

Tesis de Posgrado

El ciclo biológico de *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* (Lutz 1928) Dubois 1970 (*Austrodiplostomum mordax* Szidat y Nani 1951) (Trematoda, Diplostomatidae)

Ostrowski, Margarita

1973

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Ostrowski, Margarita. (1973). El ciclo biológico de *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* (Lutz 1928) Dubois 1970 (*Austrodiplostomum mordax* Szidat y Nani 1951) (Trematoda, Diplostomatidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1427_Ostrowski.pdf

Cita tipo Chicago:

Ostrowski, Margarita. "El ciclo biológico de *Diplostomum* (*Austrodiplostomum*) *compactum* (Lutz 1928) Dubois 1970 (*Austrodiplostomum mordax* Szidat y Nani 1951) (Trematoda, Diplostomatidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1973. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1427_Ostrowski.pdf

FCEN-BA.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

El ciclo biológico de
Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum (Lutz 1928) Dubois 1970
(= Austrodiplostomum mordax Szidat y Nani 1951) (Trematoda, Diplos-
tomatidae).

por

Margarita Ostrowski

Director de Tesis: Prof. Dr. Lothar Szidat

Consejero: Prof. Dr. Jorge M. DeCarlo

Tesis presentada para optar al título de
Doctor en Biología

1973

1427 = 4

Res. N.º 1427

PCVHA

dedico este trabajo a la memoria de mi maestro,
el Prof. Dr. Lothar Szidat, fallecido poco antes
de terminar este trabajo, como expresión de gra-
titud por su constante preocupación e inestimable
ayuda desde mi iniciación en esta especialidad.

Agradezco

al Dr. Jorge M. De Carlo, por su ayuda como consejero de estudios;

a los Lic. A. Bachmann y Lic. W. Dioni, profesores de esta Facultad, por su interés y sugerencias sobre el manuscrito;

al Lic. J.M. Gallardo, director del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", por concederme un lugar de trabajo;

al señor Alberto A. Lercari, jefe de la Estación de Piscicultura, Embalse, Córdoba, por sus atenciones y colaboración para la obtención del material de pejerreyes;

a mi esposo, Dr. Josué A. Muñoz, por su vivo interés por el tema, sus sugerencias técnicas y experimentales, crítica y discusión de los resultados y del manuscrito, que contribuyeron considerablemente en el éxito del trabajo; por aliviarme además en muchas otras tareas laterales, lo que me permitió una mayor dedicación;

a familiares y amigos, que en diversa forma hicieron posible cumplir con la carrera del Doctorado.

Parte de este trabajo se realizó con la ayuda de una beca del Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas.

I N D I C E

A. Introducción	1
B. Material y métodos	3
1. Obtención del ciclo de desarrollo en el laboratorio	3
2. Aislación de los estados de desarrollo	
2.1. Huevo y miracidios	3
2.2. Esporoquistes	4
2.3. Cercarias	5
2.4. Metacercarias	5
2.5. Adulto	5
3. Técnicas	5
3.1. material vivo	5
3.2. material fijado	6
C. Morfología y biología de los estados de desarrollo	
1. Huevo o cápsula ovígera	7
1.1. eclosión	9
1.2. estímulo desencadenante de la eclosión	10
1.3. Observaciones durante el desarrollo de los huevos	11
2. Miracidio	15
2.1. Comportamiento del miracidio	19
3. Esporoquistes	20
3.1. Esporoquiste madre	21
3.2. Esporoquiste hija	23
4. Cercaria	24
4.1. Vinculaciones sistemáticas dentro de la familia Diplostomatidae en base a la morfología de las cercarias	27
4.2. Comportamiento de la cercaria	31
5. Metacercaria	34
5.1. Vinculación sistemática dentro de la familia Di- plostomatidae en base a la morfología del plexo	

paranefridial	37
5.2. Estudios referentes a los efectos producidos por la metacercaria en el hospedador	38
5.2.1. Serie experimental	39
5.2.2. Discusión de los resultados	43
6. Adulto	46
6.1. Desarrollo en el hospedador final	48
7. Ecología del ciclo de desarrollo	50
Resumen y conclusiones	54
Bibliografía	57
Cuadros de medidas	67
Abreviaturas	70

