



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

**Problemática del grupo *Scolex* Müller, 1788
(Eucestoda) parásitos de teleósteos y
crustáceos en el estuario de Bahía Blanca.
Enfoque sistemático y biológico**

CARLA BELÉN SCHWERDT

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2015

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia durante el período comprendido entre el 21 de Agosto de 2007 y el 30 de Junio de 2015, bajo la dirección del Dr. Rubén Daniel Tanzola.

[Firma del Alumno]



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo
la calificación de(.....)

*Dedicada a
Catalina y Alejandro*

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de Tesis, Dr. Rubén Daniel Tanzola, por sus enseñanzas y consejos, por su generosidad, paciencia, estímulo y podría decir muchas cosas más..., gracias por tener fé en mí y darme libertad sin perder nunca la confianza.

A Silvia, porque es una gran amiga y una de las mejores personas que conozco, dispuesta siempre a ayudar, sin importar nada, sin pensar, de corazón.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgarme la beca doctoral, para financiar la realización de este trabajo.

Al Depto de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, por brindarme sus instalaciones y el equipamiento necesario.

Al Sr. Edgardo Streitenberger, bioquímico responsable del Depto de Biología Molecular de IACA Laboratorios; por enseñarme las técnicas de amplificación, purificación y secuenciación de ADN y por estar siempre dispuesto a evacuar mis inquietudes.

A la Mg. Raquel Castaño Zubieta y la Dra. Lorena Milanesi por capacitarme en lo referido a las técnicas moleculares.

Al Dr. Leonhard Schnittger por sus consejos sobre el análisis filogenético.

Al Lic. Román Uibrig por ayudarme en conseguir las muestras de peces y por estar siempre dispuesto a colaborar con la mejor predisposición.

A Noelia y a mis compañeros de laboratorio, por tantos momentos y anécdotas compartidas durante estos años.

Gracias a mi familia por estar siempre presente, por ser un gran soporte en mi vida.

Y muy especialmente quiero agradecer a Alejandro, porque sin él no podría haber realizado este trabajo y a Catalina, gracias por la paciencia, la voluntad y el ánimo.

RESUMEN

En el presente trabajo se registraron y describieron ocho morfotipos larvales de cestodes pertenecientes al grupo *Scolex*, parasitando a *Cynoscion guatucupa*, *Porichthys porosissimus* y *Artemesia longinaris* en el estuario de Bahía Blanca.

Tanto en *C. guatucupa* como en *P. porosissimus* se hallaron tres morfotipos larvales en cada uno de ellos, los cuales fueron asignados a los géneros: *Anthobothrium*, *Crossobothrium* y *Acanthobothrium*.

Artemesia longinaris presentó dos morfotipos larvales, de los cuales uno pudo esclarecerse su identidad genérica, *Orygmatobothrium* y el restante pudo determinarse su estatus ordinal, Rhinebothriidea. Se postuló que este último morfotipo podría representar un nuevo género.

Se determinó que los morfotipos larvales hallados pertenecen a diferentes órdenes de cestodes parásitos de elasmobranquios: Tetraphyllidea, Onchoproteocephalidea, Phyllobothriidea y Rhinebothriidea.

Los morfotipos larvales se identificaron mediante la conjunción de técnicas morfológicas y estudios moleculares para lograr mayor precisión y evitar subestimar especies crípticas, no evidenciables mediante las técnicas morfológicas y morfométricas tradicionales.

Se hallaron diferencias en el tipo y el patrón de distribución de los microtricos entre los diferentes morfotipos larvales y se evaluó la existencia de variaciones dentro de cada morfotipo.

El conocimiento de las identidades genéricas de los morfotipos larvales y de las respectivas interrelaciones con los hospedadores, permitieron reconstituir las tramas tróficas para poder analizar los ciclos de vida. Se reconstruyeron parcialmente los ciclos de

vida hipotéticos de *Anthobothrium*, *Crossobothrium*, *Acanthobothrium* y *Orygmatobothrium* en el mar Argentino. Además, se predijo cómo podría ser el ciclo de vida del miembro del orden Rhinebothriidea. Se determinó que los tres hospedadores estudiados, *C. guatucupa*, *A. longinaris* y *P. porosissimus* actúan como hospedadores intermediarios/paraténicos en las vías de transmisión de los metacestodes hallados en el estuario de Bahía Blanca.

Se determinó que *C. guatucupa* y *P. porosissimus* albergan los mismos géneros larvales de cestodes, lo cual indica una superposición en el nicho trófico y una baja especificidad de los géneros larvales por el hospedador intermediario.

Se pudo demostrar que las larvas del grupo *Scolex* producen cambios degenerativos en la mucosa digestiva de los peces que parasitan, produciendo atrofia compresiva y destrucción del epitelio en el sitio de fijación. El efecto de las lesiones ocasionadas por las larvas sobre el factor de condición del hospedador se encontró directamente influenciado por la intensidad de la infección. Las características de la infección, junto con los detalles que se describieron de la interfaz parásito-hospedador, demostraron una relación coevolutiva bien establecida entre ambos.

ABSTRACT

In this work eight morphotypes of cestodes larvae morphotypes belonging to the *Scolex* group, parasitizing *Cynoscion guatucupa*, *Porichthys porosissimus* and *Artemesia longinaris* in the estuary of Bahia Blanca, were recorded and described using morphological and molecular tools.

Three larval morphotypes, which were assigned to the genera *Anthobothrium*, *Crossobothrium* and *Acanthobothrium*, were found in both *C. guatucupa* and *P. porosissimus*.

Artemesia longinaris presented two larval morphotypes, one of which was clarified in its generic identity and belongs to the genus *Orygmatobothrium*, and the remaining ones could be determined in its ordinal status, Rhinebothriidea. This morphotype was postulated as representative of a novel new genus.

It was determined that the larval morphotypes belong to different orders of cestodes parasites of elasmobranchs: Tetraphyllidea, Onchoproteocephalidea, Phyllobothriidea and Rhinebothriidea. Larval morphotypes were identified by a combination of morphological and molecular techniques with greater precision and avoid underestimating cryptic species.

Differences in type and pattern of distribution between the different larval microtriches were found and also variations of these features within each larval morphotype were revealed.

Knowledge of generic identities of larval morphotypes and their respective relationships with the hosts, allowed rebuild food webs for the life cycles analysis. Hypothetical life cycles of members of *Anthobothrium*, *Crossobothrium*, *Acanthobothrium*, *Orygmatobothrium* and the representative of Rhinebothriidea from the

Argentine Sea, were partially proposed. It was determined that the three hosts studied, *C. guatucupa*, *P. porosissimus* and *A. longinaris* play the role of intermediate/paratenic hosts in the transmission pathway of metacestodes from Bahia Blanca estuary.

It was determined that *C. guatucupa* and *P. porosissimus* harbor the same larval cestodes genera, indicating an overlap in the trophic niche and low specificity of larval genera by the intermediate host.

Degenerative change, compressive atrophy and destruction of the gastrointestinal epithelium produced by the larvae, were shown. The effect of these lesions on the condition factor of the hosts was directly influenced by the intensity of the infection. The characteristics of the infection, along with features in the parasite-host interface, reveal a well-established co-evolutionary relationship.

ÍNDICE

Introducción general	1
Hipótesis de trabajo	9
Objetivos	10
Los hospedadores examinados	11
<i>Artemesia longinaris</i> Bate, 1888	11
<i>Cynoscion guatucupa</i> (Cuvier, 1830)	13
<i>Porichthys porosissimus</i> (Valenciennes, 1837) Girard, 1855	15
Área de estudio: El estuario de Bahía Blanca.....	17
Capítulo I: Aspectos de la morfología comparada y sistemática larval	
a. Introducción	23
Objetivos del capítulo	27
b. Materiales y Métodos	28
Colección y disección de los hospedadores	28
Tratamiento de las muestras	28
Caracterización morfológica de los tipos larvales	30
c. Resultados	32
- Estadios larvales presentes en <i>Cynoscion guatucupa</i>	
Morfotipo larval I	32
Descripción	32
Comentarios	33

Morfotipo Larval II	35
Descripción	35
Comentarios	35
Morfotipo larval IV	38
Descripción	38
Comentarios	38
- Estadios larvales presentes en <i>Artemesia longinaris</i>	
Morfotipo larval V	40
Descripción	40
Comentarios	40
Morfotipo larval IX	42
Descripción	42
Comentarios	42
- Estadios larvales presentes en <i>Porichthys porosissimus</i>	
Morfotipo larval VI	45
Descripción	45
Comentarios	45
Morfotipo larval VII	48
Descripción	48
Comentarios	48
Morfotipo larval VIII	49
Descripción	49

Comentarios	49
d. Discusión	53
Capítulo II: Caracterización molecular de los estadios larvales y reconstrucción parcial de los ciclos de vida	
a. Introducción	61
Objetivos del capítulo	65
b. Materiales y Métodos	66
Especímenes analizados y tratamiento de las muestras	68
Extracción de ADN	68
Amplificación de ADN	72
Secuenciación de ADN	73
Análisis filogenético	75
c. Resultados	78
d. Discusión	99
Reconstrucción filogenética	99
Reconstrucción de tramas tróficas y ciclos de vida	106
Otras consideraciones	119
e. Anexo	123
Capítulo III: Aspectos histopatológicos de los estadios larvales en sus hospedadores.	
a. Introducción	139
Objetivos del capítulo	140

b. Materiales y Métodos	141
c. Resultados	143
d. Discusión	151
Conclusiones generales y perspectivas	158
Referencias bibliográficas	163

INTRODUCCIÓN GENERAL

La forma de vida parasitaria es una de las más comunes, si no la más común sobre la Tierra. De acuerdo con algunas estimaciones los parásitos representan más de la mitad de todas las especies de animales, sin embargo la mayoría son aún desconocidas (Rohde, 2002; 2005). A pesar de ser a menudo imperceptibles a simple vista, ellos influyen en la supervivencia y reproducción de cada hospedador individual, en la dinámica de sus poblaciones y la estructura de comunidades enteras, jugando un rol multidimensional en la regulación y dinámica de los ecosistemas (MacLeod & Poulin, 2012). Aunque tradicionalmente han sido excluidos de los estudios sobre redes alimentarias, los parásitos son parte integral de las mismas donde modifican aspectos tales como su estructura topológica, estabilidad, resistencia y otras propiedades dinámicas. A su vez la estructura de la red alimentaria afecta a la transmisión del parásito al favorecer a determinadas vías de transmisión tróficas sobre otras (Poulin, 2007). Debido a esto, los sistemas parásito-hospedador se consideran sumamente complejos y afectados por diversas variables que incluyen componentes biológicos, ecológicos, evolutivos, como así también ambientales.

Los ciclos de vida de los metazoos parásitos son muy diversos ya que involucran estadios larvales ontogenéticamente distintos que suelen requerir más de un hospedador, hecho que vuelve más compleja todavía su interacción con los demás componentes del ecosistema. Este es el caso particular de los **cestodes**, también llamados “tenias”, uno de los grupos más importantes y exitosos dentro de los helmintos parásitos no sólo por haberse irradiado con sus hospedadores en todos sus hábitats (Khalil et al., 1994), sino también debido a que incluyen agentes causantes de enfermedad en los seres humanos, el ganado y la fauna silvestre. El estudio de las tenias proporciona una visión particular sobre la evolución del parasitismo, la coevolución y las interacciones parásito-hospedador. Por lo

tanto, una filogenia resuelta para el grupo es un objetivo importante para lograr comprender su propia evolución, como también el rol que cumplen en la ecología y evolución de sus hospedadores (Waeschenbach et al., 2012).

Los cestodes conforman un ensamble monofilético de platelmintos, que en su estado adulto, habitan casi exclusivamente el tubo digestivo de toda clase de vertebrados (Olson & Tkach, 2005; Caira, 2010). Representan un ejemplo extremo en la evolución de los platelmintos por sufrir la pérdida completa del sistema digestivo y por modificar fuertemente su plan corporal al incorporar la segmentación (Olson et al., 2012). Este rasgo derivado se desarrolló como una adaptación para la reproducción, en contraste a la locomoción, y ha sido considerado una novedad evolutiva (Littlewood et al., 2001), lo que sugiere que carece de homología con mecanismos conocidos en otros organismos, por ejemplo, en gusanos anélidos (Seaver, 2003; Blair, 2008).

Los estudios filogenéticos indican que el parasitismo obligado en los peces surgió por primera vez a través de la asociación (por ejemplo, la depredación, simbiosis) de los gusanos planos de vida libre o simbióticos y sus hospedadores (Littlewood & Olson, 2001; Littlewood, 2006), más probablemente en una etapa temprana en la evolución de éstos últimos (Olson et al., 2010). Existe una fuerte evidencia de que los principales linajes de parásitos forman un grupo monofilético, lo que demuestra que este tipo de parasitismo surgió sólo una vez durante el curso de la evolución de los platelmintos (Littlewood, 2006). Teniendo en cuenta la variabilidad que presentan los cestodes en la arquitectura básica de su cuerpo, como también en las asociaciones con sus respectivos hospedadores, se estima que la diversidad actual está conformada por 6.000 especies aproximadamente (Olson et al., 2012). Sin embargo, el nuevo material colectado en los últimos tiempos, sumado a investigaciones sobre taxones que se encuentran disponibles para su estudio, pero aún no

han sido tratados con profundidad; indican cifras que suman entre 1600 y 1700 especies adicionales, hecho que demuestra que la diversidad conocida sólo refleja una pequeña fracción de la verdadera riqueza específica del grupo (Caira & Littlewood, 2013).

Dentro de los órdenes que integran la Subclase Eucestoda (las llamadas verdaderas tenias), los representantes del orden **Tetraphyllidea** presentan una diversidad de más de 650 especies descritas y 65 géneros considerados válidos (Caira et al., 2012), si bien su clasificación a nivel de familia es en extremo, incierta. (Caira, 2010). Este grupo en particular, parasita al estado adulto la válvula espiral de elasmobranquios (tiburones y rayas), con algunas excepciones como *Chimaerocestos* Williams & Bray, 1984; que parasita un grupo hermano de los elasmobranquios, los holocéfalos. Los tetrafilídeos son los más diversos dentro de los órdenes de cestodes que parasitan elasmobranquios (Caira et al., 2012). En esencia, todas las especies de hospedadores que han sido estudiadas hasta la fecha, han albergado al menos una especie de tetrafilídeo (Caira, 2010). Esto demuestra su grado de diversificación y distribución cosmopolita, sobre todo si se tiene en cuenta que los elasmobranquios se encuentran en todos los océanos del mundo, ocupando hábitats que abarcan el 85% de la escala latitudinal, se encuentran en todas las profundidades, y a excepción de las rayas de agua dulce (Myliobatiformes: Potamotrygonidae), cubren todos los hábitats marinos (Randhawa & Poulin, 2010).

Los ciclos de vida de los cestodes marinos incluyen a los vertebrados como hospedadores definitivos, pero además utilizan como mínimo un hospedador intermediario para albergar sus estadios de desarrollo (Jensen, 2009). Algunos tetrafilídeos parecen involucrar dos hospedadores intermediarios, sin embargo la gran mayoría, incorporaría tres y hasta cuatro, con la subsecuente aparición del fenómeno de paraténisis (Euzet, 1959).

Aunque el estado monofilético está claro para la Clase Cestoda, los datos existentes indican que la monofilia de los órdenes que la componen necesita una revisión y reevaluación importante. En el caso particular del orden Tetraphyllidea, la condición monofilética ya ha sido rechazada (Caira & Reyda, 2005) y, a través de la concordancia entre estudios basados en comparaciones morfológicas y estudios moleculares (ADN nuclear y mitocondrial), se acepta actualmente su estado parafilético (Waeschenbach et al., 2012). Desde hace unos años, un grupo de expertos taxónomos de cestodes, representantes de varios países alrededor del mundo, se propone tratar a los cestodes a un nivel de escala global recolectando material nuevo, tanto de ambientes acuáticos como terrestres, proveniente de más de 20 países, a través de sendos acuerdos de colaboración. En este marco, se investigan las relaciones filogenéticas de los cestodes a través de las secuencias de datos generadas aproximadamente de 1000 ejemplares de especies escogidos dentro del espectro de géneros, familias y órdenes de cestodes; centrándose en los genes y/o fragmentos: nuclear D1-D3 del 28S rRNA (~1400 bp); y en los mitocondriales, *cox1*; (~1500 bp) y *rrnL* (~700-1000 bp). Estos datos son sometidos a una diversidad de métodos analíticos como Inferencia Bayesiana, Máxima Verosimilitud y el Método de la Parsimonia, en procura de la mejor reorganización de los órdenes y familias, basada en la estabilidad de los resultados filogenéticos que se obtienen (<https://sites.google.com/site/tapewormpbi/home>). Este mismo grupo de expertos, liderado por la doctora Yanine Caira (University of Connecticut, EE.UU.), creó el proyecto de la *Global Cestode Database* (<http://tapewormdb.uconn.edu>) cuyo objetivo primario es proveer el acceso a la información taxonómica, imágenes de especímenes tipo y descripciones originales de todos los géneros y especies de cestodes organizada dentro de un único recurso web, fácil y ampliamente distribuible por internet a través de todo el mundo. Hasta el año 2010, se encontraban incluidos y verificados aproximadamente el

60% de los taxones existentes de cestodes con el fin último de proveer una lista verificada de los taxones válidos (Caira, 2010). Además, la mencionada base de datos se encuentra asociada con la base de datos de hospedadores elasmobranquios (http://tapewormdb.uconn.edu/index.php/hosts/specimen_search/elasmobranquios) que provee detalles de las especies, su localización geográfica, como también, en algunos casos, ofrece imágenes de los hospedadores en los cuales se han descrito especies de cestodes en las últimas dos décadas y media (Naylor et al., 2012). Este sinergismo facilitado por una serie de avances tecnológicos ha dado como resultado, sin lugar a dudas, la posibilidad de lograr rápidos avances en la taxonomía y sistemática de cestodes parásitos de elasmobranquios (Caira, 2011). Ello, sumado a la conjunción de los datos morfológicos y moleculares para lograr una taxonomía integrada, conforman la tendencia actual para lograr caracterizar y describir la biodiversidad global.

Caira et al. (2014), en búsqueda de brindar claridad sobre la problemática parafilía del orden Tetrphyllidea en relación a otros órdenes de eucestodes acetabulados (provistos de algún tipo de ventosa en su órgano de fijación), aplican el análisis de Inferencia Bayesiana sobre las secuencias obtenidas de *ssrDNA* y *lsrDNA* de 134 especies, representantes de 97 géneros y 15 órdenes de eucestodes. Los autores confirman la monofilia de los órdenes Cathetocephalidea, Litobothriidea, Lecanicephalidea y Rhinebothriidea y encuentran dos grupos relativamente estables dentro de los Tetrphyllidea que son designados como nuevos órdenes: Onchoproteocephalidea *n. ord.* y Phyllobothriidea *n. ord.*, cuya discusión se amplía en el Capítulo 2 del presente trabajo de tesis. Con estos resultados se resuelve la situación de varios géneros emblemáticos, entre ellos *Orygmatobothrium* Diesing, 1863; *Paraorygmatobothrium* Ruhnke, 1994 y *Acanthobothrium* Van Beneden, 1850; en tanto se resuelve que otros géneros como *Anthobothrium* Van Beneden, 1850, *Caulobothrium* Baer, 1948 y *Calliobothrium* Van

Beneden, 1850 permanezcan dentro del orden Tetrphyllidea debido a las incongruencias obtenidas de los análisis hasta el momento.

Las hipótesis filogenéticas sobre el sistema parásito-hospedador proporcionan determinados planteos, tanto históricos como ecológicos, sobre la evolución de las asociaciones entre ellos. Así mismo, los datos ecológicos sobre la mencionada relación pueden proporcionar ideas sobre las relaciones filogenéticas (Randhawa, 2011). La falta de certezas en cada extremo dificulta el conocimiento de la ecología evolutiva de los parásitos, como es el caso particular de los **estadios larvales del grupo *Scolex***. Conocidos en todo el mundo, han sido denominados indistintamente como *Scolex pleuronectis* Müller, 1788; *Scolex polymorphus* Rudolphi, 1819; *Scolex de Bavay* Dollfus, 1936; pleroceroide o meroceroide (Chervy, 2002; Aznar et al., 2007), cercoide o metacestode (Rocka, 2003) y cercoide (Rocka, 2006). Todos ellos constituyen nombres de grupos colectivos que incluyen estadios larvales con características comunes e incluidos en distintos órdenes dentro de los cestodes; como Tetrphyllidea, Onchoproteocephalidea, Phyllobothriidea y Rhinebothriidea. El Código Internacional de Nomenclatura Zoológica los define como “*un ensamble de especies o estadios de organismos (por ej. huevos o larvas) que no pueden ser atribuidos con precisión a ningún género nominal*” (ICZN, 1999). Avdeeva & Avdeev (1989) propusieron la reconstrucción sistemática de las larvas plerocercoides del orden Tetrphyllidea basados exclusivamente en rasgos morfológicos y, por comparación con escólices adultos de géneros conocidos, procedieron a nominar varias especies larvales. Esta propuesta sistemática, carente de argumentos sólidos y en especial con atributos artificiales, no tuvo aceptación por parte de la comunidad internacional.

Los estadios larvales del grupo *Scolex* se han registrado en numerosos grupos de hospedadores tales como artrópodos, ctenóforos, equinodermos, nemertinos (Caira &

Reyda, 2005), moluscos (Williams & Jones, 1994; Pascual et al., 1995; Brickle et al., 2001; Caira & Reyda, 2005), quetognatos (Williams & Jones, 1994), peces teleósteos (Wojciechowska, 1990, 1993a, b; Williams & Jones, 1994; Caira & Reyda, 2005) y mamíferos marinos (Agusti et al., 2005a; Aznar et al., 2007). Sin embargo, hasta la fecha son muy pocos los aportes precisos que se han realizado en pos de dilucidar sus ciclos de vida (Caira & Reyda, 2005; Randhawa, 2011; Randhawa & Brickle, 2011).

En lo que no existen dudas es en el modo en que ingresan al hospedador definitivo, a través de la ingestión de presas infectadas que sirven de hospedadores intermediarios o paraténicos (Williams & Jones, 1994). La dificultad para establecer con certeza la identidad específica de las etapas larvarias en estos hospedadores, debido a la ausencia de los caracteres descriptivos, ha hecho que sea difícil vincular éstos a sus formas adultas. Sin embargo, el uso de herramientas moleculares en los últimos años contribuyó significativamente a que la identificación de las larvas sea posible utilizando un enfoque filogenético (Mariaux & Olson, 2001; Jensen & Bullard, 2010). De esta manera se facilitó la elucidación de las posibles instancias de los ciclos de vida y una mayor comprensión de las redes tróficas marinas.

En el Mar Argentino se hallaron estadios larvales en varios organismos y en particular, en la gran mayoría de los peces teleósteos que han sido estudiados por sus comunidades parasitarias (Szidat, 1955, 1960, 1969; Reimer & Jessen, 1981; Angelescu, 1982; Gaevskaya et al., 1990; Mackenzie & Longshaw, 1995; Sardella & Timi, 1996; 2004; Tanzola et al., 1997; Cremonte & Sardella, 1997; Sardella et al., 1998; Tanzola & Guagliardo, 2000; González & Kroeck, 2000; Brickle et al., 2001, 2005, 2006; Timi, 2003b; Timi & Poulin, 2003; Timi et al., 2005b, 2008, 2009, 2010a; Daponte et al., 2008; Berón-Vera et al., 2008; Braicovich & Timi, 2008,2010; Timi & Lanfranchi, 2009;

Alarcos & Etchegoin, 2010; Vales et al., 2011; Braicovich et al. 2012; Carballo et al., 2011; Carballo et al., 2012; Alarcos & Timi, 2012, 2013; Pereira et al., 2014). Inclusive, en muestreos pilotos realizados al comienzo del desarrollo del presente trabajo de tesis, la autora halló estadios larvales del grupo *Scolex* en 13 especies de teleósteos, todas ellas habitantes del estuario de Bahía Blanca.

En el Atlántico Sudoccidental hasta el presente no se han desarrollado trabajos sobre el estudio de la ultraestructura, ni de la relación parásito-hospedador ni tampoco de la caracterización molecular de los estadios larvales presentes en crustáceos y peces teleósteos. Sólo existe un antecedente, la caracterización molecular de los cestodes larvales presentes en el calamar, *Loligo gahi* d'Orbigny (Mollusca: Cephalopoda) (actualmente *Doryteuthis gahi* (d'Orbigny)), realizado por Brickle et al. (2001) en Islas Malvinas, con el subsecuente trabajo de Randhawa & Brickle (2011) sobre los estadios adultos de tetrafilídeos hallados en el tiburón *Lamna nasus* (Bonnaterre) (Lamniformes: Lamnidae) y el análisis de la relación trófica entre ambos hospedadores.

Teniendo en cuenta la rica diversidad de estadios adultos de cestodes que ha sido descripta y estimada en elasmobranquios, lo poco conocido en relación a lo mucho que resta por conocer; sumado a la constante presencia y amplia distribución de los estadios larvales en hospedadores intermediarios o paraténicos (incluso ante la posibilidad de hallar especies crípticas que se evidencien sólo por cultivo *in vitro* o por biología molecular); las expectativas en torno al conocimiento y determinación específica de las larvas del grupo *Scolex* son muy alentadoras. Incluso, al conocer su identidad podrá evaluarse su especificidad hospedatoria, que hasta la fecha no se conoce, como también el rol como posibles bioindicadores de stocks poblacionales de sus hospedadores. Será muy importante

cuando podamos asignarles nombres a los estadios larvales y así comenzar a entender el comportamiento de las redes tróficas que dan forma a los ciclos de vida.

Por estas razones, se plantearon las siguientes hipótesis y objetivos para el presente trabajo de tesis:

HIPÓTESIS DE TRABAJO

- I) Cada morfotipo larval hallado en el estuario de Bahía Blanca se corresponde con una especie diferente dentro de los cestodes parásitos.
- II) Los estudios moleculares verifican las relaciones planteadas desde el análisis de la morfología, ratificando las identidades de los morfotipos larvales.
- III) El conocimiento de las identidades larvales y de las respectivas interrelaciones con los hospedadores permiten reconstruir las tramas tróficas que resultan clave al analizar los ciclos de vida de cestodes parásitos de elasmobranquios.
- IV) Las larvas de cestodes que habitan el tubo digestivo de hospedadores teleósteos utilizan para su fijación tanto los acetábulos como las ventosas apicales, ambos componentes del escólex.
- V) Los estadios larvales provocan alteración patológica detectable en la mucosa digestiva del hospedador.
- VI) El factor de condición de los peces se ve negativamente influenciado por la intensidad de la infección.
- VII) Existe un proceso de coevolución entre los estadios larvales y sus hospedadores, evidenciado a través de una estrecha relación parásito-hospedador.

OBJETIVOS

General: Dilucidar el estatus taxonómico de las larvas pertenecientes al grupo *Scolex* presentes en hospedadores intermediarios/paraténicos del estuario de Bahía Blanca, con el fin de esbozar los posibles ciclos de vida y caracterizar la relación parásito-hospedador.

Específicos:

- Analizar la variabilidad morfológica de los estadios larvales, empleando técnicas de microscopía óptica (morfometría) y electrónica de barrido (ultraestructura).
- Establecer la identidad genérica de los morfotipos larvales a partir de sus caracteres morfológicos mediante claves elaboradas para tal fin.
- Emplear técnicas moleculares como herramienta diagnóstica para asignar identidades a los estadios larvales.
- Identificar los estadios larvales con sus correspondientes adultos, con el fin de reconstruir las tramas tróficas que involucran a los hospedadores estudiados y esbozar los posibles ciclos de vida.
- Utilizar los resultados de los análisis moleculares para proveer de conjuntos de características morfológicas que faciliten la identificación taxonómica de las larvas.
- Analizar el rol que cumplen los hospedadores en la transmisión de los diferentes morfotipos de cestodes larvales en el estuario de Bahía Blanca.
- Caracterizar las larvas desde el punto de vista bioecológico (microhábitat de los estadios larvales, mecanismos de fijación al hospedador).
- Describir y evaluar el impacto anátomo-patológico de las lesiones provocadas en la mucosa digestiva de los peces.

- Evaluar el potencial efecto de la intensidad de la infección sobre la condición corporal de los hospedadores.

LOS HOSPEDADORES EXAMINADOS

Phylum Arthropoda

Subphylum Crustacea

Orden Decapoda Latreille, 1803

Familia Penaeidae Rafinesque, 1815

***Artemesia longinaris* Bate, 1888**

El camarón, *Artemesia longinaris* (Fig. 1), se distribuye dentro de una amplia región en aguas costeras del Atlántico sudoccidental, desde los 22°S en Cabo Sao Tome, Brasil, hasta los 43° S en Chubut, Argentina (Boschi et al., 1992).

La distribución en toda el área es muy irregular; la profundidad, la estructura y características del fondo, junto con otros factores abióticos como la temperatura y la salinidad son las variables que determinan la relación de los camarones peneidos con el sustrato y su asociación con la fauna que allí se encuentra (Boschi, 1963; Dall et al., 1990). Los fondos que habita, generalmente blandos, se componen principalmente de arena fina y una menor proporción de limo. Ha sido hallado hasta profundidades de 68 m y tiene preferencias por las aguas marinas y poca afinidad por las salobres, siendo más abundante en temperaturas que están entre 15 y 21°C. Se trata de una especie con alimentación omnivo-detritívora con tendencia a la carnívora, demostrando desempeñar los roles de consumidor primario y secundario (Boschi, 1969; Spanjersberg et al., 2006). Los grupos más importantes que componen la dieta natural del camarón son algas (principalmente

diatomeas, clorofíceas y rodofíceas), cnidarios, crustáceos, poliquetos, restos de plantas vasculares y foraminíferos (Spanjersberg et al., 2006). La presencia de meiofauna entre los componentes de la dieta natural del camarón confirma la sospecha de que determinadas especies del macrobentos se alimentan de meiofauna (foraminíferos, tintínidos, quinorrincos, etc.), ayudando a comprender el papel que esta comunidad desempeña en la red trófica (Roux, 1999). En el estuario de Bahía Blanca, al igual que en el puerto de Mar del Plata, constituye la base de los desembarques de crustáceos en la provincia de Buenos Aires junto con el langostino *Pleoticus muelleri* (Bate) (Crustacea: Decapoda) (Martorelli et al., 1999).

Desde el punto de vista del conocimiento de su fauna parasitaria se han realizado diversos estudios, como demuestran los trabajos realizados por Martorelli & Schuldt (1990), Martorelli (1992), Martorelli & García (1993), Sardella & Martorelli (1997), Martorelli & Sardella (1998) y Martorelli et al. (1999).

En el presente trabajo de tesis se realiza por primera vez la caracterización molecular y el estudio de la ultraestructura de los estadios larvales de cestodes presentes en *A. longinaris*. El motivo de elegir este hospedador, fundamentalmente es que representa uno de los ítems presa preferidos en la dieta de la mayoría de los peces teleósteos estudiados de la plataforma continental de la provincia de Buenos Aires (Timi et al., 2011; Cousseau & Perrotta, 2013), como también de invertebrados especialmente bentónicos demersales (Roux, 1999), por lo que desempeña un rol importante en la transmisión parasitaria a través de las redes tróficas de la región en estudio. Además, los antecedentes consultados así como la experiencia piloto de la autora, indican que el camarón en el estuario de Bahía Blanca es parasitado al menos por dos morfotipos larvales del grupo *Scolex*.

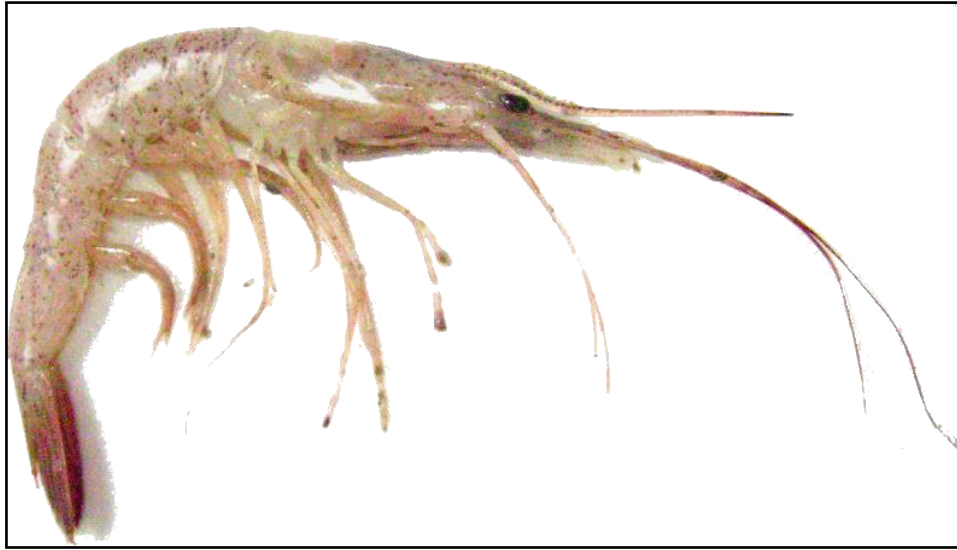


Figura 1. *Artemesia longinaris* Bate, 1888.

Phylum Chordata

Subphylum Vertebrata

Superclase Pisces

Clase Actinopterygii

Orden Perciformes Bleeker, 1859

Familia Sciaenidae (Owen, 1846)

Cynoscion guatucupa (Cuvier, 1830)

La pescadilla de red, *Cynoscion guatucupa* (Fig. 2), es un pez de hábitos pelágico-demersales. Su distribución geográfica se restringe a aguas del Atlántico sudoccidental, desde Río de Janeiro (Brasil) (22°S) hasta el norte de la Patagonia Argentina (43°S) (Cousseau & Perrotta, 1998). Ruarte et al. (2000) indican que la zona situada fuera de la ría, llamada El Rincón, es uno de los más importantes caladeros de *C. guatucupa* en el país. Al igual que otros esciénidos es un habitante típico de los estuarios y zonas costeras, donde se lo puede encontrar durante todo el año (Cordo, 1986). Los adultos viven en las

zonas cercanas a la costa y sólo visitan el estuario para desovar (López Cazorla, 1987; de Ciechomski & Cassia, 1982), en tanto los juveniles utilizan el estuario como un área para alimentarse y completar una importante etapa de su desarrollo (Sardiña & López Cazorla, 2005). *Cynoscion guatucupa* posee hábitos carnívoros, tanto en su etapa juvenil como adulta, ocupando el tercer o cuarto nivel en la cadena trófica (López Cazorla, 1996). Sus presas principales son peces y crustáceos (López Cazorla, 2000), aunque también se la ha considerado con un comportamiento oportunista, con la capacidad de cambiar de presa según la disponibilidad (López Cazorla, 1996). Esta especie es el principal recurso pesquero en la zona de Bahía Blanca (López Cazorla et al., 2014) y una fuente de la pesquería comercial y recreativa en la Argentina (Lanfranchi et al., 2006). Sin embargo, los datos históricos demuestran una gran variabilidad en su población en los últimos años y estas disminuciones observadas son probablemente debidas a la presión que ejerce la pesca sobre esta especie (López Cazorla, 1997), sobre todo la producida por la flota pesquera industrial que opera aguas afuera del estuario (López Cazorla et al., 2014).

En Argentina su parasitofauna fue estudiada por Timi & Etchegoin (1996); Timi et al. (1997); Santos et al. (2002); Timi (2003a); Timi et al. (2005a); Timi et al. (2005b); Sardella et al. (2005); Timi & Lanfranchi (2006); Timi (2007); Santos & Timi (2009); Portes-Santos & Timi (2009); Timi et al. (2010b); Timi et al. (2011) abarcando diferentes aspectos, taxonómicos y ecológicos, de las especies parásitas presentes.

Los motivos de haber elegido este hospedador son el haber presentado varios morfotipos larvales en estudios previos, su hábitat bentopelágico, que preda sobre crustáceos como *A. longinaris* y es presa de elasmobranquios y mamíferos marinos, donde encontramos los estadios adultos. Además, se tuvo en cuenta la importancia económica de la especie, ya que ocupa el segundo lugar luego de la corvina (*Micropogonias furnieri*

(Desmarest, 1823)) en importancia comercial entre las especies costeras de Argentina (Ruarte et al., 2004).



Figura 2. *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830).

Orden Batrachoidiformes

Familia Batrachoididae

***Porichthys porosissimus* (Valenciennes, 1837) Girard, 1855**

Porichthys porosissimus (Fig. 3), comúnmente conocido como “lucerna” o “sapo de mar”, es un abundante miembro de la ictiofauna de la costa sudatlántica donde se encuentra asociado a fondos limo-arenosos (Menni & Miquelarena, 1976). De acuerdo a los pocos antecedentes acerca de su biología (Lane, 1967; Vianna et al., 2000) se trata de una especie semélpara que cumple todo su ciclo vital en un año, a lo sumo los machos viven dos, permaneciendo en su hábitat con cortos desplazamientos locales. Es tolerante a amplios rangos de temperatura y salinidad y su distribución es afectada por la interacción compleja de estos factores con otros, tales como el tipo de fondo y la profundidad. Es una típica especie bentónica que permanece largos períodos durante el día semienterrada en el fango litoral (Lane, 1967). Durante la noche emerge del sustrato en búsqueda del alimento, el cual se compone de crustáceos, decápodos y miscidáceos, peces y cefalópodos (Lane, 1967). Dentro de los crustáceos predominan *Peisos petrunkevitchi* Burkenroad y *Artemesia*

longinaris (Olivier et al., 1968). En las costas del Pacífico norte es el macho de *P. notatus* Girard quien ejerce el cuidado parental de las crías (Arora, 1948), comportamiento que fue corroborado por la autora en las playas de restinga de San Antonio Oeste, provincia de Río Negro. *Porichthys porosissimus* es un habitual predador de juveniles de especies que representan recursos importantes como *Cynoscion guatucupa* y *Micropogonias furnieri*, y constituye un ítem trófico importante para los predadores tope como el tiburón escalandrún, *Carcharias taurus* Rafinesque.

En Argentina su parasitofauna fue estudiada por Tanzola et al. (1997), Tanzola & Gigola (2002), Tanzola et al. (2006) y Acebal et al. (2011). El único antecedente sobre el estudio de los estadios larvales de cestodes que alberga forma parte de este trabajo de tesis (Guagliardo et al., 2009).

Fue elegido como hospedador porque representa un ejemplo de habitante permanente del estuario, tiene hábitos meramente bentónicos, ofrece altos valores de prevalencia, abundancia e intensidad de los estadios larvales del grupo *Scolex* durante todo el año y ofrece un claro ejemplo de cómo la carga parasitaria afecta al factor de condición del hospedador, como veremos más adelante.



Figura 3. *Porichthys porosissimus*(Valenciennes, 1837) Girard, 1855.

AREA DE ESTUDIO

Los estuarios se consideran entre los ecosistemas biológicos más productivos del mundo, representando sistemas costeros sumamente complejos y dinámicos. Se encuentran caracterizados por una variedad de componentes estructurales bióticos y abióticos interrelacionados, como también por intensos procesos físicos, químicos y biológicos (Marques et al., 2006). Su alta productividad es, precisamente, el soporte de una gran cantidad y variedad de recursos marinos que utilizan sus aguas como hábitat, áreas de cría y rutas de migración.

Estuario de Bahía Blanca: (Figs. 4 y 5)

El estuario de Bahía Blanca ocupa una amplia zona costera al sudoeste de la provincia de Buenos Aires en las que se emplazan las localidades de Bahía Blanca, Punta Alta, General Cerri e Ingeniero White (Aliotta & Lizasoain, 2004). Representa una zona con una acelerada expansión industrial debido a la presencia en sus márgenes de un amplio parque industrial petroquímico, cuyo desarrollo ha sido facilitado por la existencia de grandes puertos como son Ing. White, Galván, Rosales y Belgrano, desde donde se exportan la mayoría de los productos agroindustriales de la región.

Ubicado entre los 38°45' y 39°25' de latitud Sur y los 61°45' y 62°25' de longitud Oeste, el estuario presenta una configuración regional que se caracteriza por una densa red de canales de diversas dimensiones ubicados en dirección noroeste-sureste, generalmente de tipo divagante y meandroso. La fisiografía de la zona costera se completa con los numerosos islotes de relieve plano y escasa altitud, sumados a las amplias llanuras de fango y arena que se cubren periódicamente con las pleamares (Aliotta & Lizasoain, 2004). Cuenta con una superficie de aproximadamente 3.000 km² y su cuenca hidrográfica una

superficie de 19.000 km² (Melo, 2004). Según Perillo & Pícolo (1999) la ausencia de importantes aportes terrígenos y la fuerte influencia de las condiciones marítimas hacen del estuario de Bahía Blanca un ambiente en permanente estado de erosión, que se evidencia en la dinámica de sus canales de marea y en las extensas planicies e islas degradadas. La circulación general del estuario es dominada por una onda de marea semidiurna que constituye la mayor fuente de energía. El patrón climático de la región está dominado por los vientos del noroeste, norte y oeste (Capelli & Campos, 2004), y se caracterizan por ser una constante en el área. Los vientos actúan principalmente en forma paralela a los mayores canales del estuario interactuando con la onda de marea y produciendo adelantos y retardos con respecto a las horas pronosticadas de bajamar y pleamar, como así también produciendo variaciones importantes en la altura que alcanzan (Perillo et al., 2004). El clima del estuario se caracteriza por ser seco - templado, siendo la temperatura media anual de la superficie del agua de 13°C, variando entre 8,5°C en invierno y 21,6°C en verano. La temperatura del agua en la zona interna está fuertemente condicionada por la temperatura del ambiente, al encontrarse alejada del mar adyacente y su efecto regulador. Debido a esto, puede considerarse como un cuerpo de agua continental somero (Pícolo & Perillo, 1990; Freije & Marcovecchio, 2004). Las variaciones que sufre la temperatura son de gran importancia en el estuario porque regulan los contenidos de oxígeno disuelto y la especiación de las distintas formas químicas, además de influir sobre la distribución y metabolismo de los organismos.

Los afluentes principales del estuario son el río Sauce Chico, en la cabecera del estuario, y el arroyo Napostá Grande que desemboca en la zona media del canal principal (Perillo et al. 2004). Sus cuencas se originan en las sierras del Sistema Serrano de Ventania, en Sierra de la Ventana, por lo que están fuertemente influidos no solo por las

condiciones meteorológicas locales sino también por lo que ocurre en sus nacientes. La descarga media anual del arroyo Napostá es de $0,8 \text{ m}^3/\text{s}$, en tanto que la del río Sauce Grande es de $1,9 \text{ m}^3/\text{s}$, pudiendo presentar picos de descarga superiores a $10 \text{ m}^3/\text{s}$ e incluso en ocasiones superiores a $50 \text{ m}^3/\text{s}$, dependiendo de la intensidad de las precipitaciones a lo largo de su cuenca (Perillo et al., 2004). Estos factores, junto con las precipitaciones que se produzcan dentro de la superficie del mismo estuario, influyen sobre la salinidad. La salinidad media en el lugar de muestreo del presente trabajo es de 32,83 ups (Puerto Cuatros) (Freije & Marcovecchio, 2004), pero varía en las diferentes regiones del estuario debido a la acción diferencial de factores condicionantes, como la evaporación y el drenaje terrestre, como así también por la cercanía o lejanía de los aportes de agua dulce. Las variaciones que sufre la salinidad constituyen la base de cualquier análisis sobre otros elementos químicos, ya sean de origen natural o antropogénico, además de definir la hidrodinámica del sistema.

El estuario de Bahía Blanca se incluye entre los ecosistemas costeros más eutroficados naturalmente conocidos (Freije & Marcovecchio, 2004). Hasta la fecha y con mayor énfasis en la última década, se han realizado numerosos trabajos para evaluar el grado de contaminación antropogénica sobre las concentraciones de materia orgánica, material en suspensión, agentes microbianos, pesticidas organoclorados, grasas totales y metales pesados, tanto disueltos como particulados en el sedimento, como así también sobre las concentraciones presentes en el tejido de diferentes organismos que habitan el estuario (Pucci et al. 1979; Marcovecchio et al., 1986, 1988; Marcovecchio, 1994; Botté, 2004; Menone et al., 2004; Lanfranchi et al. 2006; Baldini & Cubitto, 2010; Guinder et al., 2009, 2012).

El tramo interior del Canal Principal es el sector en el que la cadena trófica del sistema se inicia sobre la base de la riqueza de nutrientes y la consecuente floración invernal de fitoplancton (*Thalassiosira curviseriata* Takano, 1981), lo cual está directamente relacionado con la calma de los vientos, la ausencia de olas y por lo tanto, las bajas concentraciones de sedimentos en suspensión (Guinder et al., 2010). El fitoplancton, como en cualquier sistema acuático, es de gran importancia debido a que constituye la base de la cadena alimenticia necesaria para mantener las redes tróficas. Para los peces en particular, el estuario de Bahía Blanca, al igual que otras áreas protegidas como lagunas y zonas costeras, cumple una función especial en su biología dado que representa un área de alimentación y cría para las diferentes especies que allí habitan (López Cazorla, 2000).



Figura 4. Ubicación del estuario de Bahía Blanca, Argentina.

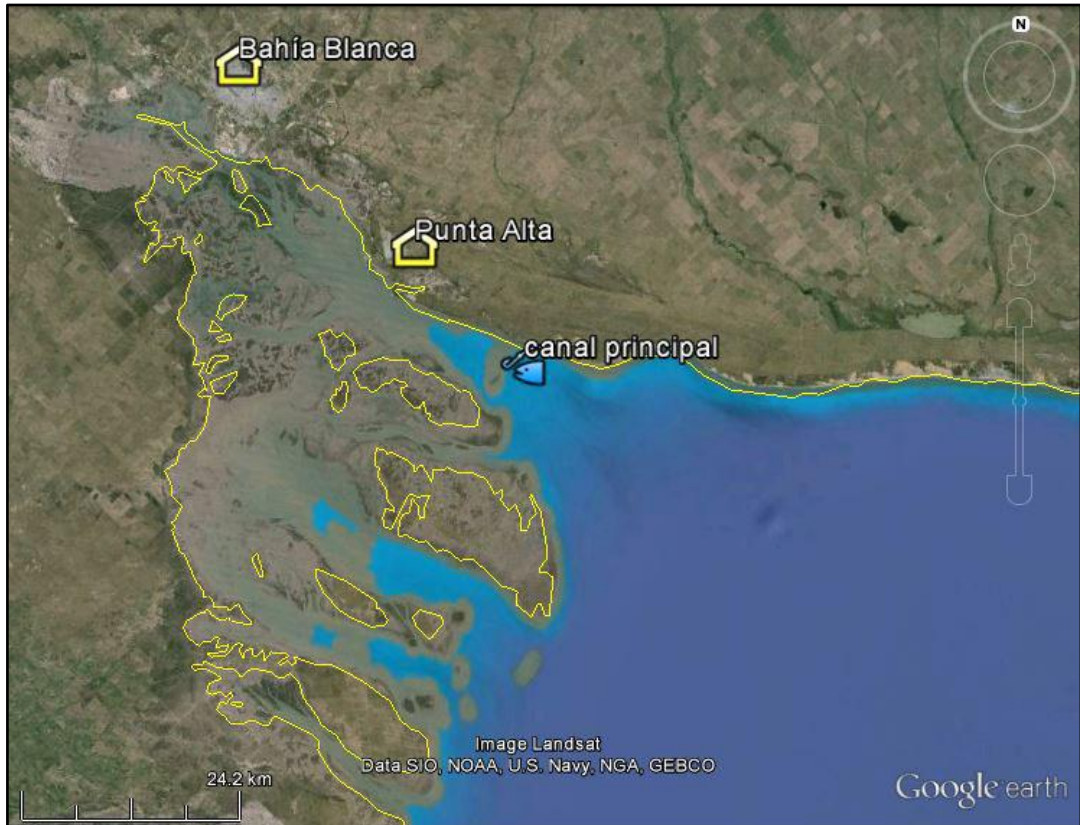


Figura 5. Detalle del estuario y del canal principal.

Capítulo I

Aspectos de la morfología comparada y sistemática larval



INTRODUCCIÓN

Las relaciones evolutivas entre los eucestodes han recibido una intensa aunque esporádica atención durante décadas pasadas y, a pesar de los esfuerzos, nunca se logró un acuerdo general entre las diversas hipótesis (Hoberg et al., 1997). El interés mundial por su sistemática y taxonomía motivó la realización, en el año 1993, del primer Taller Internacional sobre Sistemática de Tenias (*1st International Workshop for Tapeworms Systematics (IWTS)*) en Ginebra, Suiza (Mariaux & Vaucher, 1994). En esta reunión se crearon las raíces conceptuales para construir un programa de investigación cooperativo internacional, relativo a solucionar cuestiones importantes sobre la sistemática de los eucestodes (Hoberg et al., 1999). Sin embargo, el surgimiento de opiniones encontradas sobre la idoneidad de diferentes clases de caracteres morfológicos y moleculares como indicadores de relación, la aplicación de diferentes metodologías para la reconstrucción filogenética y supuestos no probados de co-especiación parásito-hospedador (por ejemplo, el concepto de que la filogenia del hospedador refleja la del taxón parásito) contribuyeron nuevamente a la falta de consenso entre las diferentes hipótesis (Brooks et al., 1991; Mariaux, 1996; Hoberg et al., 1997b). Khalil et al. (1994) realizaron una clave para el diagnóstico que proporcionó una gran herramienta a nivel de género, sin embargo, el trabajo no tuvo en general la intención de reflejar las relaciones evolutivas (Hoberg et al., 1999). El segundo IWTS celebrado en Lincoln, Nebraska en 1996, llevó a la generación de una serie de trabajos sintéticos que proporcionaron nuevos conocimientos sobre las relaciones filogenéticas de la mayoría de las órdenes de cestodes (Hoberg et al., 1997; 1999; Rego et al., 1998; Beveridge et al., 1999; Bray et al., 1999; Caira et al., 1999; Ivanov & Hoberg, 1999). Una propuesta radical para una terminología unificada y simplificada para las larvas de cestodes comenzó a establecerse en el Tercer Taller realizado en 2002

(Chervy, 2002), en tanto en el cuarto encuentro, realizado en 2005, se produjo el lanzamiento de la ya mencionada Base de Datos Global de Cestodes (Caira et al., 2006). Con el paso de los años, se incrementó el interés en la reevaluación de las relaciones a nivel ordinal de la Clase Cestoda, impulsada por análisis filogenéticos preliminares que resuelven algunos de los órdenes tradicionalmente reconocidos por Khalil et al. (1994) como parafiléticos o incluso polifiléticos (por ejemplo, Brooks et al., 1991; Hoberg et al., 1997, 1999; Mariaux, 1998; Olson & Caira, 1999; Kodedová et al., 2000; Olson et al., 2001). Este reordenamiento no sólo reflejó nuevos puntos de vista sobre las relaciones filogenéticas sino que además, marcó un nuevo comienzo.

En general, los adultos de los órdenes Tetraphyllidea, Rhinebothriidea, Phyllobothriidea y parte de Onchoproteocephalidea presentan en su morfología una uniformidad en los órganos reproductores dentro de cada grupo, pero muestran una gran diversidad de formas en su órgano de fijación, el escólex. De hecho, son los caracteres del mismo los que se utilizan para la diagnosis de familias e incluso géneros, dentro de estos órdenes. Generalmente, esta estructura está definida por cuatro acetábulos musculares, sésiles o pedunculados, con o sin ganchos y muy variables en su forma. El resto del cuerpo está formado por un estróbilo, una cadena de proglótidos o segmentos cada uno de los cuales contiene órganos reproductivos y son, comúnmente, hermafroditas (Jensen, 2009). Los eucestodes son únicos entre los platelmintos por poseer extensiones del tegumento llamadas microtricos especializadas en diferentes funciones como el anclaje, la absorción y protección (Andersen, 1975; Palm et al., 1998). Estas estructuras se caracterizan por ser ubicuas dentro de los cestodes (Chervy, 2009). Numerosos estudios han demostrado que el tipo y los patrones de distribución de microtricos en las formas adultas proveen información para la diferenciación de las especies (Caira, 1992; Tyler & Caira, 1999),

incluso en los estadios larvales, debido al polimorfismo existente entre *taxa* y entre diferentes regiones de un mismo individuo (Agustí et al., 2005b; Fyler, 2007). Además, tanto la densidad y el tamaño de los mismos suelen revelar diferencias interespecíficas aún cuando el patrón de distribución sea constante dentro de un género, como por ejemplo *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Onchoproteocephalidea) (Menoret & Ivanov, 2005). Con el incremento en el uso del MEB (microscopio electrónico de barrido) para la descripción de especies ha proliferado la terminología descriptiva para los diferentes tipos de microtricos. Luego de varios trabajos que han descrito y denominado con términos específicos estas estructuras (Caira, 1990; 1992; Caira et al., 1999; Ruhnke, 1994; Faliex et al., 2000), Chervy (2009) realiza la estandarización de la terminología en base a las discusiones que tuvieron lugar en los Talleres Internacionales sobre Sistemática de Tenias llevados a cabo en los años 2002, 2005 y 2008.

