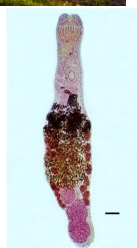
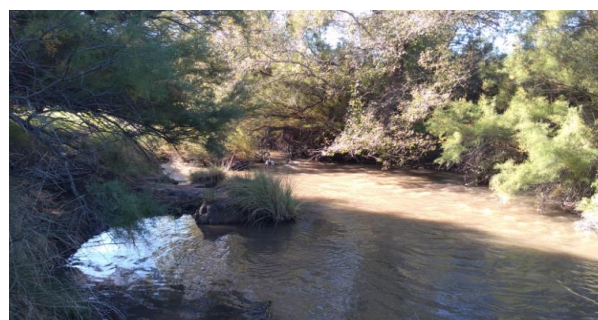
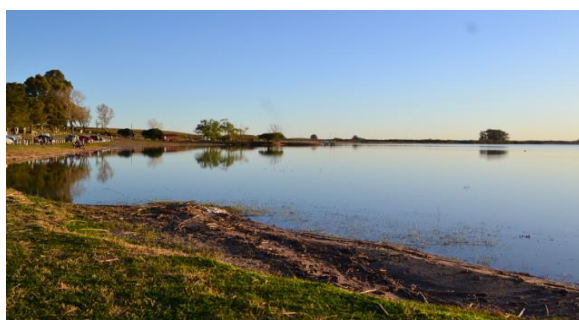


**Universidad Nacional del Sur**  
**Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia**



**Aspectos del estatus taxonómico y del ciclo de vida de una especie del género *Acanthostomum* Looss, 1899 (DIGENEA: CRYPTOGONIMIDAE) en el sudoeste bonaerense, Argentina**



**Alumna:** Josefina González  
**Directora:** Dra. Silvia Elizabeth Guagliardo

**Octubre 2023**  
**Universidad Nacional del Sur**  
**Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia**





**Aspectos del estatus taxonómico y del ciclo de vida de una especie del género *Acanthostomum* Looss, 1899 (DIGENEA: CRYPTOGONIMIDAE) en el sudoeste bonaerense, Argentina**

Tesis de grado presentada para optar al título de Licenciado en Ciencias Biológicas.

**Octubre 2023**

**Alumna**  
Josefina González  
LU: 99352

**Directora**  
Dra. Silvia Guagliardo

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis no habría sido posible de realizar sin las personas que estuvieron presente y contribuyeron con su aporte durante su desarrollo. Es por eso que quiero agradecer:

Al departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur en el cual transité la carrera y realicé la tesis de grado.

A Silvia Guagliardo, la directora de tesis, por acompañarme y guiarme en el camino de la investigación y en la escritura de la tesis. Por estar siempre dispuesta a ayudar y a compartir su conocimiento conmigo.

A Daniel Tanzola, por quien conocí el mundo de la Parasitología en las materias optativas de mi orientación y me compartió su conocimiento.

A los Doctores Estefanía Tittarelli y Edgardo Streitenberger del Departamento de Genética Molecular de IACA Laboratorios por realizar los estudios moleculares.

A mis padres y mis dos hermanos que siempre están presentes y me acompañan en cada paso que doy. Por todo el sacrificio que significa para ellos que pueda estudiar una carrera. Les estaré infinitamente agradecida.

A mis abuelos y amigos que ya no están en este mundo, pero estuvieron conmigo desde el principio de la carrera.

A mis amigas de toda la vida y a mis amigos y compañeros que la Universidad me dio la oportunidad de conocer y compartir la carrera.

## ÍNDICE

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| RESUMEN.....                                   | 5  |
| INTRODUCCIÓN.....                              | 6  |
| Objetivos.....                                 | 8  |
| MATERIALES Y MÉTODOS.....                      | 8  |
| Área de estudio.....                           | 8  |
| Arte de pesca y protocolo de peces.....        | 9  |
| Aislamiento e identificación parasitaria ..... | 9  |
| Estudios moleculares.....                      | 10 |
| RESULTADOS.....                                | 11 |
| Descripción parasitaria.....                   | 11 |
| Caracteres diagnósticos de metacercarias.....  | 18 |
| Identificación molecular.....                  | 19 |
| DISCUSIÓN.....                                 | 22 |
| CONCLUSIONES.....                              | 25 |
| BIBLIOGRAFÍA.....                              | 26 |

## RESUMEN

Los digeneos son helmintos ampliamente distribuidos alrededor del mundo. Tanto *Australoherus facetus* (chanchita) como *Rhamdia quelen* (bagre lagunero) cumplen roles de hospedador para el género *Acanthostomum* en los distintos estadios de su desarrollo. En Argentina se han reportado dos especies: *A. gnerii* y *A. brauni*. La clasificación taxonómica de los acantostominos ha sido estudiada y discutida detalladamente en la literatura. Los caracteres histológicos y morfológicos descriptos han llevado a diversos autores a cuestionar el estatus taxonómico que le fueron asignados a ciertas especies del género. Es así que el presente trabajo pretende esclarecer por medio de estudios morfológicos y moleculares una especie del género *Acanthostomum* presente en el bagre lagunero *R. quelen* de la laguna Sauce Grande y de *A. facetus* del arroyo Las Mostazas. Se extrajeron adultos del intestino de *R. quelen* y se desenquistaron metacercarias del cartilago branquial y de las aletas de *A. facetus*. Parte del material fue coloreada con carmín clorhídrico y otra fue conservada en solución fisiológica para estudios moleculares. Se comparó la morfología y la morfometría descripta para las especies previamente registradas en bagre. Se determinó que los ejemplares aquí estudiados fueron ligeramente más pequeños, así como diferente el número de espinas orales con respecto a los ejemplares estudiados en publicaciones anteriores. El análisis merístico realizado reporta por primera vez medidas para determinados órganos no registrados anteriormente. Los estudios moleculares mostraron que las metacercarias en *A. facetus* y adultos en *R. quelen*, manifiestan una identidad porcentual mayor al 98% con *Acanthostomum minimum*. De nuestros hallazgos se desprende que *A. minimum* habría sido nominada como *A. gnerii* a lo largo de la literatura en toda Latinoamérica. Por lo tanto, se propone considerar válida a *A. minimum* y reservar el nombre de *A. gnerii* como junior sinónimo para las descripciones morfológicas anteriormente publicadas para *A. gnerii*. Además, permite predecir parcialmente el ciclo de vida del parásito en la naturaleza, considerando a *A. facetus* como segundo hospedador intermediario. Se proponen futuros estudios en el caracol *Heleobia parchappii*, presente en el área de estudio, para corroborar su posible rol de primer hospedador intermediario, hecho que permitiría cerrar de manera completa el ciclo de *A. minimum* en la naturaleza.

# Aspectos del estatus taxonómico y del ciclo de vida de una especie del género *Acanthostomum* Looss, 1899 (DIGENEA: CRYPTOGONIMIDAE) en el sudoeste bonaerense, Argentina

## INTRODUCCIÓN

La literatura cuenta con algunos estudios de helmintos parásitos de peces del sudoeste bonaerense (Brízzola y Tanzola, 1995; Tanzola et al., 2009; Guagliardo y Tanzola, 2016; Tanzola et al., 2019; Tanzola et al. 2020). El bagre lagunero *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) *syn* *Rhamdia sapo* (Quoy & Gaimard, 1824) (Froese y Pauli, 2023) (Fig. 1), es un pez habitual de arroyos y lagunas de dicha región donde cumple el rol de hospedador definitivo para muchos digeneos parásitos. Es una especie subtropical, distribuida desde el sur de México hasta la región pampeana en Argentina (Silfvergrip, 1996).



