrema umbilicatum Travassos, Freitas y Bührnheim 1965, parásito de H. australis en la laguna Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil (Simões et al., 2008), por poseer cuerpo y cola más cortos (cuerpo: 0,115-0,126 vs. 0,153-0,214; cola: 0,251-0,294 vs. 0,331-0,450) y una ventosa oral más pequeña (0,018-0,023 x 0,018-0,023 vs. 0,019-0,038 x 0,024-0,033); de Acanthostomum brauni Mañe Garzon y Gil 1961, parásito de *H. castellanosae* en un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1987) y de Acanthostomum gnerii Szidat 1954, parásito de *H. parchappei* en el arroyo Ranchos (Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra, 1991) por poseer 36 protonefridios, cutícula engrosada en el primer cuarto de la cola, aleta dorsoventral que comienza luego de este engrosamiento y pelos sensitivos en el cuerpo de la cercaria de ambas especies y en la redia en el caso de A. brauni. La cercaria de A. gnerii presenta gran similitud con otra hallada en H. piscium proveniente de un zanjón que desemboca en el Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1974a). Las medidas y la morfología de la cercaria aquí descripta coinciden con las de Pleurolophocercaria I en H. conexa y en H. australis de la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli y Etchegoin, 1996; Etchegoin, 1997). Hasta no dilucidar el ciclo de vida de este digeneo, no es posible identificar este estadio larval a nivel específico.



Figura 9. Corte histológico (H-E) de tejido gonadal de *Heleobia australis* parasitado por las redias de Cercaria Opisthorchioidea (**gl**: glándula digestiva; **go**: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos; **r**: redia; **c**: cercaria).



Figura 10. Cercaria Opisthorchioidea. **A.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Detalle de la ventosa oral de la cercaria en vista ventral (Barra de escala: 0,02 mm); **C.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm).

SUPERFAMILIA LEPOCREADIOIDEA Odhner 1905

Cercaria Apocreadiinae

Procedencia: Sitio 1

<u>Sitio de infección</u>: no se realizaron cortes histológicos por lo tanto no se pudo precisar el sitio de infección.

Prevalencia: 0,13 %

Descripción de la cercaria (Fig. 11A): Cuerpo ovoide de 0,226 (0,203-0,327) de largo y 0,129 (0,110-0,143) de ancho, cubierto de setas. Ventosa oral subterminal de 0,052 (0,047-0,063) de largo y 0,047 (0,043-0,050) de ancho. Ventosa ventral ubicada en la mitad del cuerpo, de 0,043 (0,037-0,050) de largo y 0,050 (0,043-0,057) de ancho. Cinco pares de glándulas a cada lado de la faringe, sus conductos desembocan en la región anterior en cuatro grupos de 2-3-3-2 poros. Un par de manchas oculares posteriores a la ventosa oral de 0,017 (0,013-0,018) de diámetro y 0,026 (0,020-0,033) distanciados entre sí. Sistema digestivo compuesto por boca, prefaringe, faringe de 0,030 (0,027-0,037) de largo y 0,018 (0,017-0,023) de ancho, esófago corto y ciegos intestinales que se dividen justo por encima de la ventosa ventral y alcanzan la vesícula excretora. Vesícula excretora epiteliocística redonda. No se observaron las células flamígeras. Cola de 0,325 (0,303-0,350) de largo y 0,034 (0,030-0,040) de ancho, con 3 setas dispuestas a cada lado de la primera mitad de la cola.

<u>Descripción de la redia</u> (Fig. 11B): Cuerpo de 0,442 (0,308-0,666) de largo y 0,157 (0,130-0,179) de ancho con una faringe de 0,053 (0,039-0,058) de largo y 0,053 (0,045-0,058) de ancho y saco intestinal que no sobrepasa el primer tercio del cuerpo, de 0,107 (0,088-0,185) de largo y 0,097 (0,058-0,133) de ancho.

<u>Discusión</u>: La presencia de manchas oculares, ventosa oral y ventral, setas en cola y cuerpo y vesícula excretora epiteliocística, ubican a esta cercaria dentro del grupo de cercarias Homalometronine (Schell, 1970), sinónimo de Apocreadiinae Skrjabin 1942 según Cribb (2005). Las familias incluidas en la superfamilia Lepocreadioidea presentan este tipo de cercaria. Existen 3 cercarias de este tipo descriptas en Argentina: la de *Homalometron*

pseudopallidum Martorelli 1986 parásito de *H. castellanosae* en una laguna de Los Talas (Martorelli, 1986a); Cercaria heleobicola II parásita de *H. conexa* (Martorelli, 1989a; Etchegoin, 1997) y de *H. australis* (Etchegoin, 1997) en la laguna costera de Mar Chiquita; y Cercaria Ophtalmogymnocephala parásito de *H. hatcheri* en el río Limay, Provincia de Neuquén (Flores, 2004). La cercaria aquí descripta se diferencia de *H. pseudopallidum* porque esta especie presenta seis pares de glándulas de penetración y manchas oculares más pequeñas (0,008-0,012 vs. 0,013-0,018) y una redia de mayor tamaño (0,7-1,3 x 0,2-0,4 vs. 0,308-0,666 x 0,130-0,179); de Cercaria heleobicola II porque posee seis glándulas de penetración, mayor ancho del cuerpo (0,162 vs. 0,110-0,143) y cola más corta y ancha (0,225 x 0,05 vs. 0,303-0,350 x 0,030-0,040); y de cercaria Ophtalmogymnocephala porque posee cuatro pares de glándulas de penetración, cola más pequeña (0,226-0,228 x 0,017-0,024 vs. 0,303-0,350 x 0,030-0,040) y faringe más corta (0,017-0,024 vs. 0,027-0,037).



Figura 11. Cercaria Apocreadiinae. **A.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm).

SUPERFAMILIA SCHISTOSOMATOIDEA Stiles y Hassall 1898 FAMILIA SANGUINICOLIDAE von Graff 1907

Furcocercaria Sanguinicolidae

Procedencia: Sitio 1

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 12)

Prevalencia: 0,10 % (Sitio 1)

Descripción de la cercaria (Fig. 13B): Cuerpo pequeño, alargado, traslúcido y estrecho, de 0,088 (0,076-0,115) de largo y 0,029 (0,024-0,034) de ancho.

Tegumento con espinas prominentes en la zona anterior del cuerpo que van disminuyendo de tamaño hacia la zona posterior. Cola estriada formada por un tronco caudal de 0,169 (0,159-0,187) de largo y 0,014 (0,014-0,017) de ancho y dos furcas de 0,062 (0,053-0,080) de largo y 0,011 (0,009-0,012) de ancho con una aleta dorsoventral. Ocho pares de glándulas de penetración: siete pares desembocan en la parte anterior del cuerpo en cuatro grupos poros (3-4-4-3) y un par situadas entre los conductos de las glándulas anteriores y que desembocan por delante de éstas. Ventosa oral y ventral y sistema digestivo ausentes. Vesícula excretora redonda, se continúa con el conducto excretor que recorre la cola y finaliza en dos poros excretores al final de las furcas. Células flamígeras no observadas.

<u>Descripción del esporocisto</u> (Fig. 13A): Cuerpo pequeño de 0,139 (0,083-0,178) de largo y 0,084 (0,050-0,122) de ancho, sacciforme; puede presentar dos o tres cercarias en formación.

Discusión: La ausencia de ventosas oral y ventral, ocelos y sistema digestivo, la presencia de aletas dorsoventrales en las furcas caudales y de ocho pares de glándulas de penetración, dos poros excretores en cada extremo de las furcas ubican a esta cercaria dentro de la familia Sanguinicolidae (Combes, 1980). Esta familia se caracteriza por la presencia de una cresta dorsal en el cuerpo de la cercaria, aunque según Combes (1980) puede estar ausente como en el caso de la cercaria de Sanguinicola davisi Wales 1958 parásito de los caracoles de agua dulce Oxytrema circumlineata y Oxytrema silicula (Gould) en Estados Unidos. La cercaria de esta especie se diferencia de la cercaria aquí descripta por la presencia de faringe, por desarrollarse en redias [ambas características dudosas según Combes (1980)], y por poseer el cuerpo y la cola de mayor tamaño (cuerpo: 0,230 x 0,056 vs. 0,076-0,115 x 0,024-0,034; cola: 0,340 x 0,035 vs. 0,159-0,187 x 0,014-0,017). Si bien Etchegoin (1997) halló una cercaria similar parasitando a *H. australis* y *H. conexa* de la laguna costera de Mar Chiquita, se diferencia de la furcocercaria de H. australis del estuario de Bahía Blanca por presentar un cuerpo opaco, 3 pares de glándulas de penetración, una estructura triangular refringente en el extremo anterior, tronco caudal más corto (0,0300,036 vs. 0,159-0,187) y furcas también más cortas y angostas (0,017-0,018 x 0,007-0,008 vs. 0,053-0,080 x 0,009-0,012). Finalemente, Avendaño de Mac Intosh y Ostrowski de Núñez (1998) mencionan la presencia de una cercaria perteneciente a esta familia parasitando a *H. parchappei* en el puerto de Buenos Aires, sin embargo no realizan su descripción. No existen otros registros de cercarias de esta familia en la Argentina.



Figura 12. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitada por esporocistos de la Furcocercaria Sanguinicolidae (**gl**: glándula digestiva; **go**: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos; **e**: esporocisto).



Figura 13. Furcocercaria Sanguinicolidae. **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,05 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

SUPERFAMILIA PRONOCEPHALOIDEA Looss 1899 FAMILIA NOTOCOTYLIDAE Lühe 1909

Cercaria Notocotylidae

<u>Procedencia</u>: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3
<u>Sitio de infección</u>: Redias en gónada y glándula digestiva (Fig. 14A); metacercarias adheridas a la conchilla y al opérculo (Fig. 14B)
<u>Prevalencia</u>: 0,07 % (Sitio 1), 0,40 % (Sitio 2) y 0,08 % (Sitio 3)
<u>Descripción de la cercaria</u> (Fig. 15B y 15C): Cuerpo oval de 0,419 (0,347-0,483) de largo y 0,176 (0,137-0,213) de ancho, con abundante pigmento y células

cistógenas. Ventosa oral subterminal de 0,042 (0,033-0,063) de largo y 0,041 (0,027-0,047) de ancho. En el tercio anterior del cuerpo se ubican tres ocelos con pigmento que se esparce lateralmente; el de posición mediana es de menor tamaño y no se encuentra desarrollado en las cercarias inmaduras. Los ocelos laterales miden 0,017 (0,012-0,027) de diámetro y se distancian 0,074 (0,043-0,107) entre sí y 0,071 (0,053-0,087) del borde anterior del cuerpo. Un par de órganos adhesivos ubicados en la parte posterior del cuerpo. Faringe ausente. Esófago que origina dos ciegos intestinales a nivel de los ocelos. Ventosa ventral ausente. Vesícula excretora pequeña, se comunica con dos túbulos colectores que contienen numerosos gránulos. Los túbulos se aproximan entre sí a nivel de los ocelos, se unen posteriormente a la ventosa oral y presentan extensiones digitiformes sobre los márgenes antero-laterales. La vesícula se comunica con un canal excretor que recorre la cola aunque no se observa dónde finaliza. Número de células flamígeras no determinado debido a la gran cantidad de células cistógenas. Cola sin aletas de 0,334 (0,270-0,417) de largo y 0,062 (0,037-0,070) de ancho.

Descripción de la redia y la metacercaria (Fig. 15A y 15D): Cuerpo de 0,503 (0,295-0,660) de largo y 0,186 (0,110-0,240) de ancho. La faringe de 0,049 (0,025-0,067) de largo y 0,040 (0,020-0,057) de ancho, se comunica con un ciego intestinal de color oscuro que sobrepasa la mitad del cuerpo.

Las cercarias continúan creciendo fuera de la redia, en la gónada y glándula digestiva. Al emerger las cercarias se enquistan sobre la conchilla, en un quiste subesférico de color pardo, de 0,169 (0,153-0,190) de diámetro y con una doble pared, la interna de 0,005 (0,003-0,007) de espesor y la externa de 0,010 (0,007-0,013) de espesor. Es común observar en el caracol parasitado con esta especie de digeneo, abundantes metacercarias adheridas a la conchilla y al opérculo (Fig. 14B y 15E).

<u>Discusión</u>: La ausencia de ventosa ventral y la presencia de manchas oculares, un par de órganos adhesivos en la parte posterior del cuerpo, con el sistema excretor estenostomado con conductos excretores unidos en la parte anterior del cuerpo y abundantes glándulas cistógenas ubican a esta cercaria dentro de las cercarias tipo Monostoma, representantes de las familias Notocotylidae y Pronocephalidae (Schell, 1970). Sin embargo, según Yamaguti (1975) las cercarias de esta última familia presentan un collar cefálico, excepto por la cercaria de Notocotyloides petasatus (Deslongchamps 1824) cuyo género fue luego incluido en la familia Notocotylidae por Barton y Blair (2005). En Argentina las cercarias de la familia Notocotylidae que poseen conductos excretores con extensiones digitiformes sobre los márgenes antero-laterales son: Cercaria littoridinae descripta por Szidat y Szidat (1961) parasitando a H. parchappei del río Quequén, y Cercaria Notocotylidae sp. 1 descripta por Etchegoin (1997), parásita de H. australis y H. conexa de la laguna costera de Mar Chiquita. Sin embargo, la primera se diferencia de la aquí descripta por el menor tamaño del cuerpo y de la ventosa oral (cuerpo: 0,25 x 0,11 vs. 0,347-0,483 x 0,137-0,213; ventosa oral: 0,028 x 0,015 vs. 0,033-0,063 x 0,027-0,047) y la segunda por poseer un cuerpo más corto (0,29-0,33 vs. 0,347-0,483) y un quiste de menor tamaño (0,055 vs. 0,153-0,190). Las otras cercarias de esta familia descriptas para la Argentina difieren de la aquí descripta principalmente por presentar conductos excretores sin extensiones digitiformes sobre los márgenes antero-laterales. Éstas son: Paramonostomum antarcticum Graefe 1968 parásito de Laevilitrorina caliginosa en la Antártida descripta por Graefe (1968); Hippocrepis fuelleborni Travassos y Vogelsang 1930 en Biomphalaria peregrina del río Luján, Provincia de Buenos Aires, descripta por Ostrowski de Núñez (1976b); la descripta por Morris (1978) en B. peregrina del arroyo Carnaval de Villa Elisa, Provincia de Buenos Aires; la descripta por Hamann et al. (1993) en Drepanotrema lucidum de la laguna Paiva, Provincia de Corrientes; y las cercarias de Catatropis chilinae Flores y Brugni 2003 en C. dombeyana, Notocotylus biomphalariae Flores y Brugni 2005 en B. peregrina y Catatropis hatcheri Flores y Brugni 2006 en H. hatcheri del sur argentino, descriptas por Flores y Brugni (2003; 2005; 2006). Además, se diferencia de H. fuelleborni por poseer un cuerpo más pequeño (0,233-0,350 x 0,116 vs. 0,347-0,483 x 0,137-0,213) y una redia mayor (1,272 x 0,31 vs. 0,295-0,660 x 0,110-0,240); de la descripta por Morris (1978) por ser una cercaria con un cuerpo más grande (0,513 x 0,25 vs. 0,347-0,483 x 0,137-0,213) y desarrollarse en una redia de mayor tamaño (1,45 x 0,325 vs. 0,295-0,660 x 0,110- 0,240) con una faringe más pequeña (0,1 x 0,06 vs. 0,025-0,067 x 0,020-0,057); de *C. chilinae* por poseer menor distancia entre el borde anterior del cuerpo y los ocelos (0,024-0,048 vs. 0,053-0,087) y desarrollarse en un quiste de menor diámetro (0,125-0,144 vs. 0,153-0,190); y de *N. biomphalariae* porque posee una cola más larga (0,634-0,797 vs. 0,270-0,417).

Hasta no dilucidar el ciclo de vida de este digeneo, no es posible identificar este estadio larval a nivel específico.



Figura 14. Corte histológico (H-E). **A.** Gónada (**go**) y glándula digestiva (**gl**) de *Heleobia australis* parasitado por la redia de la Cercaria Notocotylidae (**r**) y metacercarias de *Microphallus simillimus* (**m**); **B.** Metacercarias Notocotylidae adheridas al opérculo del caracol (flechas).



Figura 15. Cercaria Notocotylidae. **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria madura (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Cercaria inmadura "in vivo"; **D.** Metacercaria enquistada, vista frontal y lateral (Barra de escala: 0,1 mm); **E.** Especimen de *Heleobia australis* con metacercarias adheridas a la conchilla y al opérculo.

SUPERFAMILIA HAPLOPOROIDEA Nicoll 1914 FAMILIA HAPLOPORIDAE Nicoll 1914

Cercaria Haploporidae

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 16)

Prevalencia: 0,40 % (Sitio 1), 0,25 % (Sitio 2) y 0,15 (Sitio 3)

Descripción de la cercaria (Fig. 17B): Cuerpo ovoide de 0,479 (0,364-0,579) de largo y 0,160 (0,133-0,186) de ancho, cubierto de espinas y con abundantes células cistógenas. Ventosa oral oval, subterminal, de 0,086 (0,053-0,100) de largo y 0,095 (0,067-0,114) de ancho, con abertura oral subterminal. Un par de ocelos pigmentados posteriores a la ventosa oral, distanciados 0,029 (0,014-0,036) entre sí v 0,097 (0,079-0,129) del borde anterior. Sistema digestivo formado por prefaringe, faringe de 0,054 (0,050-0,057) de largo y 0,044 (0,033-0,050) de ancho, esófago y un par de ciegos intestinales sacciformes que llegan hasta el tercio posterior del cuerpo. Ventosa ventral esférica y protruyente ubicado inmediatamente por debajo de la mitad posterior del cuerpo, de 0,076 (0,064-0,093) de largo y 0,081 (0,057-0,107) de ancho. No se pudo determinar el número glándulas de penetración cuyos conductos desembocan en el extremo anterior del cuerpo. Vesícula excretora en forma de Y que desemboca en una pequeña cámara ubicada en la base de la cola que se continúa con dos conductos cortos que desembocan lateralmente. Células flamígeras no observadas debido a las abundantes células cistógenas. Cola sin tegumento engrosado ni aletas, de 0,467 (0,363-0,543) de largo y 0,044 (0,036-0,057) de ancho y que se inserta ventrosubterminalmente.

Descripción de la redia y la metacercaria (Fig. 17A y 17C): Las redias maduras miden 0,523 (0,417-0,627) de largo y 0,161 (0,090-0,210) de ancho. La faringe, de 0,050 (0,043-0,057) de largo y 0,039 (0,033-0,047) de ancho, se comunica con un ciego intestinal de color oscuro que ocupa el primer tercio del cuerpo. El segundo tercio ocupado por cercarias en formación y el tercero por células germinales.

Las cercarias terminan de madurar fuera de la redia en la gónada y la glándula digestiva y al emerger, se enquistan libremente en la columna de agua, perdiendo su cola y formando un quiste ovalado de 0,200 (0,160-0,233) x 0,179 (0,130-0,230). El quiste tiene una pared interna resistente, de 0,008 (0,003-0,019) de espesor, y una pared externa fina que desarrolla 2-5 filamentos laterales con un anillo en su extremo.

Discusión: La presencia de ocelos, sistema excretor estenostomado, dos ventosas y cola tan o más larga que el cuerpo, la ausencia de collar cefálico y estilete (cercaria gimnocéfala) y de una metacercaria que se enquista libremente en el agua, permiten ubicar a estos especímenes dentro de la familia Haploporidae (Shameem y Madhavi, 1991). De las metacercarias conocidas hasta el momento para esta familia, solo las de *Saccocoelioides martini* Madhavi 1979 de India (Shameem y Madhavi, 1991), *Saccocoelioides pearsoni* Martin 1973 de Australia (Martin, 1973) y *Culuwiya tilapiae* (Nasir y Gómez 1976) de Venezuela (Díaz et al., 2009), presentan filamentos en la pared quística al igual que la metacercaria aquí descripta. Sin embargo, se diferencia de todas ellas por diferentes caracteres morfológicos. Así, de *S. martini* por poseer una vesícula excretora pequeña y numerosos pelos sensitivos en el tegumento de la cercaria y de *C. tilapiae* principalmente por poseer numerosos pelos sensitivos en el tegumento de la cercaria y de la redia.

En Argentina fueron descriptas siete especies de esta familia: *Saccocoelioides octavus* Szidat 1970 parásito de *H. parchappei* en la laguna de Chascomús (Szidat, 1970); *Saccocoelioides* sp. parásito de *H. piscium* en un zanjón del Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1975b); *Saccocoelioides carolae* Lunaschi 1984 parásito de *H. parchappei* en una laguna de Los Talas (Martorelli, 1986c); *Saccocoelioides* sp. parásito de *Potamolithus agapetus* Pilsbry 1911 del Río de La Plata (López Armengol y Martorelli, 1997); cercaria Haploporidae sp. 1 y cercaria Haploporidae sp. 2 parásitos de *H. australis* y *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin, 1997); y cercaria heleobicola III parásito de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Costera de Mar Chiquita (Etchegoin, 1997); y cercaria heleobicola III parásito de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1989a). La cercaria

Haploporidae que parasita a *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca, se diferencia de S. octavus porque esta última posee una cercaria más corta (0,340 vs. 0,364-0,579) y una faringe y una ventosa ventral de menor diámetro (faringe: 0,030 vs. 0,053-0,100 x 0,067-0,114; ventosa ventral: 0,048 vs. 0,064-0,093 x 0,057-0,107) y una redia más larga (1,000 vs. 0,417-0,627); de Saccocoelioides sp. de Ostrowski de Núñez porque posee un cuerpo más corto (0,318-0,360 vs. 0,364-0,579), una cola más angosta (0,027 vs. 0,036-0,057), y pelos y papilas en el extremo anterior de la redia; de S. carolae por presentar cuerpo y cola más cortos (cuerpo: 0,31 vs. 0,364-0,579; cola: 0,35 vs. 0,363-0,543); de Saccocoelioides sp. de López Armengol y Martorelli por poseer una cola más larga [0,62 (cercarias "in vivo") y 0,57 (cercarias fijadas) vs. 0,363-0,543]; y de cercaria Haploporidae sp. 1 y cercaria Haploporidae sp. 2 de Etchegoin por poseer cuerpo, ventosas, faringe y cola más pequeños (cuerpo: 0,125-0,16 x 0,046-0,07 y 0,150-0,180 x 0,060-0,074, respectivamente, vs. 0,364-0,579 x 0,133-0,186; ventosa oral: 0,025-0,035 x 0,03-0,038 y 0,027-0,036 x 0,026-0,040, respectivamente, vs. 0,053-0,100 x 0,067-0,114; ventosa ventral: 0,028-0,032 x 0,029-0,039 y 0,025-0,030 x 0,027-0,038, respectivamente, vs. 0,064-0,093 x 0,057-0,107; faringe: 0,012-0,019 x 0,012-0,019 y 0,014-0,018 x 0,016-0,018, respectivamente, vs. 0,050-0,057 x 0,033-0,050; cola: 0,12-0,156 x 0,01-0,016 y 0,110-0,140 x 0,021-0,022, respectivamente, vs.0,363-0,543 x 0,036-0,057) y redias de menor tamaño (0,250-0,450 x 0,060-0,102 y 0,350-0,450 x 0,09-0,120, respectivamente, vs. 0,417-0,627 x 0,090-0,210). Además la cercaria Haploporidae sp. 2 posee una metacercaria de forma triangular. Finalmente, la cercaria Haploporidae descripta en este estudio presenta gran similitud con la cercaria heleobicola III de Martorelli, sin embargo esta metacercaria no presenta filamentos en la pared quística como en la aquí descripta. Es necesario realizar infestaciones experimentales para determinar la especie y su ciclo de vida.



Figura 16. A. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitado por Cercaria Haploporidae (**gl**: glándula digestiva; **r**: redia; **go**: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos); **B.** Detalle de la Cercaria Haploporidae (**c**) libre en la glándula digestiva de *Heleobia australis*.



Figura 17. Cercaria Haploporidae **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Metacercaria enquistada, dibujo (Barra de escala: 0,05 mm) y fotografías.

SUPERFAMILIA ECHINOSTOMATOIDEA Looss 1899 FAMILIA PSILOSTOMIDAE Looss 1900

Cercaria cf. Psilochasmus oxyurus (Creplin 1835)

Procedencia: Sitio 2

<u>Sitio de infección</u>: no se realizaron cortes histológicos por lo tanto no se pudo precisar el sitio de infección.

<u>Prevalencia</u>: no se contabilizó la prevalencia ya que apareció solo una vez durante los muestreos pilotos.

Descripción de la cercaria (medidas basadas en tres cercarias, Fig. 18B): Las medidas se muestran en la Tabla III. Cuerpo oval, con abundantes células cistógenas y papilas con pelos sensitivos cortos. Cola fuerte, tan larga como el cuerpo, con aleta dorsal ancha que se extiende hasta el tercio posterior del lado ventral. Ventosa oral redonda. Sistema digestivo formado por prefaringe, faringe fuertemente muscular, esófago largo y ciegos intestinales que rodean anteriormente a la ventosa ventral y alcanzan la zona posterior del cuerpo. Ventosa ventral fuertemente muscular y protruyente. Vesícula excretora pequeña. No se observaron las células flamígeras.

<u>Descripción de la redia</u> (medidas basadas en una redia, Fig. 18 A): Las medidas se muestran en la Tabla III. Cuerpo con dos apéndices locomotores posteriores y una faringe que se continúa con un ciego intestinal.

<u>Discusión</u>: La morfología de esta cercaria es similar a aquella de *P. oxyurus* descripta por Szidat (1957) en *H. parchappei* (citada como *H. australis*; ver pág. 22) en la laguna de Chascomús. Etchegoin (1997) y Ostrowski de Núñez (2007) hallaron la misma cercaria en *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita y en *H. parchappei* en un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires, respectivamente. Sin embargo, Ostrowski de Núñez (2007) no realiza la descripción de la cercaria. Las valores morfométricos de las tres cercarias descriptas difieren considerablemente (ver tabla III), siendo la cercaria del presente estudio de menor tamaño que las descriptas por Szidat y Etchegoin.

Estas diferencias podrían deberse a variaciones intraespecíficas desarrolladas por parasitar diferentes especies de primeros hospedadores intermediarios.

Tabla III. Cercaria de *Psilochasmus oxyurus* del presente estudio, de Etchegoin (1997) y de Szidat (1957). H: Hospedador; L: Localidad.

	Presente estudio H: <i>Heleobia australis</i> L: estuario de Bahía Blanca	Szidat, 1957 H: <i>Heleobia parchappei</i> L: laguna de Chascomús	Etchegoin, 1997 H: <i>Heleobia conexa</i> L: laguna costera de Mar Chiquita
Cercaria			
Largo del cuerpo	0,382 (0,350-0,423)	0,58	1,15 (1,05-1,22)
Ancho del cuerpo	0,132 (0,107-0,150)	0,22	0,48 (0,44-0,54)
Largo ventosa oral	0,059 (0,057-0,060)	0,07 (diámetro)	0,145 (0,15-0,14)
Ancho ventosa oral	0,046 (0,037-0,050)	-	0,13 (0,12-0,15)
Largo faringe	0,034 (0,030-0,037)	0,05 (diámetro)	0,062 (0,06-0,068)
Ancho faringe	0,027 (0,023-0,030)	-	0,047 (0,045-0,053)
Largo esófago	0,083 (0,073-0,097)	-	-
Ancho esófago	0,032 (0,027-0,040)	-	-
Largo ciegos intestinales	0,188 (0,157-0,207)	-	-
Ancho ciegos intestinales	0,010 (0,008-0,013)	-	-
Largo ventosa ventral	0,063 (0,053-0,073)	0,15 (diámetro)	0,3 (0,27-0,33)
Ancho ventosa ventral	0,077 (0,067-0,083)	-	0,22 (0,18-0,24)
Largo cola	0,336 (0,307-0,357)	0,55	0,75 (0,69-0,83)
Ancho cola	0,032 (0,027-0,037)	-	0,13 (0,15-0,12)
Redia			
Largo total	1,538	0,95	1,89 (1,54-2,21)
Ancho total	0,308	0,1	0,36 (0,32-0,41)
Largo faringe	0,069	0,03 (diámetro)	0,034 (0,03-0,038)
Ancho faringe	0,092	-	0,042 (0,038-0,045)



Figura 18. *Psilochasmus oxyurus*. **A.** Redia (Barra de escala: 1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,05 mm).

Metacercaria cf. *Psilochasmus oxyurus* <u>Procedencia</u>: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3 <u>Sitio de infección</u>: entre la conchilla y el manto <u>Prevalencia</u>: 0,17 % (Sitio 1), 0,28 % (Sitio 2) y 0,23 (Sitio 3)

Descripción (medidas basadas en cuatro metacercarias enquistadas y ocho desenquistadas, una de las cuáles se encontraba estirada; Fig. 19): Quiste grande y esférico de 0,268 (0,197-0,308) de diámetro, formado por dos capas, la externa fina y la interna hialina dura de 0,010 (0,008-0,015) de espesor. Se desenquista haciendo presión sobre el cubreobjetos. Cuerpo de 0,897 de largo y 0,308 (0,183-0,397) de ancho. Ventosa oral de 0,117 (0,064-0,157) de largo y 0,088 (0,036-0,143) de ancho. Ventosa ventral de 0,176 (0,093-0,371) de largo y 0,157 (0,087-0,237) de ancho, fuertemente muscular y grande con abertura en forma de medialuna. Sistema digestivo formado por boca, prefaringe, faringe de 0,071 (0,059-0,087) de largo y 0,073 (0,051-0,097) de ancho, esófago de 0,053 (0,027-0,083) de largo y ciegos intestinales que alcanzan el extremo posterior del cuerpo. En la zona posterior presente una invaginación del cuerpo en forma de Y que se correspondería con la invaginación observada en el adulto.

<u>Discusión</u>: La metacercaria descripta coincide con la morfología y las medidas de la metacercaria de *P. oxyurus* descripta por Szidat (1957) encapsuladas principalmente en el saco visceral de *H. parchappei* en la laguna de Chascomús.



Figura 19. Metacercaria de *Psilochasmus oxyurus* **A.** Metacercaria enquistada (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Detalle de la invaginación en la parte posterior del cuerpo (flecha).

FAMILIA ECHINOSTOMATIDAE Looss 1899

Echinocercaria I cf. Himasthla sp.

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

<u>Sitio de infección</u>: no se realizaron cortes histológicos por lo tanto no se pudo precisar el sitio de infección.

Prevalencia: 0,20 % (Sitio 1), 0,09 % (Sitio 2) y 0,08 % (Sitio 3)

Descripción de la cercaria (Fig. 20C y 20D): Cuerpo alargado cubierto con pequeñas espinas de 0,511 (0,407-0,743) de largo y 0,177 (0,140-0,207) de ancho. Ventosa oral subterminal de 0,049 (0,043-0,057) de largo y 0,056 (0,047-0,063) de ancho, con abertura subterminal. Collar cefálico con 28 (26-29) espinas dispuestas en una hilera simple ininterrumpida dorsalmente, con 2 espinas angulares. Espinas de la hilera simple de 0,016 (0,014-0,019) de largo y 0,004 (0,003-0,005) de ancho. Ventosa ventral subesférica ubicado por debajo de la zona ecuatorial del cuerpo, de 0,095 (0,087-0,103) de largo y 0,096 (0,080-0,110) de ancho. Cinco pares de glándulas de penetración. Glándulas cistógenas abundantes que contienen inclusiones en forma de bastones. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,011 (0,003-0,033) de largo, faringe de 0,043 (0,030-0,063) de largo y 0,016 (0,013-0,020) de ancho, esófago de 0,161 (0,127-0,267) de largo y dos ciegos intestinales que alcanzan el extremo posterior del cuerpo de 0,299 (0,268-0,330) de largo y 0,008 (0,003-0,013) de ancho. Abundantes células flamígeras cuya fórmula no pudo ser determinada en su totalidad. Se pudieron apreciar siete pares de células flamígeras laterales a la región prefaringea y tres pares de células flamígeras en la región posterior de esta última. Conductos excretores primarios con cilios. Vesícula excretora pequeña y rectangular se continúa anteriormente por dos tubos colectores diverticulados a partir de la mitad anterior de la ventosa ventral (17 internos y 20 externos); algunos de los cuales son dobles y todos contienen numerosos gránulos en su interior. La vesícula excretora se continúa posteriormente por un conducto corto que se bifurca originando dos cortos ductos que desembocan en el exterior a través de poros laterales ubicados en el cuarto anterior de la cola. Cola de inserción terminal, carente de aletas y pelos y casi tan larga como el cuerpo cuando se encuentra extendida, mide 0,359 (0,293-0,477) de largo y 0,036 (0,023-0,043) de ancho. Inserción de la cola terminal. Las cercarias terminan su desarrollo antes de la emergencia fuera de la redia. Cuando emergen del caracol nadan batiendo la cola de lado a lado con el cuerpo contraído. No se observó estado de reposo. <u>Descripción de la redia</u> (Fig. 20A y 20B): La talla varía con el estado de desarrollo. Las redias maduras miden 1,613 (0,792-2,054) de largo y 0,253 (0,185-0,300) de ancho y albergan hasta 7 cercarias. Presentan un collar en la zona anterior y un apéndice ambulatorio posterior, claramente visible en las redias de menor tamaño (Fig. 20A). La faringe de 0,062 (0,054-0,069) de largo y 0,041 (0,031-0,046) de ancho, se comunica con un intestino sacular que no sobrepasa la mitad del cuerpo.

