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, 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).

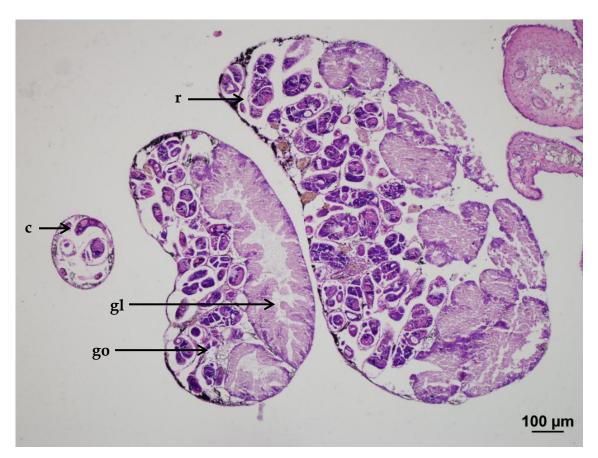


Figura 7. Corte histológico (H-E) de tejido gonadal de *Heleobia australis* parasitado por Pleurolophocercaria I (**gl**: glándula digestiva; **go**: gónada ocupada por estadios larvales de digeneos; **r**: redia; **c**: cercaria).

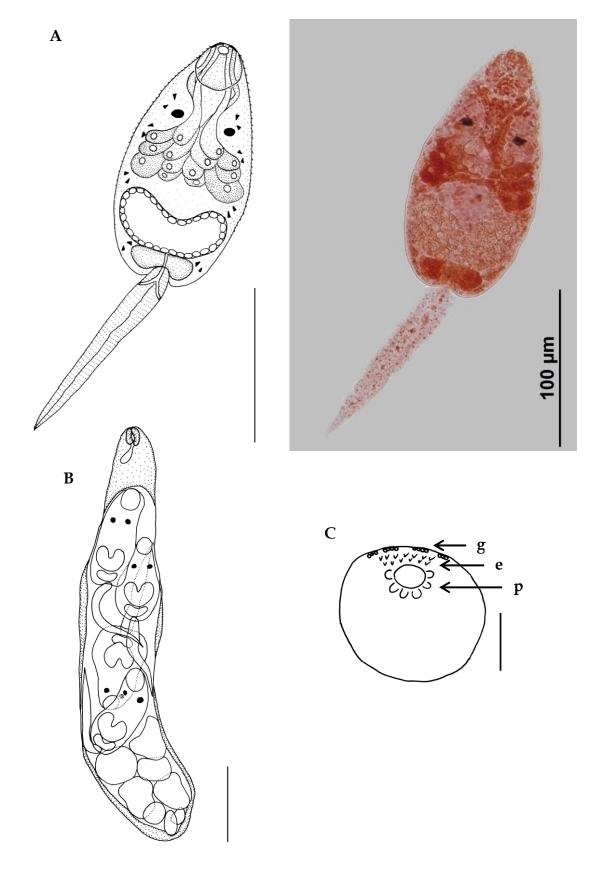


Figura 8. Pleurolophocercaria I cf. *Ascocotyle (Phagicola) longa*. **A.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía; **B.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Detalle de la ventosa oral de la cercaria, **g**: poros de las glándulas de penetración, **e**: espinas aciculares, **p**: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