**Fig. 1.** Ejemplar adulto de *Rhamdia quelen* (Autor fotografía: Claudio Días Timm)

Habita en lagunas y ríos de poca profundidad, preferentemente en ambientes lénticos con fondos arenosos y barrosos, con vegetación cercana a la orilla. Presenta hábitos bentónicos, situación que favorece la incorporación de estadios larvales de digeneos por vía trófica (Baldisserotto et al., 2010). En la Argentina se han reportado dos especies de digeneos del género *Acanthostomum* Looss, 1899: *A. gnerii* Szidat, 1954 y *A. brauni* Mañé Garzón & Gil, 1961. La primera, en bagres de agua dulce; la segunda, enquistada como metacercaria en peces de las familias Poeciliidae, Jenynsiidae, Gambusidae, Atherinidae, Cichlidae y otros peces exóticos (Ostrowski de Núñez, 1987; Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra 1991; Gil de Pertierra y Ostrowski de Nuñez, 1995; Merlo et al., 2022). Sin embargo, las especies del género *Acanthostomum* han sufrido revisiones y, en 2016, Martins et al. pusieron en duda la validez de la especie *Acanthostomum gnerii*. Según Merlo et al. (2022), en Argentina serían tres especies reportadas para la Familia Cryptogonimidae Ward, 1917: *Acanthostomoides apophalliformis*

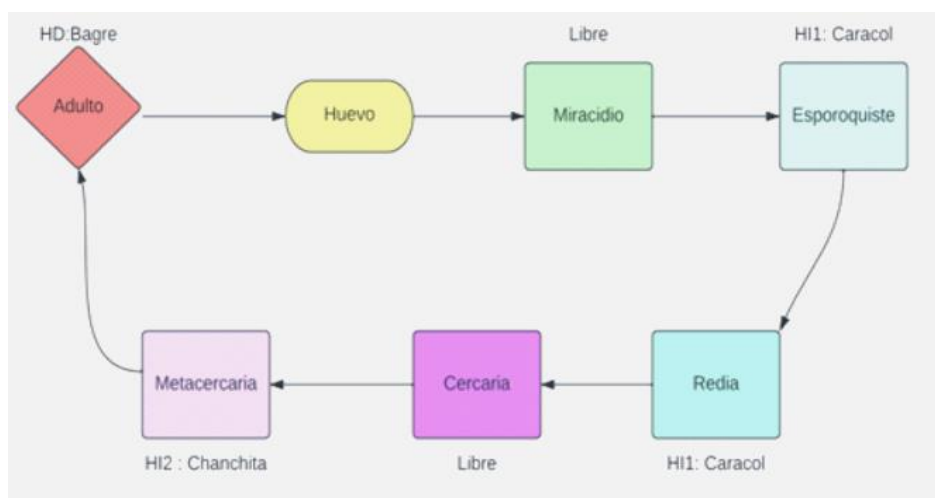
Szidat, 1956; *Acanthostomum brauni* Mañé Garzón y Gil, 1961 y *Acanthostomum gnerii*, más una cercaria perteneciente a la Familia Acanthostomidae.

En los estadios del ciclo de vida de *A. gnerii* previos al adulto, caracoles acuáticos del género *Heleobia* actúan como primeros hospedadores intermediarios desarrollándose en su interior los estadios de esporoquiste, redia y cercaria (Ostrowski de Núñez y Gil de Pertierra, 1991). En tanto los peces cíclidos como la chanchita, *Australoherus facetus* Jenyns, 1842 (Fig. 2), actuarían como segundos hospedadores intermediarios al albergar en el cartílago de sus filamentos branquiales a los estadios de metacercaria. Dicho cíclido en particular se encuentra en países como Brasil, Uruguay y Argentina, comportándose como un pez euritópico de las lagunas pampeanas (Gómez, 1996) y un ítem de importancia dietaria para peces piscívoros (Grosman et al., 2001).



**Fig. 2.** Ejemplar adulto de *Australoherus facetus* (De CHUCAO - Trabajo propio, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=28884330>)

La Fig. 3 representa el ciclo de vida hipotético del género *Acanthostomum* en sus hospedadores respectivos.



**Fig. 3.** Ciclo biológico conceptual de *Acanthostomum* sp.

En el presente trabajo se estudiaron digeneos adultos extraídos de *R. quelen* y metacercarias de *A. facetus*, compatibles morfológicamente con el género *Acanthostomum*. Dado que la validez de la especie *Acanthostomum gnerii* es controvertida en la literatura específica, se espera que los estudios moleculares asociados a la información taxonómica que se aportan, provean nuevos datos que puedan contribuir a establecer una taxonomía más clara y estable para este taxón.

## OBJETIVOS

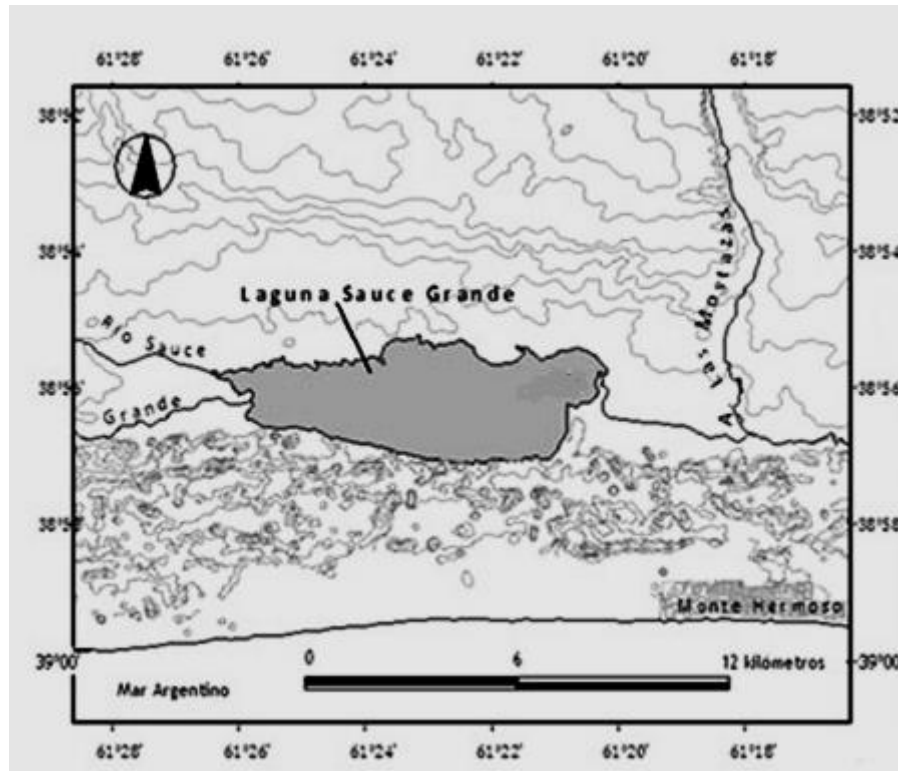
- 1) Discutir el estatus taxonómico de una especie del género *Acanthostomum* a partir de estudios morfológicos y moleculares en distintos estadios del ciclo de vida del parásito;
- 2) Analizar la interacción de metacercarias y digeneos adultos en sus respectivos hospedadores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

La Laguna Sauce Grande (38°57'S, 61°24'O) se encuentra ubicada en el suroeste de la provincia de Buenos Aires, con el río Sauce Grande como principal tributario desde el oeste (Cony *et al.*, 2014), que luego de la descarga de este cuerpo de agua, colecta las aguas del arroyo Las Mostazas (38° 56' 39" S, 61° 17' 57" O) (Brendel, 2020) (Fig.4) y desemboca en el Óceano Atlántico. La Laguna Sauce Grande es un cuerpo de agua originado por el embalsado natural del agua de escorrentía condicionado por la presencia de la Barrera Medanosas Austral, abarcando un área de 21,55 km<sup>2</sup> y un perímetro de 28,5 km. Según las condiciones fisicoquímicas del cuerpo de agua lagunar, es de tipo oligohalino, de pH alcalino, con valores de oxígeno superiores a 7 mg/L (Fornerón *et al.*, 2010). El área recibe precipitaciones anuales entre 600 mm y 700 mm y presenta valores de temperatura de entre los 14°C y 20°C, siendo el clima de la región templado (Campo de Ferreras *et al.*, 2004). En cuanto a riqueza específica, la ictiofauna está conformada por *Odonthestes bonariensis* (pejerrey) siendo ésta la especie dominante; *Oligosarcus jenynsii* (dientado); *Cyphocharax voga* (sabalito); *Rhamdia quelen* (bagre negro); *Psalidodon* (Syn *Astyanax* sp.) (mojarra) y *Bryconamericus iheringi* (mojarra punto negro) (Remes Lenicov y Colautti, 2003). Por su parte, el arroyo Las Mostazas es de tipo mixohalino. En proximidades a la desembocadura del río Sauce Grande, existen asociaciones de especies marinas y dulceacuícolas, contando con la presencia de especies como *Astyanax pampa*

(mojarra), *O. bonariensis* (pejerrey), *A. facetus* (chanchita), *O. jenynsii* (dientudo), *Cheirodon interruptus* (mojarra de agua dulce), *B. iheringi*; *Corydoras paleatus* (coridora pimienta), *Pimelodella laticeps* (bagrecito cantor), *R. quelen* (bagre), *Synbranchus marmoratus* (anguila) y *Jenynsia multidentata* (madrecita) (Bogan y Bauni, 2018).