Estadios larvales

Los cestodes marinos exhiben una variada gama de estadios larvales. Todos los eucestodes comienzan su ciclo de vida con un embrión hexacanto, en la mayoría de los casos sin cilias, que permanece dentro del huevo hasta ser ingerido por el hospedador intermediario adecuado. El desarrollo posterior varía entre, e incluso, dentro de los diferentes órdenes y los estadios larvales que se desarrollan se denominan colectivamente metacestodes, de los cuales se reconocen diferentes tipos (Chervy, 2002; Jensen, 2009).

Existen diferencias conspicuas en la diversidad de hospedadores que cumplen los diferentes roles en los ciclos de vida de los cestodes marinos. Caira & Reyda (2005) afirmaron que todas las clases y órdenes de vertebrados marinos se han encontrado parasitados por cestodes adultos. Estos autores describieron una lista muy limitada de sólo tres *phyla* cumpliendo el rol de primeros hospedadores intermediarios. En contraste, al

menos ocho *phyla* de invertebrados y un rango de vertebrados, especialmente los teleósteos, se comportan como segundos hospedadores intermediarios o paraténicos. Cake (1977) sugirió que el primer hospedador intermediario es un copépodo, un camarón eufáusido u ocasionalmente un molusco pelecípodo; el cual ingiere el huevo con el embrión hexacanto dentro. A partir de entonces se desarrolla el estadio larval procercoide. A este estadio de desarrollo le continúa un estadio merocercoide, plerocercoide u otro dependiendo del taxón que se trate (Chervy, 2002). El ciclo de vida se completa cuando el hospedador que contiene el último estadio larval es consumido por el hospedador definitivo. En este, se desarrolla completamente el escólex y comienza el proceso de proglotización para luego madurar hasta llegar a la tenia adulta (Jensen, 2009).

Una parte sustancial de la literatura incluye descripciones de larvas de cestodes marinos (Linton, 1897; Curtis, 1911; Dollfus, 1923, 1929, 1964, 1974; Yamaguti, 1934; Anantaraman, 1963; Regan, 1963; Friedl & Simon, 1970; Vivares, 1971; Armstrong, 1974; Reimer, 1975; Cake, 1976, 1977; Stunkard, 1977; Chambers et al., 2000; Brickle et al., 2001; Agustí et al., 2005a, 2005b; Aznar et al., 2007; Holland et al., 2009). El término *Scolex pleuronectis* y *Scolex polymorphus* se refieren a larvas que contienen una ventosa apical y cuatro acetábulos divididos o no (Linton, 1905; Dollfus 1929, 1964; Yamaguti, 1934; Anantaraman, 1963; Reimer, 1975; Stunkard, 1977; Overstreet, 1978) y, aunque históricamente hayan sido incluidos dentro del orden Tetracystida (Yamaguti, 1934; Dollfus, 1953; Euzet, 1959; Anantaraman, 1963; Caira & Reyda, 2005), las identidades de estas larvas permanecen indeterminadas en todos los niveles (Jensen & Bullard, 2010). Como una manera de aproximarse a su identificación varios trabajos se han empeñado en inducir la maduración del escólex y lograr obtener los estadios adultos utilizando técnicas *in vitro* (Hamilton & Byram, 1974; Avdeeva & Avdeev, 1980; Carvajal et al., 1982;

Chambers et al., 2000), pero según Jensen & Bullard (2010) muchas de estas asignaciones genéricas necesitan revisión.

Son muchos los trabajos dentro de la literatura mundial donde analizaron la morfología de los estadios larvales del grupo *Scolex*, pero sólo algunos lo hicieron a partir del estudio de la ultraestructura de superficie: Gabrion & Euzet-Sicard (1979) y Khalil (1995) describieron la morfología de varias estructuras del tegumento de plerocercoides tetrafilídeos no identificados en teleósteos del mar Mediterráneo. Caira & Ruhnke (1999) compararon la morfología del escólex entre el estadio plerocercoides y el adulto de *Calliobothrium verticillatum* (Rudolphi, 1819) Van Beneden, 1850. Luego Fyler (2007) comparó la ultraestructura de los microtrícos de ambos estadios de *Calliobothrium*. Agustí et al. (2005b) investigaron los estadios larvales hallados en mamíferos marinos y Holland et al. (2009) analizaron brevemente la ultraestructura de larvas de *Acanthobothrium brevissime* Linton, 1908. En Argentina, Martorelli et al. (1999) estudiaron los tipos larvales hallados en *Artemesia longinaris* en cuanto a aspectos ecológicos y caracteres morfológicos observados al microscopio óptico. Hasta el presente, no se han desarrollado estudios morfológicos ni de ultraestructura de superficie de los estadios larvales del grupo *Scolex* presentes en los restantes hospedadores objeto de este estudio.

Por lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivos:

- Analizar la variabilidad morfológica de los estadios larvales de cestodes, empleando técnicas de microscopía óptica (morfometría) y electrónica de barrido (ultraestructura).
- Establecer la identidad genérica de los estadios larvales a partir de sus caracteres morfológicos mediante claves elaboradas para tal fin.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colección y disección de los hospedadores

Todas las colecciones de los hospedadores intermediarios/paraténicos de los estadios larvales fueron realizadas en el estuario de Bahía Blanca (Argentina), mediante el tendido de redes costeras de tipo camaronera y arrastre, y líneas de anzuelos arrojadas de costa y embarque de la flota pesquera con asiento en el Puerto de Ingeniero White. Los peces fueron identificados acorde a Cousseau & Perrotta (1998, 2013), en tanto la utilización de los nombres científicos de las especies válidas y sinonimias se basó en Froese & Pauly (2015). La determinación de *Artemesia longinaris* se realizó siguiendo a Boschi et al. (1992).

A cada hospedador, del cual se extrajo una submuestra de estadios larvales con el fin de realizar estudios moleculares, se le extrajo una muestra tomada de músculo para conservar en freezer (-18°C) para futuros estudios moleculares con el fin de corroborar la identidad específica de hospedador.

La necropsia de los hospedadores se llevó a cabo realizando una incisión en el cuerpo; ya sea dorsal, en el caso del camarón; como ventral, en el caso de los peces teleósteos analizados. Luego se procedió a extraer el tubo digestivo completo que se analizó minuciosamente en la búsqueda de cestodes larvales con la ayuda de una lupa binocular, pinces finos y microscopio óptico.

Tratamiento de las muestras

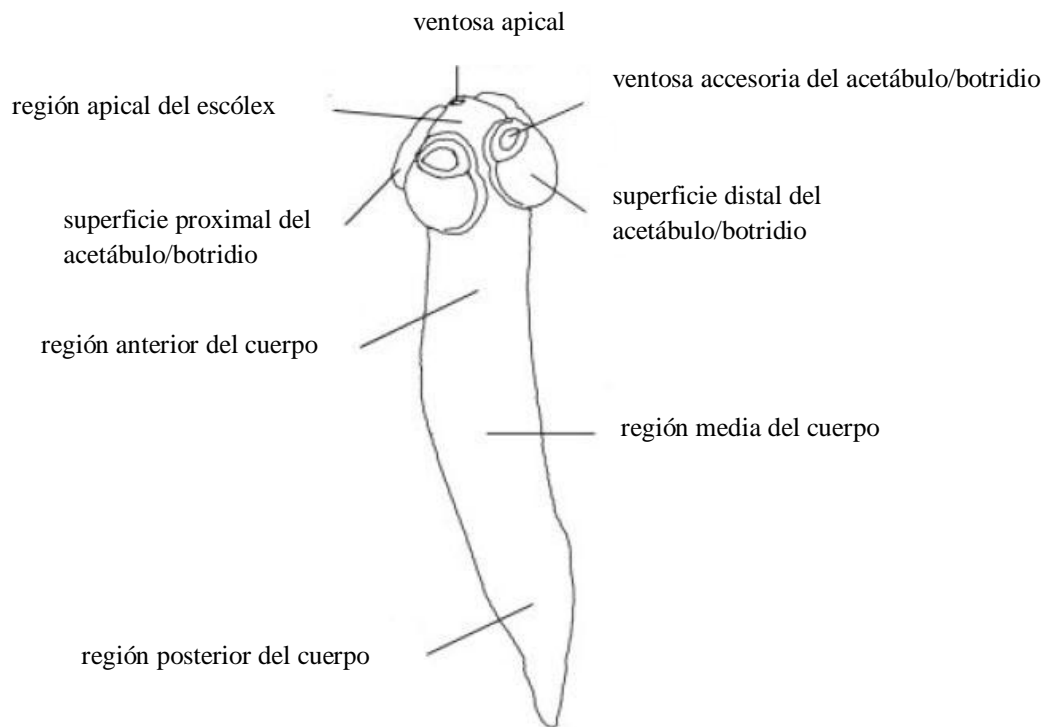
Los cestodes recolectados fueron conservados vivos en solución fisiológica, especialmente para observar la funcionalidad del escólex al microscopio óptico. Una

submuestra de cada morfotipo larval fue fijada en etanol absoluto (100%) para realizar estudios moleculares. En este caso, en algunos representantes de cada morfotipo larval se separó el escólex del resto del cuerpo de la larva y se fijo en formalina al 5% para ser utilizado como *voucher* de las secuencias, en tanto el resto de la larva se fijó en etanol absoluto. Los restantes ejemplares se flamearon ligeramente en solución fisiológica caliente (o agua de mar) para su relajación y fueron fijados en dos procesos diferentes: una submuestra en formalina al 5% para los estudios de morfometría y morfología a realizarse al microscopio óptico y una submuestra fijada con glutaraldehído al 2,5% en solución acuosa para los estudios de ultraestructura de superficie a realizarse en microscopio electrónico.

Los estadios larvales fijados en formalina al 5%, luego de transcurridas 24 hs., fueron conservados en alcohol 70%. Una submuestra de cada morfotipo fue hidratada, teñida con Hematoxilina de Harris, deshidratada, clarificada en Eugenol y montada en Bálsamo de Canadá. La submuestra restante fue observada sin realizar ningún tipo de tinción. El microscopio óptico utilizado fue Motic BA200 con cámara incorporada, conectado a una PC conteniendo el software Motic Images para el análisis de las imágenes. Las medidas fueron tomadas de 15 especímenes de cada morfotipo y consistieron en longitud total, ancho máximo del cuerpo, longitud y ancho del acetábulo/botridio, y ancho del órgano apical (Agustí et al., 2005a; Jensen & Bullard, 2010). Las medidas de la microanatomía larval se expresan en μm indicando valores promedio y rango entre paréntesis.

Para el estudio de la ultraestructura de superficie, luego de la fijación en glutaraldehído, se deshidrataron los ejemplares en gradientes crecientes de acetona o alcoholes, se realizó el secado a punto crítico de CO_2 o con hexametildisilazane y se

realizó el metalizado para microscopía electrónica de barrido. La técnica varió según el servicio de microscopía y equipo utilizado, ya que se trabajó con el CCT – Bahía Blanca – CONICET (LEO EVO 40XVP) y también con el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad Nacional de Mar del Plata (Jeol JSM-6460LV). Se observaron diferentes áreas corporales siguiendo a Agustí et al. (2005b): ventosa apical, región apical del escólex, ventosa accesoria del acetábulo/botridio, superficie proximal del acetábulo/botridio, superficie distal del acetábulo/botridio y región anterior, media y posterior del cuerpo:



Caracterización morfológica de los tipos larvales

La nomenclatura larval se implementó, basada en la cronología de los hallazgos, con la utilización de números romanos:

- Morfotipo larval I, II y IV presentes en *Cynoscion guatucupa*. El morfotipo III se caracterizó por poseer botridios triloculados, pero se lo halló una sola vez. Por esta razón no se lo incluyó en el presente estudio. No queda claro si se trataría de un estadio previo al morfotipo IV tetraloculado o si se trataría de un morfotipo diferente y único.
- Morfotipos V y IX presentes en *Artemesia longinaris*.
- Morfotipos VI, VII y VIII parasitando a *Porichthys porosissimus*.

Se aplicó la terminología de las estructuras de fijación siguiendo a Caira et al. (1999, 2001). Jensen & Bullard (2010) realizaron una clave para estadios larvales, a partir de estudios de morfometría y morfología de diferentes tipos de larvas hallados en un exhaustivo análisis realizado sobre hospedadores intermediarios/paraténicos del Golfo de México. El objetivo de los autores fue conformar sets de organismos verificados mediante el análisis de las secuencias moleculares y de los agrupamientos filogenéticos generados de esta forma. Esta clave se utilizó para la identificación genérica de las larvas en el presente capítulo. En primera instancia, las larvas fueron agrupadas en grupos colectivos según caracteres morfológicos compartidos, con el propósito luego, de verificar estas asociaciones mediante los agrupamientos filogenéticos obtenidos con los correspondientes datos de secuencias moleculares (aspecto desarrollado en el Capítulo II).

RESULTADOS

Basados en la terminología de Chervy (2002) todas las larvas menos el morfotipo V fueron consideradas plerocercoides, es decir, metacestodes con escólex desarrollado (o al menos parcialmente), botridiado o acetabulado, evertido y sin laguna primaria. El morfotipo V presenta la particularidad de tener el escólex retraído, por lo cual lo correcto sería denominarlo metacestode y no plerocercoides.

*Morfotipos larvales hallados en *Cynoscion guatucupa**

Morfotipo larval I (Figs. 6 A-F)

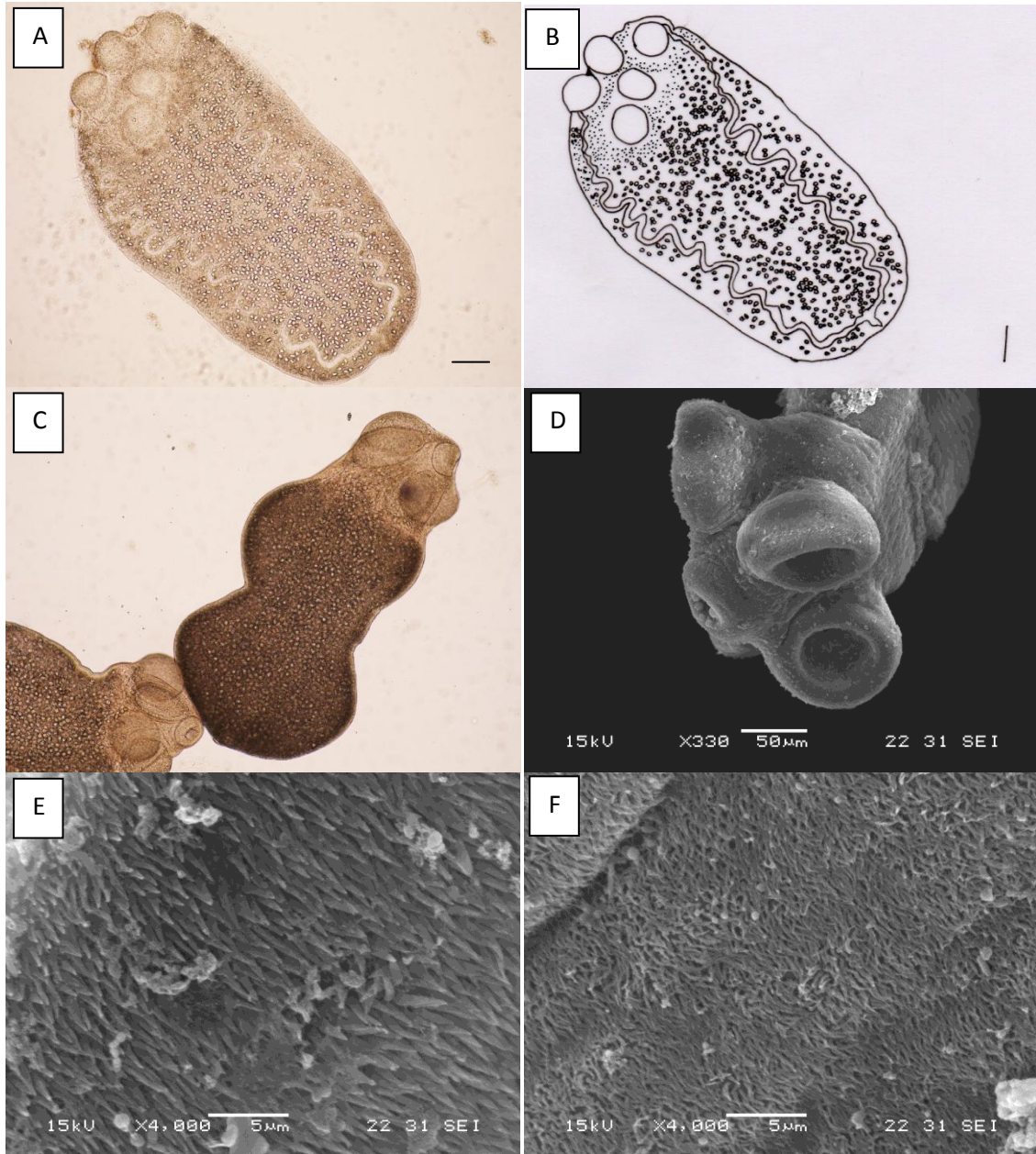
Descripción: Larva elongada de 758 (312-1090) de longitud total y 283 (110-460) de ancho máximo. Escólex con una ventosa apical y cuatro acetábulos en forma de ventosas. Ventosa apical de 87 (75-120) de ancho. Acetábulo redondeado, de 106 (80-155) de longitud y 89 (47-120) de ancho, no dividido ni retraíble. Ganchos ausentes; cuerpo de la larva no dividido, con una gran cantidad de cuerpos calcáreos (Figs. 6 A-C). En especímenes vivos puede verse la trayectoria del sistema excretor (Fig. 6 A y B) y eventualmente la presencia de pigmento rojo posterior al escólex. Presenta espinitricos gladiados en la ventosa apical y en la superficie distal del acetábulo, pero en este último los espinitricos son más robustos y se intercalan con áreas que presentan filitricos aciculares (Fig. 6 E). La ventosa apical presenta estructuras no descritas por Chervy (2009), pero que Agustí et al. (2005b) definen como papilas o *buttons* (Fig. 6 D). Los microtricos del resto del cuerpo también son del tipo espinitricos gladiados, se distribuyen de manera uniforme en las regiones anterior, media y posterior del cuerpo, pero no son robustos como los que se presentan en el acetábulo.

Sitio de infección: Este morfotipo se distribuye preferentemente en la porción media del intestino de *C. guatucupa*.

Comentarios: Este morfotipo coincide, según su morfología y en la mayor parte de sus caracteres merísticos, con el tipo larval VI (grupo G, *Anthobothrium* Van Beneden, 1850) de Jensen & Bullard (2010). Además, se corresponde con el metacestode tipo 4 de Chalmers et al. (2000), quienes predijeron que este tipo larval representa a especies de *Anthobothrium* basándose en sus resultados de cultivos *in vitro*. En la tabla 1 se comparan las medidas de los tipos larvales nombrados con el morfotipo I hallado en el presente estudio.

Tabla 1. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval I con las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm .

	Jensen & Bullard (2010)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio
Longitud total	439-1600	657 (439-1240)	758 (312-1090)
Ancho máximo	-	165 (100-235)	283 (110-460)
Ancho ventosa apical	46-114	41 (31-55) x 52 (41-71)	87 (75-120)
Longitud/ancho acetábulo	48-156/55-134	65 (51-90) x 61 (44-90)	106 (80-155)/89 (47-120)



Figuras 6 A-F. **A, B y C:** Morfotipo larval I presente en *Cynoscion guatucupa* (C: 10x), escala: 100 µm. **D:** Detalle del escólex visto al MEB. **E:** Superficie distal del acetábulo. **F:** Detalle de la porción media del cuerpo.

Morfotipo larval II (Figs. 7 A-G)

Descripción: Larva de 614 (430-970) de longitud total y 156 (90-210) de ancho máximo. Escólex con una ventosa apical y cuatro acetábulos en forma de botridios, no retraíble. Ventosa apical grande, de 63 (20-87) de ancho. Botridio de 97 (30-122) de longitud y 52 (17-67) de ancho; ovalado y dividido en dos lóculos. El lóculo anterior de igual tamaño o ligeramente más estrecho que el lóculo posterior. Botridios sésiles o con la porción terminal levemente libre, con márgenes enteros (no crenulados, por ejemplo) (Figs. 7 A-C). Ganchos ausentes y cuerpo no dividido que se estrecha posteriormente. Cuerpos calcáreos presentes. En especímenes vivos puede verse la trayectoria del sistema excretor.

Las superficies proximal y distal del botridio presentan filitricos capiliformes, también la región apical del escólex (Fig. 7 D y E). En la ventosa accesoria del botridio se observan filitricos aciculares que se presentan en menor densidad. También se encuentran filitricos aciculares en la región posterior del cuerpo y en mucha menor densidad (Fig. 7 G). Las regiones anterior y media del cuerpo presentan filitricos capiliformes (Fig. 7 F).

Sitio de infección: Este morfotipo larval se distribuye preferentemente en la porción posterior del intestino de *C. guatucupa*.

Comentarios: Coincide, según la mayoría de los aspectos, con el tipo larval I de Jensen & Bullard (2010) (grupo A, *Phoreiobothrium* Linton, 1889 y *Trilocularum* Caira & Jensen, 2009), salvo en que la división entre los lóculos en los especímenes analizados por estos autores, es muy poco visible; mientras que en el morfotipo II del presente estudio, es una división muy bien delimitada y conspicua. Podría corresponderse también con el tipo larval 8 indeterminado de Chalmers et al. (2000). Las medidas comparativas entre estos tipos larvales y el morfotipo II hallado en el presente estudio, se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval II con las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm .

	Jensen & Bullard (2010)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio
Longitud total	< 1.100	890 (534-1835)	614 (430-970)
Ancho máximo	-	161 (113-225)	156 (90-210)
Ancho ventosa apical	54-110	58 (39-97) x 100 (80-142)	63 (20-87)
Longitud/ancho botridio	56-238/43-157	112 (94-138) x 72 (58-90)	97 (30-122)/52 (17-67)

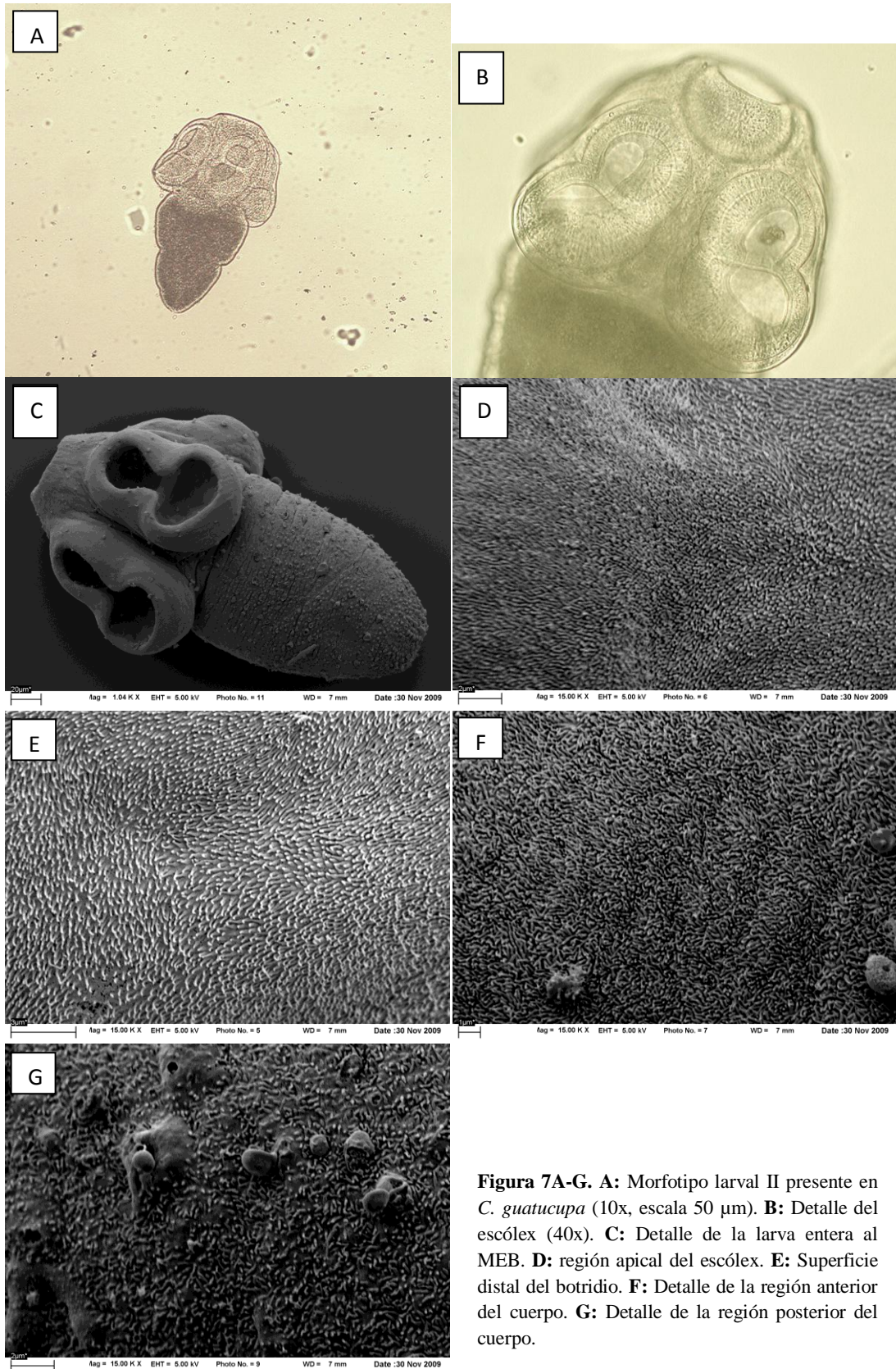


Figura 7A-G. A: Morfotipo larval II presente en *C. guatucupa* (10x, escala 50 µm). B: Detalle del escólex (40x). C: Detalle de la larva entera al MEB. D: región apical del escólex. E: Superficie distal del botridio. F: Detalle de la región anterior del cuerpo. G: Detalle de la región posterior del cuerpo.

Morfotipo larval IV (Figs. 8 A-H)

Descripción: Larvas con cuerpo muy elongado, no dividido, de 718 (681-943) de longitud y 145 (120-168) de ancho máximo. Escólex con ventosa apical y cuatro acetábulos en forma de botridios. Ventosa apical de 36 (33-47). Botridios elongados, de 127 (98-130) de longitud y 81 (64-97) de ancho, sésiles anteriormente y con el extremo posterior libre, divididos en un *pad* anterior y un lóculo posterior. El *pad* es más estrecho que el lóculo y este se encuentra subdividido por dos tabiques horizontales (Figs. 8 A-D). Botridio no retraible. Ganchos no visibles y cuerpo sin divisiones. La región apical del escólex presenta filitricos capiliformes, al igual que la ventosa apical (Fig. 8 G). La superficie proximal del botridio al igual que la distal posee espinitricos gladiados que alternan con filitricos capiliformes (Figs. 8 E y F). En el borde del botridio se vuelven más evidentes los filitricos capiliformes (Fig. 8 H).

Sitio de infección: Este morfotipo se distribuye de manera uniforme en las porciones media y posterior del intestino de *C. guatucupa*.

Comentarios: El morfotipo larval IV se corresponde con el tipo larval II (Grupo B, *Acanthobothrium* Blanchard, 1848) de Jensen & Bullard (2010). También coincide con el metacestode Tipo 3 de Chalmers et al. (2000), asignado a los géneros *Acanthobothrium* y *Calliobothrium* Van Beneden, 1850. En la tabla 3 se comparan las medidas de los tipos larvales nombrados con el morfotipo IV hallado en el presente estudio.

Tabla 3. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval IV con las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm .

	Jensen & Bullard (2010)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio
Longitud total	299-3800	619 (590-692)	718 (681-943)
Ancho máximo	-	128 (103-151)	145 (120-168)
Ancho ventosa apical	29-111	41 (39-42) x 49 (45-51)	36 (33-47)
Longitud/ancho botridio	62-303/25-185	134 (118-147) x 49 (42-55)	127 (98-130)/81 (64-97)

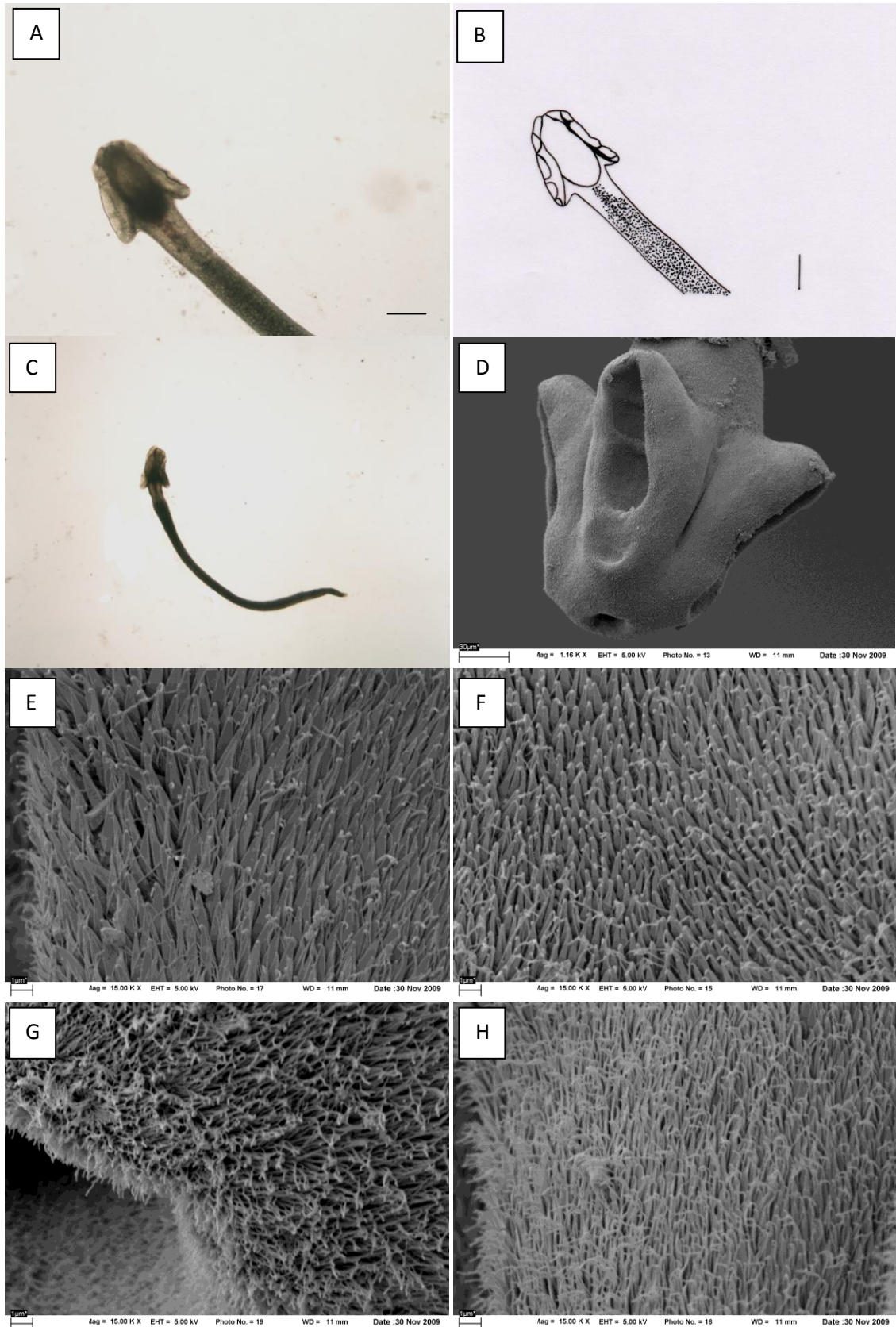


Figura 8A-H. A y B: Morfotipo larval IV presente en *C. guatucupa*. Escala 150 µm. C: Detalle de la larva viva (10x). D: Detalle del escólex de la larva al MEB. E: Superficie proximal del botridio. F: Superficie distal del botridio. G: Detalle de la región apical del escólex y la ventosa apical. H: Detalle del borde del botridio.

Morfotipos larvales hallados en Artemesia longinaris

Morfotipo larval V (Figs. 9 A-F)

Descripción: Larva que presenta una longitud de 350 (220-490) y un ancho máximo de 142 (112-190). Posee una importante ventosa apical de 100 (49-120) de largo y 112 (100-130) de ancho. Cuatro acetábulos en forma de botridios de 57 (10-71) de largo y 30 (25-70) de ancho, totalmente retraídos dentro del cuerpo. Cuando las larvas se encuentran vivas presentan el pigmento rojo característico, pero en una posición bien posterior. Su cuerpo posee los característicos cuerpos calcáreos y ocasionalmente puede estar dividido. Ganchos ausentes. No se cuenta con información de los microtricos al no haber podido obtener muestras preparadas para el MEB en buenas condiciones.

Sitio de infección: Este morfotipo se encuentra mayormente en el intestino medio de *A. longinaris*.

Comentarios: El morfotipo larval V coincide con el tipo Echinebothriinae, reportado en Argentina por Martorelli et al., (1999) y Martorelli (2002) en *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri* Bate, respectivamente. Además, podrían coincidir con el metacestode tipo 5 de Chalmers et al. (2000) designado como *Rhinebothrium* Linton, 1890; *Caulobothrium* Baer, 1948 o *Rhabdotobothrium* Euzet, 1953. Sin embargo, las larvas estudiadas por estos últimos autores son de mayor tamaño. En la tabla 4 se comparan las medidas de los tipos larvales nombrados con el morfotipo V hallado en el presente estudio.

Tabla 4. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval V con las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm , salvo las medidas en mm tomadas por Martorelli et al. (1999).

	Martorelli et al (1999)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio
Longitud total	0.33 (0.20-0.47)	3506 (1440-8800)	350 (220-490)
Ancho máximo	0.15 (0.10-0.20)	363 (257-881)	142 (112-190)
Longitud/ancho ventosa apical	0.09 (0.06-0.11)/0.11 (0.10-0.12)	109 (71-167) x 122 (77-160)	100 (49-120)/112 (100-130)
Longitud/ancho botridio	0.03 (0.01-0.08)/0.05 (0.01-0.08)	Invertidos, contenidos en <i>pouches</i>	57 (10-70)/30 (25-70)

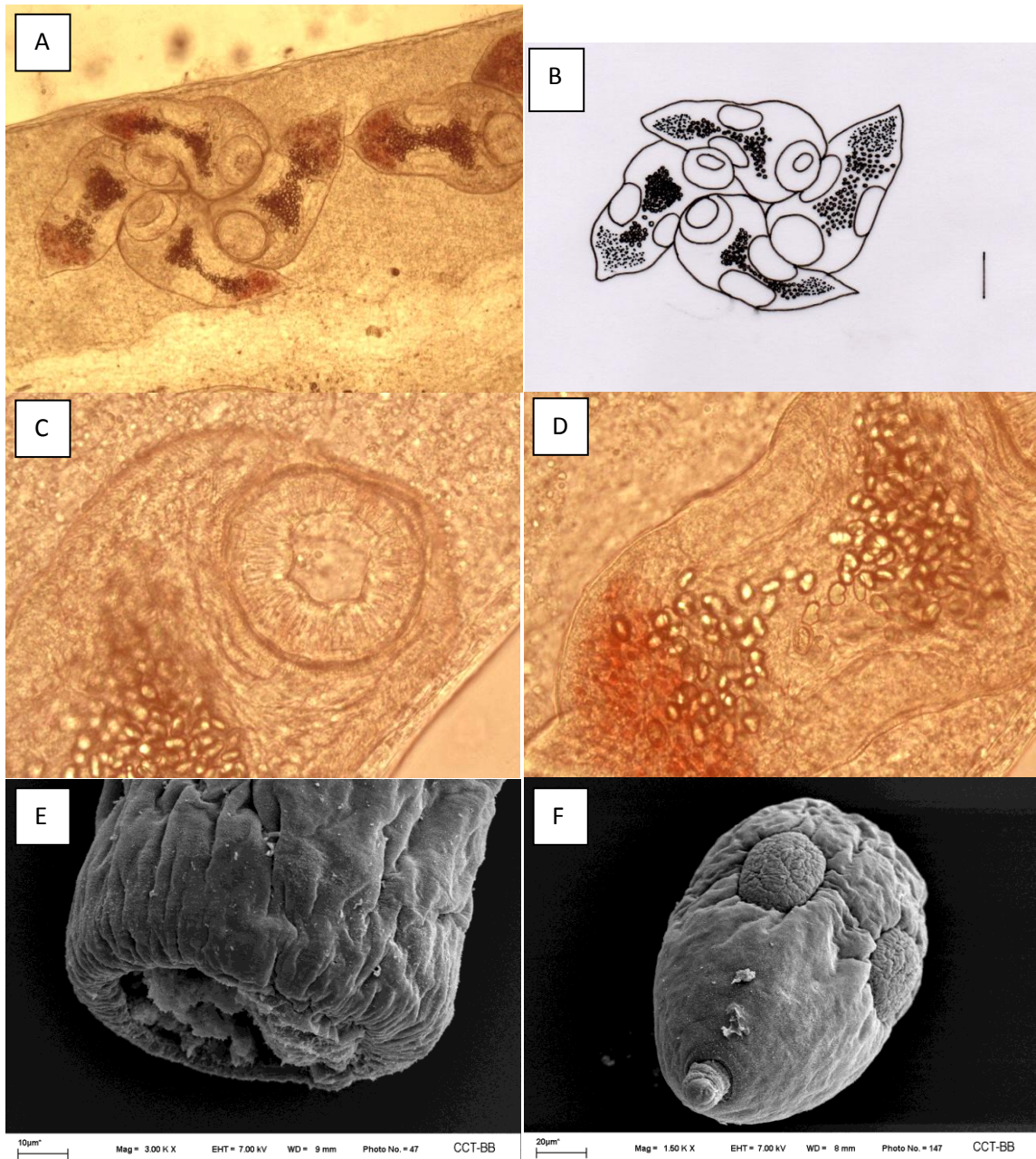


Figura 9A-F. A y B: Morfotipo larval V presente en *A. longinaris* (40x, escala: 100 μ m). C: Vista de la ventosa apical (100x). D: Detalle de los botridios (100x). E: Vista al MEB de la gran ventosa apical de la larva. F: Detalle de la región posterior del cuerpo.

Morfotipo larval IX (Figs. 10 y 11)

Descripción: Larvas pequeñas, de 320 (225-450) de longitud y 136 (65-205) de ancho. Posee una gran ventosa apical de 85 (72-110) de ancho y cuatro acetábulos en forma de botridios, no divididos, con una ventosa accesoria cada uno. La longitud de los botridios es 82 (65-97) y el ancho 37 (28-55). La ventosa accesoria mide 47 (41-73) de ancho. El escólex suele verse completamente invaginado (Fig. 10 A y B). Ganchos ausentes, cuerpo de la larva no dividido con una gran cantidad de cuerpos calcáreos.

La región apical del escólex presenta espinitricos gladiados que alternan con filitricos capiliformes (11 B). Las superficies proximal y distal del botridio poseen filitricos capiliformes, pero en esta última son más pequeños y se encuentran en mayor densidad (11 C y D). La región anterior del cuerpo presenta espinitricos gladiados y filitricos capiliformes (11 E), en tanto las regiones media y posterior poseen sólo filitricos capiliformes (11 F y G).

Comentarios: Este morfotipo coincide según su morfología y morfometría con las larvas de tipo Phyllobothriidae halladas por Martorelli et al. (1999) en *A. longinaris* y *P. muelleri*. Las medidas se comparan en la Tabla 5.

Tabla 5. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval IX con la referencia bibliográfica. Las medidas se expresan en μm , salvo las medidas en mm tomadas por Martorelli et al. (1999).

	Martorelli et al (1999)	Presente estudio
Longitud total	0.36 (0.27-0.49)	320 (225-450)
Ancho máximo	0.14 (0.07-0.20)	136 (65-205)
Ancho ventosa apical	0.09 (0.07-0.13)	85 (72-110)
Longitud/ancho botridio	0.033 (0.020-0.5)/0.04 (0.02-0.05)	82 (65-97)/37 (28-55)
Ancho ventosa accesoria	0.05 (0.04-0.07)	47 (41-73)



Fig 10. Morfotipo larval IX hallado en *A. longinaris* (40x).

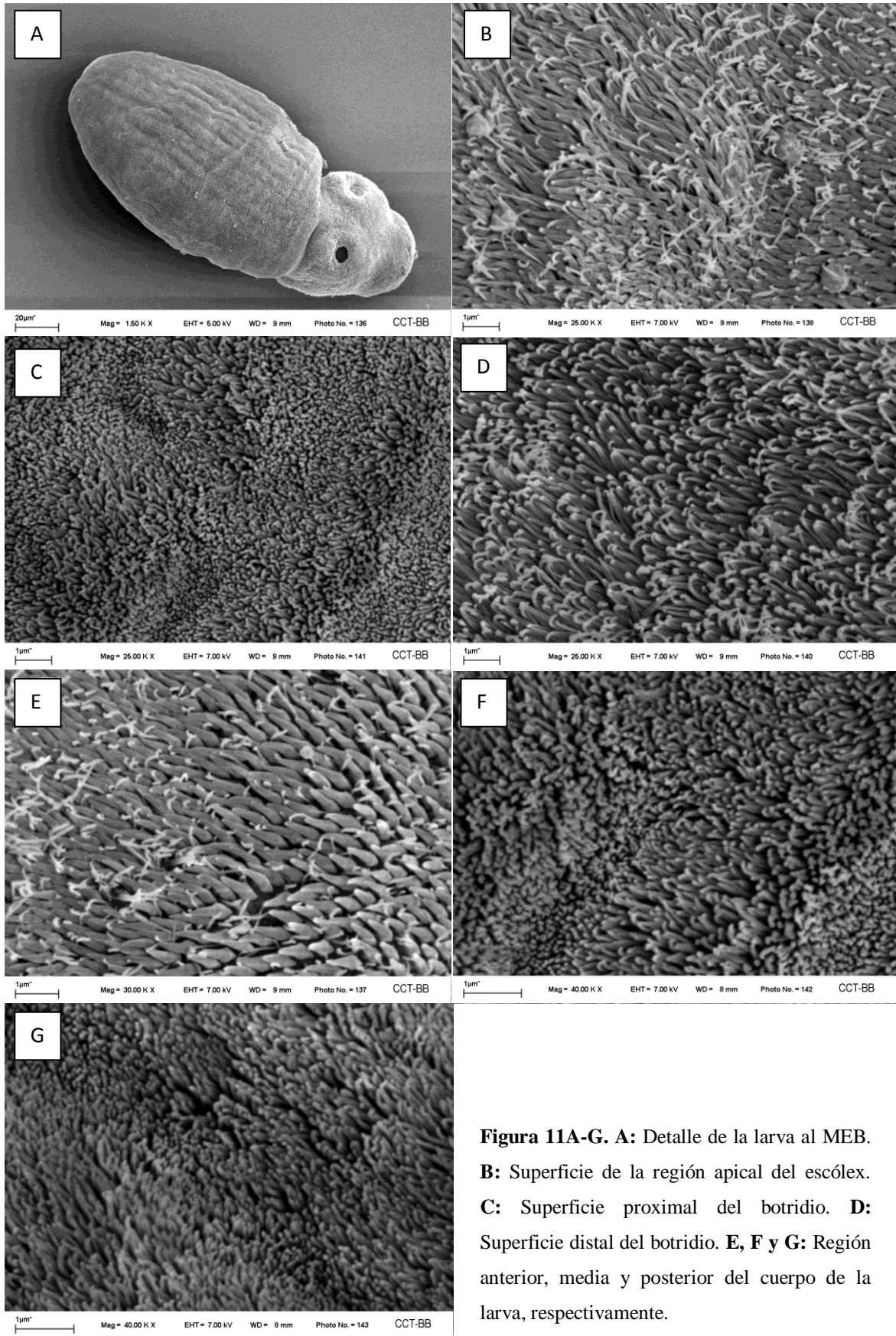


Figura 11A-G. **A:** Detalle de la larva al MEB. **B:** Superficie de la región apical del escólex. **C:** Superficie proximal del botridio. **D:** Superficie distal del botridio. **E, F y G:** Región anterior, media y posterior del cuerpo de la larva, respectivamente.

Morfotipos larvales hallados en Porichthys porosissimus

Morfotipo larval VI (Figs. 12 y 13)

Descripción: Larvas elongadas, su longitud total es de 1800 (1250-2020) y su ancho máximo de 447 (324-550). El escólex se diferencia del tronco por una suave constricción. Ocasionalmente puede verse parcialmente invaginado. El órgano de fijación consta de cuatro acetábulos en forma de ventosa, de 128 (98-200) de diámetro y una ventosa apical 97 (72-150) de ancho. El parénquima está densamente cargado de cuerpos calcáreos. En los ejemplares *in toto*, se observa por transparencia el recorrido de los conductos colectores longitudinales del sistema excretor, que desembocan en una pequeña ampolla posterior. Puede verse el pigmento rojo, entre el escólex y el tronco de la larva, cuando están vivas. Ventosa apical con filitricos capiliformes (13 B y C). Región apical del escólex con espinitricos gladiados (13 D). La superficie distal del acetábulo presenta espinitricos gladiados aristados (13 E), en tanto la superficie proximal posee espinitricos trulados (13 F). Región anterior del cuerpo con espinitricos coniformes (13 G) y la posterior presenta filitricos aciculares (13 H).

Sitio de infección: Estas larvas fueron halladas mayormente en la zona media del intestino de *P. porosissimus*.

Comentarios: Este morfotipo coincide según su morfología con el tipo larval VI (grupo G, *Anthobothrium*) de Jensen & Bullard (2010). Además, se corresponde con el metacestode tipo 4 de Chalmers et al. (2000) y con el morfotipo larval I hallado en *C. guatucupa* en el presente estudio. Sin embargo, las medidas del morfotipo larval VI difieren del resto, ya que se trata de la larva de mayor tamaño. Las medidas de los tipos larvales nombrados se comparan con el morfotipo VI hallado en *P. porosissimus* en la Tabla 6.

Tabla 6. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval VI con el morfotipo I y las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm .

	Jensen & Bullard (2010)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio Morfotipo I	Presente estudio Morfotipo VI
Longitud total	439-1600	657 (439-1240)	758 (312-1090)	1800 (1250-2020)
Ancho máximo	-	165 (100-235)	283 (110-460)	447 (324-550)
Ancho ventosa apical	46-114	41 (31-55) x 52 (41-71)	87 (75-120)	97 (72-150)
Longitud/ancho acetábulo	48-156/55-134	65 (51-90) x 61 (44-90)	106 (80-155)/89 (47-120)	128 (98-200)

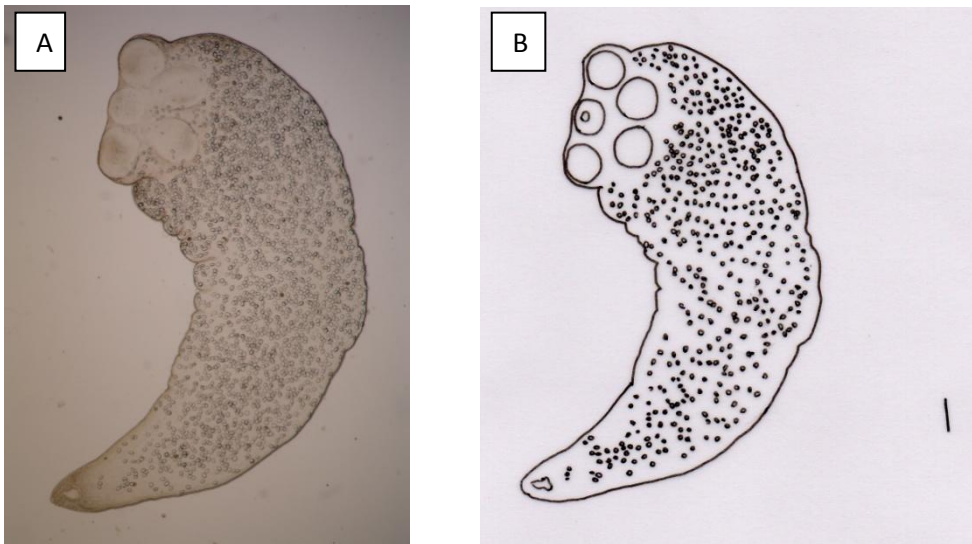


Fig 12 A y B. Morfotipo larval VI de *Porichthys porosissimus* (10X, escala: 100 μm).

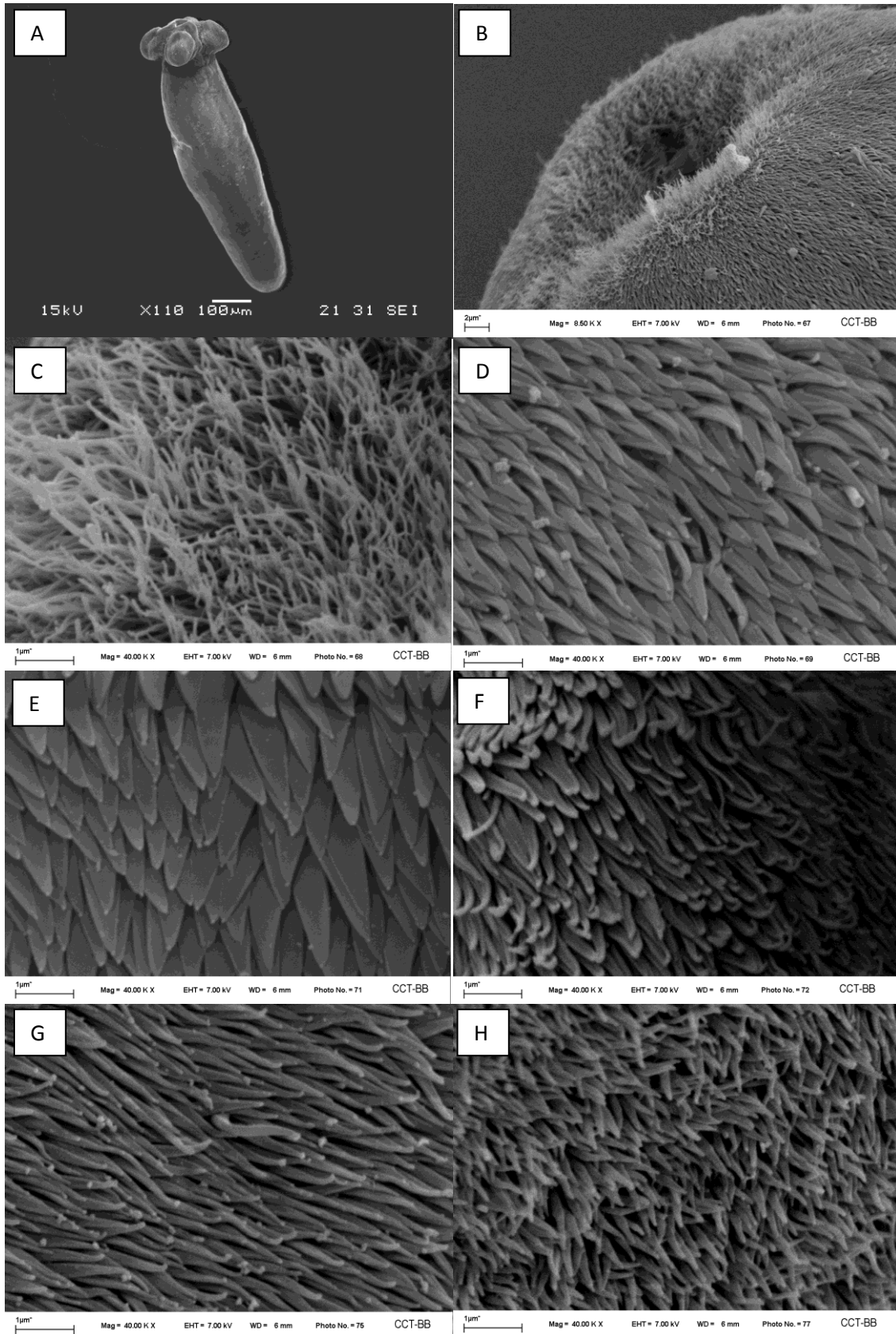


Figura 13A-H. **A:** Detalle de la larva entera al MEB. **B:** Ventosa apical. **C:**Detalle ventosa apical. **D:**Región apical del escólex. **E:** Región distal del acetábulo. **F:** Región proximal del acetábulo. **G y H:** Región anterior y posterior del cuerpo de la larva, respectivamente.