Discusión: La presencia de un collar cefálico con espinas permite ubicar a esta cercaria dentro de la familia Echinostomatidae (Schell, 1970). Dentro de esta familia tan numerosa y diversa, los géneros Acanthoparyphium Dietz 1909 e Himasthla Dietz 1909 pueden presentar cercarias con canales excretores primarios con divertículos al igual que la cercaria descripta en el presente estudio. Las especies del género Acanthoparyphium cuyas cercarias han sido descriptas hasta el momento son las siguientes: Acanthoparyphium spinulosum Johnston 1917 parásito de Velacumantus australis (Quoy y Gaimard 1834) en Australia (Bearup, 1960); Acanthoparyphium paracharadrii Velasquez 1964 parásito de Cerithium ornata (Vignal 1903) en Filipinas (Velazquez, 1964); y Acanthoparyphium tyosenense Yamaguti 1939 parásito de Lunatia fortunei Reeve 1865 y Glossaulax didyma Röding 1798 en Corea (Kim et al., 2004). Sin embargo, todas ellas difieren de la aquí descripta principalmente por poseer un collar cefálico con 23 espinas y carecer de espinas angulares. De las especies descriptas del género Himasthla con cercarias que presentan este tipo de sistema excretor, la Echinocercaria I presenta gran similitud con la cercaria de Himasthla compacta Stunkard 1960 parásita de Hydrobia minuta (Totten 1834) en Inglaterra (Stunkard, 1960) y con Himasthla littorinae Stunkard 1966 parásita de Littorina saxatilis (Olivi 1792) y Littorina obtusata (Linnaeus 1758) en Estados Unidos

(Stunkard, 1966). Las cercarias de Himasthla interrupta Loos-Frank 1967 e Himasthla continua Loos-Frank 1967, parásitas de Hydrobia ulvae (Pennant 1777) en Europa (Loos-Frank, 1967 en Yamaguti, 1975; Deblock, 1980) se diferencian de la aquí descripta por poseer papilas cefálicas con uno o dos pelos, el cuerpo más ancho (0,240-0,260 y 0,280-0,300, respectivamente, vs. 0,140-0,207), la faringe más ancha (0,028 y 0,030 respectivamente, vs. 0,013-0,020) y particularmente H. continua se diferencia por presentar la ventosa ventral más larga (0,110-0,120 vs. 0,087-0,103). Se diferencia de Himasthla leptosoma (Creplin, 1829) parásita de Paludestrina stagnalis (Bas) en Inglaterra (Lebour, 1907 en Yamaguti, 1975) porque esta cercaria posee tres espinas angulares en el collar cefálico y ventosas de menor tamaño (ventosa oral: 0,030 vs. 0,043-0,057 x 0,047-0,063; ventosa ventral: 0,046 vs. 0,087-0,103 x 0,080-0,110). Martorelli (1990) describe una cercaria similar a la del presente estudio, que nominó Cercaria heleobicola V, en H. conexa de la laguna costera de Mar Chiquita, luego fue encontrada por Etchegoin (1997) en el mismo hospedador y en la misma localidad. Sin embargo, difiere de Echinocercaria I por la ausencia de espinas en el tegumento, por la presencia de una cámara de la vesícula excretora en la cola y por algunos valores morfométricos tanto de la cercaria como de la redia. La Echinocercaria I del presente estudio posee menor tamaño corporal (0,407-0,743 x 0,140-0,207 vs. 0,883 x 0,300), menor tamaño de ambas ventosas (ventosa oral: 0,043-0,057 x 0,047-0,063 vs. 0,096; ventosa ventral: 0,087-0,103 x 0,080-0,110 vs. 0,130), faringe y cola más angostas (faringe: 0,013-0,020 vs. 0,040; cola: 0,023-0.043 vs. 0.085) v espinas del collar cefálico más pequeñas ($0.014-0.019 \times 0.003$ -0,005 vs. 0,065 x 0,020). Además, la redia se diferencia por la menor longitud de la faringe (0,054-0,069 vs. 0,093). Debido a la presencia de conductos excretores diverticulados y a la presencia de espinas angulares la Echinocercaria I pertenecería al género Himasthla, posiblemente a la especie Himasthla escamosa Diaz y Cremonte 2004, hallada recientemente en el estuario de Bahía Blanca parasitando a la gaviota cangrejera, *L. atlanticus* por La Sala (2010). Esta especie fue descripta originalmente parasitando a la gaviota Larus dominicanus Lichtenstein 1823 en Puerto Madryn, Argentina por Diaz y Cremonte (2004). Sin embargo, hasta no dilucidar experimentalmente el ciclo de vida de esta cercaria no es posible determinar la especie.



Figura 20. Cercaria Echinocercaria I. **A.** Redia inmadura (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Redia madura (Barra de escala: 0,5 mm); **C.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **D.** Detalle de la corona de espinas de la cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

Echinocercaria II cf. *Stephanoprora uruguayense* Holcman-Spector y Olagüe 1989

Procedencia: Sitio 1 y Sitio 3

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 21)

Prevalencia: 0,10 % (Sitio 1) y 0,10 % (Sitio 3)

Descripción de la cercaria (Fig. 22B y 22C): Cuerpo piriforme de 0,182 (0,110-0,246) de largo y 0,112 (0,075-0,154) de ancho; tegumento sin espinas. Collar cefálico poco desarrollado sin espinas. Ventosa oral subterminal, redondeada, de 0,037 (0,025-0,050) de largo y 0,035 (0,027-0,049) de ancho. Ventosa ventral redondeada, ubicado en el tercio posterior del cuerpo, de 0,039 (0,019-0,047) de largo y 0,040 (0,024-0,057) de ancho. Cuerpo prefaríngeo de 0,012 (0,010-0,014) de largo y 0,013 (0,010-0,016) de ancho. Abundantes glándulas cistógenas, que contienen inclusiones en forma de bastones paralelos. Sistema digestivo formado por boca, prefaringe de 0,034 (0,020-0,053) de largo, faringe de 0,023 (0,015-0,029) de largo y 0,013 (0,010-0,018) de ancho, esófago largo y ciegos intestinales que alcanzan el extremo posterior del cuerpo. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Conductos excretores primarios con cilios. Vesícula excretora comunicada por un canal excretor corto. Conductos colectores primarios alcanzando la ventosa oral, sin corpúsculos refringentes. Cola robusta con abundantes fibras musculares, varía en tamaño según el grado de contracción; las que se encontraban relajadas medían 0,657 (0,271-1,179) de largo y 0,096 (0,070-0,138) de ancho.

Descripción de la redia (Fig. 22A): Cuerpo sacciforme 1,178 (0,923-1,846) de largo y 0,292 (0,231-0,315) de ancho. La faringe, de 0,079 (0,069-0,092) de largo y 0,076 (0,062-0,085) de ancho, se comunica con un intestino sacular que en algunos casos puede sobrepasar la mitad del cuerpo. Puede contener hasta tres cercarias bien desarrolladas.

<u>Discusión</u>: La presencia de un collar cefálico y de una cola muy desarrollada ubica a esta cercaria dentro de la familia Echinostomatidae. Los géneros *Stephanoprora* Odhner 1902 y *Petasiger* Dietz 1909 poseen cercarias con cola muy desarrollada, sin embargo éste último se desarrolla en caracoles pulmonados

(Ostrowski de Núñez, 2007). La Echinocercaria II presenta gran similitud con la cercaria de S. uruguayense descripta por Ostrowski de Núñez (2007) en H. parchappei de un estanque artificial del Zoológico de la ciudad de Buenos Aires. Sin embargo, se diferencia de esta última por poseer una redia con una faringe más grande (0,069-0,092 x 0,062-0,085 vs. 0,028-0,056 x 0,036-0,060). Además, no se pudieron observar las espinas presentes en ambas ventosas descriptas por Ostrowski de Núñez (2007). La cercaria aquí descripta se diferencia de Stephanoprora aylacostoma Ostrowski de Núñez y Quintana 2008, parásita del caracol prosobranquio Aylacostoma chloroticum Hylton-Scot 1953 en la represa Yaciretá, Misiones (Ostrowski de Núñez y Quintana, 2008) porque esta última presenta corpúsculos dentro del sistema excretor y posee una cola más larga (1,792-2,224 vs. 0,271-1,179) y se desarrolla en una redia más pequeña (0,389-0,810 x 0,082-0,220 vs. 0,923-1,846 x 0,231-0,315) con una faringe también menor (0,044-0,066 x 0,047-0,057 vs. 0,069-0,092 x 0,062-0,085) y de Stephanoprora denticulata (Rudolphi 1802), parásita del hidróbido Hydrobia ulvae (Pennant 1777) en Dinamarca (Køie, 1986) por la ausencia de corpúsculo prefaríngeo y por poseer un conducto excretor largo que desemboca en el tercio posterior de la cola, una cola más grande (2,000 x 0,150 vs. 0,271-1,179 x 0,070-0,138) y una redia con una faringe de menor tamaño (0,036-0,060 x 0,030-0,050 vs. 0,069-0,092 x 0,062-0,085). Según Ostrowski de Núñez (2007), S. uruguayense difiere principalmente de Stephanoprora paradenticulata Nasir y Rodriguez 1969 parásita de los caracoles prosobranquios Marisa cornuarietis (Linnaeus 1758) y Pomacea glauca (Linnaeus 1756) en Venezuela, porque posee 18 pares de células flamígeras, corpúsculos en los conductos excretores, un corto conducto excretor que se divide en dos ramas en la región proximal de la cola y una cola aproximadamente tan larga como el cuerpo. La Cercaria heleobicola IV descripta por Martorelli (1990) en H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita, luego encontrada por Etchegoin (1997) en el mismo hospedador y en H. australis en la misma localidad, se diferencia de la aquí descripta por la ausencia de un cuerpo prefaríngeo y por la presencia de una estructura muscular redondeada en el extremo de la cola, 14 pares de células flamígeras y una vesícula excretora formada por dos cámaras que se continúa con un conducto largo que finaliza en el extremo posterior de la cola. La Sala (2010) halló ejemplares adultos de *S. uruguayense* parasitando a la gaviota *L. atlanticus* en el estuario de Bahía Blanca.



Figura 21. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitado por la redia de Echinocercaria II (**r**: redia; **c**: cercaria).



Figura 22. Echinocercaria II. **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,2 mm); **C.** Cuerpo de la cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía (flecha: cuerpo prefaríngeo).

SUPERFAMILIA MICROPHALLOIDEA Ward 1901 FAMILIA MICROPHALLIDAE Ward 1901

Los estadios intramolusco de la familia Microphallidae hallados parasitando a *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca, con excepción de *Microphallus simillimus* (Travassos 1920), son muy similares entre ellos. Es por ello que la prevalencia fue estimada en base al total de parásitos pertenecientes a esta familia, exceptuando a *M. simillimus*, siendo 1,14 % para el Sitio 1, 1,87 % para el Sitio 2 y 2,54 % para el Sitio 3. Las determinaciones de las cercarias de *Maritrema orensensis* Cremonte y Martorelli 1998 y *Maritrema bonaerensis* Etchegoin y Martorelli 1997 fueron realizadas en base a especímenes que infestaron experimentalmente a cangrejos de la especie *C. angulatus* del Puerto de Mar del Plata, dando como resultado metacercarias de las especies mencionadas (Ver Cap. II). Además se halló una cercaria similar a la cercaria de *Levinseniella cruzi* Travassos 1920 descripta por Martorelli (1988). Podría existir otro tipo morfológico de cercaria perteneciente a esta familia (posiblemente *Odhneria* sp.), sin embargo las exposiciones experimentales no arrojaron resultados positivos.

Xiphidiocercaria tipo Ubiquita I = *Maritrema orensensis* Cremonte y Martorelli 1998

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 23)

<u>Descripción de la cercaria</u> (Fig. 24B y 24C): Cuerpo pequeño, ovoide, de 0,108 (0,080-0,137) de largo y 0,049 (0,042-0,056) de ancho, tegumento cubierto de espinas. Ocelos ausentes. Ventosa oral subterminal de 0,029 (0,024-0,034) de largo y 0,022 (0,019-0,031) de ancho, difícil de visualizar debido a que su contorno se encuentra superpuesto por los conductos de las glándulas de penetración. Ventosa ventral ausente. Cuatro pares de glándulas de penetración de igual contenido, dispuestas en hilera. Vesícula excretora en forma de V desde donde parten los conductos colectores primarios. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Estilete de 0,019
(0,015-0,022) de largo y 0,002 (0,002-0,003) de ancho. Cola estriada de 0,129 (0,083-0,166) de largo y 0,011 (0,008-0,015) de ancho. Las cercarias son pequeñas y se mueven activamente hasta que caen al fondo y reptan. Al ponerlas entre porta y cubre no secretan el contenido de las glándulas y éstas se visualizan bien con rojo neutro.

<u>Descripción del esporocisto</u> (Fig. 24A): Cuerpo sacciforme de 0,542 (0,383-0,787) de largo y 0,154 (0,103-0,217) de ancho. En el interior se observan pocas cercarias formadas (1-3), el resto son células germinales.

Discusión: Cercarias con estilete, vesícula excretora de pared delgada, sin pigmentos oculares ni aletas caudales ni ventosa ventral, que se desarrollan dentro de esporocistos, se ubican dentro del grupo de las Xiphidiocercarias del tipo Ubiquita, las cuales pertenecen a la familia Microphallidae (Schell, 1970). Las metacercarias de *M. orensensis* obtenidas de la branquia de ejemplares de *C. angulatus* del Puerto de Mar del Plata luego de 21 días de haber sido infestados experimentalmente con la cercaria descripta, confirmó la presencia de esta especie parasitando a *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca (Ver Cap. II). En la Argentina se describieron seis tipos morfológicos de cercarias de la familia Microphallidae parasitando caracoles del género Heleobia: Xiphidiocercaria IV parásito de H. piscium del Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1981); la cercaria de Microphallus szidati Martorelli 1986 parásito de H. parchappei en una laguna de Los Talas (Martorelli, 1986b) y en H. conexa en una laguna de Los Talas y en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin, 1997; Martorelli, 1986b); la cercaria de L. cruzi parásito de H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1988; Etchegoin, 1997) y de H. parchappei en las lagunas de Los Talas y Chascomús (Martorelli, 1988); la cercaria de M. simillimus parásito de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1991b); la cercaria de M. bonaerensis parásita de H. australis en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin y Martorelli, 1997a); y la cercaria descripta por Flores (2004) de H. hatcheri en el lago Nahuel Huapi, Provincia de Neuquén y Río Negro. La cercaria de M. orensensis se diferencia de Xiphidiocercaria IV por presentar faringe, papilas y pelos sensitivos y poseer esporocistos de menor tamaño (0,189-0,248 vs. 0,383-0,787); de *Microphallus szidati* difiere en el número de glándulas de penetración [2 pares según Etchegoin (1997)], un estilete más corto [0,01-0,013 según Etchegoin (1997) vs. 0,015-0,022] y esporocistos de menor tamaño (0,29-0,32 según Etchegoin (1997) vs. 0,383-0,787); de *L. cruzi* por la disposición de las glándulas de penetración y sus conductos; de *M. simillimus* se diferencia por ser una blastocercaria que no emerge del caracol; de la cercaria de *M. bonaerensis* por poseer glándulas de penetración con dos tipos de contenido, un esporocisto más angosto (0,079-0,093 vs. 0,103-0,217) y mayor número de cercarias desarrolladas en su interior; de la cercaria descripta por Flores por la disposición de las glándulas de penetración y sus conductos y por poseer un estilete más ancho (0,003-0,005 vs. 0,002-0,003) y un esporocisto más pequeño (0,084-0,108 x 0,036-0,038 vs. 0,383-0,787 x 0,103-0,217). Éste es la primera vez que se describe la cercaria de *M. orensensis*.



Figura 23. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitado por el esporocisto de *Maritrema orensensis* (e: esporocisto; c: cercaria; gl: glándula digestiva; go: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos).



Figura 24. *Maritrema orensensis*. **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía; **C.** Detalle del estilete de la cercaria (Barra de escala: 0,01 mm).

Xiphidiocercaria tipo Ubiquita II = *Maritrema bonaerensis* Etchegoin y Martorelli 1997

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 25)

Descripción de la cercaria (Fig. 26B): Cuerpo pequeño, ovoide, cubierto de espinas, de 0,115 (0,088-0,139) de largo y 0,042 (0,029-0,054) de ancho. Ventosa oral subterminal de 0,035 (0,027-0,039) de largo y 0,025 (0,019-0,032) de ancho. Cuatro pares de glándulas, las dos primeras se tiñen fuertemente con rojo neutro, mientras que las dos posteriores se tiñen pálidamente. Sus núcleos se observan cuando se tiñe con rojo neutro. Vesícula excretora en forma de V

desde donde parten los conductos colectores primarios. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Estilete de 0,021 (0,019-0,025) de largo y 0,002 (0,002-0,003) de ancho en vista frontal y 0,004 (0,003-0,005) de ancho en vista lateral. Cola estriada sin aletas, de 0,133 (0,088-0,181) de largo y 0,012 (0,008-0,017) de ancho. Las cercarias se mueven activamente hasta que caen al fondo y reptan. Al ponerlas entre porta y cubre no secretan el contenido de las glándulas y las glándulas se visualizan bien con rojo neutro.

<u>Descripción del esporocisto</u> (Fig. 26A): Cuerpo alargado, sacciforme, de 0,725 (0,464-0,950) de largo y 0,153 (0,121-0,221) de ancho. En el interior se observan varias cercarias en formación (4-12) y algunas células germinales.

<u>Discusión</u>: Las características de esta cercaria (Xiphidiocercaria del tipo Ubiquita) permite ubicarla dentro de la familia Microphallidae (Schell, 1970). Parasitando ejemplares de *Cyrtograpsus angulatus* colectados en el Puerto de Mar del Plata con la cercaria estudiada, se recolectaron luego de 35 días metacercarias pertenecientes a la especie *M. bonaerensis* en branquias, músculo y celoma. Esta infestación experimental permitió confirmar la presencia de esta especie parasitando a *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca (Ver Cap. II). La cercaria coincide con la morfología y las medidas citadas de la cercaria de *M. bonaerensis* en *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin y Martorelli, 1997a), excepto por desarrollarse en un esporocisto más ancho en la cercaria del presente estudio (0,121-0,221 vs. 0,079-0,093).



Figura 25. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitado por el esporocisto de *Maritrema bonaerensis* (**c**: cercaria dentro de esporocisto; **e**: esporocisto; **g**: gónada).



Figura 26. *Maritrema bonaerensis.* **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

Xiphidiocercaria tipo Ubiquita III cf. Levinseniella cruzi Travassos 1920

<u>Sitio de infección</u>: no se realizaron cortes histológicos por lo tanto no se pudo precisar el sitio de infección.

Descripción de la cercaria (Fig. 27B): Cuerpo pequeño, ovoide, cubierto de espinas, de 0,116 (0,105-0,132) de largo y 0,053 (0,047-0,061) de ancho. Ventosa oral subterminal de 0,029 (0,027-0,032) de largo y 0,027 (0,020-0,032) de ancho. Cuatro pares de glándulas de penetración, las dos primeras se tiñen fuertemente con rojo neutro y se ubican cercanas a la zona media del cuerpo, mientras que las dos posteriores se tiñen pálidamente y se ubican más lateralmente. Los pares que se tiñen fuertemente con rojo neutro presentan una curva a nivel de la parte posterior de la ventosa oral. Los conductos presentan

ondulaciones. Los núcleos se observan cuando se tiñen con rojo neutro. Vesícula en forma de V. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Estilete de 0,019 (0,017-0,020) de largo y 0,004 (0,002-0,005) de ancho. Cola estriada sin aletas, de 0,111 (0,076-0,156) de largo y 0,011 (0,010-0,014) de ancho. Al ponerlas entre porta y cubre secretan el contenido de las glándulas.

<u>Descripción del esporocisto</u> (Fig. 27A): Esporocistos con forma de sacos alargado de 0,860 (0,369-1,350) de largo y 0,141 (0,136-0,147) de ancho. En el interior se observan muchas cercarias en formación y algunas células germinales. En uno de los casos se observaron 43 cercarias desarrollándose dentro del esporocisto.

Discusión: Las características de esta cercaria (Xiphidiocercaria del tipo Ubiquita) permiten ubicarla dentro de la familia Microphallidae (Schell, 1970). Las medidas, la disposición y la forma de las glándulas de penetración y sus conductos relacionan a esta cercaria con la de L. cruzi parásito de H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1988; Etchegoin, 1997) y de H. parchappei en las lagunas de Los Talas y Chascomús (Martorelli, 1988). Sin embargo, infestaciones experimentales son necesarias para confirmar esta hipótesis. En la Argentina se describieron seis tipos morfológicos de cercarias de la familia Microphallidae parasitando caracoles del género Heleobia: Xiphidiocercaria IV parásito de H. piscium del Río de La Plata (Ostrowski de Núñez, 1981); la cercaria de Microphallus szidati Martorelli 1986 parásito de H. parchappei en una laguna de Los Talas (Martorelli, 1986b) y en H. conexa en una laguna de Los Talas y en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin, 1997; Martorelli, 1986b); la cercaria de L. cruzi parásito de H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1988; Etchegoin, 1997) y de H. parchappei en las lagunas de Los Talas y Chascomús (Martorelli, 1988); la cercaria de M. simillimus parásito de H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1991b); la cercaria de M. bonaerensis parásita de H. australis en la laguna costera de Mar Chiquita (Etchegoin y Martorelli, 1997a); y la cercaria descripta por Flores (2004) de *H. hatcheri* en el lago Nahuel Huapi, Provincia de

Neuquén y Río Negro. Se diferencia de Xiphidiocercaria IV porque esta última presenta faringe, papilas y pelos sensitivos y posee esporocistos más cortos (0,189-0,248 vs. 0,369-1,350); de *M. szidati* por poseer 2 pares de glándulas de penetración (según Etchegoin, 1997), cuerpo más pequeño [0,079-0,084 x 0,033-0,039 según Etchegoin (1997) vs. 0,105-0,132 x 0,047-0,061], cola más angosta [0,007-0,008 según Etchegoin (1997) vs. 0,010-0,014], un estilete más corto [0,01-0,013 según Etchegoin (1997) vs. 0,017-0,020] y un esporocisto de menor tamaño [0,290-0,320 x 0,082-0,120 según Etchegoin (1997) vs. 0,369-1,350 x 0,136-0,147]; de *M. simillimus* principalmente por poseer una blastocercaria que no emerge del caracol; de *M. orensensis* y de *M. bonaerensis* descriptas en el presente trabajo por la disposición regular y forma no ondulada de las glándulas de penetración y sus conductos; y de la cercaria de *H. hatcheri* por la disposición de las glándulas de penetración y sus conductos y por poseer esporocistos más pequeños (0,369-1,350 x 0,136-0,147 vs. 0,084-0,108 x 0,036-0,038). Este sería el primer registro de *L. cruzi* en *H. australis*.



Figura 27. Xiphidiocercaria III **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,05 mm) y fotografía.

Cercaria y Metacercaria de Microphallus simillimus (Travassos 1920)

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 28 y 29)

Prevalencia: 12,27 % (Sitio 1), 59,88 % (Sitio 2) y 9,18 % (Sitio 3)

<u>Descripción de la cercaria</u> (Fig. 30A): En una infestación temprana se pudo observar a una blastocercaria con una cola pequeña y una vesícula excretora. No se observaron ventosas, sistema digestivo, ni estilete.

Descripción de la metacercaria y esporocisto (Fig. 30B, 30C y 30D y 31): Quiste de 0,075 (0,058-0,085) x 0,098 (0,078-0,119). Dos capas quísticas, la externa fina y hialina y la interna de 0,003 (0,002-0,005) de espesor. Cuerpo plegado sobre sí mismo dentro del quiste. Los quistes se desenquistan en solución fisiológica a 39-40 °C luego de 48 hs. No todas las metacercarias logran desenquistarse, posiblemente exista un período necesario de desarrollo dentro del caracol antes de desenquistarse y desarrollar el adulto. Al desenquistarse la metacercaria, el cuerpo es piriforme con los extremos curvados ventralmente. Cuerpo de 0,178 (0,159-0,192) de largo y 0,116 (0,103-0,139) de ancho a nivel de los testículos. Tegumento espinoso. Ventosa oral de 0,033 (0,024-0,047) de largo y 0,030 (0,022-0,034) de ancho. Sistema digestivo formado por faringe de 0,014 (0,012-0,017) de largo y 0,013 (0,012-0,017) de ancho, esófago de 0,038 (0,029-0,046) de largo y ciegos intestinales de 0,067 (0,053-0,090) de largo y 0,008 (0,005-0,012) de ancho. No se observó prefaringe. Ventosa ventral de 0,030 (0,022-0,034) de largo y 0,031 (0,025-0,034) de ancho. Testículos postacetabulares, simétricos y laterales en la región posterior del cuerpo; testículo derecho de 0,027 (0,022-0,036) de largo y 0,023 (0,017-0,031) de ancho; testículo izquierdo de 0,027 (0,020-0,042) de largo y 0,026 (0,015-0,036) de ancho. Vesícula seminal ubicada por debajo de la bifurcación de los ciegos intestinales. Atrio genital localizado a la izquierda de la ventosa ventral. Papila copulatriz redondeada. Ovario pretesticular ubicado a la derecha de la ventosa ventral de 0,030 (0,019-0,039) de largo y 0,035 (0,025-0,041) de ancho. Folículos vitelínicos en forma de dos masas compactas postesticulares de 0,033 (0,020-0,047) de largo y 0,035 (0,022-0,051) de ancho, situados a los costados de la parte posterior del cuerpo, bien característicos al observar el tejido parasitado del caracol. En solución fisiológica desarrolla huevos de 0,023 (0,022-0,025) de largo y 0,012 (0,008-0,014) de ancho. Las metacercarias se desarrollan dentro de esporocistos de 0,211 (0,158-0,277) de largo y 0,072 (0,053-0,107) de ancho, con alrededor de cinco metacercarias enquistadas en su interior. Los límites de los mismos son difíciles de determinar en el material fresco (Ver Fig. 30B).

<u>Discusión</u>: La ausencia de bolsa del cirro y la presencia de un atrio genital simple y una papila copulatriz muscular ubican a esta especie dentro del género *Microphallus* Ward 1901 (Martorelli, 1991b). La morfología y las medidas de la metacercaria aquí estudiada presenta gran semejanza con *M. simillimus* parásito de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Martorelli, 1991b; Etchegoin 1997). Sin embargo esta especie que habita en aguas salobres desde Mar Chiquita hasta Península Valdés (Cazzaniga, 1982), no sobrevive en ambientes marinos (De Francesco e Isla, 2003). *Heleobia conexa* se encuentra ausente en el estuario de Bahía Blanca, donde predominan las condiciones marinas. Se diferencia de la descripta por Martorelli (1991b) por poseer un quiste más ovalado (0,078-0,119 x 0,058-0,085 vs. 0,11-0,12 x 0,097-0,11) y huevos más largos (0,022-0,025 vs. 0,018). Este es el primer registro de *M. simillimus* parasitando *H. australis*.



Figura 28. Corte histológico (H-E) de tejido de *Heleobia australis* con metacercarias de *Microphallus simillimus* parasitando gónada (**go**) y glándula digestiva (**gl**).



Figura 29. A. Tejido de *Heleobia australis* parasitado por quistes de *Microphallus simillimus;* **B.** Infección doble producida por Cercaria Notocotylidae (**n**) y *M. simillimus* (**m**).



Figura 30. Cercaria y Metacercaria *Microphallus simillimus* **A.** Blastocercaria; **B.** Esporocistos con metacercarias; **C.** Metacercaria enquistada; **D.** Metacercaria desenquistada (Vista dorsal).



Figura 31. Metacercaria desenquistada *Microphallus simillimus* (Vista dorsal; Barra de escala: 0,1 mm).

OTRAS FAMILIAS

Xiphidiocercaria tipo Armatae

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: gónada y glándula digestiva (Fig. 32)

Prevalencia: 0,34 % (Sitio 1), 2,73 % (Sitio 2) y 0,31 % (Sitio 3)

Descripción de la cercaria (Fig. 33B y 33C): Cuerpo piriforme de 0,352 (0,220-0,447) de largo y 0,145 (0,110-0,180) de ancho, provisto de espinas y abundantes células cistógenas. Espinas aciculares abundantes dispuestas en tres hileras. Ventosa oral subterminal esférica de 0,054 (0,037-0,070) de largo y 0,053 (0,040-0,060) de ancho, provista de un pequeño estilete triangular fuertemente esclerosado de 0,010 (0,007-0,011) de largo y 0,006 (0,005-0,007) de ancho. Ventosa ventral esférico y protruyente de 0,050 (0,037-0,060) de largo y 0,055 (0,040-0,067) de ancho. No se pudo observar el sistema digestivo completo debido a las abundantes glándulas cistógenas. Faringe esférica de 0,019 (0,013-0,027) de largo y 0,019 (0,012-0,023) de ancho. Cuatro pares de glándulas de penetración que desembocan en la parte anterior, lateralmente al estilete. Vesícula excretora epiteliocística en forma de Y que se comunica con un canal excretor que recorre la cola y desemboca en un poro al final de la misma. Números pares de células flamígeras no determinados debido a la abundante cantidad de células cistógenas. Cola con tegumento engrosado de 0,218 (0,147-0,267) de largo y 0,038 (0,027-0,053) de ancho. La cercaria se mueve activamente batiendo la cola hasta caer al fondo y reptar. Se enquista cuando se encuentra entre porta y cubre.

<u>Descripción del esporocisto (Fig. 33A)</u>: Cuerpo de 1,109 (0,623-1,485) de largo y de 0,223 (0,135-0,346) de ancho.

Discusión: Cercarias distomas con estilete, sin pigmentos oculares, vesícula excretora de pared delgada en forma de Y, cola que no sobrepasa el largo del cuerpo, que se desarrollan dentro de esporocistos, ubican a éstas dentro del grupo de las Xiphidiocercarias del tipo Armatae. Según Schell (1970), pertenecen a las familias Plagiorchiidae Lühe 1901 y Telorchiidae Looss 1899. Grabda-Kazubska (1971) estudió y clasificó este tipo de cercarias en cuatro subgrupos. La cercarcaria aquí descripta pertenecería al grupo Ochetosoma, que incluye cercarias sin aleta caudal y una vesícula excretora que sobrepasa el extremo anterior de la ventosa ventral. Según este autor, estas cercarias son características de la familia Ochetosomatidae Leão 1944, sinonimizado recientemente con la familia Reniferidae Pratt 1902 por Tkach (2008). Sin embargo, esta cercaria presenta gran similitud con las cercarias del género Renicola Cohn 1904 (Renicolidae Dollfus 1939). Dentro de este género existen especies con y sin estilete. Pocos son los ciclos de vida conocidos de estas cercarias con estilete, entre ellos se encuentran Renicola thaidus (Stunkard 1964) parásito de Nucella lapillus (Linnaeus 1758) en Estados Unidos (Stunkard, 1964) y en Islandia (Galaktionov y Skirnisson, 2000) y Renicola roscovita (Stunkard 1932) parásito de Littorina compressa Jeffreys 1865 en Francia (Stunkard, 1932). En la Argentina se han descripto Xiphidiocercarias del tipo Armatae, la aquí descripta se diferencia de la Xiphidiocercaria sp. I parásita de *B. peregrina* de charcas del río Luján, Provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1974b) por poseer pelos sensitivos, prefaringe y aleta caudal; de la Xiphidiocercaria sp. II, parásita de Drepanotrema kermatoides (d'Orbigny 1835) en charcas del río Luján, Provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1974b) por poseer pelos sensitivos, prefaringe, cinco pares de glándulas de penetración, vesícula que no sobrepasa la parte anterior de la ventosa ventral y aleta caudal; de Xiphidiocercaria sp. A y Xiphidiocercaria sp. B parásitas de *B. peregrina* en el arroyo Carnaval, Provincia de Buenos Aires (Morris, 1976) principalmente por poseer prefaringe y una vesícula excretora que no sobrepasa la parte anterior de la ventosa ventral en ambas especies, y 8-10 pares de glándulas de penetración y una aleta caudal en el caso de Xiphidiocercaria sp. A; de la Xiphidiocercaria parásita de Ampullaria canaliculata Lamarck 1822 de charcas del río Luján, Provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez, 1979) por poseer prefaringe, ocho pares de glándulas de penetración y una vesícula excretora ovalada; de Xiphidiocercaria sp. I parásita de Biomphalaria straminea (Dunker 1848), Biomphalaria orbignyi Paraense 1975 y B. peregrina en los ríos Riachuelo y Santa Lucía, Provincia de Corrientes, (Ostrowski de Núñez et al., 1990) principalmente por la ausencia de bulbo basal en el estilete y por poseer ocho glándulas de penetración y brazos de la vesícula excretora cortos; de Xiphidiocercaria sp. II parásita de *Biomphalaria occidentalis* Paraense 1981 en la laguna Paiva, Provincia de Corrientes (Ostrowski de Núñez et al., 1991) por poseer pelos sensitivos, prefaringe, 5 pares de glándulas de penetración y una vesícula excretora que no sobrepasa la parte anterior de la ventosa ventral; de Xiphidiocercaria sp. II parásita de B. straminea en río Riachuelo, Provincia de Corrientes, (Ostrowski de Núñez et al., 1990) principalmente por la ausencia de glándulas cistógenas y por poseer una vesícula excretora en forma de I; de Xiphidiocercaria sp. III parásita de Drepanotrema lucidum (Pfeiffer 1839) en la laguna Paiva, Provincia de Corrientes (Hamann et al., 1993) por poseer pelos

sensitivos, prefaringe, cinco pares de glándulas de penetración, una vesícula excretora que no sobrepasa la parte anterior de la ventosa ventral y aleta caudal; de Xiphidiocercaria sp. IV parásita de Drepanotrema depressissimum (Moricand 1837) en la laguna Paiva, Provincia de Corrientes (Hamann et al., 1993) por poseer prefaringe y una vesícula excretora que no alcanza la ventosa ventral; y de Xiphidiocercaria parásita de C. dombeyana en el lago Escondido y lago Correntoso (Flores, 2004) por pelos sensitivos en el cuerpo, prefaringe, seis pares de glándulas de penetración y una vesícula excretora que no alcanza la ventosa ventral. Etchegoin (1997) y Etchegoin y Martorelli (1998) encontraron dos cercarias de este tipo parasitando H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita. La Xiphidiocercaria tipo Armatae aquí descripta se diferencia de Xiphidiocercaria sp. 1 por poseer cuerpo, cola, ventosas y faringe más pequeños (cuerpo: 0,220-0,447 x 0,110-0,180 vs. 0,080-0,098 x 0,030-0,041; cola: 0,147-0,267 x 0,027-0,053 vs. 0,058-0,070 x 0,008-0,011; ventosa oral: 0,037-0,070 x 0,040-0,060 vs. 0,014-0,019 x 0,012-0,017; ventosa ventral: 0,037-0,060 x 0,040-0,067 vs. 0,020-0,025 x 0,018-0,023; faringe: 0,013-0,027 x 0,012-0,023 vs. 0,007-0,008 x 0,006-0,007) y una vesícula excretora que no alcanza la ventosa ventral y presenta gran similitud con Xiphidiocercaria sp. 2 parásito de H. conexa en la laguna costera de Mar Chiquita diferenciándose por poseer un estilete más ancho (0,005-0,007 vs. 0,003-0,004). Hasta no dilucidar el ciclo de vida de esta cercaria, no será posible determinar su posición sistemática.