**Fig. 4.** Ubicación del área de estudio y sitios de muestreos

### Arte de pesca y protocolo de peces

El arte de pesca utilizado fue: 1- red mojarra para *A. facetus* y 2- línea de anzuelos para *R. quelen*. Los peces fueron sacrificados bioéticamente mediante sobredosis de eugenol en alcohol 70% v/v en baño de agua, hasta su narcosis profunda. Luego fueron refrigerados y procesados en el laboratorio.

### Aislamiento e identificación parasitaria

Las prospecciones parasitológicas se llevaron a cabo bajo lupa binocular. Se procedió a la extracción de digeneos adultos (N=24) en el intestino de *R. quelen* y a la desencapsulación de metacercarias ubicadas en los filamentos branquiales y en los radios de las aletas de *A. facetus*. Los digeneos, tanto en estadios larvales como adultos, se relajaron en solución fisiológica en caliente, se aplanaron por vitropresión suave y se colorearon con carmín clorhídrico. Algunos ejemplares se guardaron en colección en alcohol 70% v/v. Se realizaron preparados permanentes para fotografiar y para tomar mediciones anatómicas. Para la identificación de los

ejemplares se consideraron los siguientes elementos diagnósticos: la longitud total y el ancho máximo del cuerpo; el número de espinas de la ventosa oral; el largo y el ancho de las ventosas oral y ventral; la prefaringe y la faringe; el número y la forma de los ciegos digestivos; el largo y el ancho de los ovarios; el largo, el ancho y la disposición de los testículos (diagonales o en tándem); forma de la vesícula seminal; el largo y el ancho del receptáculo seminal; el tipo, el número y la disposición de las glándulas vitelinas y la presencia o ausencia del poro anal. El promedio, el desvío estándar y el rango de las mediciones efectuadas fueron expresadas en mm.

Parte del material parasitario fue conservado en solución fisiológica para ser remitido inmediatamente *post mortem* para estudios moleculares.

Seis individuos adultos coloreados y montados fueron depositados como vouchers en la Colección Helmintológica de la División Zoología de Invertebrados del Museo de La Plata bajo el número **He-MLP 8042**.

### **Estudios moleculares**

Los estudios de biología molecular se realizaron en conjunto con el Departamento de Biología y Genética Molecular de IACA Laboratorios (Dres. Tittarelli E. y Streitenberger E.). Se remitieron al laboratorio 4 metacercarias de *Acanthostomum* sp. obtenidas de los arcos branquiales de un *Australoheros facetus* y de cuatro individuos adultos del intestino de un *Rhamdia quelen*. Se extrajo ADN genómico utilizando el equipo de extracción automatizada Magna Pure Compact (Roche), con un paso previo de lisis, utilizando 400 uL de Magna Pure DNA Tissue Lysis Buffer (Roche) y 20 uL de proteinasa K. Se amplificó un fragmento de 639 pb. utilizando los cebadores 300F (5'-CAA GTA CCG TGA GGG AAA GTTG-3') y EDC2 (5'-CTT GGT CCG TGT TGT AAG GG-3') (Tkach et al., 2003). La amplificación se llevó a cabo usando el kit comercial HotStar Taq Plus Master Mix (Quiagen), con una concentración final de la mezcla de reacción de 1X, 0.5-5 ng DNA y 0.5 µM de cada primer en un volumen final de 25 µL. La PCR se realizó en un termociclador Veriti (Applied Biosystems) en las siguientes condiciones de ciclado: 95 °C por 5 min, 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 1 min y 72 °C por 10 min. Los productos de la PCR fueron purificados con el kit de purificación QIAquick PCR (Quiagen) y cuantificados mediante un espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Scientific). Los productos obtenidos fueron secuenciados utilizando el kit BigDye Terminator v1.1 kit (Applied Biosystem) con los mismos cebadores de la amplificación según el protocolo sugerido por el fabricante. La lectura se realizó en un Genetic Analyzer ABI 3500 (Applied Biosystem). Las secuencias obtenidas fueron visualizadas utilizando el *software* Sequencing v.7. Las secuencias consenso obtenidas se compararon con aquellas disponibles en la base de datos GenBank empleando la herramienta BLAST. Se reconstruyeron las relaciones filogenéticas con las especies congénicas depositadas en BLAST. Para ello se utilizaron dos métodos, 1- ClustalW, basado en criterios de distancia

genética, y 2- PhyML, basados en máxima verosimilitud. Las relaciones filogenéticas se muestran diseñando sendos cladogramas mediante el programa Fig Tree.

Diez metacercarias y un adulto, fueron depositadas como vouchers, fijados y conservados en etanol 96 % en la Colección Helminológica de la División Zoología de Invertebrados del Museo de La Plata bajo el número **He-MLP 8041**.

## RESULTADOS

### Descripción parasitaria

#### Caracteres diagnósticos de ejemplares adultos de *Acanthostomum* sp.

**Hospedador:** *R. quelen*

**Sitio de infección:** Intestino

N = 24 individuos fijados, coloreados y conservados en preparaciones permanentes (Figuras 5 a 12; Tabla 1)

Los ejemplares examinados presentaron un cuerpo alargado de  $1.369 \pm 0.291$  (0.662-1.825) de longitud por  $0.331 \pm 0.066$  (0.200-0.500) de ancho (Fig. 5). El tegumento sincicial se observó cubierto de pequeñas espinas redondeadas, encontrándose una mayor densidad de las mismas en la parte anterior hasta desaparecer en la parte posterior del cuerpo. La ventosa oral retractil, de posición terminal y con forma de embudo, presentó mayor longitud que la ventosa ventral y del morfotipo equinostoma. La boca estaba rodeada por una única fila ininterrumpida de entre 19-20 espinas, (Fig. 6). La prefaringe fue larga, de longitud variable según el grado de contracción que presentaban los ejemplares al momento de la fijación. La faringe muscular. A modo de excepción esta especie presentaba una única rama intestinal lateral con atrofia de la rama opuesta (Fig. 7). Un único ciego digestivo recorría el cuerpo para desembocar en su extremo lateral posterior contiguo al poro excretor terminal (Fig. 8). La ventosa ventral en posición preecuatorial.

El sistema reproductor femenino estaba compuesto por un ovario compacto, pretesticular y subesférico. El receptáculo seminal en forma de saco. La ubicación varió dependiendo de la fijación del peparado: en el ecuador del ovario o ente el ovario y el primer testículo. El vitelario compacto, con folículos dispuestos en dos columnas de ubicación postacetabular (6-10 en el lateral izquierdo y 5-12 en el lateral derecho), desde el margen posterior de la vesícula seminal hasta la parte posrterior del ovario (Fig. 9). Receptáculo seminal en forma de saco, de ubicación variable y dependiendo de la fijación del peparado, en el ecuador

del ovario o ente el ovario y el primer testículo (Fig. 10). Dos testiculos, en tandem, ovoides, el anterior más ancho que el posterior. Vesícula seminal ventral larga y flexuosa que desemboca a la altura de la ventosa ventral (Fig. 11). Huevos operculados (Fig. 12).