A. Introducción.

Szidat y Nani (1951) encuentran en el cerebro de pejerreyes capturados en el río Limay un estado de desarrollo, la metacercaria del tipo "Diplostomulum", de un trematode perteneciente a la familia Diplostomatidae, que llamaron, con la denominación larval usual para metacercarias de esta familia de las cuales no se conoce el adulto, Diplostomulum mordax. En el mismo trabajo, los autores describen una forma adulta encontrada en el biguá, Phalacrocorax b. brasilianus, que por su semejanza morfológica con el D. mordax suponen ser el adulto correspondiente y lo denominan Austrodiplostomum mordax. El género Austrodiplostomum fue creado para ubicar esta especie y se caracteriza por la ausencia o atrofia de la ventosa ventral. Szidat y Nani (1951) comentan también el hallazgo de una cercaria emergida de Planorbis peregrinus (= Biomphalaria peregrina) recolectadas en el mismo lugar, de la cual sólo describen brevemente las características más importantes, sin ilustrarla y realizan infestaciones experimentales en Jenynsia lineata, obteniendo algunos estados de desarrollo jóvenes, no maduros. En el citado trabajo esta cercaria es atribuida a Tylodelphys destructor, otra larva parásita del cerebro del pejerrey, (erroneamente, Szidat, comunicación personal). En trabajos posteriores Szidat (1952, 1956) atribuye esta cercaria a Diplostomulum mordax sin referirse a la atribución errónea anterior y Ostrowski de Núñez (1964) la describe sobre la base de esquemas no publicados realizados por Szidat. Falta aun la confirmación experimental de que la cercaria y Diplostomulum mordax realmente corresponde a Austrodiplostomum mordax. Los experimentos necesarios fueron realizados entretanto (Ostrowski de Núñez, 1963) y posteriormente se logró obtener todo el ciclo de este parásito en el laboratorio, cuya descripción es base del presente trabajo.

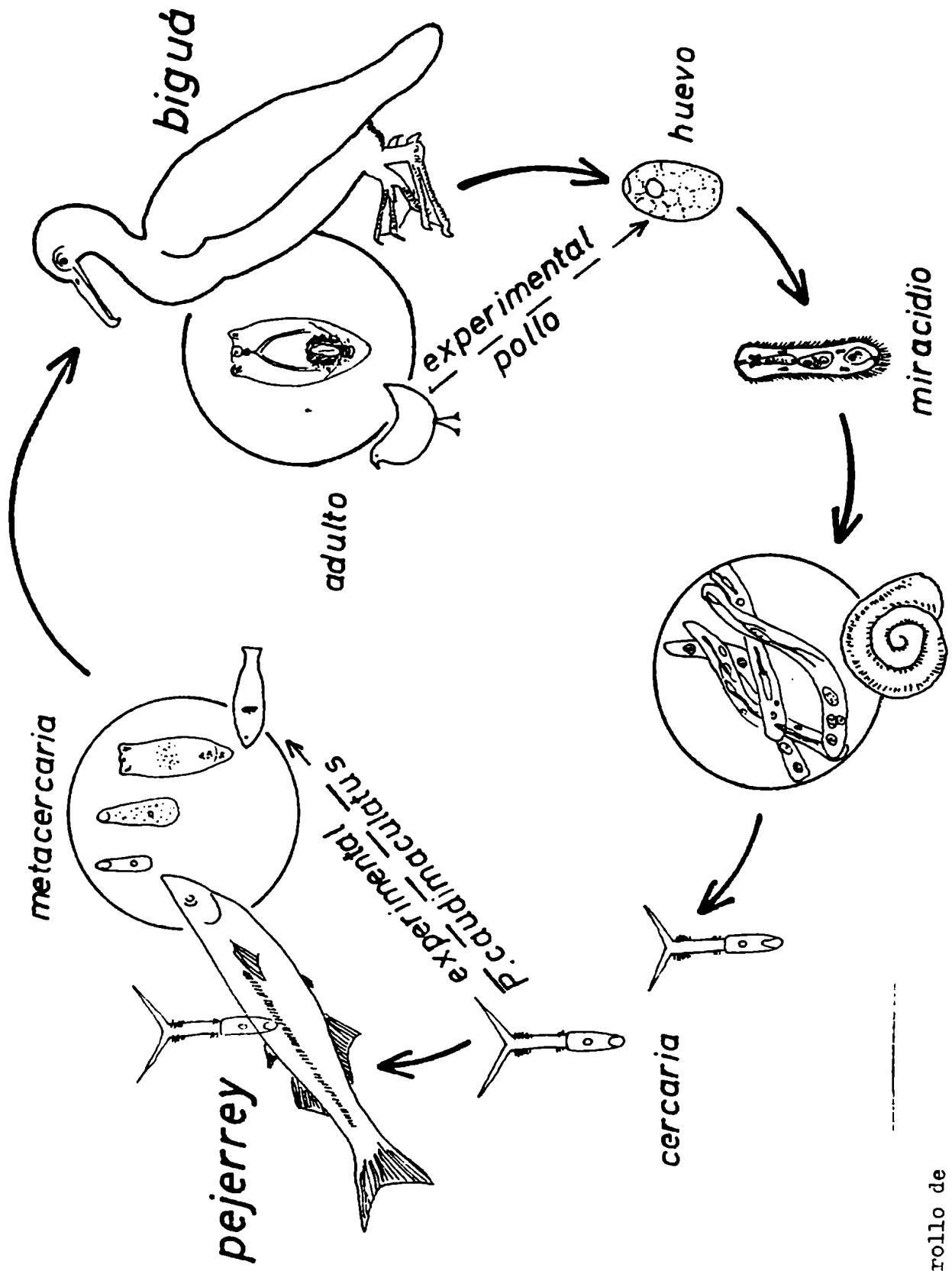
En 1928 Lutz describe brevemente, sin ilustración, un parásito que denomina Alaria compacta, verificando su semejanza con Hemistomum trilobum Rud, (posteriormente Hysteromorpha triloba Lutz 1931), y sin mencionar la falta de la ventosa ventral, caracter llamativo. En su monografía, Dubois (1938) repite esta descripción breve, atribuyéndola al género Hysteromorpha Lutz 1931. Dubois (1970) sobre la base de la revisión de los preparados originales de Lutz, depositados en el Instituto Oswaldo Cruz, en los que figura el nombre de "Alaria compacta" (Nº