Figura 32. Corte histológico (H-E) de tejido de *Heleobia australis* parasitado por esporocistos de Xiphidiocercaria tipo Armatae (**e**: esporocisto; **c**: cercaria; **go**: gónada).



Figura 33. Xiphidiocercaria tipo Armatae **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,5 mm); **B.** Detalle del estilete de la cercaria (Barra de escala: 0,01 mm); **C.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,5 mm) y fotografía.

Metacercaria sp.

Lugar de muestreo: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: cabeza (Fig. 34)

Prevalencia: 1,64 % (Sitio 1), 3,01 % (Sitio 2) y 2,08 % (Sitio 3)

Descripción (Fig. 35): Quiste de 0,202 (0,169-0,269) de diámetro. Dos capas quísticas, la interna de 0,006 (0,003-0,008) de espesor y la externa de 0,014 (0,008-0,019) de espesor. Los quistes se desenquistan haciendo presión con agujas de disección, luego de haber estado 48 hs en solución fisiológica a 39-40 °C con el fin de desintegrar la capa externa que es la más dura. Cuerpo alargado de 0,400 (0,251-0,603) de largo y 0,114 (0,078-0,167) de ancho a nivel de la ventosa ventral. Tegumento muy espinoso en todo el cuerpo. Dos pares de glándulas cuyos conductos finalizan anteriores a la ventosa oral. Además existen otros tres pares de glándulas distribuidos a cada lado del cuerpo cuyos conductos finalizan en los laterales. Ventosa oral de 0,060 (0,024-0,080) de largo y 0,054 (0,031-0,073) de ancho. No se pudo observar el sistema digestivo completo debido a las abundantes glándulas cistógenas. Faringe de 0,022 (0,015-0,028) de largo y 0,020 (0,015-0,025) de ancho. Ventosa ventral de 0,061 (0,044-0,087) de largo y 0,060 (0,036-0,081) de ancho, muy prominente con pequeñas espinas. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Vesícula excretora en forma de Y que alcanza el esófago y que se abre en el extremo posterior del cuerpo, con evaginaciones laterales en la pared y numerosos gránulos en su interior.

<u>Discusión</u>: La presencia de una ventosa ventral prominente, una vesícula excretora cuyos canales colectores alcanzan el esófago y el tipo de hospedador (gasterópodo), relacionan a esta metacercaria con aquellas de la familia Plagiorchiidae (Komiya, 1965). Esta metacercaria presenta características similares a la Xiphidiocercaria tipo Armatae aquí descripta. Sin embargo, hasta no realizar infestaciones experimentales no se pueden relacionar estos dos estadios.



Figura 34. Tejido de *Heleobia australis* parasitado por Metacercaria sp (**br**: branquia; **t**: tentáculo; **o**: opérculo; **cp**: cavidad paleal; **mc**: músculo; **me**: metacercaria).



Figura 35. Metacercaria sp. **A.** Metacercaria enquistada; **B.** Metacercaria desenquistada (Barra de escala: 0,1 mm).

Capítulo II:

Ciclos de vida de digeneos que involucran a *Heleobia australis* como hospedador intermediario



a. Objetivo del capítulo

Establecer los posibles hospedadores de los estadios restantes del ciclo de vida de los digeneos hallados en *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca.

b. Antecedentes

Los ciclos de vida, descriptos hasta el momento, que utilizan a *H. australis* como primer hospedador intermediario son: *A. umbilicatum*, *P. macrostomum*, *A.* (*P.*) *longa* y *M. bonaerensis*. Todos los ciclos de vida fueron descriptos en Brasil por Simões et al. (2008; 2009; 2010), excepto el de *M. bonaerensis* descripto en Argentina por Etchegoin y Martorelli (1997a).

Los humedales del Sudoeste Atlántico se caracterizan por estar habitados por grandes poblaciones de dos especies de cangrejos pertenecientes a la familia Grapsidae, *C. angulatus* y *N. granulata* (Olivier et al., 1972; Spivak et al., 1994). Pocos son los estudios sobre digeneos que parasitan a estas dos especies hospedadoras: *M. szidati* encontrada parasitando a *C. angulatus* por Martorelli (1986b; 1989c) y Martorelli y Schuldt (1990) y *M. bonaerensis* citada para ambas especies de cangrejos por Etchegoin y Martorelli (1997a). Ambos especies parásitas fueron citadas para la laguna costera de Mar Chiquita.

En el estuario de Bahía Blanca, Tanzola y colaboradores han realizado estudios sobre las parasitosis de peces, especialmente causadas por nematodes y cestodes (Tanzola et al., 1997; 2000; Tanzola y Gigola, 2002; Guagliardo, 2003; Tanzola, 2004; Tanzola et al., 2006; Díaz Andrade et al., 2008). Los digeneos *Prosorhynchus australis* Szidat 1961 (Bucephalidae) y *Stomachicola* sp. (Hemiuridae Looss 1899) fueron hallados parasitando al congrio argentino, *Conger orbignianus* Valenciennes 1837 (Tanzola y Guagliardo, 2000) y *Otodistomum pristiophori* (Johnston 1902) (Azygiida Schell 1982) parasitando a la raya *Sympterygia bonapartii* Müller y Henle 1841 (Tanzola et al., 1998). La Sala y Martorelli (2007), La Sala et al. (2009a; 2009b) y La Sala (2010), hallaron cestodes, acantocéfalos, digeneos *M. bonaerensis, M. orensensis, Odhneria odhneri* Travassos

1921, *L. cruzi, H. escamosa* y *S. uruguayense* fueron hallados en pichones muertos de esta especie de gaviota por La Sala et al. (2009b) y La Sala (2010).

c. Trabajo de laboratorio: hospedadores naturales y experimentales

Todos los hospedadores invertebrados fueron mantenidos vivos en el laboratorio hasta su examinación con el fin de desenquistar las metacercarias para su estudio y determinación. Los peces y un ejemplar de tero real (*H. melanurus*), en cambio, fueron conservados hasta su prospección, en formalina 10 % y en freezer, respectivamente.

En el caso particular de los cangrejos, se los sacrificó por enfriamiento (4°C durante 2 horas), y el caparazón fue removido antes de la disección. Las branquias, el estómago, el hepatopáncreas y las gónadas fueron extraídas separadas en cápsulas de Petri y observadas bajo lupa binocular para detectar la presencia de metacercarias. Luego, se examinó la musculatura del tórax y de las quelas también bajo lupa binocular.

Para facilitar el desenquistamiento de las metacercarias halladas en invertebrados y en peces, los quistes fueron colocados en pequeñas cajas de Petri sumergidas en solución fisiológica. Aquellas metacercarias que continúan sus ciclos de vida en aves fueron incubadas en estufa a 39-40°C en solución fisiológica. Las metacercarias que no desenquistaron naturalmente, se desenquistaron por medios mecánicos empleando microagujas de disección. Las metacercarias enquistadas y desenquistadas fueron estudiadas "in vivo" y fijadas en formalina 10 % caliente para tomar medidas. Otros ejemplares fueron extendidos entre porta y cubreojetos, realizando leve presión sobre el cubreobjetos, relajados mediante un ligero pasaje sobre una llama de mechero. Luego fueron fijados en formalina 10 % y coloreados con carmín clorhídrico de Langeron o hematoxilina de Van Cleave, deshidratados, diafanizados con eugenol y montados en bálsamo de Canadá. Los dibujos fueron realizados con la ayuda de una cámara clara. Las medidas están basadas en 10-20 especímenes (excepto en los casos en donde se indica lo contrario) fijados en formalina 10 % caliente. Se expresan en milímetros con el promedio y el rango entre paréntesis.

Se realizaron cortes histológicos de 5-6 micras de espesor de branquias y músculo de cangrejos parasitados por metacercarias y fueron coloreados aplicando la técnica hematoxilina-eosina (H-E).

Para el estudio del ejemplar de tero real hallado en las cercanías de Villa del Mar, se dividió el tracto digestivo en las siguientes secciones: cavidad oral, esófago, proventrículo, ventrículo, intestino delgado (subdividido en cuatro secciones: I, II, III, y IV), intestino grueso, ciegos intestinales y cloaca. Los digeneos fueron fijados en formalina 10 % y coloreados con carmín clorhídrico de Langeron o hematoxilina de Van Cleave, deshidratados, diafanizados con eugenol y montados en bálsamo de Canadá. Los dibujos fueron hechos con la ayuda de una cámara clara. Las medidas se expresan en milímetros con el promedio y el rango entre paréntesis.

Durante la prospección de los invertebrados y vertebrados recolectados en el estuario se hallaron parásitos que no formarían parte de los ciclos de vida que involucran a las cercarias anteriormente descriptas. Los mismos no fueron incluidos en el presente estudio.

Los posibles ciclos biológicos de las larvas de digeneos halladas en *H. australis* fueron inferidos a partir de la bibliografía. Para ello se tuvieron en cuenta los ciclos de vida descriptos para otras especies emparentadas con los digeneos hallados infestando hospedadores naturales en el estuario de Bahía Blanca. En base a esa información se realizaron algunas exposiciones experimentales con el fin de dilucidar el ciclo de vida de las especies halladas.

Para las infestaciones experimentales de poliquetos, se utilizaron ejemplares del estuario de Bahía Blanca previamente revisados, por transparencia, bajo lupa utilizando iluminación superior e inferior. Aquellos poliquetos que no estaban parasitados fueron colocados en recipientes de 30 ml con ejemplares de Echinocercaria I. Para las infestaciones experimentales de crustáceos se utilizaron ejemplares de cangrejos provenientes del Canal Aliviador (35° 50′ S - 57° 25′ O), un canal derivado del Río Salado, y del Club Motonaútico de Mar del Plata (38° 02′ S - 57° 32′ O), ambos sitios localizados en la Provincia de Buenos Aires. Los mismos fueron estudiados con anterioridad y

en ningún caso se hallaron las especies de digeneos halladas en el estuario de Bahía Blanca. Cada cangrejo se colocó en una pequeña pecera con un espécimen de *H. australis* parasitado con las Xiphidiocercarias de la familia Microphallidae, previamente estudiadas. Luego de 7-35 días fueron disecados. Las metacercarias halladas fueron estudiadas "in vivo", fijadas y coloreadas para su identificación. Además, se realizaron exposiciones experimentales de larvas de odonatos provenientes de una charca cercana a la ciudad de Mar del Plata, con la Xiphidiocercaria tipo Armatae, sin embargo las cercarias perdían movilidad en el agua dulce y no se hallaban parásitos en los insectos.

Se realizaron exposiciones experimentales con el pez de agua dulce lebistes, *Poecilia reticulata*, criados en acuario, y la Pleurolophocercaria II. Sin embargo, al igual que en el caso de la Xiphidiocercaria tipo Armatae, las cercarias perdían movilidad rápidamente en el agua dulce y no se hallaban parásitos en los peces.

En el caso de aquellos ciclos de vida de digeneos cuyos adultos parasitan aves, se realizaron infestaciones experimentales en pichones de aves de corral, *Gallus gallus* Linnaeus 1758. Para ello se contó con el apoyo de la Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata quienes nos proveyeron los pollos de un día de vida. La tabla IV muestra las especies de digeneos inoculadas, el tiempo de infección y el número de individuos recuperados.

Ejemplares de los siguientes especímenes fueron depositados en la colección Helmintológica del Museo de Ciencias Naturales de La Plata, Argentina: *P. oxyurus* parásito de *H. melanurus* (5984), *L. cruzi* parásitos de *H. melanurus* (5986), *M. simillimus* parásito de *H. australis* (5987), *Odhneria* sp. parásito de *C. angulatus* (6197) y *M. orensensis* parásito de *N. granulata* (6198).

Fecha	Pollo	Especies de digeneos inoculadas (X) y número de				Días postinfección
		individuos recuperados				
		Microphallus	Maritrema	Maritrema	Odhneria	
		simillimus	bonaerensis	orensensis	sp.	
12/2008	1	X = 0				7
12/2008	2	X = 0				7
12/2008	3	X = 0				7
12/2008	4		X = 0		X = 0	7
12/2008	5		X = 0		X = 0	7
04/2009	6		X = 0	X = 6		1
04/2009	7		X = 0	X = 0		1
04/2009	8				X = 0	4
04/2009	9				X = 0	4
09/2009	10	X = 0	X = 0	X = 0	X = 0	1
09/2009	11	X = 0	X = 0	X = 0	X = 0	1
09/2009	12	X = 50	X = 1	X = 3	X = 0	3

Tabla IV. Especies de digeneos (metacercarias) inoculadas en Gallus gallus.

d. Resultados y Discusión

A continuación se establecen los posibles ciclos de vida de las cercarias halladas en *H. australis* con ayuda de la bibliografía, de los otros estadios hallados en hospedadores naturales y de infestaciones experimentales.

Posible ciclo de vida de *Ascocotyle* (*Phagicola*) *longa* inferido a partir de la bibliografía

Ascocotyle (*Phagicola*) *longa* es una especie ampliamente distribuida reportada en América, Europa, África y Oriente Medio (Scholz, 1999). El ciclo de vida de *A*. (*P*.) *longa* fue descripto por Simões et al. (2010) en Rio de Janeiro, Brasil. Las cercarias que emergen del caracol *H. australis* enquistan en músculo, corazón, estómago, hígado, riñón, gónada, bazo y mesenterio de la lisa, *Mugil liza* Valenciennes 1836. *Ascocotyle (Phagicola) longa* parasita diversas especies de aves y mamíferos que se alimentan de lisas, incluido el hombre. Montes (comunicación personal, agosto 2010) encontró metacercarias de esta especie enquistadas en musculatura, corazón y mesenterio de lisas juveniles, *M. liza*, en la bahía de San Borombón. El reclutamiento de las lisas juveniles ocurre en estuarios y lagunas costeras, que proveen las condiciones necesarias para el crecimiento durante gran parte de su vida, luego vuelven al mar.

A partir de la adquisición de nuevas costumbres gastronómicas como el consumo de carne cruda en algunas comidas, como el sushi y el sashimi, este parásito ha sido reportado en humanos en Brasil (Chieffi et al., 1990; Luque, 2004) y en Estados Unidos (Paperna y Overstreet, 1981).

En el estuario de Bahía Blanca no se han revisado hasta el momento lisas ni aves ni mamíferos que se alimenten de éstas. Sin embargo, suponemos que el ciclo de vida de *A*. (*P*.) *longa* en el estuario de Bahía Blanca (Fig. 36) sería similar al descripto para Rio de Janeiro (Simões et al., 2010), debido a la presencia de lisas que entran al estuario para el reclutamiento y el crecimiento de los juveniles (López Cazorla, 1989).



Figura 36. Posible ciclo de vida de Ascocotyle (Phagicola) longa en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de Pleurolophocercaria II inferido a partir de la bibliografía

Las cercarias de la Superfamilia Opisthorchioidea enquistan en peces (raramente en anfibios) que son luego ingeridos por peces teleósteos, reptiles, aves y mamíferos piscívoros, incluyendo el hombre. La Pleurolophocercaria II presenta gran semejanza con las cercarias de la familia Cryptogonimidae (Ver Cap. I). En Argentina no existen registros de esta familia en estuarios o en el mar. Con excepción de Acanthostomoides apophalliformis Szidat 1956, el cual enquista en el puyén Galaxia maculatus (Jenyns 1842) de los lagos de la Patagonia, las demás especies descriptas de esta familia, A. brauni y A. gnerii, enquistan en peces ciprinodontiformes (Ostrowski de Núñez, 1987; Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra, 1991). Con respecto a los hospedadores definitivos de esta familia en Argentina, se trata de peces y reptiles que se alimentan de los peces mencionados: A. brauni parásito de la tortuga de arroyo Phrynops hilarii (Duméril y Bibron 1835), A. gnerii parásito de los bagres Rhamdia sapo (Valenciennes 1836) y Pimelodella laticeps Eigenmann 1917 y A. apophalliformis parásito de la trucha Percychthys trucha (Valenciennes 1833) (Ostrowski de Núñez, 1987; Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra, 1991; Ostrowski de Núñez et al., 1999).

En los arroyos que desembocan en el estuario de Bahía Blanca son comunes los peces ciprinodontiformes *Jenynsia multidentata* (Jenyns 1842) y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns 1842) (López Cazorla, 1989). Éstos podrían actuar como segundos hospedadores intermediarios de la Pleurolophocercaria II. Montes (comunicación personal, agosto, 2010) encontró metacercarias que pertenecerían a la familia Cryptogonimidae enquistadas en *J. multidentata* en uno de los canales del arroyo Sauce Chico, uno de los arroyos que desembocan en el estuario. Varios peces podrían ser los predadores de *J. multidentata* y hospedadores definitivos de este parásito. En el estuario de Bahía Blanca, la culebra verde y negra, *Liophis poecilogyrus sublineatus* (Cope 1860), es el único reptil que habita en esta zona de la Provincia de Buenos Aires y se alimenta de peces (Giambelluca, 2001). Además, la saraquita, *Ramnogaster arcuata* (Jenyns 1842), mostró metacercarias que formarían parte de la superfamilia Opisthorchioidea y podría ser parte del ciclo de vida la Pleurolophocercaria II (Fig. 37 y 38). Prospecciones en peces y reptiles del estuario de Bahía Blanca e infestaciones experimentales son necesarias para conocer el ciclo de vida de esta especie.

A continuación se describe la metacercaria hallada en *R. arcuata*.

Metacercaria Opisthorchioidea sp.

Hospedador: Ramnogaster arcuata (nombre vulgar: Saraquita)

Procedencia: Puerto Cuatreros

Sitio de infección: aletas y musculatura

Prevalencia: 85 %

<u>Descripción</u> (Fig. 37): Quiste de 0,305 (0,300-0,310) x 0,253 (0,240-0,267), con una pared quística fina. Cuerpo de la metacercaria desenquistada, alargado, de 0,573 (0,567-0,587) de largo y 0,216 (0,193-0,260) de ancho. Las metacercarias inmaduras presentan los ocelos bien desarrollados. Ventosa oral de 0,091 (0,060-0,117) de largo y 0,106 (0,133-0,093) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe, faringe 0,069 (0,060-0,073) de largo y de 0,064 (0,060-0,067) de ancho, y ciegos intestinales que se bifurcan anteriormente al ventosa ventral. Ventosa ventral 0,055 (0,050-0,067) de largo y 0,055 (0,047-0,063) de ancho. Testículos redondos, simétricos, postováricos. Ovario redondo, pretesticular. Vesícula excretora en forma de Y cuyos ramas alcanzan el extremo anterior de la ventosa ventral.

<u>Discusión</u>: La presencia de manchas oculares, vesícula excretora en forma de Y, ventosa ventral de menor tamaño que la ventosa oral y ciegos intestinales que alcanzan la parte posterior del cuerpo ubican a esta metacercaria dentro de la Superfamilia Opisthorchioidea (Bray, 2008). Simões et al. (2008) describen a la metacercaria de *A. umbilicatum* parásito de aletas, escamas, musculatura y cavidad bucal de los peces ciprinodontiformes *Poecilia vivipara* Bloch y Schneider 1801, *J. multidentata* y *Phalloptychus januarius* (Hensel 1868) en la

laguna Rodrigo de Freitas, Rio de Janeiro, Brasil. Sin embargo, esta última se diferencia principalmente por presentar testículos en posición preacetabular y la presencia de un collar de espinas de doble fila en la ventosa oral.



Figura 37. Metacercaria Opisthorchioidea sp. en *Ramnogaster arcuata*. **A.** Metacercaria enquistada (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Metacercaria desenquistada (Barra de escala: 0,1 mm).



Heleobia australis

Figura 38. Posible ciclo de vida en el que estaría involucrada la Pleurolophocercaria II en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de Cercaria Apocreadiinae inferido a partir de la bibliografía

La superfamilia Lepocreadioidea a la cual pertenece esta cercaria incluye 9 familias de especies parásitas de peces teleósteos. A pesar de tratarse de una superfamilia con 95 géneros, poco se sabe acerca de algunos aspectos biológicos como ciclos de vida, desarrollo y distribución. Existen algunos ciclos de vida descriptos sin embargo su patrón varía considerablemente. Según Cribb et al. (2003) la cercaria se desarrolla en redias en gasterópodos prosobranquios y enquista en invertebrados u, ocasionalmente, pequeños vertebrados. Sin embargo, Bray et al. (2009) han puesto en duda la existencia de un ciclo de vida "típico" en esta superfamilia debido al descubrimiento reciente de ciclos de vida de lepocreadidos que se desarrollan en bivalvos y enquistan en el substrato. Existen también representantes de esta familia parásitos de peces de aguas profundas, con ciclos de vida adaptados a la falta de luz; la cercaria sin ocelos y con una cola corta sin setas, que se desarrolla en redias dentro de gasterópodos prosobranquios, emerge, repta y enquista en anélidos. Según el mismo autor, estos tres patrones de ciclos de vida adaptados a las condiciones ambientales y a las características tróficas del hospedador definitivo, representen posiblemente tres grupos monofiléticos. La cercaria que se desarrolla en H. australis en el estuario de Bahía Blanca pertenecería al primer grupo, ya que se trata de una cercaria ocelada, con cola con setas y que utiliza un gasterópodo prosobranquio como primer hospedador intermediario. En Argentina existen varios registros de esta superfamilia en peces de agua dulce. De ellos solo se conoce el ciclo de vida de *H. pseudopallidum* (Martorelli, 1986a). La cercaria que emerge de *H. castellanosae* en una laguna de Los Talas, enquista en oligoquetos limnícolas de la familia Tubificidae Vejdovský 1876. La palometa, Gymnogeophagus australis (Eigenmann 1907) desarrolla el estadio adulto de esta especie al ingerir los oligoquetos.

Prospecciones en otros invertebrados y peces del estuario de Bahía Blanca son necesarias para dilucidar el ciclo de vida de esta especie.

Posible ciclo de vida de Furcocercaria Sanguinicolidae inferido a partir de la bibliografía

Las cercarias de la familia Sanguinicolidae emergen de moluscos y penetran activamente en peces marinos y de agua dulce, estableciéndose en el corazón, bulbo arterioso, aorta ventral o arterias branquiales, cefálicas o dorsales (Nolan y Cribb, 2004). Pocos son los ciclos de vida que han sido estudiados experimentalmente. Existen ciclos de vida descriptos de forma incompleta debido a la dificultad en las infestaciones experimentales y a la gran diferencia morfológica entre las larvas y los estadios adultos. En Argentina existen registros de esta familia en peces de agua dulce y marinos: Sanguinicola coelomica (Szidat 1951) en los bagres Iheringichthys labrosus (Lütken 1874), Pimelodus albicans (Valenciennes 1840) y Pimelodus maculatus Lacepède 1803 del Río de La Plata (Lunaschi, 1985; Szidat, 1951), Sanguinicola argentinensis Szidat 1951 parásito del sábalo Prochilodus lineatus (Valenciennes 1836) del Río de La Plata (Szidat, 1951), Aporocotyle argentinensis Smith 1969 parásito de la merluza Merluccius hubbsi Marini 1933 del Mar Argentino y Uruguayo (Sardella y Timi, 1996) y Cardicola ambrosioi Short 1953 en el pez palo, Percophis brasiliensis Quoy y Gaimard 1825, de Mar del Plata (Braicovich et al., 2006). En ninguna de estas especies se ha estudiado el ciclo de vida.

De los peces mencionados, solo el pez palo habita en el estuario de Bahía Blanca, sin embargo es una especie rara (López Cazorla, 1989). La cercaria hallada en el presente trabajo podría formar parte del ciclo de vida de *C. ambrosioi* o de alguna otra especie desconocida aún (Fig. 39).





Posible ciclo de vida de Cercaria Notocotylidae inferido a partir de la bibliografía

Los adultos de la familia Notocotylidae parasitan aves y mamíferos. Las metacercarias de esta familia enquistan en la vegetación o en la conchilla del caracol. En Argentina existen aproximadamente 13 especies descriptas pertenecientes a esta familia (Sutton, 1989; Flores y Brugni, 2003; Flores, 2004; Flores y Brugni, 2005; 2006), de las cuales cinco poseen ciclos de vida que fueron elucidados experimentalmente: *P. antarcticum* de la Antártida, *N. biomphalariae, C. chilinae* y *C. hatcheri* de los lagos de la Patagonia, e *H. fuelleborni* del río Luján (Graefe, 1968; Flores y Brugni, 2003; 2005; 2006; Ostrowski de Núñez, 1976b). Los adultos de *P. antarcticum* y *C. hatcheri* parasitan a la paloma antártica, *Chionis alba* (Gmelin 1789), y al pato *Anas platyrhynchos* Linnaeus 1758 respectivamente (Graefe, 1968; Flores y Brugni, 2006).

La cercaria Monostoma que emerge de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca, enquista en la conchilla del caracol, del individuo que emerge o de otros (Fig. 40). No existen reportes sobre la familia Notocotylidae en el estuario de Bahía Blanca. Prospecciones en aves y mamíferos del estuario de Bahía Blanca e infestaciones experimentales son necesarias para dilucidar el ciclo de vida de esta especie.





Posible ciclo de vida de Cercaria Haploporidae inferido a partir de la bibliografía

Las metacercarias de esta familia enquistan libremente en el agua y los adultos parasitan peces. En Argentina se conocen los ciclos de vida de *S. octavus* y *S. carolae* cuyos hospedadores definitivos son los peces de agua dulce *Astyanax fasciatus* (Cuvier 1819) y *Cichlasoma facetum* (Jenyns 1842), respectivamente (Martorelli, 1986c; Szidat, 1970). *Dicrogaster fastigata* Thatcher y Sparks 1958 parásito de la lisa *M. liza* en la bahía San Borombón es el único registro de esta familia en peces estuariales (Alarcos y Etchegoin, 2010).

La cercaria Haploporidae que emerge de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca enquista en la columna de agua y posiblemente las metacercarias se sujeten con sus anillos de los filamentos al plancton para luego ser ingeridos por peces, hospedadores definitivos de estos parásitos. Según Shameem y Madhavi (1991) *S. pearsoni* y *S. martini* se enredan, gracias a los filamentos del quiste de la metacercaria, a los filamentos algales facilitando así su ingestión por lisas, hospedadores naturales de ambos parásitos. Debido a esto y a la presencia de lisas en el estuario y a sus hábitos alimenticios planctófagos cuando son juveniles, la cercaria Haploporidae hallada en el estuario de Bahía Blanca podría ser parásita de lisas, las cuales no han sido revisadas hasta el momento (Fig. 41). Prospecciones en lisas y otros peces del estuario de Bahía Blanca e infestaciones experimentales son necesarias para conocer el ciclo de vida de esta especie. **. . ?**



Heleobia australis

Figura 41. Posible ciclo de vida en el estaría involucrada la cercaria Haploporidae en el estuario de Bahía Blanca.
Posible ciclo de vida de *Psilochasmus oxyurus* inferido a partir de la bibliografía

Szidat (1957) describió el ciclo de vida de *P. oxyurus* en la laguna de Chascomús. Las cercarias que emergen del caracol *H. parchappei* enquistan en el saco visceral de la misma especie de molusco. El estadio adulto fue descripto a partir de los especímenes obtenidos experimentalmente en pollos, *G. gallus*.

En el estuario de Bahía Blanca, el hospedador intermediario primario y secundario sería *H. australis* y el hospedador definitivo sería *H. melanurus* (Fig. 43), pudiendo haber otros hospedadores debido a la amplia distribución de esta especie. Sin embargo, infestaciones experimentales son necesarias para confirmar esta hipótesis.

A continuación se describe el adulto de *P. oxyurus* hallado en el tero real, *H. melanurus*, en el estuario de Bahía Blanca.

Adulto de *Psilochasmus oxyurus*

Hospedador: Himantopus melanurus (tero real)

Procedencia: pequeña laguna costera cercana a Villa del Mar

Sitio de infección: sección II del intestino delgado

Intensidad de infección: 2

<u>Descripción</u> (medidas basadas en 2 individuos; Fig. 42): Cuerpo alargado, ensanchado entre el tercio medio y posterior, de 2,643-3,286 de largo y 0,893-0,929 de ancho (a nivel del vitelario). Tegumento sin espinas. Ventosa oral redonda de 0,243-0,336 de largo y 0,214-0,2869 de ancho. Ventosa ventral redonda de 0,357-0,364 de largo y 0,371-0,386 de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral 1:1,5. Sistema digestivo formado por prefaringe, faringe de 0,157-0,164 de largo y de 0,129-0,164 de ancho, esófago de 0,343-0,343 de largo, se bifurca anteriormente a la ventosa ventral. No se observó la longitud de los ciegos intestinales. Testículos en tándem con contorno irregular. Testículo anterior de 0,214-0,371 de largo y 0,286-0,286 de ancho; testículo posterior de 0,236-0,386 de largo y 0,257-0,264 de ancho. Invaginación posterior de 0,429 de largo y 0,107 de ancho con una espina terminal de 0,071 de largo y 0,021 de ancho (se encontraba evaginada en uno de los especímenes). No se observó el ovario. Folículos vitelarios dispuestos lateralmente en la región postacetabular. Huevos de 0,106-0,111 de largo y 0,064-0,074 de ancho.

Discusión: Psilochasmus oxyurus es una especie cosmopolita. En Brasil, ha sido citada por Travassos (1921) en el pato gargantilla, Anas bahamensis Linnaeus 1758, y en el ganso común, Anser anser (Linnaeus 1758) por Fernandes et al. (2007). En Argentina, fue hallada en la gaviota capucho café, Larus maculipennis Lichtenstein 1823, por Labriola y Suriano (2001) y Szidat (1957) describió su ciclo de vida infectando pollos, G. gallus. Algunas de las medidas observadas en nuestros ejemplares fueron menores que las brindadas por Fernández et al. (2007): cuerpo (2,643-3,286 x 0,893-0,929 vs. 5,17-7,65 x 1,92-2,25), ventosa oral (0,243-0,336 x 0,214-0,286 vs. 0,430-0,520 x 0,350-0,450), faringe (0,157-0,164 x 0,129-0,164 vs. 0,300-0,370 x 0,170-0,320) y ventosa ventral (0,357-0,364 x 0,371-0,386 vs. 0,660-0,860 x 0,640-0,780). Sin embargo, los caracteres morfológicos y las proporciones largo/ancho de ambas ventosas, y el tamaño de los huevos son similares. Algunas de las pocas medidas brindadas por Szidat (1957) para individuos adultos son mayores: ancho del cuerpo (0,98 vs. 0,893-0,929), ventosa oral (0,31-0,34 vs. 0,243-0,336 x 0,214-0,286), faringe (0,19-0,21 vs. 0,157-0,164 x 0,129-0,164) y ventosa ventral (0,51-0,62 vs. 0,357-0,364 x 0,371-0,386). Sin embargo, algunas de las medidas brindadas por el mismo autor para individuos juveniles son menores: ventosa oral (0,19-0,21 vs. 0,243-0,336 x 0,214-0,286), faringe (0,1-0,12 vs. 0,157-0,164 x 0,129-0,164) y ventosa ventral (0,29-0,33 vs. 0,357-0,364 x 0,371-0,386). Éstas diferencias podrían deberse a la gran variabilidad intraespecífica que presenta la especie o a que se trate de individuos juveniles. Este es reporte más austral para *P. oxyurus* y el primero en H. melanurus.



Figura 42. *Psilochasmus oxyurus* parásito de *Himantopus melanurus*. **A.** Adulto (Barra de escala: 0,5 mm); **B.** Detalle de la espina caudal (Barra de escala: 0,1 mm).



Figura 43. Posible ciclo de vida de *Psilochasmus oxyurus* en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de *Himasthla* sp. inferido a partir de infestaciones experimentales y bibliografía

Las cercarias del género *Himasthla* de la familia Echinostomatidae enquistan principalmente en moluscos gasterópodos, en algunos casos en el primer hospedador intermediario, y bivalvos. *Himasthla militaris* (Rudolphi 1802) es la única especie conocida hasta el momento perteneciente a este género que enquista en poliquetos (Yamguti, 1975). Los adultos parasitan aves y mamíferos. *Himasthla escamosa* es la única especie perteneciente a este género en Argentina (Lunaschi et al., 2007). La Sala et al. (2009b) encontraron adultos de esta especie parasitando a la gaviota cangrejera, *L. atlanticus*, en el estuario de Bahía Blanca. Esta especie fue descripta originalmente parasitando a la gaviota cocinera, *Larus dominicanus* Lichtenstein 1823, en Puerto Madryn, Provincia de Chubut (Diaz y Cremonte, 2004).