**Fig. 5.** Ejemplar adulto de *Acanthostomum* sp. Escala = 0,1mm



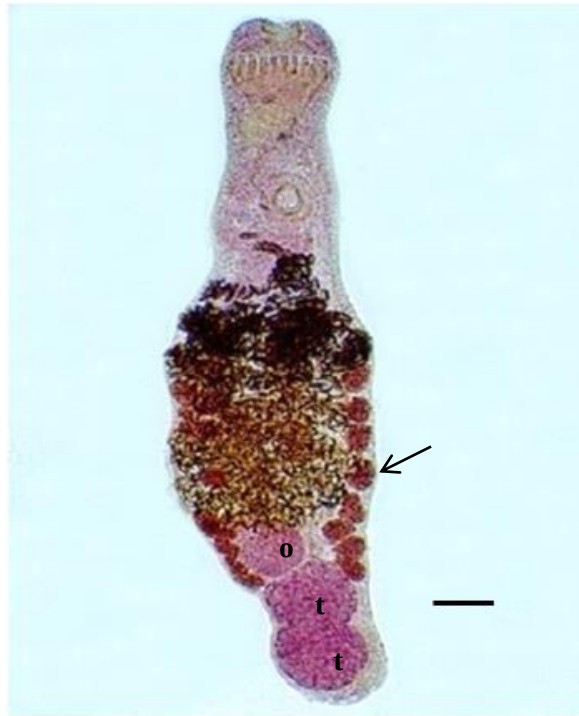
**Fig. 6.** Detalle de la región oral con una hilera de espinas peribucales. Escala = 0,05 mm



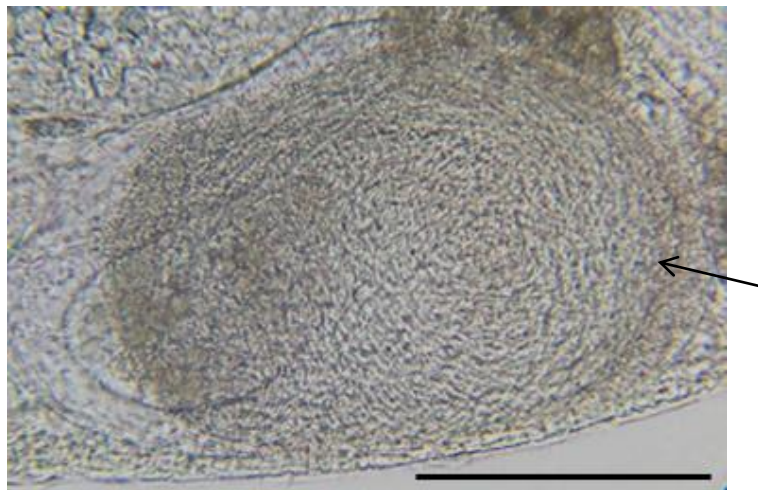
**Fig. 7.** Detalle de la única rama del ciego digestivo (flecha). Escala = 0,1 mm



**Fig. 8.** Extremo posterior de *Acanthostomum* sp. Detalle del poro excretor (\*) y del poro anal (\*\*). Escala = 0,05 mm



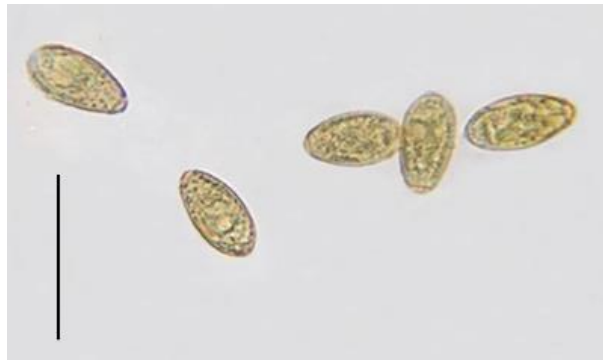
**Fig. 9.** Detalle de ovario (o), los testículos (t) y las glándulas vitelógenas (flecha). Escala = 0,1 mm



**Fig. 10.** Receptáculo seminal (flecha). Escala = 0,05 mm.



**Fig. 11.** Vesícula seminal larga y flexuosa (flecha). Escala = 0,05 mm.



**Fig. 12.** Huevos. Escala = 0,05 mm

**Tabla 1.** Mediciones comparativas de especies de *Acanthostomum* parásitas de bagres del género *Rhamdia*. Los promedios  $\pm$  desviación estándar son seguidos por los valores máximos y mínimos. Todos los valores expresados en mm. <sup>L</sup> = largo. <sup>A</sup> = ancho

|                                      | Stunkard (1938)                     | Szidat (1954)    | Brandão (1977)                       | Kohn & Fróes (1986) | Ostrowski de Nuñez & Gil de Pertierra (1991) | Martis et al. (2016)               | Presente estudio (2023)            |
|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------|--------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <b>Especie nominal</b>               | <i>Acanthostomum minimum</i> (tipo) | <i>A.gnerii</i>  | <i>A.gnerii</i>                      | <i>A.gnerii</i>     | <i>A.gnerii</i>                              | <i>A.gnerii</i>                    | <i>Acanthostomum minimum</i>       |
| <b>Hospedador</b>                    | <i>Rhamdia guatemalensis</i>        | <i>R. quelen</i> | <i>R. sapo</i> (= <i>R. quelen</i> ) | <i>Rhamdia</i> sp.  | <i>R. sapo</i>                               | <i>R. quelen</i>                   | <i>R. quelen</i>                   |
| <b>Sitio de infección</b>            | No indicado                         | Intestino        | Intestino                            | Intestino           | No indicado                                  | Estómago, intestino                | Intestino                          |
| <b>Cuerpo<sup>L</sup></b>            | 0.63*-1.18                          | 1.64-2.00        | 1.64-2.0                             | 2.8<br>(1.9-3.48)   | 1.53<br>(0.9-2.48)                           | 1.437 $\pm$ 0.443<br>(0.984-2.840) | 1.369 $\pm$ 0.291<br>(0.662-1.825) |
| <b>Cuerpo<sup>A</sup></b>            | 0.39*-0.42                          | 0.50-0.64        | 0.50-0.64                            | 0.65<br>(0.49-0.80) | 0.35<br>(0.18-0.57)                          | 0.393 $\pm$ 0.061<br>(0.304-0.560) | 0.331 $\pm$ 0.066<br>(0.200-0.500) |
| <b>Ventosa oral<sup>L</sup></b>      | 0.17                                | 0.245-0.250      | 0.245-0.250                          | 0.28<br>(0.24-0.32) | 0.21<br>(0.13-0.28)                          | 0.256 $\pm$ 0.054<br>(0.168-0.320) | 0.199 $\pm$ 0.032<br>(0.156-0.297) |
| <b>Ventosa oral<sup>A</sup></b>      | 0.18                                | 0.200            | 0.200                                | 0.24<br>(0.21-0.30) | 0.16<br>(0.08-0.23)                          | 0.204 $\pm$ 0.046<br>(0.096-0.264) | 0.160 $\pm$ 0.024<br>(0.121-0.227) |
| <b>Número de espinas peribucales</b> | 18-20                               | 21-23            | 21-23                                | 20-24               | 20 (19-21)                                   | 23-24                              | 19-20                              |
| <b>Espinas<sup>L</sup></b>           | 0.04                                | 0.069            | -                                    | 0.041-0.060         | 0.050<br>(0.029-0.066)                       | 0.036 $\pm$ 0.008<br>(0.024-0.056) | 0.045 $\pm$ 0.007<br>(0.032-0.060) |
| <b>Espinas<sup>A</sup></b>           | -                                   | 0.012            | -                                    | 0.012-0.020         | 0.012<br>(0.008-0.014)                       | 0.016 $\pm$ 0.004<br>(0.008-0.024) | 0.013 $\pm$ 0.001<br>(0.009-0.016) |
| <b>Ventosa ventral<sup>L</sup></b>   | 0.12                                | 0.10             | 0.10                                 | -                   | 0.12<br>(0.08-0.18)                          | 0.138 $\pm$ 0.022<br>(0.088-0.176) | 0.130 $\pm$ 0.017<br>(0.096-0.160) |
| <b>Ventosa ventral<sup>A</sup></b>   | 0.13                                | 0.15             | 0.15                                 | 0.18<br>(0.15-0.21) | 0.129<br>(0.08-0.18)                         | 0.139 $\pm$ 0.030<br>(0.088-0.232) | 0.110 $\pm$ 0.020<br>(0.064-0.140) |
| <b>Prefaringe<sup>L</sup></b>        | -                                   | -                | -                                    | -                   | -                                            | 0.069 $\pm$ 0.049<br>(0.004-0.178) | 0.108 $\pm$ 0.027<br>(0.089-0.128) |
| <b>Faringe<sup>L</sup></b>           | 0.10-0.11                           | 0.12             | 0.12                                 | 0.14<br>(0.11-0.15) | 0.14<br>(0.08-0.18)                          | 0.135 $\pm$ 0.017<br>(0.112-0.176) | 0.104 $\pm$ 0.017<br>(0.076-0.144) |
| <b>Faringe<sup>A</sup></b>           | 0.068-0.085                         | 0.10             | 0.10                                 | -                   | 0.10<br>(0.05-0.15)                          | 0.078 $\pm$ 0.024<br>(0.004-0.112) | 0.084 $\pm$ 0.018<br>(0.060-0.137) |
| <b>Esófago<sup>L</sup></b>           | -                                   | -                | -                                    | -                   | -                                            | -                                  | -                                  |
| <b>Ovario<sup>L</sup></b>            | 0.07                                | 0.12-0.13        | -                                    | 0.18                | 0.12                                         | 0.113 $\pm$ 0.032                  | 0.139 $\pm$ 0.027                  |

