

NOTA

Nuevos hospedadores y localidades de colecta de *Clinostomum* sp. (Strigeida: Clinostomidae)

Dora Davies¹; Margarita Ostrowski de Núñez²; Geraldine Ramallo³;
Lucía Nieva¹

¹ Instituto para el Estudio de la Biodiversidad de Invertebrados, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Avenida Bolivia 5150, (4400) Salta.

² Laboratorio de Helmintología, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pabellón 2, piso 4, Lab. 52, C1428EHA, Buenos Aires, Argentina.

³ Instituto de Invertebrados, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán.

► **Resumen** — Investigaciones realizadas previamente registraron metacercarias y adultos de *Clinostomum marginatum* en peces y aves de la provincia de Formosa. En esta nota se amplía la lista de hospedadores intermediarios secundarios y la distribución geográfica del género en Argentina, ya que se identificaron por primera vez metacercarias de *Clinostomum* sp. en la cavidad corporal de los peces *Hoplosternum littorale* y *Trigonectes* spp., capturados en localidades de la provincia de Salta.

Palabras clave: *Clinostomum*, metacercarias, *Hoplosternum littorale*, *Trigonectes* spp., Salta.

► **Abstract** — “New hosts and collection localities of *Clinostomum* sp. (Strigeida: Clinostomidae) from Argentina”. Previous investigations carried out in Formosa Province showed the presence of metacercariae and adults of *Clinostomum* sp. in fish and birds, respectively. *Clinostomum* metacercariae were found for the first time in the body cavity of *Hoplosternum littorale*, *Trigonectes* spp. captured in the province of Salta and described in this note. Thus, the distribution of *Clinostomum* sp. expands and new hosts are mentioned.

Keywords: *Clinostomum*, metacercariae, *Hoplosternum littorale*, *Trigonectes* spp., Salta.

Clinostomum Leydy, 1856 es un género de distribución cosmopolita que contiene 26 especies válidas, aunque la historia taxonómica y la composición de especies ha sido inestable (Yamaguti, 1971; Sereno-Uribe *et al.*, 2013). Los adultos de *Clinostomum* spp. viven en la cavidad oral, faringe o esófago de aves piscívoras, reptiles y ocasionalmente mamíferos, incluyendo humanos (Aohagi *et al.*, 1992; Matthews y Cribb, 1998; Malek y Mobedi, 2001; Kanev *et al.*, 2002). Las cercarias emergen de redias que desarrollan en gastrópodos y las metacercarias enquistan en peces dulceacuícolas o anfibios (Yamaguti, 1971).

Las metacercarias de *Clinostomum* spp. se han encontrado en alrededor de treinta especies de anfibios en América del Norte

(McAllister *et al.*, 2010), mientras que en México y Brasil se las ha registrado en numerosas especies de peces (Eiras *et al.*, 1999; Ramos Alves *et al.*, 2001; Maldonado *et al.*, 2004 a, b; Garrido-Olivera *et al.*, 2004; Rogeiro-Tubino *et al.*, 2005; Dias *et al.*, 2006), entre ellos *Hoplosternum littorale* (Carmona de Sao Clemente *et al.*, 1998, Dias *et al.*, 2003).

En Argentina se registraron metacercarias de *C. marginatum* en la cavidad corporal de *Neofundulus paraguayensis* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) en Formosa (Szidat, 1969). Como curiosidad histórica cabe mencionar que Weyenbergh (1878) describió un parásito encontrado enquistado o libre debajo de la piel, en los músculos y en los ojos de *Hypostomus plecostomus* (Siluriformes, Loricariidae) (localidad no indicada, probablemente Córdoba), que denominó *Distoma*

pulcherrimum. Si bien la descripción es poco precisa para los estándares actuales, se puede inferir que se trata de una metacercaria de *Clinostomum*. Ejemplares adultos asignados a *C. detruncatum* y *C. complanatum* se han registrado en la provincia de Buenos Aires y de *C. marginatum* en la provincia de Formosa (Lunaschi *et al.*, 2007; Lunaschi y Drago, 2009).

En la presente nota se amplía la distribución geográfica de *Clinostomum* sp. en Argentina y se registran como nuevos hospedadores intermediarios secundarios a *Trigonectes* spp.