Luego de revisar los bivalvos *B. rodriguezi* y *O. spreta* procedentes del estuario de Bahía Blanca y no hallar metacercarias, se examinaron poliquetos del género *Nereis* encontrándose una metacercaria similar a la Echinocercaria I hallada en *H. australis*. Además, se realizaron infestaciones experimentales en poliquetos no infestados. Cuando las gaviotas y posiblemente otras aves se alimentan de poliquetos ingieren la metacercaria, desarrollando el adulto cuyos miracidios penetrarían en el caracol *H. australis*. Petracci et al. (2004) mencionan la presencia de poliquetos de la familia Nereidae Johnston 1865 en el regurgitado de los pichones de *L. atlanticus* del estuario de Bahía Blanca. Debido a la similitud entre los estadios larvales y el adulto y a la presencia de la especie *H. escamosa* en el estuario de Bahía Blanca, Echinocercaria I y la metacercaria hallada en poliquetos podrían ser parte del ciclo de vida de esta especie, desconocido hasta el momento (Fig. 45). Infestaciones experimentales son necesarias para corroborar esta hipótesis.

A continuación se describe la metacercaria Echinostomatidae hallada en poliquetos infestados natural y experimentalmente en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria Himasthla sp.

Hospedador: Nereis sp.

Sitio de infección: celoma

Procedencia: Puerto Cuatreros

Prevalencia: 2,2 %

<u>Infestación experimental</u>: ocho individuos de poliquetos del género *Nereis* procedentes del estuario de Bahía Blanca sin parasitar, luego de 10-20 días postinfección con un individuo de *H. australis* parasitado con la cercaria de *Himasthla* sp., desarrollaron siete metacercarias en tres individuos (tres metacercarias en dos individuos y una metacercaria en un individuo).

<u>Descripción</u> (medidas basadas en dos metacercarias enquistadas y una desenquistada; Fig. 44): Quiste redondo de 0,263-0,263 de diámetro, con una capa quística de 0,003-0,005 de espesor. Cuerpo plegado dentro del quiste. Metacercaria desenquistada de 0,885 de largo y 0,195 de ancho a nivel de la ventosa ventral. Tegumento con espinas. Collar cefálico con 29 (28-29) espinas, 24-25 espinas dispuestas en una hilera simple ininterrumpida dorsalmente y 2 espinas angulares. Espinas de la hilera simple de 0,031 de largo y 0,005 de ancho. Ventosa oral de 0,073 de largo y 0,061 de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,022 de largo, faringe de 0,042 de largo y 0,027 de ancho, esófago de 0,246 de largo y ciegos intestinales que alcanzan la parte posterior del cuerpo. Ventosa ventral de 0,136 de largo y 0,129 de ancho. Vesícula excretora pequeña en forma de V, tubos colectores que se dirigen hacia el extremo anterior del cuerpo, presentan divertículos a partir de la región anterior de la ventosa ventral y numerosos gránulos en su interior. Células flamígeras numerosas.

<u>Discusión</u>: La morfología de las metacercarias recuperadas de los poliquetos infestados experimentalmente, fue similar a las metacercarias halladas en los poliquetos infestados naturalmente. Sin embargo sus medidas fueron menores, posiblemente a causa del escaso tiempo de infección. En Argentina no existen hasta el momento metacercarias descriptas pertenecientes al género *Himasthla*.



Figura 44. Metacercaria *Himasthla sp.* **A.** Metacercaria enquistada naturalmente en poliqueto *Nereis* sp.; **B.** Metacercaria desenquistada (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Detalle de la corona de espinas (Barra de escala: 0,1 mm).



Figura 45. Posible ciclo de vida que incluye a la cercaria de *Himasthla sp.* en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de *Stephanoprora uruguayense* inferido a partir de la bibliografía

El ciclo de vida de *S. uruguayense* fue descripto por Ostrowski de Núñez (2007) en el Jardín Zoológico de la ciudad de Buenos Aires, utilizando pollos como hospedadores experimentales. Las cercarias que emergen del caracol *H. parchappei* enquistan en los filamentos branquiales de *C. decemmaculatus*. Las mismas metacercarias fueron halladas parasitando a *Galaxias maculatus* (Jenyns 1842) en los lagos patagónicos (Ostrowski de Núñez et al., 2004). Esta especie ha sido sinonimizada con las especies *Stephanoprora dogieli* Holcman-Spector y Olagüe 1989, *Stephanoprora podicipei* Etchegoin y Martorelli 1997 y *Stephanoprora denticulata sensu* Torres, Figueroa y Valdivia 1983 (Ostrowski de Núñez et al., 2004; Lunaschi et al., 2007). *Stephanoprora uruguayense* fue hallada parasitando al macá grande, *Podiceps major*, y al gaviotín cola larga, *Sterna hirundinacea*, en la laguna costera de Mar Chiquita; a la gaviota cocinera, *L. dominicanus*, en los lagos patagónicos; a la gaviota capucho café, *Larus maculipennis* Lichtenstein 1823, a la gaviota capucho gris, *Larus cirrocephalus* Vieillot 1818, y a la gaviota

cocinera, *Larus dominicanus* en Mar del Plata; y a la gaviota cangrejera, *L. atlanticus*, en el estuario de Bahía Blanca (Etchegoin y Martorelli, 1997b; Cremonte et al., 1999; Labriola y Suriano, 2001; Ostrowski de Núñez et al., 2004; La Sala, 2010).

Suponemos que el ciclo de vida de *S. uruguayense* en el estuario de Bahía Blanca, sería similar al descripto por Ostrowski de Núñez (2007). Revisando peces del estuario de Bahía Blanca se hallaron metacercarias similares a las descriptas por Ostrowski de Núñez (2007) en el pejerrey de mar *O. argentinensis*. Cuando las gaviotas y posiblemente otras aves se alimentan de estos peces ingieren a la metacercaria, desarrollando luego el adulto que producirá huevos, cuyos miracidios penetrarán en *H. australis* (Fig. 47).

A continuación se describe la metacercaria de *S. uruguayense* hallada en el pejerrey *O. argentinensis* en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria de Stephanoprora uruguayense

Hospedador: Odontesthes argentinensis (pejerrey)

<u>Sitio de infección</u>: filamentos branquiales

Procedencia: Puerto Cuatreros

Prevalencia: 10 %

Descripción (Fig. 46): Quiste ovalado de 0,115 (0,083-0,141) de largo y 0,089 (0,071-0,110) de ancho, con una capa quística de 0,002 (0,001-0,005) de espesor. Cuerpo plegado dorsalmente en la zona posterior o totalmente estirado. Collar cefálico con una hilera de 22 espinas interrumpida dorsalmente, incluyendo un par de espinas en cada esquina de 0,011 (0,005-0,015) de largo y 0,003 (0,001-0,005) de ancho; el resto de 0,009 (0,006-0,012) de largo y 0,003 (0,002-0,006) de ancho. Ventosa oral de 0,029 (0,019-0,041) de largo y 0,038 (0,029-0,049) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe, faringe de 0,015 (0,009-0,020) de largo y 0,012 (0,009-0,014) de ancho, esófago y ciegos intestinales. Ventosa ventral de 0,028 (0,020-0,039) de largo y 0,034 (0,029-0,041) de ancho. En las metacercarias más maduras se observan gránulos excretores de 0,012 (0,008-0,017) de diámetro dentro de la vesícula excretora.

<u>Discusión</u>: La presencia de un collar cefálico y una corona de espinas desarrollada ubican a esta metacercaria dentro de la familia Echinostomatidae. A pesar de no haber podido desenquistar los individuos más pequeños, la metacercaria estudiada presenta gran similitud con la de *S. uruguayense* descripta por Ostrowski de Núñez (2007) en *C. decemmaculatus* de un estanque artificial del Jardín Zoológico de la ciudad de Buenos Aires. Este sería el primer registro de *S. uruguayense* en el pejerrey de mar.



Figura 46. Metacercaria de *Stephanoprora uruguayense* parásito de *Odontesthes argentinensis,* dibujo (Barra de escala: 0,02 mm) y fotografía.



Figura 47. Posible ciclo de vida de Stephanoprora uruguayense en el estuario de Bahía Blanca.

Ciclo de vida de *Maritrema orensensis* inferido a partir de infestaciones experimentales

Maritrema orensensis fue descripta por Cremonte y Martorelli (1998) en la gaviota cocinera, *L. dominicanus*, en el Balneario Orense, Provincia de Buenos Aires. Luego, La Sala et al. (2009b) halló esta especie parasitando a la gaviota cangrejera, *L. atlanticus*, en el estuario de Bahía Blanca.

Los cangrejos del estuario, *N. granulata* y *C. angulatus*, se encontraron parasitados con metacercarias muy similares a los adultos de *M. orensensis* pero sin huevos. Una de las exposiciones experimentales realizadas con *C. angulatus* del Puerto de Mar del Plata, dio como resultado el desarrollo de metacercarias de la especie *M. orensensis* enquistadas en las branquias. Luego, se realizaron infestaciones experimentales en pollos con metacercarias recolectadas de los cangrejos del estuario. En este trabajo se describe por primera vez el ciclo de vida de *M. orensensis* (Fig. 50), similar al descripto para *M. bonaerensis*.

A continuación se describe la metacercaria de *M. orensensis* hallada en los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* y el adulto de *M. orensensis* recuperado de pollos infestados experimentalmente con metacercarias de cangrejos recolectados en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria de Maritrema orensensis

<u>Hospedador</u>: *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus* <u>Sitio de infección en ambos hospedadores</u>: branquias

Prevalencia: 70,0 % (N. granulata) y 70,0 % (C. angulatus)

<u>Infestación experimental</u>: un individuo de la especie *C. angulatus* proveniente del Club Motonaútico del Puerto de Mar del Plata, luego de 21 días de cohabitación con un caracol *H. australis* parasitado con la cercaria de *M. orensensis*, mostró metacercarias en las branquias.

Descripción (Fig. 48): Quiste oval y pequeño, de 0,217 (0,180-0,247) de largo y 0,290 (0,270-0,307) de ancho, con dos capas hialinas, la interna de 0,005 (0,003-0,007) de espesor y la externa de 0,007 (0,003-0,010) de espesor. Cuerpo de la metacercaria ovalado cubierto de espinas, de 0,310 (0,275-0,366) de largo y 0,162 (0,131-0,198) de ancho a nivel de los testículos. Ventosa oral subterminal, de 0,037 (0,032-0,041) de largo y 0,034 (0,027-0,044) de ancho. Ventosa ventral de 0,024 (0,020-0,029) de largo y 0,026 (0,022-0,036) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,025 (0,012-0,034) de largo, faringe de 0,023 (0,017-0,027) de largo y 0,014 (0,012-0,019) de ancho, esófago de 0,023 (0,014-0,034) de largo y ciegos intestinales cortos que no alcanzan el nivel de la ventosa ventral, de 0,074 (0,064-0,095) de largo y 0,010 (0,008-0,013) de ancho. Testículos ovales, simétricos, postováricos, de 0,033 (0,031-0,034) de largo y 0,047 (0,033-0,058) de ancho. Saco del cirro curvado, anterior a la ventosa ventral, de 0,097 (0,083-0,136) de largo y 0,023 (0,015-0,029) de ancho, encierra vesícula seminal, células prostáticas y cirro sin espinas. Poro genital sinistral. Ovario dextral de 0,023 (0,022-0,029) de largo y 0,032 (0,013-0,053) de ancho. Folículos vitelarios ovales, localizados en forma de U invertida entre los testículos y el ovario. Células

flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Vesícula excretora en forma de V.

<u>Discusión</u>: La morfología del cuerpo es similar al estadio adulto de *M. orensensis* descripto por Cremonte y Martorelli (1998) parasitando a la gaviota cocinera, pero sin huevos desarrollados. Esta metacercaria difiere de *M. bonaerensis,* que parasita a N. granulata y C. angulatus procedentes de la laguna costera de Mar Chiquita por poseer un vitelario incompleto (Etchegoin y Martorelli, 1997a) y de Maritrema madrynensis Diaz y Cremonte 2010 parásito de Cyrtograpsus altimanus Rathbun 1914 por poseer un vitelario incompleto y un cirro sin espinas (Diaz y Cremonte, 2010). Este es el primer reporte de M. orensensis parasitando las branquias de N. granulata y C. angulatus. Las medidas tomadas de los obtenidos especímenes experimentalmente coincidieron con aquellas observadas en las metacercarias obtenidas de los cangrejos N. granulata y C. angulatus naturalmente infectados del estuario de Bahía Blanca.

Adulto de Maritrema orensensis

Hospedador experimental: Gallus gallus

Infestación experimental: Dos de los ejemplares de *G. gallus*, Pollo Número 7 y 12, inoculados con metacercarias de *M. orensensis* de la branquia de *N. granulata* y *C. angulatus* provenientes del estuario de Bahía Blanca, mostraron luego de uno y tres días post-infección, seis y tres individuos adultos, respectivamente. Descripción (Fig. 49): Cuerpo ovalado de 0,344 (0,286-0,395) de largo y 0,159 (0,136-0,181) de ancho. Tegumento espinoso. Ventosa oral subterminal de 0,039 (0,034-0,046) de largo y 0,041 (0,034-0,047) de ancho. Ventosa ventral ubicada en la segunda porción del cuerpo, de 0,028 (0,024-0,032) de largo y 0,029 (0,024-0,036) de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral: 1:0,7. Prefaringe de 0,020 (0,014 -0,029) de largo. Faringe de 0,026 (0,019-0,031) de largo y 0,021 (0,017-0,027) de ancho. Esófago corto que se bifurca en la porción posterior del tercio anterior, de 0,029 (0,022-0,034) de largo. Ciegos intestinales cortos, alcanzan el borde anterior del saco del cirro sin alcanzar la ventosa ventral, ciego intestinal izquierdo de 0,086 (0,075-0,100) de largo y 0,014 (0,012-0,017) de

ancho, ciego intestinal derecho de 0,085 (0,073-0,098) de largo y 0,014 (0,010-0,017) de ancho. Testículos lobulados, simétricos, postováricos. Testículo izquierdo de 0,042 (0,031-0,061) de largo y 0,043 (0,031-0,053) de ancho; testículo derecho de 0,044 (0,029-0,059) de largo y 0,045 (0,037-0,056) de ancho. Saco del cirro curvado de 0,122 (0, 108-0,136) de largo y 0,028 (0,022-0,037) de ancho encierra vesícula seminal de 0,026 (0,024-0,029) de largo y 0,014 (0,010-0,019) de ancho, células prostáticas de 0,005 (0,003-0,007) de diámetro y cirro sin espinas de 0,038 (0,017-0,054) de largo y 0,020 (0,014-0,032) de ancho. Poro genital sinistral. Ovario medio-dextral, superpuesto parcialmente a la ventosa ventral, de 0,041 (0,022-0,078) de largo y 0,047 (0,034-0,069) de ancho. Útero que se extiende desde el borde posterior del saco del cirro hasta la parte posterior del cuerpo. Huevos de 0,014 (0,008-0,016) de largo y 0,010 (0,007-0,015) de ancho. Folículos vitelínicos ovales dispuestos en forma de U invertida desde la región ovario-testicular hasta casi el extremo posterior del cuerpo. Vesícula excretora en forma de V.

<u>Discusión</u>: La morfología y las medidas del cuerpo coincidieron con las brindadas por Cremonte y Martorelli (1998), excepto por presentar la hallada en el presente estudio, cuerpo más angosto (0,136-0,181 vs. 0,19-0,27), vesícula seminal más pequeña (0,024-0,029 x 0,010-0,019 vs. 0,035-0,072 x 0,021-0,037), células prostáticas más pequeñas (0,003-0,007 vs. 0,009-0,011) y cirro más corto (0,017-0,054 vs. 0,058-0,074).



Figura 48. Metacercaria de *Maritrema orensensis* parásito de *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus*. **A.** Metacercaria enquistada; **B.** Metacercaria desenquistada (Vista dorsal; Barra de escala: 0,1 mm).



Figura 49. Adulto de *Maritrema orensensis* obtenido mediante infecciones experimentales en pollos, dibujo (Vista dorsal; Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía.



Figura 50. Ciclo de vida de Maritrema orensensis en el estuario de Bahía Blanca.

Ciclo de vida de *Maritrema bonaerensis* inferido a partir de infestaciones experimentales

El ciclo de vida de *M. bonaerensis* fue descripto por Etchegoin y Martorelli (1997a) en la laguna costera de Mar Chiquita. Las cercarias que emergen del caracol *H. australis* enquistan en la cavidad visceral de *N. granulata* y *C. angulatus*. Las gaviotas *L. atlanticus* y *L. maculipennis* son los hospedadores definitivos de esta especie en la laguna costera. Luego, Cremonte et al. (1999) y La Sala et al. (2009b) encontraron esta especie parasitando a *L. dominicanus* en el balneario Orense, Provincia de Buenos Aires, y a *L. atlanticus* en el estuario de Bahía Blanca.

Los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* del estuario de Bahía Blanca se encontraron parasitados con metacercarias de *M. bonaerensis*. Una de las exposiciones experimentales realizadas con cangrejos de la especie *C. angulatus* del Puerto de Mar del Plata, dio como resultado el desarrollo positivo de metacercarias de esta especie enquistadas en las branquias, celoma y músculo. Luego, se realizaron infestaciones experimentales en pollos con metacercarias recolectadas de los cangrejos del estuario. El ciclo de vida en el estuario de Bahía Blanca es similar al descripto por Etchegoin y Martorelli (1997a) para la laguna costera de Mar Chiquita (Fig. 53).

A continuación se describen la metacercaria de *M. bonaerensis* hallada en los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* y el adulto de *M. bonaerensis* recuperado de pollos infestados experimentalmente con metacercarias de cangrejos recolectados en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria de Maritrema bonaerensis

<u>Hospedador</u>: *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus* <u>Sitio de infección en ambos hospedadores</u>: branquias (Fig. 51), celoma (libre o embebido en los tejidos), músculos y ovario (Tabla V)

	Prevalencia (%)	
	Neohelice granulata	Cyrtograpsus angulatus
Branquia	97,2	83,1
Celoma	94,4	83,1
Músculo	30,6	23,1
Gónada	8,3	7,7

Tabla V. Prevalencia de Maritrema bonaerensis en cangrejos del estuario de Bahía Blanca.

<u>Procedencia</u>: Puerto Cuatreros (*Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus*) Prevalencia: 100 % (*N. granulata*) y 93,8 % (*C. angulatus*)

<u>Infestación experimental</u>: un individuo de la especie *C. angulatus* proveniente del Club Motonáutico del Puerto de Mar del Plata, luego de 35 días de cohabitación con *H. australis* infestado con *M. bonaerensis*, dio como resultado metacercarias enquistadas en branquia, celoma y músculo.

<u>Descripción</u> (Fig. 51): Quiste oval, de 0,352 (0,300-0,433) de largo y 0,381 (0,340-0,457) de ancho, con una capa hialina de 0,016 (0,010-0,023) de espesor. Cuerpo

de la metacercaria ovalado, de 0,591 (0,380-0,700) de largo y 0,320 (0,277-0,350) de ancho a nivel de los testículos. Tegumento espinoso. Ventosa oral subterminal de 0,057 (0,047-0,067) de largo y 0,064 (0,050-0,077) de ancho. Ventosa ventral de 0,061 (0,057-0,067) de largo y 0,064 (0,057-0,067) de ancho. Relación ventosa oral/ventosa ventral: 1:1. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,019 (0,007-0,060) de largo, faringe de 0,029 (0,023-0,033) de largo y 0,023 (0,017-0,027) de ancho, esófago largo de 0,086 (0,060-0,120) de largo y ciegos intestinales que alcanzan el borde anterior de los testículos, de 0,257 (0,207-0,283) de largo y 0,012 (0,007-0,017) de ancho. Testículos ovales, simétricos, postováricos, de 0,075 (0,050-0,097) de largo y 0,093 (0,075-0,102) de ancho. Saco del cirro curvado de 0,204 (0,167-0,233) de largo y 0,035 (0,017-0,047) de ancho. Cirro sin espinas de 0,106 (0,093-0,120) de largo y 0,017 (0,017-0,017) de ancho. Poro genital sinistral. Ovario dextral de 0,075 (0,053-0,097) de largo y 0,087 (0,040-0,107) de ancho. Folículos vitelínicos ovales y redondos formando un anillo, algunas veces incompleto posteriormente, localizado en el margen del cuerpo desde la región ovario-testicular hasta casi el extremo posterior del cuerpo. Células flamígeras dispuestas en ocho pares según la fórmula 2[(2+2)+(2+2)]=16. Vesícula excretora en forma de V.

<u>Discusión</u>: Las medidas y características morfológicas como folículos vitelarios que forman un anillo que encierra al útero y a los testículos, permiten ubicar a esta metacercaria dentro de la especie *M. bonaerensis*. Todas las medidas concuerdan con las tomadas por Etchegoin y Martorelli (1997a). Esta metacercaria desarrolla huevos luego de desenquistarse en solución salina a 37C°. Además observamos dos tipos de quistes de *M. bonaerensis*, uno en las branquias, redondo y pequeño, 0,271 (0,230-0,320) x 0,308 (0,277-0,343), con dos capas quísticas y otro presente en el celoma, redondo pero de mayor tamaño, 0,352 (0,300-0,433) x 0,381 (0,340-0,457), con una sola capa quística. Este último coincide con el descripto por Etchegoin y Martorelli (1997a). Estas diferencias podrían deberse a la migración que realizan algunos parásitos desde las branquias hacia otros tejidos donde crecen, aumentando su tamaño (Heard y Overstreet, 1983; Saville y Irwin, 2005). Etchegoin y Martorelli (1997a) y La Sala

et al. (2009b) encontraron a *M. bonaerensis* en branquias y celoma de ambas especies de cangrejos en la laguna costera de Mar Chiquita y en el estuario de Bahía Blanca, respectivamente. Sin embargo, este es el primer estudio donde se la encontró parasitando el músculo y la gónada. La morfología y las medidas de las metacercarias obtenidas experimentalmente en branquia y celoma de *C. angulatus* fueron similares a las halladas en los cangrejos infestados naturalmente en el estuario de Bahía Blanca, excepto por la ventosa ventral más pequeña (0,057-0,067 x 0,057-0,067 vs. 0,040-0,053 x 0,040-0,057) y el saco del cirro y ovario más cortos (saco del cirro: 0,167-0,233 vs. 0,100-0,150; ovario: 0,053-0,097 vs. 0,023-0,050) en los ejemplares de los cangrejos infestados experimentalmente.

Adulto de Maritrema bonaerensis

Hospedador experimental: Gallus gallus

<u>Infestación experimental</u>: Un ejemplar de *G. gallus*, Pollo Número 12, inoculado con metacercarias provenientes del celoma de los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* provenientes del estuario de Bahía Blanca, mostró un individuo adulto de esta especie luego de tres días post-infección.

<u>Descripción</u> (Fig. 52): Cuerpo ovalado cubierto de espinas, de 0,567 de largo y 0,273 de ancho a nivel de los testículos. Ventosa oral subterminal de 0,050 de largo y 0,057 de ancho. Ventosa ventral de 0,050 de largo y 0,060 de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral: 1:0,95. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,020 de largo, faringe de 0,020 de largo y 0,023 de ancho, esófago de 0,073 de largo y ciegos intestinales que alcanzan el borde anterior de los testículos, de 0,260 de largo y 0,012 de ancho. Testículos simétricos, ovales y postováricos. Testículo derecho de 0,077 de largo y 0,083 de ancho. Testículo izquierdo de 0,070 de largo y 0,073 de ancho. Saco del cirro curvado, anterior a la ventosa ventral, de 0,193 de largo y 0,033 de ancho. Vesícula seminal de 0,067 de largo y 0,030 de ancho. Cirro sin espinas de 0,113 de largo y 0,097 de ancho. Poro genital sinistral. Ovario dextral de 0,057 de largo y 0,097 de ancho. Folículos vitelínicos ovales formando un anillo, algunas veces incompleto

posteriormente, localizado en el margen del cuerpo. Huevos de 0,020 de largo y 0,010 de ancho. Útero que se extiende desde el borde anterior de los testículos hasta el borde posterior del vitelario. Vesícula excretora en forma de V.

<u>Discusión</u>: No se compararon las medidas con las brindadas por Etchegoin y Martorelli (1997a) debido a la existencia de un solo espécimen sin embargo la morfología fue similar a la descripta por los autores. Etchegoin y Martorelli (1997a) al describir la especie proponen el ciclo de vida en base a comparaciones morfológicas e infestaciones experimentales de cangrejos con cercarias naturalmente emergidas. Los hallazgos actuales permitieron corroborar y completar el conocimiento del mencionado ciclo biológico aportando nuevas infestaciones experimentales con cercarias y también con metacercarias para la obtención del adulto.



Figura 51. Metacercaria de *Maritrema bonaerensis* parásito de *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus*. **A.** Corte histológico (H-E) de una branquia parasitada; **B.** Metacercaria enquistada del celoma; **C.** Metacercaria desenquistada, dibujo (Vista ventral; Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía.



Figura 52. Adulto de *Maritrema bonaerensis* obtenido mediante infecciones experimentales en pollos (Vista ventral; Barra de escala: 0,1 mm).



Figura 53. Ciclo de vida de Maritrema bonaerensis en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de Levinseniella cruzi inferido a partir de la bibliografía

Levinseniella cruzi fue descripta por primera vez en el pato gargantilla, Anas bahamensis, por Travassos (1920). El ciclo de vida fue descripto por Martorelli (1988) en las lagunas de Los Talas y Chascomús y en la laguna costera de Mar Chiquita. Las cercarias que emergen de los caracoles *H. parchappei* y *H. conexa* enquistan en el camarón de agua dulce *Palaemonetes argentinus* Nobili 1901. El macá común, *Rollandia rolland chilensis* (Lesson 1828); el tero real, *H. melanurus*; y el tero común, *Vanellus chilensis* (Molina 1782), son los hospedadores definitivos de esta especie (Martorelli, 1988; Martorelli e Ivanov, 1996). Martorelli e Ivanov (1996) reportan una alta variación de tamaño y forma del cuerpo según los hospedadores definitivos. Luego, La Sala et al. (2009b) encontraron adultos de *L. cruzi* parasitando *L. atlanticus* en el estuario de Bahía Blanca.

Los cangrejos N. granulata y C. angulatus del estuario de Bahía Blanca se encontraron parasitados con metacercarias de *L. cruzi*. Ninguno de los cangrejos de las especies N. granulata y C. angulatus expuestos experimentalmente con Xiphidiocercarias que emergieron del caracol *H. australis* desarrolló metacercarias de esta especie. El ciclo de vida de esta especie en el estuario de Bahía Blanca sería similar al descripto por Martorelli (1988) en las lagunas de Los Talas y Chascomús y en la laguna costera de Mar Chiquita. Sin embargo, el lugar del primer hospedador intermediario estaría ocupado por *H. australis* y existirían otros segundos hospedadores intermediarios, los cangrejos N. granulata y C. angulatus, en lugar del camarón de agua dulce P. argentinus. No se hallaron metacercarias de L. cruzi en los camarones revisados del estuario de Bahía Blanca, sin embargo se necesitan más prospecciones en camarones debido a la baja prevalencia de este parásito en el estuario. Varias son las aves que podrían cumplir el rol de hospedador definitivo, además de L. atlanticus y H. melanurus (Fig. 56).

A continuación se describen la metacercaria y el adulto de *L. cruzi* halladas en los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* y en el tero real *H. melanurus*, respectivamente, en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria Levinseniella cruzi

<u>Hospedador</u>: *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus* <u>Sitio de infección en ambos cangrejos</u>: gónada

Procedencia: Puerto Cuatreros (Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus)

Prevalencia: 11,1 % (N. granulata) y 13,8 % (C. angulatus)

Descripción (medidas basadas en cinco individuos desenquistados y un individuo enquistado) (Fig. 54): Quiste de 0,327 x 0,333 con una doble pared, la externa de 0,012 de espesor y la interna de 0,017 de espesor. Cuerpo de la metacercaria piriforme de 0,873 (0,417-1,127) de largo y 0,237 (0,180-0,297) de ancho. Tegumento espinoso. Ventosa oral 0,089 (0,070-0,113) de largo y 0,104 (0,082-0,127) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,077 (0,063-0,100) de largo, faringe de 0,049 (0,036-0,060) de largo y 0,036 (0,023-0,053) de ancho, esófago de 0,207 (0,207-0,207) de largo y ciegos intestinales de 0,335 (0,197-0,425) de largo y 0,016 (0,015-0,017) de ancho, que se extienden hasta el nivel de la ventosa ventral. Ventosa ventral de 0,067 (0,048-0,087) de largo y 0,066 (0,052-0,077) de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral: 1:0,6. Testículos ovalados, postacetabulares, simétricos de 0,056 (0,025-0,117) de largo y 0,078 (0,033-0,260) de ancho. Vesícula seminal de 0,196 (0,125-0,283) de largo y 0,059 (0,051-0,073) de ancho. Poro genital sinistral. Ovario dextral de 0,046 (0,037-0,054) de largo y 0,060 (0,056-0,068) de ancho. Atrio genital a la izquierda de la ventosa ventral con diez digitaciones atriales (observadas en un ejemplar) de 0,008 de largo y 0,004 de ancho. Huevos de 0,020 (0,016-0,027) de largo y 0,011 (0,009-0,014) de ancho.

<u>Discusión</u>: Las medidas y características morfológicas como la presencia de un atrio genital con 10 digitaciones atriales, ubican a esta metacercaria dentro de la especie *L. cruzi*. Todas las medidas coinciden con las tomadas por Martorelli (1988), excepto por poseer un ovario más corto en la metacercaria de nuestro

estudio (0,037-0,054 vs. 0,09-0,1). La metacercaria desarrolla huevos luego de desenquistarse en solución fisiológica a 37C°. Esta metacercaria fue citada parasitando la gónada y el tejido conjuntivo circundante del camarón de agua dulce *P. argentinus* (Martorelli, 1988; Martorelli y Schuldt 1990). Este es el primer reporte de *L. cruzi* parasitando la gónada de *N. granulata* y *C. angulatus*.

Adulto de Levinseniella cruzi

Hospedador: Himantopus melanurus (tero real)

Procedencia: pequeña laguna costera cercana a Villa del Mar

Sitio de infección: Ciegos intestinales e intestino grueso

Descripción (medidas basadas en ocho individuos; Fig. 55): Cuerpo piriforme de 0,686 (0,603-0,827) de largo y 0,259 (0,217-0,320) de ancho, cubierto de espinas. Ventosa oral de 0,084 (0,077-0,103) de largo y 0,097 (0,090-0,117) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,067 (0,047-0,100) de largo, faringe de 0,047 (0,040-0,057) de largo y 0,039 (0,033-0,057) de ancho, esófago de 0,130 (0,103-0,167) de largo y ciegos intestinales de 0,240 (0,217-0,275) de largo y 0,028 (0,023-0,037) de ancho, de pared gruesa y ondulada, que se extienden hasta el nivel de la ventosa ventral. Ventosa ventral ubicado en la región anterior de la cuarta porción del cuerpo, de 0,061 (0,050-0,067) de largo y 0,064 (0,053-0,077) de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral: 1:0,6. Testículos ovalados, simétricos, postacetabulares; testículo izquierdo de 0,082 (0,073-0,090) de largo y 0,090 (0,083-0,097) de ancho; testículo derecho de 0,058 (0,050-0,067) de largo y 0,078 (0,063-0,093) de ancho. Vesícula seminal de 0,035 (0,031-0,039) de largo y 0,092 (0,088-0,096) de ancho. Poro genital sinistral. Ovario dextral de 0,048 (0,040-0,060) de largo y 0,077 (0,067-0,093) de ancho. Atrio genital con siete a diez digitaciones atriales de 0,019 (0,017-0,023) de largo y 0,013 (0,012-0,015) de ancho. Huevos de 0,019 (0,018-0,022) de largo y 0,010 (0,008-0,012) de ancho.

<u>Discusión</u>: Las medidas y las características morfológicas coinciden con las de *L. cruzi* descripta en *R. rolland chilensis* y *V. chilensis* (Martorelli, 1988). Este es el reporte más austral de *L. cruzi* parasitando a *H. melanurus*.



Figura 54. Metacercaria de *Levinseniella cruzi* parásita de *Neohelice granulata* y *Cyrtograpsus angulatus* en el estuario de Bahía Blanca, dibujo (Vista dorsal; Barra de escala 0,2 mm) y fotografía.



Figura 55. Adulto de *Levinseniella cruzi* parásito de *Himantopus melanurus* en el estuario de Bahía Blanca, dibujo (Vista ventral; Barra de escala 0,2 mm) y fotografía.



Figura 56. Posible ciclo de vida de Levinseniella cruzi en el estuario de Bahía Blanca.

Posible ciclo de vida de Odhneria sp. inferido a partir de la bibliografía

Stunkard (1979) describió el ciclo de vida de *O. odhneri* que tiene como primer hospedador a *Littorina saxatilis* (Olivi 1792), como segundo hospedador al camarón *Palaemonetes vulgaris* (Say 1818) y como hospedador definitivo a la gaviota *Larus argentatus* Pontoppidan 1763 en la Costa Atlántica de Estados Unidos. El parásito adulto fue hallado por primera vez en la garza nocturna Sabacú, *Nyctanassa violacea* (Linnaeus 1758), en Brasil por Travassos (1921). Luego fue citada en varias aves costeras de la costa Atlántica de Estados Unidos (Sinclair, 1971). En Argentina, *O. odhneri* fue reportada en el cormorán *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin 1789) y en la gaviota cocinera, *L. dominicanus*, de la Provincia de Chubut (Cremonte y Etchegoin, 2002). La Sala et al. (2009b) encontraron adultos de *O. odhneri* parasitando a la gaviota cangrejera *L. atlanticus* en el estuario de Bahía Blanca.