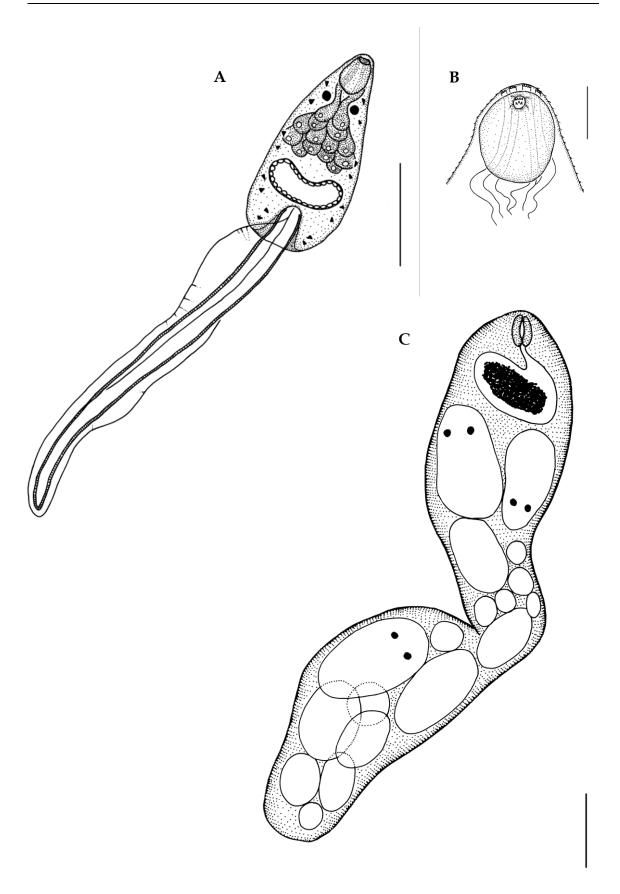


Figura 10. Cercaria Opisthorchioidea. **A.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Detalle de la ventosa oral de la cercaria en vista ventral (Barra de escala: 0,02 mm); **C.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm).

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).

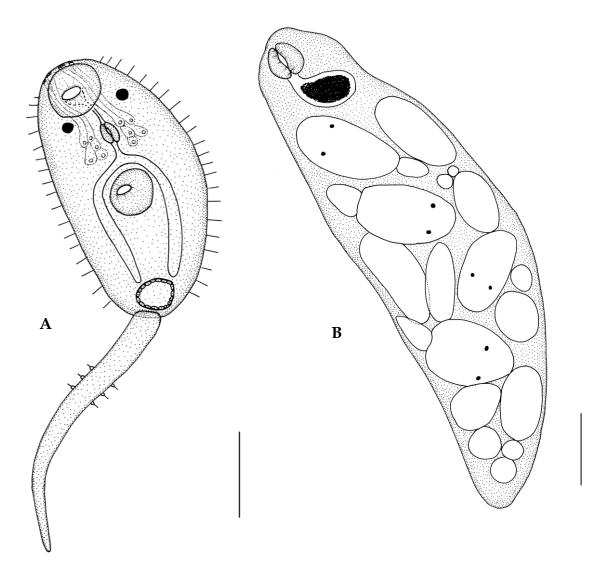


Figura 11. Cercaria Apocreadiinae. **A.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm).

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)

<u>Descripción de la cercaria</u> (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.

<u>Discusión</u>: 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 (0,030-

0,036 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).

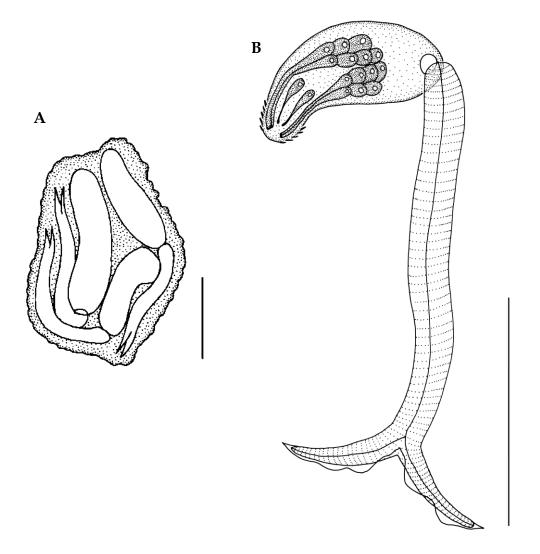


Figura 13. Furcocercaria Sanguinicolidae. **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,05 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

SUPERFAMILIA PRONOCEPHALOIDEA Looss 1899 FAMILIA NOTOCOTYLIDAE Lühe 1909

Cercaria Notocotylidae

Procedencia: 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 $(1,45 \times 0,325 \text{ vs. } 0,295\text{-}0,660 \times 0,110\text{-} 0,240)$ con una faringe más pequeña $(0,1 \times 0,06 \text{ vs. } 0,025\text{-}0,067 \times 0,020\text{-}0,057)$; 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.



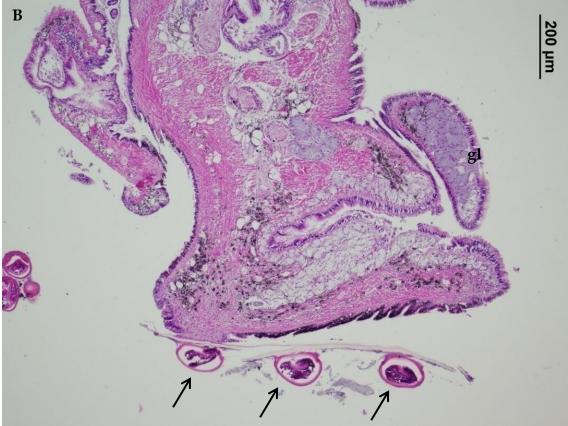


Figura 14. Corte histológico (H-E). **A.** Gónada (**go**) y glándula digestiva (**gl**) de *Heleobia australis* parasitado por la redia de la Cercaria Notocotylidae (**r**) y metacercarias de *Microphallus simillimus* (**m**); **B.** Metacercarias Notocotylidae adheridas al opérculo del caracol (flechas).