Las metacercarias se extrajeron de un ejemplar de *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828 (Siluriformes, Callichthyidae) capturado el 11/12/2004 por el Dr. Javier Goldberg en un cuerpo de agua transitorio

cercano a la localidad de Hickman (23°21'28"S – 63°32'00"O) y de ejemplares de *Trigonectes* spp. (Cyprinodontiformes, Rivulidae), capturados durante marzo de 2007 y mayo de 2008, en pozos ubicados en los Bañados del Quinquicho (23°51'33"S – 63°15'13"O, 23°51'34"S – 63°15'12"O, 23°50'12"S – 63°27'14"O, 23°50'51"S – 63°22'51"O, 24°00'28"S – 63°05'53"O); todos los ambientes pertenecen a la cuenca del río Bermejo en la provincia de Salta. Las metacercarias se fijaron con formol 10% por 24 hs. y se conservaron en etanol 70%; posteriormente, se colorearon con carmín clorhídrico, se transparentaron con creosota y se montaron en bálsamo de Canadá.

Las mediciones se realizaron utilizando un ocular micrométrico y las unidades se expresan en micrómetros (μm). Para las



Figura 1. *Clinostomum* sp. A: Metacercaria procedente de *Hoplosternum littorale*. B: Metacercaria procedente de *Trigonectes* sp. Escalas A y B: 1 mm.

muestras procedentes de los Bañados del Quirquincho se calcularon indicadores de infección parasitaria según Bush *et al.* (1997) con los intervalos de confianza al nivel de 90%, pero no para la muestra de Hickman, ya que en esta localidad las metacercarias se obtuvieron de un único ejemplar.

Para determinar si las diferencias en las medidas de las metacercarias encontradas en Hickman en *H. littorale* y en los Bañados

del Quirquincho en *Trigonetes* spp. fueron significativas se realizó una comparación estadística mediante pruebas t de igualdad de medias, comparándose 7 ejemplares procedentes de Hickman con 8 de los Bañados del Quirquincho.

Las metacercarias se depositaron en las siguientes colecciones: Colección Helmintología de la Fundación Miguel Lillo, CH-D-FML# 07548 y 07549; UNSa FCN-P(# 108-1, 108-3) y Colección Nacional de Parasitología del Museo Argentino de Ciencias Naturales: MACN-Pa: 577/1 y 577/2. Los ejemplares de *Trigonetes* spp. se depositaron en la Colección Ictiológica de la Fundación Miguel Lillo (CI-FML# 6262 y 6263, respectivamente) y el ejemplar de *Hoplosternum littorale* en el Museo de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta (MCNI # 1147).

Los digeneos aislados fueron identificados como *Clinostomum* sp.

Metacercarias de *Clinostomum* sp. (Fig. 1 A-B, Fig. 2). (Sobre la base de 15 ejemplares). Ancho máximo a la altura de las gónadas. Epidermis inerme. Ventosa oral de menor tamaño que la ventosa. Collar cefálico presente. Estructura glandular entre la ventosa oral y la ventosa ventral. Bulbo esofágico notorio; ciegos intestinales laterales a la ventosa ventral y al complejo reproductor, con bolsas intestinales prominentes. Gónadas situadas en el tercio medio y posterior del cuerpo. Testículo anterior lobulado, de contorno triangular, con el ápice orientado hacia adelante. Testículo posterior lobulado, triangular, con su vértice orientado posteriormente. Saco del cirro extendiéndose desde el margen anterior del ovario, bordeando el testículo anterior por su margen derecho y parcialmente superpuesto a éste. Poro genital anterolateral, a la derecha del testículo anterior. Ovario situado a la derecha del espacio intertesticular, de contorno triangular, suavemente lobulado, con el vértice hacia el centro de dicho espacio. Vitelógenos visibles en algunos ejemplares, laterales, externos a los ciegos y en el espacio intracecal post-testicular. Conducto uterino que bordea el margen izquierdo del testículo anterior y desem-

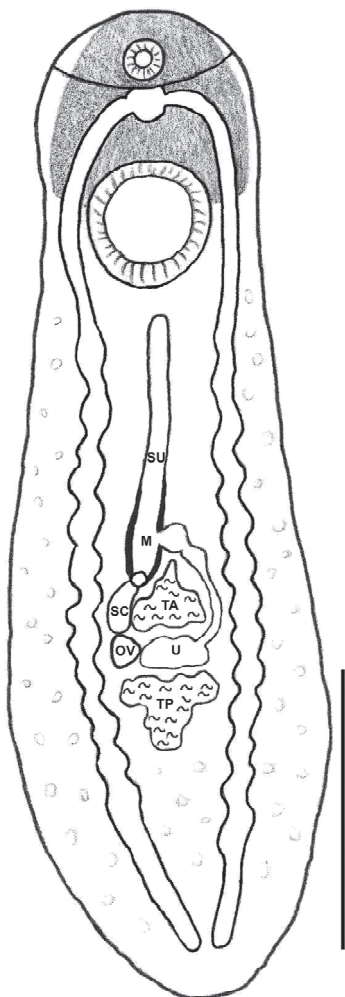


Figura 2. *Clinostomum* sp. Metacercaria con detalle del sistema reproductor, vista ventral. Escala: 1 mm. Abreviaturas: M: metratermo, OV: ovario, SC: saco del cirro, SU: saco uterino, TA: testículo anterior, TP: testículo posterior, U: útero.