|                                              |             |             |             |                        |                        |                                |                                |
|----------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|------------------------|------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                              |             |             |             | (0.14-0.21)            | (0.07-0.25)            | (0.064-0.192)                  | (0.076-0.179)                  |
| <b>Ovario<sup>A</sup></b>                    | 0.15        | -           | -           | 0.19<br>(0.15-0.24)    | 0.11<br>(0.06-0.21)    | 0.125 ± 0.035<br>(0.064-0.176) | 0.112 ± 0.020<br>(0.076-0.153) |
| <b>Testículo<sup>L</sup></b>                 | 0.07-0.15   | 0.15-0.18   |             | 0.28<br>(0.21-0.35)    |                        |                                |                                |
| <b>Anterior</b>                              | -           | -           | -           | -                      | 0.14<br>(0.08-0.24)    | 0.116 ± 0.037<br>(0.064-0.232) | -                              |
| <b>Posterior</b>                             | -           | -           |             | -                      | 0.16<br>(0.09-0.30)    | 0.139 ± 0.044<br>(0.096-0.288) | -                              |
| <b>Testículo<sup>A</sup></b>                 | 0.14-0.22   | 0.25-0.28   |             | 0.30<br>(0.21 -0.38)   |                        |                                |                                |
| <b>Anterior</b>                              | -           | -           | -           | -                      | 0.19<br>(0.09-0.32)    | 0.171 ± 0.034<br>(0.112-0.256) | 0.160 ± 0.023<br>(0.108-0.214) |
| <b>Posterior</b>                             | -           | -           | -           | -                      | 0.19<br>(0.10-0.33)    | 0.177 ± 0.037<br>(0.112-0.288) | 0.147 ± 0.025<br>(0.092-0.204) |
| <b>Receptáculo seminal<sup>L</sup></b>       | 0.08        | -           | -           | -                      | -                      | 0.104 ± 0.032<br>(0.072-0.176) | 0.104 ± 0.021<br>(0.070-0.160) |
| <b>Receptáculo seminal<sup>A</sup></b>       | 0.13        | -           | -           | -                      | -                      | 0.104 ± 0.028<br>(0.056-0.152) | 0.101 ± 0.029<br>(0.051-0.150) |
| <b>Huevo<sup>L</sup></b>                     | 0.028-0.030 | 0.029-0.037 | 0.029-0.37  | 0.030<br>(0.027-0.032) | 0.030<br>(0.026-0.037) | 0.028 ± 0.003<br>(0.023-0.032) | 0.025 ± 0.003<br>(0.019-0.032) |
| <b>Huevo<sup>A</sup></b>                     | 0.016-0.018 | 0.014-0.016 | 0.014-0.016 | 0.014<br>(0.012-0.015) | 0.015<br>(0.011-0.020) | 0.011 ± 0.002<br>(0.007-0.013) | 0.015 ± 0.002<br>(0.009-0.022) |
| <b>N° esferas vitelínicas lado izquierdo</b> | -           | -           | -           | -                      | -                      | -                              | 6-10                           |
| <b>N° esferas vitelínicas lado derecho</b>   | -           | -           | -           | -                      | -                      | -                              | 5-12                           |

### **Caracteres diagnósticos de metacercarias de *Acanthostomum* sp.**

**Hospedador:** *Australoherus facetus*

**Sitio de infección:** Aleta y branquia

N = 3

(Figuras 13 y 14)

Las metacercarias se hallaron enquistadas en el esqueleto cartilaginoso tanto de los filamentos branquiales como de los radios de las aletas del segundo hospedador intermediario (Fig. 13). El quiste (N = 3) fue ovoide midiéndolo 0,162-0,233 de diámetro mayor por 0,117-0,166 de diámetro menor. Presentó una pared fibrosa de 0,0125 (N = 1) de grosor y, notoriamente, no hubo reacción de encapsulación del hospedador. En su interior se apreció la metacercaria cubierta de diminutas espinas tegumentarias. En las observaciones en fresco, presentó activos movimientos. Se observaron por transparencia 20 espinas circumorales de 0,020-0,025 de largo y de 0,010 de ancho en su base. La ventosa oral fue cónica de 0,0625 de largo por 0,0875 de ancho (N = 1), la faringe muscular fue de 0,030 por 0,027 y la ventosa ventral 0,050 por 0,0425 de diámetros. La vesícula excretora adoptaba una forma de Y y se observaba cargada de glóbulos transparentes (Fig. 14).

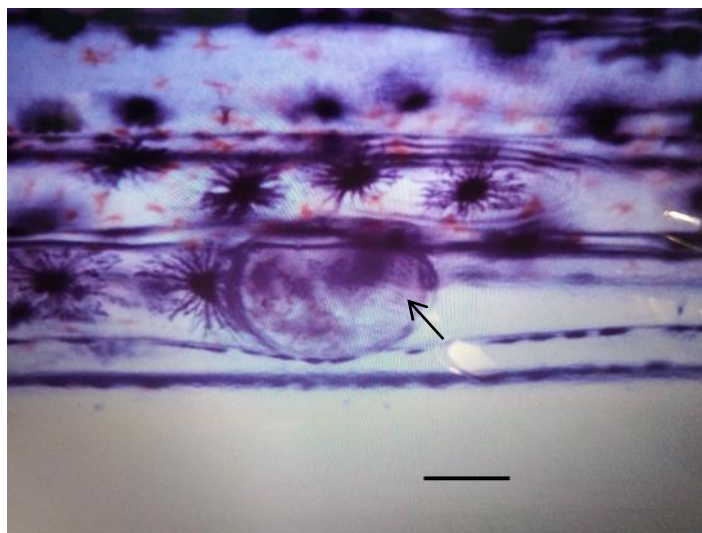


Fig. 13. Metacercaria (flecha) enquistada en radios de aleta de madrecita. Escala = 0.1 mm

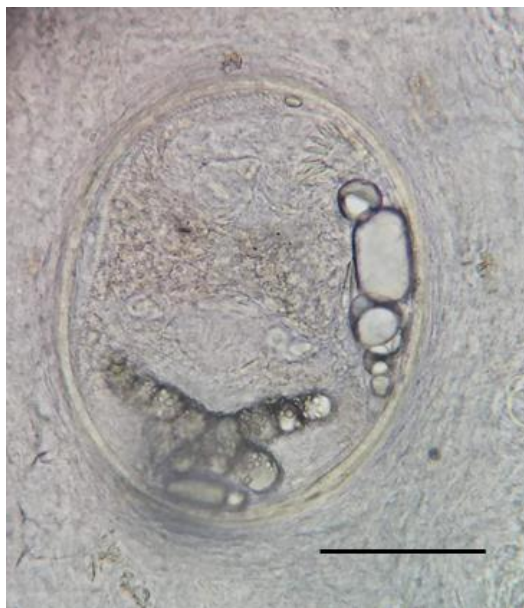


Fig. 14. Metacercaria enquistada en una branquia. Escala = 0,1 mm

### Identificación molecular

Las secuencias consenso obtenidas con el material de cuatro parásitos adultos aislados en el presente estudio se compararon con las disponibles en GenBank hallándose 98,21, 98,60, 98,74 y 99,12 % de identidad con *Acanthostomum minimum* (MK648271.1- Query Cover 100% - E value 0.0) (Perez Ponce de León y Hernandez-Mena, 2019).

Por otra parte, comparando las secuencias procedentes de dos metacercarias del hospedador intermediario, también se obtuvo 98,73 y 99,08% de identidad con *A. minimum* (MK648271.1- Query Cover 100% - E value 0.0) (Perez Ponce de León y Hernandez-Mena, op. cit.). Por tal razón, se confirmó la identidad taxonómica tanto para los helmintos adultos como para las metacercarias, validando la especie como *Acanthostomum minimum* Stunkard, 1938.