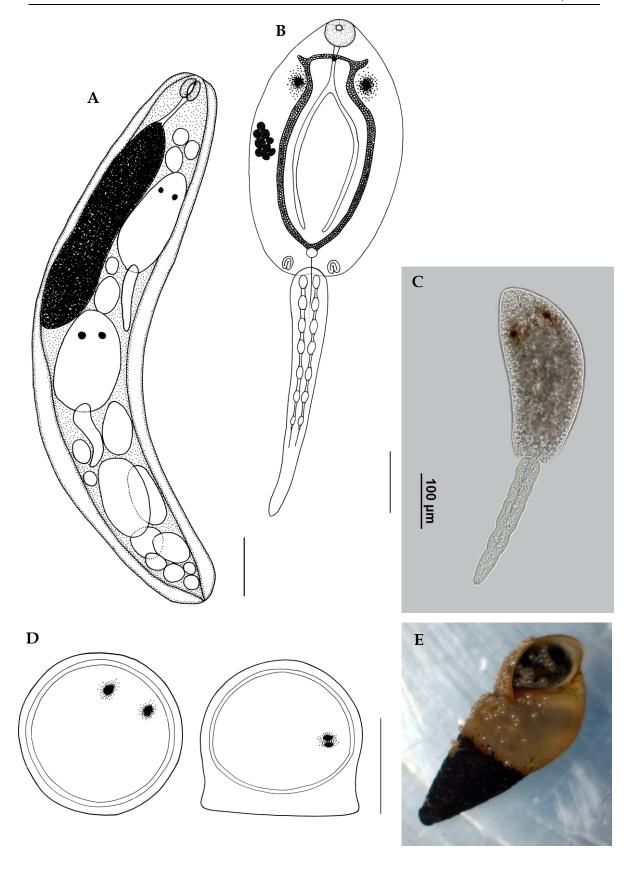


Figura 15. Cercaria Notocotylidae. **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria madura (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Cercaria inmadura "in vivo"; **D.** Metacercaria enquistada, vista frontal y lateral (Barra de escala: 0,1 mm); **E.** Especimen de *Heleobia australis* con metacercarias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

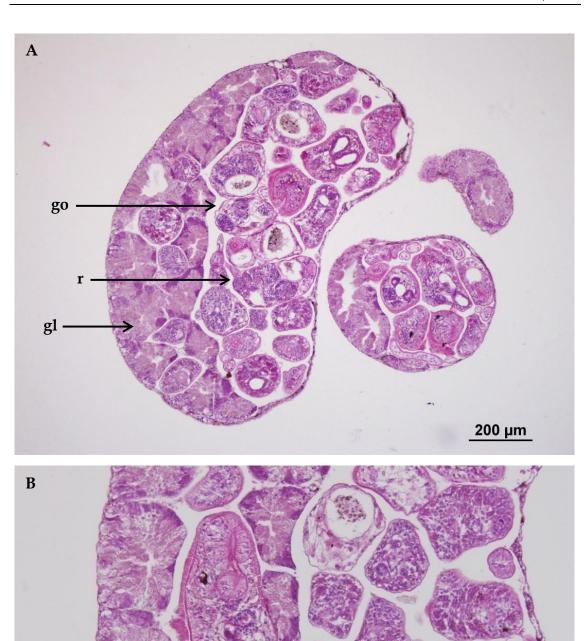
Descripción de la redia y la metacercaria (Fig. 17A y 17C): Las redias maduras miden 0,523 (0,417-0,627) de largo y 0,161 (0,090-0,210) de ancho. La faringe, de 0,050 (0,043-0,057) de largo y 0,039 (0,033-0,047) de ancho, se comunica con un ciego intestinal de color oscuro que ocupa el primer tercio 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 sacciforme, de *S. pearsoni* por presentar 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 (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.



<u>100 μm</u>

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*.