Tabla 1. Medidas de las metacercarias de *Clinostomum* sp. procedentes de *Hoplosternum littorale* (N = 7) y de *Trigonectes* spp. (N = 8) y comparaciones estadísticas.

Hospedador	<i>Hoplosternum littorale</i>	<i>Trigonectes</i> spp.	Igualdad de medias
	Min-Máx (Media ± DE)	Min-Máx (Media ± DE)	(Test estadístico [t(2(0,05, 13)], valor P)
Longitud del cuerpo	3398,4-4032 (3662,4±230,70)	2966,4-4752,00 (3542,4±612,10)	0,659
Ancho del cuerpo	835,2-1152 (1012,11±112,07)	777,6-1929,60 (1231,2±428,21)	0,213
Longitud de la ventosa oral	186,58-284,78 (228,67±41,16)	157,12-363,34 (229,54±74,22)	0,978
Ancho de la ventosa oral	245,5-441,9 (354,92±59,31)	147,3-579,38 (333,88±167,15)	0,758
Longitud de la ventosa ventral	540,1-716,86 (613,05±56,66)	559,74-805,24 (681,26±85,60)	0,097
Ancho de la ventosa ventral	520,46-687,4 (603,23±59,69)	540,1-834,70 (664,08±123,76)	0,258
Longitud del testículo anterior	265,14-324,06 (294,60±21,21)	166,94-392,80 (274,96±82,83)	0,554
Ancho del testículo anterior	284,78-353,52 (303,02±24,99)	265,14-520,46 (354,92±91,14)	0,172
Longitud del testículo posterior	225,86-363,34 (273,56±48,25)	147,3-304,42 (225,86±62,99)	0,128
Ancho del testículo posterior	294,6-373,16 (339,49±28,83)	245,5-599,02 (375,96±116,70)	0,438
Longitud del ovario	137,48-186,58 (159,93±17,67)	58,92-196,40 (132,57±45,76)	0,162
Ancho del ovario	98,2-147,3 (120,65±21,00)	58,92-284,78 (126,43±73,38)	0,844
Longitud del saco del cirro	166,94-274,96 (224,46±39,45)	166,94-255,32 (211,13±62,49)	0,714
Ancho del saco del cirro	88,38-137,48 (102,41±16,87)	78,56-98,20 (88,38±13,89)	0,324
Distancia ventosas oral - ventral	98,2-314,24 (187,98±72,03)	127,66-206,22 (55,55)	-
Distancia testículos anterior - posterior	98,2-196,4 (141,69±33,47)	166,94-216,04 (191,49±34,72)	-

boca en el saco uterino, que se extiende hasta la región posterior a la ventosa ventral y en su parte distal presenta el metratermo, de paredes engrosadas. Los especímenes se localizaron en la cavidad corporal de los hospedadores.

La prevalencia de *Clinostomum* sp. en *Trigonectes* spp. (N=82) fue de 23,9% (IC 90% 0,2134 - 0,3842), la abundancia media $0,49 \pm 1,05$ (IC 90% 0,34 - 0,72) y la intensidad media $1,7 \pm 1,3$ (IC 90% 1,29 - 2,29). La intensidad de *Clinostomum* sp. en el ejemplar de *H. littorale* fue de 8.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de longitud y ancho del cuerpo o de las estructuras corporales de las metacercarias que utilizaron a *Hoplosternum littorale* y a *Trigonectes* spp. como hospedadores (Tabla 1).

Los análisis de ADN mitocondrial y ribosomal demuestran la validez de *C. attenuatum*, *C. marginatum*, *C. detruncatum*, *C. tatakumui* y 8 especies adicionales innominadas en América (Locke *et al.*, 2015). De ellas, se han descrito metacercarias de *C. marginatum*, *C. tatakumui*, *Clinostomum* sp. y *C. detruncatum* enquistadas en peces (Cort, 1913; Caffara *et al.*, 2011; Sereno-Uribe *et al.*, 2013; Pinto *et al.*, 2015; Acosta *et al.*, 2016).