Los cangrejos del estuario N. granulata y C. angulatus, los cirripedios B. amphitrite y B. glandula y el camarón sergéstido P. petrunkevitchi del estuario de Bahía Blanca se encontraron parasitados con metacercarias del género Odhneria Travassos 1921. Ninguna de las exposiciones experimentales en cangrejos con Xiphidiocercarias que emergían del caracol *H. australis* desarrollaron metacercarias pertenecientes a este género. Así mismo, ninguna de las exposiciones experimentales con metacercarias de Odhneria sp. en G. gallus mostró resultados positivos. Debido a la similitud entre la metacercaria *Odhneria* sp. y el adulto *O. odhneri* y a la presencia de esta especie en el estuario de Bahía Blanca, la metacercaria *Odhneria* sp. hallada en los cangrejos podrían ser parte del ciclo de vida de esta especie, desconocido hasta el momento (Fig. 58). Ninguna de las Xiphidiocercarias halladas parasitando a *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca fue similar a la cercaria descripta por Stunkard (1979). La cercaria de Odhneria sp. podría parasitar a H. australis en el estuario de Bahía Blanca, sin embargo dicha cercaria no fue hallada en el presente estudio. Este ciclo de vida podría corroborarse con la utilización de técnicas moleculares para secuenciar ADN de los diferentes estadios como la utilizada en la elucidación del ciclo de vida de Monorchis parvus Looss 1902 (Bartoli et al. 2000).

A continuación se describe la metacercaria de *Odhneria sp.* hallada en los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* en el estuario de Bahía Blanca.

Metacercaria de Odhneria sp.

<u>Hospedadores</u>: Balanus amphitrite, Balanus glandula, Peisos petrunkevitchi, Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus

<u>Sitio de infección</u>: músculo en *B. amphitrite, B. glandula* y *P. petrunkevitchi,* y celoma y músculo en *N. granulata* y *C. angulatus*

<u>Procedencia</u>: Puerto Cuatreros (*B. amphitrite, B. glandula, P. petrunkevitchi, N. granulata* y *C. angulatus*)

<u>Prevalencia</u>: 3,0 % (B. amphitrite y B. glandula), 10,7 % (P. petrunkevitchi), 52,8 % (N. granulata) y 58,5 % (C. angulatus)

Descripción (realizada en base a las metacercarias halladas en cangrejos; Fig. 57C): Quiste redondo de 0,387 (0,330-0,513) x 0,346 (0,303-0,383), con dos capas hialinas, la interna de 0,011 (0,007-0,013) de espesor y la externa de 0,022 (0,012-0,047) de espesor. Cuerpo alargado, cubierto de espinas, de 0,623 (0,450-0,800) de largo y de ancho 0,178 (0,133-0,210) a nivel de los testículos. Ventosa oral subterminal, de 0,074 (0,063-0,100) de largo y 0,083 (0,073-0,100) de ancho. Sistema digestivo formado por prefaringe de 0,039 (0,020-0,060) de largo, faringe de 0,054 (0,033-0,073) de largo y 0,037 (0,030-0,047) de ancho, esófago largo, de 0,127 (0,067-0,193) de largo y 0,011 (0,007-0,020) de ancho que se bifurca en dos ciegos intestinales cortos y globosos, 0,036 (0,028-0,048) de ancho, que se extienden hasta el nivel preacetabular. Ciego intestinal derecho más largo que el izquierdo, 0,109 (0,083-0,147) y 0,093 (0,067-0,123), respectivamente. Ventosa ventral ubicada en la primera porción de la segunda mitad del cuerpo, de 0,072 (0,055-0,093) de largo y 0,085 (0,063-0,107) de ancho. Relación ancho ventosa oral/ventosa ventral: 1:1. Testículos ovales, simétricos, postováricos, de 0,072 (0,042-0,102) de largo y 0,038 (0,019-0,061) de ancho. Saco del cirro curvado anterior a la ventosa ventral, de 0,147 (0,110-0,169) de largo y 0,015 (0,010-0,027) de ancho. Ovario dextral, ovalado de 0,039 (0,025-0,053) y 0,033 (0,019-0,051) de ancho. Folículos vitelínicos ovales localizados al margen del cuerpo desde la porción posterior de la ventosa ventral hasta la porción anterior de los testículos. Vesícula excretora en forma de V con evaginaciones laterales en la pared, que se abre en el extremo posterior del cuerpo. Fórmula de células flamígeras 2[(2+2)+(2+2)]=16.

<u>Discusión</u>: La presencia de folículos vitelínicos constituidos por pequeñas masas compactas en el margen del cuerpo y anteriores a los testículos; y de útero que se localiza entre y posterior a los testículos, ubica a esta metacercaria dentro del género *Odhneria* (Schell, 1970). Stunkard (1979) estudió el ciclo de vida de *O. odhneri*, cuya metacercaria se enquista en *P. vulgaris*. Dicho autor no brindó las medidas, sin embargo, la morfología de la metacercaria es similar a la aquí descripta. Stunkard (1979) realizó infestaciones experimentales que mostraron quistes de metacercarias de 0,017 x 0,014 y en las infestaciones

naturales observó quistes de diferentes tamaños cuyos órganos reproductores se encontraban inmaduros. Las medidas de las metacercarias halladas en cirripedios fueron similares a las de los cangrejos, sin embargo, las enquistadas en cirripedios, poseían ventosa oral de menor tamaño (0,033-0,063 x 0,037-0,067 vs. 0,063-0,100 x 0,073-0,100) y faringe y ventosa ventral más angosta (faringe: 0,017-0,030 vs. 0,030-0,047; ventosa ventral: 0,027-0,060 vs. 0,063-0,107). Además, se encontró una metacercaria parasitando la musculatura de *P. petrunkevitchi*. La morfología de dicha metacercaria fue similar a la descripta, sin embargo no se compararon las medidas con las de las metacercarias halladas en cangrejos y cirripedios debido a la existencia de un solo espécimen. Este es el primer reporte de *Odhneria sp.* parasitando músculo de *B. amphitrite, B. glandula, P. petrunkevitchi*, y celoma y músculo de *N. granulata* y *C. angulatus*.



Figura 57. Metacercaria de *Odhneria* sp. en el estuario de Bahía Blanca. **A.** Metacercaria enquistada en *Balanus* spp. (flecha); **B.** Corte histológico (H-E) de músculo de cangrejo con metacercaria; **C.** Metacercaria desenquistada, dibujo (Vista dorsal; Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía.



Figura 58. Posible ciclo de vida de Odhneria sp. en el estuario de Bahía Blanca.

Ciclo de vida de *Microphallus simillimus* inferido a partir de infestaciones experimentales

El ciclo de vida de *Microphallus simillimus* fue propuesto por Martorelli (1991b) con *H. conexa* como único hospedador intermediario e *H. melanurus* como hospedador definitivo en la laguna costera de Mar Chiquita. Sin embargo no se habían realizado hasta el momento infestaciones experimentales.

En el presente estudio se verificó el ciclo de vida con infestaciones experimentales en pollos, donde el único hospedador intermediario es *H. australis* (Fig. 60). En el único individuo revisado de *H. melanurus* no se hallaron especímenes de *M. simillimus*. Posiblemente existan otros hospedadores definitivos para esta especie en el área investigada (Ver Cap. III).

A continuación se describe el adulto de *M. simillimus* recuperado de pollos infestados experimentalmente con metacercarias obtenidas de *H. autralis* recolectados en el estuario de Bahía Blanca.

Adulto de Microphallus simillimus

Hospedador experimental: Gallus gallus

<u>Infestación experimental</u>: Uno de los ejemplares de *G. gallus*, Pollo Número 12, inoculados con caracoles de *H. australis* parasitados con *M. simillimus* provenientes del estuario de Bahía Blanca, desarrolló 50 individuos adultos luego de tres días post-infección.

<u>Descripción</u> (Fig. 59): Cuerpo piriforme de 0,142 (0,115-0,159) de largo y 0,092 (0,075-0,108) de ancho a nivel de los testículos, cubierto de espinas. Relación largo/ancho del cuerpo: 1:0,6. Ventosa oral de 0,024 (0,019-0,027) de largo y 0,024 (0,020-0,025) de ancho. Relación largo/ancho de la ventosa oral: 1:1. Sistema digestivo formado por faringe de 0,012 (0,008-0,015) de largo y 0,012 (0,008-0,015) de ancho, esófago largo de 0,029 (0,014-0,042) de largo y ciegos intestinales de 0,048 (0,042-0,053) de largo y 0,010 (0,007-0,014) de ancho. Ventosa ventral ubicada en la primera región de la segunda porción del cuerpo, de 0,024 (0,019-0,027) de largo y 0,025 (0,022-0,027) de ancho. Relación largo/ancho de la ventosa ventral: 1:1. Relación ventosa oral/ventosa ventral: 1:1. Testículos postacetabulares difíciles de visualizar debido a que están cubiertos por los huevos. Vesícula seminal ubicada por debajo de la bifurcación de los ciegos intestinales de 0,048 (0,042-0,053) de largo y 0,010 (0,007-0,014) de ancho. Atrio genital localizado a la izquierda de la ventosa ventral. Papila copulatriz redondeada. Poro genital sinistral. Ovario pretesticular ubicado a la derecha de la ventosa ventral de 0,022 (0,012-0,036) de largo y 0,029 (0,022-0,032) de ancho. Relación largo/ancho del ovario: 1:1,3. Folículos vitelínicos en forma de dos masas compactas ubicadas en la parte posterior del cuerpo. Huevos grandes de 0,022 (0,015-0,031) de largo y 0,011 (0,008-0,014) de ancho.

<u>Discusión</u>: La anatomía del adulto es similar a la de la metacercaria, con un tamaño mayor y mayor número de huevos que las metacercarias en solución fisiológica. Los caracteres morfológicos de los especímenes adultos recuperados del intestino de los pollos fueron similares al adulto de la especie *M. simillimus* descripta por Martorelli (1991b) parasitando *H. melanurus* en la laguna costera de Mar Chiquita. Sin embargo, la mayoría de sus valores morfológicos

resultaron menores: cuerpo (0,115-0,159 x 0,075-0,108 vs. 0,450 x 0,318), ventosa oral (0,019-0,027 x 0,020-0,025 vs. 0,065 x 0,070), largo faringe (0,008-0,015 vs. 0,030), largo ciegos intestinales (0,042-0,053 vs. 0,135-0,160), ventosa ventral (0,019-0,027 x 0,022-0,027 vs. 0,054 x 0,050), ovario (0,012-0,036 x 0,022-0,032 vs. 0,050 x 0,100). Esto podría deberse al poco tiempo post-infección (tres días) de las metacercarias en el hospedador experimental. Las relaciones largo/ancho del cuerpo, largo/ancho de la ventosa oral, largo/ancho de la ventosa ventral y largo/ancho del ovario fueron similares. Las medidas de los huevos de los ejemplares adultos recuperados de los pollos fueron similares a los descriptos por Martorelli (1991b) en *H. melanurus*. En todos los casos la faringe se encontró inmediatamente posterior a la ventosa oral, no pudiéndose observar la prefaringe descripta por Martorelli (1991b).



Figura 59. Adulto de *Microphallus simillimus* obtenido mediante infestaciones experimentales en pollos (Vista ventral; Barra de escala: 0,1 mm).



Figura 60. Ciclo de vida de Microphallus simillimus en el estuario de Bahía Blanca.

Otros ciclos de vida en el estuario de Bahía Blanca

Debido a la falta de caracteres morfológicos que ubiquen a Xiphidiocercaria tipo Armatae y a la Metacercaria sp., parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca, resulta difícil plantear hipótesis con respecto a su ciclo de vida. Debido a características morfológicas similares, ambos estadios podrían pertenecer al mismo ciclo de vida. Hasta no realizar infestaciones experimentales no se pueden ubicar taxonómicamente estos estadios ni relacionarlos.

Posiblemente existen otros ciclos de vida de digeneos en el estuario de Bahía Blanca, cuyos estadios larvales no hayan sido encontrados en estos dos años de muestreo parasitando al caracol *H. australis* o que no utilicen a esta especie de molusco como primer hospedador intermediario.

Capítulo III:

Efectos de las larvas de digeneos y el ambiente sobre la morfología de *Heleobia australis*



a. Objetivo del capítulo

Evaluar los efectos que causan las larvas de digeneos y el ambiente en la morfología del hospedador.

b. Antecedentes

Los parásitos, la genética y los factores ambientales pueden alterar la forma y el tamaño de la conchilla de los caracoles (Kemp y Bertness, 1984; Rohde, 1993; Levri y Fisher, 2000; Levri et al., 2005; 2007). Los parásitos pueden acelerar (gigantismo) o disminuir (enanismo) la tasa de crecimiento de los caracoles infectados (Fernández y Esch, 1991; Probst y Kube, 1999; Miura et al., 2006). Hechinger et al. (2009) encontraron que distintas especies de digeneos afectan diferencialmente la masa corporal en una misma especie de caracol. El gigantismo está frecuentemente asociado a la castración parasitaria, la cual puede ocurrir indirectamente mediante efectos hormonales inducidos por el parásito o directamente mediante redias que consumen la gónada (Hurd, 1990). Según Sorensen y Minchella (2001), los parásitos de caracoles marinos que viven en poblaciones densas, tienden a reducir el crecimiento de su hospedador.

Figueiredo-Barros et al. (2006) encontraron diferencias en el tamaño de la conchilla de *Heleobia australis* en ambientes costeros de Brasil con condiciones abióticas diferentes, sin embargo no hicieron mención a los parásitos.

c. Hipótesis planteadas

H₁: El tamaño de *H. australis* es menor en los individuos parasitados que en los no parasitados.

H₂: Los parásitos castran a las hembras de *H. australis*.

H₃: El ambiente del estuario de Bahía Blanca y el parasitismo por *Microphallus simillimus* afectan el tamaño de *H. australis*.
d. Trabajo de laboratorio y análisis estadístico

Mediante el test estadístico de Chi-cuadrado (χ^2), se comparó la proporción de machos y hembras de *H. australis*, y las prevalencias estimadas para ambos sexos en el Sitio 1 (Puerto Cuatreros), Sitio 2 (Villa del Mar) y Sitio 3 (playa cercana a Mega).

Para analizar el efecto que causa el ambiente sobre la morfología de *H. australis*, se estimó el largo total y el ancho total promedio de los caracoles no parasitados para cada fecha y sitio de muestreo. Se utilizó ANOVA y un test post-hoc de Tukey para comparar el largo total y el ancho total promedio de los 3 sitios de muestreo. Los datos se transformaron a ln (x) para normalizarlos y estabilizar las varianzas. Con los valores de largo total se realizó una distribución de frecuencias de talla con intervalos de clase de 0,5 mm.

Para analizar el efecto que causan los parásitos sobre la morfología de *H. australis,* se estudió la relación entre la prevalencia parasitaria y el largo total de la conchilla de los caracoles de los tres sitios. La prevalencia fue calculada para las especies que utilizan al caracol como segundo o único hospedador intermediario y para las que lo utilizan como primer hospedador intermediario. Se consideraron intervalos de clase de 0,5 mm. Las tallas representadas con un número menor a 30 individuos se descartaron con el fin de evitar la sub o sobreestimación de las prevalencias observadas.

Para analizar el efecto que causan *M. simillimus* y el ambiente sobre la morfología de *H. australis,* se utilizó una submuestra de los caracoles recolectados en los sitios 1 y 2 en noviembre de 2007 y julio de 2008. Se eligieron las fechas mencionadas ya que en noviembre existe en el estuario una baja productividad primaria y una baja abundancia del tero real *Himantopus melanurus* (hospedador definitivo de *M. simillimus*) y en julio se produce la floración de fitoplancton y el pico de abundancia del *H. melanurus*. A cada ejemplar submuestreado se lo fotografió con una cámara digital y con el programa ImageTool (University of Texas, Health Science Center) se midió el

largo total y ancho total. Los valores obtenidos se convirtieron a milímetros mediante la ecuación:

$$x = \frac{y}{226,59}$$

donde x es la medida en milímetros e y es la medida tomada por el programa. Los caracoles infectados con otros parásitos fueron excluidos del análisis. Una vez obtenidas las variables morfométricas, se realizó un ANCOVA para ambas fechas de muestreo. Se consideró al ancho total como variable dependiente, al largo total como covariable y a los sitios como factor (Kemp y Bertness, 1984; Levri et al., 2005). Para aproximar a normalidad y homocedasticidad, los datos se transformaron con ln (x+1).

Las diferencias de tamaño de la conchilla se compararon teniendo en cuenta los dos sitios de muestreo, las fechas de muestreo, el sexo y los individuos infectados y no infectados por *M. simillimus*. Si existen diferencias significativas entre las pendientes o las ordenadas al origen de las regresiones lineales de las clases previamente establecidas, se puede inferir que las clases difieren entre ellas. Luego del análisis global realizado por ANCOVA, se analizaron las clases comparadas de a pares mediante una prueba de Student múltiple. Se utilizó un error individual luego de realizar la corrección propuesta por Dunn-Šidák con un error global del 5%:

$$\alpha_i = 1 - (1 - \alpha_g)^{1/k}$$

donde α_i es el α individual, α_g es α global, y *k* es el número de pruebas independientes.

Mediante el test de Student se compararon los valores medios de largo total y ancho total de individuos no parasitados y parasitados por *M. simillimus*.

e. Resultados

En los sitios 1 y 3, la relación macho-hembra fue 1:1 ($\chi^2_{0,05}$ (1) = 2,74 y $\chi^2_{0,05}$ (1) = 0,06; respectivamente) y no se encontraron diferencias significativas entre los valores de prevalencia estimados para machos y hembras ($\chi^2_{0,05}$ (3) = 6,99 y $\chi^2_{0,05}$ (3) = 3,14; respectivamente). Sin embargo, en el Sitio 2 la relación macho-hembra no fue 1:1 ($\chi^2_{0,05}$ (1) = 177,25), siendo las hembras más abundantes. Se encontraron diferencias significativas entre los valores de prevalencia estimados para machos y hembras ($\chi^2_{0,05}$ (3) = 183,89), las hembras estuvieron más parasitadas.

En el Sitio 1 el porcentaje de hembras sexualmente maduras e inmaduras fue similar, mientras que en el Sitio 2, el porcentaje de hembras maduras fue menor (Tabla VI). En el sitio 2, la mayor parte de las hembras inmaduras estuvieron parasitadas, principalmente por *M. simillimus*. En los tres sitios, un bajo porcentaje de hembras maduras estuvo parasitado con *M. simillimus*.

			Hem	bra (%)	Macho	Total
			Madura	Inmadura	(%)	(%)
Sitio	Parasitados	Con Microphallus simillimus	0,07	6,63	5,35	12,04
1		Con otros parásitos	0,69	2,10	2,17	4,97
I	No parasitados		23,81	18,22	40,96	82,99
	Total		24,57	26,95	48,48	100
0.44	Parasitados	Con Microphallus simillimus	0,22	27,21	14,33	41,76
S1t10		Con otros parásitos	4,51	9,79	9,53	23,83
2	No parasitados		8,30	11,74	14,36	34,41
	Total		13,04	48,74	38,23	100
<u> </u>	Parasitados	Con Microphallus simillimus	0	5,16	4,18	9,34
51t10 3		Con otros parásitos	0,74	2,38	2,21	5,32
3	No parasitados		30,96	11,14	43,24	85,34
	Total		31,70	18,67	49,63	100

Tabla VI. Porcentaje de hembras maduras e inmaduras, y machos infectados y no infectados en el Sitio 1 (N = 2.898), Sitio 2 (N = 3.168) y Sitio 3 (N = 1.221).

La Figura 61 muestra la estructura de tallas de los caracoles no parasitados para los tres sitios de muestreo.



Figura 61. Estructura de tallas de ejemplares de *Heleobia australis* no parasitados para los sitios de muestreo.

El ANOVA mostró diferencias significativas entre el largo total y ancho total de los caracoles no parasitados pertenecientes a los tres sitios (Tabla VII y VIII). El test de Tukey mostró que los ejemplares del Sitio 2 tienen un largo total y ancho total significativamente diferente respecto de los sitios 1 y 3 (Tabla VII y VIII). La conchilla de los caracoles de los sitios 1 y 3 fue significativamente más larga y ancha que la del Sitio 2.

Tabla VII. Largo total promedio de *Heleobia australis* sin parásitos en cada fecha y sitio de muestro. DE: desvío. N: Número de individuos no parasitados. ND: No disponible. ^{1,2} para datos transformados: ln(x). Letras iguales (*a* o *b*) indican ausencia de diferencias significativas.

		Sitio 1		Sitio 2		Sitio 3	
Año	Mes	LT medio ± DE	Ν	LT medio ± DE	Ν	LT medio ± DE	Ν
	Jul	$6,1 \pm 0,8$	171	$4,3 \pm 0,6$	50	6,5 ± 1,2	213
2000	Sept	$5,6 \pm 0,8$	135	$4,5 \pm 0,5$	59	$6,8 \pm 1,0$	180
2006	Nov	$6,0 \pm 0,6$	154	$4,6 \pm 0,7$	43	$6,8 \pm 1,0$	193
	Dic	$6,1 \pm 0,6$	130	$4,6 \pm 0,6$	78	$4,9 \pm 0,7$	141
	Feb	$6,0 \pm 0,6$	149	$4,1 \pm 0,8$	35	$4,7 \pm 0,5$	61
	Mar	$6,1 \pm 0,6$	149	$4,4 \pm 0,6$	25	ND	ND
	Abr	$5,9 \pm 0,7$	160	$4,3 \pm 0,5$	42	ND	ND
2005	Jun	$5,6 \pm 0,8$	169	$4,6 \pm 0,6$	97	ND	ND
2007	Jul	$6,0 \pm 0,7$	169	$4,6 \pm 0,5$	78	$4,6 \pm 0,5$	175
	Sept	ND	ND	$4,8 \pm 0,4$	102	$5,1 \pm 0,6$	142
	Nov	$6,0 \pm 0,7$	177	$4,8 \pm 0,5$	46	ND	ND
	Dic	$5,8 \pm 0,6$	170	$4,7 \pm 0,5$	53	ND	ND
	Ene	$5,7 \pm 0,7$	172	$4,5 \pm 0,6$	90	ND	ND
2000	Feb	$5,9 \pm 0,7$	185	$4,3 \pm 0,7$	116	ND	ND
2008	Abr	$5,5 \pm 0,8$	185	$4,4 \pm 0,5$	88	ND	ND
	Jul	$5,9 \pm 1,0$	175	$4,6 \pm 1,0$	117	ND	ND
LT medi	o ± DE	5,9 ± 0,2	2.450	$4,5 \pm 0,2$	1.119	5,6 ± 0,1	1.105
ANO	VA ¹			$F_{(2,35)} = 42,99; p < $	< 0,001		
Tuk	ey ²	а		b		а	

Tabla VIII. Ancho total promedio de *Heleobia australis* sin parásitos en cada fecha y sitio de muestro. DE: desvío. N: Número de individuos no parasitados. ND: No disponible. ^{1,2} para datos transformados: ln(x). Letras iguales (*a* o *b*) indican ausencia de diferencias significativas.

		Sitio 1		Sitio 2		Sitio 3	
Año	Mes	LT medio ± DE	Ν	LT medio ± DE	Ν	LT medio ± DE	Ν
	Jul	$3,0 \pm 0,3$	171	2,2 ± 0,2	49	$3,3 \pm 0,5$	213
2006	Sept	$2,8 \pm 0,4$	135	$2,2 \pm 0,2$	59	$3,4 \pm 0,4$	180
2006	Nov	$3,0 \pm 0,3$	154	$2,3 \pm 0,4$	43	$3,2 \pm 0,4$	193
	Dic	$3,0 \pm 0,3$	130	$2,3 \pm 0,2$	78	$2,5 \pm 0,3$	141
	Ene	$3,0 \pm 0,3$	149	2,0 ± 0,4	35	$2,4 \pm 0,2$	61
	Feb	$3,1 \pm 0,3$	149	$2,3 \pm 0,2$	25	ND	ND
	Abr	$3,0 \pm 0,3$	160	$2,2 \pm 0,2$	42	ND	ND
2007	Jun	$2,9 \pm 0,3$	169	$2,4 \pm 0,2$	97	ND	ND
2007	Jul	$3,0 \pm 0,3$	169	$2,3 \pm 0,3$	78	$2,4 \pm 0,2$	175
	Sept	ND	ND	$2,4 \pm 0,2$	105	$2,6 \pm 0,3$	142
	Nov	$3,0 \pm 0,3$	177	$2,4 \pm 0,2$	45	ND	ND
	Dic	$3,0 \pm 0,3$	170	$2,3 \pm 0,2$	53	ND	ND
	Ene	$2,9 \pm 0,3$	172	2,3 ± 0,2	90	ND	ND
2000	Feb	$3,0 \pm 0,3$	185	$2,3 \pm 0,3$	116	ND	ND
2008	Abr	$2,8 \pm 0,3$	184	$2,2 \pm 0,2$	88	ND	ND
	Jul	$3,0 \pm 0,4$	175	$2,4 \pm 0,4$	117	ND	ND
LT medi	o ± DE	3,0 ± 0,3	2.449	2,3 ± 0,1	1.120	2,8 ± 0,5	1.105
ANO	VA^1			$F_{(2,35)} = 54,24; p < 100$	< 0,001		
Tuk	ey²	а		b		а	

La prevalencia total de las especies que utilizan al caracol *H. australis* como primer hospedador intermediario [i.e. *Ascocotyle (Phagicola) longa*, Cercaria Opisthorchioidea, Cercaria Apocreadiinae, Furcocercaria Sanguinicolidae, Cercaria Notocotylidae, Cercaria Haploporidae, *Himasthla* sp., *Stephanoprora uruguayense*, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita (*Maritrema orensensis*, *Maritrema bonaerensis* y *Levinseniella cruzi*) y Xiphidiocercaria tipo Armatae] estuvo asociada con el largo total de la conchilla en los sitios 1 y 2, a mayor largo de conchilla, mayor prevalencia (Fig. 62). Sin embargo, los picos de prevalencia de las especies que utilizan a *H. australis* como segundo hospedador intermediario y como único hospedador intermediario (i.e. *M. simillimus*, Metacercaria sp. y *Psilochasmus oxyurus*), se observaron en caracoles con una talla de 4 mm en los sitios 2 y 3, y de 4,5 mm en el Sitio 1 (Fig. 63).



Figura 62. Relación entre la prevalencia total de las larvas de digeneos (%) que utilizan a *Heleobia australis* como primer hospedador intermediario y el largo total de la conchilla del caracol (mm).



Figura 63. Relación entre la prevalencia total de las larvas de digeneos (%) que utilizan a *Heleobia australis* como segundo hospedador intermediario y como único hospedador intermediario y el largo total de la conchilla del caracol (mm).

La Tabla IX muestra las prevalencias observadas en los caracoles recolectados en noviembre de 2007 y en julio de 2008 y medidos a partir de fotografías. Los resultados de la estadística descriptiva se muestran en la Tabla X y los resultados del ANCOVA en la Tabla XI.

		Prima	vera	Invie	erno	Total
		Hembra	Macho	Hembra	Macho	1000
	Infectados	1	4	6	1	12
Sitio 1	No infectados	58	43	52	60	213
	Prevalencia	1,69%	8,51%	10,34%	1,64%	5,11%
	Infectados	48	29	42	26	145
Sitio 2	No infectados	20	16	69	62	167
	Prevalencia	70,59%	64,44%	37,84%	29,55%	46,47%
Total caracoles		127	92	169	149	537

Tabla IX. Valores estimados de prevalencia de *Microphallus simillimus* en *Heleobia australis,* en los sitios 1 y 2 para noviembre de 2007 y julio de 2008.

Para el Sitio 1 no se establecieron comparaciones entre individuos parasitados y no parasitados debido al bajo número de caracoles infectados. En noviembre de 2007, no se observó dimorfismo sexual en la relación largo total/ancho total para ejemplares de la misma condición (sin *M. simillimus* Sitio 1; sin *M. simillimus* y con *M. simillimus* Sitio 2). Los caracoles no infectados de primavera fueron significativamente más largos (t = 1,656; p < 0,0001; g.l. = 135) y anchos (t = 1,656; p < 0,0001; g.l. = 135). Además, mostraron una mayor relación ancho total/largo total (es decir, conchillas más gordas) en el Sitio 1 que en el Sitio 2. El test de Student múltiple mostró diferencias significativas entre las medias ajustadas de los individuos del Sitio 1 y el Sitio 2 ($\alpha_{ind} = 0,008$; después de la corrección Dunn-Šidák). No se hallaron diferencias significativas

entre las pendientes de la regresión lineal y las medias ajustadas de los individuos infectados y no infectados de ambos sexos, pertenecientes al Sitio 2 (Tabla XI). Sin embargo, en primavera, los machos y las hembras no infectados del Sitio 2 fueron significativamente más anchos (t = 1,659; p < 0,01; g.l. = 111) que los machos y hembras infectados (Tabla X).

Tabla X. Estadística descriptiva de *Heleobia australis* infectada con *Microphallus simillimus* y no infectada en los sitios 1 y 2. Primavera: noviembre de 2007; invierno: julio de 2008. LT: largo total medio; AT: ancho total medio; DE: desvío estándar; N: número de individuos revisados.

			Prii	mavera	
		LT ± DE	AT ± DE	[(AT/LT) X 100] ± DE	Ν
Sitio 1	Infectados	5,94 ± 0,53	3,69 ± 0,29	62,12 ± 2,51	5
51110 1	No infectados	6,25 ± 0,60	3,93 ± 0,30	63,18 ± 3,23	101
	Infectados	4,70 ± 0,51	2,25 ± 0,21	48,17 ± 2,79	77
51110 2	No infectados	$4,88 \pm 0,40$	2,37 ± 0,19	$48,60 \pm 3,02$	36
			In	vierno	
		LT ± DE	AT ± DE	[(AT/LT) X 100] ± DE	Ν
Sitio 1	Infectados	6,57 ± 0,61	3,17 ± 0,26	48,25 ± 1,47	7
	No infectados	5,97 ± 1,18	$2,95 \pm 0,47$	$50,01 \pm 4,20$	112
Sitio 2	Infectados	4,71 ± 0,50	2,27 ± 0,22	48,41 ± 3,42	68
51110 2	No infectados	$4,67 \pm 0,90$	2,37 ± 0,36	51,68 ± 4,86	131

Tabla XI. Resultados del ANCOVA para largo total y ancho total de *Heleobia australis* infectados con *Microphallus simillimus* y no infectados; Primavera: noviembre de 2007; Invierno: julio de 2008. Letras iguales (*a, b* o *c*) indican ausencia de diferencias significativas; N: número de individuos.

Drimarrora	Classes compared as	Dandianta	Igualdad de la	Pendiente	Nulidad de la	Ordenada al	Medias
rimavera	Clases comparadas	rendiente	pendiente	común	pendiente	origen	ajustadas
Citic 1	Hembras no infectadas	0,666 a	$F_{5,202} = 0,47$	0,616	$F_{1,207} = 425,83$	$F_{5,207} = 16,22$	1,331 a
51110 1	Machos no infectados	0,583 a	P = 0,80		P < 0,000	P < 0,000	1,322 a
	Hembras no infectadas	0,541 a					1,260 b
	Hembras infectadas	0,578 a					1,249 b
51110 2	Machos no infectados	0,685 a					1,272 b
	Machos infectados	0,644 a					1,256 b

Invierno	Classes comparadas	Pandianta	Igualdad de la	Pendiente	Nulidad de la	Ordenada al	Medias
mviemo	Clases comparadas	Tendiente	pendiente	común	pendiente	origen	ajustadas
Sitia 1	Hembras no infectados	0,642 a	$F_{5,299} = 1,92$	0,604	$F_{1,304} = 2063,65$	$F_{5,304}$ = 24,90	1,290 a
51110 1	Machos no infectados	0,637 a	P = 0,09		P < 0,000	P < 0,000	1,286 a
	Hembras no infectados	0,591 a					1,260 b
	Hembras infectadas	0,547 a					1,220 c
51110 2	Machos no infectados	0,520 a					1,253 b
	Machos infectados	0,668 a					1,215 c
	Machos infectados	0,668 a					1,215 c

Los resultados del ANCOVA mostraron que los individuos muestreados en invierno no presentaron diferencias significativas en las pendientes de las regresiones lineales entre las clases. Sin embargo, la ordenada al origen difirió significativamente entre los individuos infectados de ambos sexos, siendo significativamente más angostos (t = 1,653; p < 0,05; g.l. = 197) que los no infectados. La prueba de Student múltiple mostró diferencias significativas en las medias ajustadas entre los individuos de los sitios 1 y 2 (es decir, los caracoles del Sitio 1 fueron más largos que los caracoles del Sitio 2; Fig. 64) y entre los individuos infectados y no infectados del Sitio 2 (t = 1,653; p < 0,05; g.l. = 197).

Las medias ajustadas de las curvas alométricas de la relación largo total/ancho total de los individuos no infectados del Sitio 1, y de los infectados y no infectados del Sitio 2 fueron todas significativamente diferentes ($\alpha_{ind} = 0,008$; luego de la corrección de Dunn-Šidák; Fig. 65).



Figura 64. Caracoles sin parasitar de invierno del Sitio 1 (izquierdo) y Sitio 2 (derecho).