Morfotipolarval VII (Fig. 14 A-D)

Larvas elongadas de 509 (403-890) de longitud y 134 (76-187) de ancho máximo. Escólex con una ventosa apical y cuatro acetábulos en forma de botridios. Botridios divididos en dos lóculos. Ventosa apical grande de 59 (33-91) de ancho. Botridios ovales de 89 (46-118.7) de longitud y 59.1 (18-65) de ancho, sésiles en el extremo anterior y levemente libres en el extremo posterior. Márgenes de los botridios íntegros. Lóculo anterior semilunar, con margen posterior recto, ligeramente más estrecho que lóculo posterior (Fig. 14 C); botridio no retráctil. Ganchos no visibles. Cuerpo larval no dividido. Se encuentran pigmentadas de rojo en la zona anterior del cuerpo cuando están vivas. En la mayor parte del cuerpo presentan filitricos capiliformes (14 D).

Sitio de infección: Este tipo larval fue encontrado casi exclusivamente en la zona posterior del intestino del hospedador.

Comentarios: Coincide con el tipo larval I de Jensen & Bullard (2010) (grupo A, *Phoreiobothrium* y *Trilocularum*) y podría corresponderse también con el tipo larval 8 indeterminado de Chalmers et al. (2000). Además coincide con el morfotipo larval II hallado en *C. guatucupa*. Las medidas comparativas entre estos tipos larvales y el morfotipo VII hallado en el presente estudio, se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Datos comparativos morfométricos del morfotipo larval VII con el morfotipo II y las referencias bibliográficas. Las medidas se expresan en μm .

	Jensen & Bullard (2010)	Chalmers et al (2000)	Presente estudio Morfotipo II	Presente estudio Morfotipo VII
Longitud total	< 1.100	890 (534-1835)	614 (430-970)	509 (403-890)
Ancho máximo	-	161 (113-225)	156 (90-210)	134 (76-187)
Ancho ventosa apical	54-110	58 (39-97) x 100 (80- 142)	63 (20-87)	59 (33-91)
Longitud/ancho botridio	56-238/43-157	112 (94-138) x 72 (58- 90)	97 (30-122)/52 (17.5-67)	89 (46-118.7)/ 59.1 (18-65)

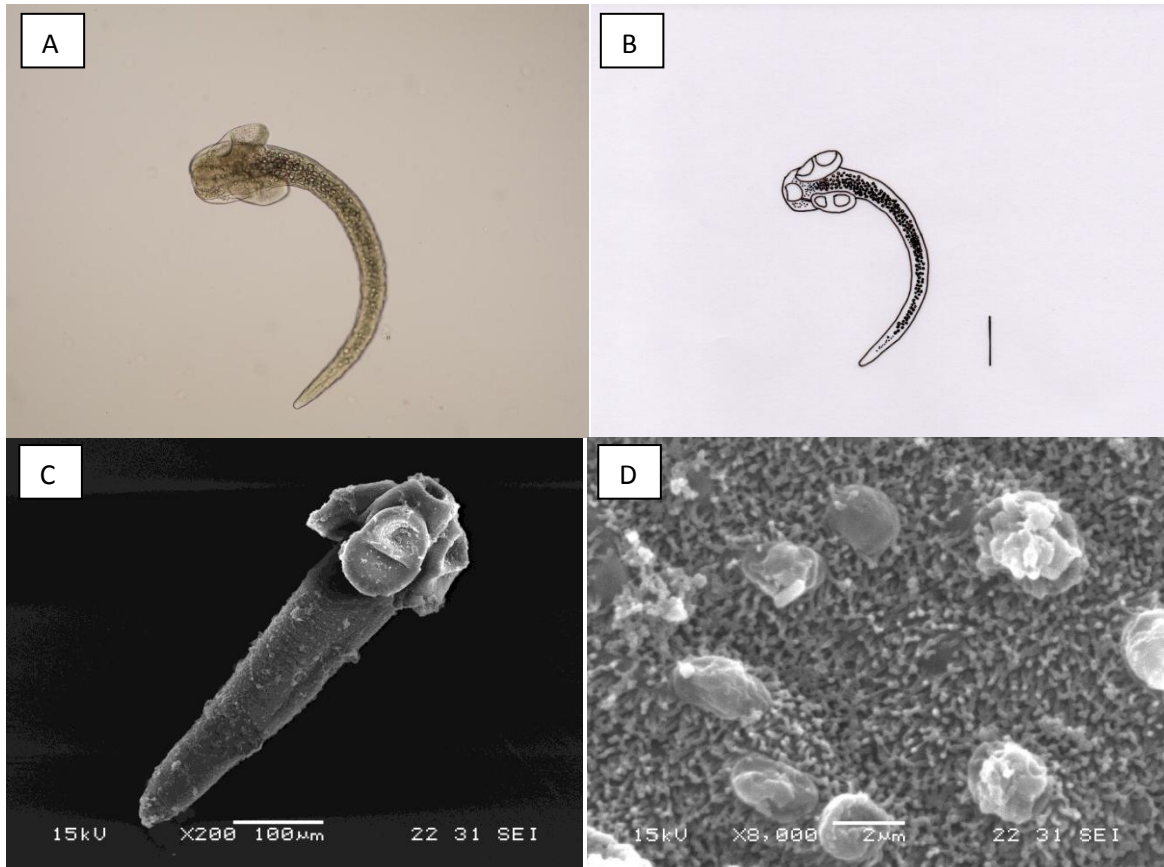


Figura 14 (A-D). A y B: Morfotipo larval VII presente en *P. porosissimus* (10x, escala: 100 μ m). C: Detalle de la larva al MEB. D: Región media del cuerpo.

Morfotipo larval VIII (Figs. 15, 16 y 17)

En *P. porosissimus* se halló un morfotipo larval, que en principio se denominó como tetraloculado y se sugirió que era similar al morfotipo larval IV de pescadilla. Se trata de una larva muy elongada, con acetábulos en forma de botridios y una ventosa apical. Sin embargo, se lo encontró en muy pocas oportunidades y sólo se pudieron registrar algunas fotografías en las que los botridios parecieran poseer tres lóculos y no cuatro (Fig.15). De hecho, el ejemplar seleccionado para los estudios al MEB demuestra la posesión de tres lóculos en los botridios (Fig. 16). No queda claro entonces, si se trata de diferentes morfotipos o de diferentes estadios ontogénicos dentro del mismo morfotipo larval.

Las siguientes medidas fueron tomadas en un sólo espécimen: 820 μm de longitud total y 122 de ancho. Ventosa apical de 55 μm de ancho. Botridio de 143.5 de longitud y 45 de ancho. Posee filitricos capiliformes en general, en las distintas zonas del tegumento que han sido observadas, los cuales disminuyen en altura y densidad en la región posterior del cuerpo (Figs. 17 A-F).

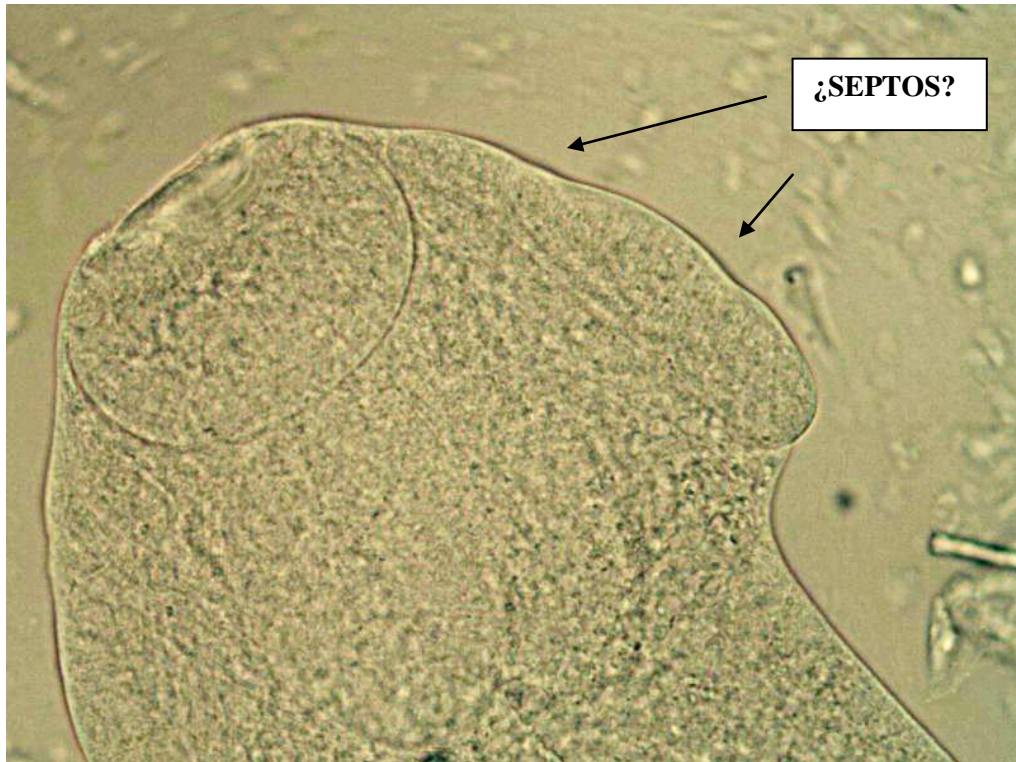
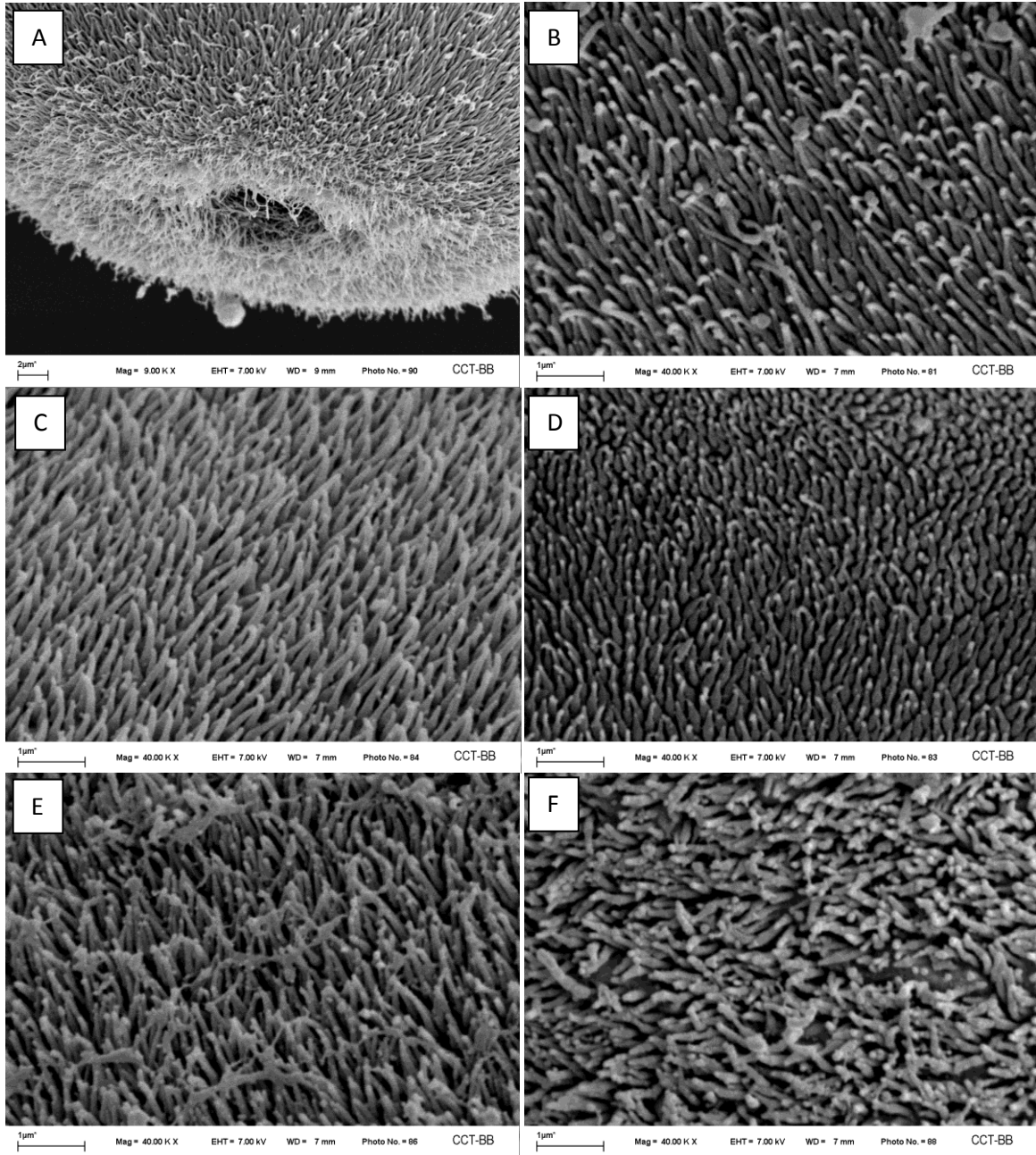


Figura 15. Morfotipo larval VIII hallado en *P. porosissimus* (40x).



Figura 16. Detalle del morfotipo larval VIII al MEB.



Figuras 17 (A-F). **A:** Detalle de la ventosa apical. **B:** Región apical del escólex. **C:** Superficie proximal del botridio. **D:** Superficie distal del botridio. **E:** Región anterior del cuerpo. **F:** Región posterior del cuerpo.

DISCUSION

Jensen & Bullard (2010) confeccionaron una clave para la determinación de los tipos larvales, como se mencionó anteriormente. A través de los resultados que obtuvieron en sus estudios, diferenciaron: larvas cuyo escólex (conteniendo una ventosa apical y cuatro acetábulos, en ocasiones facialmente loculados) puede retraerse completamente dentro del escólex como pertenecientes al orden Rhinebothriidea; en tanto, las larvas cuyos acetábulos no se retraen dentro del escólex son probables miembros del orden Tetrphyllidea. Los morfotipos larvales hallados y analizados en el presente estudio fueron comparados con los descritos por dichos autores. Además, se relacionaron con los metacestodes que describieron Chalmers et al. (2000), parásitos de teleósteos colectados en Australia (Heron Island, The Great Barrier Reef). Chalmers et al. (2000) a través de sus estudios sobre la morfología y la implementación de técnicas de cultivo *in vitro* hallaron 11 tipos de metacestodes diferentes llegando a la determinación genérica de ocho de ellos. Cake (1976) realizó una clave también, para estadios larvales presentes en moluscos bentónicos del Golfo de México, a través de caracteres morfológicos. Sin embargo, se optó por comparar los morfotipos del presente estudio con los resultados de Jensen & Bullard (2010) y Chalmers et al. (2000) porque realizaron el estudio de la morfología respaldados con estudios moleculares y cultivos *in vitro*, respectivamente.

Cabe aclarar que los tipos larvales documentados en la bibliografía se encuentran referidos a zonas geográficas particulares (diferentes a la abarcada en el presente estudio) y a un número limitado de hospedadores. Por tal razón, las relaciones halladas con los morfotipos larvales de este trabajo no son concluyentes.

Los morfotipos larvales I y VI, de *C. guatucupa* y *P. porosissimus* respectivamente, se relacionaron con los tipos larvales asignados a *Anthobothrium* por Jensen & Bullard (2010). Los autores caracterizan este tipo larval por poseer el escólex con cuatro acetábulos en forma de ventosas y una ventosa apical de igual tamaño o ligeramente más ancha que los acetábulos. Chalmers et al. (2000) designan al metacestode tipo 4 de su estudio como *Anthobothrium* y lo describen por poseer botridios uniloculares que luego, durante el cultivo *in vitro*, comienzan a elongarse. Luego de tres semanas de cultivo no observaron el desarrollo de ganchos, pero sí evidenciaron que los botridios se vuelven levemente pedunculados. Además, se produjo la degeneración de la ventosa apical.

Los microtricos de los morfotipos larvales I y VI difieren tanto en el tipo como en el patrón de distribución, lo que evidenciaría diferencias interespecíficas dentro del género. En los adultos del género *Anthobothrium* se han descrito espinitricos gladiados y filitricos capiliformes (Chervy, 2009), sin embargo no debería tomarse esta información como referencia para relacionar con las características del tegumento de las larvas, ya que se ha comprobado que ocurren cambios ontogenéticos complejos tanto en la morfología como en la distribución de los microtricos (Caira & Rhunke, 1991; Fyler, 2007). Por esta misma razón, en la presente discusión no se relacionará el tegumento de adultos con el de los estadios larvales.

En Argentina, se describió el estadio adulto de *Anthobothrium galeorhini* Suriano, 2002 en *Galeorhinus galeus* (Linnaeus) (Carcharhiniformes: Triakidae) capturado en las costas de Puerto Madryn (Suriano, 2002).

Los morfotipos larvales II y VII, parásitos de *C. guatucupa* y *P. porosissimus* respectivamente, se vincularon con el tipo larval que Jensen & Bullard (2010) asignaron a los géneros *Phoreiobothrium* y *Triloculatum*, característicos por presentar una ventosa

apical, escólex con cuatro acetábulos en forma de botridios divididos en dos lóculos. Chalmers et al. (2000) identificó dos tipos de metacestodes con botridios biloculados, pero no los asignó a ningún género en particular. Los morfotipos II y VII concuerdan en presentar microtricos capiliformes en la mayoría de su tegumento, sin embargo debería profundizarse el estudio en el morfotipo VII para que la comparación sea exhaustiva.

Tanto *Triloculatum* como *Phoreiobothrium* son dos géneros que no han sido citados aún en el Atlántico sudoccidental.

Los morfotipos hallados en *Artemesia longinaris* (V y IX) coinciden morfológica y morfométricamente con los hallados por Martorelli et al. (1999) en el mismo hospedador (larva tipo Echeneibothriinae y larva tipo Phyllobothriidae, respectivamente).

Según lo expuesto anteriormente por Jensen & Bullard (2010), el morfotipo larval V del presente estudio pertenecería al orden Rhinebothriidea debido a que retraen los botridios dentro del escólex y justamente, los miembros de Echeneibothriinae pertenecen actualmente al orden Rhinebothriidea (Healy et al., 2009). Jensen & Bullard (2010) incluyen dentro de este grupo a larvas de los géneros *Rhinebothrium* y *Spongiobothrium* Linton, 1889; cuyos botridios presentan más de cinco lóculos y se encuentran organizados en una o más columnas. En el morfotipo V hallado en el presente estudio, no se evidencian los lóculos y no puede predecirse si los desarrollará o no, ya que el orden Rhinebothriidea abarca tanto especies con septos faciales y/o marginales como sin ellos (Healy et al. 2009). Este morfotipo también concuerda con el metacestode tipo 5 de Chalmers et al. (2000), quienes luego de 24 hs. de cultivo *in vitro*, observaron que los botridios se evaginan desde dentro del escólex y se encuentran divididos en numerosos lóculos por un simple septo longitudinal y varios septos transversos. Además, luego de 48 hs., observaron el pedúnculo cefálico de los botridios (característico del orden Rhinebothriidea (Healy et al., 2009)) y el

septo que se origina en todos los tipos larvales para separar el escólex del cuerpo de la larva. En 72 hs. pudieron observar la degeneración de la ventosa apical.

El morfotipo IX formaría parte de los tetrafilídeos debido a que los botridios no se encuentran retraídos dentro del escólex (según Jensen & Bullard, 2010). En el presente estudio, se observó que la mayoría de los morfotipos larvales invaginan y evaginan el escólex dentro del cuerpo cuando se movilizan, sin embargo en el morfotipo V los botridios se encuentran retraídos de manera constante dentro del escólex.

Martorelli et al. (1999) observaron que las larvas tipo Phyllobothriidae se encuentran dentro de un quiste. En el presente estudio se hallaron estructuras parecidas a quistes en el morfotipo larval IX (Fig 10 A), sin embargo aún no se ha estudiado la naturaleza de esta estructura. Jensen & Bullard (2010) describen el estadio larval definido históricamente como *Phyllobothrium delphini* (Bosc, 1802) Van Beneden, 1868 (*specie inquirenda*) con botridios no divididos y foliados. Por lo tanto, el morfotipo larval IX no representaría el mismo tipo larval, a menos que desarrolle la característica foliada en un estadio ulterior.

El morfotipo larval VI, hallado en *C. guatucupa*, coincide con los tipos larvales descritos y asignados a *Acanthobothrium* por Jensen & Bullard (2010) y Chalmers et al. (2000). Luego de 72 hs. de cultivo *in vitro*, este tipo larval desarrolla los ganchos característicos de este género (Chalmers et al., 2000). Holland et al. (2009) realizaron cultivo *in vitro* de una larva pleroceroide que hallaron en el anfiexo de Florida, donde también evidenciaron a las pocas horas la aparición de ganchos en los botridios. Estos autores pudieron verificar la identidad genética de la larva, *Acanthobothrium brevissime* Linton, 1908, al comparar sus secuencias (18S y 28S rDNA) con aquellas obtenidas de estadios adultos parasitando rayas de la misma zona geográfica.

En el Atlántico sudoccidental han sido registradas 2 especies de *Acanthobothrium*: *A. marplatensis* Ivanov & Campbell, 1998 y *A. zapteryx* Ostrowski de Núñez, 1971 parásitos de *Atlantoraja castelnaui* (Rajiformes: Rajide) y *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle) (Rhinoprístiformes: Rhinobatidae), respectivamente.

El morfotipo larval VIII, de *P. porosissimus*, podría relacionarse con el morfotipo 1 descrito por Chalmers et al. (2000), caracterizado por poseer botridios triloculados y una ventosa apical. Los autores, luego del cultivo *in vitro*, observaron el desarrollo de un septo dividiendo el escólex del cuerpo de la larva junto con el desarrollo de un par de ganchos bifurcados entre el primer y segundo lóculo de cada botridio. De acuerdo a estas características asignaron el tipo larval a *Uncibilocularis* Southwell, 1925. Jensen & Bullard (2010), en su clave para identificar los tipos larvales, hacen referencia a este género y afirman que posee un escólex con cuatro acetábulos en forma de botridios, estos botridios se encuentran divididos por tres lóculos y poseen ventosa apical. Los hospedadores donde se encontró este morfotipo pertenecen a las familias de teleósteos Serranidae y Labridae (Chalmers et al., 2000). *Uncibilocularis* no ha sido registrado aún en el Atlántico sudoccidental.

Con respecto a los microtricos observados en este estudio, Chervy (2009) sostiene que los filítricos aciculares y capiliformes parecen estar ampliamente distribuidos, incluso en diferentes órdenes de cestodes. Los espinítricos gladiados y coniformes presentan una gran variedad en tamaños y se caracterizan por ser las formas de espinítricos más comunes, habiéndose hallado cada uno de ellos en la mayoría de los órdenes de cestodes. Chervy (2009) prevé que exista algo de variación adicional en la forma de estas estructuras (especialmente en los espinítricos) y es precisamente lo que se observa en los morfotipos

estudiados en el presente trabajo, en los cuales los microtricos presentan ciertas modificaciones que no se encuentran contempladas en la bibliografía.

En Argentina, Ivanov (2004) analizó la ultraestructura del tegumento de estadios adultos de las especies *Calliobothrium australis* Ostrowski de Nuñez, 1973; *C. barbarare* Ivanov & Brooks, 2002; *C. lunae* Ivanov & Brooks, 2002; *Acanthobothrium ramiroi* Ivanov, 2005 y *Acanthobothrium* sp., entre otras. La autora observó la existencia de un patrón de microtricos consistente para cada género y que cada especie presentó características únicas en relación al tamaño y densidad de los microtricos. Concluye que el patrón de microtricos debe utilizarse con cautela en las diagnósis genéricas, ya que puede ser estrictamente diagnóstico para algunos géneros (por ejemplo, *Rhinebothroides*), pero también puede ser común a géneros diferentes (en el caso de *Acanthobothrium* y *Calliobothrium*, por ejemplo).

Jensen & Bullard (2010) expresan que parece imposible conciliar a los distintos tipos de larvas articulando gran parte de los 200 años de literatura que existe sobre el tema. Sin embargo, los datos que provee la bibliografía continúan siendo de gran valor para la investigación de los ciclos de vida de cestodes. Los antecedentes documentados han provisto de una amplia gama de morfologías de larvas y una variedad de nombres asociados para estas formas (por ejemplo, Linton, 1897; Dollfus, 1929, 1964; Yamaguti, 1934). Desafortunadamente, muchos de estos nombres se han aplicado inconsistentemente entre los autores. Así como se encuentra en la bibliografía la misma denominación para diferentes larvas (*Scolex pleuronectis* para larvas uniloculadas y trilocoladas (Reimer, 1975)), también se encuentra que la misma forma larvaria fue definida por diferentes autores con denominaciones distintas (por ejemplo, Curtis (1911) utilizó *Scolex polymorphus* para una larva trilocolada mientras Reimer (1975) utilizó *Scolex pleuronectis*

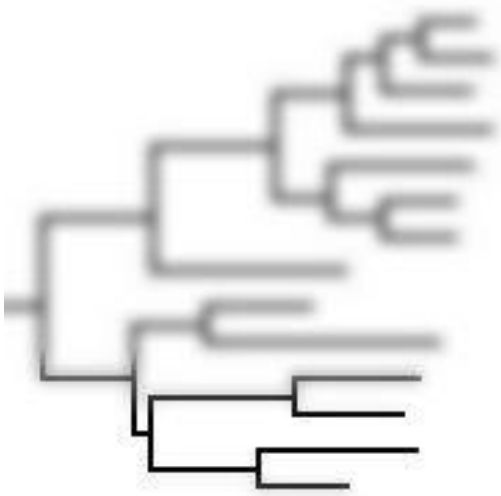
para la misma forma larvaria). Incluso en algunos casos, aparecen denominaciones sub-específicas. Por ejemplo, Dollfus (1974) utilizó *Scolex polymorphus unilocularis*, *Scolex polymorphus bilocularis* y *Scolex polymorphus trilocularis* para larvas que poseían botridios con uno, dos y tres lóculos, respectivamente (Jensen & Bullard, 2010).

Evidentemente existe una variabilidad dentro de cada morfotipo y puede deberse a la variabilidad intraespecífica, como sucede con especímenes de *P. delphini* de la misma localidad (Agustí et al. 2005b, Aznar et al. 2007). Así mismo, varios géneros pueden presentar esencialmente el mismo morfotipo larval, por ejemplo: las larvas con cuatro botridios, cada una subdividida en cuatro lóculos se atribuyeron a *Calliobothrium* por Linton (1905), pero también a *Acanthobothrium* por Cake (1977). Friedl y Simon (1970) han sugerido que tales larvas podrían pertenecer a otros géneros, como a *Onchobothrium* de Blainville, 1828 y Cairns (1987) añadió *Acanthobothroides* Brooks, 1967 a la lista de los géneros posibles para esta forma larval (Jensen & Bullard, 2010).

En el presente estudio, la clasificación larval propuesta por Jensen & Bullard (2010) resultó de suma utilidad para identificar dentro de qué agrupamiento genérico puede situarse un morfotipo, pero como un mismo morfotipo puede representar varios géneros como hemos visto (por ejemplo el tipo larval II con *Triloculatum* y *Phoreiobothrium*), resultó imperioso, en las presentes investigaciones, realizar estudios moleculares.

Capítulo II

Caracterización molecular de los estadios larvales y reconstrucción parcial de los ciclos de vida



INTRODUCCIÓN

Los cestodes han adquirido una serie de notables innovaciones durante la evolución que ejemplifican la naturaleza y el éxito de su estilo de parasitismo: i) la adopción de ciclos de vida complejos, que implica la transmisión trófica de los estadios de vida involucrando al menos dos hospedadores; (ii) la evolución de un tegumento permeable, lo que permite la absorción de nutrientes del hospedador en ausencia de un intestino, (iii) una alta fecundidad, y (iv) poseer una considerable longevidad, una vez que residen en sus hospedadores definitivos (vertebrados). Sin dudas, se requiere la resolución de la filogenia del grupo para apreciar cuándo, cómo y dónde estas novedades evolutivas han aparecido y como se irradiaron a partir de entonces (Waeschenbach et al., 2012). Los esfuerzos basados principalmente en el análisis comparativo de la morfología y el estudio de sus moléculas, han avanzado considerablemente nuestra comprensión de la sistemática y la evolución de los cestodes (Hoberg et al., 1997a; 1999; Caira et al., 1999, 2001) y más generalmente de su posición dentro del Phylum Platyhelminthes (Littlewood et al. 1999; Littlewood & Olson, 2001). Históricamente, el uso de los datos moleculares para el estudio de las relaciones entre tenias se limitó, en gran medida, a las especies de importancia médica y económica (Mariaux, 1996; Mariaux & Olson, 2001) para dar lugar al estudio de la sistemática de una mayor diversidad dentro del grupo (Olson et al., 1999; Zehnder y Mariaux, 1999; Kodedova et al., 2000). Los primeros estudios sobre sistemática molecular de cestodes fueron realizados por Mariaux (1998), Littlewood et al. (1999), Olson & Caira (1999) y Mariaux & Olson (2001); fundando las bases para el estudio de las interrelaciones a nivel ordinal. Los genes utilizados en un principio fueron el 18S (SSU) y el 28S (LSU) del ADNr, con sus secuencias completa e incompleta, respectivamente.

En un intento de resolver las relaciones existentes a nivel ordinal de tenias, generados a través de genes de ARN ribosomal nuclear, Waeschenbach et al. (2007, 2012) plantearon la utilización de fragmentos contiguos de ADN mitocondrial sumados a secuencias completas del 28S ADNr. Hoy en día se utilizan diferentes genes, mitocondriales y nucleares e incluso estudios en los que conjugan los datos de secuencias provenientes de más de un gen (Healy et al., 2009; Olson et al., 2010). En síntesis, la aplicación de estas herramientas moleculares y los resultados obtenidos a través de ellas, han cuestionado en varias oportunidades las ideas basadas en la morfología y en las asociaciones del hospedador, dando lugar a un cambio fundamental en la comprensión de las relaciones dentro de los cestodes (Caira et al., 2012). Sin embargo, y en búsqueda de un consenso sobre cómo abordar la investigación en sistemática, los trabajos y tratamientos sistemáticos que emplean en su estudio la conjunción de ambas técnicas de estudio, tanto morfológicas como moleculares, son los que obtienen sin lugar a dudas, los resultados más certeros y confiables (Caira, 2010).

El conocimiento de las interacciones tróficas dentro de un sistema en estudio proporciona las claves necesarias para la identificación de las diversas rutas de transmisión explotadas por los parásitos que se transmiten con el alimento. De hecho, la presencia de un parásito adulto en el tracto digestivo del hospedador definitivo y de la larva correspondiente en el hospedador intermediario, provee evidencia convincente de la relación trófica entre ambos hospedadores (Randhawa & Brickle, 2011). Hasta hace poco tiempo, el esclarecimiento de los ciclos de vida de cestodes marinos se vio obstaculizado, debido a la falta de caracteres morfológicos necesarios para lograr la identificación específica de los estadios larvales (Olson & Tkach, 2005). Sin embargo, el advenimiento y aplicación de las herramientas moleculares nos han permitido superar estas dificultades.

Hasta la fecha, son varios los trabajos que se caracterizan por aplicar este tipo de técnicas en la búsqueda de coincidencias en la identificación de estadios larvales de cestodes y su potencial adulto parásito de peces elasmobranquios. Brickle et al. (2001) generaron 626 pb del rDNA 28S de formas larvales encontradas en el calamar patagónico (*Doryteuthis gahi* (d'Orbigny) frente a Islas Malvinas, en el sudoeste del océano Atlántico. Agustí et al. (2005a) generaron 486 pb del rDNA 28S (región D2) de larvas encontradas en el delfín rayado (*Stenella coeruleoalba* (Meyen)) en el oeste del mar Mediterráneo. Aznar et al. (2007) generaron 515 pb del rDNA 28S (region D2) larvas halladas en tres especies de cetáceos, el delfín rayado (*S. coeruleoalba*), el delfín de Risso (*Grampus griseus* (Cuvier)) y el delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus* (Montagu)), también en el mar Mediterráneo. Holland et al. (2009) generaron 725 pb del rDNA 28S y 2067 pb del rDNA 18S de larvas provenientes del anfióxico de Florida (*Branchiostoma floridae* Hubbs) en el Golfo de México. Holland y Wilson (2009) generaron 720 pb del rDNA 28S (region D2) de larvas halladas en el bivalvo *Ensis minor* (Chenu), también de la misma localización geográfica. Jensen & Bullard (2010) tomaron muestras de numerosos *taxa* de vertebrados e invertebrados marinos, hospedadores intermediarios y/o paraténicos de estadios larvales de cestodes, abarcando una gran variedad de ítems presas potenciales de elasmobranquios en el Golfo de México. Utilizando un enfoque molecular, los autores identificaron con éxito organismos que juegan un papel en la transmisión trófica de estos cestodes a sus hospedadores definitivos.

En todos los casos, la identificación ya sea genérica o específica, fue acertada y todas las larvas descritas pertenecieron al orden Tetrphyllidea, excepto por un tripanorrinco larval investigado por Brickle et al. (2001) y por el trabajo de Jensen & Bullard (2010) que incluyó algunos especímenes pertenecientes al orden Rhinebothriidea, establecido hace algunos años para un subconjunto de taxones que anteriormente se

hallaban comprendidos dentro de la subfamilia Rhinebothriinae del orden Tetraphyllidea (Healy et al. 2009). Finalmente, Randhawa & Brickle (2011), caracterizaron desde el punto de vista molecular, especímenes adultos de cestodes tetrafilídeos que parasitan al tiburón sardinero (*Lamna nasus* (Bonnaterre)), y los asociaron con los estadios larvales, cuyas secuencias fueron descritas por Brickle et al. (2001) en Islas Malvinas.

A pesar de estos descubrimientos y en el acertado énfasis puesto en los últimos tiempos en aclarar los ciclos de vida de los cestodes marinos, la exactitud y el potencial impacto de este tipo de trabajos se ve limitado por la escasa disponibilidad de datos moleculares comparables de adultos, como así también de distintas localidades geográficas (Jensen & Bullard, 2010; Randhawa & Brickle, 2011; Randhawa, 2011). Debido a esto, Jensen & Bullard (2010) sostienen que incluso en los casos de una identidad de secuencia del 100%, no necesariamente debe asumirse la conespecificidad. Así mismo, cuando no hallamos secuencias idénticas, no resulta fácil discernir si esas diferencias indican: la presencia de especies diferentes, errores de la secuencia o variación intraespecífica.

El presente estudio se centró en una región específica del gen 28S del ADNr, la D1-D3 (de aproximadamente 1300 nucleótidos de longitud), por ser la más utilizada en la literatura consultada para la identificación de cestodes larvales (Brickle et al., 2001; Reyda & Olson, 2003; Agustí et al., 2005a; Aznar et al., 2007; Holland et al., 2009; Holland & Wilson, 2009; Jensen & Bullard, 2010; Cutmore, 2011; de Buron et al., 2013), ya que varía entre los congéneres de una diversidad de grupos de cestodes (Zehnder & Mariaux, 1999; Olson et al., 2001; de Chambrier et al., 2004; Caira et al., 2005; Waeschenbach et al., 2007) y además, ya están disponibles los datos de tales secuencias procedentes de un gran número de cestodes adultos marinos para poder cotejar los resultados que se obtienen de los estadios larvales (Olson et al., 2001; Bricke et al., 2001; Waeschenbach et al., 2007;

Randhawa et al., 2007; Healy et al., 2009; Cutmore 2011; Randhawa 2011; Randhawa & Brickle, 2011; Cutmore et al., 2011; Rhunke & Workman, 2013 y Ruhnke et al., 2015). En numerosos estudios se ha demostrado que el análisis de la secuencia parcial del gen ribosomal nuclear 28S junto con el correspondiente a la secuencia completa del 18S resultan de gran utilidad para resolver las relaciones inter e intragenéricas como también a un nivel taxonómico mayor, entre órdenes de cestodes (Olson et al., 1999, 2001). Caira et al. (2014) han utilizado ambas secuencias con el fin de aclarar la situación de los miembros del tradicional y problemático orden Tetrphyllidea y como resultado se ha logrado desglosar parte del mismo en dos nuevos órdenes: Onchoproteocephalidea y Phyllobothriidea.

Con el fin de proyectar el trabajo a realizar se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivos:

- Emplear técnicas moleculares como herramienta diagnóstica para asignar identidades a los estadios larvales.
- Identificar los estadios larvales con sus correspondientes adultos con el fin de reconstruir las tramas tróficas que involucran a los hospedadores estudiados y esbozar los posibles ciclos de vida.
- Analizar el rol que cumplen los hospedadores en la transmisión de los diferentes morfotipos de cestodes larvales en el estuario de Bahía Blanca.
- Utilizar los datos moleculares para elucidar conjuntos de características morfológicas que faciliten la identificación de las larvas y con ello poder resolver la problemática del grupo colectivo denominado *Scolex*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos moleculares a ser publicados requieren que sus secuencias estén depositadas en un repositorio de fácil y público acceso, como por ejemplo el EMBL, GenBank o DDBJ. Sin embargo, a medida que las bases de datos crecen, también se incrementa la preocupación sobre el origen taxonómico incierto de los datos depositados (Schander & Willassen, 2005; Nilsson et al., 2006; Peterson et al., 2007). Hoy en día, existe un gran número de secuencias depositadas en el GenBank, que han sido mal etiquetadas, y por lo tanto, cada vez que esas secuencias son asociadas con otras, llevan a resultados erróneos. Debido a esto, Pleijel et al. (2008), propusieron una nueva terminología para verificar la identidad taxonómica de los especímenes secuenciados, en base al depósito de *vouchers* en instituciones o museos, acompañados con identificaciones individuales.

Los *vouchers* constituyen un nexo esencial entre los datos y los taxones, ya que proporcionan un medio para verificar la identidad taxonómica de los especímenes secuenciados. Sin embargo, solo una minoría de las revistas científicas requieren que éstos sean depositados en museos u otras instituciones (Pleijel et al., 2008).

Con el fin de identificar los diferentes tipos de *vouchers*, Pleijel et al. (2008) sugieren los siguiente términos (con un valor jerárquico decreciente):

Hologenóforo: es una muestra o preparación del mismo organismo individual. Una parte es usada para el estudio molecular, en tanto la parte restante es depositada como *voucher* (por ejemplo, el escólex en cestodes larvales es utilizado como *voucher* y el resto del cuerpo se utiliza para el análisis).

Isogenóforo: es un organismo diferente, pero considerado un clon del organismo estudiado (por ejemplo, cuando son originados los dos a partir de una reproducción asexual).

Progenóforo: es un progenitor, descendiente o hermano del organismo estudiado, originados de una reproducción sexual.

Paragenóforo: es un organismo individual, colectado en el mismo momento y lugar que el organismo en estudio e identificados por el autor como pertenecientes a la misma unidad taxonómica operativa. El voucher en este caso, es otro individuo que el utilizado para el estudio molecular, sin embargo, dado que se recoge al mismo tiempo y de la misma localidad, se considera probable que pertenezcan a la misma población.

Syngenóforo: es cualquier otro organismo identificado como perteneciente a la misma unidad taxonómica operativa que el organismo en estudio. Pero puede provenir de una localidad diferente y/o recogerse en una ocasión diferente del organismo utilizado para el estudio molecular.

En algunos estudios, puede que no sea posible depositar las muestras como fue esbozado anteriormente, por ejemplo, en el caso de organismos extraños o diminutos, donde el espécimen entero se utiliza para la extracción de ADN, y no hay disponibles muestras adicionales. Bajo estas circunstancias, la mejor conexión entre los datos moleculares y la morfología del espécimen original se logrará a través de fotografías o dibujos detallados del espécimen vivo. Estos pueden ser depositados como partes del *voucher*, o como sustituto de especímenes, si esa es la única alternativa.

En un principio, en el presente estudio, se intentó extraer ADN de la región posterior de cada larva individual, conservando el escólex como hologenóforo. Sin embargo, al no obtener cantidades cuantificables de ADN, se optó por utilizar la larva entera para la extracción y destinar las fotografías color y los dibujos para depositar en colección junto con paragenóforos.

Especímenes analizados y tratamiento de las muestras

El ADN genómico total se extrajo de especímenes individuales (tomando una réplica de cada morfotipo, designada B) colectados y mantenidos vivos hasta el momento del procesamiento. Algunos ejemplares obtenidos vivos, fueron fijados en etanol 100% con el fin de almacenarlos en colección.

Extracción de ADN

La extracción de ADN genómico se realizó mediante el uso del kit DNeasy™ Blood & Tissue (= Dneasy™ Tissue) (Qiagen® GmbH, Alemania) utilizado ampliamente en el estudio molecular de cestodes (Lockyer et al., 2003; Reyda & Olson, 2003; Waeschenbach et al., 2007, 2012; Healy et al., 2009; Olson et al., 2010; Ruhnke & Workman, 2013; Caira et al., 2014) y en particular en cestodes larvales (Brickle et al., 2001; Olson et al., 2002; Literák et al., 2004; Agustí et al., 2005; Aznar et al., 2007; Holland et al., 2009; Holland & Wilson, 2009). Este es un sencillo método que consiste en una lisis directa, seguida de una fijación selectiva del ADN a una membrana de silicato. Los contaminantes e inhibidores enzimáticos son removidos mediante centrifugación. La lisis se logra utilizando proteinasa K, que cumple la función de digerir proteínas, remover contaminantes e inactivar nucleasas que podrían degradar el ADN durante el proceso. Los contaminantes restantes son removidos en lavados sucesivos y el ADN es eluído en agua libre de nucleasas o buffer (Fig. 18).



Figura 18. Detalle de los pasos a seguir en el protocolo de extracción (DNeasy® Blood & Tissue Handbook, 2006).

El proceso de extracción fue el siguiente:

Se colocó la larva viva en un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml y se adicionaron 180 μ l de buffer ATL. Luego se agregaron 20 μ l de proteinasa K y se mezclaron con vórtex durante 15 seg. Se incubó a 56 °C hasta que el tejido estuviera completamente lisado (aprox. 3 hs.) en un incubador rotatorio o mezclando ocasionalmente (cada 15 min.) con vórtex para dispersar la muestra.

En este paso, Agustí et al. (2005a) y Aznar et al. (2007) siguiendo las modificaciones realizadas por Olson et al. (2003) extienden el período de incubación toda una noche. En el presente estudio se respetó el protocolo del kit, debido al pequeño tamaño y fragilidad de las muestras.

Luego de mezclar con vórtex durante 15 seg., se adicionaron 200 µl de buffer AL. Se mezcló nuevamente con vórtex y se agregaron 200 µl de etanol absoluto (100%) con el fin de precipitar el ADN. Finalmente se agitó utilizando el vórtex. La mezcla resultante se colocó dentro de la columna DNeasy spin con un tubo de recolección de 2 ml. Se centrifugó a 6000 x g (8000 rpm) por 1 min., para luego descartar lo que pasó por la columna y quedó en el tubo de recolección. La columna de DNeasy spin se colocó en otro tubo de recolección de 2 ml y se añadieron 500 µl de buffer AW1. Se centrifugó por un minuto a 6000 x g (8000 rpm), descartando luego el tubo de recolección. Luego se colocó la columna de DNeasy spin en otro tubo de recolección de 2 ml y se añadieron 500 µl de buffer AW2. Se centrifugó por 3 min a velocidad máxima 20000 x g (14000 rpm) para secar la membrana de DNeasy, asegurando que no quede etanol residual y se descartó el tubo de recolección. Finalmente se realizó la elución, transfiriendo la columna a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 o 2 ml y se adicionó buffer AE (previamente incubado a 56 °C para aumentar la eficiencia).

Olson et al. (2003) realizaron la elución en 200 µl de buffer AE. En el presente estudio se utilizaron 50 µl del buffer para la elución, con el fin de concentrar el ADN. Si bien esto aumenta la concentración final de ADN en el eluido, disminuye su rendimiento, por esa razón se repitió este último paso con el fin de evitar la dilución del primer eluido.

Luego de la extracción, se conservó el tubo de microcentrífuga conteniendo el ADN a -20 °C hasta el momento de realizarse la amplificación.

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN de larvas individuales con el sistema automatizado MagNAPure Compact (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania) (Fig. 19) en IACA Laboratorios (Argentina). El principio es el mismo del método manual; pero se garantiza la ausencia de contaminación cruzada mediante filtros HEPA y descontaminación por rayos UV. Además, los reactivos se identifican mediante un código de barras, lo que permite su seguimiento durante todo el proceso. El procedimiento culmina en menor tiempo (30 minutos) y el ácido nucleico obtenido es altamente puro.

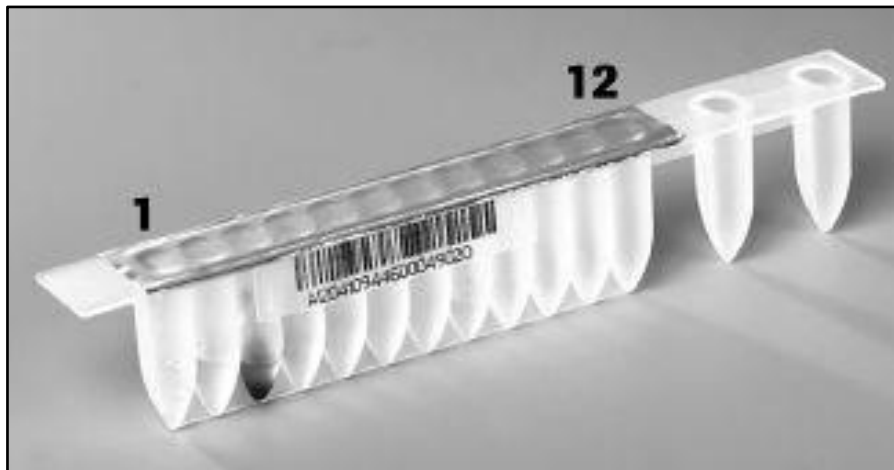


Figura 19. Detalle del Kit MagNa Pure Nucleic Acid Isolation, utilizado para procesar varias muestras en simultáneo.

El proceso de extracción fue el siguiente:

Se realizó la digestión previa del parásito colocando la larva viva en 200 µl de solución fisiológica y agregando 200 µl de reactivo de lisis (MagNa Pure DNA Tissue Lysis Buffer) y 20 µL de solución de proteinasa K (100 mg en 500 µl de agua calidad DNA).

Se incubó a 65°C por 24 horas (para lograr la digestión completa del parásito). Para inactivar la proteinasa K se incubó a 95°C 10 minutos. Luego se procedió a la extracción automática de ADN utilizando el equipo MagNa Pure Compact (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), utilizando el programa Total NA external lysis en un volumen final de elución de 50 µl.

El ADN no pudo ser cuantificado luego de la extracción, a pesar de utilizar un espectrofotómetro capaz de medir volúmenes pequeños, el Nanodrop 1000 (ThermoScientific, USA). A pesar de ello, se realizó la PCR, ya que la cantidad de ADN obtenida podía bien ser menor al límite de detección del espectrofotómetro, y sin embargo, ser suficiente y de buena calidad para poder ser amplificada.

Amplificación del ADN

El ADN extraído fue utilizado como molde para ser amplificado mediante PCR. Los *primers* utilizados fueron el LSU5 (5'-TAGGTCGACCCGCTGAAYTTAAGCA-3') y el 1200R (5'-GCATAGTTCACCATCTTTCGG-3') (Littlewood et al., 2000), dirigidos contra regiones conservadas del gen 28S del ADNr. El fragmento amplificado D1-D3, tiene un tamaño aproximado de 1300 pb. La amplificación se realizó utilizando el Tostar Taq Plus Master Mix Kit (Qiagen) de acuerdo al siguiente protocolo:

Agua libre de nucleasas -----16 µl

Qiagen Master Mix ----- 25 µl

Forward primer (10 mM) ----- 2 µl

Reverse primer (10 mM) ----- 2µl

Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95 °C 15 min., seguida de 30 ciclos de 94 °C 30 seg., 55 °C 30 seg., 72 °C 1 min. y una extensión final a 72 °C por 10 min.

Los productos de PCR se corrieron en un gel de agarosa al 1% (Promega) y las bandas se visualizaron al UV por tinción con bromuro de etidio. El objetivo fue comprobar la existencia de un solo producto del tamaño deseado. Los productos de PCR contienen restos de nucleótidos, *primers* y enzimas provenientes de la amplificación que pueden interferir en la reacción de secuenciación, por lo que se requiere de un paso previo de purificación. Los productos fueron purificados con Qiaquick PCR purification kit (Qiagen) a través de un proceso similar al de extracción de ADN. Luego fueron cuantificados con el espectrofotómetro NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, USA).

Secuenciación del ADN

La secuenciación es una técnica que tiene por finalidad la determinación del orden de los nucleótidos (A, G, C, T) en un fragmento de ADN. Esta reacción utiliza como molde el producto purificado de PCR. Ambas cadenas del molde pueden secuenciarse utilizando alternativamente el *primer* forward o reverse. Durante el ciclo de secuenciación se generan a partir del molde de ADN y por acción de la enzima ADN polimerasa, una mezcla de fragmentos de ADN de diferente longitud. Esto es posible gracias a la utilización de los llamados terminadores de cadena (ddNTPs, estos didesoxinucleótidos terminan la elongación de la cadena al carecer de un grupo 3'OH que se necesita para la formación del enlace fosfodiéster entre los nucleótidos durante la elongación de la cadena de ADN). El empleo de ddNTPs marcados con cuatro fluorocromos diferentes hace posible la detección de los productos generados.

La secuenciación se realizó por el método de Sanger mediante el empleo del kit BigDye™ Terminador v1.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, USA) en un equipo Verita Termal Cyler (Applied Biosystems). Los *primers* empleados fueron los mismos utilizados en la amplificación, pero además se adicionaron *primers* internos, 300F (5'CAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3') y EDC2 (5'CTTGGTCCGTGTTTCAAGACGGG-3') (Littlewood et al., 2000).

El protocolo utilizado fue el siguiente:

Agua libre de nucleasas-----	13.5 µl
Buffer secuenciación -----	3.5 µl
Mix secuenciación -----	1.0 µl
<i>Primer</i> (1 mM) -----	2.0 µl
ADN purificado (entre 10-40 ng por rx) -----	1.0 µl

Los ciclos térmicos fueron: una desnaturalización inicial a 96 °C 1 min., 25 ciclos de 96 °C 10 seg., 50 °C 5 seg. y 60 °C 4 min.

La purificación de los productos de secuenciación tiene por objeto eliminar los terminadores de cadena marcados no incorporados a la cadena de ADN. Fue realizada mediante el empleo de ZR DNA Sequencing Clean-up Kit (Zymo Research, USA).

La electroforesis capilar permite la separación por acción de un campo eléctrico de los fragmentos generados en la reacción de secuenciación. Los fragmentos cargados negativamente se separan de acuerdo a su tamaño. Antes de alcanzar el electrodo positivo las moléculas van a ser excitadas por un láser produciendo la emisión de luz por parte de los fluorocromos. Un dispositivo de detección óptica captura dicha fluorescencia y mediante un software se convierte la señal fluorescente en un dato digital. Dado que cada

colorante emite luz de diferente longitud de onda cuando es excitado por el láser, los cuatro colores correspondientes a cada una de las cuatro bases pueden diferenciarse. El equipo utilizado fue ABI 3500 (Applied Biosystems). Las secuencias fueron analizadas, seleccionando las regiones con información de alta calidad, usando el software Sequencing Analysis V.5.4. (ABI 3500, Applied Biosystems).