Las metacercarias aquí estudiadas difieren de las de *C. marginatum* en las características del tegumento (con espinas en *C. marginatum* vs. inermes en las de Salta); en la forma corporal y forma de los testículos de las de *C. tatakumui* (ancho máximo a la altura de la ventosa ventral, testículos de bordes lisos en *C. tatakumui* vs. ancho máximo a la altura de las gónadas y testículos lobulados en las de Salta); en la ubicación de las gónadas y en la morfología del saco uterino de las de *C. detruncatum* (saco uterino con ramificaciones y gónadas ubicadas en el tercio posterior en *C. detruncatum*, vs. saco uterino sin ramificaciones y gónadas en tercio medio y posterior en las de Salta) y en la distancia entre las ventosas y tamaño de los testículos de las de *Clinostomum* sp. (menor distancia entre ventosas y testículos de mayor tamaño en las de Salta).

En poblaciones de *Hoplosternum littorale* de Brasil se ha reportado la presencia de metacercarias de *C. complanatum* (Dias *et al.*, 2003; Dias *et al.*, 2006). Sin embargo, estudios moleculares recientes de las regiones ITS (del inglés internal transcribed spacer) y COI (del inglés cytochrome oxidase 1) muestran que *C. complanatum* agrupa en un clado restringido al Viejo Mundo (Sereno-Uribe *et al.*, 2013; Locke *et al.*, 2015; Acosta *et al.*, 2016). Sería necesario entonces analizar estos marcadores moleculares en las metacercarias asignadas a *C. complanatum* y otras metacercarias enquistadas en peces de América del Sur.

La identificación de las metacercarias halladas en este estudio, probablemente con-específicas dada la similitud morfológica, morfométrica y de ubicación en los hospedadores, requiere de la obtención de los adultos experimentales y de estudios moleculares.

Entre las aves piscívoras que albergan a *Clinostomum* spp. se encuentran *Ardea cocoi*, *Phalacrocorax brasilianus* y *Tigrisoma lineatum*, esta última citada como hospedadora de *C. marginatum* en Formosa (Lunaschi y Drago, 2009). Todas habitan en la provincia de Salta (Monasterio de Gonzo *et al.*, 2008) por lo que podrían participar del ciclo vital a través de la ingestión de las metacercarias de *Clinostomum* sp. aquí descritas.

AGRADECIMIENTOS

A la Mg. Gladys M. de Gonzo, al Dr. Javier Goldberg, y a la Dra. Fabiana Cancino por facilitar e identificar los peces. A los revisores anónimos por sus valiosas sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Acosta A. A., Caffara M., Fioravanti M. L., Utsunomia R., Zago A. C., Franceschini L., da Silva R. J. 2016. Morphological and molecular characterization of *Clinostomum detruncatum* (Trematoda: Clinostomidae) metacercariae infecting *Synbranchus marmoratus*. *Journal of Parasitology* 102: 151-156.
- Aohagi V., Shibahara T., Machida N., Vamaga V., Kagota K. 1992. *Clinostomum complanatum* (Tre-