Los cladogramas diseñados mediante dos criterios (distancia genética y máxima verosimilitud) (Figs. 15 y 16) coinciden en que las secuencias de tres especímenes adultos del presente trabajo se agrupan en un clado con buen soporte junto a la única secuencia depositada en GenBank perteneciente a *A. minimum*. Esto nos ofrece un argumento suficientemente sólido desde el punto de vista molecular, de que los individuos hallados en intestino del bagre negro *R. quelen* en esta tesina pueden ser asignados a la especie *Acanthostomum minimum* Stunkard, 1938.

Debe destacarse que las secuencias de metacercarias obtenidas en *A. facetus* así como una procedente de un ejemplar de *R. quelen* (probablemente juvenil inmaduro), expresaron, según el BLAST, una identidad porcentual de 99,08, 98,73 y 98,60 % con *A. Minimum*. Sin embargo, al incorporarlas a la construcción gráfica de las relaciones, su topología, aunque formó

un clado único constituido por las tres secuencias, presentó rasgos de posicionamiento y de distancia, por el momento, sin una clara explicación, y que será motivo de un análisis más preciso y exhaustivo que escapa a los objetivos del presente trabajo. Por este motivo, en las figuras solo se han incorporado las tres secuencias de adultos que dieron un alto porcentaje de identidad (BLAST) y además constituyeron un clado con un buen soporte con *A. minimum*.

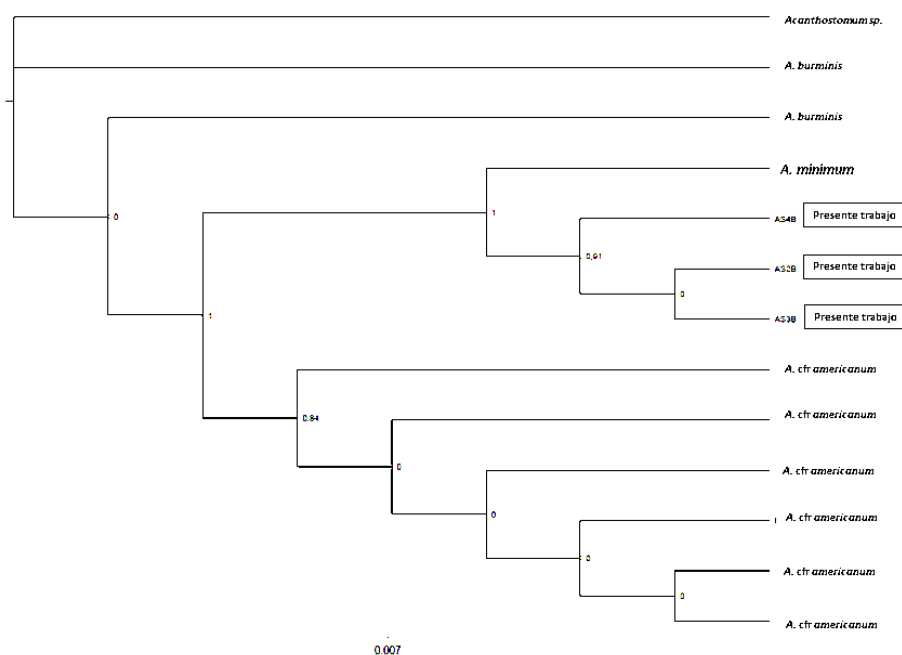


Fig. 15. Cladograma realizado mediante máxima verosimilitud (PhyML) de las relaciones entre secuencias de adultos de *Acanthostomum* del presente trabajo y aquellas disponibles en la base de datos GenBank.

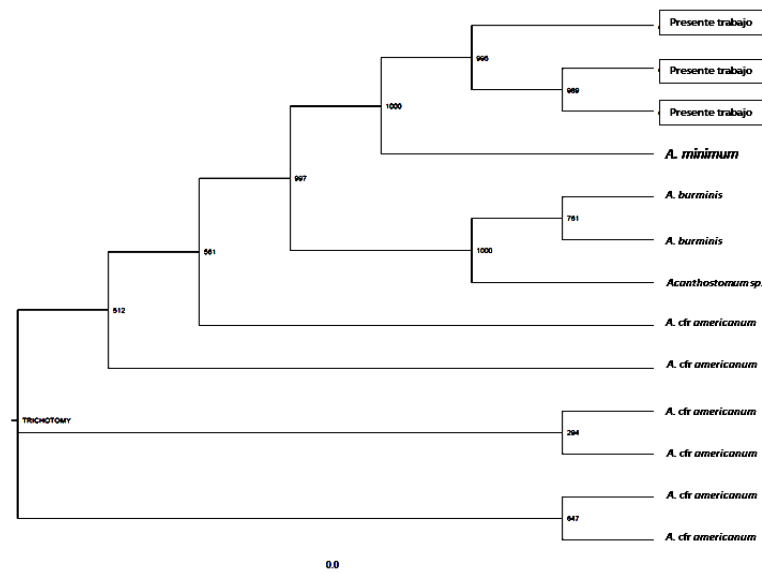


Fig. 16. Cladograma realizado mediante criterios de distancia (ClustalW) de las relaciones entre secuencias de adultos de *Acanthostomum* del presente trabajo y aquellas disponibles en la base de datos GenBank

## DISCUSIÓN

Stunkard (1938) describió un digeneo parásito del bagre *Rhamdia guatemalensis*, en Yucatán, México, basado en dos especímenes, que reconoció estaban pobremente fijados; uno de ellos muy contraído, no pudiendo observar claramente las estructuras reproductivas, y el otro, utilizado para realizar cortes histológicos seriados. El autor, designó la especie como *Acanthostomum minimum* destacando 20 espinas periorales y la presencia de abertura anal, como caracteres más relevantes. Años más tarde, en Argentina, Szidat (1954) nomina la especie *Acanthostomum gnerii* como parásita de *R. quelen*. Este autor la describe con 21-23 espinas peribucles y dos ciegos intestinales con poro anal distal, cada uno al final del cuerpo. Cabe señalar que en su trabajo original Szidat (1954) diferenció su especie *A. gnerii* de *A. minimum* solo por la mayor longitud del cuerpo de sus ejemplares, aún reconociendo que en ambas especies el cuerpo se contrae fuertemente. Sin embargo, no aportó ninguna otra comparación morfológica que justifique haber creado una especie diferente de *A. minimum*. A partir de Szidat (1954), el número de espinas peribucles y de ciegos intestinales comienza a ser discutido en las descripciones posteriores. Lunaschi (1986) revisó los especímenes depositados por Szidat (un holotipo y dos paratipos), y confirmó solo un ciego intestinal y una segunda rama atrofiada. Incluso informó que “el holotipo de *A. gnerii* (sic) solo presenta 12 espinas circumorales por haber perdido evidentemente las restantes”. En Panamá, Caballero y Brenes (1958) identifican a *A. gnerii* en *R. rogersi* y la describieron con 19-20 espinas peribucles y dos ciegos intestinales, pero solo dibujan uno. La ausencia de un ciego intestinal lleva a Simha (1958) a crear el género *Haplocaecum*, posteriormente propuesto como subgénero de *Acanthostomum* (Khalil, 1963; Carter y Etges, 1972) y más tarde considerado sinónimo del subgénero *Athrophecaecum*, en concordancia con Yamaguti (1971). En Nicaragua, Watson (1976) reportó la presencia de *A. gnerii* en otras dos especies de bagre: *Rhamdia nicaraguensis* y *R. managuensis* y agregó la especie *A. astorquii* en *R. nicaraguensis* con 20 espinas peribucles y un ciego atrofiado con ano en la parte posterior del cuerpo. En el Sur de Brasil, Brandão (1977) reconoció y describió a *A. gnerii* con dos ciegos intestinales cada uno con un poro anal en el extremo distal. En especímenes de Río de Janeiro, Kohn y Fróes (1986) describen a *A. gnerii* en *Rhamdia* sp. con 20-24 espinas peribucles y la esquematizan con dos ciegos intestinales. Posteriormente Miller y Cribb (2008) mencionaron la importancia de considerar la longitud de los ciegos como carácter de clasificación.