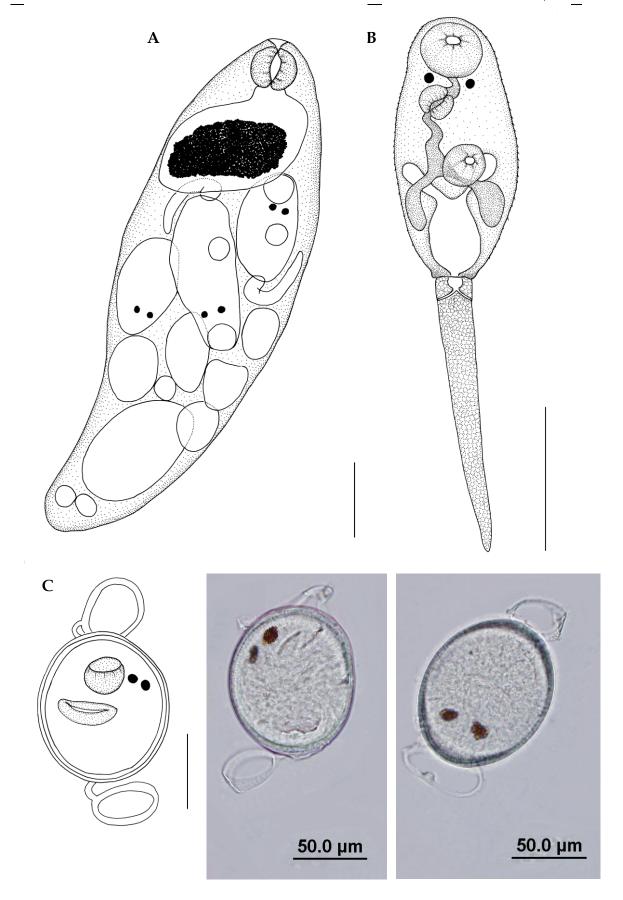


Figura 17. Cercaria Haploporidae **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **C.** Metacercaria enquistada, dibujo (Barra de escala: 0,05 mm) y fotografías.

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: Heleobia australis L: estuario de Bahía	Szidat, 1957 H: Heleobia parchappei L: laguna de	Etchegoin, 1997 H: <i>Heleobia conexa</i> L: laguna costera de
	Blanca	Chascomús	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)

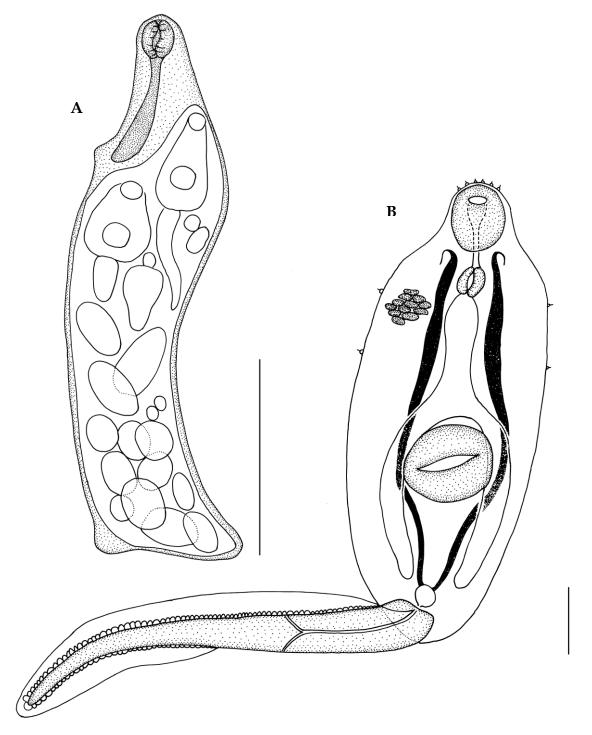


Figura 18. *Psilochasmus oxyurus*. **A.** Redia (Barra de escala: 1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,05 mm).

Metacercaria cf. Psilochasmus oxyurus

Procedencia: Sitio 1, Sitio 2 y Sitio 3

Sitio de infección: entre la conchilla y el manto

Prevalencia: 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.