Análisis filogenético

Metodológicamente, un análisis filogenético se puede dividir en diferentes pasos:

- 1- Comparación de la secuencia objeto de estudio con una base de datos (NCBI) a través de BLAST y búsqueda de secuencias homólogas. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) es la herramienta más utilizada en bioinformática. Se utiliza para identificar secuencias incógnitas, inferir la relación entre especies, encontrar secuencias similares en la base de datos, entre otras aplicaciones (Schnittger & Jacobsen, 2011).
- 2- Alineamiento múltiple con secuencias de interés publicadas en la base de datos. En el presente estudio se utilizó MUSCLE, un programa utilizado para lograr una mayor precisión y una mejor velocidad promedio en su ejecución de acuerdo a las opciones elegidas, comparado con otras opciones como los softwares ClustalW2 o T-Coffee. Además, es el elegido para realizar en los últimos trabajos sobre filogenia de cestodes (Ruhnke et al. 2015).
- 3- Mejoramiento del alineamiento, mediante modelos de sustitución de nucleótidos para ADN/ARN.
- 4- Elección del método para la construcción del árbol. La filogenia molecular utiliza árboles para mostrar las relaciones evolutivas entre organismos, los mismos están basados en los datos de las secuencias de ADN. El método utilizado en este estudio para la construcción de árboles es uno de los métodos basados en caracteres y modelos, Máxima

Verosimilitud (MV), utilizado en la mayoría de los trabajos sobre cestodes parásitos de elasmobranquios.

5- Evaluación del árbol obtenido (*Bootstrapping*). El *bootstrapping* es un enfoque comúnmente utilizado para medir la robustez de la topología de un árbol. Valores de *bootstrap* \geq a 70 reflejan una fuerte señal filogenética y se consideran bien soportados (Schnittger & Jacobsen, 2011). Los valores de *bootstrap* en el presente estudio fueron calculados en base a 100 réplicas.

Máxima Verosimilitud (MV) es el método utilizado para el análisis de un set con una gran cantidad de secuencias y es conocido por brindar uno de los análisis más precisos, junto con Inferencia Bayesiana, en filogenética molecular (Dereeper et al., 2008). Debido a esto se lo utilizó para:

- realizar un análisis integral con el fin de dilucidar las relaciones filogenéticas entre y dentro de los órdenes Rhinebothriidea, Tetraphyllidea, Phyllobothriidea y Onchoproteocephalidea, posicionando entre ellos los morfotipos del presente estudio.
- el análisis minucioso abarcando cada una de las secuencias del Genbank relacionadas más cercanamente (secuencias homólogas) con las secuencias objeto de este estudio.

Para el análisis se utilizó la plataforma Phylogeny.fr (disponible en www.phylogeny.fr), que ofrece tres modos diferentes de ejecución, capaces de realizar desde simples y robustos análisis, construir y ejecutar aquellos de mayor complejidad y sofisticación y, además, permite ejecutar varios programas con diferentes opciones y verificar así la estabilidad de los resultados (Dereeper et al., 2008).

Para conformar los *ingroups* que se utilizarían en los diferentes análisis, se emplearon matrices que comprenden diversas secuencias de estadios larvales y especímenes adultos

de Tetrphyllidea, Rhinebothriidea, Onchoproteocephalidea y Phyllobothriidea, para los cuales la secuencia del 28S ADNr se encuentra disponible en el GenBank. Para realizar el análisis integral también se agregaron miembros del antiguamente llamado Proteocephalidea, ahora incluidos dentro del nuevo orden Onchoproteocephalidea, y dos miembros de Cathetocephalidea. Se incluyeron en esa matriz cuatro *outgroup* tomados del GenBank (dos representantes del orden Litobothriidea y dos del orden Lecanicephalidea). Los *taxa* cuyas secuencias fueron tomadas del Genbank se detallan en la tabla 8 (Anexo). Para el caso de los análisis de cada morfotipo junto con sus secuencias homólogas se tomó a dos miembros del orden Litobothriidea como *outgroup*, *Litobothrium amplifica* (Kurochkin & Slankis, 1973) Euzet, 1994 y *L. janovyi* Olson & Caira, 2001. Los nombres válidos de las especies, las sinonimias, la información referida a las autorías, los hospedadores e incluso los datos y archivos bibliográficos, fueron obtenidos de la base de datos global de cestodes (<http://www.tapeworms.uconn.edu/>Versión Junio 2015).

La reconstrucción parcial de los ciclos de vida se realizó en base a los registros bibliográficos de infecciones naturales de los distintos estadios de desarrollo en sus respectivos hospedadores, teniendo en cuenta las relaciones tróficas establecidas entre ellos.

RESULTADOS

Un total de 15 secuencias, correspondientes a la región parcial D1-D3 del gen 28S ADNr, fueron generadas a partir de los ocho morfotipos larvales hallados en los tres hospedadores estudiados. Las mismas, fueron comparadas con 155 secuencias obtenidas de Genbank (Tabla 8).

El análisis de Máxima Verosimilitud (MV) integral resultó en un filograma bien resuelto, con altos valores de *bootstrap* en la mayoría de los nodos clave donde se sitúan los diferentes morfotipos (Fig. 20). Sin embargo, en cuanto a la resolución de mayores niveles taxonómicos, existieron varios nodos pobremente sostenidos. Ninguna de las secuencias larvales coincidió 100 % con las secuencias registradas en el GenBank, por lo cual se logró descubrir la identidad únicamente a nivel de género. El árbol ilustra las interrelaciones entre las 42 especies incluidas en el análisis, además de los morfotipos larvales, y da como resultado un ordenamiento potencial de diferentes órdenes de cestodes parásitos al estado adulto de elasmobranquios. En él se vislumbran aquellos órdenes cuya condición monofilética se encuentra aceptada y, por lo tanto, confirma su estatus ordinal (Lecanicephalidea, Litobothriidea, Cathetocephalidea y Rhinebothriidea), a pesar de no haber incluido mayor número de especies de cada uno de ellos en el análisis. Rhinebothriidea se constituye como grupo hermano del gran clado formado por los órdenes remanentes y, a pesar de no estar esto fuertemente sostenido, las relaciones entre sus miembros sí se vieron fortalecidas con un alto valor de *bootstrap*.

En el caso particular del orden Tetraphyllidea su naturaleza polifilética es indiscutible. Inclusive, se evidencia no sólo este tipo de falta de monofilia ordinal sino también la no monofilia de géneros individuales, como *Proteocephalus* Weinland, 1858. A este género se lo halló cercanamente relacionado con *Acanthobothrium* Van Beneden,

1850 y los morfotipos larvales IV y VIII. Por otro lado, un grupo de tetrafilídeos con ganchos (*Balanobothrium* Hornell, 1911; *Pedibothrium* Linton, 1908; *Calliobothrium* Van Beneden, 1850 y *Symcallio* Bernot, Caira & Pickering, 2015) y sin ganchos (*Dinobothrium* Van Beneden, 1889 y *Ceratobothrium* Monticelli, 1892) se agruparon como un único grupo. En tanto, un gran clado formado por representantes del nuevo orden Phyllobothriidea (*Chimaerocestos* Williams & Bray, 1984; *Orygmatobothrium* Diesing, 1863; *Phyllobothrium* Van Beneden, 1849, *Calypbothrium* Monticelli, 1893; *Thysanocephalum* Linton, 1890; *Nandocestus* Reyda, 2008 y *Paraorygmatobothrium* Ruhnke, 1994) surgió como grupo hermano de *Crossobothrium* Linton, 1889 y *Trilocularia* Olson, 1867, dos géneros que permanecen dentro de los tetrafilídeos.

Las relaciones de los morfotipos larvales con los géneros más cercanos se observaron en este árbol integral, pero se detallan más adelante en cada análisis individual.

Todos los órdenes analizados poseen la característica de ser acetabulados, salvo Litobothriidea, sin embargo esa condición no se expresa en el árbol completamente, ya que Lecanicephalidea forma un clado con Litobothriidea en lugar de hallarse más cercano a los restantes órdenes con los que comparte dicha condición (Rhinebothriidea, Phyllobothriidea, Onchoproteocephalidea y Tetraphyllidea).

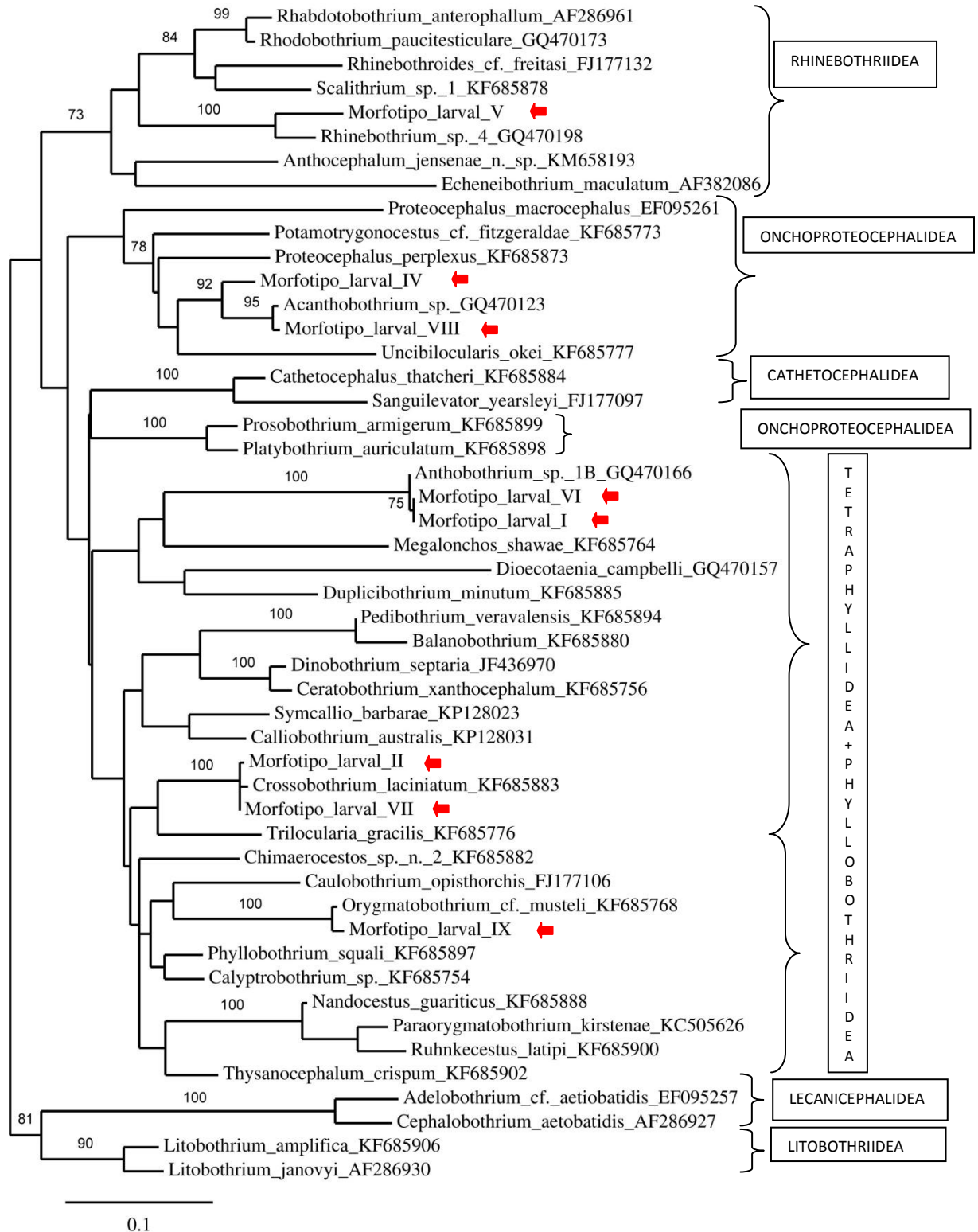


Figura 20. Árbol filogenético de MV integral, infiriendo las relaciones entre los distintos órdenes de cestodes e incluyendo a los morfotipos larvales del presente estudio. Los valores de *bootstrap* ≥ 70 se muestran en los nodos internos.

Asignación de identidades genéricas a los morfotipos larvales presentes en cada hospedador

Cynoscion guatucupa

- Morfotipo larval I

Identidad genérica: Anthobothrium Van Beneden, 1850

Orden: Tetracystida Carus, 1863

Comentarios: Las secuencias del morfotipo larval I presentaron un 99% de identidad con estadios adultos de *Anthobothrium* sp. 1B y *Anthobothrium* sp. 1C parásitos de *Carcharhinus limbatus* (Müller & Henle) (Carcharhiniformes: Carcharhinidae) y *Rhizoprionodon terraenovae* (Richardson) (Carcharhiniformes: Carcharhinidae), respectivamente. Además, demostraron el mismo porcentaje de identidad de secuencia (99%) con estadios plerocercoides presentes en *Trichurus lepturus* Linnaeus (Perciformes: Trichiuridae) y *Ariopsis felis* (Linnaeus) (Siluriformes: Ariidae). Estos hospedadores fueron capturados en el norte del Golfo de México (USA) y sus parásitos estudiados por Jensen & Bullard (2010). En la figura 21 se muestran los alineamientos realizados con BLASTn, entre las dos secuencias de adultos con la secuencia del morfotipo I (cada una de ellas con una diferencia en dos pb con esta última). Las relaciones filogenéticas establecidas se muestran en el árbol de MV (Fig. 22). El morfotipo I formó un clado único sostenido con el mayor valor de *bootstrap* (100) con todas las especies de *Anthobothrium* analizadas, incluido el morfotipo larval VI de *Porichthys porosissimus*. Se relacionó de manera estrecha con las especies mencionadas anteriormente, y se mostró un poco más alejada de las especies de *Anthobothrium* con las que comparte menor porcentaje de identidad de secuencia: *Anthobothrium* sp. 2A, *Anthobothrium* sp. 2B, *A. caseyi* Ruhnke & Caira, 2009 y *Anthobothrium* sp. n. 1. Además, todo el clado de *Anthobothrium* se

encontró más cercano a los tetrafilídeos *Ceratobothrium xanthocephalum* Monticelli, 1892 y *Dinobothrium* sp., en tanto demostró estar más alejado de *Myzocephalus* sp. y *Rhoptrobothrium* cf. *gambangii* Jensen & Caira, 2006; también del orden Tetracystida.

Los valores de *bootstrap* altos robustecieron estos resultados.

La secuencia del morfotipo I A difiere de la secuencia del morfotipo I B (réplica) sólo en un pb.

Anthobothrium sp. 1B KJ-2010 voucher MS05-435-2 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|GQ470166.1](#) Length: 1262 Number of Matches: 1
 ▶ See 1 more file(s)

Range 1: 365 to 994 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1153 bits(624)	0.0	628/630(99%)	0/630(0%)	Plus/Plus
Query 1	GAAGCCGATGCAAGTAAACGGGTGGCGCCAAGCTGCGGGCTTGGAGAATTCAGTTGGCT	60		
Sbjct 365	GAAGCCGATGCAAGTAAACGGGTGGCGCCAAGCTGCGGGCTTGGAGAATTCAGTTGGCT	424		
Query 61	AGGTTGCATGATGCGCTGACGCGCTATCGGTCGGAATAAGCAGTGATAGTCCACTGGT	120		
Sbjct 425	AGGTTGCATGATGCGCTGACGCGCTATCGGTCGGAATAAGCAGTGATAGTCCACTGGT	484		
Query 121	AAACGGTGGGCCCGGTGCAAGACTGGGATATGTGTACCGAGCGGAAGCCGGAGCATGCT	180		
Sbjct 485	AAACGGTGGGCCCGGTGCAAGACTGGGATATGTGTACCGAGCGGAAGCCGGAGCATGCT	544		
Query 181	ATCTATCTGTTGGACCGCTAGTCAGTGCACCTTCTCTATGGCCAAACACCGACCGGTA	240		
Sbjct 545	ATCTATCTGTTGGACCGCTAGTCAGTGCACCTTCTCTATGGCCAAACACCGACCGGTA	604		
Query 241	GTATTGCCAGTCTGCTGTAGCCAAAGTCGTATCTGATGGGCTTGTGGCTAATTGGGTGC	300		
Sbjct 605	GTATTGCCAGTCTGCTGTAGCCAAAGTCGTATCTGATGGGCTTGTGGCTAATTGGGTGC	664		
Query 301	GATCACAGGCAAATCCAGTGAACGGCGTAGGGTGGCTCTTCGGGGACGCTTTGCGTGTTA	360		
Sbjct 665	GATCACAGGCAAATCCAGTGAACGGCGTAGGGTGGCTCTTCGGGGACGCTTTGCGTGTTA	724		
Query 361	TCGGTAACTGGTTGTGATCGGGTCGCTTGTGCGCGAGTAACCGTTGTCAAGTGGCCTGG	420		
Sbjct 725	TCGGTAACTGGTTGTGATCGGGTCGCTTGTGCGCGAGTAACCGTTGTCAAGTGGCCTGG	784		
Query 421	TGGCTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGTACCGGGTTAGCGACCTCAATTGCTAT	480		
Sbjct 785	TGGCTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGTACCGGGTTAGCGACCTCAATTGCTAT	844		
Query 481	CTGCACGACGTTGCCAGTGTAAATGTGGGGATGGCGTAACCGTGGTCTGCCTGTTGTTG	540		
Sbjct 845	CTGCACGACGTTGCCAGTGTAAATGTGGGGATGGCGTAACCGTGGTCTGCCTGTTGTTG	904		
Query 541	AGTCTGATTGTCGTGTCGCCCGCAAAAAGTGGGCCCGGCGAGTGGCTTGTGCGGGATGGG	600		
Sbjct 905	AGTCTGATTGTCGTGTCGCCCGCAAAAAGTGGGCCCGGCGAGTGGCTTGTGCGGGATGGG	964		
Query 601	CTGTGGGCGTTGCTCTGGTGTGGACTGTA 630			
Sbjct 965	CTGTGGGCGTTGCTCTGGTGTGGACTGTA 994			

Anthobothrium sp. MS05-36-1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|GQ470168.1](#) Length: 1252 Number of Matches: 1

Range 1: 355 to 984 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1153 bits(624)	0.0	628/630(99%)	0/630(0%)	Plus/Plus
Query 1	GAAGCCGATGCAAGTAAACGGGTGGCGCCAAGCTGCGGGCTTGGAGAATTCAGTTGGCT	60		
Sbjct 355	GAAGCCGATGCAAGTAAACGGGTGGCGCCAAGCTGCGGGCTTGGAGAATTCAGTTGGCT	414		
Query 61	AGGTTGCATGATGCGCTGACGCGCTATCGGTCGGAATAAGCAGTGATAGTCCACTGGT	120		
Sbjct 415	AGGTTGCATGATGCGCTGACGCGCTATCGGTCGGAATAAGCAGTGATAGTCCACTGGT	474		
Query 121	AAACGGTGGGCCCGGTGCAAGACTGGGATATGTGTACCGAGCGGAAGCCGGAGCATGCT	180		
Sbjct 475	AAACGGTGGGCCCGGTGCAAGACTGGGATATGTGTACCGAGCGGAAGCCGGAGCATGCT	534		
Query 181	ATCTATCTGTTGGACCGCTAGTCAGTGCACCTTCTCTATGGCCAAACACCGACCGGTA	240		
Sbjct 535	ATCTATCTGTTGGACCGCTAGTCAGTGCACCTTCTCTATGGCCAAACACCGACCGGTA	594		
Query 241	GTATTGCCAGTCTGCTGTAGCCAAAGTCGTATCTGATGGGCTTGTGGCTAATTGGGTGC	300		
Sbjct 595	GTATTGCCAGTCTGCTGTAGCCAAAGTCGTATCTGATGGGCTTGTGGCTAATTGGGTGC	654		
Query 301	GATCACAGGCAAATCCAGTGAACGGCGTAGGGTGGCTCTTCGGGGACGCTTTGCGTGTTA	360		
Sbjct 655	GATCACAGGCAAATCCAGTGAACGGCGTAGGGTGGCTCTTCGGGGACGCTTTGCGTGTTA	714		
Query 361	TCGGTAACTGGTTGTGATCGGGTCGCTTGTGCGCGAGTAACCGTTGTCAAGTGGCCTGG	420		
Sbjct 715	TCGGTAACTGGTTGTGATCGGGTCGCTTGTGCGCGAGTAACCGTTGTCAAGTGGCCTGG	774		
Query 421	TGGCTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGTACCGGGTTAGCGACCTCAATTGCTAT	480		
Sbjct 775	TGGCTATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGTACCGGGTTAGCGACCTCAATTGCTAT	834		
Query 481	CTGCACGACGTTGCCAGTGTAAATGTGGGGATGGCGTAACCGTGGTCTGCCTGTTGTTG	540		
Sbjct 835	CTGCACGACGTTGCCAGTGTAAATGTGGGGATGGCGTAACCGTGGTCTGCCTGTTGTTG	894		
Query 541	AGTCTGATTGTCGTGTCGCCCGCAAAAAGTGGGCCCGGCGAGTGGCTTGTGCGGGATGGG	600		
Sbjct 895	AGTCTGATTGTCGTGTCGCCCGCAAAAAGTGGGCCCGGCGAGTGGCTTGTGCGGGATGGG	954		
Query 601	CTGTGGGCGTTGCTCTGGTGTGGACTGTA 630			
Sbjct 955	CTGTGGGCGTTGCTCTGGTGTGGACTGTA 984			

Figura. 21: Alineamientos realizados por BLASTn entre el morfotipo larval I y las dos secuencias halladas con mayor similitud en el GenBank.

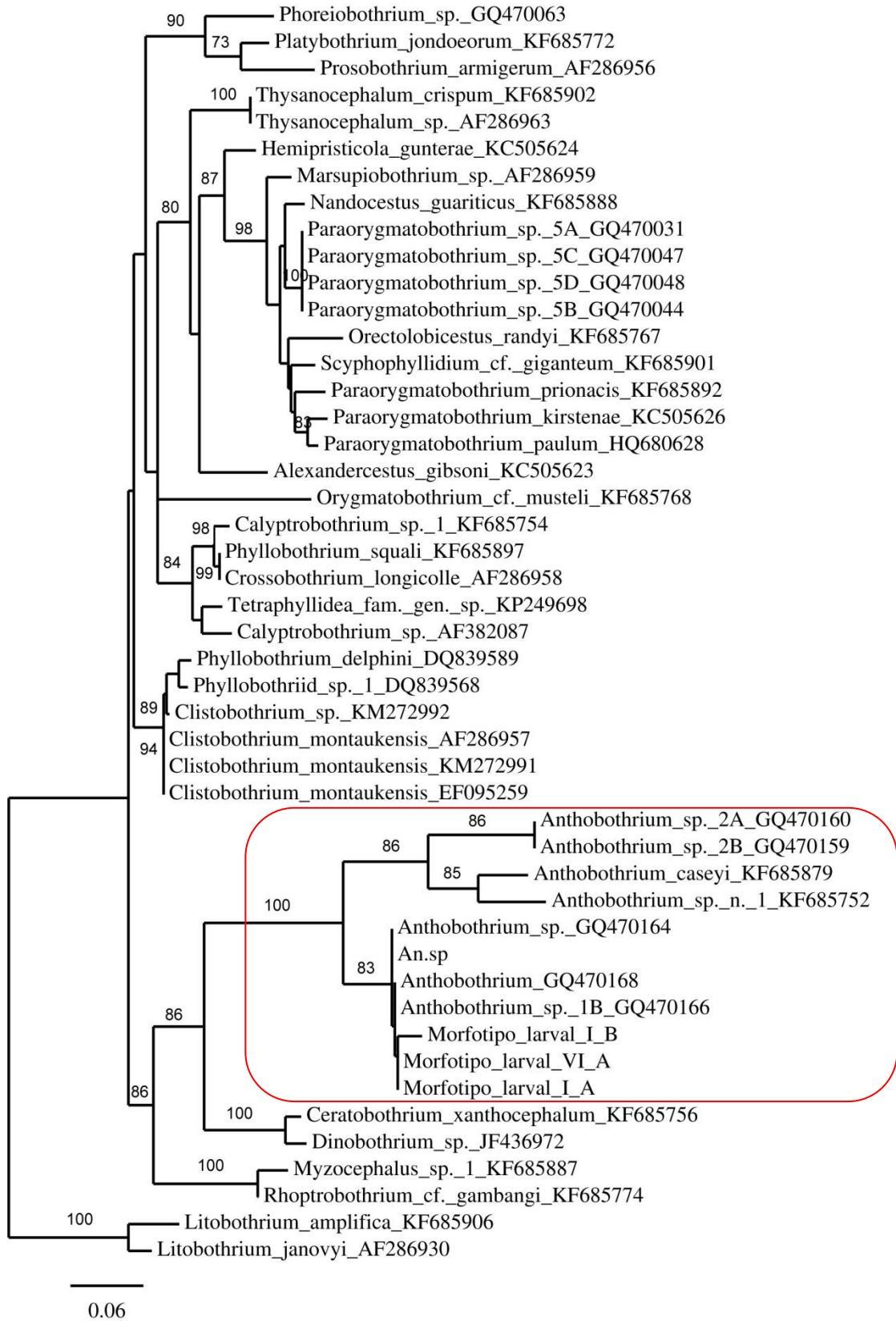


Figura 22. Árbol de MV donde se infieren las relaciones filogenéticas entre el morfotipo larval I y sus secuencias homólogas. Se incluye también el morfotipo larval VI (ex *Porichthys porosissimus*). El soporte nodal sólo se muestra para los valores de *bootstrap* ≥ 70 . An.sp se refiere a *Anthobothrium* sp. 1C (GQ470161).

- **Morfotipo larval II**

Identidad genérica: ***Crossobothrium*** Linton, 1889.

Orden: **Tetraphyllidea** Carus, 1863

Comentarios: Presenta 99% de identidad de secuencia con *Crossobothrium laciniatum* Linton, 1889; parásito de *Hexanchus griseus* (Bonnaterre) (Hexanchiformes: Hexanchidae) obtenido en el océano Pacífico, en la zona de Puerto Montt (Chile), cuyo datos moleculares fueron obtenidos por Caira et al. (2014). Además, se encuentra relacionado con *Crossobothrium* cf. *dohrnii* (Örley, 1885) Ruhnke, 1996; parásito de *Heptanchias perlo* (Bonnaterre) (Hexanchiformes: Hexanchidae) del golfo de México (USA) (Caira et al., 2014) con quien presenta un 97 % de identidad de secuencia. En la Figura 23 se muestra el alineamiento realizado por BLASTn entre *Crossobothrium laciniatum* y el morfotipo larval II, cuyas secuencias difieren en cinco pb.

El morfotipo larval se encuentra formando un clado con las especies mencionadas anteriormente y con la larva VII de *Porichthys porosissimus* (Fig. 24). Estas relaciones se encuentran sustentadas por un alto valor de *bootstrap*. Este clado se halló cercanamente relacionado, pero con un bajo valor de *bootstrap*, al tetrafilídeo *Trilocularia gracilis* Olsson, 1867. El siguiente grupo más cercano estuvo formado por representantes del orden Phyllobothriidea: especies de *Calyptrobothrium* Monticelli, 1893 y *Phyllobothrium squali* Yamaguti, 1952. La secuencia de *Crossobothrium longicolle* (Molin, 1858) Euzet, 1959; se sabe hoy en día, es una mala identificación de *P. squali* y se tratará más adelante en la discusión de este capítulo. Lo mismo podría suceder con la secuencia de Tetraphyllidea fam. gen. sp. La relación de este clado con el grupo de *Crossobothrium* no fue robusta, de acuerdo al bajo valor de *bootstrap* obtenido.

La secuencia del morfotipo II A difiere de la secuencia del morfotipo II B (réplica) sólo en un pb.

Crossobothrium laciniatum isolate TE-127 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [gb|KF685883.1](#) Length: 1519 Number of Matches: 1

Range 1: 401 to 1029 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1136 bits(615)	0.0	624/629(99%)	0/629(0%)	Plus/Plus
Query 1	GTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGAGGATTGAG			60
Sbjct 401	GTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGAGGATTGAG			460
Query 61	CTGGCTAGGGTGTGTGTATGCGCCTGGCGCATCTATCAGTCAGAGTAAGATTGCGTAGT			120
Sbjct 461	CTGGCTAGGGTGTGTGTATGCGCCTGGCGCATCTATCAGTCAGAGTAAGATTGCGTAGT			520
Query 121	CCACTGGATAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGACATGTGTACCGGATGGTAGCCGG			180
Sbjct 521	CCACTGGATAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGACATGTGTACCGGATGGTAGCCGG			580
Query 181	AGCATACTACGCGTCTATGGGACTGCCTAGTCAGTGCACCTTCTCTGTGGTGAACACCAC			240
Sbjct 581	AGCATACTACGCGTCTATGGGACTGCCTAGTCAGTGCACCTTCTCTGTGGTGAACACCAC			640
Query 241	GACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTANTCAAGTCGTGTTTCAGTAGSTTCTCGTAATCAA			300
Sbjct 641	GACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTANTCAAGTCGTGTTTCAGTAGSTTCTCGTAATCAA			700
Query 301	TTGGATGCGATCACAGGCAAACTCAGTAAACGGCGTAGGGGCGTTTCGGCGTCTCTGCGT			360
Sbjct 701	TTGGATGCGATCACAGGCAAACTCAGTAAACGGCGTAGGGGCGTTTCGGCGTCTCTGCGT			760
Query 361	GTTATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCCGGCCTGATGATTGTTGTAAATCGTCATCGGGTG			420
Sbjct 761	GTTATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCCGGCCTGATGATTGTTGTAAATCGTCATCGGGTG			820
Query 421	GTCCGGTGGGCTATGGTGGTATGAATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTCTCGACCTCAA			480
Sbjct 821	GTCCGGTGGGCTATGGTGGTATGAATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTCTCGACCTCAA			880
Query 481	TGCATCCTGCGCACACATTACAAGTGGAGCGGGGTGCCATTGCGTCTGCTATTGTTAG			540
Sbjct 881	TGCATCCTGCGCACACATTACAAGTGGAGCGGGGTGCCATTGCGTCTGCTATTGTTAG			940
Query 541	GTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCCCAAAGTGGGCCGGCAGTGGCTGATATGGGATGGGG			600
Sbjct 941	GTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCCCAAAGTGGGCCGGCAGTGGCTGATATGGGATGGGG			1000
Query 601	CGTGGATGGTGCCTCCAGTGCGGGGTGTGTA 629			
Sbjct 1001	CGTGGATGGTGCCTCCAGTGCGGGGTGTGTA 1029			

Figura 23. Alineamiento realizado por BLASTn entre el morfotipo II y la secuencia hallada con mayor similitud en el GenBank, *C. laciniatum*.

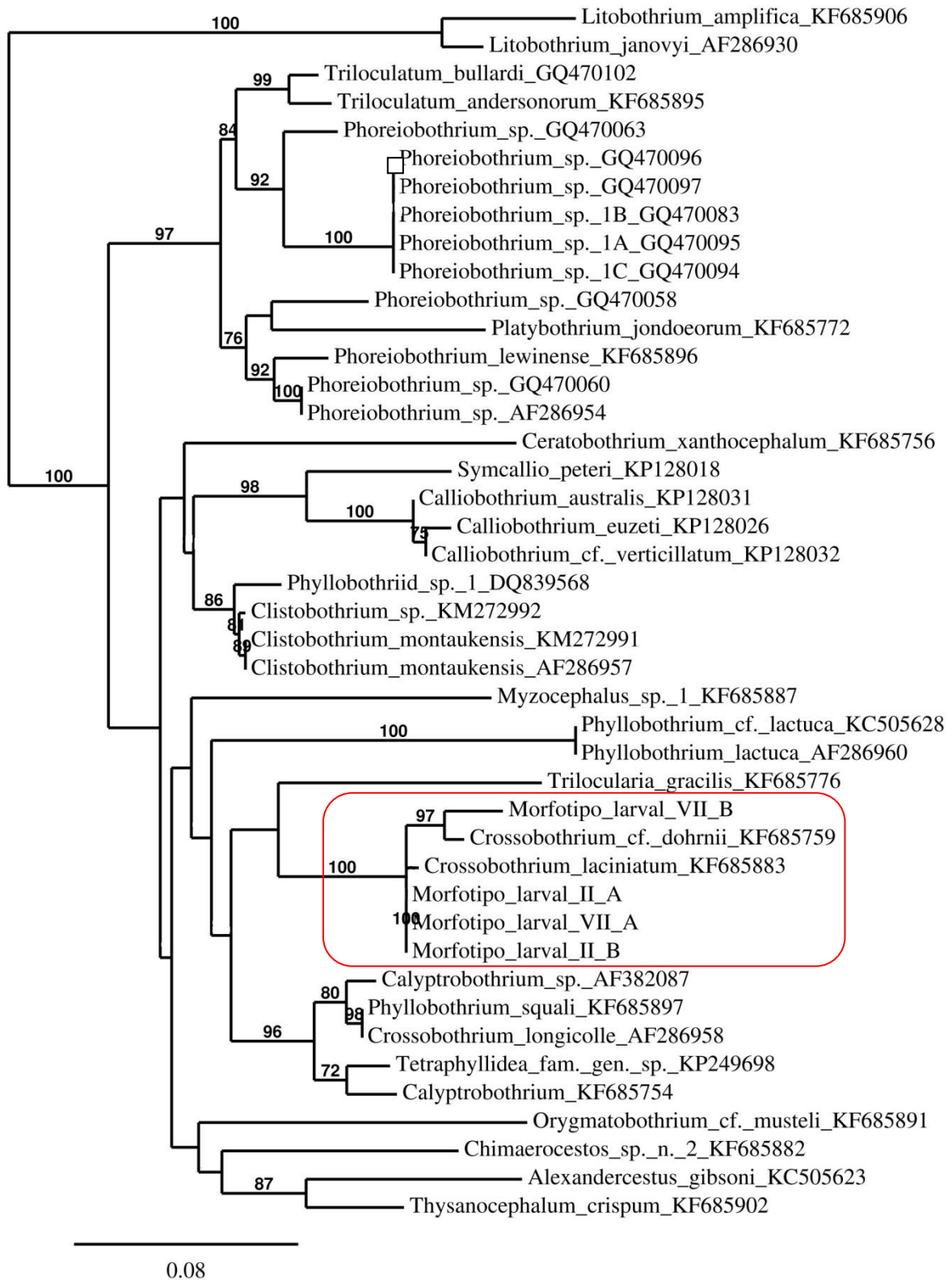


Figura 24. Árbol de MV inferido de las secuencias obtenidas del morfotipo larval II junto con las secuencias homólogas tomadas del GenBank. Se incluye también el morfotipo larval VII (ex *Porichthys porosissimus*). En los nodos se muestran los valores de *bootstrap* ≥ 70 .

- **Morfotipo larval IV**

Identidad genérica: Acanthobothrium Blanchard, 1848.

Orden: Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014

Comentarios: La secuencia del morfotipo IV presenta un 97% de identidad de secuencia con *A. santarosaliense* Caira & Zahner, 2001 obtenido de *Heterodontus mexicanus* Taylor & Castro-Aguirre (Heterodontiformes: Heterodontidae) capturado en el Pacífico, en la zona de Santa Rosalía, Baja California sur (México) y con un estadio pleroceroide denominado *Anthobothrium* sp. por Jensen & Bullard (2010), obtenido del hospedador *Lagodon rhomboides* (Linnaeus) (Perciformes: Sparidae) en el norte del Golfo de México (USA). En la figura 25 se muestra el alineamiento realizado por BLASTn entre la secuencia del morfotipo IV y la correspondiente a *C. santarosaliense*, donde se observa que difieren en 17 pb. También se observa el alineamiento con *Acanthobothrium* sp., cuya secuencia en este caso, difiere en 18 pb.

En la figura 26 se observan las relaciones inferidas a través del árbol de MV. El morfotipo IV forma parte del gran clado que constituye el diversificado género *Acanthobothrium*, incluyendo al morfotipo VIII presente en *Porichthys porosissimus*. Además, se incluye a *Onchobothrium antarticum* Wojciechowska, 1990; que forma parte como *Acanthobothrium* del orden Onchoproteocephalidea. Este clado se relaciona con el máximo valor de *bootstrap* con otro clado formado por taxones representantes del antiguo orden Proteocephalidea.

El taxón que se sitúa más cercano al morfotipo IV, *Acanthobothrium* sp. (GQ470124) no es precisamente con quien presenta un mayor porcentaje de similitud, sin embargo esta relación no se encuentra sustentada por un alto valor de *bootstrap*.

La secuencia del morfotipo IV A difiere de la secuencia de su réplica B en dos pb.

Acanthobothrium santarosaliense isolate TE-136 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|KF685751.1](#) Length: 4158 Number of Matches: 1

Range 1: 400 to 975 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
970 bits(525)	0.0	559/576(97%)	0/576(0%)	Plus/Plus

```

Query 1   AGTACGTGAAACCCGCATGCAAGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCATGGAGGATTCA 60
          |||
Sbjct 400  AGTACGTGAAACCCGCATGCAAGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCATGGAGGATTCA 459

Query 61   GCCGGCTAGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAG 120
          |||
Sbjct 460  GCCGGCTAGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAG 519

Query 121  TCCACTGGTAAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGATGTGTGTACCAGGTTGTGTGCCG 180
          |||
Sbjct 520  TCCACTGGTAAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGATGTGTGTACCAGGTTGTGTGCCG 579

Query 181  GAGCACGCTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCCACG 240
          |||
Sbjct 580  GAGCACGCTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCCACG 639

Query 241  ACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTGCCAAGTCGTACTCGGTCGGTCTTGTGGCCAAAC 300
          |||
Sbjct 640  ACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTGCCAAGTCGTACTCGGTCGGTCTTGTGGCCAAAC 699

Query 301  TGGGTGCGATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGGTCTTCGGTACTTCTGCGTG 360
          |||
Sbjct 700  TGGGTGCGATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGGTCTTCGGTACTTCTGCGTG 759

Query 361  ATATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCTACCTGGTGTGTTGTTGTAACCGGCACTTGGGTAG 420
          |||
Sbjct 760  ATATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCTACCTGGTGTGTTGTTGTAACCGGCACTTGGGTAG 819

Query 421  CTTGGTGGGACATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTTATCGGCTCAAAT 480
          |||
Sbjct 820  CTTGGTGGGACATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTTATCGGCTCAAAT 879

Query 481  GCATTCTGCGCCCCCGTTACAAGGGGTTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCT 540
          |||
Sbjct 880  GCATTCTGCGCCCCCGTTACAAGGGGTTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCT 939

Query 541  GGGTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCGCAAAAGTGGGCC 576
          |||
Sbjct 940  GGGTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCGCAAAAGTGGGCC 975
    
```

Acanthobothrium sp. MS05-218-1 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|GQ470115.1](#) Length: 1235 Number of Matches: 1

Range 1: 358 to 933 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
965 bits(522)	0.0	558/576(97%)	0/576(0%)	Plus/Plus

```

Query 1   AGTACGTGAAACCCGCATGCAAGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCATGGAGGATTCA 60
          |||
Sbjct 358  AGTACGTGAAACCCGCATGCAAGTAAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCATGGAGGATTCA 417

Query 61   GCCGGCTAGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAG 120
          |||
Sbjct 418  GCCGGCTAGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAG 477

Query 121  TCCACTGGTAAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGATGTGTGTACCAGGTTGTGTGCCG 180
          |||
Sbjct 478  TCCACTGGTAAACGGTGGGCCCGGCCGCAAGGTTGGGATGTGTGTACCAGGTTGTGTGCCG 537

Query 181  GAGCACGCTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCCACG 240
          |||
Sbjct 538  GAGCACGCTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCCACG 597

Query 241  ACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTGCCAAGTCGTACTCGGTCGGTCTTGTGGCCAAAC 300
          |||
Sbjct 598  ACCGGTGGTATTGCCAGTCTGCTGTGCCAAGTCGTACTCGGTCGGTCTTGTGGCCAAAC 657

Query 301  TGGGTGCGATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGTGCTTCGGTACTTCTGCGTG 360
          |||
Sbjct 658  TGGGTGCGATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGTGCTTCGGTACTTCTGCGTG 717

Query 361  ATATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCTACCTGGTGTGTTGTTGTAACCGGCACTTGGGTAG 420
          |||
Sbjct 718  ATATCGGCTACTGGTTGTCAACGGGCTACCTGGTGTGTTGTTGTAACCGGCACTTGGGTAG 777

Query 421  CTTGGTGGGACATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTTATCGGCTCAAAT 480
          |||
Sbjct 778  CTTGGTGGGACATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTTATCGGCTCAAAT 837

Query 481  GCATTCTGCGCCCCCGTTACAAGGGGTTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCT 540
          |||
Sbjct 838  GCATTCTGCGCCCCCGTTACAAGGGGTTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCT 897

Query 541  GGGTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCGCAAAAGTGGGCC 576
          |||
Sbjct 898  GGGTCTGATTGTCGTGTGCGCTGCGCAAAAGTGGGCC 933
    
```

Figura 25. Alineamiento entre la secuencia del morfotipo IV y las dos secuencias halladas con mayor similitud en el GenBank.

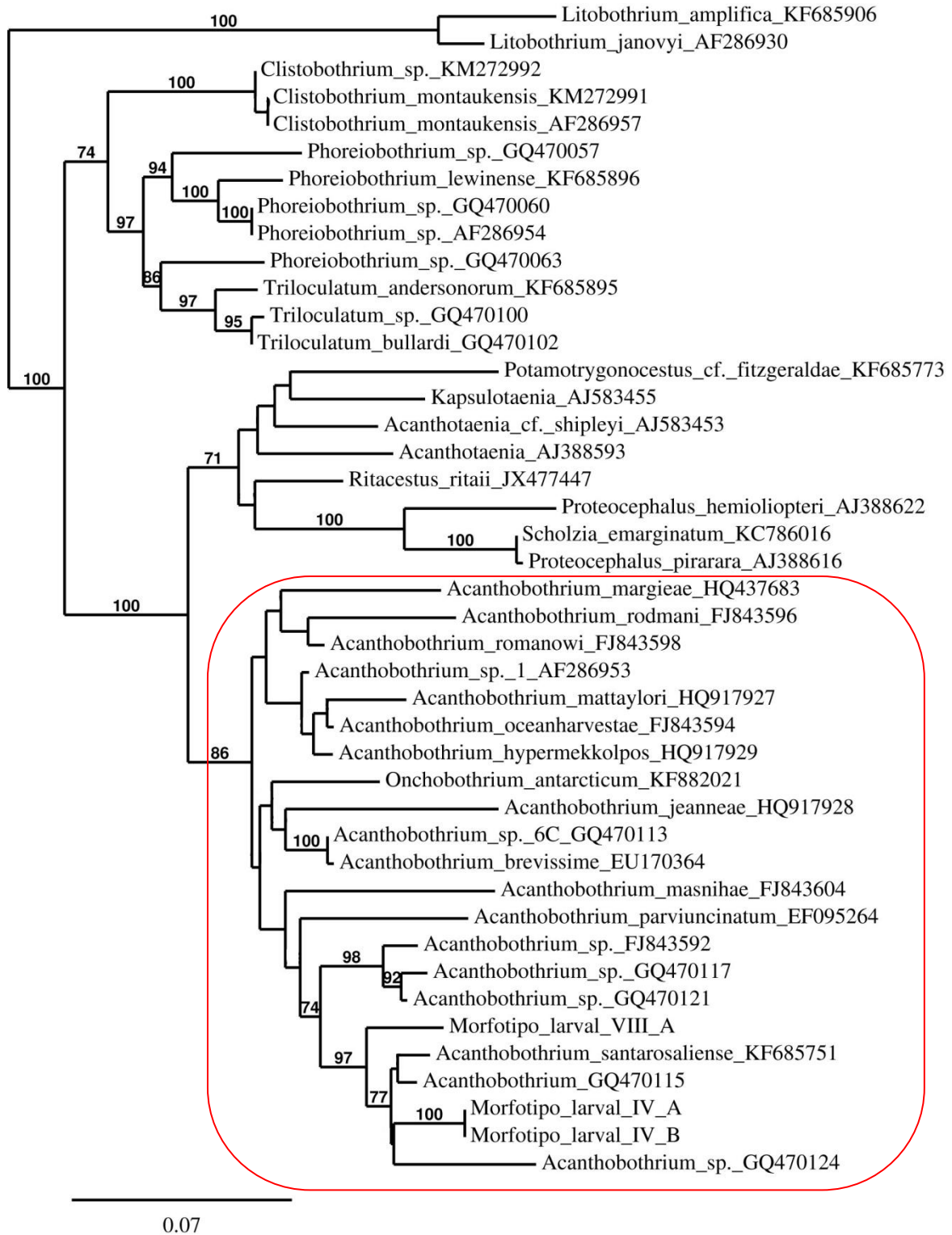


Figura 26. Árbol de MV inferido de las secuencias obtenidas del morfotipo larval IV junto con sus secuencias homólogas tomadas del GenBank. Se incluye también el morfotipo larval VIII (ex *Porichthys porosissimus*). En los nodos se muestran los valores de *bootstrap* ≥ 70 .

Artemesia longinaris

- Morfotipo larval V

Comentarios: Presenta homologías con distintas secuencias descritas de *Rhinebothrium* Linton, 1890. Entre ellas las secuencias con mayor porcentaje de similitud son: *Rhinebothrium* sp. 4 obtenida de *Dasyatis say* (Lesueur) (Myliobatiformes: Dasyatidae) en el Golfo de México (USA) y *Rhinebothriidea* sp. type 2 de *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad) (Decapoda: Penaeidae) recolectado en Gulf Breeze, Florida (USA), ambas con el 91% de similitud con la secuencia del morfotipo V. Según los alineamientos realizados por BLASTn las secuencias difieren de la secuencia del morfotipo V en 57 y 56 pb respectivamente (Fig. 27). Con este bajo porcentaje de similitud, no puede determinarse que pertenezcan al mismo género.

Las relaciones filogenéticas se muestran en la figura 28, donde se destaca el clado formado por el morfotipo V y las secuencias más cercanas. Todas las restantes especies con las que el morfotipo V se relaciona, desde la más cercana genéticamente a la más lejana, pertenecen al orden Rhinebothriidea.

Un aspecto importante de destacar es que si bien el orden se comporta como monofilético, el género *Rhinebothrium* claramente no lo es.

La secuencia del morfotipo larval V A difiere de su réplica B en dos pb.

Rhinebothriidea sp. type 2 (northern) isolate JG0807091B 18S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|HQ269833.1](#) Length: 4109 Number of Matches: 1

Range 1: 3212 to 3834 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
845 bits(457)	0.0	568/624(91%)	1/624(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGANGATTCA			60
Sbjct 3212	AGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGAGGATTCA			3271
Query 61	GCCGGTTAGAGTGTAGTGTATGCGCCTGTCGCATCAATTGGTCAGAATAGGATTGTTGAG			120
Sbjct 3272	GTCGGTTAGGGTGTAGTGTATGCGCCTGTCGCATCAACAAGTCGGAATAGGATTGGACAG			3331
Query 121	TCTACTGGTAAACAGTGGGTCCTTGCCGCAAGGTGGGGATGTGTACC GGCGGTAGCC			180
Sbjct 3332	TCTGCTGGAAGACAGCGGGTGCCTGCCGCAAGGTGGGATGTGTACC GGGTGGTTGCC			3391
Query 181	GGAGCATGCTGTTGCTGTTGGACCGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGGTGAACACC			240
Sbjct 3392	GGAGCATGCTGTTGCTGTTGGACTGCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGGTGGACACC			3451
Query 241	ACGACCGATGGTACTGTCAGTCTGCTGTGATCGAGTCGTGTTGGTTGGTCTCGGTGC			300
Sbjct 3452	ACGACCGATGGTACTGTCAGTCTGCTGTGGTCAAGTCGTGTTGGTTGGTCAACGTGC			3511
Query 301	CTACTGGATGCGATCACGGGCAACGTTGGTAGACGGCGTGGATTCATCTTCTAGGTGT			360
Sbjct 3512	CTACTGGATGCGATCACGGGCAATGTTGGTAGACGGCGTGGATTCATCTTCTAGGTGT			3570
Query 361	GTCCATGTGTTATCGGCTGCTACTTGTCTAAACGGGCTTGCCGGCAATTGTTGAGCCG			420
Sbjct 3571	GTTCCGCTGTTATCGGCTGCTGCTTGTCTTATCGGGCTGCTTGGCAATTGTTGAGCCG			3630
Query 421	TTGTCGGGTAGTCTGGTGGATCATGGTGGTATGAATAACTGTGCAGGGCATCGAGTTGT			480
Sbjct 3631	TTGTCAGGTGGTCTGGTGGCCATGGTGGTATGAATAACTGTGCAGGGCATCGAGTTGT			3690
Query 481	CGGCCTCAAATGCGGTTGGCATGCACGCTACAAGTGAGCGGCTAGTGGTTGCGTAGCAN			540
Sbjct 3691	CGGCCTCAAATGCAGTTGGCATGCACGCTACAAGTGAGCGGCTAGTGGTTGCGTTGCAG			3750
Query 541	CCTGCCTGTTGTTGGGTGTGATTGTCGTGTGCTGCGCAAAGTGGGCCCGACAGTGGCT			600
Sbjct 3751	CCTGCCTGTTGTTGGGTGTGATTGTCGTGTTGCTGCGCAAAGTGGGCCCGGACAGTGGCT			3810
Query 601	CGCAATAGGTTGGTGTGTTGCG 624			
Sbjct 3811	CGCGACAGGTCGGAGTTGTTGCG 3834			

Rhinebothrium sp. 4 KJ-2010 voucher MS05-50-12 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
 Sequence ID: [gb|GQ470198.1](#) Length: 1028 Number of Matches: 1

Range 1: 360 to 982 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
839 bits(454)	0.0	567/624(91%)	1/624(0%)	Plus/Plus
Query 1	AGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGANGATTCA			60
Sbjct 360	AGTACGTGAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCCAGAGGATTCA			419
Query 61	GCCGGTTAGAGTGTAGTGTATGCGCCTGTCGCATCAATTGGTCAGAATAGGATTGTTGAG			120
Sbjct 420	GTCGGTTAGGGTGTAGTGTATGCGCCTGTCGCATCAACAAGTCGGAATAGGATTGGACAG			479
Query 121	TCTACTGGTAAACAGTGGGTCCTTGCCGCAAGGTGGGGATGTGTACC GGCGGTAGCC			180
Sbjct 480	TCTGCTGGAAGACAGCGGGTGCCTGCCGCAAGGTGGGATGTGTACC GGGTGGTTGCC			539
Query 181	GGAGCATGCTGTTGCTGTTGGACCGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGGTGAACACC			240
Sbjct 540	GGAGCACGCTGTTGCTGTTGGACTGCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGGTGGACACC			599
Query 241	ACGACCGATGGTACTGTCAGTCTGCTGTGATCGAGTCGTGTTGGTTGGTCTCGGTGC			300
Sbjct 600	ACGACCGATGGTACTGTCAGTCTGCTGTGGTCAAGTCGTGTTGGTTGGTCTAACGTGC			659
Query 301	CTACTGGATGCGATCACGGGCAACGTTGGTAGACGGCGTGGATTCATCTTCTAGGTGT			360
Sbjct 660	CTACTGGATGCGATCACGGGCAATGTTGGTAGACGGCGTGGATTCATCTTCTAGGTGT			718
Query 361	GTCCATGTGTTATCGGCTGCTACTTGTCTAAACGGGCTTGCCGGCAATTGTTGAGCCG			420
Sbjct 719	GTTCCGCTGTTATCGGCTGCTGCTTGTCTTATCGGGCTGCTTGGCAATTGTTGAGCCG			778
Query 421	TTGTCGGGTAGTCTGGTGGATCATGGTGGTATGAATAACTGTGCAGGGCATCGAGTTGT			480
Sbjct 779	TTGTCAGGTGGTCTGGTGGCCATGGTGGTATGAATAACTGTGCAGGGCATCGAGTTGT			838
Query 481	CGGCCTCAAATGCGGTTGGCATGCACGCTACAAGTGAGCGGCTAGTGGTTGCGTAGCAN			540
Sbjct 839	CGGCCTCAAATGCAGTTGGCATGCACGCTACAAGTGAGCGGCTAGTGGTTGCGTTGCAG			898
Query 541	CCTGCCTGTTGTTGGGTGTGATTGTCGTGTGCTGCGCAAAGTGGGCCCGACAGTGGCT			600
Sbjct 899	CCTGCCTGTTGTTGGGTGTGATTGTCGTGTGCTGCGCAAAGTGGGCCCGGACAGTGGCT			958
Query 601	CGCAATAGGTTGGTGTGTTGCG 624			
Sbjct 959	CGCGACAGGTCGGAGTTGTTGCG 982			

Figura 27. Alineamiento entre la secuencia del morfotipo V y las dos secuencias halladas con mayor similitud en el GenBank.