Figura 65. Curvas alométricas de la relación largo total y ancho total para los individuos no infectados del Sitio 1 e individuos infectados y no infectados del Sitio 2.

f. Discusión

El gradiente de salinidad es el factor responsable de la distribución de los hidróbidos en los estuarios. De Francesco e Isla (2003) observaron que en el estuario del Río Quequén, *H. australis* se encuentra en la desembocadura con niveles altos de salinidad (6-17 ‰), *H. conexa* en la zona media (4-7 ‰) y *H. parchappeii* en la cabecera (1 ‰). Sin embargo, esto no sucede en la laguna costera de Mar Chiquita donde las tres especies soportan amplios niveles de salinidad (1-40 ‰ para *H. australis* y *H. conexa*, y 4-34 ‰ para *H. parchappeii*) aunque no se encuentran conviviendo en los mismos sitios. *Heleobia australis* se ubica en la parte externa de la laguna costera mientras que *H. conexa* se

encuentra ampliamente distribuida en la parte interna. Según De Francesco e Isla (2003), esta distribución se debe a la profundidad y al grado de exposición a las olas y no al gradiente de salinidad. Por el contrario, en el estuario de Bahía Blanca, *H. australis* es el único hidróbido hallado y su distribución abarcaría desde Puerto Cuatreros hasta Puerto Rosales, desde la zona interna hasta la zona media del estuario (observación personal). Probablemente, esta distribución sea una consecuencia de la influencia de factores como salinidad, profundidad y exposición a las olas.

De Francesco e Isla (2004a) determinaron que el ciclo de vida de *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita es de un año. En este estudio, asumimos un ciclo de vida similar para *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca.

Las variaciones morfológicas entre las poblaciones de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca estarían causadas por factores ambientales y helmintológicos que alteran el tamaño de la conchilla. Los caracoles no parasitados de los sitios 1 y 3 fueron significativamente más grandes que los del sitio 2. Si existiese un retraso en el ciclo de vida del caracol entre los sitios de muestreo, la diferencia de tamaño podría deberse a una diferencia en la edad de los caracoles. Sin embargo, el promedio del largo total de la conchilla en el Sitio 2 fue, en todas las fechas de muestreo, menor que el promedio del largo total en los sitios 1 y 3.

Las dimensiones de la conchilla de los caracoles del Sitio 2 podrían deberse a una combinación de los siguientes factores bióticos y abióticos:

(1) los caracoles que viven en costas expuestas difieren de aquellos que viven en zonas protegidas, en cuanto a numerosas características morfológicas y de su ciclo de vida (Boulding, 1990). La exposición a las olas suele estar asociada con diferencias en la calidad y cantidad de alimento disponible (Kitching y Lockwood, 1974). Los prosobranquios marinos que habitan en zonas expuestas al oleaje tienden a ser más pequeños que los que habitan zonas protegidas (Boulding, 1990). Roberts y Hughes (1980) demostraron que

individuos de la especie *Littorina rudis* Maton 1797 que viven sobre las rocas protegidos del oleaje en la costa de Gales, crecen más rápido que los que viven sobre el acantilado expuestos al oleaje. Esto se debe, principalmente, a las diferencias ambientales, como la reducción en el tiempo de búsqueda de alimento en la zona expuesta. En el estuario de Bahía Blanca, el Sitio 2 tiene una mayor exposición al oleaje que los sitios 1 y 3 (G.M.E. Perillo, comunicación personal, agosto 2009); esta mayor exposición a las olas coincide con el menor tamaño de la conchilla de *H. australis*.

(2) la mortalidad extrínseca o la probabilidad de morir por depredación (Crowl y Covich, 1990) o la castración por parásitos (Lafferty, 1993) influye en la asignación de energía del caracol para el crecimiento o la reproducción. En condiciones de aumento de la mortalidad extrínseca, los caracoles alcanzan la madurez reproductiva a menor tamaño. La mayor abundancia de predadores (*H. melanurus*) y de parásitos castradores (*M. simillimus*) en el Sitio 2 podrían explicar el menor tamaño de *H. australis* hallado en este sitio.

La ausencia en los sitios 1 y 3 de alguna de las condiciones mencionadas, y posiblemente algunas otras, podrían explicar el mayor tamaño de los caracoles en estos sitios.

En los sitios 1 y 3, la proporción de machos y hembras de *H. australis* fue similar, al igual que los valores de prevalencia estimados para cada sexo. En cambio, en el Sitio 2, las hembras fueron más abundantes que los machos y estuvieron más parasitadas. Este resultado sugiere que *M. simillimus*, la larva de digeneo más abundante en el estuario y con alta prevalencia en el Sitio 2, podría afectar la proporción de machos y hembras en la población de *H. australis*. El parásito podría inhibir el desarrollo del pene o causar una mayor mortalidad de machos que de hembras. Según Esch y Fernández (1994), la presencia de pene en los caracoles no es un buen carácter para diferenciar machos y hembras porque algunos parásitos pueden modificar los órganos sexuales de los caracoles. López Armengol y Martorelli (1997) reportaron una reducción en el

desarrollo del pene del hidróbido *Potamolithus agapetus* parasitados por una especie de la familia Haploporidae.

La castración de los caracoles infectados por los esporocistos o las redias que destruyen o consumen la gónada ha sido mencionada por varios autores (Probst y Kube, 1999). En el estuario de Bahía Blanca, los parásitos castrarían a las hembras de *H. australis*. Sólo un porcentaje bajo de hembras sexualmente maduras estuvo parasitado con *M. simillimus*. Probablemente sean infecciones tempranas en donde el parásito todavía no castró al hospedador por completo.

La castración parasitaria se asocia, generalmente, con el aumento en el crecimiento del hospedador. La energía que debería ser utilizada en la reproducción es redirigida hacia el crecimiento. Minchella (1985) considera al gigantismo como una ventaja adaptativa del hospedador en los caracoles de ciclo de vida largo, quienes siguen creciendo y luego de la autodesinfección se reproducen. Sin embargo, Sousa (1983) propuso que el gigantismo es más común en los caracoles de ciclo de vida corto y raro en los caracoles con ciclo de vida largo, como *Cerithidea californica* (Haldeman 1840) y la mayoría de los caracoles marinos. Asimismo, Esch y Fernández (1994) proponen que en los caracoles mueren con sus infecciones, y el gigantismo es considerado como una estrategia desarrollada por el parásito.

Algunas especies del género *Microphallus* causan gigantismo en caracoles de ciclo de vida corto (Levri et al., 2005). Los digeneos que invaden la glándula digestiva causan un incremento en el crecimiento de la conchilla destruyendo las células de la glándula digestiva, liberando calcio iónico que se amalgama en la conchilla (Cheng, 1971).

En nuestro estudio se observó que los caracoles más grandes tienden a estar parasitados por cercarias y los más pequeños, por metacercarias. La mayor prevalencia de cercarias en los caracoles grandes podría deberse al gigantismo causado por los parásitos o a la mayor probabilidad de infección a medida que transcurre el ciclo anual del caracol. Por otro lado, la menor prevalencia de metacercarias en las tallas grandes de *H. australis* podría deberse a la disminución del crecimiento en los especímenes parasitados, al aumento de la inmunidad de los caracoles grandes o a la muerte de los caracoles infectados de tallas grandes.

Los caracoles infectados con *M. simillimus* tuvieron conchillas más angostas que los no infectados. *Microphallus simillimus*, parásito de la gónada y la glándula digestiva de *H. australis*, induciría la re-asignación de energía destinada al crecimiento para aumentar las posibilidades del éxito reproductivo en caracoles infectados. Los caracoles parasitados se reproducirían a menor talla que los no parasitados, como ocurre con *Cerithidea californica* (Lafferty, 1993).

Capítulo IV: Comunidades larvales de digeneos parásitos de *Heleobia australis*



a. Objetivo del capítulo

Describir las infracomunidades y las comunidades componentes de las especies parásitas a nivel del primer hospedador intermediario.

b. Antecedentes

La mayoría de los estudios ecológicos sobre comunidades parasitarias se focalizan en parásitos intestinales o branquiales de vertebrados. A mediados del siglo 20, los investigadores comenzaron a investigar las comunidades larvales parásitas de moluscos y su relación con el hospedador y el ambiente (Esch et al., 2001).

Las comunidades larvales de digeneos en moluscos están controladas por factores internos y externos a sus hospedadores (Esch et al., 2001). La comunidad de parásitos dentro de un individuo hospedador, **infracomunidad**, está controlada por la heterogeneidad espacial y temporal, y por las interacciones entre las especies parásitas (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001). Por otro lado, la comunidad de parásitos en la población del hospedador, **comunidad componente**, está estructurada por el ciclo de vida del molusco, la heterogeneidad espacial y temporal, y la distribución de los hospedadores definitivos (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001). Varios autores observan heterogeneidad espacial y temporal en las comunidades de larvas de digeneos causadas por la abundancia y la riqueza de los hospedadores definitivos (Smith, 2001; Hechinger y Lafferty, 2005; Fredensborg et al., 2006). En consecuencia, las larvas de digeneos parásitas de caracoles son buenas indicadoras de la diversidad del ecosistema (Hechinger et al., 2008; Merlo y Etchegoin, 2010).

Etchegoin (1997) analizó la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* y *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires. Existen 13 especies que parasitan a *H. australis* con una baja prevalencia total (10,4 %) debida a la elevada influencia antropogénica y a los cambios bruscos en el nivel de agua del arroyo Cangrejito donde habita este molusco. La riqueza específica y la prevalencia de la comunidad larval de digeneos en *H. conexa* es mayor (S = 24 y 17,6-28,1 %), así como su distribución en la laguna costera (Etchegoin, 1997; De Francesco e Isla, 2003; Merlo y Etchegoin, 2010). Los factores que estructuran la comunidad de larvas de digeneos en *Heleobia* spp. en la laguna costera de Mar Chiquita son el ciclo de vida del molusco, el ingreso de aves migratorias a la laguna costera en verano y primavera, el comportamiento del hospedador definitivo, las características del hábitat y la distribución de los hospedadores intermediarios y definitivos (Etchegoin, 1997). La competencia intraespecífica no es un factor importante porque las poblaciones de *Heleobia* spp. no son un recurso limitante (Etchegoin, 1997). Merlo et al. (2010) utilizaron la diversidad estacional de la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* y *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita para evaluar siete índices no paramétricos de estimación de riqueza específica.

c. Hipótesis planteadas

H₁: La diversidad de estadios larvales de *H. australis* disminuye en las zonas del estuario de Bahía Blanca con elevada influencia antropogénica.

H₂: La diversidad de estadios larvales de *H. australis* aumenta con la mayor diversidad de hospedadores definitivos.

H₃: La prevalencia de *Microphallus simillimus* aumenta con la mayor abundancia del único hospedador definitivo conocido hasta el momento, *Himantopus melanurus*.

H₄: La prevalencia parasitaria de las especies cuyos adultos parasitan aves es mayor en otoño y primavera, luego de la llegada de las aves migratorias patagónicas y neárticas respectivamente, que aportan digeneos reproductivamente activos al sistema.

d. Trabajo de laboratorio y análisis estadístico

Para el Sitio 1 (Puerto Cuatreros), Sitio 2 (Villa del Mar) y Sitio 3 (playa cercana a Mega); se calculó la riqueza específica (S) = número total de especies halladas; la abundancia = número de caracoles parasitados por una sola especie; la dominancia específica (pi) = (número de caracoles parasitados por una sola especie/número de caracoles parasitados) X 100; la prevalencia = (número de caracoles parasitados por una sola especie/número de caracoles recolectados) X 100; y la prevalencia total = (número de caracoles parasitados/número de caracoles revisados) X 100.

Se utilizó el índice de rarefacción para comparar riqueza específica entre comunidades con diferente tamaño de muestras. Este método permite calcular el número esperado de especies de cada muestra si todas las muestras fueran reducidas al menor tamaño muestral (n). Este método tiene la desventaja de que al realizar la intrapolación, desaprovecha mucha información, ya que toma como medida general para todas las muestras el tamaño de la muestra más pequeña, dejando a un lado los datos extra de muestras con mayor esfuerzo de muestreo (Moreno, 2001). Con el programa BioDiversity Professional (Natural History Museum y Scottish Association for Marine Science) se calcularon los números de especies esperados para los tres sitios:

$$E(S) = \sum 1 - \frac{(N - Ni)/n}{N/n}$$

donde N es el número total de individuos en la muestra, N_i es el número de individuos de la *iésima* especie y n es el tamaño de la muestra estandarizado.

El índice de diversidad de Shannon-Wiener fue calculado para los tres sitios, utilizando el programa EcoSym (Acquired Intelligence Inc. y Kesey-Bear), el cual realiza una curva de rarefacción para poder comparar comunidades cuando el tamaño de las muestras no es igual:

$$H' = \sum pi \ (ln \ pi)^2$$

Además se calculó el índice de equitabilidad:

$$E = \frac{H' \max}{H'}$$

$$H' max = ln(S)$$

Para los sitios 1 y 2, calculamos el índice de similitud cualitativo de Sørensen:

$$CS = \frac{2j}{a+b}$$

donde *j* es el número de especies halladas en ambos sitios, *a* es el número de especies del sitio A y *b* es el número de especies del sitio B. Cuando el cociente es 1 indica que los sitios comparten todas las especies y cuando es 0, los sitios no tienen ninguna especie en común. En esta ecuación todas las especies tienen el mismo peso. Con el objetivo de incluir las abundancias de las especies en el análisis, se utilizó el índice de similitud cuantitativo de Sørensen que tiene en cuenta las abundancias de cada especie:

$$CN = \frac{2jN}{aN + bN}$$

donde jN es la suma de la abundancia más baja de cada una de las especies compartidas entre ambos sitios, aN es el número total de individuos en el sitio A y bN es el número total de individuos en el sitio B.

En los análisis de distribución espacial y temporal de las larvas de digeneos y de proporción de sexos y sus prevalencias, no se incluyó al Sitio 3 porque este sitio fue alterado y los muestreos se interrumpieron. Se estimaron las prevalencias observadas para las especies que parasitan peces, y por otro lado para las que parasitan aves y mamíferos como hospedadores definitivos con el objetivo de evaluar el porcentaje que aportan los hospedadores definitivos a cada sitio de muestreo. La distribución espacial de las larvas de digeneos entre los sitios 1 y 2 fue analizada mediante un Análisis Multivariado Discriminante utilizando el programa SPSS Stastistics (Hair et al., 1999). Las prevalencias mensuales de cada una de las especies de digeneos actuaron como variables explicativas de las diferencias existentes entre los niveles de la variable categórica (sitios de muestreo) definidas *a priori*. Los datos fueron transformados mediante arco seno (\sqrt{x}) para aproximar a normalidad y homocedasticidad (Zar, 1996).

La prevalencia total y de las especies que mostraron un valor mayor al 1 % en alguno de los dos sitios, fueron utilizadas para evaluar la heterogeneidad temporal. Se asumió que la heterogeneidad temporal fue la misma en los dos años de muestreo. Por lo tanto, los muestreos realizados en el mismo mes de años consecutivos fueron agrupados [i.e. julio (2006, 2007, 2008); septiembre (2006, 2007); noviembre (2006, 2007); diciembre (2006, 2007); enero (2008); febrero (2007, 2008); marzo (2007); abril (2007, 2008); junio (2007)]. Los valores de temperatura media mensual se obtuvieron de los Boletines Climatológicos recopilados por el Departamento de Climatología del Servicio Meteorológico Nacional (http://www.smn.gov.ar/). Se promedió la temperatura media mensual de los meses y años mencionados anteriormente.

Se calcularon las frecuencias observadas de las infecciones múltiples para los tres sitios de muestreo con el fin de conocer cuáles fueron las interacciones más comunes entre las larvas de digeneos.

e. Resultados

Se revisaron 7.504 individuos de *H. australis* en 16 fechas de muestreos entre julio de 2006 y julio de 2008 (Tabla XII). Merlo et al. (2010) recomiendan calcular el tamaño mínimo muestral necesario para observar todas las especies de digeneos existentes y Lafferty et al. (1994) disecan caracoles hasta encontrar 100 caracoles infectados.

Año	Mes	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
	Jul	235	230	235
2006	Sept	209	263	198
2006	Nov	202	196	204
	Dic	144	205	188
	Feb	196	134	78
	Mar	196	199	-
	Abr	211	197	-
2007	Jun	200	200	-
2007	Jul	200	200	200
	Sept	-	184	194
	Nov	192	200	-
	Dic	196	191	-
	Ene	195	192	-
2008	Feb	199	210	-
2008	Abr	207	222	-
	Jul	202	200	-
To	otal	2.984	3.223	1.297

Tabla XII. Número de caracoles revisados para cada fecha y sitio de muestreo.

Se identificaron 15 especies de digeneos parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca: *Ascocotyle (Phagicola) longa,* Cercaria Opisthorchioidea, Cercaria Apocreadiinae, *Psilochasmus oxyurus,* Furcocercaria Sanguinicolidae, Cercaria Notocotylidae, Cercaria Haploporidae, *Himasthla* sp., *Stephanoprora uruguayense, Maritrema orensensis, Maritrema bonaerensis, Levinseniella cruzi,* Xiphidiocercaria tipo Armatae, *Microphallus simillimus* y Metacercaria sp. Todas las especies identificadas utilizan a *H. australis* como primer hospedador intermediario, excepto *P. oxyurus* que también lo utiliza como segundo hospedador intermediario, *M. simillimus* que lo utiliza como único hospedador intermediario y Metacercaria sp. que lo utiliza solo como segundo hospedador intermediario. Debido a la dificultad en la determinación de las cercarias de *M. orensensis*, *M. bonaerensis* y *L. cruzi* (y posiblemente *Odhneria* sp.), se consideraron como un único grupo, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita. El único espécimen de caracol parasitado con redias de *P. oxyurus* no fue tenido en cuenta en los análisis, ya que se lo encontró durante el muestreo piloto de mayo de 2006 en el Sitio 2. Tampoco se consideraron las infecciones tempranas que no pudieron ser determinadas, infecciones prepatentes (12 en el Sitio 1, 17 en el Sitio 2 y 2 en el Sitio 3). La Xiphidiocercaria tipo Armatae y la Metacercaria sp. fueron consideradas en los análisis como especies diferentes, aunque podrían tratarse de diferentes estadios de una misma especie (ver Cap. I y II).

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *H. australis* no estuvieron distribuidas de manera homogénea en el estuario de Bahía Blanca. En el Sitio 1 hallamos 13 especies de digeneos parasitando a *H. australis* (S = 13). En el Sitio 2 no se hallaron Cercaria Apocreadiinae, Furcocercaria Sanguinicolidae y *S. uruguayense* (S = 10) y en el Sitio 3 no se hallaron *A. (P.) longa*, Cercaria Apocreadiinae y Furcocercaria Sanguinicolidae (S = 10). La prevalencia total fue mayor en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3 (Tabla XIII). Sin embargo, el número esperado de especies fue mayor en los sitios 1 y 3 (11,66 y 10, respectivamente) que en el Sitio 2 (7,40) para un n = 194 (Fig. 66).

El índice de Shannon y Wiener fue mayor en los sitios 1 y 3 (1,26 y 1,25) que en el Sitio 2 (0,63) con un n = 194. Además el índice de Equitabilidad fue mayor en los sitios 1 y 3 (0,51 y 0,62) que en el Sitio 2 (0,27).

El índice de similitud cualitativo de Sørensen estimado para los sitios 1 y 2, fue de 0,85; mientras que el índice de similitud cuantitativo de Sørensen fue de 0,20.



Figura 66. Curva de rarefacción E(S) para el Sitio 1 (N_P =540), Sitio 2 (N_P =2.246) y Sitio 3 (N_P =194). N_P : Número de caracoles parasitados.

La Tabla XIII muestra la abundancia, dominancia y prevalencia para cada una de las especies de digeneos halladas. *Microphallus simillimus* fue la especie dominante en los tres sitios, con una prevalencia mayor en el Sitio 2. Le siguen la Metacercaria sp., la Xiphidiocercaria tipo Armatae y el grupo de las Xiphidiocercarias tipo Ubiquita con una prevalencia mayor en el Sitio 2.

Tabla XIII. Abundancia, dominancia y prevalencia de las especies de digeneos en *Heleobia australis* en el Sitio 1 (N = 2.984), Sitio 2 (N = 3.223) y Sitio 3 (N = 1.297). C1: *Ascocotyle (Phagicola) longa;* C2: Cercaria Opisthorchioidea; C3: Cercaria Apocreadiinae; C4: *Psilochasmus oxyurus;* C5: Furcocercaria Sanguinicolidae; C6: Cercaria Notocotylidae; C7: Cercaria Haploporidae; C8: *Himasthla* sp.; C9: *Stephanoprora uruguayense;* C10: Xiphidiocercarias tipo Ubiquita [*Maritrema orensensis, Maritrema bonaerensis y Levinseniella cruzi*]; C11: Xiphidiocercaria tipo Armatae; M1: *Microphallus simillimus;* M2: Metacercaria sp.; M3: *Psilochasmus oxyurus*.

			Cercarias									Metacercarias						
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	С9	C10	C11	M1	M2	M3	Total		
	Sitio 1	37	9	4	-	3	2	12	6	3	34	10	366	49	5	540		
Abundancia	Sitio 2	32	6	0	-	0	13	8	3	0	60	88	1.930	97	9	2.246		
	Sitio 3	0	5	0	-	0	1	2	1	1	33	4	117	27	3	194		
	Sitio 1	6,9	1,7	0,7	-	0,6	0,4	2,2	1,1	0,6	6,3	1,9	67,8	9,1	0,9	100		
Dominancia (pi)	Sitio 2	1,4	0,3	0	-	0	0,6	0,4	0,1	0	2,7	3,9	85,9	4,3	0,4	100		
	Sitio 3	0	2,6	0	-	0	0,5	1,0	0,5	0,5	17,0	2,1	60,3	13,9	1,5	100		
	Sitio 1	1,2	0,3	0,1	-	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	1,1	0,3	12,3	1,6	0,2	18,5		
Prevalencia (%)	Sitio 2	1,0	0,2	0	-	0	0,4	0,2	0,1	0	1,9	2,7	59,9	3,0	0,3	70,2		
	Sitio 3	0	0,4	0	-	0	0,1	0,1	0,1	0,1	2,5	0,3	9,1	2,1	0,2	7,7		

La prevalencia de las especies que finalizan sus ciclos de vida en aves y mamíferos fue mayor en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3. En cambio, la prevalencia de las especies que finalizan sus ciclos de vida en peces fue mayor en el Sitio 1 que en los sitios 2 y 3 (Fig. 67).



Figura 67. Prevalencia de larvas de digeneos en *Heleobia australis* para el Sitio 1 (N = 2.984), el Sitio 2 (N = 3.223) y el Sitio 3 (N = 1.297) según los hospedadores definitivos: Aves + Mamíferos, Peces y Hospedador desconocido (?). Las abreviaturas utilizadas son las mismas que en la Tabla XIII.

El análisis discriminante realizado para las prevalencias de las especies de digeneos en los sitios 1 y 2 dio como resultado un 96,8 % de clasificación correcta. Para el Sitio 1 se identificó el 93,7% de las prevalencias, mientras que para el Sitio 2 se identificó el 100 %. Para la función discriminante obtenida, el coeficiente de correlación canónica fue 0,955; por lo tanto, la proporción de la varianza debida a la diferencia entre los grupos, fue del 91,2 % (CC² x 100). Las prevalencias que mejor caracterizaron al Sitio 2 fueron las de *M. simillimus*, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y Cercaria Notocotylidae (Tabla XIV). En la Figura 68 se observa la distribución de los *scores* discriminantes obtenidos para los dos sitios. La función discriminante quedó expresada de la siguiente forma:

Y = 5,5 Prev_M1 - 0,951 Prev_M2 + 0,153 Prev_M3 - 0,481 Prev_C1 - 0,363 Prev_C2 - 4,029 Prev_C3 - 3,175 Prev_C5 + 0,542 Prev_C6 + 0,532 Prev_C7 - 1,641 Prev_C8 + 4,572 Prev_C9 + 0,783 Prev_C10 + 0,806 Prev_C11 - 12,885 (constante)

Tabla XIV. Matriz de estructura: Coeficientes de correlación entre variables originales y la función discriminante para el Sitio 1 y el Sitio 2.

M1	C10	C6	C1	C5	С9	C3	C11	M2	C8	C7	M3	C2
0,660	0,195	0,119	-0,102	-0,086	-0,086	-0,085	0 <i>,</i> 079	-0,072	-0,071	-0,071	0,042	-0,028



Figura 68. Histograma de frecuencias de los *scores* (puntuaciones) de la función discriminante del análisis realizado sobre los sitios 1 y 2. CC: Correlación canónica. M1: Prevalencia de *Microphallus simillimus;* C11: Prevalencia de Xiphidiocercaria tipo Armatae; y C6: Prevalencia de Cercaria Notocotylidae.

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *H. australis* no estuvieron distribuidas de manera homogénea durante el período de estudio. La Tabla XV muestra las prevalencias de las larvas de digeneos en *H. australis* en cada fecha de muestreo en los sitios 1 y 2. La prevalencia total fue siempre mayor en el Sitio 2 que en el Sitio 1, y fue máxima en septiembre de 2006 en el Sitio 1 (28,2 %) y en marzo de 2007 en el Sitio 2 (86,9 %). La variación de la prevalencia total estuvo definida, principalmente, por la prevalencia de *M. simillimus*, especie dominante en ambos sitios y en todas las fechas de muestreo (Fig. 69). La prevalencia total y de *M. simillimus* estuvo asociada directamente con la temperatura. Se registró un pico máximo a final del verano y una disminución a partir del otoño. En el Sitio 1 se observó un segundo pico de prevalencia a final del invierno, mientras que en el Sitio 2 se observó a comienzos de la primavera (Fig. 69).

			Cercarias											Metacercarias				T-1-1											
		C	1	(2	C	3	C	:5	(]6	C	27	C	28	C	:9	С	10	C	211	Ν	/ 1	Ν	12	N	13	10	ital
		S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S 1	S2
	Jul	1,7	2,6	0	0	0	0	0	0	0	0,9	0	0	0	0	0	0	0	1,3	0,4	3	22,6	58,3	1,7	26,5	0,4	0,9	27,2	79,6
90	Sept	0,5	3	0	0,4	0	0	0	0	0	0,4	0	0	0,5	0	0	0	0,5	1,1	0	8	21,1	65,4	10,5	7,6	0	0,8	28,2	80,2
20	Nov	1,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0	0	1	0	0,5	0	1	0	2	0,5	0	0	13,9	78,1	0,5	0	0	0	23,3	78,1
	Dic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,4	9	59,5	0,7	0	0	0	9,7	62,0
	Feb	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	2,6	3	0,5	0	19,4	73,1	0,5	0,8	0	0	24,0	73,9
	Mar	1,5	1	0	0,5	0	0	1	0	0	1,5	1	0,5	0	1	0	0	1,5	2,1	1	11,6	16,8	81,9	1,5	1,5	0	0	24,0	86,9
	Abr	1,9	2	0,5	0	1,4	0	0	0	0	0	0,5	0	1	0	0,5	0	2,4	0,5	1	1,5	16,1	77,7	1,4	0,5	0,5	0,5	24,2	79,2
02	Jun	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	0	2	1	1	4	11	44,5	1	5	1	1	15,5	51,5
20	Jul	2	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	1	1,5	0	0,5	0	0	0,5	3	0	3,5	10,5	57	0,5	0	0,5	0	15,5	61,0
	Sept	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0,5	-	0	-	0	-	0,5	-	0	-	41,3	-	0	-	0,5	-	42,9
	Nov	0,5	2,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0	0	0	1	3,5	0	0,5	5,2	71	0	0	0	0	7,8	77,0
	Dic	1	0,5	1,5	0,5	0	0	0	0	0	2,1	0,5	0,5	0	0	0	0	0,5	2,6	0,5	1,6	7,7	67	2	0,5	0	0	13,3	72,3
	Ene	2,1	1,6	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4,7	0	1	7,7	48,4	1	0	0	0	11,8	53,1
08	Feb	2,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	1	3,3	0	1	3	40	0	0	0	0	7,0	44,8
20	Abr	1	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	2,7	0	2,3	8,2	57,7	0,5	0	0	0,5	10,1	60,4
	Jul	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0,5	0	0	0	0	1,5	0,5	0,5	0,5	8,4	40,5	2	0	0	0	13,4	41,5
Т	otal	1,2	1	0,3	0,2	0,1	0	0,1	0	0,1	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	0	1,1	1,9	0,3	2,7	12,3	59,9	1,6	3	0,2	0,3	18,5	70,2

Tabla XV. Prevalencias de las larvas de digeneos (%) que parasitan a *Heleobia australis* en cada fecha de muestreo en el Sitio 1 (S1; N = 2.984) y Sitio 2 (S2; N = 3.223). Las abreviaturas utilizadas son las mismas que las utilizadas en la Tabla XIII.



Figura 69. Prevalencia total de larvas de digeneos, prevalencia de *Microphallus simillimus* y la temperatura mensual promedio (°C) a lo largo del año en los sitios 1 y 2.

La heterogeneidad temporal de cada una de las especies de digeneos no se pudo analizar debido a la baja prevalencia de la mayoría de ellas. Las especies que mostraron una prevalencia total mayor al 1 % fueron M. simillimus, Metacercaria (*P*.) longa, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita sp., Α. y Xiphidiocercaria tipo Armatae. La Figura 70 muestra las prevalencias de cada una de las especies mencionadas (excepto M. simillimus) a lo largo del año y en los sitios 1 y 2. A diferencia de M. simillimus, la Metacercaria sp. aumentó con las bajas temperaturas. Las otras especies estudiadas, A. (P.) longa, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y Xiphidiocercaria tipo Armatae, no mostraron una asociación con la temperatura.



Figura 70. Prevalencia de larvas de digeneos en Heleobia australis y la temperatura mensual promedio (°C) a lo largo del año en los sitios 1 y 2.

Las infecciones múltiples fueron más comunes en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3 (4,74 % vs. 1,17 % y 0,54 %). La Tabla XVI muestra las interacciones observadas y sus abundancias para los tres sitios. No se observaron infecciones triples en el Sitio 1 ni cuádruples en ningún sitio. Las asociaciones más comunes fueron la de *M. simillimus* con la Metacercaria sp., con las Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y con la Xiphidiocercaria tipo Armatae.

Tabla XVI. Número de infecciones múltiples en *Heleobia australis* en el Sitio 1 (N = 2.984), Sitio 2 (N = 3.223) y Sitio 3 (N = 1.297). Prepat: Infecciones prepatentes. Las otras abreviaturas utilizadas son las mismas que en la Tabla XIII.

Infecciones mú	Sitio 1	Sitio 2	Sitio3	
	M1+M2	14	40	6
	M1+C11	5	27	0
	M1+Prepat	3	9	0
	M1+C10	2	41	0
	M1+C1	2	9	0
	M1+C8	2	0	0
	M1+C6	0	3	0
	M1+C7	0	2	0
Número de infecciones	M1+C2	1	2	0
dobles	M2+C1	2	0	0
	M1+M3	1	2	0
	M1+C3	1	0	0
	M2+C6	0	2	0
	M2+M3	0	2	0
	M2+C10	0	2	0
	M2+C11	0	1	0
	M2+Prepat	0	1	0
	C3+C11	1	0	0
	C7+C11	1	0	0
	M1+M2+C10	0	5	1
Número de infecciones	M1+M2+C6	0	3	0
triples	M1+C11+Prepat	0	1	0
	M1+M2+Prepat	0	1	0
	Total	35	153	7

f. Discusión

La riqueza específica de digeneos parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca fue similar a la estimada para la misma especie en la laguna costera de Mar Chiquita (S = 15 y 13, respectivamente; Etchegoin, 1997). Por otro lado, la riqueza específica estimada para *H. conexa* en Mar Chiquita (S = 24; Etchegoin, 1997) es mayor respecto de la calculada para *H. australis*. En el estuario de Bahía Blanca, se identificaron cinco especies de larvas de digeneos que también están presentes en la laguna costera de Mar Chiquita. Estas especies son Cercaria Opisthorchioidea, *Psilochasmus oxyurus, Maritrema bonaerensis, Levinseniella cruzi* y *Microphallus simillimus* (Etchegoin, 1997). El estuario de Bahía Blanca y la laguna costera de Mar Chiquita podrían tener otras especies en común, pero como se mencionó en capítulos anteriores, hasta no dilucidar los ciclos de vida no es posible determinar la posición taxonómica de las larvas descriptas.

En Mar Chiquita, al igual que en los sistemas de agua dulce estudiados de la Provincia de Buenos Aires, los heterófidos son el grupo más rico en número de especies (Ostrowski de Núñez, 1992; 1993; 1995; 1996; 1998; 2001; Merlo y Etchegoin, 2010). Sin embargo, en el estuario de Bahía Blanca los microfálidos fueron el grupo más abundante y rico en número de especies. Esta diferencia podría estar relacionada con la presencia de al menos tres especies de láridos en el estuario de Bahía Blanca, la gaviota cangrejera, *L. atlanticus*, la gaviota cocinera, *L. dominicanus* y la gaviota capucho café, *L. maculipennis* (Delhey y Petracci, 2004). El estuario de Bahía Blanca es uno de los dos sitios usados por la gaviota cangrejera como sitio de cría y alimentación de los pichones (Delhey y Petracci, 2004). La Sala et al. (2009b) y La Sala (2010) encontraron en pichones de *L. atlanticus*, seis de las 15 especies de digeneos de *H. australis* (cuatro microfálidos y dos equinostomátidos). Las cuatro especies de microfálidos utilizan a los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* como segundos hospedadores intermediarios. Estas dos especies de crustáceos son abundantes en el estuario.
Larus dominicanus presenta también colonias reproductivas en el estuario y ha sido citada previamente albergando microfálidos (Etchegoin y Martorelli 1997a; Cremonte y Martorelli, 1998; Diaz, 2006). Los microfálidos dominan las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *Hydrobia ventrosa* (Montagu 1803) e *Hydrobia ulvae* (Pennant 1777) en la costa europea (Deblock, 1980; Kube et al., 2002a; 2002b; Skirnisoon et al., 2004; Thieltges et al., 2009).

Los microfálidos, los notocotílidos y los heterófidos producen huevos que se transmiten al hospedador molusco cuando éste los ingiere. Según Skirnisson et al. (2004), esta forma de infección pasiva es común en zonas donde las condiciones ambientales (altitud de marea, temperatura del agua, intensidad de luz, salinidad) son inestables; e.g. los estuarios.