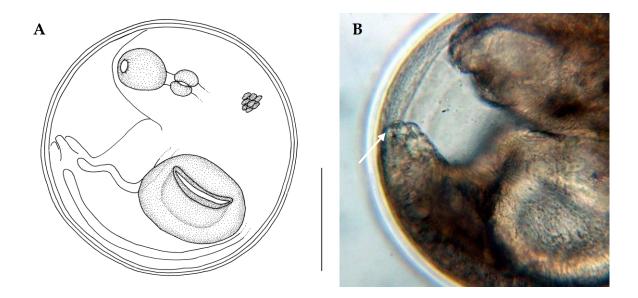


Figura 19. Metacercaria de *Psilochasmus oxyurus* **A.** Metacercaria enquistada (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Detalle de la invaginación en la parte posterior del cuerpo (flecha).

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. Descripción de la redia (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) y espinas del collar cefálico más pequeñas (0,014-0,019 x 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.

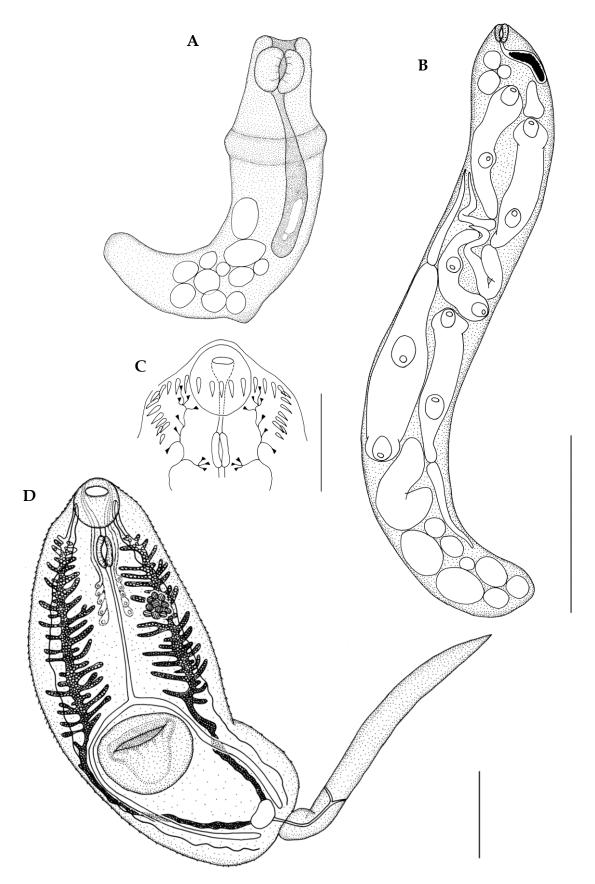


Figura 20. Cercaria Echinocercaria I. **A.** Redia inmadura (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Redia madura (Barra de escala: 0,5 mm); **C.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm); **D.** Detalle de la corona de espinas de la cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

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.

<u>Descripción de la redia</u> (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).

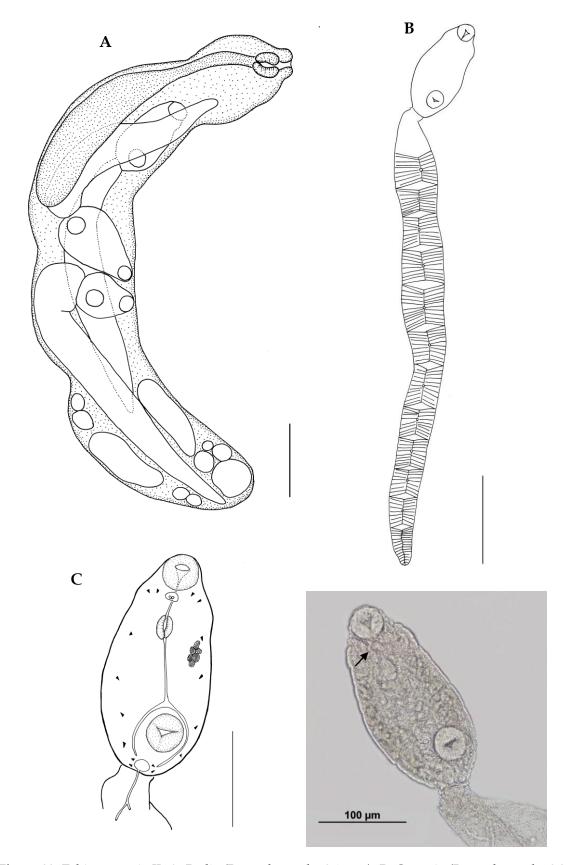


Figura 22. Echinocercaria II. **A.** Redia (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,2 mm); **C.** Cuerpo de la cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía (flecha: cuerpo prefaríngeo).