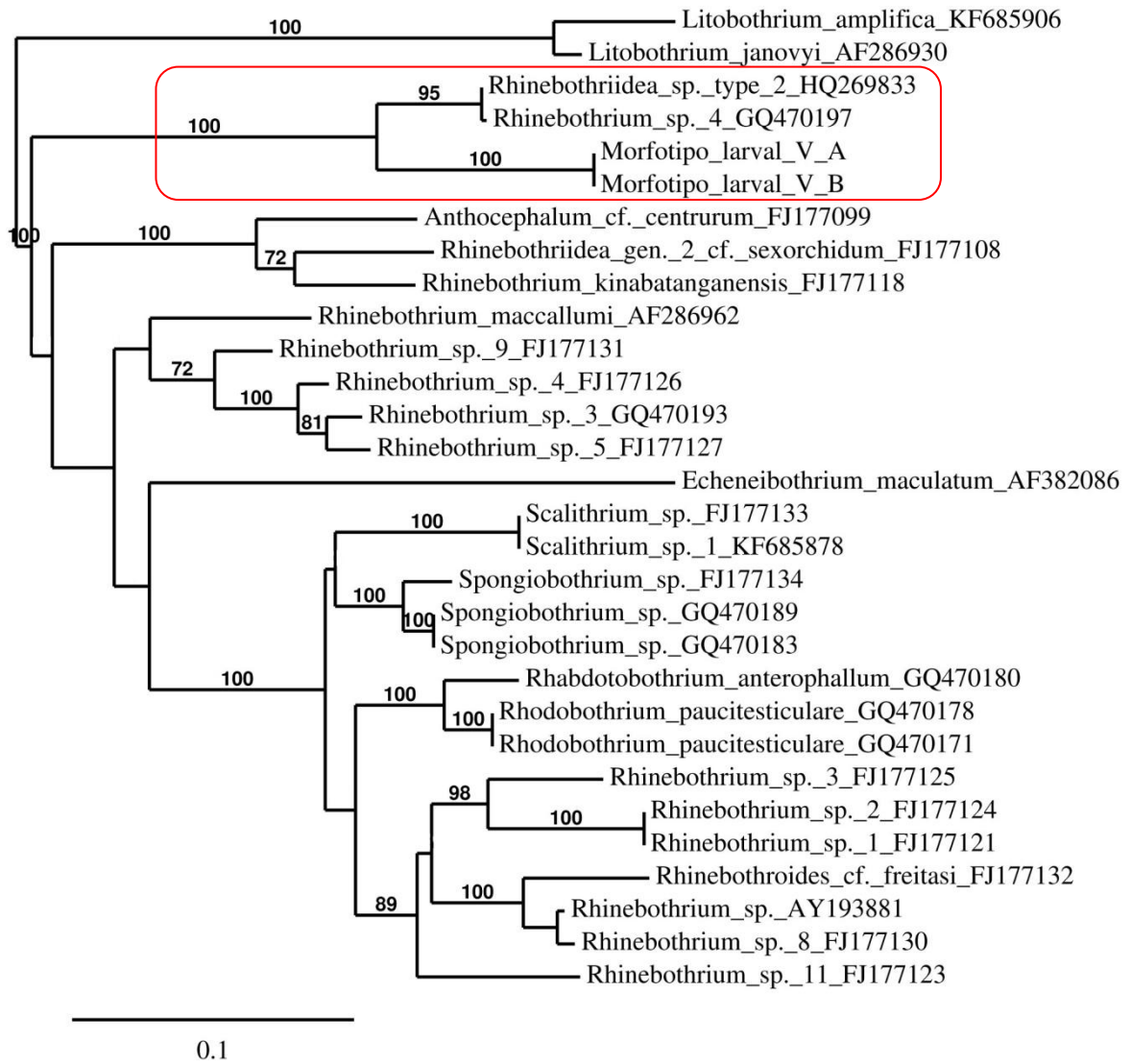


Figura 28. Árbol de MV inferido de las secuencias obtenidas del morfotipo larval V junto con las secuencias homólogas tomadas del GenBank. En los nodos se muestran los valores de *bootstrap* ≥ 70 .

- **Morfotipo larval IX**

Identidad genérica: ***Orymatobothrium*** Diesing, 1863

Orden: **Phyllobothriidea** Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014

Comentarios: La secuencia de este morfotipo coincide en un 99% con la secuencia de *Orymatobothrium* cf. *musteli* 1 de *Mustelus mustelus* (Linnaeus) (Carchariniformes: Triakidae) capturado en Mbour, Senegal; cuya secuencia fue obtenida por Caira et al. (2014). Los siguientes taxones más cercanos son un grupo de diferentes secuencias de *Orymatobothrium* que presentan un porcentaje de similitud del 91 % con la secuencia de nuestro morfotipo. En la figura 29 se muestra el alineamiento de la larva IX con *Orymatobothrium* cf. *musteli* 1 y la diferencia entre ambos de cinco pb.

Las relaciones filogenéticas con las secuencias homólogas se muestran en la figura 30, donde se ubica a nuestro morfotipo larval en un único clado compuesto por todas las especies de *Orymatobothrium* analizadas del Genbank. Todos los nodos se encuentran sustentados por un alto valor de *bootstrap*. Las secuencias más alejadas de *Orymatobothrium* corresponden a: una nueva especie de *Orymatobothrium* cf. *musteli* sp. 2 hallada en el mismo hospedador, *Mustelus mustelus*; *Orymatobothrium musteli* (Van Beneden, 1849) Diesing, 1863 de *Mustelus asterias* Cloquet (Carchariniformes: Triakidae) y *Orymatobothrium* sp. obtenido de *Mustelus lunulatus* Jordan & Gilbert (Carchariniformes: Triakidae).

El clado de *Orymatobothrium* se relaciona con un gran grupo conformado por especies de los órdenes Tetracyllidea y Phyllobothriidea, pero esta aseveración no se encuentra sostenida por un alto valor de *bootstrap*.

La secuencia del morfotipo larval IX difiere de la secuencia de su réplica B sólo en un pb.

Orymatobothrium cf. musteli 1 AW-2013 isolate TE-52 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [gb|KF685768.1](#) Length: 4189 Number of Matches: 1

Range 1: 431 to 1045 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1109 bits(600)	0.0	610/615(99%)	0/615(0%)	Plus/Plus
Query 1	AAACGGGTGGCGTCAAGCTGTAAGCCTAGAGGATTAGCTGGCTAGGGTGTGTGTATGC			60
Sbjct 431	AAACGGGTGGCGTCAAGCTGTAAGCCTAGAGGATTAGCTGGCTAGGGTGTGTGTATGC			490
Query 61	GCCTGGCGCATCTATCAGTCAGACTAAGATTGGATGGCCCACTGGGAGACGGTGGATCCG			120
Sbjct 491	GCCTGGCGCATCTATCAGTCAGACTAAGATTGGATGGCCCACTGGGAGACGGTGGATCCG			550
Query 121	ACCGCAAGGTTGGGGTATGCGTACCGGGTGTAGCTGGAGCATGCTGTCTATCTGTTGGA			180
Sbjct 551	ACCGCAAGGTTGGGGTATGCGTACCGGGTGAAGCTGGAGCATGCTGTCTATCTGTTGGA			610
Query 181	CTGCCTAGTCAGTGCACTTTCTCTATGGTGAACACACGACCGGTGGAATTGCCAGTCTG			240
Sbjct 611	CTGCCTAGTCAGTGCACTTTCTCTATGGTGAACACACGACCGGTGGAATTGCCAGTCTG			670
Query 241	CTGCAGCCAAGTCGATTGAGTGGGTTCTTGTAGCCTACTGAGTGCATCACAGCAAAC			300
Sbjct 671	CTGCAGCCAAGTCGATTGAGTGGGTTCTTGTAGCCTACTGAGTGCATCACAGCAAAC			730
Query 301	TCAGTGAACGGCGTAGAGGTGTTTCGGCGTCGCTACGTGTTATCGGCCACTGGTGTCAA			360
Sbjct 731	TCAGTGAACGGCGTAGAGGTGTTTCGGCGTCGCTACGTGTTATCGGCCACTGGTGTCAA			790
Query 361	CGGGCCATCTGATGATTGTTGTAACCGTCGTCGGAGGGCTCGGTGGGCTGTGGTGGTAAG			420
Sbjct 791	CGGGCCAACTGATGATTGTTGTAACCGTCGTCGGAGGGCTCGGTGGGCTGTGGTGGTAAG			850
Query 421	AATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTGTCGACCTCAAATGCGCCCTGCTAACACGTTACAA			480
Sbjct 851	AATAACTGTGCAAGGCACCGGAGTTGTCGACCTCAAATGCGCCCTGCTAACACGTTACAA			910
Query 481	GTGGAGCGGAGCGGTGTGATGGCCTGCCTGTGTTGAGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCG			540
Sbjct 911	GTGGAGCGGAGCGGTGTGATAGCCTGCCTGTGTTGAGTCTGATTGTCGTGTTGCCTGCG			970
Query 541	CAAAGTGGGCCCGATAGTGGCTTGATGCGGGATGGCGGTTAACGCTGCTTCCATGCGGG			600
Sbjct 971	CAAAGTGGGCCCGATAGTGGCTTGATGCGGGATGGCGGTTAACGCTGCTTCCATGCGGG			1030
Query 601	GTGCGGTGGGTCAA			615
Sbjct 1031	GTGCGGTGGGTCAA			1045

Figura 29. Alineamiento entre la secuencia del morfotipo IX y la secuencia hallada con mayor similitud en el GenBank.

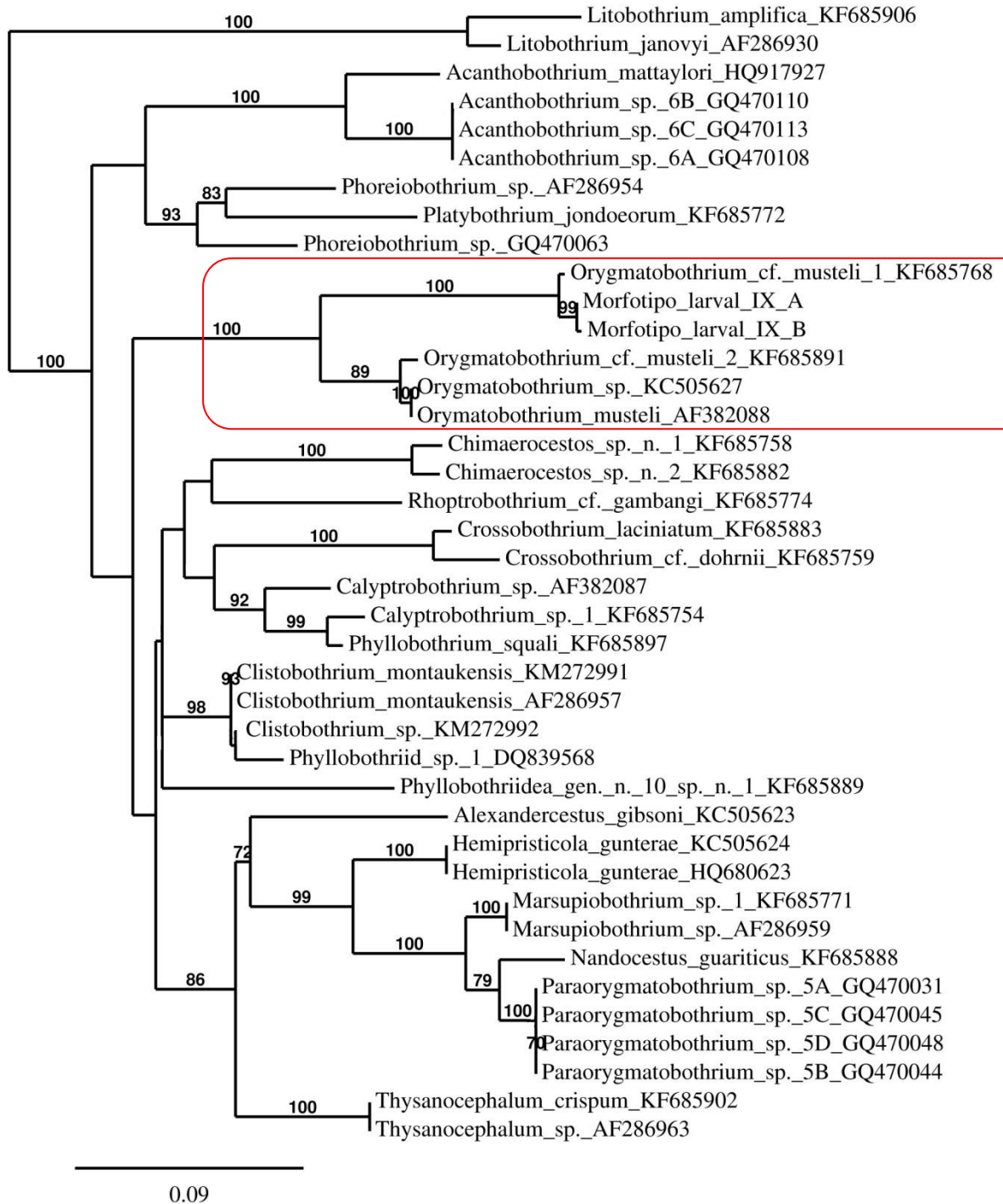


Figura 30. Árbol de MV inferido de las secuencias obtenidas del morfotipo larval IX junto con las secuencias homólogas tomadas del GenBank. En los nodos se muestran los valores de *bootstrap* ≥ 70 .

Porichthys porosissimus**- Morfotipo larval VI**

Identidad genérica: Anthobothrium Van Beneden, 1850

Orden: Tetracyllidea Carus, 1863

Comentarios: El morfotipo VI presenta 99% de identidad de secuencia con las mismas especies que poseen este mismo porcentaje de identidad con el morfotipo I presente en *Cynoscion guatucupa*. Las relaciones filogenéticas pueden apreciarse en el árbol de la figura 22. En el alineamiento realizado entre el morfotipo I y el VI, se obtuvo como resultado que difieren en dos pb. En este caso no pudo obtenerse la secuencia de la réplica B.

- Morfotipo larval VII.

Identidad genérica: Crossobothrium Linton, 1889.

Orden: Tetracyllidea Carus, 1863

Comentarios: El morfotipo larval VII A presenta las mismas relaciones que el morfotipo II de *Cynoscion guatucupa*. Sin embargo, el morfotipo VII B (réplica) se encuentra más cercanamente relacionado con *Crossobothrium* cf. *dohrnii* (97% de identidad) que con *C. laciniatum* (96 % de identidad), lo cual se evidencia en el árbol filogenético de la figura 24. El alineamiento entre el morfotipo larval I y el morfotipo VII A demuestra una diferencia en cuatro pb. Entre el morfotipo VII A y el morfotipo VII B existe una diferencia de 30 pb.

- Morfotipo larval VIII

Identidad genérica: Acanthobothrium Van Beneden, 1849.

Orden: Onchoproteocephalidea Caira, Jensen, Waeschenbach, Olson & Littlewood, 2014

Comentarios: En este caso, el estudio de la secuencia del morfotipo larval VIII no arroja los mismos resultados que el morfotipo IV de *Cynoscion guatucupa*. Presenta una identidad de secuencia del 99% con un estadio larval nombrado como *Acanthobothrium* sp. por Jensen & Bullard (2010) hallado en *Diplectrum formosum* (Linnaeus) (Perciformes: Serranidae) en el Golfo de México (USA). Con *A. santarosaliense* presenta un 96% de identidad.

En la figura 31 se muestra el alineamiento con la secuencia de mayor similitud demostrando una diferencia de cuatro pb con la secuencia del morfotipo larval VIII. En la figura 26 se evidencian las relaciones filogenéticas en el árbol de MV.

En este caso no pudo obtenerse la secuencia de la réplica B.

Acanthobothrium sp. MS05-47-8 28S ribosomal RNA gene, partial sequence					
Sequence ID: gb GQ470123.1 Length: 1022 Number of Matches: 1					
Range 1: 134 to 817 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1242 bits(672)	0.0	680/684(99%)	0/684(0%)	Plus/Plus	
Query 1	GAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCGCAGGGGATTCAGCCGGCT				60
Sbjct 134	GAAACCGCATGCAGGTAACGGGTGGCGTCAAGCTGCAAGCGCAGGGGATTCAGCCGGCT				193
Query 61	AGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAGTCCACTG				120
Sbjct 194	AGGATGTTGTGTATGCGCCTGGCGCATCCATCAGTCAGAGTATGATTGGATAGTCCACTG				253
Query 121	GTAACCGGTGGCCCGGCCGCAAGGCTGGGATGTGTGTACCGGTGTGTGCCGGAGCATG				180
Sbjct 254	GTAACCGGTGGCCCGGCCGCAAGGCTGGGATGTGTGTACCGGTGTGTGCCGGAGCATG				313
Query 181	CTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCACGACCGGTG				240
Sbjct 314	CTATCCGCTATGGACTGTCTAGCCGGTGCACCTTCTCTGTGCTGACACCACGACCGGTG				373
Query 241	GTATTGCCAGTCTGCTGTGTCGAAGTCGTGTTCCGGTCGGTCTCGTGGCCAACTGGATGC				300
Sbjct 374	GCATTGCCAGTCTGCTGTGTCGAAGTCGTGTTCCGGTCGGTCTCGTGGCCAACTGGATGC				433
Query 301	GATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGGCTTCGGCACTTCTGCGTGTATCGG				360
Sbjct 434	GATCACAGGCAAACTCAGTATACGGCGTAGAGGGCTTCGGCACTTCTGCGTGTATCGG				493
Query 361	CTACTGGTGTCAACGGGCTACCTAGTGTGTTGTTGTAACCGCACTTGGGTGGTCTGGTG				420
Sbjct 494	CTACTGGTGTCAACGGGCTACCTAGTGTGTTGTTGTAACCGCACTTGGGTGGTCTGGTG				553
Query 421	GGGCATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTGAGCGGCCTCAAATGCACTCT				480
Sbjct 554	GGGCATGGTGGTAAGAATAACTGTGCAAGGCACCGGGTTGAGCGGCCTCAAATGCACTCT				613
Query 481	GCCCCGCGTTACAAGCGGTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCTGGGTCTGA				540
Sbjct 614	GCCCCGCGTTACAAGCGGTTATGGCGGTGCTGTTGCTGCCTGCTCGTGGCTGGGTCTGA				673
Query 541	CTGTCGTGCTGCCTGCGCAAAGTGGGCCCGCAGTGGCTCGACCCGAGtgagtagtggga				600
Sbjct 674	CTGTCGTGCTGCCTGCGCAAAGTGGGCCCGCAGTGGCTCGACCCGAGtgagtagtggga				733
Query 601	tggtgctgtctgtgtggagtggtgggctcatagtctgtggtgtagtggttagacgagc				660
Sbjct 734	tggtgctgtctgtgtggagtggtgggctcatagtctgtggtgtagtggttagacgagc				793
Query 661	TACCCGACCCGCTTGAACACGG 684				
Sbjct 794	TACCCGACCCGCTTGAACACGG 817				

Figura 31. Alineamiento entre la secuencia del morfotipo VIII y la secuencia hallada con mayor similitud en el GenBank.

DISCUSIÓN

Reconstrucción filogenética

Las secuencias obtenidas en el presente trabajo de tesis, junto a los estudios realizados por Brickle et al. (2001) en Islas Malvinas sobre dos estadios larvales de Tetrphyllidea y uno de Trypanorhyncha, constituyen los únicos registros de secuencias larvales de cestodes parásitos de peces en el Atlántico sudoccidental. Este avance resulta sin lugar a dudas el primer gran paso, sin embargo ninguna de las secuencias larvales coincidió 100 % con aquellas registradas en el GenBank y no resulta sorprendente, ya que se encuentran registradas solamente las secuencias de cuatro especies de cestodes adultos parásitos de elasmobranquios en el región mencionada. Esto demuestra la importancia de obtener datos moleculares para poder comparar e identificar los estadios larvales en el mar Argentino.

Según Jensen & Bullard (2010), el objetivo no debería centrarse sólo en asignar una larva a un género, sino identificar formas larvales asociadas con géneros específicos, ya que diferentes géneros pueden exhibir esencialmente el mismo tipo larval. Existen excepciones, donde distintos morfotipos resultan ser genéticamente idénticos, y por lo tanto se presume que son distintos estadios de desarrollo (por ejemplo *Duplicibothrium* Williams & Campbell, 1978).

Los análisis más completos, donde se incluyen como *outgroups* grandes grupos estudiados hasta el momento (Litobothriidea, Lecanicephalidea) y cuyos estatus dentro de la compleja clasificación de los cestodes ha sido y es aún, objeto de constantes revisiones; nos sirve no sólo para ubicar los estadios larvales aquí estudiados dentro del contexto

global de la clasificación de los cestodes, sino también para evaluar las hipótesis filogenéticas conocidas, los patrones de distribución geográfica, la reconstrucción de tramas tróficas e intentar dar una visión que nos permita mejorar nuestras apreciaciones sobre la amplia y compleja evolución de los cestodes presentes en el mar Argentino.

Las especies del orden Litobothriidea utilizadas como *outgroup* en nuestros análisis conforman un grupo monofilético que se diferencia claramente del resto de los grandes linajes, este hecho refuerza la determinación que tomó Dailey (1969) en su momento y luego Olson & Caira (2001), en reconocerlo como un orden independiente. En el caso de Lecanicephalidea, un grupo caracterizado por la presencia de un órgano apical, también se ha confirmado en reiteradas oportunidades tanto su monofilia como su estatus de orden independiente (Healy et al., 2009; Caira et al., 2014).

Si bien las relaciones filogenéticas entre los órdenes no estarían bien resueltas, a juzgar por sus bajos valores de *bootstrap*, los resultados en este estudio se condicen con aquellos logrados y citados en la bibliografía. Caira et al. (2014) abarcando un gran número de taxones en sus análisis, lograron confirmar la monofilia y el estatus ordinal de Lecanicephalidea, Rhinebothriidea, Litobothriidea y Cathetocephalidea. Además, los autores confirman la monofilia de los cestodes acetabulados, es decir, aquellos que poseen botridios o simples ventosas en el escólex (Tetraphyllidea, Phyllobothriidea, Onchoproteocephalidea, Cyclophyllidea, Tetrabothriidea, Rhinebothriidea y Lecanicephalidea), y si bien Cathetocephalidea no es acetabulado, en los análisis que utilizan herramientas moleculares se agrupa en general de forma robusta entre estos órdenes (Healy et al., 2009; Jensen & Bullard, 2010; Caira et al., 2014). En el árbol del presente estudio, las relaciones que se infieren con respecto a los órdenes acetabulados quedan bien demostradas (salvo Cyclophyllidea y Tetrabothriidea, que no fueron incluidos

en el análisis) e incluso se observa a Cathetocephalidea ubicado dentro de este grupo. Sin embargo, el acetabulado Lecanicephalidea se agrupa en un mismo clado con Litobothriidea, hecho que concuerda con lo hallado por Jensen & Bullard (2010). Estas incongruencias entre diferentes trabajos podrían deberse a los diferentes métodos aplicados en el alineamiento de las secuencias, ya que justamente las relaciones entre estos dos órdenes no se modifican construyendo los árboles con métodos distintos (Máxima Verosimilitud, Máxima parsimonia e Inferencia Bayesiana), como demuestra en su trabajo Healy et al. (2009).

Proteocephalus (antiguamente Proteocephalidea) se agrupó en el análisis integral, con un grado variable de soporte, junto a géneros que históricamente formaban parte del grupo de tetrafilídeos con ganchos: *Acanthobothrium* y *Uncibilocularis* Southwell, 1925. Este hecho, a pesar de no estar comprobado de manera robusta en nuestro análisis, confirma la decisión tomada por Caira et al. (2014) de agrupar a estos géneros en el nuevo orden Onchoproteocephalidea. Los géneros *Prosobothrium* Cohn, 1902 y *Platybothrium* Linton, 1890 también forman parte de este orden, a pesar de disponerse alejados del grupo mencionado anteriormente (con un bajo valor de *bootstrap*). La relación entre estos dos últimos géneros resulta curiosa, debido a que el primero no posee ganchos en su escólex y el segundo sí (Euzet, 1994); sin embargo, justamente *Prosobothrium* es la excepción entre los miembros de oncoproteocefálicos que parasitan elasmobranquios, ya que el resto se caracteriza por poseer uno o dos pares de ganchos en cada uno de sus cuatro botridios (Caira & Jensen, 2014). Además, la estrecha relación entre estos géneros se infiere a partir del árbol integral, ya que se encuentra fuertemente sostenida por el máximo valor de *bootstrap*.

Dentro del orden Onchoproteocephalidea, el género ampliamente dominante entre aquellos doce *taxa* parásitos de elasmobranquios es *Acanthobothrium*, con más de 150 miembros. Con pocas excepciones, estos *taxa* exhiben especificidad oioxena, sin embargo *Acanthobothrium* es el único, entre los 110 géneros acetabulados que poseen este grupo de hospedadores, que parasita múltiples órdenes de batoideos y tiburones (Caira & Jensen, 2014). La mayoría de los registros geográficos de los miembros de este orden son de aguas tropicales y subtropicales, pero algunas especies, como justamente *Acanthobothrium*, se han registrado en latitudes superiores a los 60°N (Manger, 1972). En este estudio, y al igual que lo afirmado por Caira et al. (2014), puede verse en la figura 26 que *Acanthobothrium* no representa un género monofilético, pero se ve la estrecha relación que existe entre el clado que forman las especies del género y los antiguos representantes de Proteocephalidea. A juzgar por el máximo valor de *bootstrap* que sostiene estas relaciones, podría inferirse que también los cestodes de agua dulce podrían presentar larvas de tipo IV. Sin embargo, nada se conoce sobre los estadios larvales presentes en este grupo que se encuentra tan diversificado en aguas continentales de América del Sur.

La presencia de caracteres convergentes en los tetrafilídeos era de prever si consideramos el estudio de la bibliografía y la diversidad en la morfología que exhiben sus miembros. El orden sigue siendo el grupo problemático dentro de los cestodes que parasitan elasmobranquios, y a pesar de haberse logrado importantes avances en reorganizar este grupo mediante evidencias moleculares, 30 géneros con sus 90 especies constituyentes continúan formando parte de este orden (Healy et al., 2009; Caira & Jensen, 2014; Ruhnke et al., 2015). Sin embargo, se encuentra más allá del alcance de este estudio, revisar y comprender completamente la clasificación de Tetracystida, en algunos casos las relaciones establecidas son lábiles, cambian a través de los análisis y la clarificación

sistemática no resulta fácil de lograr. *Anthobothrium* se encontró relacionado más cercanamente con taxones que quedaron formando parte remanente de este orden: *Ceratobothrium*, *Dinobothrium*, *Rhoptrobthrium* Shipley & Hornell, 1906 y *Myzocephalus* Shipley & Hornell, 1906. De hecho, Caira et al. (2014) sitúan al género como parte del mismo. En base al estatus, sostenido por altos valores de *bootstrap* de *Anthobothrium* como taxón hermano de *Ceratobothrium* y *Dinobothrium*, puede inferirse que también estos géneros podrían presentar larvas del morfotipo I.

La creación del orden Rhinebothriidea por Healy et al. (2009) ha sido ratificada por todos los estudios moleculares de cestodes, parásitos de elasmobranquios, que se realizaron hasta la fecha (Caira et al., 2014; Caira & Jensen, 2014; Ruhnke et al., 2015) e incluso por los resultados obtenidos en el presente estudio. Este orden se caracteriza en general porque sus miembros poseen lóculos faciales y botridios pedunculados, además de presentar en muchos casos una ventosa apical. El orden es cosmopolita en su distribución, con mayor diversidad en las zonas tropicales y subtropicales. Sin embargo, algunos géneros como *Echeneibothrium* Van Beneden, 1850 parecen tener afinidad por aguas más frías (Caira & Jensen, 2014).

El morfotipo larval V presente en *Artemesia longinaris*, puede que no sea una especie de *Rhinebothrium*, a juzgar por el bajo porcentaje de similitud encontrado con el género. Puede afirmarse que pertenece al orden Rhinebothriidea, ya que se ubicó claramente entre las especies del orden y no se relacionó con ningún otro. Una estrategia a futuro sería obtener la secuencia del estado adulto en el mar Argentino, para poder comparar y dilucidar si se trata de un género conocido y descrito por su morfología o si, por el contrario, estamos en presencia de una entidad nueva. En el Atlántico sudoccidental, representantes de Rhinebothriidea (fam. Echeneibothriidae) fueron descritos en

Atlantoraja castelnaui (Miranda Ribeiro) (Rajiformes: Arhynchobatidae) de Mar del Plata; como también en *Bathyraja eatonii* (Günther) y *B. maccaini* Springer (Rajiformes: Arhynchobatidae) de la región de las islas Shetlands del Sur. Las especies halladas fueron *Notomegarhynchus navonae* Ivanov, 2002 en el primer hospedador y *Notomegarhynchus shetlandicum* (Wojciechowska, 1990) Ivanov, 2002 en los dos últimos. Estos estudios fueron realizados por Ivanov (2002) a partir del estudio de la morfometría y morfología. Además, en ejemplares de *Sympterygia bonapartii* Müller & Henle (Rajiformes: Arhynchobatidae), capturados del estuario de Bahía Blanca, fue hallado *Rhinebothrium* cf. *chilensis* (Tanzola et al., 1998). Sin embargo, no se encuentran disponibles aún las secuencias de ninguna de estas especies en el GenBank para que puedan ser comparadas con las secuencias de los morfotipos larvales.

Phyllobothriidea es el segundo orden que surgió de entre los tetrafilídeos. Sin embargo, los mismos autores que lo crearon reconocen que se estableció con menor grado de certeza (Caira et al., 2014). Lo componen un subconjunto de taxones cuya mayoría fue asignada hace un tiempo a la familia Phyllobothriidae (orden Tetraphyllidea) por Ruhnke (2011). La mayoría de los miembros de este nuevo orden exhiben botridios simples, no divididos y poseen una ventosa apical cada uno. Quizás sea por lo inestable de esta reorganización, que en nuestro árbol filogenético integral, a pesar de estar bastante bien delimitadas las especies que pertenecen a uno y otro orden, la especie *Caulobothrium opisthorchis* Riser, 1955 (asignado a Tetraphyllidea) esté relacionada más cercanamente a géneros del orden Phyllobothriidea (como *Orymatobothrium*). Sin embargo, esta relación no se encuentra avalada de forma robusta por los bajos valores de *bootstrap* obtenidos. Jensen & Bullard (2010) también concluyeron de sus estudios que esta especie se relaciona más cercanamente a *Orymatobothrium*, pero de manera similar, fue sostenido con un bajo

valor de *bootstrap*. En la figura 30 se observa el clado formado por las diferentes especies de *Orygmatobothrium*, sostenido por altos valores de *bootstrap* en todos los nodos. La lejanía con los restantes grupos impide relacionar el morfotipo larval IX del presente estudio con el resto de los géneros. La mayoría de los miembros de este orden parasita tiburones carchariniformes u orectolobiformes y si bien, exhiben colectivamente una distribución cosmopolita, los registros en altas latitudes no son muy comunes (Caira & Jensen, 2014).

Caira et al. (2014) consideran que *Crossobothrium* es un miembro potencial del orden Phyllobothriidea por poseer una ventosa accesoria anterior en los botridios y ser parásito de tiburones. Sin embargo, su posición es endeble a través de los análisis y su asociación con los demás miembros del orden fue débilmente confirmada, por lo tanto los autores se abstuvieron de incluirlo formalmente en el orden. En este estudio, hemos optado por seguir la postura de estos autores, a pesar de haber observado que en la base de datos de cestodes (<http://tapewormdb.uconn.edu/> versión 2015) se lo encuentra a *Crossobothrium* asignado a Phyllobothriidea. Ruhnke & Workman (2013) secuenciaron un ejemplar de *Phyllobothrium squali* de *Squalus acanthias* Linnaeus (Squaliformes: Squalidae) y la secuencia obtenida fue idéntica a la secuencia generada por Olson et al. (2001) (AF286958) e identificada como *Crossobothrium longicolle* del hospedador *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus) (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae). Ruhnke & Workman (op. cit.) revelan no sólo un error en la identificación del cestode sino también del hospedador. Esto explicaría la razón por la cual *Crossobothrium longicolle* se sitúa como taxón hermano de *Phyllobothrium squali* en el presente estudio.

En Batrachoidiformes sólo existe el registro de 4 estadios larvales: *Phoreiobothrium* sp. 2, *Paraorygmatobothrium* sp.1, *Pedibothrium* sp. 1 y *Acanthobothrium* sp.; todos ellos

estudiados por Jensen & Bullard (2010) en *Opsanus beta* (Goode & Bean) del Golfo de México (Louisiana), pero cuyas secuencias fueron generadas en los tres primeros y justamente *Acanthobothrium* sp. sólo se describió a través de su morfología. En Perciformes de la familia Sciaenidae existen registros en 8 hospedadores, representantes de 6 géneros, entre los cuales se cita al género *Cynoscion*: *C. arenarius* Ginsburg, *C. nebulosus* (Cuvier) y *C. nothus* (Holbrook). Los estadios larvales hallados pertenecen a *Paraorygmatobothrium* sp., *Paraorygmatobothrium* sp. 4, *Acanthobothrium* sp. y una larva no identificada. Fueron también hallados y descritos por los mismos autores en el Golfo de México (Mississippi). El único género en común con los hospedadores del presente estudio es *Acanthobothrium* y no es extraño, si se tiene en cuenta la enorme diversidad y ubicuidad del género. Las diferencias en la presencia de los restantes géneros pueden deberse a la influencia del componente geográfico. *Paraorygmatobothrium*, *Pedibothrium* y *Phoreiobothrium* no se han hallado en Argentina, pero precisamente es aquí donde la mayoría de los hospedadores, ya sea intermediarios/paraténicos y definitivos, se encuentran inexplorados.

Reconstrucción de tramas tróficas y ciclos de vida

La determinación genérica de los estadios larvales permite inferir las potenciales relaciones tróficas entre teleósteos y elasmobranquios. La importancia de la comprensión de estas asociaciones, reside en poder realizar predicciones sólidas sobre la fauna de cestodes presentes en hospedadores que aún no han sido examinados (Cutmore, 2011).

En general, no se puede reconocer qué hospedadores se comportan como paraténicos o cuáles son las llamadas “vías muertas”, como tampoco puede conocerse la medida en que estos cestodes utilizan a los hospedadores paraténicos en su ciclo de vida para incrementar la probabilidad de la dispersión horizontal en el ambiente marino. Salvo

cuando se realizan infecciones experimentales, donde se puede realizar la observación directa del desarrollo larval, es muy difícil distinguir entre estos tipos de hospedadores (Jensen & Bullard, 2010)

Es muy probable, que los parásitos de elasmobranquios estudiados posean entre 3-5 hospedadores en su ciclo de vida y el primer hospedador intermediario sea un copépodo, un camarón eufáusido u ocasionalmente un molusco pelecípodo (Cake, 1977). Los hospedadores analizados en el presente estudio presentan los estadios plerocercoides, por lo cual es de esperar que se alimenten de organismos con el estadio procercoide o, en el caso de funcionar como hospedadores paraténicos, se alimenten de los predadores de estos organismos. Sin embargo, no se han realizado hasta el momento exámenes en crustáceos (copéodos, eufáusidos) en procura de hallar los estadios procercoides.

Cynoscion guatucupa y *Porichthys porosissimus* comparten los mismos morfotipos larvales (I, II, IV, VI, VII y VIII), algunos de ellos con muy leves diferencias en sus pares de bases, pero considerados por tener la misma identidad genérica. Esto no sólo demuestra una superposición en el nicho trófico de ambos hospedadores, sino también una especificidad por el hospedador muy baja en lo que respecta a los géneros de estos estadios larvales. Jensen & Bullard (2010) calcularon el índice de especificidad hospedatoria (según Caira et al., 2003) para un grupo de estadios larvales colectados de hospedadores intermediarios, capturados en el Golfo de México. A partir de los resultados obtenidos a nivel genérico, Jensen & Bullard (2010) determinan que las larvas de todos los géneros que ellos estudiaron (con la excepción de *Rhodobothrium*) exhiben especificidad eurixena, es decir parasitan a más de una familia de hospedador. Con respecto a las especies de cestodes, estos autores pudieron observar que la especificidad por el hospedador intermediario fue más estricta.

La pescadilla de red, *Cynoscion guatucupa*, es una especie demersal que habita zonas muy costeras y parte de la plataforma continental, en aguas típicamente marinas y estuariales. El rango de temperatura de fondo hallado en su distribución es entre 13,1°C y 20,8°C (Ruarte et al. 2004). Tanto *Porichthys porosissimus* como *Artemesia longinaris* son organismos bentónicos y junto a la pescadilla ocupan en general, la misma franja latitudinal, llegando hasta los 41° y 43° S del mar Argentino (Menni & Miquelarena, 1976; Boschi, 1992; Ruarte et al., 2004,).

Las preferencias tróficas de la pescadilla de red varían, como en la mayoría de los peces, con el desarrollo ontogénico. Los juveniles son preferentemente carcinófagos y el componente básico de su alimentación en la zona de Mar del Plata es *Peisos petrunkevitchi*; en tanto los adultos se alimentan preferentemente de peces como *Engraulis anchoita* y *Anchoa marmorata*, pero también predan sobre *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri* (Ruarte et al., 2004). En estudios realizados en el estuario de Bahía Blanca se registraron como presas al misidáceo *Arthromysis magellanica*, los decápodos *Peisos petrunkevitchi*, *Artemesia longinaris*, *Pleoticus muelleri* y el teleósteo *Ramnogaster arcuata* (Lopez Cazorla, 2014).

La lucerna, *Porichthys porosissimus*, preda sobre crustáceos decápodos y miscidáceos, peces y cefalópodos (Lane, 1967). En el estuario de Bahía Blanca en particular, no se han realizado estudios en pos de dilucidar los hábitos tróficos de este hospedador.

Los grupos más importantes que componen la dieta natural del camarón *Artemesia longinaris* son algas (principalmente diatomeas, clorofíceas y rodofíceas), cnidarios, crustáceos (copépodos por ejemplo), poliquetos, restos de plantas vasculares y foraminíferos (Boschi, 1969; Spanjersberg et al., 2006).

Ciclo de vida hipotético de Anthobothrium

Los estadios de *Anthobothrium* maduran en Carcharhiniformes (Carcharhinidae) (Caira & Jensen, 2014). La presencia de *Anthobothrium altavelae* Neifar, Euzet & Ben Hassine, 2002 en *Gymnura altavela* (Linnaeus) (Myliobatiformes) puede explicarse por una superposición en la dieta (Neifar et al., 2002). Sin embargo, Williams et al. (2004) cuando realizaron la revisión de la diagnosis del género resaltaron la especificidad estricta por Carcharhiniformes. En nuestro país, se describió *Anthobothrium galeorhini* Suriano, 2002 en *Galeorhinus galeus* (Linnaeus) (Carcharhiniformes: Triakidae) capturado en las costas de Puerto Madryn (Suriano, 2002). Según Jensen & Bullard (2010), las larvas asignadas a este género utilizan sólo peces teleósteos como hospedadores intermediarios. Lucifora et al. (2006) detallan que los juveniles de *Galeorhinus galeus* consumen mayormente teleósteos demersales, las especies presa más importantes son *Raneya brasiliensis* Kaup (Ophidiiformes: Ophidiidae) y *Cynoscion guatucupa*. En tanto, los principales componentes de la dieta de un adulto son teleósteos bentónicos, siendo la especie predominante *Porichthys porosissimus* y en segundo lugar nuevamente teleósteos demersales, siendo *C. guatucupa* la presa preferida. Por lo expuesto quedaría esclarecida la forma en que *Anthobothrium* llega a su hospedador definitivo, a través de la ingestión de los hospedadores intermediarios *C. guatucupa* y *P. porosissimus* con los morfotipos larvales I y VI (Fig. 32).

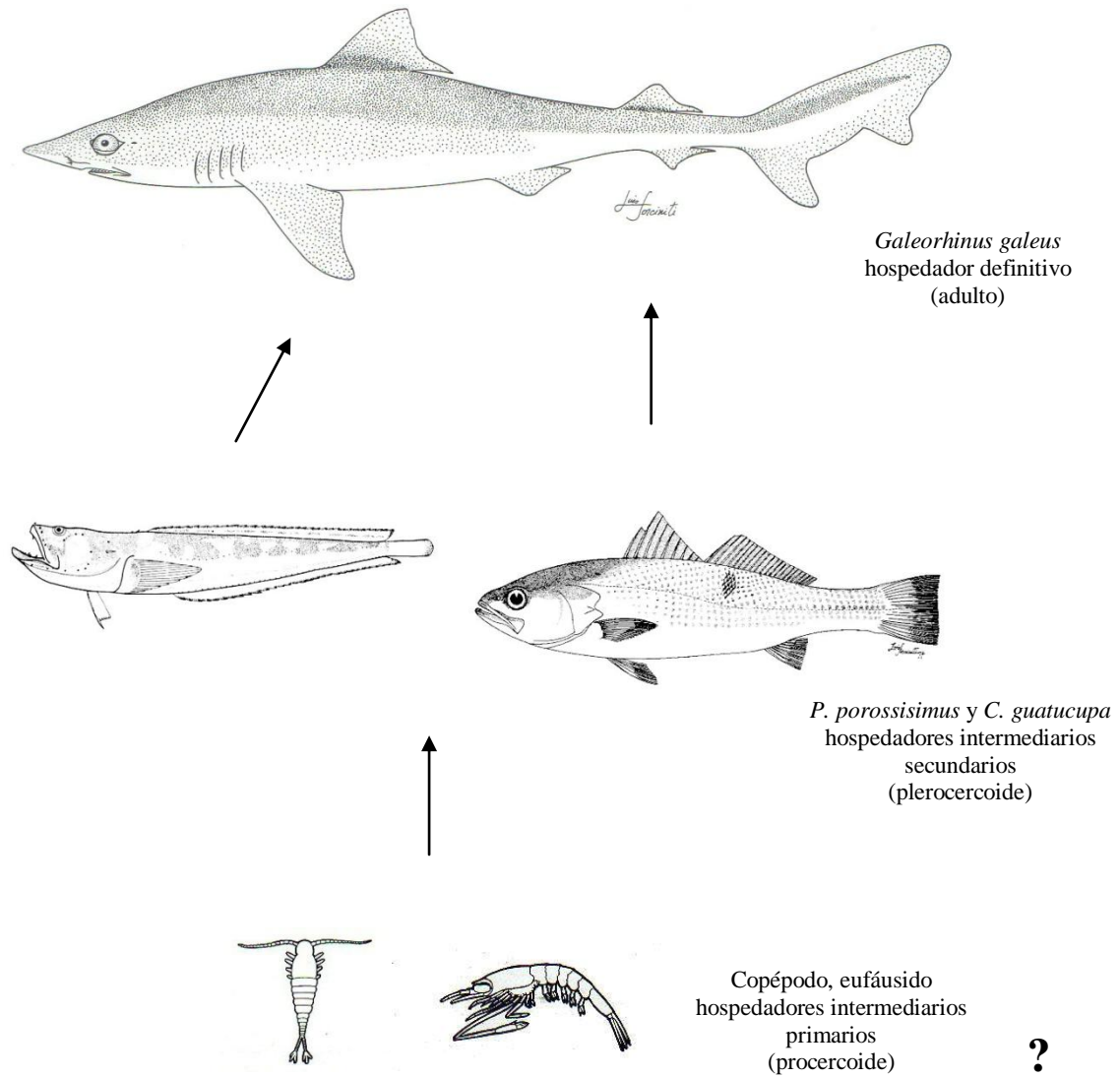


Figura 32 . Ciclo de vida hipotético de *Anthobothrium* en el estuario de Bahía Blanca. ? : fase del ciclo aún no dilucidada.

Ciclo de vida hipotético de Crossobothrium

El caso de *Crossobothrium* pareciera ser relativamente sencillo. A excepción de *C. laciniatum*, que parasita tiburones lamniformes (Ruhnke, 1996), el resto de las especies del género son parásitas de tiburones hexanchiformes (Ivanov, 2009). Los morfotipos larvales II y VII como ya hemos visto, se encuentran en *Cynoscion guatucupa* y en *Porichthys porosissimus*, respectivamente. En el mar Argentino, el estadio adulto de *Crossobothrium laciniatum* se lo ha encontrado en el escalandrún, *Carcharias taurus* (Rafinesque) (Lamniformes: Odontaspidae) y revisando el contenido del tubo digestivo del mismo se han encontrado numerosos ejemplares de *P. porosissimus* (Tanzola com. pers). Este hecho fue corroborado por Lucifora et al. (2009), quienes describen los hábitos tróficos del escalandrún como similares a los que poseen las poblaciones de Sudáfrica y el noroeste del Atlántico: mayormente teleósteos (55, 41%) y elasmobranquios (41,84%), en tanto los invertebrados representan solamente un 2,75% del número total de presas. Los teleósteos incluyen en su mayoría especies demersales como *C. guatucupa* (21,81%) seguida por *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Perciformes: Scienidae) (7,86%), en tanto *P. porosissimus* representa un 1,7%. Los elasmobranquios demersales están representados casi exclusivamente por *Mustelus schmitti* Springer (Carcharhiniformes: Triakidae) (18,07%) y los bentónicos incluyen a diferentes especies de *Sympterygia* (9,43%) y de *Myliobatis* (3,34%), como también a *Squatina guggenheim* Marini (Squatiniformes: Squatinidae) (2,16%). Además, se han descrito en Argentina dos especies de *Crossobothrium* en el gatopardo *Notorynchus cepedianus* Péron (Hexanchiformes: Hexanchidae): *C. antonioi* y *C. pequeae* (Ivanov, 2009). Sin embargo, no se cuenta con los datos moleculares de ninguna de estas dos especies. Tanto el gatopardo como el escalandrún son predadores tope, y si bien comparten a la pescadilla de red como ítem

trófico, *Notorynchus* es capaz de ingerir presas de mayor tamaño, como mamíferos marinos (*Otaria flavescens* Shaw y *Pontoporia blainvillei* (Gervais & d'Orbigny)) (Lucifora et al., 2005). Teniendo en cuenta los patrones de especificidad hospedatoria, cada hospedador puede albergar al menos dos especies de *Crossobothrium* y en Hexanchiformes particularmente pueden llegar hasta cuatro (Ivanov, 2009). Según estas evidencias podríamos inferir el rol de hospedadores intermediarios que cumplirían *Cynoscion guatucupa* y *Porichthys porosissimus* en el ciclo de vida de especies de *Crossobothrium* que maduran en *Carcharias taurus* (Fig. 33).

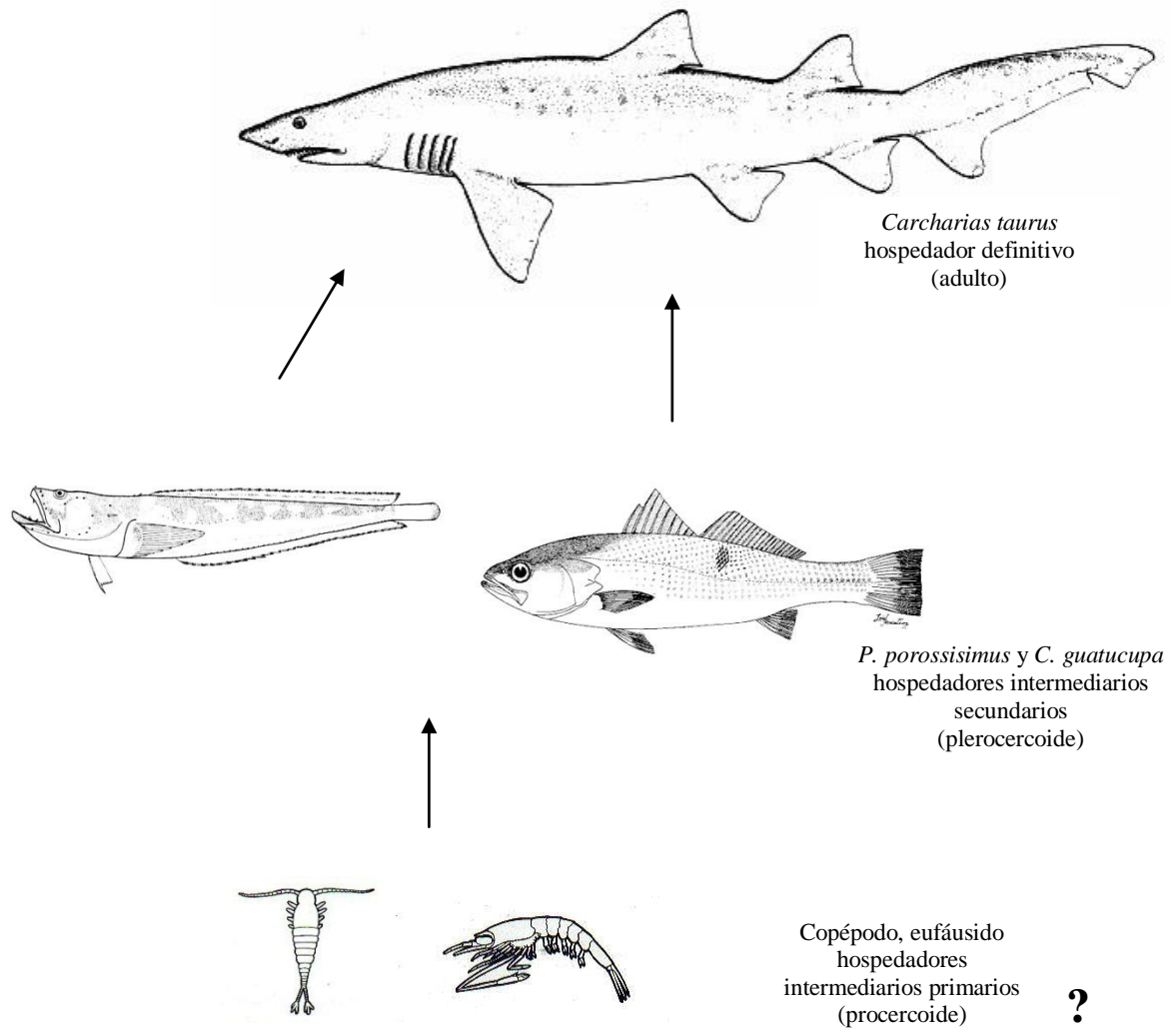


Figura 33. Ciclo de vida hipotético de *Crossobothrium* en el estuario de Bahía Blanca. ?: fase del ciclo aún no dilucidada.

Ciclo de vida hipotético de Acanthobothrium

Acanthobothrium es uno de los géneros más diversificado y las generalizaciones sobre su ciclo de vida pueden realizarse con mucha menor precisión si lo comparamos con los géneros anteriormente explicados. Jensen & Bullard (2010) sostienen que *Acanthobothrium* utiliza en general rayas como hospedadores definitivos. Además, los autores identificaron larvas del género *Acanthobothrium* parasitando a seis familias de teleósteos. Otros registros de hospedadores intermediarios incluyen bivalvos, gasterópodos e incluso un anfioxo (Regan, 1963; Harry, 1969; Holland & Wilson, 2009 y Holland et al., 2009). Los estadios adultos del género se han identificado parasitando hospedadores de las familias Dasyatidae, Rajidae, Gimmuridae, Narcinidae, Myliobatidae, Urotrygonidae, Heterodontidae y Rhynchobatidae (Jensen & Bullard, 2010). En el Atlántico sudoccidental han sido registradas 2 especies, *A. marplatensis* Ivanov & Campbell, 1998 y *A. zapteryum* Ostrowski de Núñez, 1971 parásitos de *Atlantoraja castelnaui* y *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle) (Rhinoprístiformes: Rhinobatidae). Además, una especie no identificada de *Acanthobothrium* fue hallada parasitando a *Myliobatis goodei* Garman (Myliobatiformes: Myliobatidae) en el Río de La Plata (Uruguay) reportada por Brooks et al. (1981).