La prevalencia total de larvas de digeneos en *H. australis* en los sitios 1 y 2 del estuario de Bahía Blanca (18,5 % y 70,2 %) fue mayor a la estimada en la laguna costera de Mar Chiquita (10,4 %; Etchegoin, 1997). Sin embargo, al igual que en Mar Chiquita (Etchegoin, 1997), las prevalencias individuales de digeneos fueron menores al 10 %, excepto por la alta prevalencia de *M. simillimus* en ambos sitios de nuestro estudio (12,3 % y 59,9 %). Lo mismo ocurre en los hidróbidos europeos, donde la mayoría de las especies de digeneos presentan bajos niveles de prevalencia con algunas especies muy abundantes (Deblock, 1980; Kube et al., 2002a; 2002b).

En función de los resultados obtenidos en este estudio, la diversidad de las larvas de digeneos disminuye desde la cabecera (Sitio 1) hacia la desembocadura del estuario de Bahía Blanca (Sitio 2). La mayor diversidad de larvas de digeneos observada en el Sitio 1 es una consecuencia del mayor número de especies parásitas y de la distribución equitativa de sus abundancias. Contrariamente, en el Sitio 2, la elevada abundancia de *M. simillimus* disminuyó la equitabilidad y, en consecuencia, disminuyó el índice de diversidad. Los índices de similitud cualitativo y cuantitativo de Sørensen indicaron que las comunidades de larvas de digeneos de los sitios 1 y 2 fueron

similares en las composiciones específicas y diferentes en las abundancias de cada una de las especies.

Según Etchegoin (1997), la menor diversidad de larvas de digeneos observada en *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita, se debe, en parte, a la alta influencia antropogénica del arroyo donde habita dicha especie. En el estuario de Bahía Blanca el dragado, la descarga de efluentes y el tráfico comercial son mayores en el Sitio 3 que en los sitios 1 y 2. Sin embargo, el índice de diversidad en el Sitio 3 no fue menor que en los otros sitios. Kristoffersen (1991) y Bustnes y Galaktionov (1999) observaron que las larvas de digeneos aumentan en los sitios con alta influencia antropogénica. Los autores lo atribuyen al aumento en la abundancia de las gaviotas, sus hospedadores definitivos, quienes tienden a concentrarse en los puertos de pesca. Esto podría estar ocurriendo en el estuario de Bahía Blanca con las gaviotas y con otras aves oportunistas.

Heleobia australis y su comunidad larval de digeneos cumplen con las condiciones propuestas por Huspeni et al. (2005) para ser un buen indicador de las fluctuaciones ambientales: alta densidad del caracol, alta riqueza específica y heterogeneidad espacial de la comunidad larval de digeneos. Por lo tanto, consideramos que la comunidad larval de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca podría utilizarse como indicador de las fluctuaciones impacto ambiental a nivel temporal, al igual que la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Merlo y Etchegoin, 2010).

Uno de los aspectos más estudiados en las comunidades larvales de digeneos, es la variabilidad espacial y temporal en su diversidad (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001; Kube et al., 2002b). Los factores que regulan esta variabilidad son el uso del hábitat por parte de los caracoles, el ciclo de vida de los caracoles hospedadores, las condiciones abióticas, las interacciones interespecíficas entre las larvas de digeneos y la densidad, la intensidad de infección y el comportamiento de los hospedadores definitivos (Merlo y

Etchegoin, 2010). Consecuentemente, la presencia de estadios larvales de digeneos en los primeros hospedadores intermediarios es un buen indicador de la diversidad biológica (Hechinger et al., 2008). La mayor dominancia de *M. simillimus* y de otras especies que finalizan sus ciclos de vida en aves y mamíferos en el Sitio 2, estaría relacionada con la mayor abundancia de sus hospedadores definitivos. Este sitio fue citado por Petracci y Delhey (2005) como un ambiente muy utilizado por aves marinas y costeras para la alimentación. Probablemente esto se deba a la gran extensión del intermareal en este sitio. Estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos por Kube et al. (2002b) para *H. ventrosa* en el Mar Báltico. Los autores observaron que la comunidad está dominada, principalmente, por especies de digeneos que parasitan aves.

La riqueza específica de peces es mayor en la desembocadura del estuario (López Cazorla, 2004). Sin embargo, la diversidad de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces fue mayor en el Sitio 1 que en el Sitio 2. En el Sitio 1 se identificaron la Cercaria Apocreadiinae, la Furcocercaria Sanguinicolidae y la Cercaria Haploporidae con valores bajos de abundancia y en el Sitio 2, solo la Cercaria Haploporidae, también con una baja abundancia. Esta diferencia en la diversidad de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces entre los sitios 1 y 2, podría deberse a que el Sitio 1 se encuentra próximo a la desembocadura del río Sauce Chico y sus canales. Allí podrían habitar sus hospedadores definitivos. Muchas veces el hospedador molusco no se encuentra en el mismo espacio que el hospedador definitivo. En estos casos, el éxito en la transmisión depende de las corrientes de marea y de las capacidades adaptativas del miracidio para detectar estímulos provenientes del ambiente (Combes et a., 2002).

Por otra parte, algunas especies de peces marinos como las lisas, migran hacia la cabecera del estuario (i.e. el Sitio 1) en los períodos de cría y alimentación de los juveniles (López Cazorla, 2004). Estos peces podrían ser los hospedadores definitivos de algunas de las especies cuyas larvas fueron halladas parasitando a *H. australis*. Este fenómeno también podría explicar la diferencia observada entre la prevalencia de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces.

Las comunidades larvales de digeneos de clima tropical tienden a ser estables a lo largo del año, mientras que muchas de las comunidades de clima templado presentan picos estacionales de prevalencia (Esch y Fernández, 1994). En la laguna costera de Mar Chiquita, la prevalencia total en Heleobia spp. desciende en invierno y aumenta en primavera y verano debido al ingreso de aves migratorias a la laguna costera (Etchegoin, 1997). Sin embargo, nuestros resultados mostraron dos picos anuales de prevalencia. Este fenómeno coincide con lo observado para la comunidad larval de digeneos de los moluscos del lago Llangorse de Gales, Reino Unido (Probert, 1966). En el estuario de Bahía Blanca, la prevalencia total de larvas de digeneos estuvo definida principalmente por el aporte de la prevalencia de *M. simillimus*. El primer pico estacional observado a finales del verano en ambos sitios y el segundo pico, a finales de invierno (en el Sitio 1) y en primavera (en el Sitio 2), podrían estar relacionados con el ciclo de vida del caracol y los factores abióticos del ambiente. Esta hipótesis asume que *H. australis* posee un ciclo de vida anual con una etapa reproductiva en enero-marzo (de Francesco e Isla, 2004a) y que el hospedador definitivo de M. simillimus es un ave residente del estuario de Bahía Blanca.

La disminución de la prevalencia en otoño estaría asociada a la mortalidad masiva del caracol al finalizar la época reproductiva. Luego la prevalencia se mantendría baja debido a las bajas temperaturas que inhibirían la emergencia de los miracidios (McKindsey y MacLaughlin, 1994). El segundo pico anual coincide con un aumento de la temperatura ambiental y la capacidad infectiva de los miracidios. Sin embargo, la disminución de la prevalencia a finales de primavera estaría relacionada con la alta mortalidad de los caracoles a causa de un intenso parasitismo. Aunque el aumento de la temperatura favorece la infección, nuestros resultados muestran que durante el verano la prevalencia se mantendría baja. Un estudio realizado por Pietrock y Marcogliese (2003) muestra que las temperaturas elevadas y la exposición a la radiación UV afectan la capacidad infectiva, la actividad y la supervivencia de los miracidios.

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan caracoles con un ciclo de vida corto muestran patrones temporales definidos. Por otro lado, las comunidades de digeneos que parasitan caracoles de ciclo de vida largo no poseen patrones temporales claros porque tienden a acumular infecciones en el tiempo (Esch y Fernández, 1994). Las especies del género *Heleobia*, a diferencia de la mayoría de los prosobranquios marinos, poseen ciclos de vida corto y, en consecuencia, patrones temporales marcados. Luego de la reproducción, la mayoría de los adultos muere con sus infecciones parasitarias. Según Esch y Fernández (1994), no se observa en estos caracoles la autodesinfección observada en caracoles de ciclos de vida largo. La mortalidad masiva de los caracoles luego de la época reproductiva causaría un problema grave para los parásitos de *H. australis* debido a que éstos deben sobrevivir en un hospedador definitivo o en un segundo hospedador intermediario hasta ser ingeridos por el hospedador definitivo.

Contrariamente a lo esperado, los valores máximos de infección no coincidieron con los valores máximos de abundancia del único hospedador definitivo conocido hasta el momento para *M. simillimus, H. melanurus*. Esta especie es el ave residente más abundante en el estuario de Bahía Blanca y alcanza su abundancia máxima durante el pico de productividad primaria, es decir en invierno (Delhey y Petracci, 2004). Si *H. australis* se reproduce en verano, los caracoles infectados en primavera no sobrevivirían hasta el nuevo pico de abundancia de *H. melanurus*. Algunas especies del género *Microphallus* necesitan un tiempo de desarrollo dentro del caracol (período de prepatencia) desde que el miracidio penetra al hospedador hasta que se forman las metacercarias con capacidad de infección (Krist y Lively, 1998). Por lo tanto, otra posible explicación para la baja prevalencia de *M. simillimus* en invierno podría estar relacionada con un retraso en el desarrollo del digeneo en el

caracol hasta la primavera donde se encuentran los valores máximos de prevalencia y donde el digeneo se encontraría en la fase final de infección en los caracoles adultos. Aunque, si este período de prepatencia es corto, entonces la alta prevalencia de metacercarias de *M. simillimus* en primavera sugiere la presencia de otros hospedadores definitivos más abundantes en primavera. Delhey y Petracci (2004) reportaron 59 especies de aves para esta área, de las cuales 12 son aves migratorias neárticas. Otra hipótesis que podría explicar la baja prevalencia de *M. simillimus* en invierno durante el pico de *H. melanurus*, es el consumo selectivo de caracoles infectados. Muchas especies de parásitos que se transmiten a través de la cadena trófica alteran el comportamiento de los hospedadores intermediarios y aumentan las probabilidades de depredación por parte del hospedador definitivo (Thomas et al., 2005).

La llegada al estuario de las aves migratorias patagónicas y el posible aporte de miracidios o huevos de sus parásitos adultos, podría estar relacionado con el aumento de la prevalencia de Metacercaria sp. Sin embargo, este evento no parece jugar un rol fundamental para las otras especies de digeneos. La prevalencia de *A*. (*P*.) *longa*, del grupo de las Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y de la Xiphidiocercaria tipo Armatae, no mostraron una distribución temporal clara. Estas especies podrían infectar hospedadores definitivos residentes que no muestren patrones temporales, como es el caso de *M. bonaerensis*, *M. orensensis* y *L. cruzi* que parasitan a la gaviota cangrejera (La Sala et al., 2009b).

Además de la heterogeneidad temporal y espacial como factores que estructuran las comunidades larvales de digeneos, existe otro factor muy controversial, la competencia interespecífica entre especies de parásitos. Algunos autores sostienen que esta interacción, en el interior del molusco, afecta la infracomunidad, la comunidad componente y elimina el 13 % de las infecciones (Kuris y Lafferty, 1994; Lafferty et al., 1994). Mientras que otros autores opinan que la competencia es un factor determinante en algunas infracomunidades y en otras no, siendo la heterogeneidad espacial y temporal los factores más importantes (Esch y Fernández 1991; Bush et al., 2001).

Para estimar la importancia de la competencia entre especies parásitas se utilizan modelos nulos. El más sencillo, utilizado por Etchegoin (1997) para el estudio de las comunidades larvales de digeneos de *Heleobia* en la laguna costera de Mar Chiquita, utiliza las frecuencias esperadas:

$$(fe) = \frac{A \times B}{N}$$

donde *A* es la frecuencia de la especie *a*, *B* es la frecuencia de la especie *b* y *N* es el número total de hospedadores revisados. Este modelo subestima la frecuencia esperada de dobles infestaciones, debido a que los individuos de especies subordinadas, las que tienden a ser eliminadas por competencia por los individuos de las especies dominantes, no aparecen en la muestra y por lo tanto no son tenidas en cuenta (Kuris y Lafferty, 1994). Por el contrario, Lafferty et al. (1994) desarrollaron un modelo nulo que estima las frecuencias esperadas antes de la interacción y de la eliminación de las especies subordinadas. Para esto es necesario desarrollar una jerarquía en la dominancia de especies. Sousa (1993) postuló mediante un estudio de captura y recaptura, una jerarquía de dominancia de las larvas de digeneos de C. californica en la laguna Bolinas, Estados Unidos. El autor encontró que existían especies fuertemente dominantes (equinostomátidos, filoftálmidos, heterófidos), débilmente dominantes (notocotílidos, schistosomátidos) y subordinadas (xifidiocercarias, strigeidos). Sin embargo, en el presente estudio no se utilizó este modelo para el estudio de la competencia debido a la falta de conocimiento de la jerarquía en la dominancia de las especies aquí descriptas.

Según Kuris y Lafferty (1994) y Lafferty et al. (1994), en la mayoría de las comunidades de larvas de digeneos, las infestaciones múltiples ocurren con una

frecuencia menor a la esperada en un modelo nulo (i.e. comunidad en la que las especies se encuentran distribuidas al azar y no estructuradas por otros factores). Existen dos mecanismos por los cuales las especies dominantes eliminan a las especies subordinadas. El primero propone que las especies que poseen redias como estadio intramolusco se alimentan sobre las especies subordinadas (depredación). El segundo, que las especies que poseen esporocistos impiden el desarrollo de las especies subordinadas de forma indirecta (mediante toxinas o residuos metabólicos).

Los resultados obtenidos en este estudio permiten inferir que la competencia interespecífica puede ser un factor importante en la estructura de la infracomunidad de *H. australis*. Esta suposición está basada en que la comunidad de digeneos reúne los requisitos planteados por Kuris y Lafferty (1994) para comunidades estructuradas por competencia. Estos son alta prevalencia, alta interacción de las larvas de digeneos debido a la heterogeneidad temporal, alta equitabilidad y existencia de especies dominantes y subordinadas.

CONCLUSIÓN

En Argentina, como en el resto del mundo, una misma especie de digeneo pudo haber sido citada para muchas especies de hospedadores definitivos y para ningún hospedador intermediario. Esto refleja el grado en el que han sido estudiadas las diferentes partes del ciclo de vida de los digeneos, indicando la necesidad de aplicar mayor esfuerzo en los primeros estadios de estos parásitos con el fin de conocer y comprender cada especie en su totalidad.

Heleobia australis sería el primer hospedador intermediario más importante en el estuario de Bahía Blanca. La Tabla XVII resume los estadios intramolusco, sitios de infección, posibles hospedadores intermediarios y definitivos para cada uno de los taxones de digeneos hallados en *H. australis* del estuario de Bahía Blanca.

En este estudio se reportó por primera vez a *Maritrema orensensis, Microphallus simillimus y Stephanoprora uruguayense* parasitando a *H. australis*, a *M. orensensis, Odhneria* sp. y a *Levinseniella cruzi* parasitando a los cangrejos *Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus,* a *Himasthla* sp. parasitando a poliquetos y a *Psilochasmus oxyurus* parasitando a *H. australis* y al tero real *Himantopus melanurus*. Además, se describió experimentalmente el ciclo de vida de *M. simillimus, M. orensensis* y *Maritrema bonaerensis*. Se describen además otros estadios larvales y adultos que involucran al caracol *H. australis* como hospedador intermediario y se describen en forma parcial sus ciclos de vida. Infestaciones experimentales, cultivos in vitro o estudios moleculares son necesarios para completar la descripción de los ciclos de vida y así conocer las especies en su totalidad. **Tabla XVII.** Estadio intramolusco, sitio de infección, hospedadores intermediarios y definitivos para cada uno de los taxones de digeneos hallados parasitando a *Heleobia australis* del estuario de Bahía Blanca. Entre paréntesis figuran los hospedadores citados en el estuario de Bahía Blanca.

Taxón	Estadio intramolusco	Sitio de infección	Segundo hospedador intermediario	Hospedador definitivo
Heterophyidae Acocotyle (Phagicola) longa	redia	gónada	Mugil liza	aves y mamíferos que se alimenten de mugílidos (incluido el hombre)
Opisthorchioidea Cercaria Opisthorchiidae	redia	gónada	<i>Ramnogaster arcuata</i> u otros peces	peces, aves y mamíferos piscívoros
Notocotylidae Cercaria Notocotylidae	redia	gónada y glándula digestiva	adherido a la conchilla de Heleobia australis	aves y mamíferos
Haploporidae Cercaria Haploporidae	redia	gónada y glándula digestiva	Libre, adherido al plancton	peces
Psilostomidae Psilochasmus oxyurus	redia	¿?	Heleobia australis	aves (hallado en <i>Himantopus</i> <i>melanurus</i>)
Echinostomatidae Himasthla sp.	redia	¿?	poliquetos	aves (Himasthla escamosa hallado en Larus atlanticus)
Stephanoprora uruguayense	redia	gónada y glándula digestiva	peces (hallado en Odontesthes argentinensis)	aves (hallado en <i>Larus</i> <i>atlanticus</i>)

Tabla XVII. Continuación...

Sangui	nicolidae						
	Furcocercaria	esporocisto	gónada y glándula digestiva	no posee	peces		
Microphallidae							
-	Maritrema orensensis	esporocisto	gónada y glándula digestiva	Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus	aves (hallado en <i>Larus</i> <i>atlanticus</i>)		
	Maritrema bonaerensis	esporocisto	gónada y glándula digestiva	Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus	aves (hallado en <i>Larus</i> <i>atlanticus</i>)		
	Levinseniella cruzi	esporocisto	¿?	Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus	aves (hallado en <i>Larus</i> atlanticus e Himantopus melanurus)		
	Odhneria odhneri*	esporocisto	¿?	Balanus spp., Peisos petrunkevitchi, Neohelice granulata y Cyrtograpsus angulatus	aves (hallado en <i>Larus</i> <i>atlanticus</i>)		
	Microphallus simillimus	esporocisto, blastocercaria y metacercaria	gónada y glándula digestiva	no posee	aves		
Lepocreadioidea							
	Cercaria Apocreadiinae	redia	;?	\$?	peces		
Plagior	chiidae o Telorchiidae o Renicolidae						
0	Xiphidiocercaria tipo Armatae	esporocisto	gónada y glándula digestiva	٤?	٤?		
	Metacercaria sp.	metacercaria	masa visceral de la cabeza	٤?	٤?		

* No pudimos determinar la cercaria de esta especie sin embargo suponemos que parasitaría a *Heleobia australis*.

Las condiciones ambientales del estuario de Bahía Blanca y el parasitismo de *M. simillimus* afectarían el tamaño de *H. australis*. Además *M. simillimus* perjudicaría la reproducción de los caracoles infectados.

La comunidad larval de digeneos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca estaría estructurada por el ciclo de vida del caracol, la abundancia de los hospedadores definitivos y las condiciones ambientales. Probablemente existan otros factores influyentes como la competencia interespecíficas, el comportamiento de los hospedadores definitivos, la migración de las aves y el consumo de los estadios libres de digeneos por parte de depredadores.

A partir de este estudio surgieron muchas preguntas que podrán ser respondidas en un futuro con muestreos y análisis planeados para tal fin: ¿es la competencia interespecífica un factor importante en la comunidad larval de digeneos de H. australis en el estuario de Bahía Blanca?, ¿cuáles son las especies dominantes y cuáles las subordinadas?, ¿existe heterogeneidad espacial a escala local en la comunidad larval de digeneos como existe a gran escala en el estuario de Bahía Blanca?, ¿cómo se distribuyen las especies de digeneos a lo largo de la línea de marea?, ¿la prevalencia de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces es mayor en el intermareal inferior?, ¿aumenta la prevalencia en los microambientes del intermareal donde las aves pasan más tiempo alimentándose, como el espartillar o las pozas de marea?, ¿se restableció la población de caracoles y su comunidad larval de digeneos en el Sitio 3?, ¿aumenta la prevalencia parasitaria al aumentar la densidad del caracol?, ¿cuáles especies de digeneos aportan las aves migratorias?, ¿cuál es la importancia de las aves migratorias en el intercambio genético entre poblaciones parásitas?, ¿Microphallus simillimus altera el comportamiento de los caracoles, aumentando las probabilidades de depredación del hospedador definitivo?

- Alarcos A.J., Etchegoin J.A., 2010. Parasite assemblages of estuarine-dependent marine fishes from Mar Chiquita coastal lagoon (Buenos Aires Province, Argentina). Parasitology Research 107:1083-1091.
- Alda P., Martorelli S.R., 2009. Larval digeneans of the siphonariid pulmonates *Siphonaria lessoni* and *Kerguelenella lateralis* and the flabelliferan isopod *Exosphaeroma* sp. from the intertidal zone of the Argentinean sea. Comparative Parasitology 76:267-272.
- Avendaño de Mac Intosh F., Ostrowski de Núñez M., 1998. Seasonal dynamics of *Plehniella coelomica* Szidat, 1951 (Trematoda, Sanguinicolidae) in two catfish, *Pimelodus albicans* and *P. maculatus*, from La Plata River, Argentina. Folia Parasitologica 45:253-255.
- Bartoli P., Jousson O., Russell P.F., 2000. The life cycle of *Monorchis parvus* (Digenea: Monorchiidae) demonstrated by developmental and molecular data. Journal of Parasitology 86:479-489.
- Barton D.P., Blair D., 2005. Family Notocotylidae Lühe, 1909. Pp. 383-396. En: Jones A., Bray R.A., Gibson D.I. (Editores), Keys to the Trematoda. Vol.2. CAB International, Wallingford.
- Bearup A.J., 1960. Life history of *Acanthoparyphium spinulosum* Johnston, 1917 (Trematoda: Echinostomatidae). Australian Journal of Zoology 8:217-225.
- Bodon M., Cianfanelli S., Talenti E., Manganelli G., Giusti F., 1999. Litthabitella chilodia (Westerlund, 1886) in Italy (Gastropoda: Prosobranchia: Hydrobiidae). Hydrobiologia 411:175-189.
- Boulding E.G., 1990. Are the opposing selection pressures on exposed and sheltered shores sufficient to maintain genetic differentiation between gastropod populations with high intermigration rates? Hydrobiologia 193:41-52.
- Braicovich P.E., Etchegoin J.A., Timi J.T., Sardella N.H., 2006. A new species of *Cardicola* Short, 1953 (Digenea: Aporocotylidae) parasitizing the

Brazilian flathead, *Percophis brasiliensis* Quoy et Gaimard 1824, from the coasts of Mar del Plata, Argentina. Parasitology International 55:175-177.

- Bray R.A., 2008. Superfamily Opisthorchioidea Looss, 1899. Pp. 7-8 En: Bray R.A., Gibson D.I., Jones A. (Editores), Keys to the Trematoda. Vol. 3. CAB International, Wallingford.
- Bray R.A., Waeschenbach A., Cribb T.H., Weedall G.D., Dyal P., Littlewood D.T.J., 2009. The phylogeny of the Lepocreadioidea (Platyhelminthes, Digenea) inferred from nuclear and mitochondrial genes: Implications for their systematics and evolution. Acta Parasitologica 54:310-329.
- Bush A.O., Fernández J.C., Esch G.W., Seed J.R., 2001. Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press, United Kingdom, 566 pp.
- Bustnes J.O., Galaktionov K., 1999. Anthropogenic influences on the infestation of intertidal gastropods by seabird trematode larvae on the southern Barents Sea coast. Marine Biology 133:449-453.
- Castro O., 2000. La comunidad de tremátodos larvales del caracol *Heleobia australis* como un potencial indicador del grado de contaminación de la costa de Montevideo. Pp 34-35. En: Jornadas sobre animales silvestres, desarrollo sustentable y medio ambiente, Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- Castro O., Carnevia D., Perretta A., Venzal J.M., 2006. Comunidad componente de tremátodos larvales de *Heleobia australis* (Mollusca, Cochliopidae) en la costa uruguaya del Río de la Plata. Pp. 421-425. En: Menafra R., Rodríguez-Gallego L., Scarabino F., Conde D. (Editores), Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo.
- Carnevia D., Perreta A., Venzal J.M., Castro O., 2004. Heleobia australis (Mollusca, Hydrobiidae) y Mugil platanus (Pisces, Mugilidae), primer y segundo hospedador intermediario de Ascocotyle (Phagicola) longa (Digenea, Heterophyidae) en Uruguay. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 13:283.

- Cazzaniga N.J., 1982. Notas sobre hidróbidos argentinos II. Una *Littoridina* del "grupo parchappii" en Península Valdés (Chubut). Revista del Museo de La Plata, Sección Zoología 129:11-16.
- Cheng T.C., 1971. Enhanced growth as manifestation of parasitism and shell depositing in parasitized molluscs. Pp. 103-137. En: Cheng T.C. (Editor), Aspects of the Biology of Symbiosis. University Park Press, Baltimore.
- Chieffi P.P., Leite O.H., Dias R.M.D.S., Torres D.M.A.V., Mangini A.C.S., 1990. Human parasitism by *Phagicola* sp. (Trematoda, Heterophyidae) in Cananéia, Sao Paulo State, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 2:285-288.
- Combes C., 1980. Atlas mondial des cercaires. Mémoires du Muséum national d'Histoire Naturelle. Nouvelle série, Série A, Zoologie 115, 235 pp.
- Combes C., Bartoli P., Théron A., 2002. Trematode transmission strategies. Pp.1-12. En: Lewis E.E., Campbel J.F., Sukhdeo M.V.K. (Editores), The Behavioural Ecology of Parasites. CAB International, Wallingford.
- Cremonte F., 1999. Estudio parasitológico de bivalvos que habitan ambientes marinos y mixohalinos en Argentina. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, 196 pp.
- Cremonte F., 2001. *Bartolius pierrei* n. g. n. sp. (Digenea: Gymnophallidae) from Península Valdés, Argentina. Systematic Parasitology 49:139-147.
- 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., Martorelli S.R., 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., Etchegoin J.A., 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., Etchegoin J.A., Martorelli S.R., 1999. Nuevos hospedadores de los digeneos *Maritrema bonaerensis* (Microphallidae) y *Stephanoprora podicipei*

(Echinostomatidae) en Argentina. *Stephanoprora manei* Holcman–Spector & Olagüe, 1986 como un nomen nudum. Neotrópica 45:105-107.

- Cremonte F., Kroeck M.A., Martorelli S.R., 2001. 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 48:217-223.
- Cribb T.H., 2005. Family Apocreadiidae Skrjabin 1942. Pp. 621-639. En: Jones A., Bray R.A., Gibson D.I. (Editores), Keys to the Trematoda. Vol. 2. CAB International, Wallingford.
- Cribb T.H., Bray R.A., Littlewood D.T.J., 2001. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. International Journal for Parasitology 31:997-1011.
- Cribb T.H., Bray R.A., Olson P.D., Littlewood D.T.J., 2003. Life cycle evolution in the Digenea: a new perspective from phylogeny. Advances in Parasitology 54:197-254.
- Crowl T.A., Covich A.P., 1990. Predator-induced life-history shifts in a freshwater snail. Science 247:949-951.
- Davis G.M., Mazurkiewicz M., Mandracchia M., 1982. Spurwinkia: Morphology, systematics, and ecology of a new genus of North American marshland Hydrobiidae (Mollusca: Gastropoda). Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 134:143-177.
- De Francesco C.G., Isla F., 2003. Distribution and abundance of hydrobiid snails in mixed estuary and a coastal lagoon, Argentina. Estuaries 26:790-797.
- De Francesco C.G., Isla F., 2004a. The life cycle and growth of *Heleobia australis* (d'Orbigny, 1835) and *H. conexa* (Gaillard, 1974) (Gastropoda: Rissooidea) in Mar Chiquita coastal lagoon (Argentina). Journal of Molluscan Studies 70:173-178.
- De Francesco C.G., Isla F., 2004b. Reproductive period and growth rate of the freshwater snail *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835) (Gastropoda: Rissooidea) in a shallow brackish habitat (Buenos Aires Province, Argentina). Malacologia 45:443-450.

- Deblock S., 1980. Inventaire des Trématodes larvaires parasites de mollusques *Hydrobia* (Prosobranches) des côtes de France. Parassitologia 22:1-105.
- Delhey K., Petracci P., 2004. Aves marinas y costeras. Pp. 203-220. En: Piccolo M.C., Hoffmeyer M.S. (Editores), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. EDIUNS (UNS), Bahía Blanca.
- Diaz, J.I. 2006. Las comunidades parasitarias como expresión de distinto comportamiento trófico en aves del Mar Argentino. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, 259 pp.
- J.I., Cremonte F., Diaz Himasthla 2004. (Digenea: escamosa n. sp. Kelp dominicanus Echinostomatidae) from the Gull, Larus (Charadriiformes: Laridae), on the patagonian coast, Argentina. Journal of Parasitology 90:308-314.
- Diaz J.I., Cremonte F., 2010. Development from metacercaria to adult of a new species of *Maritrema* (Digenea: Microphallidae) parasitic in the Kelp Gull, *Larus dominicanus*, from the patagonian coast, Argentina. Journal of Parasitology 96:740-745.
- Díaz M.T., Bashirullah A.K., Hernández L.E., Gómez E., 2009. Life cycle of *Culuwiya tilapiae* (Nasir y Gómez, 1976) (Trematoda: Haploporidae). Revista Científica 19:439-445.
- Díaz Andrade M.C., Galíndez E.J., Estecondo S., Tanzola R.D., 2008. Hepatic infection by *Terranova* sp. (Nematoda, Anisakidae) larvae in *Sympterygia acuta* (Chondrichthyes, Rajidae). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 28:144-147.
- Dunagan T.T., 1960. Cercariae belonging to the Opisthorchioidea. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 27:44-52.
- Elías R., 1985. Macrobentos del estuario de la Bahía Blanca (Argentina). I. Mesolitoral. Spheniscus 1:1-33.
- Elías R., Iribarne O., Bremec C.S., Martínez D.E., 2004. Comunidades bentónicas de fondos blandos. Pp. 179-190. En: Piccolo M.C., Hoffmeyer M.S.

(Editores), Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca. EDIUNS (UNS), Bahía Blanca.

- Esch G.W., Fernández J.C., 1994. Snail-trematode interactions and parasite community dynamics in aquatic systems: A review. American Midland Naturalist 131:209-237.
- Esch G.W., Curtis L.A., Barger M.A., 2001. A perspective on the ecology of trematode communities in snails. Parasitology 123:57-75.
- Etchegoin J., 1997. Sistemas parasitarios presentes en la albufera de Mar Chiquita. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, 244 pp.
- Etchegoin J., Martorelli S.R., 1997a. 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.
- Etchegoin J.A., Martorelli S.R., 1997b. A new species of the genus *Stephanoprora* Odhner, 1902 (Digenea, Echinostomatidae) from Argentina. Acta Parasitologica 42:74-76.
- Etchegoin J.A., Martorelli S.R., 1998. Nuevas cercarias en *Heleobia conexa* (Mollusca:Hydrobiidae) de la albufera de Mar Chiquita. Neotrópica 44:41-50.
- Fernandes B.M.M., Menezes R.C., Tortelly R., Noronha D., Pinto R.M., 2007. First report of the digenetic trematode *Psilochasmus oxyurus* (Creplin) in the domestic goose, *Anser anser* (Linnaeus) in South America. Revista Brasileira de Zoologia 24:520-522.
- Fernández J., Esch G.W., 1991. Effect of parasitism on the growth rate of the pulmonate snail *Helisoma anceps*. Journal of Parasitology 77:937-944.
- Figueiredo-Barros M.P., Leal J.J.F., Esteves F.A., Rocha A.M., Bozelli R.L., 2006. Life cycle, secondary production and nutrient stock in *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) (Gastropoda: Hydrobiidae) in a tropical coastal lagoon. Estuarine, Coastal and Shelf Science 69:87-95.

- Flores V.R., 2004. Estructura comunitaria de digeneos larvales en *Chilina dombeiana* y *Heleobia hatcheri* (Mollusca: Gasteropoda) de la región andino Patagónica. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, 349 pp.
- Flores V.R., Brugni N., 2003. Catatropis chilinae n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from Chilina dombeiana (Gastropoda: Pulmonata) and notes on its lifecycle in Patagonia, Argentina. Systematic Parasitology 54:89-96.
- Flores V.R., Brugni N., 2005. Notocotylus biomphalariae n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from Biomphalaria peregrina (Gastropoda: Pulmonata) in Patagonia, Argentina. Systematic Parasitology 61:207-214.
- Flores V.R., Brugni, N., 2006. Catatropis hatcheri n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from Heleobia hatcheri (Prosobranchia: Hydrobiidae) and notes on its lifecycle in Patagonia, Argentina. Systematic Parasitology 63:111-118.
- Flores V.R., Semenas L.G., 2008. Larval digenean community parasitizing the freshwater snail, *Chilina dombeyana* (Pulmonata: Chilinidae) in Patagonia, Argentina, with special reference to the notocotylid *Catatropis chilinae*. Journal of Parasitology, 94:305-313.
- Flores V.R., Semenas L.G., Veleizán A.A., 2010. Larval digenean community parasitizing the freshwater snail, *Biomphalaria peregrina* (Pulmonata: Planorbidae), from a temporary pond in Patagonia, Argentina. Journal of Parasitology 96:652-656.
- Fredensborg B.L., Mouritsen K.N., Poulin R., 2006. Relating bird host distribution and spatial heterogeneity in trematode infections in an intertidal snail from small to large scale. Marine Biology 149:275-283.
- Gaillard M.C., Castellanos Z.J.A. de, 1976. Moluscos gasterópodos, Hydrobiidae. Pp. 1-39. En: Ringuelet R.A. (Editor), Fauna de Agua Dulce de la República Argentina, 15(2). Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura (FECIC), Buenos Aires.
- Galaktionov K.V., Skirnisson K., 2000. Digeneans from intertidal molluscs of SW Iceland. Systematic Parasitology 47:87-101.