24515) y "Hemistomum, biguá, Hysteromorpha" (Nº 17038) concluye que los preparados de Lutz coinciden con Austrodiplostomum mordax Szidat y Nani 1951 y dando la prioridad al nombre específico de Lutz y considerando a Austrodiplostomum como subgénero del complejo género Diplostomum, denomina la especie Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum (Lutz 1928).

Según las reglas de nomenclatura, éste es el nombre válido para la especie, y la primer descripción correcta la dieron Szidat y Nani (1951).

Diplostomum (A.) compactum pertenece a la familia Diplostomatidae e Poirrier 1836 de la superfamilia Strigeoidea Railliet, orden Strigeatoidea La Rue, superorden Anepitheliocystidia La Rue.

Uno de los hospedadores intermediarios mas importantes de D. compactum, el pejerrey Basilichthys bonariensis, constituye un recurso pesquero importante en nuestro país y repetidas veces se han observado serias afecciones de sus poblaciones en ambientes cerrados de agua dulce. Por ejemplo Ringuelet (1942 a,b) señala la extrema flacura de los pejerreyes de Anzulón (La Rioja) y Laguna Comedero (Jujuy); Szidat y Nani (1951) relacionan la deficiencia en el desarrollo y mortandades masivas de pejerreyes registradas en varias oportunidades con la presencia de larvas de A. mordax y Tyloodelphys destructor en el cerebro; finalmente Fuster de Plaza y Boschi (1957) comprueban la presencia de A. mordax en el cerebro de pejerreyes de varias lagunas de la provincia de Córdoba, que mostraban desnutrición y en un 14,66 % deformaciones vertebrales, atribuyendo esta anomalía directamente a la presencia del parásito. Afirman que "Esta epizootía afecta directamente la economía pesquera de la zona por la despoblación y desnutrición de los pejerreyes, principal especie íctica de los embalses de la provincia de Córdoba". El presente estudio sobre la morfología, desarrollo y comportamiento de este parásito tiene como finalidad servir de base para investigaciones futuras relacionadas con la biología del pejerrey, para poder establecer los ciclos de la enfermedad y la incidencia que pudiera tener en las diversas épocas del año sobre la economía pesquera.



esporoquistes
B. peregrina

El ciclo de desarrollo de
Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum
(Lutz 1928) Dubois 1970