Recientemente, Ivanov et al. (2015) identificaron morfológicamente por lo menos una especie de *Acanthobothrium* en las siguientes especies de batoideos del mar Argentino: *Zearaja chilensis* (Guichenot) (Rajiformes: Rajidae), *Discopyge tschudii* Heckel (Torpediniformes: Narcinidae), *Bathyrāja magellanica* (Philippi) (Rajiformes: Arhynchobatidae) y *Z. brevirostris*. En estos últimos hallazgos se encontró que cada especie de *Acanthobothrium* tiene una estricta especificidad por su hospedador y que el género se encuentra parasitando un amplio rango de hospedadores no relacionados

filogenéticamente. Los ítems tróficos de los hospedadores mencionados se componen mayormente de teleósteos, seguidos por moluscos, crustáceos y otros invertebrados (Laureda & Martínez, 1981; Barbini & Lucifora, 2012). Dentro de los teleósteos, una de las presas más consumidas es *P. porosissimus* y en menor medida *C. guatucupa*. Entre los crustáceos se cita a *Artemesia longinaris*, pero como un ítem de menor importancia (Barbini & Lucifora, 2012). La especie más cercana a nuestro morfotipo larval fue *A. santarosaliense* parasitando *Heterodontus mexicanus*, cuyos principales ítems tróficos son cangrejos no identificados, *P. porosissimus* y otros peces demersales (Froese & Pauly, 2015). El ciclo de vida hipotético de *Acanthobothrium* puede visualizarse en la figura 34.

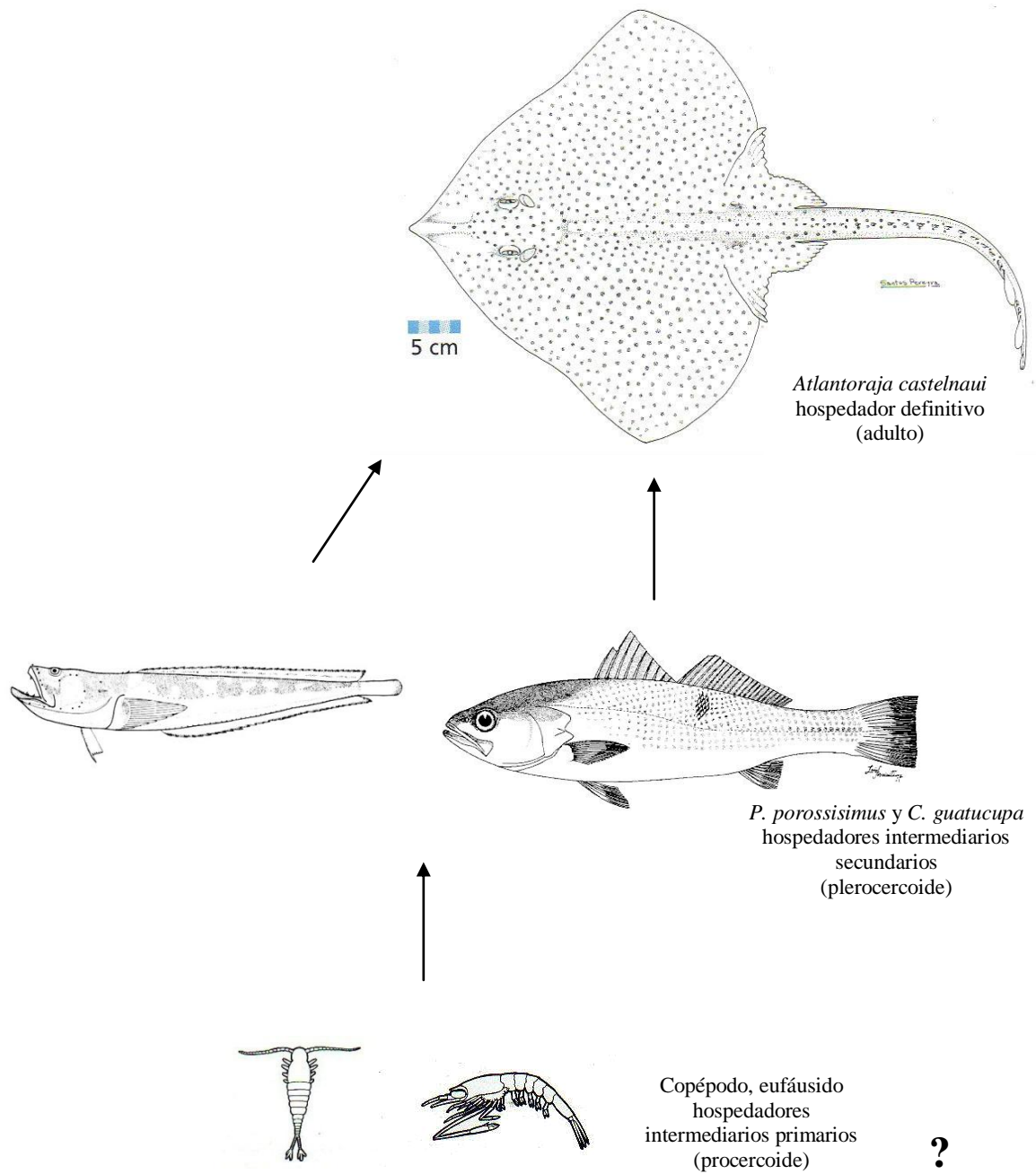


Figura 34. Ciclo de vida hipotético de *Acanthobothrium* en el estuario de Bahía Blanca. ?: fase del ciclo aún no dilucidada.

Ciclo de vida hipotético de Orymatobothrium

El género *Orymatobothrium* parasita al estado adulto diferentes especies de *Mustelus* (Triakidae). En Argentina, *Orymatobothrium schmittii* Suriano & Labriola, 2001 fue hallado parasitando a *Mustelus schmitti* (gatuzo) en las costas de Mar del Plata y Quequén, (Suriano & Labriola, 2001; Ivanov, 2008). En *Mustelus fasciatus* (Garman) (Carcharhiniformes: Triakidae) se describió a *Orymatobothrium juani* Ivanov, 2008. *Mustelus schmitti* se alimenta en el estuario de Bahía Blanca del misidáceo *Arthromysis magellanica*, de decápodos como *Peisos petrunkevitchi*, *Artemesia longinaris*, *Pleoticus muelleri*, *Neohelice granulata*, *Cyrtograpsus angulatus*, *Loxopagurus* sp.; poliquetos y teleósteos: *Porichthys porosissimus*, *Ramnogaster arcuata* y *Micropogonias furnieri* (López Cazorla, 2014). Podría deducirse que *Artemesia longinaris* actuaría entonces como hospedador intermediario del género *Orymatobothrium* que desarrolla el estado adulto en el gatuzo (Fig. 35). Podría esperarse que *Porichthys porosissimus* actúe entonces como hospedador paraténico, ya que preda sobre el camarón y es predado por el gatuzo, sin embargo no se hallaron en el tubo digestivo de la lucerna larvas de *Orymatobothrium*.

En vista de los antecedentes documentados, las larvas de Rhinebothriidea madurarían en rayas y las larvas de *Orymatobothrium* harían lo propio en tiburones. Esto podría sugerir la siguiente hipótesis de trabajo: cuando el camarón es predado por un gatuzo, el destino resultante de Rhinebothriidea sería finalmente una vía muerta. Lo mismo sucedería con *Orymatobothrium* cuando el camarón es predado por una raya o por un hospedador paraténico que sea presa de rayas.

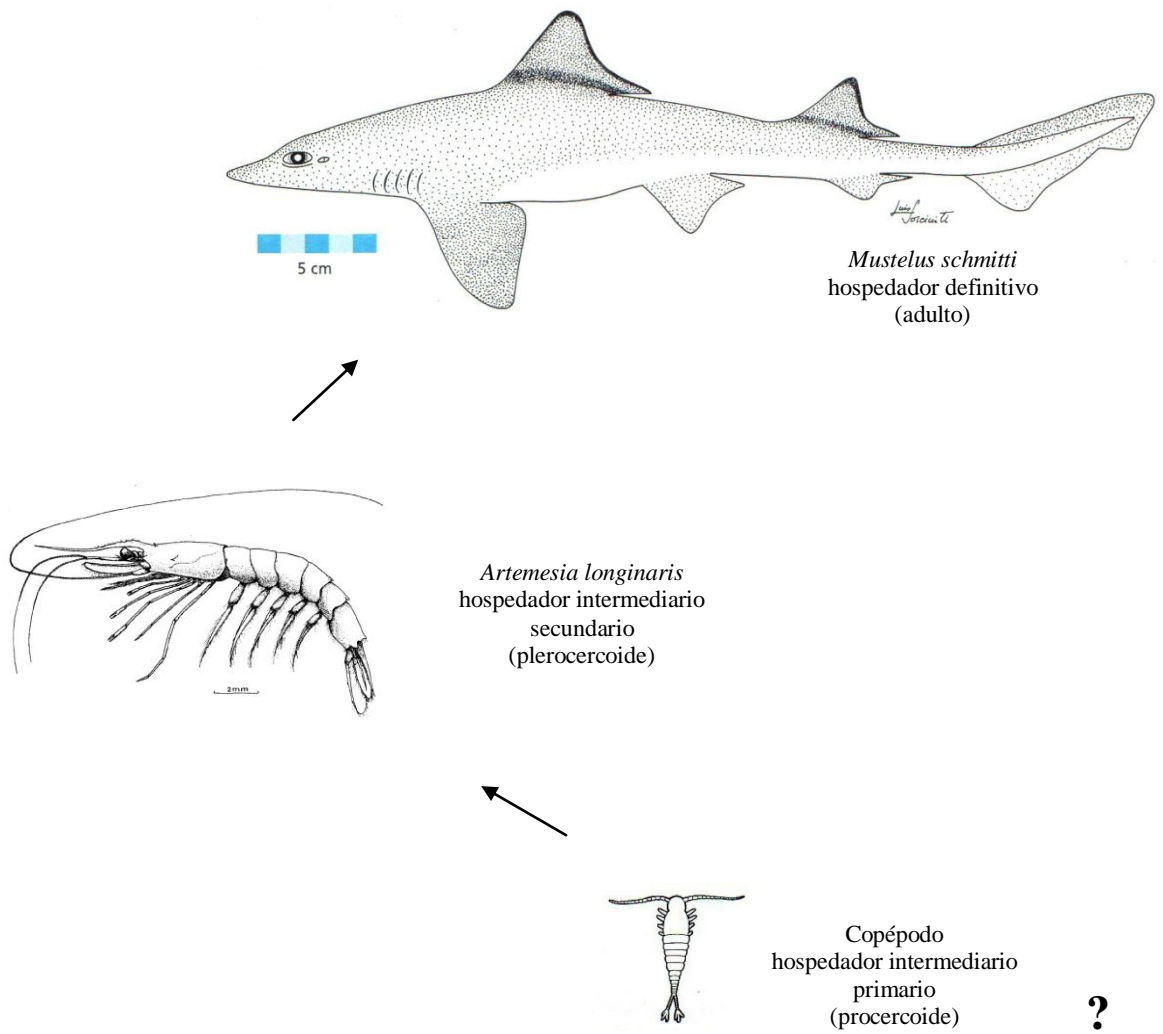


Figura 35. Ciclo de vida hipotético de *Orygmatobothrium* en el estuario de Bahía Blanca. ?: fase del ciclo aún no dilucidada.

Ciclos de vida hipotéticos de Rhinebothriidea

Los registros de hospedadores del orden Rhinebothriidea indican que sus especies son restrictivas a batoideos (Caira & Jensen, 2014). Se han registrado en Rhinopristiformes y Rajiformes, sin embargo la mayoría de los registros existentes son de rayas del orden Myliobatiformes (Healy et al. 2009). Según Jensen & Bullard (2010), los estadios larvales infectan tanto teleósteos como moluscos. De hecho, los autores hallaron larvas pertenecientes a dos especies de *Rhinebothrium* en varios peces teleósteos del Golfo de México y los relacionaron con registros de estadios adultos del género en *Dasyatis* spp., encontrando una conexión trófica entre estos hospedadores. En este estudio, el morfotipo larval V fue encontrado en el camarón *Artemesia longinaris* que forma parte de la dieta de las rayas, junto con poliquetos, anfípodos, bivalvos, cefalópodos y otros invertebrados. Además, las rayas predan sobre peces teleósteos, como *Engraulis anchoíta* (Clupeiformes), *Merluccius hubbsi* (Gadiformes), *Dules auriga* (Perciformes) y *Paralichthys* sp. (Pleuronectiformes) (Estalles, 2012).

En Argentina se reportaron tres trabajos sobre especies del orden Rhinebothriidea, en particular de los géneros *Rhinebothrium* y *Rhinebothroides*, pero en sistemas de agua dulce (Ivanov, 2004b; Menoret & Ivanov, 2009, 2011). Cousseau et al. (2007) describieron más de treinta especies de batoideos que habitan la región y en muy pocos de ellos se han realizado estudios parasitológicos, por lo cual queda mucho aún por explorar en el mar Argentino.

Otras consideraciones

Como se mencionó anteriormente, en Argentina se conoce la región D1-D3 del gen 28S de ADNr de cuatro especies de cestodes adultos parásitos de elasmobranquios. Dos de

ellos son *Clistobothrium montauquensis* Ruhnke, 1993 y *Dinobothrium* sp., recuperados de *Lamna nasus* (Bonnaterre, 1788) (Lamniformes: Lamnidae), uno de los grandes tiburones pelágicos conocido por alimentarse de cetáceos y pinnípedos, como también de cefalópodos (Linton, 1922; Dailey & Vogelbein, 1990; Ruhnke, 1993). Estas especies de cestodes fueron secuenciadas por Randhawa & Brickle (2011) en Islas Malvinas. Las otras dos especies son *Calliobothrium australis* Ostrowski de Nuñez, 1973 y *Symcallio barbarae* (Ivanov & Brooks, 2002) Bernot, Caira & Pickering, 2015; halladas en el gatuzo, *Mustelus schmitti*, que se alimenta de organismos próximos al fondo o ligados a él (como cangrejos, anélidos poliquetos, langostinos, camarones) y de pequeños peces, tanto pelágicos (anchoíta, palometa, caballa) como demersales (pescadilla y merluza juvenil, brótola, trilla) y bentónicos (testolín, lenguados) (Cousseau & Perrotta, 1998). Sin embargo, estas especies no se relacionaron cercanamente con los morfotipos larvales hallados en este estudio. En primer lugar, podríamos decir que ninguno de los hospedadores estudiados aquí forman parte de la dieta de *Lamna nasus*, por lo tanto sería de esperar el no encontrar los estadios larvales de *Clistobothrium* y *Dinobothrium* en ellos. En cuanto a los cestodes adultos que parasitan al gatuzo, ya hemos visto que además de *Calliobothrium* y *Symcallio*, se encuentra *Orygmatobothrium* en el mismo hospedador. Probablemente estos géneros sean incorporados por la ingestión de presas diferentes, sobre todo si consideramos el amplio espectro de ítems tróficos de los cuales se alimenta *Mustelus schmitti*.

Ivanov y colaboradores, en el marco de la campaña Costera Litoral Bonaerense (CCLB) (2012), realizaron estudios sobre diferentes especies de peces teleósteos y elasmobranquios en búsqueda de estadios larvales y adultos de cestodes, respectivamente. Entre ellos: *Merluccius hubbsi* (Gadiformes: Merlucciidae); *Paralichthys orbignyanus*, *P. patagonicus* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) y *Prionotus nudigola* (Scorpaeniformes:

Tryglidae). En cuanto a los hospedadores elasmobranquios, citan a *Schoederichthrys bivius* (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae); *Bathyraja macloviana*, *B.* cf. *multispinis* y *Psammobatis extenta* (Rajiformes: Arhynchobatidae) y a *Discopyge tshudii* (Torpediniformes: Narcinidae) por albergar cestodes Tetracyllidea - Phyllobothriidea no identificados. *Myliobatis goodei* (Myliobatiformes: Myliobatidae) como hospedador de *Phyllobothrium* cf. *myliobatidis* y *Atlantoraja castelnaui* (Rajiformes: Arhynchobatidae) hospedadora de *Acanthobothrium marplatensis*. Encontraron a *Echeneibothrium* cf. *multiloculatum* y *E.* cf. *williamsi* parasitando a *Zearaja chilensis* (Rajiformes: Rajidae) y a especies tanto de Rhinebothriidea como de Tetracyllidea no identificados parasitando a *Psammobatis normani* (Rajiformes: Arhynchobatidae). Entre los ejemplares hallados obtuvieron nuevas especies y nuevos géneros provenientes de especies de hospedadores cuya fauna de parásitos no ha sido previamente estudiada. Esto implica un gran avance y un panorama muy alentador para buscar en el futuro las secuencias que puedan corresponder exactamente con los morfotipos larvales presentes en Argentina.

Hasta el momento sólo contamos con los datos de secuencias de cestodes recolectados en otros lugares del mundo. Las relaciones geográficas entre los morfotipos larvales hallados en el presente estudio y las especies con las que obtuvieron mayor porcentaje de similitud se muestran en la figura 36 (Anexo).

Además de la importancia de obtener datos regionales, se debe tener en cuenta que la utilización de la región D1-D3 del gen 28S ADNr presenta sus limitaciones, ya que en varias oportunidades no ha sido posible llegar a la determinación genética a nivel de especie (Cutmore, 2011), por esta razón debería considerarse a futuro ampliar el estudio hacia otros genes, por ejemplo mitocondriales, realizando estudios combinados; lo que

sumado al análisis de la taxonomía morfométrica convencional daría un panorama mucho más claro de la sistemática del grupo.

ANEXO

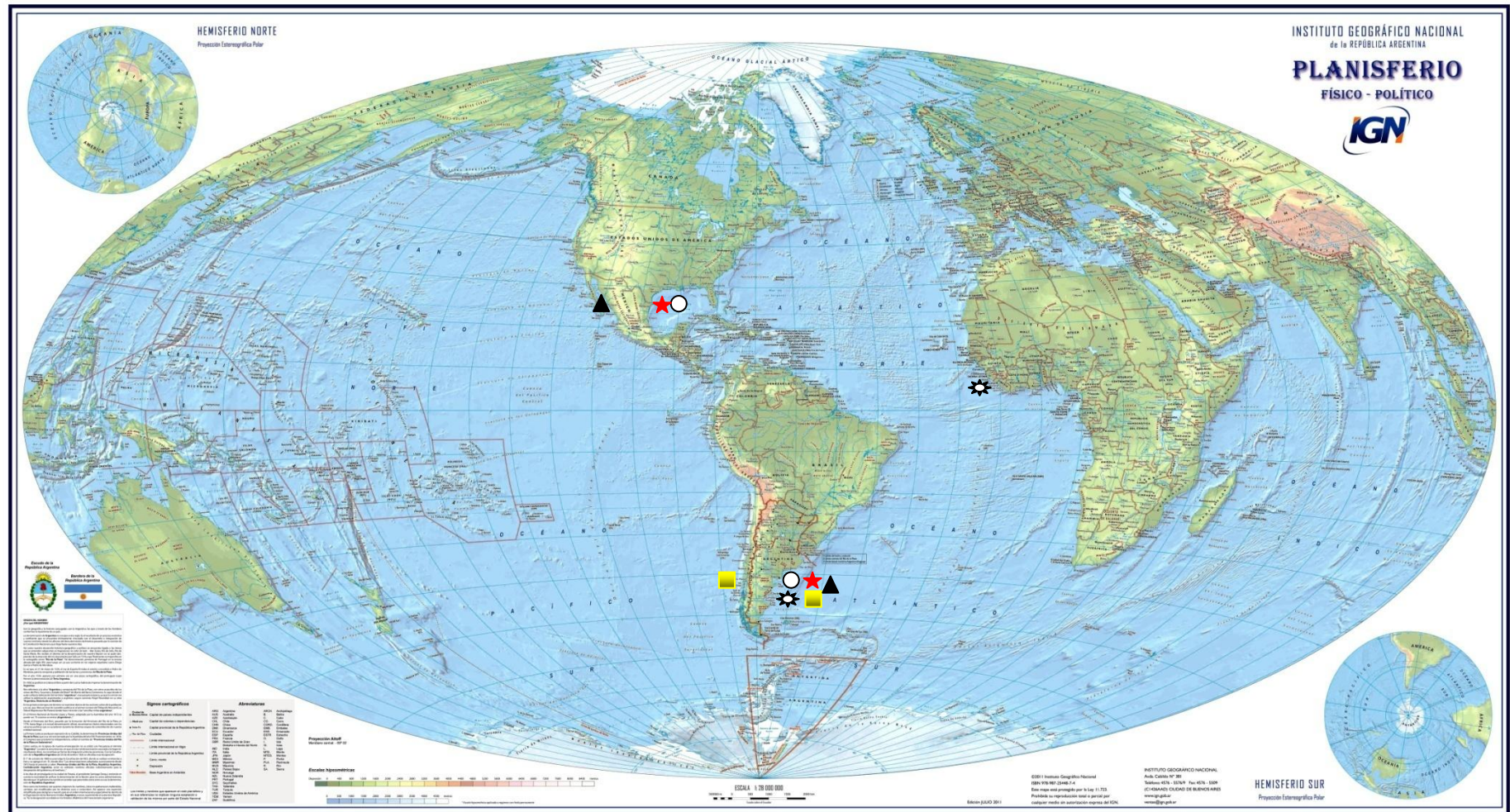


Figura 36. Ubicación geográfica de los estadios adultos de cestodos que se encuentran más estrechamente relacionados con los morfotipos larvales del estuario de B. Blanca.

- larva *Anthobothrium*-adulto *Anthobothrium* sp. 1B, 1C ★ larva *Crossobothrium*-adulto *C. laciniatum* ■ larva *Orymatobothrium*-adulto *O. cf. musteli* ⚙
- larva *Acanthobothrium*-adulto *A. santarosaliense* larva Rhinebothriidea-adulto *Rhinebothrium* sp. 4

Tabla 8: Especies de cestodes incluidas en el análisis filogenético, cuyas secuencias fueron tomadas del GenBank. OUT: outgroup. La ubicación de los taxones en sus respectivos órdenes se realizó según Caira et al. (2014). * Datos no publicados.

Taxón	Orden	Nº GenBank	Hospedador (Ord.:Fam.)	Localidad	Referencia
<i>Litobothrium amplifica</i> OUT	Lit	KF685906	<i>Alopias pelagicus</i> (Lamniformes: Alopiidae)	Santa Rosalia, Baja California Sur, Mexico	Caira et al. (2014)
<i>Litobothrium janovyi</i> OUT	Lit	AF286930	<i>Alopias superciliosus</i> (Lamniformes: Alopiidae)	Mexico	Olson et al. (2001)
<i>Rhabdotobothrium anterophallum</i>	Rhi	AF286961	<i>Mobula hypostoma</i> (Myliobatiformes: Mobulidae)	Golfo de Mexico, Missisipi, USA	Olson et al. (2001)
<i>Rhodobothrium paucitesticulare</i>	Rhi	GQ470173	<i>Rhinoptera bonasus</i> (Rajiformes: Myliobatidae)	Norte del Golfo de México, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhinebothroides</i> cf. <i>freitasi</i>	Rhi	FJ177132	<i>Potamotrygon</i> cf. <i>castexi</i> (Rajiformes: Potamotrygonidae)	Peru	Healy et al. (2009)
<i>Scalithrium</i> sp. 1	Rhi	KF685878	<i>Dasyatis longa</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	San Jose del Cabo, Baja California Sur, Mexico	Caira et al. (2014)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 4	Rhi	GQ470198	<i>Dasyatis say</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthocephalum jensenaen.</i> sp.	Rhi	KM658193	<i>Himantura jenkinsii</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Australia	Ruhnke et al. (2015)
<i>Echeneibothrium maculatum</i>	Rhi	AF382086	<i>Raja montagui</i> (Rajiformes: Rajidae)	Falkland Islands	Brickle et al. (2001)
<i>Proteocephalus macrocephalus</i>	Onc	EF095261	<i>Anguilla anguilla</i> (Anguiliformes: Anguillidae)	River Thames, Winsor, United Kingdom	Waeschenbach et al. (2007)
<i>Potamotrygonocestus</i> cf. <i>fitzgeraldae</i>	Onc	KF685773	<i>Potamotrygon castexi</i> (Myliobatiformes: Potamotrygonidae)	Madre de Dios River, Madre de Dios, Peru	Caira et al. (2014)

<i>Proteocephalus perplexus</i>	Onc	KF685873	<i>Amia calva</i> (Amiiformes: Amiidae)	Hay Bay, Lake Ontario, Canada	Caira et al. (2014)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	GQ470123	<i>Diplectrum formosum</i> (Perciformes: Serranidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Uncibilocularis okei</i>	Onc	KF685777	<i>Pastinachus atrus</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Dundee Beach, Northern Territory, Australia	Caira et al. (2014)
<i>Cathetocephalus thatcheri</i>	Cat	KF685884	<i>Carcharhinus leucas</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Gulf of Mexico, USA	Caira et al. (2014)
<i>Sanguilevator yearsleyi</i>	Cat	FJ177097	<i>Lamiopsis temminckii</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Prosobothrium armigerum</i>	Onc	KF685899	<i>Prionacea glauca</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Montauk, New York, USA	Caira et al. (2014)
<i>Platybothrium auriculatum</i>	Onc	KF685898	<i>Prionacea glauca</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Montauk, New York, USA	Caira et al. (2014)
<i>Anthobothrium</i> sp. 1B	Tet	GQ470166	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Megalonchos shawae</i>	Onc?	KF685764	<i>Hemipristis elongata</i> (Carcharhiniformes: Hemigaleidae)	Wessel Island, Northern Territory, Australia	Caira et al. (2014)
<i>Dioecotaenia campbelli</i>	Tet	GQ470157	<i>Rhinoptera bonasus</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Duplicibothrium minutum</i>	Tet	KF685885	<i>Rhinoptera</i> cf. <i>steindachneri</i> (Myliobatiformes: Rhinopteridae)	East Ship Island, off Ocean Springs, Mississippi, USA	Caira et al. (2014)
<i>Pedibothrium veravalensis</i>	Tet	KF685894	<i>Stegostoma fasciatum</i> (Orectolobiformes: Stegostomatidae)	Mukah, Sarawak, Borneo	Caira et al. (2014)
<i>Balanobothrium</i> sp.	Tet	KF685880	<i>Stegostoma fasciatum</i>	Mukah, Sarawak,	Caira et al. (2014)

			(Orectolobiformes: Stegostomatidae)	Borneo	
<i>Dinobothrium septaria</i>	Tet	JF436970	<i>Lamna nasus</i> (Lamniformes: Lamnidae)	Falkland Islands	Randhawa & Brickle (2011)
<i>Ceratobothrium xanthocephalum</i>	Tet	KF685756	<i>Isurus oxyrinchus</i> (Lamniformes: Lamnidae)	Montauk, New York, USA	Caira et al. (2014)
<i>Symcallio barbarae</i>	Tet	KP128023	<i>Mustelus schmitti</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Argentina	Bernot et al. (2015)
<i>Calliobothrium australis</i>	Tet	KP128031	<i>Mustelus schmitti</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Argentina	Bernot et al. (2015)
<i>Crossobothrium laciniatum</i>	Phy	KF685883	<i>Hexanchus griseus</i> (Hexanchiformes: Hexanchidae)	Pacific Ocean, Puerto Montt, Chile	Caira et al. (2014)
<i>Trilocularia gracilis</i>	Tet	KF685776	<i>Squalus acanthias</i> (Squaliformes: Squalidae)	Rhode Island, USA	Caira et al. (2014)
<i>Chimaerocestos</i> sp. n. 2	Phy	KF685882	<i>Rhinochiamera pacifica</i> (Chimaeriformes: Rhinochimaeridae)	Chatham Rise, New Zeland	Caira et al. (2014)
<i>Caulobothrium opisthorchis</i>	Tet	FJ177106	<i>Myliobatis californica</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	Bahia de Los Angeles, Baja California Sur, Mexico	Healy et al. (2009)
<i>Orymatobothrium</i> cf. <i>musteli</i>	Phy	KF685768	<i>Mustelus mustelus</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Mbour, Senegal	Caira et al. (2014)
<i>Phyllobothrium squali</i>	Phy	KF685897	<i>Squalus acanthias</i> (Squaliformes: Squalidae)	Rhode Island, USA	Caira et al. (2014)
<i>Calyptrorobothrium</i> sp. 1	Phy	KF685754	<i>Torpedo nobiliana</i> (Torpediniformes: Torpedinidae)	Rhode Island, USA	Caira et al. (2014)
<i>Nandocestus guariticus</i>	Phy	KF685888	<i>Paratrygon aiereba</i> (Myliobatiformes: Potamotrygonidae)	Mouth of Rio Shive, Madre de Dios, Peru	Caira et al. (2014)
<i>Paraorymatobothrium kirstenae</i>	Phy	KC505626	<i>Hemigaleus microstoma</i>	Mukah, Sarawak,	Ruhnke &

			(Carcharhiniformes: Hemigaleidae)	Borneo	Workman (2013)
<i>Ruhnkecestus latipi</i>	Phy	KF685900	<i>Scoliodon macrorhynchus</i> (Carcharhidiformes: Carcharhinidae)	Mukah, Sarawak, Borneo	Caira et al. (2014)
<i>Thysanocephalum crispum</i>	Phy	KF685902	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Carcharhiniformes: Carchirhinidae)	South California	Caira et al. (2014)
<i>Adelobothrium</i> cf. <i>aetiobatidis</i> OUT	Lec	EF095257	<i>Aetobatus narinari</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	Darwin, Northern Territory, Australia	Waeschenbach et al. (2007)
<i>Cephalobothrium aetobatidis</i> OUT	Lec	AF286927	<i>Aetobatus narinari</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	Thailand	Olson et al. (2001)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470063	<i>Opsanus beta</i> (Batrachoidiformes: Batrachoididae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Platybothrium jondoeorum</i>	Onc	KF685772	<i>Negaprion acutidens</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Darwin, Northern Territory, Australia	Caira et al. (2014)
<i>Prosobothrium armigerum</i>	Onc	AF286956	<i>Prionace glauca</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	USA	Olson et al. (2001)
<i>Thysanocephalum</i> sp.	Phy	AF286963	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Carcharhiniformes: Carchirhinidae)	USA	Olson et al. (2001)
<i>Hemipristicola gunterae</i>	Phy	KC505624	<i>Hemipristis elongata</i> (Carcharhiniformes: Hemigaleidae)	Wessel Island, Northern Territory, Australia	Ruhnke & Workman (2013)
<i>Marsupiobothrium</i> sp.	Phy	AF286959	<i>Alopias pelagicus</i> (Lamniformes: Alopiidae)	Mexico	Olson et al. (2001)
<i>Paraorygmatobothrium</i> sp. 5A	Phy	GQ470031	<i>Carcharhinus brevipinna</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Paraorygmatobothrium</i> sp. 5C	Phy	GQ470047	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes:	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)

<i>Paraorygmatobothrium</i> sp. 5D	Phy	GQ470048	Carcharhinidae) <i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Paraorygmatobothrium</i> sp. 5B	Phy	GQ470044	<i>Carcharhinus isodon</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Orectolobicestus randyi</i>	Phy	KF685767	<i>Chiloscyllium hasseltii</i> (Orectolobiformes: Hemiscylliidae)	Mukah, Sarawak, Borneo	Caira et al. (2014)
<i>Scyphophyllidium</i> cf. <i>giganteum</i>	Phy	KF685901	<i>Galeorhinus galeus</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Chatham Rise, New Zealand	Caira et al. (2014)
<i>Paraorygmatobothrium prionacis</i>	Phy	KF685892	<i>Prionace glauca</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Montauk, New York, USA	Caira et al. (2014)
<i>Paraorygmatobothrium paulum</i>	Phy	HQ680628	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Moreton Bay, Queensland, Australia	Cutmore et al. (2011)
<i>Alexandercestus gibsoni</i>	Phy	KC505623	<i>Negaprion acutidens</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Buffalo Creek, Timor Sea, Northern Territory, Australia	Rhunke & Workman (2013)
<i>Calyptrobothrium</i> sp. 1	Phy	KF685754	<i>Torpedo nobiliana</i> (Torpediniformes: Torpedinidae)	Rhode Island, USA	Caira et al. (2014)
<i>Crossobothrium longicolle</i>	Tet	AF286958	<i>Scyliorhinus canicula</i> (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae)	North Sea, UK	Olson et al. (2001)
Tetraphyllidea fam. gen. sp.	Tet	KP249698	<i>Alepocephalus rostratus</i> (Osmeriformes: Alepocephalidae)	Balearic Sea, NW Mediterranean	Perez-i-Garcia et al. (2015)
<i>Calyptrobothrium</i> sp.	Phy	AF382087	<i>Apristurus laurussonii</i> (= <i>atlanticus</i>) (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae)	Falkland Islands	Brickle et al. (2001)
<i>Phyllobothrium delphini</i>	Phy	DQ839589	<i>Grampus griseus</i> (Cetacea:	Mediterranean coast,	Aznar et al. (2007)

<i>Phyllobothriid</i> sp. 1	Phy	DQ839568	Delphinidae) <i>Stenella coeruleoalba</i> (Cetacea: Delphinidae)	Spain Mediterranean coast, Spain	Aznar et al. (2007)
<i>Clistobothrium</i> sp.	Tet	KM272992	<i>Regalecus glesne</i> (Lampriformes: Regalecidae)	Coast of Santa Catalina Island, CA, USA	Kuris et al. (2015)
<i>Clistobothrium montaukensis</i>	Tet	AF286957	<i>Isurus oxyrinchus</i> (Lamniformes: Lamnidae)	USA	Olson et al. (2001)
<i>Clistobothrium montaukensis</i>	Tet	KM272991	<i>Regalecus glesne</i> (Lampriformes: Regalecidae)	Coast of Santa Catalina Island, CA, USA	Kuris et al. (2015)
<i>Clistobothrium montaukensis</i>	Tet	EF095259	<i>Isurus oxyrhynchus</i> (Lamniformes: Lamnidae)	Montauk, New York, USA	Waeschenbach et al. (2007)
<i>Anthobothrium</i> sp. 2A	Tet	GQ470160	<i>Carcharhinus isodon</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthobothrium</i> sp. 2B	Tet	GQ470159	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthobothrium caseyi</i>	Tet	KF685879	<i>Prionace glauca</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Montauk, New York, USA	Caira et al. (2014)
<i>Anthobothrium</i> sp. n. 1	Tet	KF685752	<i>Carcharhinus tilstoni</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	Wessel Island, Northern Territory, Australia	Caira et al. (2014)
<i>Anthobothrium</i> sp.	Tet	GQ470164	<i>Ariopsis felis</i> (Siluriformes: Ariidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthobothrium</i> sp. 1C	Tet	GQ470161	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthobothrium</i> sp.	Tet	GQ470168	<i>Trichiurus lepturus</i> (Perciformes: Trichiuridae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthobothrium</i> sp. 1B	Tet	GQ470166	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Dinobothrium</i> sp.	Tet	JF436972	<i>Lamna nasus</i>	Falkland Islands	Randhawa &

<i>Myzocephalus</i> sp. 1	Tet	KF685887	(Lamniformes: Lamnidae) <i>Aetobatus ocellatus</i>	Darwin, Northern Territory, Australia	Brickle (2011) Caira et al. (2014)
<i>Rhoptrbothrium</i> cf. <i>gambangi</i>	Tet	KF685774	(Myliobatiformes: Myliobatidae) <i>Stegostoma fasciatum</i>	Mukah, Sarawak, Borneo	Caira et al. (2014)
<i>Triloculatum bullardi</i>	Onc	GQ470102	(Orectolobiformes: Stegostomatidae) <i>Carcharhinus brevipinna</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Triloculatum andersonorum</i>	Onc	KF685895	(Carcharhiniformes: Carcharhinidae) <i>Negaprion acutidens</i>	Weipa, Queensland, Australia	Caira et al. (2014)
<i>Orymatobothrium</i> cf. <i>musteli</i> 2	Phy	KF685891	(Carcharhiniformes: Triakidae) <i>Mustelus mustelus</i>	Ouakam, Senegal	Caira et al. (2014)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470096	(Clupeiformes: Engraulidae) <i>Anchoa mitchilli</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470097	(Perciformes: Trichiuridae) <i>Trichiurus lepturus</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium</i> sp. 1B	Onc	GQ470083	(Carcharhiniformes: Carcharhinidae) <i>Carcharhinus isodon</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium</i> sp. 1A	Onc	GQ470095	(Carcharhiniformes: Carcharhinidae) <i>Carcharhinus brevipinna</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium</i> sp. 1C	Onc	GQ470094	(Carcharhiniformes: Carcharhinidae) <i>Carcharhinus limbatus</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470058	(Perciformes: Lutjanidae) <i>Lutjanus synagris</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Phoreiobothrium lewinense</i>	Onc	KF685896	(Carcharhiniformes: Sphyrnidae) <i>Sphyrna lewini</i> 1	Straits of Florida, Florida, USA	Caira et al. (2014)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470060	(Perciformes: Lobotidae) <i>Lobotes surinamensis</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)

<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	AF286954	<i>Sphyrna mokarran</i> (Carcharhiniformes: Sphyrnidae)	Mexico	Olson et al. (2001)
<i>Symcallio peteri</i>	Tet?	KP128018	<i>Mustelus palumbes</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	near South Africa, Indian Ocean	Bernot et al. (2015)
<i>Crossobothrium</i> cf. <i>dohrnii</i>	Tet	KF685759	<i>Heptranchus perlo</i> (Hexanchiformes: Hexanchidae)	Gulf of Mexico	Caira et al. (2014)
<i>Calliobothrium euzeti</i>	Tet	KP128026	<i>Mustelus palumbes</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	near South Africa, Indian Ocean	Bernot et al. (2015)
<i>Calliobothrium</i> cf. <i>verticillatum</i>	Tet	KP128032	<i>Mustelus canis</i> (Carchorhiniformes: Triakidae)	USA	Bernot et al. (2015)
<i>Phyllobothrium lactuca</i>	Phy	AF286960	<i>Mustelus asterias</i> (Carchorhiniformes: Triakidae)	UK	Olson et al.(2001)
<i>Phyllobothrium</i> cf. <i>lactuca</i>	Phy	KC505628	<i>Mustelus mento</i> (Carchorhiniformes: Triakidae)	Valparaiso, Chile	Ruhnke & Workman (2013)
<i>Phoreiobothrium</i> sp.	Onc	GQ470057	<i>Lutjanus synagris</i> (Perciformes: Lutjanidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Triloculatum</i> sp.	Onc	GQ470100	<i>Ariopsis felis</i> (Siluriformes: Ariidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Kapsulotaenia</i> sp.	Onc	AJ583455	<i>Varanus gouldi</i> (Squamata: Varanidae)	Mt Mofatt, Queensland; Australia	de Chambrier et al. (2004)
<i>Acanthotaenia</i> cf. <i>shipleyi</i>	Onc	AJ583453	<i>Ariopsis felis</i> (Siluriformes: Ariidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthotaenia</i> sp.	Onc	AJ388593	<i>Varanus exanthematicus</i> (Squamata: Varanidae)	Ghana	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Ritacestus ritaii</i>	Onc?	JX477447	<i>Rita rita</i> (Siluriformes: Bagridae)	Malda, West Bengal, India	Ash et al. (2012)
<i>Proteocephalus hemioliopteri</i>	Onc	AJ388622	<i>Phractocephalus</i> <i>hemioliopterus</i>	Itacoatiara, Amazonas Province, Brazil	Zehnder & Mariaux (1999)

<i>Scholzia emarginatum</i>	Onc	KC786016	(Siluriformes: Pimelodidae) <i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	Brazil	Scholz et al. (2013)
<i>Proteocephalus pirarara</i>	Onc	AJ388616	(Siluriformes: Pimelodidae) <i>Phractocephalus hemioliopterus</i>	Itacoatiara, Amazonas Province, Brazil	Zehnder & Mariaux (1999)
<i>Acanthobothrium margieae</i>	Onc	HQ437683	(Siluriformes: Pimelodidae) <i>Orectolobus japonicus</i>	East China Sea off Magong, Taiwan	Fyler (2011)
<i>Acanthobothrium rodmani</i>	Onc	FJ843596	(Orectolobiformes: Orectolobidae) <i>Himantura</i> sp.	Arafura Sea off northern Australia	Fyler et al. (2009)
<i>Acanthobothrium romanowi</i>	Onc	FJ843598	(Myliobatiformes: Dasyatidae) <i>Himantura</i> sp.	Arafura Sea off northern Australia	Fyler et al. (2009)
<i>Acanthobothrium</i> sp. 1	Onc	AF286953	(Dasyatidae) <i>Dasyatis longus</i>	Mexico	Olson et al. (2001)
<i>Acanthobothrium mattaylori</i>	Onc	HQ917927	(Myliobatiformes: Dasyatidae) <i>Rhynchobatus laevis</i>	Australia	Fyler & Caira (2011)
<i>Acanthobothrium oceanharvestae</i>	Onc	FJ843594	(Rajiformes: Rhinobatidae) <i>Himantura</i> sp.	Arafura Sea off northern Australia	Fyler et al. (2009)
<i>Acanthobothrium hypermekkolpos</i>	Onc	HQ917929	(Myliobatiformes: Dasyatidae) <i>Rhynchobatus laevis</i>	Australia	Fyler & Caira (2011)
<i>Onchobothrium antarcticum</i>	Onc	KF882021	(Rajiformes: Rhinobatidae) <i>Notothenia rossii</i>	Admiralty Bay, King George Island, Antarctica	Laskowski & Rocka (2014)
<i>Acanthobothrium jeanneae</i>	Onc	HQ917928	(Perciformes: Nototheniidae) <i>Rhynchobatus laevis</i>	Australia	Fyler & Caira (2011)
<i>Acanthobothrium</i> sp. 6C	Onc	GQ470113	(Rajiformes: Rhinobatidae) <i>Dasyatis say</i>	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthobothrium brevissime</i>	Onc	EU170364	(Myliobatiformes: Dasyatidae) <i>Branchiostoma floridae</i>	Florida, Tampa, USA	Holland et al. (2009)
			(Amphioxiformes:		

<i>Acanthobothrium masnihae</i>	Onc	FJ843604	Branchiostomidae) <i>Himantura</i> sp. (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Arafura Sea off northern Australia	Fyler et al. (2009)
<i>Acanthobothrium parviuncinatum</i>	Onc	EF095264	<i>Urobatis maculatus</i> (Myliobatiformes: Urolophidae)	Bahia de Los Angeles, Baja California Sur, Mexico	Waeschenbach et al. (2007)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	FJ843592	<i>Himantura</i> sp. (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Arafura Sea off northern Australia	Fyler et al. (2009)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	GQ470117	<i>Diplectrum formosum</i> (Perciformes: Serranidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	GQ470121	<i>Cynoscion nebulosus</i> (Perciformes: Sciaenidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthobothrium santarosaliense</i>	Onc	KF685751	<i>Heterodontus mexicanus</i> (Heterodontiformes: Heterodontidae)	Santa Rosalia, Baja California Sur, Mexico	Caira et al. (2014)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	GQ470115	<i>Lagodon rhomboides</i> (Perciformes: Sparidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthobothrium</i> sp.	Onc	GQ470124	<i>Paralichthys lethostigma</i> (Pleuronectiformes: Paralichthyidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
Rhinebothriidea sp. type 2	Rhi	HQ269833	<i>Farfantepenaeus duorarum</i> (Decapoda: Penaeidae)	Gulf Breeze FL, USA	Payne & Gunderson (2010)*
<i>Rhinebothrium</i> sp. 4	Rhi	GQ470197	<i>Dasyatis say</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Anthocephalum</i> cf. <i>centrurum</i>	Rhi	FJ177099	<i>Dasyatis centroura</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Senegal	Healy et al. (2009)
Rhinebothriidea gen. 2 cf. <i>sexorchidum</i>	Rhi	FJ177108	<i>Taeniura lymma</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium kinabatanganensis</i>	Rhi	FJ177118	<i>Himantura chaophraya</i> (Myliobatiformes:	Malaysia	Healy et al. (2009)

<i>Rhinebothrium maccallumi</i>	Rhi	AF286962	Dasyatidae) <i>Dasyatis americana</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Mexico	Olson et al. (2001)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 9	Rhi	FJ177131	<i>Taeniura lymma</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 4	Rhi	FJ177126	<i>Dasyatis akajei</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Japan	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 3	Rhi	GQ470193	<i>Dasyatis say</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 5	Rhi	FJ177127	<i>Dasyatis brevis</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Mexico	Healy et al. (2009)
<i>Scalithrium</i> sp.	Rhi	FJ177133	<i>Dasyatis longus</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Mexico	Healy et al. (2009)
<i>Spongiobothrium</i> sp.	Rhi	FJ177134	<i>Rhynchobatus cf australiae</i> (Rajiformes: Rhinobatidae)	Australia	Healy et al. (2009)
<i>Spongiobothrium</i> sp.	Rhi	GQ470189	<i>Dasyatis sabina</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Spongiobothrium</i> sp.	Rhi	GQ470183	<i>Urophycis floridana</i> (Gadiformes: Phycidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhabdotobothrium anterophallum</i>	Rhi	GQ470180	<i>Mobula hypostoma</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhodobothrium paucitesticulare</i>	Rhi	GQ470178	<i>Rhinoptera bonasus</i> (Myliobatiformes: Myliobatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhodobothrium paucitesticulare_</i>	Rhi	GQ470171	<i>Donax variabilis</i> (Veneroida, Donacidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 3	Rhi	FJ177125	<i>Himantura undulata</i> (Myliobatiformes:	Australia	Healy et al. (2009)

<i>Rhinebothrium</i> sp. 2	Rhi	FJ177124	Dasyatidae) <i>Himantura uarnacoides</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 1	Rhi	FJ177121	<i>Himantura pastinacoides</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium</i> sp.	Rhi	AY193881	<i>Paratrygon aiereba</i> (Myliobatiformes: Potamotrygonidae)	Peru	Reyda & Olson (2003)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 8	Rhi	FJ177130	<i>Paratrygon cf aiereba</i> (Myliobatiformes: Potamotrygonidae)	Peru	Healy et al. (2009)
<i>Rhinebothrium</i> sp. 11	Rhi	FJ177123	<i>Taeniura lymma</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	Malaysia	Healy et al. (2009)
<i>Acanthobothrium</i> sp. 6B	Onc	GQ470110	<i>Dasyatis say</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Acanthobothrium</i> sp. 6A	Onc	GQ470108	<i>Dasyatis say</i> (Myliobatiformes: Dasyatidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)
<i>Orymatobothrium</i> sp.	Phy	KC505627	<i>Mustelus lunulatus</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Santa Rosalia, Gulf of California, Mexico	Ruhnke & Workman (2013)
<i>Orymatobothrium musteli</i>	Phy	AF382088	<i>Mustelus asterias</i> (Carcharhiniformes: Triakidae)	Falkland Islands	Brickle et al. (2001)
<i>Chimaerocestos</i> sp. n. 1	Phy	KF685758	<i>Rhinochimaera pacifica</i> (Chimaeriformes: Rhinochimaeridae)	Chatham Rise, New Zealand	Caira et al. (2014)
Phyllobothriidea gen. n. 10 sp. n. 1	Phy	KF685889	<i>Sphyrna lewini</i> 1 (Carcharhiniformes: Sphyrnidae)	Straits of Florida, Florida, USA	Caira et al. (2014)
<i>Hemipristicola gunterae</i>	Phy?	HQ680623	<i>Hemipristis elongata</i> (Carcharhiniformes:	Moreton Bay, Australia	Cutmore et al. (2011)

<i>Marsupiobothrium</i> sp. 1	Phy	KF685771	Hemigaleidae) <i>Alopias pelagicus</i> (Lamniformes: Alopiidae)	Santa Rosalia, Baja California Sur, Mexico	Caira et al. (2014)
<i>Paraorygmatobothrium</i> sp. 5C	Phy	GQ470045	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Carcharhiniformes: Carcharhinidae)	northern Gulf of Mexico, USA	Jensen & Bullard (2010)

Capítulo III

Aspectos histopatológicos de los estadios larvales en sus hospedadores



INTRODUCCIÓN

La colonización del tracto gastrointestinal de vertebrados es una de las estrategias más exitosas de supervivencia por parte de los helmintos parásitos (Bristol & Williamson, 1988). La mayoría de las especies que ocupan las vísceras, como así también la musculatura esquelética y la cavidad peritoneal de los peces, son metacercarias de digeneos, metacestodes y larvas de nematodes (Williams & Jones, 1994). En los estadios larvales que se fijan al epitelio de la mucosa digestiva, es posible establecer una relación directa entre el tipo de lesión y la estructura anatómica del órgano de fijación (Mc Vicar, 1972; Borucinska & Caira, 1993). Pero además en los cestodes, el tegumento cumple una función primordial debido a la presencia de los microtricos y a las características propias del glicocálix (Boruscinska, 2008). Los trabajos disponibles hasta el presente se refieren al efecto patológico producido por los órganos de fijación de cestodes larvales pertenecientes a los órdenes Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Gurney et al., 2004; Borucinska & Caira, 2006; Borucinska & Bullard, 2011), Bothriocephalidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (=Pseudophyllidea en parte) y Diphylobothriidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (=Pseudophyllidea en parte) (Hoole & Arme, 1983; Weiland & Meyers, 1989; Rodger, 1991; Brinker & Hamers, 2007), debido a que sus escólices presentan características muy particulares, como son trompas con ganchos y órganos apicales glandulares, que suelen lacerar los tejidos del hospedador. En lo que respecta a los estadios larvales del grupo *Scolex*, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha sólo cuantifican su presencia como integrantes de ensambles parasitarios en diferentes especies de hospedadores, desconociéndose detalles precisos acerca de las interacciones parásito-hospedador y el rol que cumplen estos helmintos en el *fitness* de los peces marinos.

El tracto digestivo de los peces muestra una marcada diversidad en cuanto a la morfología y a la función que cumplen las distintas regiones, lo que se relaciona directamente con los distintos hábitos alimenticios, la taxonomía, la forma del cuerpo, el tamaño y el sexo (Kapoor et al., 1975). Así mismo, las mucosustancias secretadas difieren entre especies y también a lo largo del canal alimenticio (Díaz et al., 2003). En lo que respecta a los cestodes en particular y el efecto que producen en sus hospedadores, se ha demostrado que poseen la capacidad para incidir en el interés comercial de los peces al provocar la disminución en la absorción de proteínas, grasas y carbohidratos, afectando el peso y la talla de los mismos (Vázquez Núñez et al., 2004).

Objetivos:

- Caracterizar las larvas desde el punto de vista bioecológico (microhábitat de los estadios larvales, mecanismos de fijación al hospedador).
- Describir y evaluar el impacto anatómo-patológico de las lesiones provocadas en la mucosa digestiva de los peces.
- Evaluar el potencial efecto de la intensidad de la infección sobre la condición corporal de los hospedadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este capítulo se desarrolló en base a los morfotipos larvales monolucados I y VI (plerocercoides según Chervy, 2002) hallados en *Cynoscion guatucupa* y *Porichthys porosissimus*, respectivamente. La muestra consistió en 73 ejemplares de *P. porosissimus* y 30 ejemplares de *C. guatucupa* capturados mediante redes de enmalle en el estuario de Bahía Blanca (38° 45' S 62° 15' O). De cada uno de los peces se registró la longitud total al milímetro inferior, se efectuó la disección y se determinó el peso total. Una vez expuesta la cavidad celómica, se ligó arbitrariamente el tracto digestivo en tres porciones de diferente longitud: en *P. porosissimus*, una anterior de paredes muy engrosadas y melanizadas, una porción media melanizada de paredes más delgadas y una posterior de paredes delgadas y coloración clara; en *C. guatucupa* se dividió en tres porciones luego de los ciegos, donde no es tan clara la diferenciación salvo por la altura y el desarrollo de las vellosidades que disminuyen hacia la región posterior, además del grosor de la pared que es mayor en ésta última. El contenido de cada sección se separó en cápsulas de Petri. En cada una de estas porciones se efectuó la identificación y conteo parasitario examinando con pincel fino la mucosa digestiva.