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)

Descripción de la cercaria (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).

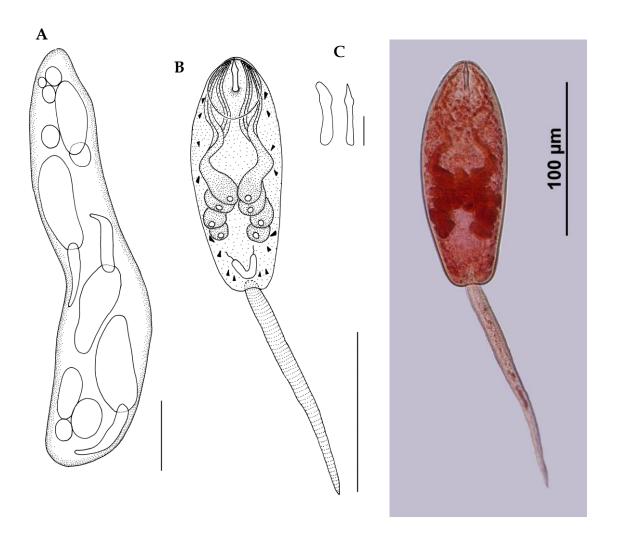


Figura 24. *Maritrema orensensis*. **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,1 mm) y fotografía; **C.** Detalle del estilete de la cercaria (Barra de escala: 0,01 mm).

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

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

<u>Descripción de la cercaria</u> (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).

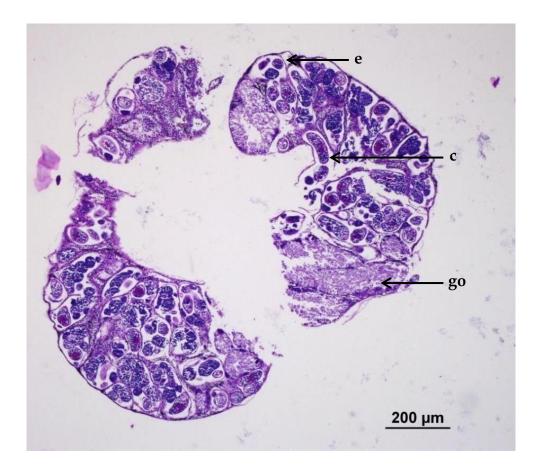


Figura 25. Corte histológico (H-E) de *Heleobia australis* parasitado por el esporocisto de *Maritrema bonaerensis* (**c**: cercaria dentro de esporocisto; **e**: esporocisto; **g**: gónada).

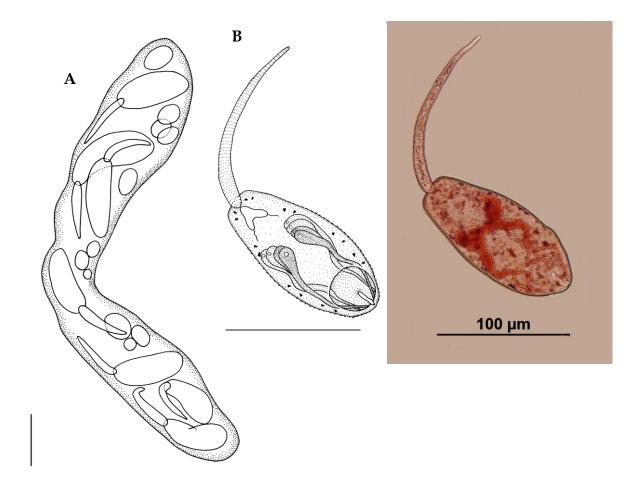


Figura 26. *Maritrema bonaerensis*. **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria (Barra de escala: 0,1 mm).

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.

<u>Discusión</u>: 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*.