B. Material y métodos.

1. Obtención del ciclo de desarrollo en el laboratorio.

Los diferentes estados larvales del parásito y el adulto se obtuvieron de material conseguido por cría en laboratorio durante la realización del ciclo de desarrollo. Se partió de cerebros de pejerreyes naturalmente infestados con metacercarias de D. compactum provenientes del embalse Río Tercero, Córdoba, que se administraron a pollos de incubadora de menos de 48 horas de edad, no alimentados. Se desarrollaron los adultos que produjeron huevos a partir del 3º día después de la infestación. La materia fecal con los huevos se recogió entre los 4 y 14 días y se mantuvo en recipientes adecuados aireados artificialmente o con plantas acuáticas para facilitar el desarrollo del mayor número posible de embriones. El desarrollo de los miracidios se controló retirando muestras de fondo del recipiente y observando con el microscopio. En un estado avanzado del desarrollo se agregaron caracoles Biomphalaria peregrina criados en laboratorio, que se infestaron a medida que los miracidios nacían. En los caracoles se desarrollaron los esporoquistes que produjeron las primeras cercarias después de 50-55 días de la infestación en pollos (enero - febrero 1969). A las cercarias emergidas se expusieron Cnesterodon decemmaculatus y Phalloceros caudimaculatus, criados en laboratorio o provenientes de un zanjón comunicado con el Río de la Plata, en la zona de Punta Chica, donde nunca desde el año 1967, se observaron parásitos en el cerebro de centenares de peces allí obtenidos. Las metacercarias se desarrollaron en el cerebro de estos pequeños peces *C y p r i n o d o n t i f o r m e s*. Dado el número reducido de metacercarias obtenidas no fue posible realizar una infestación en pollos con este material experimental.

El ciclo se completó dos veces en el laboratorio (diciembre 1968 y abril 1972).

2. Aislación de los estados de desarrollo.

2.1. Huevo y miracidios.

Aproximadamente 5 gr de la materia fecal de los pollos con 30 ml de agua de pozo semisurgente se pasaron por un tamiz grueso (1 mm de malla) y luego por uno más fino (310 μ de malla) vertiéndose el filtrado en una columna decantadora, simpli-

ficada según el método de Someren (1947) modificado por Gregoire et col. (1956) (fig. A). Se dejó sedimentar 20 minutos y se recogieron 3 muestras de aproximadamente 5 ml en cápsulas de Petri pequeñas. De allí, bajo lupa binocular, se aisló una cantidad de huevos en portaobjetos excavados, para observación individual. Los portaobjetos excavados, cubiertos con un cubreobjeto, se colocaron sobre un soporte en una cápsula de Petri con agua. Con 2 tiras de papel de filtro, en contacto por un extremo con el agua de la cápsula y por el otro con el agua del portaobjeto, se aseguraba a los huevos el contacto permanente con el agua (fig. B). Los portaobjetos así preparados se observaron y dibujaron al comienzo diariamente, luego a intervalos más largos, pudiendo ser individualizado cada huevo. Así se obtuvieron protocolos individuales por huevo.

El resto de la materia fecal filtrada se mantuvo en frascos de 1/4 litro para el desarrollo de los miracidios, que bajo lupa binocular se aislaron una vez emergidos. Para obtener mayor cantidad de miracidios se usó la técnica descrita por McMullen y Beaver (1945), Chaia (1956) y Dönges (1964). Se colocó el cultivo con huevos en un balón con una rama lateral; se expuso a la luz solar durante 1 hora y luego se lo cubrió, salvo la rama lateral, con papel negro. Expuesto nuevamente a la luz solar, o lámpara de mercurio Philips de 400 watt a 50 cm aproximadamente, los miracidios, gracias a su fototactismo positivo, se concentran en la rama lateral y de allí pudieron ser aislados fácilmente con una pipeta con tetina de goma o de boca.

2.2. Esporoquistes.

Para obtener los esporoquistes se colocaron los caracoles Biomphalaria peregrina durante unos días en frascos de 1/4 litro que contenían huevos con miracidios desarrollados. Luego se aislaron los caracoles en otro recipiente sin huevos y con plantas acuáticas (Elodea). De esta manera se podía apreciar aproximadamente la edad de los esporoquistes al diseccionar los caracoles. El estudio de los esporoquistes se realizó al completar la 2ª vez el ciclo.