Los estimadores poblacionales de prevalencia, abundancia e intensidad parasitarias (promedios y rangos) en cada porción en *P. porosissimus* y en general en *C. guatucupa*, fueron calculados según Bush et al. (1997) y el intervalo de confianza de la prevalencia al 95 % según Morales & Pino (1987).

Las intensidades parasitarias fueron comparadas entre las diferentes porciones del tubo digestivo de *P. porosissimus* por medio del test de Friedman. La relación entre el

factor de condición ($FC = \text{peso total} \times \text{longitud}^{-3} \times 100$) y la intensidad larval fue estimada en ambos hospedadores a través de la correlación por rangos de Spearman (Siegel & Castellan, 1995).

Con el fin de comparar los efectos de la intensidad parasitaria sobre el factor de condición se tomaron 15 hospedadores con una intensidad media de 15 (1-31) larvas, considerados de baja infección, y 14 hospedadores cuya intensidad fue mayor de 100 larvas, considerados altamente parasitados. Esta comparación del índice hepatosomático respecto de altas o bajas intensidades parasitarias se evaluó a través del Test de Anova de un Factor.

Para el análisis histopatológico se disecaron 10 ejemplares de *P. porosissimus* y 5 especímenes de *C. guatucupa*. Inmediatamente *postmortem*, fueron fijadas secciones del tracto digestivo en líquido de Bouin (alcohólico) y procesadas para estudios de histología normal y patológica. Se utilizaron métodos histológicos de rutina obteniendo cortes de 5 μ de espesor. Las técnicas de coloración empleadas fueron: Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson, PAS (*Periodic acid-Schiff*) y Alcian Blue (pH 2.5 y 1.0).

RESULTADOS

Relación parásito-hospedador entre los estadios plerocercoides y *Porichthys porosissimus*:

Sitio de infección

Porichthys porosissimus posee un tracto digestivo de tipo rectilíneo, relativamente corto y desprovisto de ciegos pilóricos. No hay una clara demarcación entre regiones cardíaca y pilórica, como se observa en el estómago de la mayoría de los teleósteos. La mucosa de la primera porción del tracto digestivo se diferencia macroscópicamente de las porciones media y posterior por la presencia de un plegamiento grueso y sinuoso, el cual es notablemente más elongado en la porción media y llega prácticamente a desaparecer en la última porción. La pared del tubo digestivo está formada por epitelio cilíndrico pseudoestratificado con células mucosecretoras PAS positivas y Alcian Blue positivas en diferente grado de maduración (Fig. 37). Asociadas a la porción basal del epitelio se observan células eosinófilas. El resto de la mucosa se compone de abundantes fibras colágenas, sin distinción entre estratos compacto y granuloso. La pared digestiva se completa externamente por capas de musculatura circular y longitudinal y una envoltura serosa fuertemente melanizada (Fig. 38).

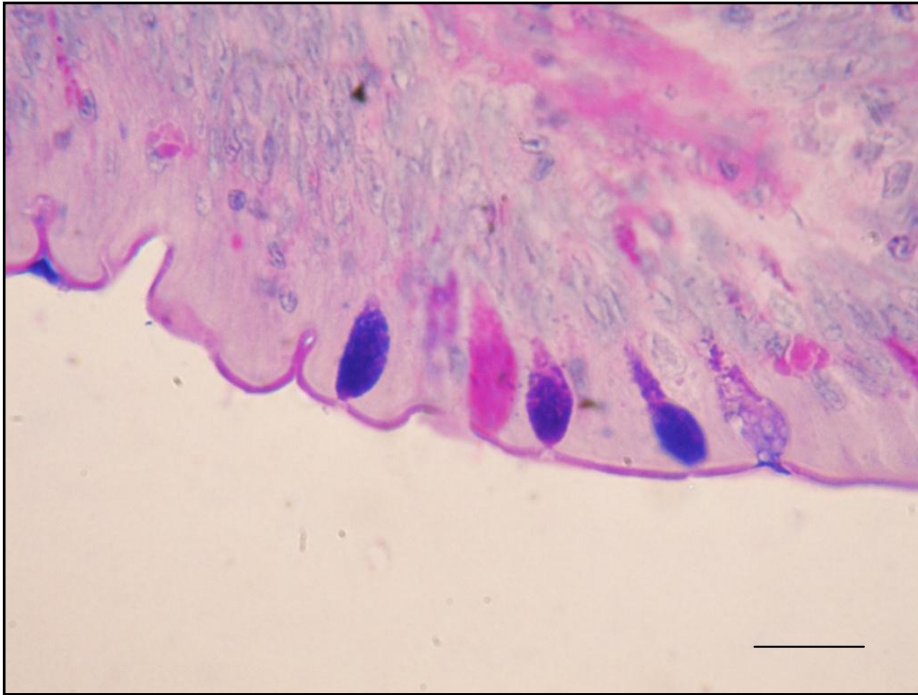


Figura 37. Sección histológica de la mucosa intestinal de *P. porosissimus* con células mucosecretoras (PAS + Alcian Blue; escala: 0.01 mm).

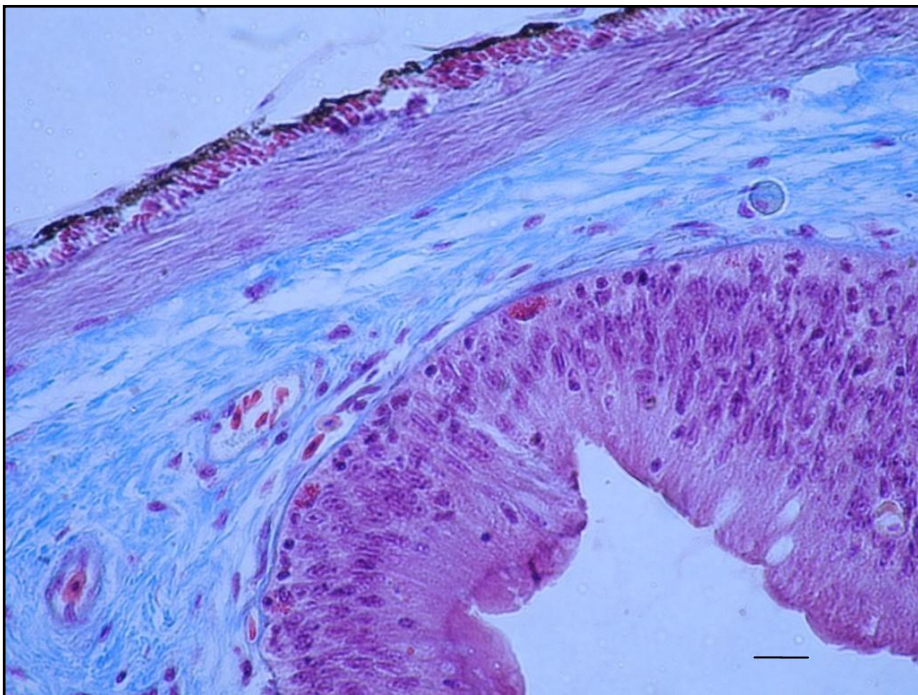


Figura 38. Sección histológica de la pared intestinal de *P. porosissimus* mostrando la capa mucosa, el estrato conjuntivo, músculo circular y longitudinal y serosa. (Tricrómico de Masson; escala: 0.02 mm).

La porción media del tracto digestivo fue la que presentó los valores más altos de prevalencia, abundancia e intensidad de infección (Tabla 9). El test de Friedman evidenció que existen diferencias altamente significativas al comparar la intensidad de las tres porciones del tubo digestivo (Chi-cuadrado: 17.3; $p= 0.000$). El factor de condición de los ejemplares resultó significativamente afectado por la intensidad de infección ($r_s= -0.29$, $p= 0.013$).

La diferencia en el factor de condición medio según la intensidad parasitaria resultó altamente significativa ($F= 10.41$; $p= 0.003$), con valores más altos en el grupo con baja infección.

Tabla 9: Estimadores poblacionales de larvas plerocercoides según la porción de tracto digestivo considerada.

Estimador	Porción I	Porción II	Porción III
Prevalencia (%)	50.68 \pm 0.11	98.63 \pm 0.03	67.12 \pm 0.11
Abundancia	8.17 (0-50)	40.73 (0-50)	8.03 (0-50)
Intensidad	16.13 (1-50)	41.30 (1-50)	11.95 (1-50)

Descripción histopatológica

Las larvas de los cestodes se hallaron tanto libres en el lumen, desplazándose entre los pliegues de la mucosa, como adheridos fuertemente con sus acetábulos y la ventosa apical. El sitio elegido para fijarse al epitelio fue preferentemente el espacio entre vellosidades contiguas. En algunas secciones de la porción media del tubo digestivo, con altas cargas parasitarias, dos tercios de dichos espacios estuvieron ocupados por una o dos

larvas. En algunos casos la talla de los parásitos superó la altura de los repliegues de la mucosa (Fig. 39).



Figura 39. Sección transversa del intestino de *P. porosissimus* densamente parasitada por los estadios larvales (H-E; escala: 0.2 mm).

En la zona de contacto del parásito con el epitelio se observó una atrofia compresiva de las células con un marcado aplanamiento e incluso desaparición de la capa epitelial. Grupos de células de revestimiento aparecieron completamente englobadas en la cavidad de las ventosas (Figs. 40 y 41).

No se observaron lesiones ni infiltrados más allá del epitelio ni cambios degenerativos profundos. Las células eosinófilas de la mucosa se presentaron indistintamente tanto en porciones parasitadas como no afectadas por las larvas y no parecen guardar relación con la colonización del lumen por estos helmintos.

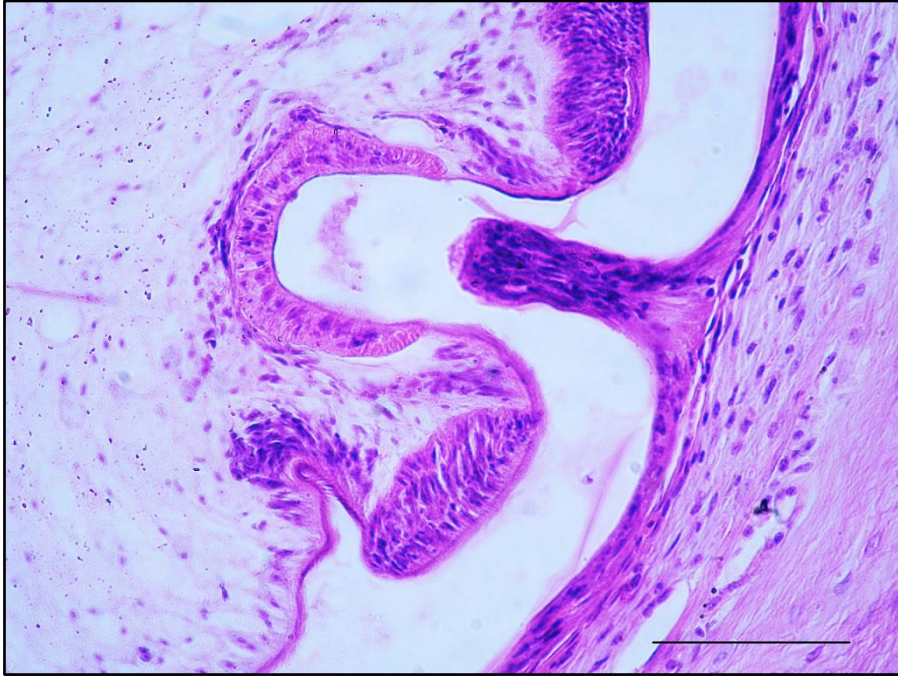


Figura 40. Porción de la mucosa epitelial de *P. porosissimus* englobadas por la ventosa apical de la larva plerocercóide. Notar la drástica disminución y atrofia de la capa epitelial alrededor del sitio de adhesión (Tricrómico de Masson; escala: 0.05 mm).



Figura 41. Detalle de la larva plerocercóide y sus acetábulos (H-E; escala: 0.3 mm).

Relación parásito-hospedador entre los estadios plerocercoides y *Cynoscion guatucupa*:

Sitio de infección

Cynoscion guatucupa posee un tracto intestinal sigmoideo, medianamente largo, cuya pared presenta un epitelio cilíndrico pseudoestratificado con células mucosecretoras, submucosa, musculatura longitudinal, circular y serosa (Fig. 50). Las características morfoanatómicas van cambiando a medida que avanzamos desde los ciegos hacia el extremo posterior: la altura y el desarrollo de las vellosidades disminuyen, en tanto el grosor de la pared aumenta hacia el final del tracto digestivo.

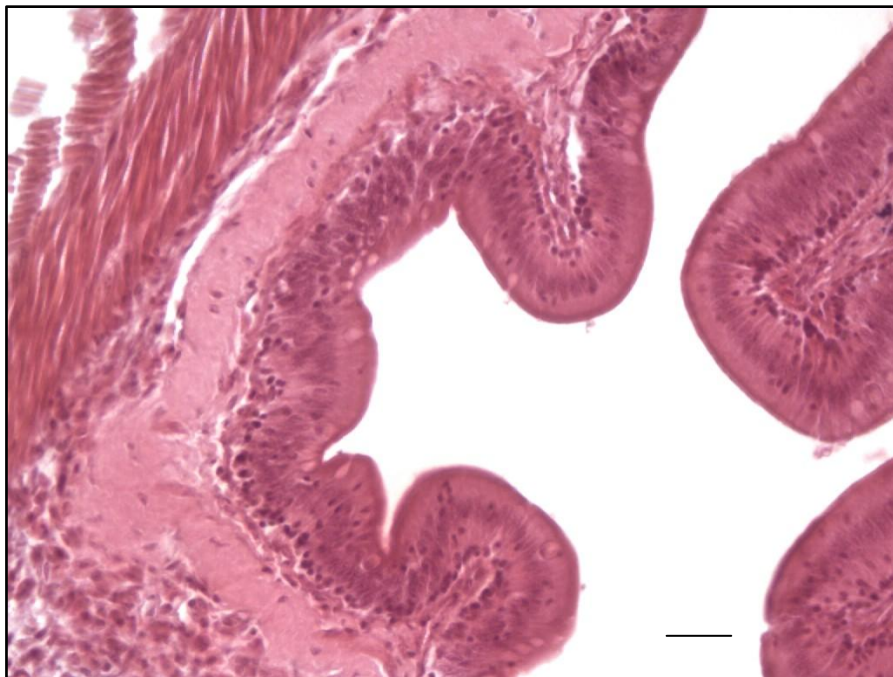


Figura 51. Detalle del epitelio cilíndrico normal de *C. guatucupa* y las células caliciformes (H-E; escala: 0.25 mm).

Al igual que en *P. porosissimus*, las larvas se hallaron adheridas fuertemente con sus acetábulos y ventosa apical, preferentemente en el espacio existente entre vellosidades (Fig. 52). Se observa también el aplanamiento y destrucción de los enterocitos en la zona donde la larva se adhiere al hospedador (Fig. 53).



Figura 52. Sección transversa del intestino de *C. guatucupa*. Vista de la larva entre vellosidades adyacentes (H-E; escala: 0.2 mm).

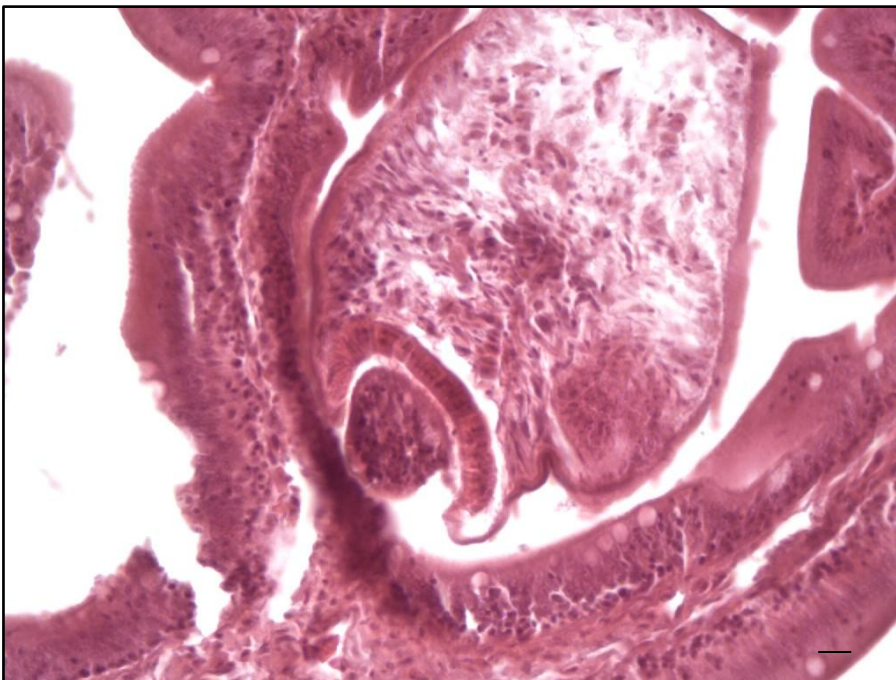


Figura 53. Detalle de la reducción y atrofia del epitelio producida por la compresión de la larva plerocercoides (H-E; escala: 0.1 mm).

Los valores de los estimadores poblacionales fueron: Prevalencia: 93.33%, Intensidad media: 16.36 y Abundancia: 15.27. El factor de condición de los ejemplares no resultó afectado por la intensidad de la infección ($r_s = -0.07$; $p = 0.68$), lo cual reflejaría que no se producen efectos adversos sobre la relación talla/peso y la condición física del hospedador.

DISCUSIÓN

El tracto gastrointestinal es la ruta primaria de infección en peces como también en otros vertebrados (Ringo et al., 2007) debido probablemente a la facilidad de acceso para el patógeno, la disponibilidad de sitios de sujeción y nutrientes, así como el hecho de encontrarse ante una respuesta inmune relativamente poco agresiva (Secombes & Chappell, 1996).

Las consecuencias que producen los cestodes adultos en sus hospedadores se sitúan en un rango que abarca desde efectos despreciables hasta la muerte, en algunos casos excepcionales. Estudios realizados en peces infectados demuestran que el daño tisular del tubo digestivo producido por estadios adultos es más grave que lo observado en infecciones por larvas, lo cual podría estar determinado por el mayor desarrollo de las estructuras de fijación en los primeros. Se han descrito ulceraciones, hemorragias y destrucción profunda de la pared digestiva, atravesándola por completo; así como atrofia, hipertrofia y compresión de la mucosa (Satpute & Agarwal, 1974; Morley & Hoole, 1995; Eiras et al., 1986). Como consecuencia de ello disminuye la absorción de proteínas, grasas y carbohidratos, lo cual afecta el peso y la talla del hospedador en perjuicio del valor comercial del producto pesquero. Además, cuando se producen las mencionadas alteraciones del epitelio y la barrera primaria se vuelve vulnerable, no sólo se ve alterado el proceso de digestión sino que aumenta la susceptibilidad del organismo al ataque de patógenos (Vazquez Núñez et al., 2004).

En el caso de los cestodes se ha demostrado que el escólex ocasiona cambios en la mucosa y en las capas subyacentes de la pared intestinal, incluyendo fibrosis, pérdida del

epitelio en o cerca del sitio de sujeción, necrosis, hiperplasia y metaplasia de la mucosa, así como también hemorragias (Caira & Reyda, 2005). De hecho, a pesar del escaso desarrollo de la respuesta inmune, se ha demostrado que la sujeción del órgano de fijación de los helmintos endoparásitos puede provocar la inflamación del tracto gastrointestinal del hospedador (Dezfuli et al., 2009).

El primer nivel de defensa del tracto digestivo de vertebrados consiste en la secreción de sustancias dentro del lumen, incluyendo mucus, bicarbonatos, ácidos, inmunoglobulinas y otros materiales bactericidas, además de fosfolípidos activos de superficie (Martin & Wallace, 2006, Wallace & Ma 2001). Las células mucosas del epitelio, además de constituir la ya mencionada barrera primaria; favorecen la eficiencia del proceso digestivo, promueven la absorción de macromoléculas, actúan como buffer de los fluidos intestinales y previenen el daño proteolítico del epitelio (Arellano López et al., 1999). El mucus es un gel altamente hidratado compuesto de un 95% de agua y un 5% de mucinas, sumado a un menor componente de electrolitos. Las mucinas son glicoproteínas de alto peso molecular que forman geles glicosilados y, tanto su presencia como su distribución, están correlacionadas con las diferentes funciones mencionadas anteriormente (Neutra & Forstner, 1987).

Los trabajos disponibles referidos a los efectos provocados por cestodes larvales en la mucosa digestiva de los peces incluyen a Paperna & Overstreet (1981), quienes observaron que lisas jóvenes (*Mugil* spp. (Mugiliformes: Mugilidae)) mantenidas en acuarios con altas cargas parasitarias de *Scolex polymorphus* en el intestino, dejaban de alimentarse y morían. De Lima et al. (1997) describieron lesiones asociadas a *Scolex pleuronectis* en forma de pseudocistos en los extremos de los ciegos pilóricos de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner) (Clupeiformes: Clupeidae), de las costas de Rio de

Janeiro, Brasil. Las lesiones se caracterizaban por fibroesclerosis y engrosamiento del tejido conectivo de la submucosa, produciendo estenosis cecal. Una discreta infiltración mononuclear y de células eosinófilas completaba el cuadro inflamatorio. Meyers (1978) había descrito similares dilataciones de los ductos biliares en el hígado de *Cynoscion regalis* (Bloch & Schneider) (Perciformes: Sciaenidae) producidas por larvas del grupo *Scolex*. Radhakrishnan et al. (1984) registraron ligeras lesiones erosivas de la mucosa de los ciegos digestivos de *Trichiurus lepturus* Linnaeus (Perciformes: Trichiuridae), una importante reducción del peso del hígado y alteraciones hematológicas de tipo anemia macrocítica, aunque sin evidencias de hemorragia ni reacción inflamatoria en la submucosa. Douellou et al. (1987) señalaron que *S. pleuronectis* es el parásito más común y abundante en el intestino anterior y ciegos pilóricos de *Arnoglossus laterna* (Walbaum) (Pleuronectiformes: Bothidae). En este hospedador, los autores indicaron que altas intensidades de larvas provocan alteración de la fórmula leucocitaria, con incremento de trombocitos y de progranulocitos (neutrófilos inmaduros) circulantes, además de una marcada disminución del índice hepatosomático porcentual.

Dezfuli et al. (2009) demostraron en *Anguilla anguilla* (Linnaeus) (Anguilliformes: Anguillidae) que en el sitio de infección de las larvas *Scolex*, el epitelio intestinal presentó un alto número de células mucosas y *rodlet-cells* que contribuirían, mediante la descarga de su contenido, con los mecanismos de defensa del hospedador ante la presencia de patógenos. En el sitio de fijación, el intestino de *A. anguilla* perdió su integridad estructural, detectándose con frecuencia la erosión del epitelio. Lo mismo observaron Agustí et al. (2005a), la descamación del epitelio del colon terminal de *Stenella coeruleoalba* producida por plerocercoides de tetrafilídeos. En este estudio se confirma, tanto en *P. porosissimus* como en *C. guatucupa*, este tipo de lesión y se comprueba una

vez más, que las características de la misma se encuentran determinadas por el tipo de órgano de fijación, en este caso de los morfotipos larvales I y VI (monoculados) que afectan a ambos hospedadores.

Las células mucosas de *P. porosissimus* presentaron características tintoriales similares a las observadas por Arellano López & Sarasquete (2005), un núcleo basal y una agregación densa de gránulos de mucina, que cuando son liberados por exocitosis se combinan con el agua para formar un gel mucoso. Por tal razón al colorearlas con PAS y Alcian Blue se tiñen intensamente demostrando abundante producción de mucus por parte del epitelio. Sin embargo, fue significativa la disminución de dichas células en torno al sitio de fijación de las larvas.

La densidad parasitaria evidenció ser alta en *P. porossisimus*, lo cual no sólo implicó un serio compromiso epitelial sino que además, su localización entre vellosidades intestinales significó un potencial daño en un área clave de renovación y recambio celular. La marcada diferencia en la intensidad parasitaria observada en la segunda porción digestiva, parece indicar que dicha región sería la de máxima disponibilidad de nutrientes, y por lo tanto sería el sitio de preferencia por las larvas para colonizar y establecerse.

El factor de condición de *P. porosissimus* resultó significativamente afectado por la intensidad de infección, hecho que podría reflejar un posible efecto antagonista sobre el crecimiento y condición física del hospedador. Este resultado marca una tendencia, indicando que puede considerarse al parasitismo como uno de los factores adversos que actúan sobre el crecimiento y condición del hospedador junto con otros factores a tener en cuenta que no han sido evaluados en este trabajo, como las deficiencias en la dieta, la

estacionalidad, la senilidad del hospedador e incluso posibles efectos de los cambios en el ambiente influidos por la contaminación antrópica, por ejemplo.

En *C. guatucupa* no se vió afectado de manera significativa el factor de condición, a pesar de la potencial disminución en la absorción y asimilación de nutrientes; y de la alteración en el proceso de digestión que produciría la modificación de la mucosa intestinal. Esto refuerza la hipótesis de que la patogenicidad depende directamente de la intensidad de la infección (Hoste, 2001; Reyda & Caira, 2005; Paterson & Piertney, 2011).

Las características de la infección en ambos hospedadores (prevalencia, abundancia, intensidad), junto con los detalles que se describen de la interfaz parásito-hospedador (de una patología dinámica, marcada y local en el sitio de unión, probablemente con poca influencia en la salud del hospedador), parecen demostrar una relación coevolutiva bien establecida entre ambos. Si bien el parasitismo del tracto gastrointestinal produce efectos perjudiciales en los tejidos y la fisiología del hospedador, existen fenómenos compensatorios, adaptativos, basados en cambios en la fisiología o estructuras del hospedador que tienden a contrarrestar las consecuencias negativas, como la pérdida de apetito, la mala absorción intestinal, las pérdidas de tejido y de homeostasis. Estos procesos se han reportado para las infecciones por helmintos y protozoos, donde presentan características similares (Hoste, 2001). Sin embargo, muchas de las investigaciones de estos fenómenos suelen utilizar la etiqueta de "adaptación" del hospedador debido a la observación de cambios en la conducta basados en la intuición del investigador y no en criterios rigurosos (Poulin, 1995). Se han planteado mecanismos basados en la regulación por parte del hospedador, desarrollando respuestas inmunitarias que pueden limitar el tamaño de las poblaciones del parásito y los efectos patológicos relacionados; y otros que se basan en la capacidad de los parásitos por si mismos para

iniciar algunos de los procesos de adaptación y por consiguiente, favorecer su propia supervivencia (Hoste, 2001). En las últimas décadas se han visto evidencias de esto último, en base a las diferencias en la expresión de rasgos de comportamiento entre los individuos infectados y el control, o en importantes correlaciones entre la expresión del rasgo y los niveles de infección (Poulin, 2013). Según Poulin (1995), las alteraciones en el comportamiento del hospedador después de la infección sólo pueden considerarse adaptativas si cumplen ciertas condiciones: (1) tener un carácter complejo, (2) no presentar signos de un diseño intencional, (3) presentar más probabilidades de ser adaptaciones si han surgido independientemente en varios linajes de hospedadores o parásitos y (4) si logran aumentar la aptitud del hospedador o del parásito. Pocos ejemplos son conocidos por satisfacer más de dos de los criterios anteriores y, en general, la función de adaptación en estos cambios de comportamiento está en la necesidad de pruebas más sólidas. En pleno auge de la genómica de cestodes, se ha determinado cómo el genoma determina una excelente plasticidad en el desarrollo de las tenias al servicio de la evolución (por parte de los neoblastos o *stem-cells*) mediante la ganancia o pérdida, incluso de familias enteras, de genes específicos y de vías que son ubicuas en otros animales (por ejemplo, los genes *homeobox* y los factores determinantes del destino de las células madre) (Tsai et al., 2013). Lo que sí está claro, es que estos fenómenos adaptativos son el componente esencial en el equilibrio dinámico entre el hospedador y los parásitos y que la manipulación del hospedador tiene una naturaleza multidimensional que recién ahora se reconoce, ya que se ha descubierto que los parásitos no se dirigen a rasgos individuales del hospedador sino a grupos de rasgos relacionados entre sí (Poulin, 2013).

Los datos presentados en este capítulo contribuyen a conocer el comportamiento de los estadios larvales plerocercoides y la patología producida por los mismos en el tracto

digestivo de su hospedador. Finalmente, plantean la importancia de la perspectiva futura de evaluar los diferentes procesos que facilitan la coevolución entre parásito y hospedador, que sigue siendo una de las áreas más interesantes, inexploradas y potencialmente productivas en la investigación de este sistema.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

- Los resultados de los capítulos precedentes permitieron demostrar que existe una gran diversidad de estadios larvales del grupo *Scolex* en los hospedadores estudiados del estuario de Bahía Blanca (Argentina).
- *Cynoscion guatucupa* y *P. porosissimus* comparten los mismos morfotipos larvales, los cuales fueron asignados a los géneros: *Anthobothrium*, *Crossobothrium* y *Acanthobothrium*.
- *Artemesia longinaris* presentó dos morfotipos larvales, de los cuales uno pudo esclarecerse su identidad genérica, *Orymatobothrium* y el restante pudo determinarse su estatus ordinal, Rhinebothriidea. Este último morfotipo podría representar un nuevo taxón para la ciencia.
- Los morfotipos larvales se ubicaron en la clasificación actual de eucestodes. Pertenecen a diferentes órdenes de cestodes parásitos de elasmobranquios: *Anthobothrium* y *Crossobothrium* a Tetrphyllidea, *Acanthobothrium* a Onchoproteocephalidea, *Orymatobothrium* a Phyllobothriidea y el supuesto nuevo taxón hallado en *A. longinaris* a Rhinebothriidea.
- Los morfotipos larvales pueden ser diferenciados mediante técnicas morfológicas en algunos aspectos, como la morfología del escólex, pero se necesita la verificación de los estudios moleculares para lograr mayor precisión y evitar subestimar especies crípticas, no evidenciables mediante las técnicas morfológicas y morfométricas tradicionales.

- En general, los estudios moleculares verifican las relaciones planteadas desde el análisis de la morfología, salvo en el caso del morfotipo II y VII, debido posiblemente a que no se ha registrado y descrito aún la morfología de los estadios larvales de *Crossobothrium*. En el caso del morfotipo larval VIII hallado en *P. porosissimus*, evidentemente se analizaron morfotipos diferentes: el tipo trilocado para estudios morfológicos y el tipo tetralocado para los estudios moleculares. Esto plantea dos hipótesis, una sería que coexisten ambos morfotipos larvales en el mismo hospedador y pertenecen a géneros diferentes, y la otra postularía que sean diferentes estadios ontogenéticos del mismo género.
- Los morfotipos larvales hallados muestran diferentes tipos y patrones de distribución de microtricos en la superficie de su cuerpo.
- Los estadios larvales son homologables en su morfología a los estadios larvales hallados en otras partes del mundo. Sin embargo, son muy escasas las descripciones existentes en la bibliografía actual con las cuales poder realizar comparaciones exhaustivas, sobre todo con respecto a estudios de ultraestructura de superficie.
- Los resultados obtenidos de los análisis moleculares permiten clarificar conjuntos de características morfológicas que facilitarían la identificación de las larvas a nivel genérico.
- Los ciclos de vida que involucran estadios larvales del grupo *Scolex* responden a los patrones de transmisión sugeridos para diferentes órdenes dentro de los cestodes marinos.

- El conocimiento de las identidades genéricas de los morfotipos larvales y de las respectivas interrelaciones con los hospedadores permitieron reconstituir las tramas tróficas que resultan clave al analizar los ciclos de vida de cestodes parásitos de elasmobranquios.
- *C. guatucupa* y *P. porosissimus* al compartir los mismos morfotipos larvales demuestran una superposición en su nicho trófico y una baja especificidad por el hospedador de parte de los géneros larvales.
- Se reconstruyeron parcialmente los ciclos de vida hipotéticos de *Anthobothrium*, *Crossobothrium*, *Acanthobothrium* y *Orygmatobothrium* en el mar Argentino. Además, se predijo como podría ser el ciclo de vida del miembro del orden Rhinebothriidea.
- Se determinó el rol que cumplen los hospedadores en los ciclos de vida analizados. Los tres hospedadores estudiados, *C. guatucupa*, *A. longinaris* y *P. porosissimus*, actúan como hospedadores intermediarios/paraténicos en las vías de transmisión de los metacestodes hallados en el estuario de Bahía Blanca.
- Las larvas del grupo *Scolex* producen cambios degenerativos en la mucosa digestiva de los peces que parasitan. La forma en la que se adhieren, a través de la ventosa apical y los acetábulos, produce atrofia compresiva con la consiguiente destrucción del epitelio en el sitio de fijación.
- El factor de condición del hospedador puede verse influenciado por la intensidad de la infección, debido a las lesiones producidas por las larvas en la mucosa digestiva. Sin embargo, al evaluar este efecto no deben subestimarse otros factores que actúan

conjuntamente en la naturaleza y pueden afectar negativamente el crecimiento y la condición del hospedador.

- Las características de la infección, junto con los detalles que se describen de la interfaz parásito-hospedador, demuestran una relación coevolutiva bien establecida entre ambos.
- Los morfotipos larvales demuestran preferencias por diferentes sitios del tubo digestivo del hospedador.

A través de la experiencia de realizar este trabajo pudieron visualizarse determinados objetivos y estrategias para llevar a cabo en trabajos futuros:

En primer lugar, se deben obtener las secuencias de los estadios adultos en el mar Argentino comenzando con los géneros *Anthobothrium*, *Crossobothrium*, *Acanthobothrium* y *Orygmatobothrium*, para poder hallar coincidencias exactas con los morfotipos larvales hallados en este estudio.

Luego, buscar en los hospedadores que parasitan normalmente los miembros del orden Rhinebothriidea al estadio adulto que pueda coincidir y definir la situación del supuesto nuevo género de Rhinebothriidea.

Ampliar la base de datos del GenBank con secuencias obtenidas de cestodes adultos del mar Argentino, para luego poder cotejar las secuencias de los estadios larvales presentes en otros hospedadores intermediarios/paraténicos (se cuenta, en colección de la autora de este trabajo, con muestras obtenidas de trece especies de teleósteos del estuario de Bahía Blanca a la espera de ser secuenciadas).

Buscar los estadios larvales posibles de las dos especies obtenidas en el mar Argentino, *Calliobothrium australis* y *Symcallio barbarae*, cuyas secuencias ya se encuentran disponibles para comparar.

Reconstruir las tramas tróficas en las que participan los cestodes adultos conocidos para Argentina, con el fin de estimar dónde hallar los estadios larvales y realizar estudios moleculares en ambos.

Buscar en el zooplancton los estadios larvales procercoides para poder cerrar los ciclos.

Utilizar otros marcadores moleculares, tanto nucleares (18S ADNr) como mitocondriales (cox1), con el fin de lograr identificaciones a nivel de especie.

Realizar análisis filogenéticos con los programas MEGA 6 o Geneius que permiten el manejo de mayor cantidad de datos de secuencias moleculares.

Combinar los métodos de construcción de árboles filogenéticos, Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana realizando análisis concatenados para obtener resultados con mayor robustez.

Una vez conocida la identidad específica, evaluar la especificidad de los estadios larvales.

Evaluar la potencialidad del uso de los estadios larvales como indicadores de stocks poblacionales de sus hospedadores.

Investigar si existen fenómenos de competencia entre los morfotipos larvales por los sitios de fijación.

BIBLIOGRAFÍA

Acebal, F.; Guagliardo, S.; Schwerdt, C.; Galeano, N.; Paolillo, M.; Mas, J.; Sartuqui, J.; Ubrig, R. & D. Tanzola. 2011. Digeneos parásitos de *Porichthys porosissimus* (Teleostei: Batrachoididae) en el estuario de Bahía Blanca. *BioScriba*, 4(1): 26-37.

Agustí, C.; Aznar, F.; Olson, P. D.; Littlewood, D. T. J.; Kostadinova, A. & J. A. Raga, J. A. 2005a. Morphological and molecular characterization of tetraphyllidean merocercoids (Platyhelminthes: Cestoda) of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Western Mediterranean. *Parasitology*, 130: 1–14.

Agustí, C.; Aznar F. J. & J. A. Raga. 2005b. Microtriches of tetraphyllidean metacestodes from Western Mediterranean striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Journal of Morphology*, 265: 176–189.

Alarcos, A. J. & J. A. Etchegoin. 2010. Parasite assemblages of estuarine-dependent-marine fishes from Mar Chiquita coastal lagoon (Buenos Aires Province, Argentina). *Parasitology Research*, 05 p. 1083 – 1091.

Alarcos, A. J. & J. T. Timi. 2012. Parasite communities in three sympatric flounder species (Pleuronectiformes: Paralichthyidae): Similar ecological filters driving toward repeatable assemblages. *Parasitology Research*, 110(6): 2155 – 2166.

Alarcos, A. J. & J. T. Timi. 2013. Stocks and seasonal migrations of the flounder *Xystreureys rasile* as indicated by its parasites. *Journal of Fish Biology*, 83(3): 531 – 541.

Aliotta, S. & G. Lizasoain. 2004. Tipos de fondos y su caracterización geológica por métodos sismoacústicos. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.

Armstrong, H.W., 1974. A study of the helminth parasites of the family Macrouridae from the Gulf of Mexico and Caribbean Sea: their systematics, ecology and zoogeographical implications. Ph.D. Dissertation, Texas A & M University, College Station, Texas, USA.

Anantaraman, S. 1963. Larval cestodes in marine invertebrates and fishes with a discussion of the life cycles of the Tetrphyllidea and the Trypanorhyncha. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 23: 309–314.

Andersen, K. I. 1975. The functional morphology of the scolex of *Diphyllobothrium* Cobbold (Cestoda, Pseudophyllidea), a scanning electron and light microscopical study on scoleces of adult *D. dendriticum* (Nitzsch), *D. latum* (L.) and *D. ditremum* (Creplin). *International Journal for Parasitology*, 5: 487–493.

Angelescu, V. 1982. Ecología trófica de la anchoíta del Mar Argentino (Engraulidae, *Engraulis anchoita*). Parte II. Alimentación, comportamiento y relaciones tróficas en el ecosistema. Contribuciones del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata. No. 409.

Arellano López, J.; Dinis, M. T. & C. Sarasquete. 1999. Histomorphological and histochemical characteristics of the intestine of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. *European Journal of Histochemistry*, 43(2):121-33.

Arellano López, J. & C. Sarasquete Reiriz. 2005. Atlas Histológico del lenguado senegalés. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 184 p.

Arora, H. L. 1948. Observations on the habits and early life history of the batrachoid fish, *Porichthys notatus* Girard. *Copeia*, 89-93.

Ash, A.; Scholz, T.; de Chambrier, A.; Brabec, J.; Oros, M.; Kar, P. K.; Chavan, S. P. & J. Mariaux. 2012. Revision of *Gangesia* (Cestoda: Proteocephalidea) in the Indomalayan region: morphology, molecules and surface ultrastructure. *PloS ONE*, 7(10): e46421.

Avdeeva, N. V. & V. V. Avdeev. 1980. Peculiarities of morphogenesis of adhesive organs of some plerocercoids of the collective genus *Scolex* (Tetraphyllidea) and their identification. (In Russian). *Parazitologiya*, 14: 242–250.

Avdeeva, N. V. & V. V. Avdeev. 1989. Plerocercoids of cestodes of the order Tetraphyllidea (problems in identification). Biologo-Pochvennyi Institut DVO AN SSSR, Vladivostok, Russia, 74 p.

Aznar, F.; Agustí, C.; Littlewood, D.; Raga J. & P. Olson. 2007. Insight into the role of cetaceans in the life cycle of the tetraphyllideans (Platyhelminthes: Cestoda). *International Journal for Parasitology*, 37: 243-255.

Baldini, M. & M. A. Cubitto. 2010. Las bacterias como indicadoras de contaminación en el estuario de Bahía Blanca. *Monitor Ambiental*, 3: 23 – 26.

Barbini, S. & L. Lucifora. 2012. Feeding habits of a large endangered skate from the south-west Atlantic: the spotback skate, *Atlantoraja castelnaui*. *Marine and Freshwater Research*, 63(2): 180-188.

Bernot, J. P.; Caira, J. N. & M. Pickering. 2015. The dismantling of *Calliobothrium* (Cestoda: Tetraphyllidea) with erection of *Symcallio* n. gen. and description of two new species. *Journal of Parasitology*, 101: 167–181.

- Berón-Vera, B.; Crespo, E. A. & J. A. Raga. 2008. Parasites in Stranded Cetaceans of Patagonia. *Journal of Parasitology*, 94(4): 946-948.
- Beveridge, I.; Campbell, R. A. & H. W. Palm. 1999. Preliminary cladistic analysis of genera of the cestode order Trypanorhyncha Diesing, 1863. *Systematic Parasitology*, 42(1): 29-49.
- Blair, S. S. 2008. Segmentation in animals. *Current Biology*, 18: R991–R995.
- Borucinska, J. & J. Caira. 1993. A comparison of mode of attachment and histopathogenicity of four tapeworm species representing two orders infecting the spiral intestine of the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. *Journal of Parasitology*, 79(2): 238-246.
- Borucinska, J. D. & J. Caira. 2006. Lesions associated with trypanorhynch cestodes in the gastrointestinal tracts of two species of sharks collected from coastal waters of Borneo. Correlation of pathology with scolex morphology and mode of attachment. *Journal of Fish Diseases*, 29: 1-13.
- Borucinska, J. D. 2008. Diseases caused by Cestoda. In: Eiras, J. C.; Segner, H.; Wahli, T. & B. Kapoor (eds) *Fish diseases*. Science Publishers, Enfield, NH, 977–1024 p.
- Borucinska, J. D. & S. A. Bullard. 2011. Lesions associated with plerocerci (Platyhelminthes: Cestoda: Trypanorhyncha) in the gastric wall of a cownose ray, *Rhinoptera bonasus* (Mitchill), (Myliobatiformes: Rhinopteridae) from the northern Gulf of México. *Journal of Fish Disease*, 34(2): 149-157.

- Boschi, E. E. 1963. Los camarones comerciales de la familia Penaeidae de la costa Atlántica de América del Sur. *Boletín del Instituto de Biología Marina*. Mar del Plata, 3:1-9.
- Boschi, E. E. 1969. Estudio biológico pesquero del camarón *Artemesia longinaris* Bate de Mar del Plata. *Boletín del Instituto de Biología Marina*. Mar del Plata, 18: 1-47.
- Boschi, E. E.; Fischbach, C. E. & M. I. Dorio. 1992. Catálogo ilustrado de los crustáceos estomatópodos y decápodos marinos de Argentina. *Frente Marítimo*, 10 (A): 7-94.
- Botté, S. E. 2004. El rol de la vegetación en el ciclo biogeoquímico de metales pesados, en humedales del estuario de Bahía Blanca. Tesis Doctoral en Biología. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, 290 p.
- Braicovich, P. E. & J. T. Timi. 2008. Parasites as biological tags for stock discrimination of the Brazilian flathead *Percophis brasiliensis* in the south-west Atlantic. *Journal of Fish Biology* 73, 557–571.
- Braicovich, P. & J. T. Timi. 2010. Seasonal stability in parasite assemblages of the Brazilian flathead, *Percophis brasiliensis* (Perciformes: Percophidae): predictable tools for stock identification. *Folia Parasitologica*, 57: 206 – 212.
- Braicovich, P. E.; Luque, J. L. & J. T. Timi. 2012. Geographical patterns of parasite infracommunities in the rough scad, *Trachurus lathami* Nichols off Southwestern Atlantic ocean. *Journal of Parasitology*, 768 – 777.
- Bray, R. A.; Jones, A. & E. P. Hoberg. 1999. Observations on the phylogeny of the cestode order Pseudophyllidea Carus, 1863. *Systematic Parasitology*, 42(1): 13-20.

- Brickle, P.; Olson, P. D.; Littlewood, D. T. J.; Bishop, A. & A. I. Arkhipkin. 2001. Parasites of *Loligo gahi* from waters off the Falkland Islands, with a phylogenetically based identification of their cestode larvae. *Canadian Journal of Zoology*, 79: 2289–2296.
- Brickle, P.; MacKenzie, K. & A. Pike. 2005. Parasites of the Patagonian toothfish, *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898, in different parts of the sub-Antartic. *Polar Biology*, 28: 663-671.
- Brickle, P.; MacKenzie, K. & A. Pike. 2006. Variations in the parasite fauna of the Patagonian toothfish (*Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898), with length, season and depth of habitat around the Falkland Island. *Journal of Parasitology*, 92: 282-291.
- Brinker, A. & R. Hamers. 2007. Evidence for negative impact of plerocercoid infection of *Triaenophorus nodulosus* on *Perca fluviatilis* L. stock in Upper Lake Constance, a water body undergoing rapid reoligotrophication. *Journal of Fish Biology*, 71: 129-147.
- Bristol, J. B. & R. C. N. Williamson. 1988. Mechanisms of intestinal adaptation. *Pediatric Surgery International*, 4: 233-41.
- Brooks, D. R.; Mayes, M. A. & T. B. Thorson. 1981. Cestode parasites in *Myliobatis goodei* Garman (Myliobatiformes: Myliobatidae) from Río de la Plata, Uruguay, with a summary of cestodes collected from South American elasmobranchs during 1975-1979. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 93: 1239-1252.
- Brooks, D. R.; Hoberg, E. P. & P. J. Weekes. 1991. Preliminary phylogenetic systematic analysis of the major lineages of the Eucestoda (Platyhelminthes: Cercomeria). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 104: 651–668.

- Bush, A. O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M. & A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- Caira, J. N. 1987. Scolex structural homologies and the systematic position of the genus *Spiniloculus* (Cestoda: Tetraphyllidea). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 54: 115–117.
- Caira, J. N. 1990. Scolex microtriches as systematic characters in the Onchobothriidae. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 8: 212.
- Caira, J. N. & T. R. Ruhnke. 1991. A comparison of scolex morphology between the plerocercoid and the adult of *Calliobothrium verticillatum* (Tetraphyllidea: Onchobothriidae). *Canadian Journal of Zoology*, 69: 1484–1488.
- Caira, J. N. 1992. Verification of multiple species of *Pedibothrium* in the Atlantic nurse shark with comments on the Australasian members of the genus. *Journal of Parasitology*, 78: 289–308.
- Caira, J. N.; Jensen, K. & C. J. Healy. 1999. On the phylogenetic relationships among the tetraphyllidean, lecanicephalidean, and diphyllidean tapeworm genera. *Systematic Parasitology*, 42(2): 77-151.
- Caira, J. N.; Jensen, K. & C. J. Healy. 2001. Interrelationships among tetraphyllidean and lecanicephalidean cestodes. In: Littlewood, D. T. J.; Bray, R. A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis, London, 135–158 p.
- Caira, J. N.; Jensen, K. & K. Holsinger. 2003. On a new index of host specificity. In: Combes, C.; Jourdane, J. (Eds.), *Taxonomy ecology and evolution of metazoan parasites*, vol. 1. Perpignan Press, Perpignan, 161-201 p.

Caira, J. N. & F. B. Reyda. 2005. Eucestoda (true tapeworms). In: Rohde, K. (Ed.), *Marine Parasitology*. CSIRO Publishing, Collingwood, 92-104 p.

Caira, J. N.; Scholz, T. & B. B. Georgiev. 2006. Cestode systematics and phylogeny move forward. *Systematic Parasitology*, 65: 171-174.

Caira, J. 2010. On-line cestode database resources. The 85th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists. Colorado, EEUU.

Caira, J. N. 2011. Synergy advances parasite taxonomy and systematics: an example from elasmobranch tapeworms. *Parasitology*, 138: 1675-1687.

Caira, J.; Healy, C. & K. Jensen. 2012. An updated look at elasmobranchs as hosts of metazoan parasites. In: Carrier, Musick & Heitaus (Ed.). *Biology of sharks and their relatives*. Taylor & Francis Group, Boca Ratón, 547-578 p.

Caira, J. N. & D. T. J. Littlewood. 2013. Worms, Platyhelminthes. In *Encyclopedia of Biodiversity*, 2nd Edition, S. A. Levin (ed). Academic Press, Waltham, 437-469 pp.

Caira, J. N.; Jensen, K.; Waeschenbach, A.; Olson, P. D. & D. T. J. Littlewood. 2014. Orders out of chaos—molecular phylogenetics reveals the complexity of shark and stingray tapeworm relationships. *International Journal for Parasitology*, 44: 55–73.

Caira, J. N. & K. Jensen. 2014. A Digest of Elasmobranch Tapeworms. *Journal of Parasitology*, 100(4): 373–391.

Caira, J. N. & K. Jensen. Planetary Biodiversity Inventory: A Survey of Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth. Available: <http://sites.google.com/site/tapewormpbi/>. Acceso 30 de Mayo de 2015.

- Cake Jr., E.W. 1976. A key to larval cestodes of shallow-water, benthic mollusks of the northern Gulf of Mexico. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 43, 160–171.
- Cake Jr., E.W. 1977. Larval cestode parasites of edible mollusks of the northeastern Gulf of Mexico. *Gulf Research Reports*, 6: 1–8.
- Capelli, A. & A. Campos. 2004. Climatología. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.
- Carvajal, J.; Barros, C. & G. Santander. 1982. In vitro culture of *Rhodobothrium mesodesmatum* (Cestoda: Tetraphyllidea), parasite of a Chilean clam. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 49: 226–230.
- Carballo, M. C.; Navone, G. & F. Cremonte. 2011. Parasites of the Silversides *Odontesthes smitti* and *O. nigricans* (Pisces: Atherinopsidae) from Argentinean Patagonia. *Comparative Parasitology*, 78: 95-103.
- Carballo, M. C.; Cremonte, F.; Navone, G. & J. T. Timi. 2012. Similarity in parasite community structure may be used to trace latitudinal migrations of *Odontesthes smitti* along Argentinean coasts. *Journal of Fish Biology*, 80(1): 15-28.
- Chambers, C. B.; Cribb, T. H. & M. K. Jones. 2000. Tetraphyllidean metacestodes of teleosts of the Great Barrier Reef, and the use of in vitro cultivation to identify them. *Folia Parasitologica*, 47: 285–292.
- Chervy, L. 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology*, 52: 1–33.

Chervy, L. 2009. Unified terminology for cestode microtriches: a proposal from the International Workshops on Cestode Systematics in 2002–2008. *Folia Parasitologica*, 56(3): 199–230.

Cordo, H. D. 1986. Estudios biológicos sobre peces costeros con datos de campañas de investigación realizadas en 1981. III. La pescadilla de red (*Cynoscion striatus*). *Publicación de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo*, 1: 15–27.

Cousseau, M. B. & R. G. Perrotta. 1998. Peces marinos de Argentina: Biología, distribución y pesca. 1ª. ed. Mar del Plata, Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, 163 p.

Cousseau, M.; Figueroa, D.; Díaz de Astarloa, J. M.; Mabragaña, E. Y L. Lucifora. 2007. Rayas, chuchos y otros batoideos del Atlántico sudoccidental (34°S-55°S). Publicaciones especiales INIDEP, Mar del Plata, 102 p.

Cousseau, M. B. & R. G. Perrotta. 2013. Peces marinos de Argentina: biología, distribución, pesca. 4a. ed. Mar del Plata, Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, 193 p.

Cremonte, F. & N. H. Sardella. 1997. The parasitofauna of *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. *Fisheries Research*, 31 p. 1 – 9.

Curtis, W. C. 1911. The life history of the *Scolex polymorphus* of the Woods Hole region. *Journal of Morphology*, 22: 819–853.

Cutmore, S. C. 2011. Taxonomy and Life History Studies of Tetrphyllidean and Gorgoderid Parasites of Moreton Bay Sharks. PhD Thesis. The University of Queensland Library, 279 p.