- Galaktionov K.V., Skirnisson K., 2007. New data on *Microphallus breviatus* Deblock & Maillard, 1975 (Microphallidae: Digenea) with emphasis on the evolution of dixenous life cycles of microphallids. Parasitology Research 100:963-971.
- Gayoso A.M., 1998. Long-term phytoplankton studies in the Bahía Blanca estuary, Argentina. ICES Journal of Marine Science 55:655-660.

Giambelluca L.A., 2001. Guía de ofidios bonaerenses. CEPAVE, La Plata, 47 pp.

- Grabda-Kazubska B., 1971. Main morphological characteristics in Xiphidiocercariae armatae Luhe, 1909 and their taxonomic importance. Parasitologische Schriftenreihe 21:49-55.
- Graefe G., 1968. *Paramonostomum antarcticum* n. sp. (Trematoda: Notocotylidae) und Beobachtungen zur Larvenentwicklung in der Antarktis. Zeitschrift für Parasitenkunde 30:207-232.
- Guagliardo S.E., 2003. Estudio sistemático, biológico y ecológico de los cestodes tripanorrincos (Eucestoda; Trypanorhyncha) parásitos de peces marinos en el área de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Bahía Blanca. 299 pp.
- Hair J.F., Anderson Jr. R.E., Tatham R.L., Black W.C., 1999. Análisis Multivariante. Prentice Hall Iberia, Madrid, 832 pp.
- Hamann M., Rumi A., Ostrowski de Núñez M., 1993. Aspectos biológicos sobre los parásitos y la dinámica poblacional de *Drepanotrema* spp. (Mollusca: Planorbidae) en un biotopo léntico del nordeste argentino. Ambiente Subtropical 3:19-38.
- Heard R.W., Overstreet R.M., 1983. Taxonomy and life histories of two new North American species of "*Carneophallus*" (=*Microphallus*) (Digenea: Microphallidae). Proceedings of the Helminthological Society of Washington 50:170-174.
- Hechinger R.F., Lafferty K.D., 2005. Host diversity begets parasite diversity:bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts.Proceedings of the Royal Society B 272:1059-1066.

- Hechinger R.F., Lafferty K.D., Kuris A.M., 2008. Trematodes indicate animal biodiversity in the Chilean intertidal and lake Tanganyika. Journal of Parasitology 94:966-968.
- Hechinger R.F., Lafferty K.D., Mancini III F.T., Warner R.R., Kuris A.M., 2009. How large is the hand in the puppet? Ecological and evolutionary factors affecting body mass of 15 in their snail host. Evolutionary Ecology 23:651-667.
- Hershler R., Davis G.M., 1980. The morphology of *Hydrobia truncata* (Gastropoda: Hydrobiidae): relevance to systematics of Hydrobia. The Biological Bulletin 158:195-219.
- Hurd H., 1990. Physiological and behavioural interactions between parasites and invertebrate hosts. Advances in Parasitology 29:271-318.
- Huspeni T.C., Hechinger R.F., Lafferty K.D., 2005. Trematode parasites as estuarine indicators: opportunities, applications, and comparisons with conventional community approaches. Pp. 297-314. En: Bortone S. (Editor), Estuarine Indicators, CRC Press, Boca Raton.
- Kemp P., Bertness M.D., 1984. Snail shape and growth rates: evidence for plastic shell allometry in *Littorina littorea*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 81:811-813.
- Kim Y.G., Yu J.E., Chung E.Y., Chung P.R., 2004. Acanthoparyphium tyosenense (Digenea: Echinostomatidae): experimental confirmation of the cercaria and its complete life history in Korea. Journal of Parasitology 90:97-102.
- Kitching J.A., Lockwood J., 1974. Observations on shell form and its ecological significance in thaisid gastropods of the genus *Lepsiella* in New Zealand. Marine Biology 28:131-144.
- Kohn, A., Fernandes B.M.M., Cohen S.C., 2007. South American trematodes of fishes. Imprinta Express, Rio de Janeiro, 318 pp.
- Komiya Y., 1965. Metacercariae in Japan and adjacent territories. Meguro Parasitological Museum, Tokio, 328 pp.

- Køie M., 1986. The life-history of *Mesorchis denticulatus* (Rudolphi, 1802) Dietz, 1909 (Trematoda, Echinostomatidae). Zeitschrift für Parasitenkunde 72:335-343.
- Krist A.C., Lively C.M., 1998. Experimental exposure of juvenile snails (*Potamopyrgus antipodarum*) to infection by trematode larvae (*Microphallus* sp.): infectivity, fecundity compensation and growth. Oecologia 116:575-582.
- Kristoffersen R., 1991. Occurrence of the digenean *Cryptocotyle lingua* in farmed Arctic charr *Salvelinus alpinus* and periwinkles *Littorina littorea* sampled close to charr farms in northern Norway. Diseases of Aquatic Organisms 12:59-65.
- Kube J., Kube S., Bick A., 2002a. Component community of larval trematodes in the mudsnail *Hydrobia ventrosa*: temporal variations in prevalence in relation to host life history. Journal of Parasitology 88:710-737.
- Kube J., Kube S., Dierschke V., 2002b. Spatial and temporal variations of trematode infections in the mudsnail *Hydrobia ventrosa* in relation to the occurrence of waterfowl as definitive hosts. Journal of Parasitology 88:1075-1086.
- Kuris A.M., Lafferty K.D., 1994. Community structure: larval trematodes in snail hosts. Annual Review of Ecology and Systematics 25:189-217.
- La Sala L.F., 2010. Ecoepidemiología del parasitismo por helmintos en gaviotas de Olrog, *Larus atlanticus*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNICEN, Tandil, 236 pp.
- La Sala L.F., Martorelli S.R., 2007. Intestinal acanthocephaladiosis in Olrog's Gulls (*Larus atlanticus*): *Profilicollis chasmagnathi* as possible cause of death. Journal of Wildlife Diseases 43:269-273.
- La Sala L.F., Diaz J.I., Martorelli S.R., Alda P., 2009a. Some nematodes from Olrog's Gull *Larus atlanticus* Olrog, 1958 (Aves: Laridae) and prey crabs from the Bahía Blanca estuary, Argentina. Comparative Parasitology 76:293-296.

- La Sala L.F., Martorelli S.R., Alda P., Marcotegui P., 2009b. Some digeneans from Olrog's gull *Larus atlanticus* Olrog, 1958 (Aves: Laridae) from the Bahía Blanca estuary, Argentina. Comparative Parasitology 76:113-116.
- Labriola J.B., Suriano D.M., 2001. Community structure of parasitic helminths of birds of the genus *Larus* from Mar del Plata, Argentina. Vie et Milieu 51:67-76.
- Lafferty K.D., 1993. The marine snail, *Cerithidea californica*, matures at smaller sizes where parasitism is high. Oikos 68:3-11.
- Lafferty K.D., Sammond D.T., Kuris A.M., 1994. Analysis of larval trematode communities. Ecology 75: 2275-2285.
- Lebour M.V., 1907. Larval trematodes of the Northumberland coast. Transactions of the Natural History Society of Northumberland 1:437-454.
- Levri E.P., Fisher L., 2000. The effect of a trematode (*Microphallus* sp.) on the response of the freshwater snail, *Potamopyrgus antipodarum* to light and gravity. Behaviour 137:1141-1151.
- Levri E.P., Dillard J., Martin T., 2005. Trematode infection correlates with shell shape and defence morphology in a freshwater snail. Parasitology 130:699-708.
- Levri E.P., Lunnen S.J., Itle C.T., Mosquea L., Kinkade B.V., Martin T.G., Delisser M.A., 2007. Parasite-induced alteration of diurnal rhythms in a freshwater snail. Journal of Parasitology 93:231-237.
- Liu H.P., Hershler R., Thompson F.G., 2001. Phylogenetic relationships of the Cochliopinae (Rissooidea: Hydrobiidae): an enigmatic group of aquatic gastropods. Molecular Phylogenetics and Evolution, 21: 17-25.
- Loos-Frank B., 1967. Experimentelle Untersuchungen über Bau, Entwicklung und Systematik der Himasthlinae (Trematoda, Echinostomatidae) des Nordseeraumes. Zeitschrift für Parasitenkunde 28:299-351.
- López Armengol M.F., Martorelli S.R., 1997. The effects of larval digeneans (Haploporidae) on internal anatomy and shell morphology of

Potamolithus agapetus Pilsbry, 1911 (Gastropoda: Hydrobiidae). Neotrópica 43:99-108.

- López Cazorla A., 1989. Contribución al conocimiento de la ictiofauna marina del área de Bahía Blanca. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, 247 pp.
- López Cazorla A., 2004. Peces. Pp. 191-201. En: Piccolo M.C., Hoffmeyer M.S. (Editores), Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca. EDIUNS (UNS), Bahía Blanca.
- Lunaschi L.I., 1985. Helmintos parásitos de peces de agua dulce de la Argentina IV. Acerca de la validez del género *Plehniella* Szidat, 1951 (Trematoda – Sanguinicolidae). Neotrópica 31:149-154.
- Lunaschi L.I., Cremonte F., Drago F.B., 2007. Checklist of digenean parasites of birds from Argentina. Zootaxa 1403:1-36.
- Luque J.L., 2004. Biologia, epidemiologia e controle de parasitos de peixes. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria 13:161-164.
- Martin S.M., 2008. Individual growth of *Heleobia piscium* in natural populations (Gastropoda: Cochliopidae) from the multiple use natural Reserve Isla Martin Garcia, Buenos Aires, Argentina. Brazilian Journal of Biology, 68:617-621.
- Martin W.E., 1973. Life history of *Saccocoelioides pearsoni* n. sp. and the description of *Lecithobotrys sprenti* n. sp. (Trematoda: Haploporidae). Transactions of the American Microscopical Society 92:80-95.
- Martorelli S.R., 1984. Sobre una cercaria de la familia Schistosomatidae (Dignea) parásita de *Chilina gibbosa* Sowerby, 1841 en el lago Pellegrini, Provincia de Río Negro, República Argentina. Neotrópica 30:97-106.
- Martorelli S.R., 1985. Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina I: El ciclo biológico de *Echinochasmus talaensis* sp. nov. (Digenea) parásito de *Pitangus sulphuratus bolivianus* (Aves, Tyrannidae). Neotrópica 31:187-200.
- Martorelli S.R., 1986a. Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina II: El ciclo biológico de *Homalometron*

pseudopallidum sp. nov. (Digenea) parásito de *Gymnogeophagus australis* Eigenman, 1907 (Pisces, Cichlidae). Neotrópica 32:3-12.

- Martorelli S.R., 1986b. Estudio sistemático y biológico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920. II: Desarrollo del ciclo biológico de *Microphallus szidati* en dos ambientes de condiciones ecológicas diferentes. Revista Ibérica de Parasitología 46:379-385.
- Martorelli S.R., 1986c. Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina III: El ciclo biológico de Sacocoeloides carolae Lunaschi, 1985 (Digenea) parásito de Cichlaurus facetum Jenyns, 1842 (Pisces, Cichlidae). Neotrópica 32:125-132.
- Martorelli S.R., 1988. El ciclo biológico de *Levinseniella cruzi* Travassos, 1920 (Digenea, Microphallidae) parásita de los ciegos cólicos de *Rollandia rolland chilensis* (Aves, Podicipedidae) e *Himantopus melanurus* (Aves, Recurvirostridae). Iheringia 68:49-62.
- Martorelli S.R., 1989a. Estudios parasitológicos en la albufera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires, República Argentina II: Cercarias (Digenea) parásitas de *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae), pertenecientes a las familias Schistosomatidae, Haploporidae y Homalometridae. Neotrópica 35:81-90.
- Martorelli S.R., 1989b. Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina V: Desarrollo del ciclo biológico monoxeno, de la metacercaria progenética de *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (Digenea, Hemiuridae) parásita de *Littoridina parchappei* (Mollusca, Hydrobiidae). Revista del Museo de La Plata Sección Zoología 14:109-117.
- Martorelli S.R., 1989c. El rol de *Cyrtograpsus angulatus* (Crustacea) en los ciclos de vida de *Microphallus szidati* (Digenea; Microphallidae) y *Falsifillicollis chasmagnathi* (Acanthocephalla, Fillicollidae). Algunos aspectos de su ecología parasitaria. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84:567-574.

- Martorelli S.R., 1990. Estudios parasitológicos en la albufera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires, República Argentina. III Sobre dos cercarias parásitas de *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) pertenecientes a la superfamilia Echinostomatoidea. Neotrópica 36:55-63.
- Martorelli S.R., 1991a. Primera cita de una cercaria tricocerca parásita de *Dorsanum moniliferum* (Mollusca, Buccinidae) para el Atlántico sudoccidental: aportes al conocimiento de su ciclo de vida. Neotrópica 37:57-65.
- Martorelli S.R., 1991b. El ciclo biológico abreviado de Microphallus simillimus (Travassos, 1920), comb. n. (Digenea: Microphallidae), parásito de Heleobia conexa (Molusca, Hydrobiidae) y de Himantopus melanurus (Aves, Recurvirostridae) en Argentina. Iheringia, Série Zoologia 71:91-98.
- Martorelli S.R., Schuldt M., 1990. Encapsulación de dos metacercarias (Digenea, Microphallidae) en *Cyrtograpsus angulatus* y *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda). Revista de Biología Tropical 38:295-304.
- Martorelli S.R., Etchegoin J., 1996. Cercarias de la superfamilia Opistorchioidea en *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) de la albufera de Mar Chiquita. Neotrópica 47:61-67.
- Martorelli S.R., Ivanov V., 1996. Host-induced and geographical variation in *Levinseniella cruzi* Travassos,1920 (Digenea, Microphallidae). Proceedings of the Helminthological Society of Washington 63:130-135.
- Martorelli S.R., Cremonte F., 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., Morriconi E., 1998. A new gymnophallid metacercaria (Digenea) in *Nacella* (*P.*) *magellanica* and *N.* (*P.*) *deaurata* (Mollusca, Patellidae) from the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. Acta Parasitologica 43:20-25.

- McKindsey C.W., MacLaughlin J.D., 1994. Transmission of *Cyclocoelum mutabile* (Digenea) to snails: the influence of temperature on the egg and miracidium. Canadian Journal of Zoology 72:1745-1751.
- Merlo M.J., Etchegoin J.A., 2011. Testing temporal stability of the larval digenean community in *Heleobia conexa* (Mollusca: Cochliopidae) and its possible use as an indicator of environmental fluctuations. Parasitology 138:249-256.
- Merlo M.J., Parietti M., Etchegoin J.A., 2010. Evaluation of species richness estimators in studies of diversity involving two larval digenean communities parasitizing snail hosts. Parasitology Research 107:1093-1102.
- Miller T.L., Cribb T.H., 2008. Family Cryptogonimidae Ward, 1917. Pp. 51-112En: Bray R.A., Gibson D.I., Jones A. (Editores), Keys to the Trematoda. Vol. 3. CAB International, Wallingford.
- Minchella D.J., 1985. Host life-history variation in response to parasitism. Parasitology 90:205-216.
- Miura O., Kuris A.M., Torchin M.E., Hechinger R.F., Chiba S., 2006. Parasites alter host phenotype and may create a new ecological niche for snail hosts. Proceedings of the Royal Society B 273:1323-1328.
- Moreno C.E., 2001. Métodos para medir la biodiversidad. Manuales y Tesis SEA, Zaragoza, 83 pp.
- Morris R., 1976. Contribución al conocimiento del parasitismo de *Biomphalaria peregrina* (d'Orbigny) (Mollusca, Gastropoda). Neotrópica 22:93-98.
- Morris R., 1978. Estadios larvales de trematodes digeneos en moluscos dulceacuícolas. Neotrópica 24:69-72.
- Nolan M.J., Cribb T.H., 2004. The life cycle of *Paracardicoloides yamagutii* Martin, 1974 (Digenea: Sanguinicolidae). Folia Parasitologica 51:320-326.
- Oliva M., Huaquin L.G., 2000. Progenesis in *Proctoeces lintoni* (Fellodistomidae), a parasite of *Fissurella crassa* (Archaeogastropoda) in a latitudinal gradient in the Pacific Coast of South America. Journal of Parasitology 86:768-772.

- Olivier S., Escofet A., Penchaszadeh P., Orensanz J., 1972. Estudios ecológicos de la región estuarial de Mar Chiquita (Bs. As., Argentina). I. Las comunidades bentónicas. Anales de la Sociedad Científica Argentina 193:237-262.
- Ostrowski de Núñez M., 1974a. Fauna de agua dulce de la República Argentina. II. Cercaria perteneciente a la superfamilia Opisthorchioidea y parte de su ciclo evolutivo (Trematoda). Physis Sección B 33:1-9.
- Ostrowski de Núñez M., 1974b. Fauna de agua dulce de la República Argentina. III. Cercarias de la superfamilia Plagiorchioidea (Trematoda). Neotrópica 20:1-8.
- Ostrowski de Núñez M., 1975a. Fauna de agua dulce de la República Argentina. IV. Cercarias (Trematoda) de *Littoridina piscium*. Physis B 34:63-68.
- Ostrowski de Núñez M., 1975b. Fauna de agua dulce de la República Argentina. IV. Una cercaria de la familia Haploporidae (Trematoda). Neotrópica 21:61-64.
- Ostrowski de Núñez M., 1976a. Fauna de agua dulce de la República Argentina. VI. Las cercarias de *Ascocotyle tenuicollis* Price 1935 y de *Pygidiopsis pindoramensis* Travassos, 1929 (Trematoda: Heterophyidae). Physis Sección B 34:51-57.
- Ostrowski de Núñez M., 1976b. Sobre el ciclo biológico de *Hippocrepis fuelleborni* Travassos y Vogelsang 1930 (Trematoda, Notocotylidae). Physis Sección B 35:125-130.
- Ostrowski de Núñez M., 1979. Ungewohnliche xiphidiocercarie aus *Ampullaria canaliculata* nebst bemerkungen ubre *Travtrema stenocotyle*. Angewandte Parasitologie 20:46-52.
- Ostrowski de Núñez M., 1981. Fauna de agua dulce de la República Argentina. X. Cercarias de las superfamilias Echinostomatoidea, Allocreadioidea y Microphalloidea (Trematoda, Digenea). Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia 2:1-9.

- Ostrowski de Núñez M., 1987. Der entwicklungszyklus von *Acanthostomum brauni* Mañe Garson und Gil, 1961 (Trematoda, Acanthostomatidae). Zoologischer Anzeiger 218:273-286.
- Ostrowski de Núñez M., 1992. Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical region: *Ascocotyle (Leighia) hadra* sp. n. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 87:539-543.
- Ostrowski de Núñez M., 1993. Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical region: *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* (Stunkard & Haviland, 1924) and *A. (P.) angrense*. Systematic Parasitology 24:191-199.
- Ostrowski de Núñez M., 1995. Life history studies of *Pygidiopsis crassus* n. sp. (Trematoda: Digenea: Heterophyidae) in the neotropical region. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 90:13-19.
- Ostrowski de Núñez M., 1996. Life history studies of heterophyid trematodes in the neotropical region: *Pygidiopsis australis* sp. n., a sibling species of *P. pindoramensis* Travassos, 1929. Acta Parasitologica 41:13-19.
- Ostrowski de Núñez M., 1998. Life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) angeloi* (Digenea: Heterophyidae) in the neotropical region. Folia Parasitologica 45:199-204.
- Ostrowski de Núñez M., 2001. Life cycles of two new sibling species of *Ascocotyle* (*Ascocotyle*) (Digenea, Heterophyidae) in the neotropical region. Acta Parasitologica 46:119-129.
- Ostrowski de Núñez M., 2007. Life cycle of *Stephanoprora uruguayense* (Digenea: Echinostomatidae) in Argentina. Journal of Parasitology 93:1090-1096.
- Ostrowski de Núñez M., Gil de Pertierra A., 1991. The life history of *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Trematoda: Acanthostomidae), from the catfish *Rhamdia sapo* in Argentina. Zoologischer Anzeiger 277:58–71.
- Ostrowski de Núñez M., Haas W., 1991. Penetration stimuli of fish skin for *Acanthostomum brauni* cercariae. Parasitology 102:101-104.
- Ostrowski de Núñez M., Quintana M.G., 2008. The life cycle of *Stephanoprora aylacostoma* n. sp. (Digenea: Echinostomatidae), parasite of the

threatened snail *Aylacostoma chloroticum* (Prosobranchia, Thiaridae), in Argentina. Parasitology Research 102:647-655.

- Ostrowski de Núñez M., Hamann M.I., Rumi A., 1990. Larval trematodes of *Schistosoma mansoni* transmitting snails, *Biomphalaria* spp., in northeastern Argentina. Acta Parasitologica Polonica 35:85-96.
- Ostrowski de Núñez M., Hamann M.I., Rumi A., 1991. Population dynamics of planorbid snail from a lentic biotope in northeastern Argentina. Larval trematodes of *Biomphalaria occidentalis* and analysis of their prevalence and seasonality. Acta Parasitologica 36:159-166.
- Ostrowski de Núñez M., Hamann M.I., Rumi A., 1997. Estudio de trematodes larvales en *Biomphalaria* spp. (Mollusca, Planorbidae) de la localidad de San Roque, provincia de Corrientes. Physis Sección B 53:20-27.
- Ostrowski de Núñez M., Flores V., Viozzi G., Kreiter A., 2004. *Stephanoprora uruguayense* Holcman-Spector et Olague, 1989 (Digenea, Echinostomatidae) from Argentina, and comments on species of *Stephanoprora* from birds of the neotropical region. Acta Parasitologica 49:292-299.
- Ostrowski de Núñez M., Semenas L., Brugni N., Viozzi G., Flores V., 1999. Redescription of *Acanthostomoides apophalliformis* (Trematoda, Acanthostomidae) from *Percichthys trucha* (Pisces, Percichthyidae) with notes on its life cycle in Patagonia, Argentina. Acta Parasitologica 44:222-228.
- Paperna I., Overstreet R.M., 1981. Parasites and seases of mullets (Mugilidae).Pp. 411-493. En: Owen O.H. (Editor), Aquaculture of Grey Mullets.Cambridge University Press, London.
- Pearson J.C., 1972. A phylogeny of life-cycle patterns of the Digenea. Advances in Parasitology 10:153-189.
- Perillo G.M.E, Piccolo M.C., 1991. Tidal response in the Bahía Blanca estuary. Journal of Coastal Research 7:437-449.
- Perillo G.M.E., Piccolo M.C., Parodi E., Freije R.H., 2001. The Bahía Blanca estuary, Argentina. Pp. 205-217. En: Seeliger U., Kjerfve B. (Editores),

Coastal Marine Ecosystems of Latin America. Ecological Studies 144, Springer, Berlin.

- Petracci P.F., Delhey K., 2005. Guía de Aves Costeras y Marinas de la ría de Bahía Blanca. Bahía Blanca, 96 pp.
- Petracci P.F., La Sala L.F., Aguerre G., Pérez C.H., Acosta N., Sotelo M., Pamparana C., 2004. Dieta de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) durante el período reproductivo en el estuario de Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. Hornero 19:23-26.
- Piccolo M.C., Hoffmeyer M.S. (Editores.), 2004. Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. EDIUNS (UNS), Bahía Blanca, 233 pp.
- Pietrock M., Marcogliese D.J., 2003. Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. Trends in Parasitology 19:293-299.
- Popovich C.A., Gayoso A.M., 1999. Effect of irradiance and temperature on the growth rate of *Thalassiosira curviseriata* Takano (Bacillariophyceae), a bloom diatom in Bahía Blanca estuary (Argentina). Journal of Plankton Research 21:1101-1110.
- Poulin R., Cribb T.H., 2002. Trematode life cycles: Short is sweet? Trends in Parasitology 18:176-183.
- Probert A.J., 1966. Studies on the incidence of larval trematodes infecting the freshwater molluscs of Llangorse Lake, South Wales. Journal of Helminthology 40:115-130.
- Probst S., Kube J., 1999. Histopathological effects of larval trematode infections in mudsnails and their impact on host growth: what causes gigantism in *Hydrobia ventrosa* (Gastropoda: Prosobranchia)? Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 238:49-68.
- Roberts D.J., Hughes R.N., 1980. Growth and reproductive rates of *Littorina rudis* from three contrasted shores in North Wales. Marine Biology 58:47-54.
- Rohde K., 1993. Ecology of Marine Parasites. CAB International, Wallingford, 298 pp.

- Sardella N.H., Timi J.T., 1996. Parasite communities of *Merluccius hubbsi* from the Argentinian-Uruguayan common fishing zone. Fisheries Research 27:81-88.
- Saville D.H., Irwin S.W.B., 2005. A study of the mechanisms by which the cercariae of *Microphallus primas* (Jag, 1909) Stunkard, 1957 penetrate the shore crab, *Carcinus maenas* (L). Parasitology 131:521-529.
- Schell S.C., 1970. How to know the Trematodes. W.C. Brown Company Publishers, Dubuque, 355 pp.
- Schmidt G.D., Roberts L.S., 2000. Foundations of Parasitology. McGraw-Hill, New York, 670 pp.
- Scholz T., 1999. Taxonomic study of *Ascocotyle (Phagicola) longa* Ransom, 1920 (Digenea: Heterophyidae) and related taxa. Systematic Parasitology 43:147-158.
- Shameem U., Madhavi, R., 1991. Observations on the life-cycles of two haploporid trematodes, *Carassotrema bengalense* Rekharani and Madhavi 1985 and *Saccocoelioides martini* Madhavi, 1979. Systematic Parasitology 20:97-107.
- Simões S.B.E., Neves R.F.C., Santos C.P., 2008. Life history of *Acanthocollaritrema umbilicatum* Travassos, Freitas and Bührnheim, 1965 (Digenea: Cryptogonimidae). Parasitology Research 103:523-528.
- Simões S.B.E., Barbosa H.S., Santos C.P., 2009. The life history of *Pygidiopsis* macrostomum Travassos, 1928 (Digenea: Heterophyidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 104:106-111.
- Simões S.B.E., Barbosa H.S., Santos C.P., 2010. The life cycle of *Ascocotyle* (*Phagicola*) *longa* (Digenea: Heterophyidae), a causative agent of fishborne trematodosis. Acta Tropica 113:226-233.
- Sinclair N.R., 1971. A reviewal of *Odhneria odhneni* Travassos, 1921 (Trematoda:Microphahlidae). Journal Parasitology 57:980-982.
- Skirnisson K., Galaktionov K.V., Kozminsky E.V., 2004. Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mudsnail (*Hydrobia*

ventrosa) population inhabiting salt marsh ponds in Iceland. The Journal of Parasitology 90:50-59.

- Smith N.F., 2001. Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. Oecologia 127:115-122.
- Sorensen R.E., Minchella D.J., 2001. Snail-trematode life-history interactions: past trends and future directions. Parasitology 123:S3-S18.
- Sousa W.P., 1993. Interspecific antagonism and species coexistence in a diverse guild of larval trematode. Ecological Monographs 63:103-128.
- Spivak E.D., Anger K., Luppi T.A., Bas C., Ismael D., 1994. Distribution and habitat preferences of two grapsid crab species in Mar Chiquita lagoon (Province of Buenos Aires, Argentina). Helgolander Meeresuntersuchungen 48:59-78.
- Stunkard H.W., 1932. Some larval trematodes from the coast in the region of Roscoff, Finistere. Parasitology 24:321-343.
- Stunkard H.W., 1960. Further studies on the trematode genus *Himasthla* with descriptions of *H. mcinthoshi* n. sp., *H. piscicola* n. sp., and stages in the life-history of *H. compacta* n. sp. Biological Bulletin 119:529-549.
- Stunkard H.W., 1964. Studies on the trematode genus *Renicola*: observations on the life-history, specificity, and systematic position. Biological Bulletin 126:467-489.
- Stunkard H.W., 1966. The morphology and life history of the digenetic trematode, *Himasthla littorinae* sp. n. (Echinostomatidae). Journal of Parasitology 52: 367-372.
- Stunkard H.W., 1979. The morphology, life-history, and taxonomic relations of Odhneria odhneri Travassos, 1921 (Digenea: Microphallidae). The Biological Bulletin 156:234-245.
- Sutton C.A., 1989. Catálogo preliminar de los helmintos parásitos de roedores neotropicales. Monografía 12. Imprenta GaMa. Argentina: 58-59.
- Szidat L., 1951. Neue arten der trematodenfamilie Aporocotylidae aus dem blut and der leibeshöhle von süsswasser fischen des Río de La Plata. Zeitschrift für Parasitenkunde 15:70-86.

- Szidat L., 1956. Uber den Entwicklungszyklus mit progenetischen Larvenstadien (Cercariaeen) von *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (Trematoda: Hemiuridae) und die Möglichkeit einer hormonalen Beeinflussung der Parasiten durch ihre Wirtstiere. Zeitschrift fuer Tropenmedizin und Parasitologie 7:132-153.
- Szidat L., 1957. Über den Entwicklungszyklus von Psilochasmus oxyurus (Creplin, 1825) Lühe, 1910 (Trematoda, Psilostomidae) in Argentinien. Zeitschrift für Parasitenkunde 18:24-35.
- Szidat L., 1958. Investigaciones sobre Cercaria chascomusi n. sp., Agente causal de una nueva enfermedad humana en la Argentina: La dermatitis de los bañistas de la laguna Chascomús. Boletín Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia 18:1-16.
- Szidat L., 1970. Saccocoelioides octavus n. sp., una nueva especie del género Saccocoelioides Szidat, 1954. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Zoología 10:87-100.
- Szidat L., Szidat U., 1961. Die Trematoden der Gattung Notocotylus Diesing, 1839 (Notocotylidae Lühe, 1909) aus Südamerika bzw. Argentinien und Daten ihren Entwicklungsgeschichte. Zeitschrift für Parasitenkunde 21:169-180.
- Tanzola R.D., 2004. Aspectos sistemáticos, biológicos y patológicos de *Terranova* sp. (Nematoda; Anisakidae) en la provincia zoogeográfica argentina.
 Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Bahía Blanca, 288 pp.
- Tanzola R.D., Guagliardo S.E., 2000. Helminth fauna of the argentine conger, *Conger orbignyanus* (Pisces: Anguilliformes). Helminthologia 37:229-232.
- Tanzola R.D., Gigola G., 2002. Johnstonmawsonia porichthydis n. sp. (Nematoda: Rhabdochonidae) from Porychthys porosissimus (Pisces: Batrachoidiformes). Helminthologia 39:99-102.
- Tanzola R.D., Guagliardo S.E., Brizzola S.M., Arias M.V., 1997. Helminth fauna of *Porichthys porosissimus* (Pisces: Batrachoidiformes) in Bahía Blanca, Argentina. Helminthologia 34:221-227.

- Tanzola R.D., Guagliardo S.E., Brizzola S.M., Arias M.V., Botte S.E., 1998. Parasite assemblage of *Symperygia bonapartei* (Pisces: Rajidae) an endemic skate of the Southest Atlantic. Helminthologia 35:123-129.
- Tanzola D., Guagliardo S., Galeano N., Schwerdt C., González R., 2006. *Ceratomyxa elegans* Jameson, 1929 (Myxozoa: Ceratomyxidae) parásito de peces batracoididos en el mar argentino. Natura Neotropicalis 36:1-6.
- Thieltges D.W., Ferguson M.A.D., Jones C.S., Noble L.R., Poulin R., 2009. Biogeographical patterns of marine larval trematode parasites in two intermediate snail hosts in Europe. Journal of Biogeography 36:1493-1501.
- Thomas F., Adamo S., Moore J., 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? Behavioural Processes 68:185-199.
- Tkach V.V., 2008. Family Reniferidae Pratt, 1902. Pp. 411-419. En: Bray R.A., Gibson D.I., Jones A. (Editores), Keys to the Trematoda. Vol. 3, CAB International, Wallingford.
- Travassos L., 1920. Contribuição para o conhecimento da fauna helmitolojica. IX. Sobre as espécies da sub-família Microphallinae Ward, 1901. Arquivos da Escola Superior de Veterinaria da Universidade Rural do Estado de Minas Gerais 4:85-91.
- Travassos L., 1921. Trematódeos novos. II. Brazil Medico 35:179-180.
- Velasquez C.C., 1964. Life history of *Acanthoparyphium paracharadrii* sp. n. (Trematoda: Echinostomatidae). Journal of Parasitology 50:261-265.
- Wilke T., Davis G.M., Falniowski A., Giusti F., Bodon M., Szarowska M., 2001.
 Molecular systematics of Hydrobiidae (Mollusca: Gastropoda: Rissooidea): testing monophyly and phylogenetic relationships.
 Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 151:1-21.
- Windsor D.A., 1998. Most of the species on Earth are parasites. International Journal for Parasitology 28:1939-1941.
- Yamaguti S., 1975. A synoptical review of Life Histories of Digenetic Trematodes of Vertebrates. Keigaku Publishing, Tokyo, 590 pp.

Zar J.H., 1998. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey, 662 pp.
Parte de la información contenida en esta tesis, fue publicada en los siguientes trabajos:

- Alda P., Martorelli S.R., Sarria R., 2011. Digenean parasites in the white-backed stilt *Himantopus melanurus* (Recurvirostridae) from the Argentine coast. Comparative Parasitology 78:217-219.
- Alda P., Bonel N., Cazzaniga N.J., Martorelli S.R., 2010. Effects of parasitism and environment on shell size of the South American intertidal mud snail *Heleobia australis* (Gastropoda). Estuarine, Coastal and Shelf Science 87:305-310.
- Alda P., La Sala L., Marcotegui P., Martorelli S.R., 2011. Parasites and epibionts of grapsid crabs in Bahía Blanca estuary, Argentina. Crustaceana (*En prensa*).