- matoda: Clinostomatidae) in five new fish hosts in Japan. *Journal of Wildlife Diseases*, 28: 467-469.
- Bush A., Lafferty K. D., Lotz J. M., Shostak A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* Revisited. *Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- Caffara M. S., Locke A., Gustinelli A., Marcogliese D. J., Fioravanti M. L. 2011. Morphological and molecular differentiation of *Clinostomum complanatum* and *Clinostomum marginatum* (Digenea: Clinostomidae) metacercariae and adults. *Journal of Parasitology*, 97: 884-891.
- Carmona de Sao Clemente S., Matos E., Tortelly R., Carlos de Lima F. 1998. Histopatologia do parasitismo por metacercarias de *Clinostomum* sp. em tamoata, *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828). *Parasitologia al dia*, 22: 38-40.
- Cort W. W. 1913. Notes on the Trematode Genus *Clinostomum*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 32: 169-182.
- Dias M. L. G. G., Eiras J. C., Machado M. H., Souza G. T. R., Pavanelli G. C. 2003. The life cycle of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 (Digenea, Clinostomidae) on the floodplain of the high Parana River, Brazil. *Parasitology Research*, 89: 506-508.
- Dias M. L., Minte-Vera C. V., Eiras J. C., Machado M. H., Souza G. T., Pavanelli G. C. 2006. Ecology of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 (Trematoda: Clinostomidae) infecting fish from the floodplain of the high Paraná River, Brazil. *Parasitology Research*, 99: 675-81.
- Eiras J. C.; Dias M. L.; Pavanelli G. C., Machado M. 1999. Histological studies on the effects of *Clinostomum marginatum* (Digenea, Clinostomidae) in the second intermediate host *Loricariichthys platymetapon* (Osteichthyes, Loricariidae), of the upper Paraná River, Brazil. *Acta Scientiae*, 21: 237-241.
- Garrido-Olivera L., Garcia-Prieto L., Mendoza-Garfias B. 2004. Helminth parasites of the Pacific Fat Sleeper, *Dormitator latifrons* (Richardson, 1844) (Osteichthyes: Eleotridae) from Tres Palos Lagoon, Guerrero, Mexico. *American Midland Naturalist*, 151: 165-169.
- Kanev I., Radev V., Fried B. 2002. Superfamily Clinostomoidea Lühe, 1901. En: D. I. Gibson, A. Jones & R. A. Bray (eds). *Keys to the Trematoda*. V. 1. CAB International and the Natural History Museum, London, UK, pp. 113-120.
- Locke S. A., Caffara M., Marcogliese D. J., Fioravanti M. L. 2015. A large-scale molecular survey of *Clinostomum* (Digenea, Clinostomidae). *Zoologica Scripta*, 44: 203-217.
- Lunaschi L. I., Drago F. B. 2009. Digenetic parasites of six species of birds from Formosa Province, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80: 39-46.
- Lunaschi L. I., Cremonese F., Drago, F. B. 2007. Checklist of digenetic parasites of birds from Argentina. *Zootaxa*, 1403: 1-36.
- Malek M., Mobedi I. 2001. Occurrence of *Clinostomum complanatum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: Clinostomatidae) in *Capoeta capoeta gracilis* (Osteichthys: Cyprinidae) from Shiroud River, Iran. *Iranian Journal of Public Health*, 30: 95-98.
- Matthews D., Cribb T. H. 1998. Digenetic trematodes of the genus *Clinostomum* Leidy, 1856 (Digenea: Clinostomidae) from birds of Queensland, Australia, including *C. wilsoni* n. sp. from *Egretta intermedia*. *Systematic Parasitology*, 39: 199-208.
- McAllister C. T., Bursey C. R., Crawford J. A., Kuhns A. R., Shaffer C., Trauth S. E. 2010. Metacercariae of *Clinostomum* (Trematoda: Digenea) from three species of *Ambystoma* (Caudata: Ambystomatidae) from Arkansas and Illinois, U.S.A. *Comparative Parasitology*, 77: 25-30.
- Monasterio de Gonzo G., Palavecino P. M., Mosqueira M. E. 2008. Vertebrados y ambientes de la provincia de Salta. EUNSa, Salta, 262 p.
- Pinto H. A., Caffara M., Fioravanti M. L., Melo A. L. 2015. Experimental and molecular study of cercariae of *Clinostomum* sp. (Trematoda: Clinostomidae) from *Biomphalaria* spp. (Mollusca: Planorbidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*, 101: 108-113.
- Ramos Alves D, Luque J. L., Rodrigues Paraguassu E. A. 2001. Metacercarias de *Clinostomum marginatum* (Digenea: Clinostomidae) em acará-bandeira *Pterophyllum scalare* (Osteichthyes: Cichlidae) no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitologia al dia*, 25: 70-72.
- Rogero-Tubino V., Joaber Pereira J., Atlante Brandão D. 2005. *Clinostomum complanatum* (Digenea, Clinostomidae) Density in *Rhamdia quelen* (Siluriformes, Pimelodidae) from South Brazil. *Brazilian Archives of biology and Technology*, 48: 635-645.
- Sereno-Urbe A. L., Pinacho-Pinacho C. D., García-Varela M., Pérez-Ponce de León G. 2013. Using mitochondrial and ribosomal DNA sequences to test the taxonomic validity of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 in fish-eating birds and freshwater fishes in Mexico, with the description of a new species. *Parasitology Research*, 112: 2855-2870.
- Szidat L. 1969. Structure, development, and behaviour of new strigeatoid metacercariae from subtropical fishes of South America. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 26: 753-786.
- Weyenbergh H. 1878. Description détaillée d'une nouvelle espèce de la Famille des Distomides, savoir *Distoma pulcherrimum*. *Periódico Zoológico*, 3: 31-38 (Córdoba, Argentina).
- Yamaguti S. 1971. *Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates*. Vol I y II. Keigaku Publishing Co., Tokio, Japan, pp. 1074.