Cutmore, S. C.; Theiss, S. M.; Bennett, M. B. & T. H. Cribb. 2011. *Hemipristicola gunterae* gen. n., sp. n. (Cestoda: Tetrphyllidea: Phyllobothriidae) from the snaggletooth shark, *Hemipristis elongata* (Carcharhiniformes: Hemigaleidae), from Moreton Bay, Australia. *Folia Parasitologica* 58: 187-196.

Dailey, M. D. 1969. *Litobothrium alopias* and *L. coniformis*, two new cestodes representing a new order from elasmobranch fishes. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 36: 218–224.

Dailey, M. & W. Vogelbein. 1990. *Clistobothrium carcharodoni* gen. et sp. n. (Cestoda, Tetrphyllidea) from the spiral valve of the great white shark (*Carcharodon carcharias*). *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 57 (2): 108-112.

Dall, W.; Hill, B. J.; Rothilsberg, P. C. & D. J. Staples. 1990. The biology of the Penaeidae. In *Advances in marine biology* (ed. Blaxter, J. H. S. & A. J. Southward), San Diego: Academic Press, 1-489 p.

Daponte, M.; Gil de Pertierra, A.; Palmieri, M. & M. Ostrowski de Nuñez. 2008. Monthly occurrence of parasites of the chaetognath *Sagitta friderici* off Mar del Plata, Argentina. *Journal of Plankton Research*, 30(5): 567-576.

de Chambrier, A.; Zehnder, M.; Vaucher, C. & J. Mariaux. 2004. The evolution of the Proteocephalidea (Platyhelminthes, Eucestoda) based on an enlarged molecular phylogeny, with comments on their uterine development. *Systematic Parasitology*, 57(3): 159-171.

de Ciechomski, J. D. & M. C. Cassia. 1982. Observaciones sobre embriones, larvas y juveniles de la pescadilla *Cynoscion striatus*. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero*, 3: 5–13.

De Lima, F.; Sao-Clemente, S. & E. Mesquita. 1997. Caecal pseudocyst associated with *Scolex Pleuronectis* parasitism in the Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*). *Parasitología al día*, 21(1-2): 58-60.

Dereeper A.; Guignon, V.; Blanc, G.; Audic, S.; Buffet, S.; Chevenet, F.; Dufayard, J. F.; Guindon, S.; Lefort, V.; Lescot, M.; Claverie, J. M. & O. Gascuel. 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Research*, 1: 36.

Dezfuli, B. S.; Szekely, C.; Giovinazzo, G.; Hills, K. & L. Giari. 2009. Inflammatory response to parasitic helminths in the digestive tract of *Anguilla anguilla* (L.) *Aquaculture*, 296: 1-6.

Diaz, R. J.; Cutter, G. R. & K. Able. 2003. The importance of physical and biogenic structure to juvenile fishes on the shallow inner continental shelf. *Estuaries*, 26(1): 12-20.

Dollfus, R. 1923. Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins. 2e. Mollusques céphalopodes et crustacés. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 1: 363–394.

Dollfus, R. 1929. Addendum à mon «Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins». *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 7: 325–347.

Dollfus, R., 1953. Parasites animaux de la morue atlanto-arctique *Gadus callarias* L. (= *Morhua* L.). *Encyclopédie Biologique* 43, 1–428.

Dollfus, R. 1964. Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins (6e contribution). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 39: 329–379.

Dollfus, R. 1974. Énumération des cestodes du plancton et des invertébrés marins. 8e Contribution. Avec un appendice sur le genre *Oncomegas* R.-Ph. Dollfus 1929. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 49: 381–410.

Douellou, L.; Bastide-Guillaume, C.; Romestand, B. & J. P. Trillers. 1985. Les parasites D' *Arnoglossus laterna* (Walbaum, 1792), Bothiidae, dans le Golfe du Lion (côte Française de la Méditerranée) et leur influence sur les formules leucocytaires des poissons hôtes. *Revue des Travaux de L'Institut Scientifique & Techniques des pêches maritimes*, 49(1 et 2): 25-34.

Eiras, J. C.; Rego, A. A. & G. C. Pavanelli. 1986. Histopathology in *Paulicea luetkeni* (Pisces: Pimelodidae) resulting from infection with *Megathylacus brooksi* and *Javella glanidicephalus* (Cestoda: Proteocephalidae). *Journal of Fish Biology*, 28: 359-365.

Estalles, M. L. 2012. Características de historia de vida y explotación comercial de la raya *Sympterygia bonapartii* en el Golfo San Matías. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Buenos Aires, 167 p.

Euzet, L. 1959. Recherches sur les cestodes tétraphyllides des sélaciens des cotes de France. Doctoral Dissertation, Université de Montpellier, Montpellier, 263 p.

Euzet, L. 1994. Order Tetrphyllidea Carus, 1863. In: Khalil, L. F.; Jones, A. & R. A. Bray (Eds.). Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford, 149–194 p.

- Faliex, E.; Tyler, G.; Euzet, L. 2000. A new species of *Ditrachybothridium* (Cestoda: Diphyllidea) from *Galeus* sp. (Selachii, Scyliorhinidae) from the South Pacific Ocean, with a revision of the diagnosis of the order, family, and genus and notes on descriptive terminology of microtriches. *Journal of Parasitology*, 86: 1078–1084.
- Freije, R & J. Marcovecchio. 2004. Oceanografía química. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.
- Friedl, F. E. & J. L. Simon. 1970. A tetraphyllidean tapeworm larva from the marine snail *Fasciolaria tulipa* in Florida. *Journal of Parasitology*, 56: 400–401.
- Froese, R. & D. Pauly. 2015. Fishbase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org. Version 02/2015.
- Fyler, C. A. 2007. Comparison of microtrix ultrastructure and morphology on the plerocercoid and adult scolex of *Calliobothrium* cf. *verticillatum* (Tetraphyllidea: Onchobothriidae). *Journal of Parasitology*, 93: 4–11.
- Fyler, C. A.; Caira, J. N. & K. Jensen. 2009. Five new species of *Acanthobothrium* (Cestoda: Tetraphyllidea) from an unusual species of *Himantura* (Rajiformes: Dasyatidae) from northern Australia. *Folia Parasitologica*, 56: 107-128.
- Fyler, C. A. 2011. An extremely hyperapolytic *Acanthobothrium* species (Cestoda: Tetraphyllidea) from the Japanese wobbegong, *Orectolobus japonicus* (Elasmobranchii: Orectolobiformes) in Taiwan. *Comparative Parasitology*, 78: 4-14.
- Fyler, C. A. & J. N. Caira. 2010. Phylogenetic status of four new species of *Acanthobothrium* (Cestoda: Tetraphyllidea) parasitic on the wedgefish *Rhynchobatus*

laevis (Elasmobranchii: Rhynchobatidae): implications for interpreting host associations. *Invertebrate Systematics*, 24: 419-433.

Gabrion, C. & S. Euzet-Sicard. 1979. Étude du tégument et des récepteurs sensoriels du scolex d'un plérocercóide de Cestode Tetraphyllidea à l'aide de la microscopie électronique. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 54: 573–583.

Gaevskaya, A.; Rodjuk, G & A. Parukhin.. 1990. Peculiarities and formation of parasitofauna of the Patagonian toothfish *Dissostichus eleginoides*. *Biologiya Morya* 4: 23–28 (in Russian).

González, R. & M. Kroeck. 2000. Enteric Helminths of the Shortfin Squid *Illex argentinus* in San Matías Gulf (Argentina) as stock discriminants. *Acta Parasitológica*, 45 p. 89 – 93.

Guagliardo, S.; Tanzola, D.; Schwerdt, C. & N. Galeano. 2009. Host-parasite relationships between *Porichthys porosissimus* (Pisces) and cestode larvae of *Scolex* group. *Helminthologia*, 46(3): 162-167.

Guinder, V.; Popovich, C. & G. Perillo. 2009. Particulate suspended matter concentrations in the Bahía Blanca Estuary, Argentina: implication for the development of phytoplankton blooms. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 85(1):157 – 165.

Guinder, V.; Popovich, C.; Molinero, J. & G. Perillo. 2010. Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Biology*, 157(12): 2703 – 2716.

Guinder, V.; Popovich, C. & G. Perillo. 2012. Phytoplankton and physicochemical analysis on the water system of the temperate estuary in South America: Bahía Blanca Estuary, Argentina. *International Journal of Environmental Research*, 6(2): 547 – 556.

- Gurney, R. H.; Nowak, B. F.; Dykova, I. & A. M. Kuris A. M. 2004. Histopathological effects of trypanorhynch metacestodes in the digestive gland of a novel host, *Carcinus maenas* (Decapoda). *Diseases of Aquatic Organisms*, 58, 63–69.
- Hamilton, K. A. & J. E. Byram. 1974. Tapeworm development: The effects of urea on a larval tetraphyllidean. *Journal of Parasitology*, 60: 20–28.
- Harry, H. W. 1969. Anatomical notes on Ilie maclrid bivalve, *Raeta plicatella* Lamarck, 1818, with a review of the genus *Raeta* and related genera. *Veliger* 12(1):1-23.
- Healy, C.; Caira, J.; Jensen, K.; Webster, B. & D. T. J. Littlewood. 2009. Proposal for a new tapeworm order, Rhinebothriidea. *International Journal for Parasitology*, 39: 497–511.
- Hoberg, E. P.; Gardner, S. L. & R. A. Campbell. 1997a. Paradigm Shifts and Tapeworm Systematics. *Parasitology Today*, 13(5): 161-162.
- Hoberg, E. P.; Mariaux, J.; Justine, J.; Brooks, D. R. & P. J. Weekes. 1997b. Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: Historical perspectives and a new working hypothesis. *Journal of Parasitology*, 83(6): 1128-1147.
- Hoberg, E.; Gardner, S. & R. Campbell. 1999. Systematics of the Eucestoda: Advances Toward A New Phylogenetic Paradigm, and Observations on the Early Diversification of Tapeworms and Vertebrates. *Systematic Parasitology*, 42: 1-12.
- Holland, N. D.; Campbell, T. G.; Garey, J. R.; Holland, L. Z. & N. G. Wilson. 2009. The Florida amphioxus (Cephalochordata) hosts larvae of the tapeworm *Acanthobothrium*

brevissime: natural history, anatomy and taxonomic identification of the parasite. *Acta Zoologica*, 90: 75–86.

Holland, N. D. & N. G. Wilson. 2009. Molecular identification of larvae of a tetraphyllidean tapeworm (Platyhelminthes: Eucestoda) in a razor clam as an alternative intermediate host in the life cycle of *Acanthobothrium brevissime*. *Journal of Parasitology*, 95: 1215–1217.

Hoole, D. & C. Arme. 1983. Ultrastructural studies of the cellular response of fish hosts following experimental infection of the plerocercoid of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea). *Parasitology*, 87: 139-149.

Hoste, H. 2001. Adaptive physiological processes in the host during gastrointestinal parasitism. *International Journal for Parasitology*, 31(3): 231-44.

International Commission on Zoological Nomenclature. 1999. International Code of Zoological Nomenclature. Fourth Edition. The International Trust for Zoological Nomenclature c/o The Natural History Museum- Cromwel Road- London SW7 5BD-UK. 106 p.

Ivanov, V. A. & E. P. Hoberg. 1999. Preliminary comments on a phylogenetic study of the order Diphyllidea, Van Beneden in Carus, 1863. *Systematic Parasitology*, 42(1): 21-27.

Ivanov, V. & R. Campbell. 2002. *Notomegarhynchus navonae* n. gen. and n. sp. (Eucestoda: Tetraphyllidea), from skates (Rajidae: Arhynchobatinae) in the Southern. *Journal of Parasitology*, 88: 340 – 349.

Ivanov, V. 2004. Patrones de microtricos en cestodes tetrafilideos. Alcances de su utilidad en estudios taxonómicos. XV Congreso Panamericano de Anatomía, Foz do Iguazu, Brasil.

Ivanov, V. 2004b. A new species of *Rhinebothroides* Mayes, Brooks & Thorson, 1981 (Cestoda: Tetrphyllidea) from the ocellate river stingray in Argentina, with amended descriptions of two other species of the genus. *Systematic Parasitology*, 58: 159-174.

Ivanov, V. 2008. *Orygmatobothrium* spp. (Cestoda: Tetrphyllidea) from triakid sharks in Argentina: Redescription of *Orygmatobothrium schmittii* and description of a new species. *Journal of Parasitology*, 94(5): 1087-1097.

Ivanov, V. A. & R. A. Campbell. 1998. A new species of *Acanthobothrium* van Beneden, 1849 (Cestoda: Tetrphyllidea) from *Rioraja castelnaui* (Chondrichthyes: Rajoidei) in coastal waters of Argentina. *Systematic Parasitology*, 40: 203-212.

Ivanov, V. 2009. New species of *Crossobothrium* (Cestoda: Tetrphyllidea) from the broadnose sevengill shark, *Notorynchus cepedianus*, in Argentina. *Journal of Parasitology*, 95(6): 1479-1488.

Ivanov, V.; Menoret, A. & L. Mutti. 2012. Campaña costera invernal litoral Bonaerense. B. O. Puerto Deseado. Informe de campaña. 40 p.

Ivanov, V.; Franzese, S.; Menoret, A. y L. Mutti. 2015. Diversidad del género *Acanthobothrium* (Cestoda, Onchoproteocephalidea) en batoideos del Mar Argentino. IV Simposio Argentino de Ictiología, Mar del Plata.

Jensen, K. 2009. Cestoda (Platyhelminthes) of the Gulf of Mexico. In: Felder, D. L. & D. K. Camp (Eds.), *Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota*. Volume 1. Biodiversity, Texas A & M University Press, College Station, 487–522 p.

Jensen, K. & S. Bullard. 2010. Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. *International Journal for Parasitology*, 40: 889–910.

Kapoor, B. G.; Smith, H. & I. Verighina. 1975. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in Marine Biology*, 13: 109-239.

Khalil, L. F.; Jones, A. & R. Bray. 1994. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, U.K., 751 p.

Khalil, A. I. 1995. Scanning and transmission electron microscopical studies of the tegument and parenchyma of tetraphyllid pleuroceroid. *Journal Egyptian German Society of Zoology*, 18: 19–41.

Kodedová, I.; Doležel, D.; Broučková, M.; Jirků, M.; Hypša, V.; Lukeš, J. & T. Scholz. 2000. On the phylogenetic positions of the Caryophyllidea, Pseudophyllidea and Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. *International Journal for Parasitology*, 30(10): 1109-1113.

Kuris, A. M.; Jaramillo, A. G.; McLaughlin, J. P.; Weinstein, S. B.; Garcia-Vedrenne, A. E.; Poinar, G. O. Jr.; Pickering, M., Steinauer, M. L.; Espinoza, M.; Ashford, J. E. & G. L. Dunn. 2015. Monsters of the Sea Serpent: Parasites of an Oarfish, *Regalecus russellii*. *Journal of Parasitology*, 101(1): 41-44.

Lane, E. D. 1967. A study of the Atlantic Midshipmen, *Porichthys porosissimus*, in the vicinity of Port Aransas, Texas. *Contribution in Marine Science*, 12:1-53.

Lanfranchi, A. L.; Menone, M. L.; Miglioranza, K.; Janiot, L.; Aizpun de Moreno, J. E. & V. J. Moreno. 2006. Striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*): a biomonitor of

organochlorine pesticides in estuarine and near-coastal zones. *Marine Pollution Bulletin*, 52(1): 74 – 80.

Laureda, C. E. & C. Martínez. 1981. Alimentación de una raya costera marplatense (*Raja castelnaui* (M. Ribeiro, 1907)). BSc Thesis. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Linton, E. 1897. Notes on larval cestode parasites of fishes. *Proceedings of the United States National Museum*, 19: 787-824.

Linton, E. 1905. Parasites of fishes of Beaufort, North Carolina. *Bulletin of the United States Bureau of Fisheries*, 24: 321–428.

Linton, E. 1922. A contribution to the anatomy of *Dinobothrium*, a genus of selachian tapeworms; with descriptions of two new species. *Proceedings of the United States National Museum*, 60(Art.6): 1-13.

Literák, I.; Olson, P. D.; Georgiev, B. & M Pakulova. 2004. First record of metacestodes of *Mesocestoides* sp. in the common starling (*Sturnus vulgaris*) in Europe, with an 18S rDNA characterization of the isolate. *Folia Parasitologica*, 51: 45-49.

Littlewood, D. T. J.; Rohde, K.; Bray, R. & E. A. Herniou. 1999. Phylogeny of the Platyhelminthes and the evolution of parasitism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 258-287.

Littlewood, D. T. J.; Curini-Galletti, M. & E. A. Herniou. 2000. The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 16(3): 449-466.

Littlewood, D. T. J. & P. D. Olson. 2001. Small subunit rDNA and the Platyhelminthes: signal, noise, conflict and compromise. In Littlewood D. T. J. & R. Bray (eds): *Interrelationships of the Platyhelminthes*. London, Taylor & Francis, 262–278.

Littlewood, D. T. J.; Cribb, T. H.; Olson, P. D. & R. Bray. 2001. Platyhelminth phylogenetics a key to understanding parasitism? *Belgian Journal of Zoology*, 131: 35–46.

Littlewood D. T. J.. 2006. The evolution of parasitism in flatworms. In Maule A. G & N. Marks (eds): *Parasitic Flatworms: Molecular Biology, Biochemistry, Immunology and Physiology*. Wallingford, CAB International, 1–36.

Lucifora, L.; Menni, R. & A. Escalante. 2005. Reproduction, abundance and feeding habits of the broadnose sevengill shark *Notorynchus cepedianus* in north Patagonia, Argentina. *Marine Ecology Progress Series*, 289: 237–244.

Lucifora, L.; García, V.; Menni, R. & A. Escalante. 2006. Food habits, selectivity, and foraging modes of the school shark *Galeorhinus galeus*. *Marine Ecology Progress Series*, 315: 259–270.

Lucifora, L.; García, V. B. & A. H. Escalante. 2009. How can the feeding habits of the sand tiger shark influence the success of conservation programs?. *Animal Conservation*, 12: 291-301.

Lockyer, A. E.; Olson, P. D. & D. T. J. Littlewood. 2003. Utility of complete large and small subunit rRNA genes in resolving the phylogeny of the Neodermata (Platyhelminthes): implications and a review of the cercomer theory. *Biological Journal of the Linnean Society*, 78: 155-171.

López Cazorla, A. 1987. Contribución al conocimiento de la ictiofauna marina del área de Bahía Blanca. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Argentina, 247 p.

López Cazorla, A. 1996. The food of *Cynoscion striatus* (Cuvier) (Pisces: Sciaenidae) in the Bahía Blanca area, Argentina. *Fisheries Research*, 28: 371–379.

López Cazorla, A. 1997. Análisis de la evolución de las capturas de pescadilla (*Cynoscion striatus* (Cuvier) (Pisces: Sciaenidae)) durante el período 1991–1995. En Resúmenes del Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar (VII Colacmar). Sao Paulo, Brasil: 95–97.

López Cazorla, A. 2000. Age structure of the population of weakfish *Cynoscion guatucupa* (Cuvier) (Pisces: Sciaenidae) in the Bahía Blanca waters, Argentina. *Fisheries Research*, 46: 279-286.

López Cazorla, A.; Molina, J. M. & C. Ruarte. 2014. The artisanal fishery of *Cynoscion guatucupa* in Argentina: Exploring the possible causes of the collapse in Bahía Blanca estuary. *Journal of Sea Research*, 88: 29-35.

López Cazorla, A. 2014. Aspectos biológicos de cuatro especies de peces del estuario de Bahía Blanca. En Programa de Monitoreo de la Calidad Ambiental de la Zona Interior del Estuario de Bahía Blanca. Informe final del período 2013 / 2014, 240 p.

MacKenzie, K. & M. Longshaw. 1995. Parasites of the hakes *Merluccius australis* and *M. hubbsi* in the waters around the Falkland Islands, southern Chile, and Argentina, with an assessment of their potential value as biological tags. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52 (S1): 213–224.

MacLeod, C & R. Poulin. 2012. Host–parasite interactions: a litmus test for ocean acidification?. *Trends in Parasitology*, 28: 365-369.

Manger, B. R. 1972. Some cestode parasites of the elasmobranchs *Raja batis* and *Squalus acanthias* from Iceland. *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)*, 24: 161–181.

McVicar, A. H. 1972. The ultrastructure of the parasite host of three tetraphyllidean tapeworms of the elasmobranch *Raja naevus*. *Parasitology*, 65: 77-88.

Marcovecchio, J. E.; Moreno, V. & A. Pérez. 1986. Bio-magnification of total mercury in Bahía Blanca Estuary shark. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.

Marcovecchio, J. E.; Moreno, V. & A. Pérez. 1988. The sole, *Paralichthys* sp. as an indicator species of heavy metal pollution in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.

Marcovecchio, J. E. 1994. Trace metal residues in tissues of two crustacean species from the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 29:65-73.

Mariaux, J. & C. Vaucher. 1994. Progress in tapeworm systematics. *Parasitology Today*, 10(2): 43-44.

Mariaux, J. 1996. Cestode systematics: any progress? *International Journal for Parasitology*, 26 (3): 231-243.

- Mariaux, J. 1998. A molecular phylogeny of the Eucestoda. *Journal of Parasitology*, 84(1): 114-124.
- Mariaux, J. & P. D. Olson. 2001. Cestode phylogenetics in the molecular era. In *Interrelationships of the Platyhelminthes* (Littlewood D. T. J. & R. A. Bray, Eds.), Taylor & Francis, London, 127-134 p.
- Marques, S. C.; Azeiteiro, U. M.; Marques, J. C.; Neto, J. & M. Pardal. 2006. Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spatial and temporal patterns. *Journal of Plankton Research*, 28:297-312.
- Martin, G. R. & J. L. Wallace. 2006. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defence and repair. *Experimental Biology and Medicine*, 231: 130–137.
- Martorelli, S. R. & M. Schuldt. 1990. Encapsulación de dos metacercarias (Digenea, Microphallidae) en *Cyrtograpsus angulatus* y *Palaemonetes argentinus* (Crustácea, Decápoda). *Revista de Biología Tropical*, 38 (2a) 295 – 304 p.
- Martorelli, S. R. 1992. Parasites of the comercial shrimps and fishes in Argentine Sea: On the adult and metacercaria of *Opecoeloides feliciae* sp. n. (Digenea, Opecoelidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(1): 43-8.
- Martorelli, S. R. & J. J. García. 1993. Primera cita de una gregarina Porosporidae parásita del camarón *Artemesia longinaris* Bate en el Mar Argentino. *Neotrópica*, 39: 27-28.
- Martorelli, S. R. & N. H. Sardella. 1998. Ciliados parásitos branquiales de *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri* (Crustacea: Decapoda). *Notas del Museo de La Plata – Zoología*, 214: 30 – 35.

Martorelli, S.; Fumagalli, S. & F. Cardillo. 1999. Estudio comparado de la fauna parasitaria de *Artemesia longinaris* (Crustacea, Decapoda) en los principales puertos camaroneros del Mar Argentino. *Neotrópica*, 45: 51 – 58.

Martorelli, S. 2002. Parásitos y epibiontes del Langostino *Pleoticus muelleri* (Bate 1888) en el Atlántico Sud-occidental CIVA (<http://www.civa2002.org>), 647-665.

Menni, R. & A. Michelarena. 1976. Sobre dos especies argentinas de Batrachoididae (Pisces: Batrachoidiformes). *Physis Seccion A*, 35(91): 205-219.

Menone, M.; Miglioranza, K.; Iribarne, O.; Aizpún de Moreno, J. & V.J. Moreno, 2004. The role of burrowing beds and burrows of the SW Atlantic intertidal crab *Chasmagnathus granulata* in trapping organochlorine pesticides. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 240-247.

Menoret, A. & V. Ivanov. 2005. Estudio de la ultraestructura de la superficie del tegumento en especies del género *Rhinebothroides* (Cestoda: Tetrphyllidea). XVII Congreso Latinoamericano de Parasitología, Mar del Plata, Buenos Aires. *Parasitología Latinoamericana*, 2: 335-336.

Menoret, A & V. Ivanov. 2009. A new species of tetrphyllidean (Cestoda) from the Largespot River Stingray, *Potamotrygon falkneri* (Potamotrygonidae: Chondrichthyes), from the Paraná Basin. *Journal of Parasitology*, 95(4): 994-999.

Menoret, A & V. Ivanov. 2011. Descriptions of two new freshwater Neotropical species of *Rhinebothrium* (Cestoda: Rhinebothriidea) from *Potomotrygon motoro* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Folia Parasitologica*, 58(3): 178-186.

Melo, W. D. 2004. Orígenes morfológicos. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.

- Meyers, T. R. 1978. Prevalence of fish parasitism in Raritan bay, New Jersey. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 45: 120-128.
- Morales, G. & L. Pino de Morales. 1987. Parasitología cuantitativa. Fundación Fondo Ed. Acta Científica Venezolana. Caracas. 132 p.
- Morley, N. J. & D. Hoole. 1995. Ultrastructural studies on the host-parasite interface between *Khawia sinensis* (Cestoda: Caryophyllidea) and carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 23: 93 – 99.
- Naylor, G. J. P.; Caira, J. N.; Jensen, K.; Rosana, K. A. M.; White, W. T. & P. R. Last. 2012. A DNA Sequence–Based Approach To the Identification of Shark and Ray Species and Its Implications for Global Elasmobranch Diversity and Parasitology. *Bulletin of the American Museum of Natural History Number*, 367 :1-262.
- Neifar, L.; Euzet, L. & O. K. Ben Hassine. 2002. *Anthobothrium altavelae* sp. n. (Cestoda: Tetracystidae) from the spiny butterfly ray *Gymnura altavela* (Elasmobranchii: Gymnuridae) in Tunisia. *Folia Parasitologica*, 49: 295-298.
- Neutra, M. R., & J. F. Forstner. 1987. Gastrointestinal mucus: Synthesis, secretion, and function. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Vol. 2, 2nd ed. L. R. Johnson, ed. Raven Press, New York, NY. 975–1009 p.
- Nilsson, R. H.; Ryberg, M.; Kristiansson, E.; Abarenkov, K.; Larsson, K. & U. Kõljalg. 2006. Taxonomic reliability of DNA sequences in public sequence databases: a fungal perspective. *PLoS ONE*, 1(1): e59.
- Olivier, S.; Bastida, R. & M. Torti. 1968. Ecosistema de las aguas litorales de Mar del Plata. *Instituto Biología Marina (Mar del Plata). Contribuciones*, 58: 1-45.

- Olson, P. D. & J. N. Caira. 1999. Evolution of the major lineages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoidea) inferred from 18S ribosomal DNA and elongation factor-1 α . *Journal of Parasitology*, 85(6): 1134-1159.
- Olson, P. D.; Ruhnke, T. R.; Sanney, J. & T. Hudson. 1999. Evidence for host-specific clades of tetraphyllidean tapeworms (Platyhelminthes: Eucestoda) revealed by analysis of 18S ssrDNA. *International Journal for Parasitology*, 29(9): 1465-1476.
- Olson, P. D. & J. N. Caira. 2001. Two new species of *Litobothrium* Dailey, 1969 (Cestoda: Litobothriidea) from thresher sharks in the Gulf of California, Mexico, with redescription of two species in the genus. *Systematic Parasitology*, 48: 159–177.
- Olson, P. D.; Littlewood, D. T. J.; Bray, R. A. & J. Mariaux, J. 2001. Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19: 443–467.
- Olson, P. D.; Littlewood, D. T. J.; Griffiths, D.; Kennedy, C. R. & C. Arme. 2002. Evidence for the co-existence of separate strains or species of *Ligula* in Lough Neagh, Northern Ireland. *Journal of Helminthology*, 76: 171-174.
- Olson, P. D.; Cribb, T. H.; Tkach, V. V.; Bray, R. A. & D. T. J. Littlewood. 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33: 733-755.
- Olson, P. D. & V. V. Tkach. 2005. Invited Review: Advances and trends in the molecular systematics of the parasitic Platyhelminthes. *Advances in Parasitology*, 60: 165-243.

- Olson, P. D.; Caira, J. N.; Jensen, K.; Overstreet, R. M.; Palm, H. W. & I. Beveridge. 2010. Evolution of the trypanorhynch tapeworms: parasite phylogeny supports independent lineages of sharks and rays. *International Journal for Parasitology*, 40: 223–242.
- Olson, P. D.; Zarowiecki, M.; Kiss, F. & K. Brehm. 2012. Cestode genomics - progress and prospects for understanding basic and applied aspects of flatworm biology. *Parasite Immunology*, 34: 130-150.
- Ostrowski de Núñez, M. 1971. Estudios preliminares sobre la fauna parasitaria de algunos elasmobranquios del litoral bonaerense, Mar del Plata, Argentina. I. Cestodes y trematodes de *Psammobatis microps* (Günther) y *Zapteryx brevirostris* (Müller y Henle). *Physis* 30: 425-446.
- Overstreet, R. M. 1978. Marine Maladies? Worms, Germs, and Other Symbionts from the Northern Gulf of Mexico. Mississippi-Alabama Sea Grant Consortium, MASGP-78-021.
- Palm, H.W.; Poynton, S. L. & P. Rutledge. 1998. Surface ultrastructure of plerocercoids of *Bombycirhynchus sphyraenaicum* (Pintner, 1930) (Cestoda: Trypanorhyncha). *Parasitology Research*, 84: 195–204.
- Paperna, I. & R. Overstreet. 1981. Parasites and Diseases of Mulletts (Mugilidae). Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology. Paper 579.
- Pascual, S.; Resero, M.; Arias, C. & A. Guerra. 1995. Helminth fauna of the short finned squid *Illex coindetti* (Cephalopoda: Ommastrephidae) off NW Spain. *Diseases of Aquatic Organisms*, 23:71-75.
- Paterson, S. & S. B. Piertney. 2011. Frontiers in host-parasite ecology and evolution. *Molecular Ecology*, 20: 869–871.

Pereira, A.; Pantoja, C.; Luque, J. L. & J. T. Timi. 2014. Parasites of *Urophycis brasiliensis* (Gadiformes: Physidae) as indicators of marine ecoregions in coastal areas of the South American Atlantic with the assessment of their stocks. *Parasitology Research*, 113: 4281-4292.

Perez-i-Garcia, D.; Constenla, M.; Padros, F.; Soler-Membrives, A.; Sole, M. & M. Carrasson. 2015. Parasite communities of the deep-sea fish *Alepocephalus rostratus* Risso, 1820 in the Balearic Sea (NW Mediterranean) along the slope and relationships with enzymatic biomarkers and health indicators. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 99: 65-74.

Perillo, G. M. E. & C. Píccolo. 1999. Geomorphological and Physical Characteristics of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. The Argentina estuaries: a review. En Perillo, G. M. E., Píccolo, C. & M. Pino Quivira (eds.). Estuaries of South America: Their geomorphology and dynamics. *Environmental Science Series, Springer-Verlag, Berlín*. 195-216.

Perillo, G. M. E.; Piccolo, M.C.; Palma, E. D.; Pérez, D. E. & J. O. Pierini. 2004. Oceanografía Física. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.

Peterson, A. T.; Moyle, R. G.; Nyári, Á. S.; Robbins, M. B.; Brumfield, R. T. & J. Remsen. 2007. The need for proper vouching in phylogenetic studies of birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 1042–1044.

Piccolo, M. C. & G. Perillo. 1990. Physical Characteristics of the Bahia Blanca Estuary (Argentina). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 31: 303-317.

- Pleijel, F.; Jondelius, U.; Norlinder, E.; Nygren, A.; Oxelman, B.; Schander, C.; Sundberg, P. & M. Thollesson. 2008. Phylogenies without roots? A plea for the use of vouchers in molecular phylogenetic studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 369–371.
- Poulin, R. 1995. “Adaptive” changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *International Journal for Parasitology*, 25(12): 1371–1383.
- Poulin, R. 2007. The structure of parasite communities in fish hosts: ecology meets geography and climate. *Parassitologia*, 49: 169-172.
- Poulin, R. 2013. Parasite manipulation of host personality and behavioural syndromes. *Journal of Experimental Biology*, 216: 18-26.
- Pucci, A.; Freije, R.; Asteasuain, R.; Zavatti, J. & J. L. Sericano. 1979. Evaluación de la contaminación de las aguas y sedimentos de Bahía Blanca. En: Piccolo C. & M. Hoffmeyer (eds), Ecosistema del estuario de Bahía Blanca, Editorial Sapienza, Argentina, 233 p.
- Radhakrishnan, S.; Nair, N. & N. Balasubramanian. 1984. Nature of infection of *Trichiurus lepturus* Linnaeus (Pisces: Trichiuridae) By *Scolex pleuronectis* Müller (Cestoda: Tetraphyllidea). *Archiv-fur-Hydrobiology*, 99(2): 254-267.
- Randhawa, H. S. & R. Poulin. 2010. Determinants of tapeworm species richness in elasmobranch fishes: untangling environmental and phylogenetic influences. *Ecography*, 33: 866-877.
- Randhawa, H. S. 2011. Insights using a molecular approach into the life cycle of a tapeworm infecting great white sharks. *Journal of Parasitology*, 97(2): 275–280.

- Randhawa, H.S. and P. Brickle. 2011. Larval parasite gene sequence data reveal cryptic trophic links in life cycles of porbeagle shark tapeworms. *Marine Ecology Progress Series*, 431: 215-222.
- Regan, J. D. 1963. A cestode plerocercoid from the crowned conch. *Quarterly Journal of the Florida Academy of Sciences*, 26(2): 184-187.
- Rego, A. A.; de Chambrier, A.; Hanzelová, V.; Hoberg, E.; Scholz, T.; Weekes, P. & M. Zehnder. 1998. Preliminary phylogenetic analysis of subfamilies of the Proteocephalidea (Eucestoda). *Systematic Parasitology*, 40: 1–19.
- Reimer, L.W. 1975. Cestodenlarven in Wirbellosen der Küste von Madras. *Angewandte Parasitologie*, 16: 1–16.
- Reimer, L. & O. Jessen. 1981. Parasiten von *Merluccius hubbsi* MARINI aus dem Südwestlichen Atlantic. In IV Wissenschaftliche Konferenz zu Fragen der Physiologie, Biologie und Parasitologie von Nutzfischen. Vom 3, bis 6. September 1980 in Rostock. Wilhelm-Pieck-Universität Rostock. Sek. Biol, 117-120 p.
- Reyda, F. B. & P. D. Olson. 2003. Cestodes of cestodes of Peruvian freshwater stingrays. *Journal of Parasitology*, 89: 1018-1024.
- Ringo, E.; Myklebust, R.; Mayhew, T. M. & R. Olsen. 2007. Bacterial translocation and pathogenesis in the digestive tract of larvae and fry. *Aquaculture*, 268: 251-264.
- Rocka, A. 2003. Cestodes of the Antarctic fishes. *Polish Polar Research*, 24(3-4): 261-276.

- Rocka, A. 2006. Helminths of Antarctic fishes: Life Cycle biology, specificity and geographical distribution. *Acta Parasitologica*, 51(1): 26-35.
- Rodger, H. D. 1991. *Diphyllbothrium* sp. infections in freshwater reared salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 95: 7–14.
- Rohde, K. 2002. Ecology and biogeography of marine parasites. *Advances in Marine Biology*, 43: 1-86.
- Rohde, K. 2005. Marine Parasitology. Csiro Publishing (Eds.), 592 p.
- Roux, A. 1999. Composición de la dieta de *Pleoticus muelleri* del Golfo San Jorge, Argentina. En: *VIII COLACMAR*. Libro de resúmenes ampliados. Tresierra Aguilar, A & Z. Culquichicón Malpica (eds.) Perú. I: 65-66.
- Ruarte, C.; Lasta, C. & C. Carroza. 2000. Capítulo II: Recursos a recuperar. En Bezzi, S.; Akselman, R. & E. E. Boschi (eds). Síntesis del estado de las pesquerías marítimas Argentinas y de la Cuenca del Plata. Años 1997–1998, con la actualización de 1999. *Contribución del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero* No. 1129. Mar del Plata, Argentina, 65–74 p.
- Ruarte, C.; Lasta, C. & C. Carozza. 2004. Pescadilla de red (*Cynoscion guatucupa*). En Sánchez, R. & S. Bezzi (Eds.). El Mar Argentino y sus recursos pesqueros. Tomo 4. Los peces marinos de interés pesquero. Caracterización biológica y evaluación del estado de explotación. *Publicaciones Especiales INIDEP*, Mar del Plata, 359 p.
- Ruhnke, T. R. 1993. A new species of *Clistobothrium* (Cestoda: Tetrphyllidea), with an evaluation of the systematic status of the genus. *Journal of Parasitology*, 79(1): 37-43.

- Ruhnke, T. R. 1994. Resurrection of *Anthocephalum* Linton, 1890 (Cestoda: Tetraphyllidea) and taxonomic information on five proposed members. *Systematic Parasitology*, 29: 159–176.
- Ruhnke, T. R. 1996. Systematic resolution of *Crossobothrium* Linton, 1889, and taxonomic information on four species allocated to that genus. *Journal of Parasitology*, 82: 793-800.
- Ruhnke, T. 2011. Tapeworms of Elasmobranchs (Part III). A monograph on the Phyllobothriidae (Platyhelminthes: Cestoda). Bulletin of the University of Nebraska State Museum, 25, 225 p.
- Ruhnke, T. R. & R. E. Workman. 2013. Two new species and a new phyllobothriid cestode genus from sharks of the genus *Negaprion* Whitley (Carcharhiniformes). *Systematic Parasitology*, 85: 37-48.
- Ruhnke, T. R.; Caira, J. N. & A. Cox. 2015. The cestode order Rhinebothriidea no longer family-less: a molecular phylogenetic investigation with erection of two new families and description of eight new species. *Zootaxa*, 3904(1): 051-081.
- Santos, C. P.; Timi, J. T. & D. Gibson. 2002. *Diplectanum squamatum* n. sp. (Monogenea: Diplectanidae) from the gills of *Cynoscion guatucupa* (Sciaenidae) in Southwest Atlantic waters. *Systematic Parasitology*, 52(3): 199-204.
- Santos, C. P. & J. T. Timi. 2009. *Absonifibula estuarina* sp. n. (Monogenea: Diclidophoridae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(7): 964 – 969.
- Sardella, N. H. & J. T. Timi. 1996. Parasite communities of *Merluccius hubbsi* from the Argentine-Uruguayan Common Fishing Zone. *Fisheries Research*, 27: 81 – 88.

- Sardella, N. H. & S. R. Martorelli. 1997. Occurrence of merogony of *Agreggata* Frenzel, 1885 (Apicomplexa) in *Pleoticus muelleri* and *Artemesia longinaris* (Crustacea: Natantia) from patagonian waters (Argentina). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 198-202.
- Sardella, N. H.; Avendaño, M. F. & J. T. Timi. Parasite communities of *Genypterus blacodes* and *G. brasiliensis* (Pisces: Ophidiidae) from Argentina. *Helminthologia*, 35: 209-218.
- Sardella, N. H. & J. T. Timi. 2004. Parasites of Argentine hake in the Argentine Sea: population and infracommunity structure as evidences for host stock discrimination. *Journal of Fish Biology*, 65: 1472 – 1488.
- Sardella, N. H.; Mattiucci, S.; Timi, J. T.; Bastida, R.; Rodríguez, D. & G. Nascetti. 2005. *Corynosoma australe* Johnston, 1937 and *C. cetaceum* Johnston & Best, 1942 (Acanthocephala: Polymorphidae) from marine mammals and fish in Argentinean waters: genetic differentiation and taxonomic status. *Systematic Parasitology*, 61(2): 143-156.
- Sardiña, P. & A. López Cazorla. 2005. Feeding habits of the juvenile striped weakfish, *Cynoscion guatucupa* Cuvier 1830, in Bahia Blanca estuary (Argentina): seasonal and ontogenetic changes. *Hydrobiologia*, 532: 23–38.
- Satpute, L. R. & S. M. Agarwal. 1974. “Diverticulosis” of the fish duodenum infested with cestodes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 12(4): 373-375.
- Schander, C. & E. Willassen. 2005. What can biological barcoding do for marine biology? *Marine Biology Research*, 1: 78–93.

Schnittger, L. & M. Jacobsen. 2011. Análisis de secuencias utilizando herramientas bioinformáticas. Curso teórico-práctico. Guía de trabajo. Universidad Nacional del Sur, 73 p.

Scholz, T.; de Chambrier, A.; Kuchta, R.; Littlewood, D. T. J. & A. Waeschenbach. 2013. *Macrobothriotaenia ficta* (Cestoda: Proteocephalidea), a parasite of sunbeam snake (*Xenopeltis unicolor*): example of convergent evolution. *Zootaxa*, 3640(3): 485-499.

Seaver, E. C. 2003. Segmentation: mono or polyphyletic? *The International Journal of Developmental Biology*, 47: 583–595.

Secombes, C. J. & L. Chappell. 1996. Fish immune responses to experimental and natural infection with helminth parasites. *Annual Review of Fish Diseases*, 6: 167-177.

Siegel, S. & N. J. Castellan. 1995. Estadística no Paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Editorial Trillas, México. 437 p.

Spanjersberg, G.; Roux, A. & G. Caille. 2006. Composición cualitativa de la dieta del camarón *Artemesia longinaris* Bate, 1888 (Decapoda, Penaeidae) de Bahía Engaño (Chubut), Argentina. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 22 (1-4): 99-111.

Suriano, D. M. & J. B. Labriola. 2001. A new *Orygmatobothrium* Diesing, 1863 (Eucestoda: Tetrphyllidea) parasite of *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Carcharhiniformes, Triakidae) from the southwestern Atlantic Ocean. *Zoosystema*, 23: 669-673.

Suriano. 2002. *Anthobothrium galeorhini* n. sp. (Eucestoda: Tetrphyllidea) a parasite of *Galeorhinus galeus* (Triakidae) from the Argentine coast. *Parasite*, 9(2): 121-125.

Stunkard, H.W. 1977. Studies on tetraphyllidean and tetrahyinchidean metacestodes from squids taken on New-England coast. *Biological Bulletin*, 153: 387–412.

Szidat, L. 1955. La fauna de parásitos de *Merluccius hubbsi* como carácter auxiliar para la solución de problemas sistemáticos y zoogeográficos del género *Merluccius*. *Comunicaciones del Instituto Nacional de Investigaciones en Ciencias Naturales del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia*, 3: 1–54.

Szidat, L. 1960. La parasitofauna como ciencia auxiliar para develar problemas hidrobiológicos, zoogeográficos y geofísicos del Atlántico Sud. Libro homenaje al Dr. Eduardo Caballero y Caballero, 577-594 p.

Szidat, L. 1969. Los parásitos de la "palometa" *Parona signata* (Jeys, 1842) Berg, 1895, y su aplicación a problemas zoogeográficos del Atlántico Sur. *Neotrópica*, 15 (48): 125-131.

Tanzola, R. D.; Guagliardo, S. E.; Brízzola, S. M. & M. V. Arias. 1997. Helminth fauna of *Porichthys porosissimus* (Pisces: Batrachoidiformes) in the estuary of Bahía Blanca Argentina. *Helminthologia*, 34(4): 221-227.

Tanzola, R. D.; Guagliardo, S. E.; Brízzola, S. M.; Arias, M. V. & S. E. Botte. 1998. Parasite assemblage of *Sympterygia bonapartei* (Pisces: Rajidae), an endemic skate of the Southwest Atlantic. *Helminthologia*, 35(3): 123-129.

Tanzola, D. & S. Guagliardo. 2000. Helminth fauna of the Argentine conger, *Conger orbignyanus* (Pisces: Anguilliformes). *Helminthologia*, 37(4): 229-232.

Tanzola, R. D. & G. Gigola. 2002. *Johnstonmawsonia porichthydis* n. sp. (Nematoda: Rhabdochonidae) from *Porichthys porosissimus* (Pisces: Batrachoidiformes). *Helminthologia*, 39(2): 99-102.

Tanzola, D.; Guagliardo, S.; Galeano, N.; Schwerdt, C. & R. González. 2006. *Ceratomyxa elegans* Jameson, 1929 (Myxozoa: Ceratomyxidae) parásito de peces batracoididos en el Mar Argentino. *Natura Neotropicalis*, 36: 1-6.

Timi, J. T. & J. A. Etchegoin. 1996. A new species of *Lernanthropus* (Copepoda: Lernanthropidae) parasite of *Cynoscion striatus* (Pisces: Sciaenidae) from argentinian waters, and new records of *Lernanthropus trachuri* (Brian, 1829). *Folia Parasitologica*, 43(1): 71 – 74.

Timi, J. T.; Navone, G. T. & N. H. Sardella. 1997. First report and biological considerations of *Dichelyne* (*Dichelyne*) *spinicaudatus* (Nematoda: Cucullanidae) parasite of *Cynoscion striatus* (Pisces: Sciaenidae) from the South West Atlantic Ocean. *Helminthologia*, 34(2): 105 – 111.

Timi, J. T. 2003a. Habitat selection by *Lernanthropus cynoscicola* (Copepoda: Lernanthropidae): host as physical environment, a major determinant of niche restriction. *Parasitology*, 127(Pt 2):155-63.

Timi, J. T. 2003b. Parasites of Argentine anchovy in the Southwest Atlantic: latitudinal patterns and their use for discrimination of host populations. *Journal of Fish Biology*, 63: 90 – 107.

Timi, J. T. & R. Poulin. 2003. Parasite community structure within and across host populations of a marine pelagic fish: how repeatable is it?. *International Journal for Parasitology*, 33: 1353-1362.

- Timi, J. T.; Luque, J. L. & N. H. Sardella. 2005a. Parasites of *Cynoscion guatucupa* along South American Atlantic coasts: evidence for stock discrimination. *Journal of Fish Biology*, 67(6): 1603-1618.
- Timi, J. T.; Lanfranchi, A. L. & R. Poulin. 2005b. Is there a trade-off between fecundity and egg volume in the parasitic copepod *Lernanthropus cynoscicola*?. *Parasitology Research*, 95(1): 1 – 4.
- Timi, J. T. & A. L. Lanfranchi. 2006. Size relationships between the parasitic copepod, *Lernanthropus cynoscicola*, and its fish host, *Cynoscion guatucupa*. *Parasitology*, 132(Pt 2): 207-13.
- Timi, J. T. 2007. Parasites as biological tags for stock discrimination in marine fish from South American Atlantic waters. *Journal of Helminthology*, 81(2): 107 – 11.
- Timi, J. T.; Lanfranchi, A. L.; Etchegoin, J. A. & F. Cremonte. 2008. Parasites of the Brazilian sandperch *Pinguipes brasiliensis*: a tool for stock discrimination in the Argentine Sea. *Journal of Fish Biology*, 72: 1332-1342.
- Timi, J. T. ; Lanfranchi, A. L. & J. A. Etchegoin. 2009. Seasonal stability and spatial variability of parasites in Brazilian sandperch *Pinguipes brasiliensis* from the Northern Argentine Sea: evidence for stock discrimination. *Journal of Fish Biology*, 74: 1206 – 1225.
- Timi, J. T. & A. L. Lanfranchi. 2009. The metazoan parasite communities of the Argentinean sandperch *Pseudoperca semifasciata* (Pisces: Perciformes) and their use to elucidate the stock structure of the host. *Parasitology*, 136: 1209-1219.

Timi, J. T.; Luque, J. L. & R. Poulin. 2010a. Host ontogeny and the temporal decay of similarity in parasite communities. *International Journal for Parasitology*, 40(8): 963 – 968.

Timi, J. T.; Lanfranchi, A. J. & J. L. Luque. 2010b. Similarity in parasite communities of the teleost fish *Pinguipes brasilianus*. *International Journal for Parasitology*, 40: 243-254.

Timi, J. T.; Rossin, M. A.; Alarcos, A. J.; Braicovich, P.E.; Cantatore, D. M. P. & A. L. Lanfranchi. 2011. Fish trophic level and the similarity of larval parasite assemblages *International Journal for Parasitology*, 41(3-4): 309 – 316.

Tsai, I. J.; Zarowiecki, M.; Holroyd, N.; Garcarrubio, A.; Sanchez-Flores, A.; Brooks, K. L.; Tracey, A.; Bobes, R.; Fragoso, G.; Sciutto, E.; Aslett, M.; Beasley, H.; Cai, X.; Camicia, F.; Clark, R.; Cucher, M.; De Silva, N.; Day, T A.; Deplazes, P.; Estrada, K.; Fernández, C.; Holland, P.; Hou, J.; Hu, S.; Huckvale, T.; Hung, S.; Kamenetzky, L.; Keane, J.; Kiss, F.; Koziol, U.; Lambert, O.; Liu, K.; Luo, X.; Luo, Y.; Macchiaroli, N.; Nichol, S.; Paps, J.; Parkinson, Jn.; Pouchkina-Stantcheva, N.; Riddiford, N.; Rosenzvit, M.; Salinas, G.; Wasmuth, J.; Zamanian, M.; Zheng, Y. The *Taenia solium* Genome Consortium, Cai, J.; Soberón, X.; Olson, P.; Laclette, J.; Brehm K. & M. Berriman. 2013. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature*, 496: 57-63.

Tyler, G. A. & J. N. Caira. 1999. Two new species of *Echinobothrium* (Cestoidea: Diphyllidea) from myliobatiform elasmobranchs in the Gulf of California, México. *Journal of Parasitology*, 85: 327–335.

Vales, D.; García, N.; Crespo, E. & J. T. Timi. 2011. Parasites of a marine benthic fish in the Southwestern Atlantic: searching for geographical recurrent patterns of community structure. *Parasitology Research*, 108: 261-272.

Vázquez Núñez, R.; Ramirez Lezama, J.; Osorio Sarabi, D.; Chavez Soriano, L. A. & F. Constantino Casas. 2004. Lesions caused by helminths of the digestive tract in estuarine fish from the Tres Palos Lagoon, Guerrero, México. *Veterinaria México*, 35(4): 369-378.

Vianna, M.; Tomas, A. & José Verani. 2000. Aspects of the biology of the Atlantic Midshipman, *Porichthys porosissimus* (Teleostei, Batrachoididae): an important by-catch species of shrimp trawling off southern Brazil. *Revista Brasileira de Oceanografia*, 48(2):131-140.

Vivares, C.P. 1971. Etude des parasites des Crustacés Décapodea Brachyours: Némertes et larves de Cestodes. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 46, 1–9.

Waeschenbach, A.; Webster, B. L.; Bray, R. A. & D. T. J. Littlewood. 2007. Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small and large subunit nuclear ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45: 311–325.

Waeschenbach, A.; Webster, B. L. & D. T. J. Littlewood. 2012. Adding resolution to ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with large fragments of mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63: 834-847.

Wallace, J. L. & L. Ma. 2001. Inflammatory mediators in gastrointestinal defence and injury. *Experimental Biology and Medicine*, 226: 1003–1015.

- Weiland, K. A. & T. R. Meyers. 1989. Histopathology of *Diphyllbothrium ditremum* plerocercoids in coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 6:175–178.
- Williams, H. H. & A. Jones. 1994. Parasitic worms of fish. Taylor and Francis, London, 593 p.
- Williams, H. H.; Burt, M. D. B. & J.N. Cairns. 2004. *Anthobothrium lesteri* n. sp. (Cestoda: Tetraphyllidea) in *Carcharhinus melanopterus* from Heron Island, Australia, with comments on its site, mode of attachment, reproductive strategy and membership of the genus. *Systematic Parasitology*, 59: 211–221.
- Wojciechowska, A. 1990. *Onchobothrium antarcticum* sp. n. (Tetraphyllidea) from *Bathyraja eatonii* (Gunther, 1876) and plerocerkoid from Notothenioidea (South Shetlands, Antarctic). *Acta Parasitologica Polonica*, 35: 113-117.
- Wojciechowska, A. 1993a. The tetraphyllidean and tetrabothriid cercoids from Antarctic bony fishes. I. Morphology. Identification with adult forms. *Acta Parasitologica*, 38: 15-22.
- Wojciechowska A. 1993b. The tetraphyllidean and tetrabothriid cercoids from Antarctic bony fishes. II. Occurrence of cercoids in various fish species. *Acta Parasitologica*, 38:113-118.
- Yamaguti, S. 1934. Studies on the helminth fauna of Japan. Part 4. Cestodes of fishes. *Japanese Journal of Zoology*, 6: 1–112.

Zehnder, M. P. & J. Mariaux. 1999. Molecular systematic analysis of the order Proteocephalidea (Eucestoda) based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 29: 1841–1852.