Cabe destacar que la presencia de dos ciegos intestinales ya había sido reportada por Stunkard (1938) para *A. minimum*, sin embargo, el autor solo ilustró uno. Por su parte, Brooks (1980) analiza los holotipos de *A. minimum* y de *A. astorquii* concluyendo que son indistinguibles, sugiriendo un estudio basado en un número mayor de ejemplares para clarificar el estatus de ambas especies. Brooks y Holcmann (1993) reconocen como válidas a ambas

especies, *A. minimum* y *A. astorquii*, (con testículos oblicuos, un vitelario esparcido y un ciego atrofiado) aunque no reportan distinción morfológica entre ambas. Vale recordar que la posición oblicua de los testículos en el ejemplar tipo de *A. minimum* es, sin dudas, producto de la intensa contracción y deformación del ejemplar.

Martins et al. (2016) comunican para *A. gnerii* la presencia de testículos en tándem, diferenciándolos de *A. astorqui* que son oblicuos, y el vitelario nunca extendido hasta el margen de la vesícula seminal como en *A. minimum* y *A. proctophorum*. En el presente estudio, fue posible analizar especímenes de *Acanthostomum* sp. en varios estados de contracción y en todos se pudo observar disposición en tándem de los testículos y vitelarios de igual disposición que en *A. minimum*.

Ibraheem (2006), estudió morfológicamente a *Acanthostomum spiniceps* mostrando que tiene dos ramas de ciegos intestinales, aunque consideró que éstas pueden estar atrofiadas para esta especie. En los diagnósticos morfológicos realizados en el presente estudio, el ciego presenta una rama intestinal con atrofia de la rama opuesta, recorriendo esa única rama el cuerpo para desembocar en su extremo lateral posterior.

Según Brooks (1980), Catto y Amato (1993) y Brooks (2004), las especies que componen el género son veinte, de las cuales *Acanthostomum proctophorum* y *A. minimum* parecen estar muy cercanas entre sí, diferenciándose en la extensión de los folículos vitelinos desde la vesícula seminal hasta el ovario. En tanto, para *A. gnerii*, el vitelario estaría limitado desde la zona posterior del útero hasta sobrepasar el ovario. En el presente estudio, al igual que en el último trabajo mencionado, se observaron los folículos vitelinos desde el margen posterior de la vesícula seminal hasta sobrepasar el ovario. Sin embargo, Blankespoor (1974) propone que estas diferencias en la extensión de estructuras genitales pueden deberse a variaciones fenotípicas inducidas por la especie hospedadora.

No fue menor el aporte de Martins et al. (2016) quienes a través de estudios histológicos en *A. gnerii* detectaron la presencia de un solo ciego el cual se bifurca y forma dos brazos con orientación anterior para unirse luego y formar una única rama que termina en un poro lateral. Los autores sugirieron estudios moleculares para determinar si existe una correspondencia entre los caracteres de importancia taxonómica con la diversidad de las especies citadas en la literatura.

Respecto al ciclo de vida, en Argentina, Ostrowski de Nuñez y Gil de Pertierra (1991) estudiaron el ciclo de *A. gnerii* reportando metacercarias con un solo ciego intestinal bien desarrollado, que se abre en un poro anal en la parte final del cuerpo. No obstante, aclaran que pasados los 45 días de la infección, el ciego atrofiado no puede ser observado, hecho que se corresponde al estadio adulto con un ciego completamente atrofiado.

En el presente estudio, las observaciones de Martins et al. (2016), respecto al número de espinas circumorales, la disposición de los testículos y la disposición del vitelario, concuerdan

con *Acanthostomum minimum* Stunkard, 1938. Además, los estudios moleculares llevados a cabo en nuestro trabajo muestran que las metacercarias en *Australoheros facetus* y en adultos de *Rhamdia quelen*, comparten valores de significativa identidad, superiores al 98%, con *A. minimum* (Perez Ponce de León y Hernandez-Mena, 2019). Es así que de los resultados de este estudio se desprende que *A. minimum* habría sido nominada a lo largo de la historia en toda Latinoamérica como *Acanthostomum gnerii*. Por tal razón, se propone considerar como especie válida a *A. minimum* y reservar el nombre de *A. gnerii* como sinónimo junior.

Respecto de la comparación de los valores merísticos, los ejemplares objeto del presente trabajo muestran el cuerpo, en largo y en ancho, de menor tamaño, al igual que el ancho de los testículos y de las ventosas orales y ventrales en relación con los trabajos revisados (Tabla 1). El número de espinas peribucales es menor o igual respecto a los publicados por otros autores. El resto de los caracteres medidos son similares. Las diferencias mencionadas entre autores podrían deberse a las técnicas utilizadas en el momento de relajación y fijación de cada preparado.

De ser aceptada la sinonimia aquí propuesta entre *A. minimum* y *A. gnerii*, podemos afirmar que este digeneo presenta una gran distribución geográfica, capacidad de adaptación y ubicuidad. El estudio llevado a cabo permitió completar en la naturaleza parcialmente el ciclo de vida del parásito, confirmando a la chanchita como segundo hospedador intermediario y al bagre como hospedador definitivo. Se proponen futuros estudios en el caracol *Heleobia parchappii*, presente en el área de estudio, para corroborar su posible rol de primer hospedador intermediario, hecho que, de confirmarse, permitiría cerrar el ciclo de *Acanthostomum minimum* en la naturaleza.

Respecto del éxito adaptativo del parásito, las metacercarias obtenidas del cartílago de las branquias y de las aletas de *A. facetus*, permiten visualizar la falta de reacción celular por parte del hospedador intermediario, en el cual las mismas buscan enquistarse en la matriz del tejido cartilaginoso de sostén tanto de radios de las aletas como de los filamentos branquiales. De tal modo, esta localización constituye una ventaja adaptativa permitiendo la supervivencia de los estadios infectivos para los hospedadores definitivos. Se sugieren futuros estudios sobre la respuesta inflamatoria y los mecanismos de acción de la infección del estadio larval de metacercaria sobre el hospedador.

## CONCLUSIONES

- Se valida por confirmación molecular la especie *Acanthostomum minimum* tanto en *R. quelen* como *A. facetus* considerando a la especie *Acanthostomum gnerii* como junior sinónimo de la primera.
- Se completa parcialmente el ciclo de vida del parásito, reportando a las chanchitas y a los bagres como hospedadores de la especie y se proponen futuros estudios que cierren el ciclo parasitario en la naturaleza para el área de estudio en cuestión.
- Este trabajo pone en relieve la escasa respuesta inmunitaria celular en torno a la metacercaria, hecho que refuerza el éxito parasitario para la laguna Sauce Grande y su zona de afluentes.

## BIBLIOGRAFÍA

- Baldisserotto, B., Radünz Neto, J. y Barcellos, L. (2010). *Jundia (Rhamdia sp.)*. En: Baldisserotto, B. y Gomes, L. (Orgs.) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 2. Ed. Santa María. Ed. Da UFSM, 301-33.
- Blankespoor, H. D. (1974). Host-induced variation in *Plagiorchis noblei* Park, 1936 (Plagiorchiidae: Trematoda). *American Midland Naturalist*, 415-433.
- Bogan, S. y Bauni, V. (2018). *Peces de los ríos y arroyos que desaguan en las costas bonaerenses*. La costa atlántica de Buenos Aires – Naturaleza y patrimonio cultural, 252-269.
- Brandão, D. A. (1977). Trematódeos digenéticos de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) (jundiá) no estuário do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. Porto Alegre – RS, (pp.32). Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Pósgraduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Brendel, A. S. (2020). Estudio integral de los recursos hídricos y las coberturas del suelo de la cuenca media y baja del Río Sauce Grande (Argentina).
- Brizzola, S. y Tanzola, D. (1995). *Hysterothylacium rhamdiae* sp.n., (Ascaridoidea: Anisakidae) from a Neotropical Catfish, *Rhamdia sapo* (Pisces: Pimelodidae) *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (ISSN: 1678-8060) Vol 90(3) 349-351.
- Brooks, D. (1980). Revision of the *Acanthostominae* Poche, 1926 (Digenea: Cryptogonimidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, vol. 70, 313-382.
- Brooks, D. y Holcman, B. (1993). Revised Classification and Phylogenetic hypothesis for the *Acanthostominae* Loos, 1899 (Digenea: Opisthorchiformes: Cryptogonimidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, vol. 106, 207-220.
- Brooks, D. (2004). Comments on the gonotyl of *Proctocaecum macroclemidis* (Tkach and Snyder, 2003) n. comb. (Digenea: Acanthostomidae: Acanthostominae), with a key to the genera of Acanthostominae and new phylogenetic tree for *Proctocaecum* Baugh, 1957. *Journal of Parasitology*, vol. 90, 594- 597.