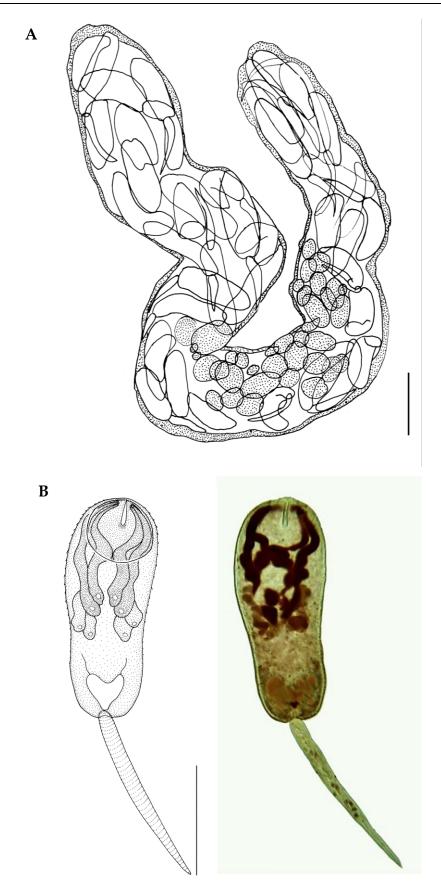


Figura 27. Xiphidiocercaria III **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,1 mm); **B.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,05 mm) y fotografía.

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*.

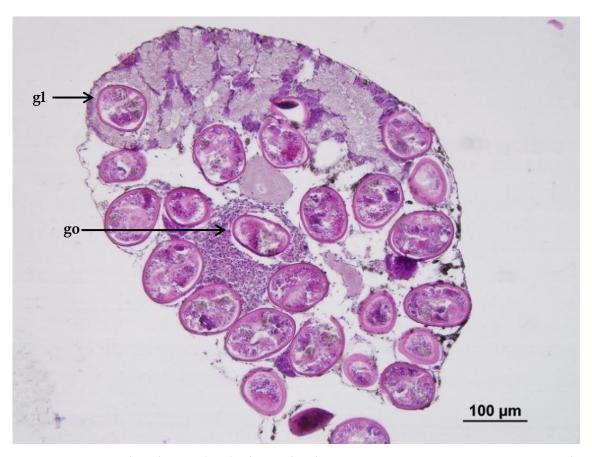


Figura 28. Corte histológico (H-E) de tejido de *Heleobia australis* con metacercarias de *Microphallus simillimus* parasitando gónada (**go**) y glándula digestiva (**gl**).

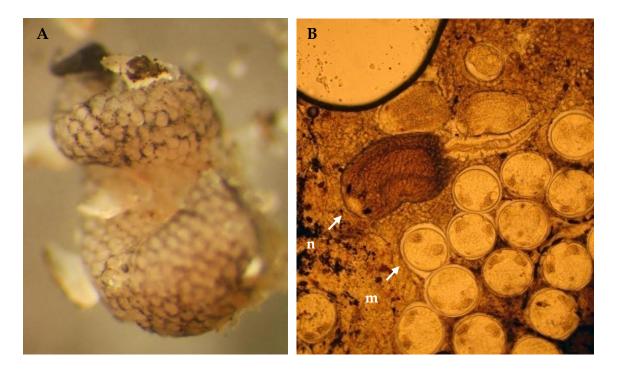


Figura 29. A. Tejido de *Heleobia australis* parasitado por quistes de *Microphallus simillimus*; **B.** Infección doble producida por Cercaria Notocotylidae (**n**) y *M. simillimus* (**m**).

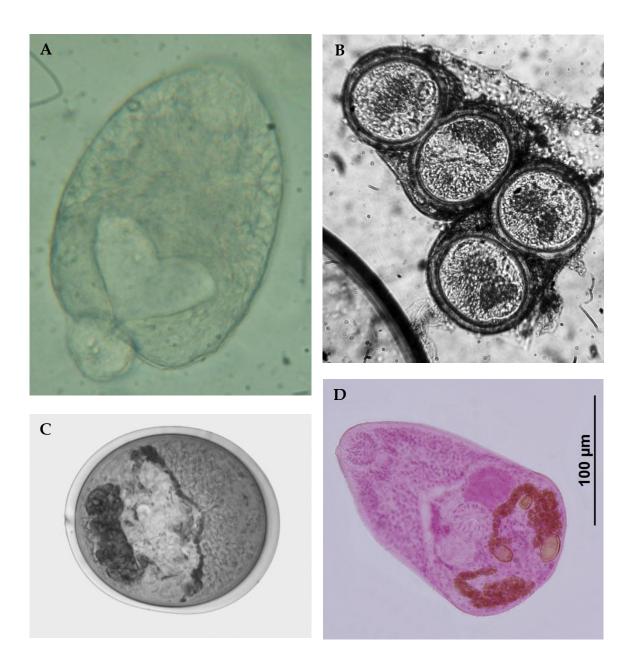


Figura 30. Cercaria y Metacercaria *Microphallus simillimus* **A.** Blastocercaria; **B.** Esporocistos con metacercarias; **C.** Metacercaria enquistada; **D.** Metacercaria desenquistada (Vista dorsal).