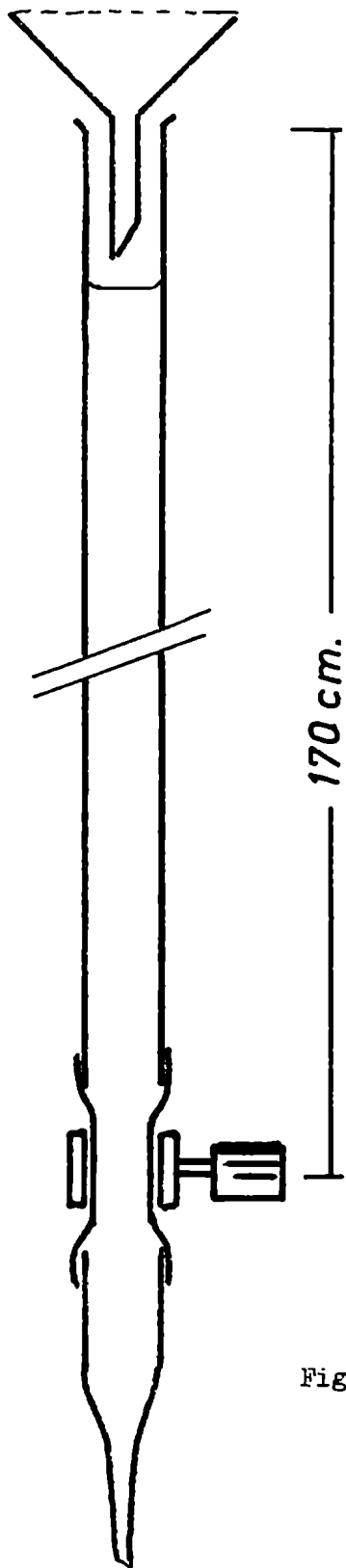


Fig.A. aparato decantador simplificado
 (segun Someren 1947, modificado
 por Gregoire y col. 1956) .

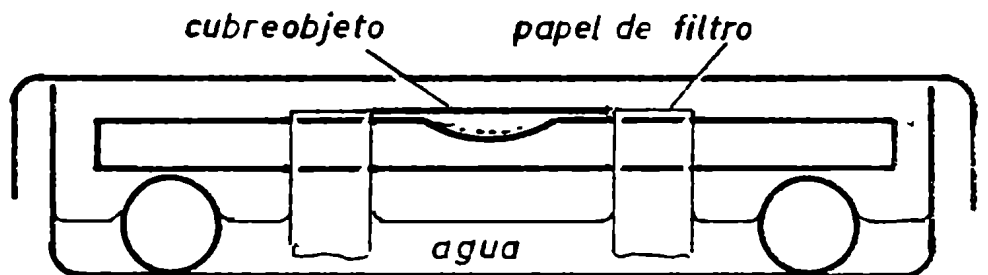


Fig.B. portaobjeto excavado en la cápsula de petri
 para observación de huevos en desarrollo.

2.3. Cercarias.

Se obtuvieron aislando los caracoles en agua nueva de pozo y exponiéndolos a la luz solar o a una lámpara eléctrica. La mayor cantidad de cercarias se obtuvo en el primer ciclo experimental (infestación en pollo diciembre 1968) donde se conservaron caracoles infestados hasta agosto de 1969.

2.4. Metacercaria.

El estudio se realizó con material proveniente de los pejerreyes infestados naturalmente del embalse Río Mercero, Córdoba, capturados en diversas oportunidades a partir de marzo de 1967, y de pejerreyes juveniles (4-5 cm de longitud) fijados en formol, capturados en el arroyo Totoral, laguna de Monte, en 1957 (facilitados por el Prof. Dr. Szidat), complementado con el material vivo proveniente de las infestaciones experimentales en los peces Cyprinodontiformes citados.

2.5. Adulto.

El estudio se basa sobre 3 ejemplares de parásitos obtenidos de 9 ejemplares de Phalacrocorax b. brasilianus capturados en los establecimientos de Obras Sanitarias de la Nación (Capital Federal) en 1962 y 1966 y numerosos ejemplares, estudiados vivos y fijados, obtenidos de la infestación en pollos. Todos los intestinos fueron abiertos inmediatamente después de la muerte del animal, y revisados por trozos de varios cm de longitud bajo lupa binocular, localizándose los parásitos fácilmente por sus movimientos. Este material fue comparado con el tipo y 5 paratipos, preparaciones microscópicas del Prof. Dr. Szidat.