- Caballero, C. y Brenes-Madrigal, R. (1958). Helmintos de la República de Costa Rica VII. Tremátodos de algunos vertebrados salvajes, con descripción de una nueva especie de *Acanthostomum* Looss, 1899. *Anais do Instituto de Biologia, Universidade Nacional Autónoma de México*, vol. 29, 165-179.
- Campo de Ferreras, A., Capelli de Steffens, A. y Diez, P. (2004). El clima del Sudoeste Bonaerense. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, ( pp.105)
- Catto, J. y Amato, J. (1993). Digenetic trematodes (Cryptogonimidae: Acanthostominae) parasites of the Caiman, *Caiman crocodilus yacare* (Reptilia, Crocodylia) from the Pantanal Mato-Grossense, Brazil, with the description of a new species. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 88, 435-440.
- Carter, S y Etges, F. (1972). A redescription of *Acanthostomum marajoarum* (Teixeira de Freitas and Lent, 1938) with notes on the subfamily Acanthostominae (Nicoll, 1914) Hughes Higginbotham and Clary, 1942 (Trematoda, Acanthostomidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, vol. 39, 234- 239.
- Cony, N., Ferrer, N.C y Cáceres, E. (2014). Evolución del estado trófico y estructura del fitoplancton de un lago somero de la región pampeana: laguna Sauce Grande (Pcia. de Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática*, vol. 30, 79-91.
- Fornerón, C.F., Piccolo, M.C., Cony, N.L. y Ferrer, N.C. (2010). Hidrografía de la Laguna Sauce Grande durante el otoño de 2010 (Provincia de Buenos Aires). *Contribuciones 61 Científicas Sociedad Argentina de Estudios Geográficos-GAEA*, 462(22), 197-206.
- Froese, R. y D. Pauly (eds) (2023). FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). (último acceso 24/8/2023)
- Gil de Perterra, A. A y Ostrowski de Nuñez, M. (1995). Ocurrencia estacional de *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Acanthostomidae, Acanthostominae) y de dos especies de Derogenidae, Halipegidae, parásitos del bagre sapo *Rhamdia sapo* Valenciennes, 1840 (Pisces, Pimelodidae) en Argentina. *Revista Brasileira de Biología*, vol. 55, 305-314.
- Gómez, S. E. (1996). Resistenza alla temperatura e salinit in pesci della provincia di Buenos Aires (Argentina), con implicazioni zoogeografiche. En: Atti Congressuali, IV Convegno Nazionale Associazione Italiana Ittiologi Acque Dolci Trento, Italia, 171–192.

- Grosman, F., Sanzano, P., Agüería, D. y González, G. (2001). Gestión del pejerrey *Odontesthes bonariensis* en una pesquería periurbana de argentina. *Revista AquaTIC*, nº 1, 4.
- Guagliardo, S. y Tanzola, D. (2016). Lernaesis en *Cnesterodon decemmaculatus* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) y observaciones sobre el efecto letal en especies de hospedadores de pequeño tamaño. *Helmintología Neotropical* , 10 (2), 275-280.
- Ibraheem, MH. (2006). On the morphology of *Acanthostomum spiniceps* (Looss, 1896) and *A. absconditum* (Looss, 1901) (Digenea: Cryptogonimidae: Acanthostominae) with particular reference to the juvenile stage. *Acta Zoologica*, vol. 87, 159-169.
- Khalil, LF. (1963). On *Acanthostomum gymnarchi* (Dollfus, 1950) with notes on the genera *Acanthostomum* Looss, 1899, *Atrophocaecum* Bhalerao, 1940, *Gymnototrema* Morosov, 1955 and *Haplocaecum* Simha, 1958. *Journal of Helminthology*, vol. 37, 207–214.
- Kohn, A y Fróes, O. M. (1986). *Saccocoelioides godoyi* n. sp. (Haplosporidae) and other trematodes parasites of fishes from the guaíba estuary, RS, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 81, 67- 72.
- Lunaschi, L. (1986). Helminths parasites of fishes da Agua Dulce de la Argentina. V. Redescription de *Acanthostomum* (*Atrophocaecum*) *gnerii* (sic) Szidat 1954 (Trematoda: Acanthostomidae). *Neotropica*, vol. 32, 35-42.
- Martins M., Tancredo, K., Marchiori N., Pereira Jr. J., de Castro L., Garcia P. y Esquivel J. (2016). *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Digenea: Cryptogonimidae) from silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) *Neotropical Helminthology*. Vol. 10 (2). ISSN Versión Electrónica 1995-1043.
- Merlo M., Parietti M., Fernández M., Flores V. y Davies D. (2022). Checklist of larval Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) in molluscs from inland waters of Argentina: one hundred years of research. *Journal of Helminthology*. doi: 10.1017/S0022149X2100081X. PMID: 35535545.
- Miller, TL y Cribb, TH. (2008). Family Cryptogonimidae Ward, 1917. In: Keys to the Trematoda, vol. 3, eds Bray, R.A.; Gibson, D.I.; Jones, A. The Natural History Museum, London, UK. 848p.

- Ostrowski de Núñez M. (1987). The life history of *Acanthostomum brauni* Mañe Garzon & Gil, 1961 (Trematoda, Acanthostomatidae). *Zoologischer Anzeiger* 218(5–6), 273–286.
- Ostrowski de Núñez M. y Gil de Pertierra A. (1991). The life history of *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Trematoda: Acanthostomatidae), Published online by Cambridge University Press from the catfish *Rhamdia sapo* in Argentina. *Zoologischer Anzeiger* 227(1– 2), 58–71.
- Remes Lenicov, M. y Colautti, D. (2003). “Laguna Sauce Grande, Partido de Monte Hermoso”. Informe técnico N° 55. Campaña de relevamiento limnológicos e ictiológicos. Buenos Aires, 20 pp .
- Tanzola R., Guagliardo S., Romero A., Schwerdt C., Schwerdt M. y Galeano N. (2009). “Diversidad parasitaria en peces de agua dulce del sudoeste de la provincia de Buenos Aires” (en Ambientes y recursos naturales del sudoeste bonaerense: Producción, contaminación y conservación. (*Actas de las V Jornadas Interdisciplinarias del Sudoeste Bonaerense*).
- Tanzola, D., Guagliardo, S. y Schwerdt, C. (2019). Malformaciones esqueléticas en mojarra del Río Sauce Chico. *Actas de las I Jornadas del Agua del Sudoeste Bonaerense*. 28 Noviembre. Bahía Blanca.
- Tanzola R., Guagliardo S., Poggi, C., Angeletti, B. y Schwerdt, C. (2020). On the life cycle of *Cucullanus pinnai pinnai* (Travassos, Artigas & Pereira, 1928) (Nematoda: Cucullanidae) parasite of *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes) from its southern localities. *Neotropical Helminthology* 14 (2), 217-225.
- Tkach, V. V., Littlewood, D. T. J., Olson, P. D., Kinsella, J. M. and Swiderski, Z. (2003). Molecular phylogenetics analysis of the Microphalloidea Ward, 1901 (Trematoda: Digenea). *Systematic Parasitology*, 56, 1-15.
- Simha, SS. (1958). Studies on the trematode of reptiles found in Hyderabad state. *Parasitenkunde*, 18: 1610218.
- Silfvergrip, A. (1996). A systematic revision of the Neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae). Department of Zoology, University of Stockholm and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History ISBN: 91-7153-443, 157 pp.
- Stunkard, HW. (1938). Parasitic flatworms from Yucatan. *Publications of Carnegie Institute of Washington*, vol. 491, 33–50.

Szidat, L. (1954). Trematodes nuevos de peces de agua dulce de la Republica Argentina y un intento para aclarar su origen marino. *Revista del Instituto Nacional de Investigacion de las Ciencias Naturales, Bernardino Rivadavia*, vol. 1,( pp. 1-85).

Watson, DE. (1976). Digenea of fishes from lake Nicaragua. Papers in the Biological Sciences. Investigations of the Ichtyofauna of Nicaraguan lakes. University of Nebraska, Lincoln.

Yamaguti, S. (1971). Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Keigaku, Tokyo, vol. I, 1074 pp.; vol. II, 349 pp.