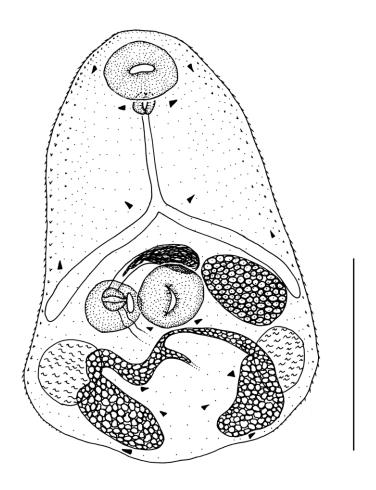


Figura 31. Metacercaria desenquistada *Microphallus simillimus* (Vista dorsal; Barra de escala: 0,1 mm).

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.

<u>Discusión</u>: 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 0.040-0.060vs. 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).

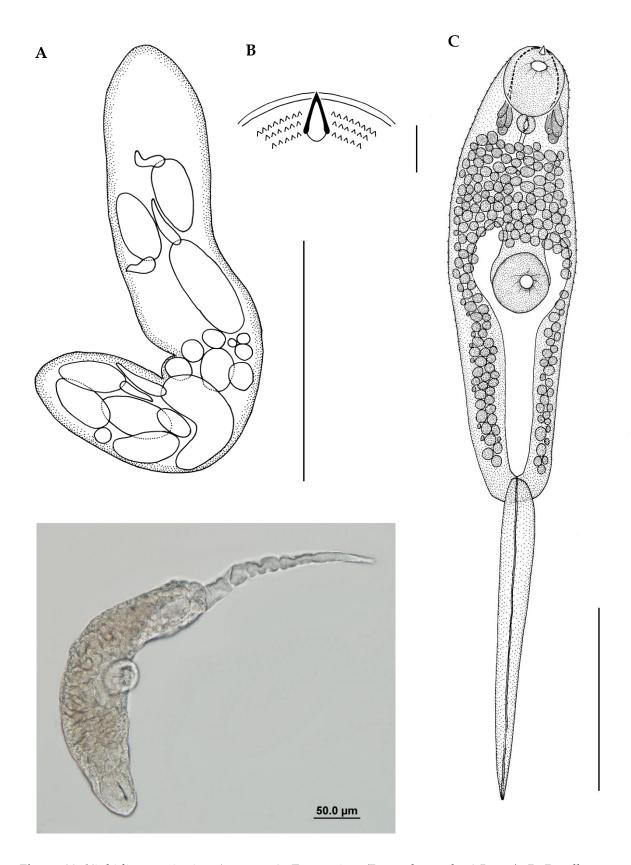


Figura 33. Xiphidiocercaria tipo Armatae **A.** Esporocisto (Barra de escala: 0,5 mm); **B.** Detalle del estilete de la cercaria (Barra de escala: 0,01 mm); **C.** Cercaria, dibujo (Barra de escala: 0,5 mm) y fotografía.

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).

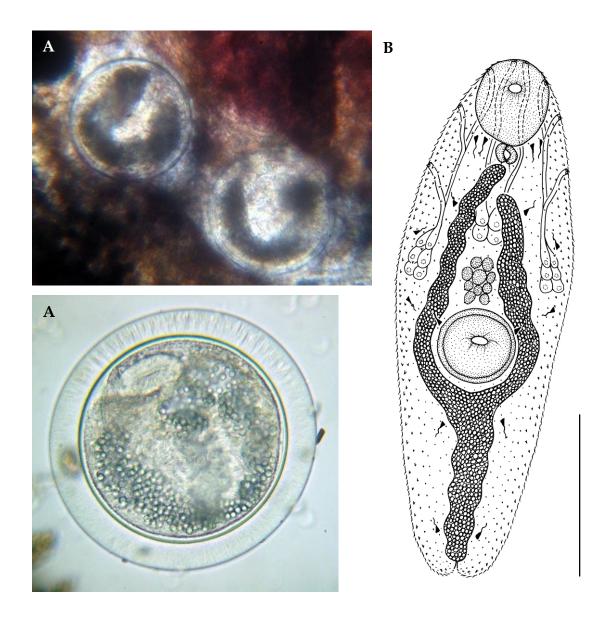


Figura 35. Metacercaria sp. **A.** Metacercaria enquistada; **B.** Metacercaria desenquistada (Barra de escala: 0,1 mm).