3. Técnicas.

3.1. Materia vivo.

Huevos, miracidios y cercarias se colocaron en agua entre porta y cubreobjeto, desecando lentamente la preparación con un trozo de papel de filtro. Este método es especialmente útil para el estudio del sistema excretor. Para reducir sus movimientos se usó una suspensión de tylosa, clara de huevo o un medio de solu-

ción de Locke-suero-agua destilada en proporción 1:1:1. (1) Los esporoquistes se disecaron y observaron en solución fisiológica 0,2 %. Metacercarias y adultos se montaron y observaron en solución fisiológica 0,6 y 0,9 % respectivamente. Todos los estadios se observaron sin coloración o con agregado de los siguientes colorantes vitales muy diluidos (menos de 1 %): alizarina, verde metilo, rojo neutro, sulfato azul de nilo, azul de metileno, azul de bromotimol. Además se usó carmín acético y verde de metilo acético según Schneider.

3.2. Material fijado.

Para miracidios, esporoquistes y cercarias se usó lactofenol sin coloración o formol 10 % y coloración con carmín acético o verde de metilo-pironina. Estos métodos son altamente deficientes en comparación a la observación en vivo.

Para visualizar las placas epidermales de los miracidios se usó la técnica de Lynch (1956): se colocan en una solución de nitrato de plata al 0,5 % durante pocos instantes, luego se transfieren al agua destilada enjuagando varias veces y se exponen a la luz solar durante 10 minutos (o lámpara de mercurio), se lavan nuevamente con agua destilada y se montan en glicerina o glicerina gelificada. Metacercarias y adultos se mataron con calor para obtenerlos adecuadamente extendidos, se fijaron en Bouin o formol 10 %, se colorearon con carmín acético y se montaron en bálsamo.

Moluscos infestados, cerebros disecados o pequeños peces enteros, metacercarias y adultos fueron incluidos en parafina y los cortes histológicos coloreados según las técnicas de Masson, Azan y hematoxilina eosina.

Todas las observaciones se realizaron con microscopio óptico y contraste de fase según Zernicke-Weiss de campo claro. Las medidas se expresaron en micrones o milímetros, según indicación, y se realizaron en huevos, miracidios, esporoquistes y cercarias en parte sobre el material vivo y en general sobre material muerto

(1) Dönges (1964) usa suero humano diluido con solución de tirode 1:1, en este caso se usó suero antiofídico vencido, del que se disponía en el momento.

con calor; en metacercarias y adultos sobre las preparaciones coloreadas y montadas. Los dibujos a escala se realizaron con cámara clara según Abbé.

C. Morfología y biología de los estados de desarrollo.

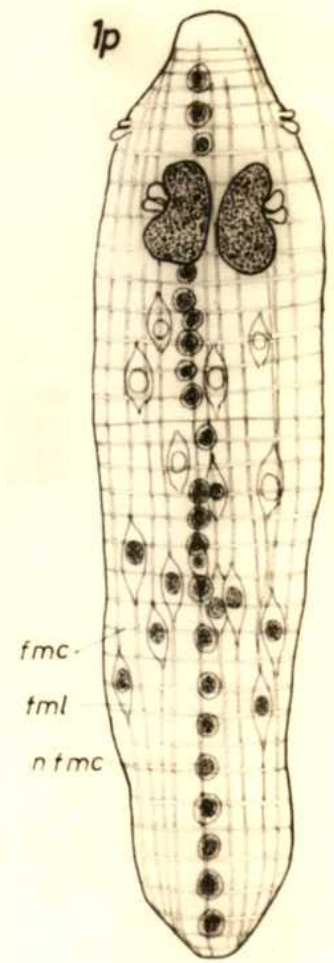
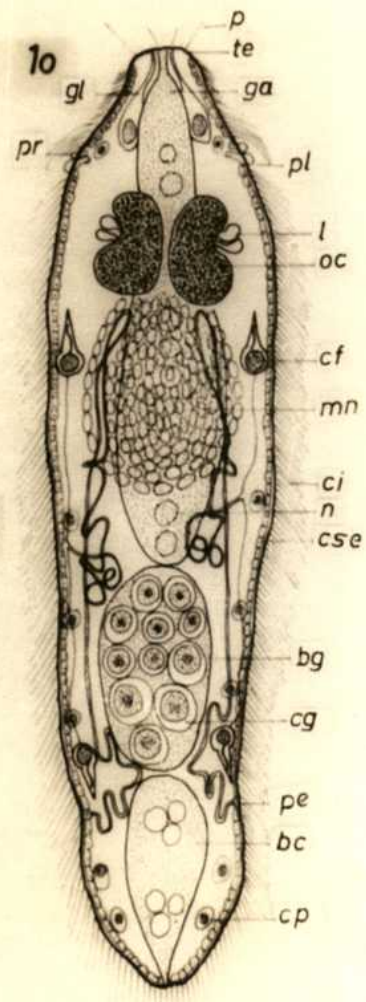
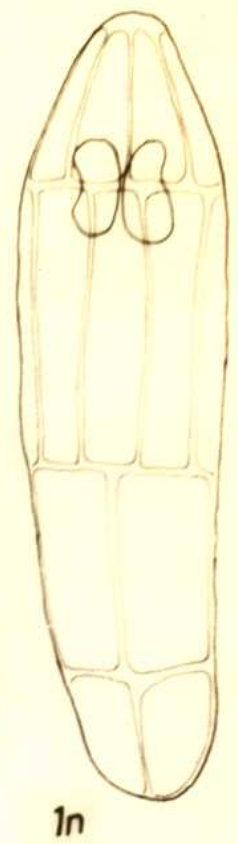
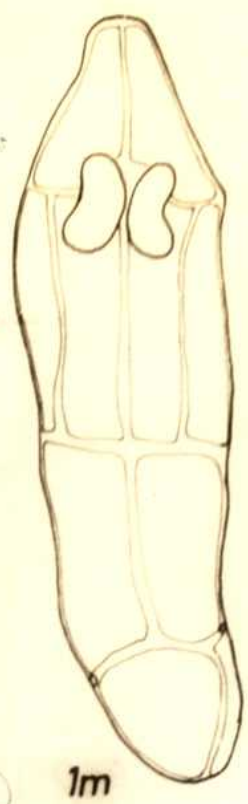
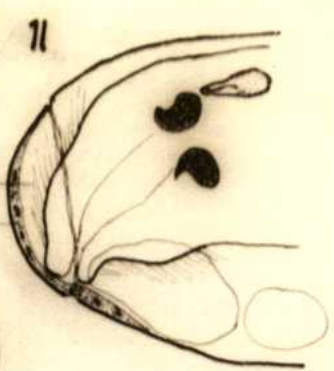
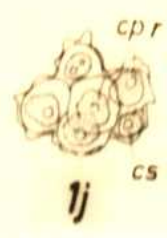
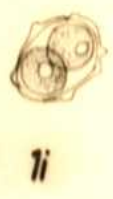
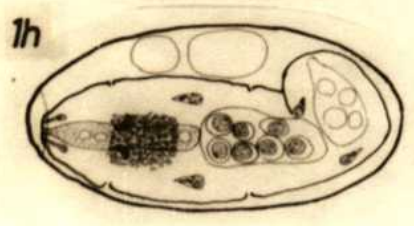
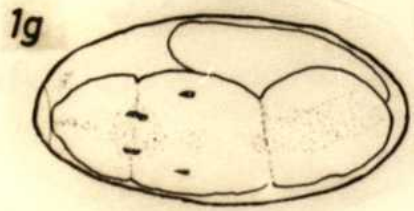
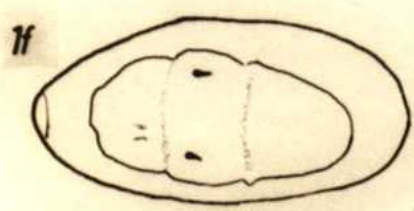
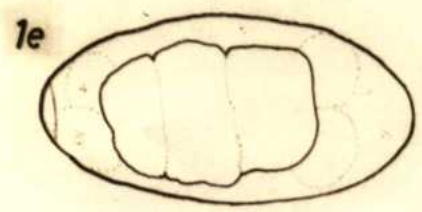
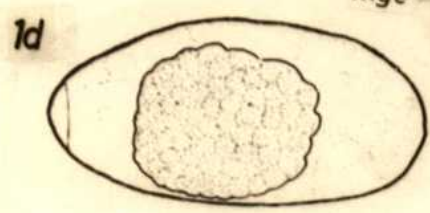
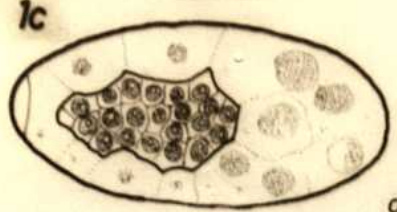
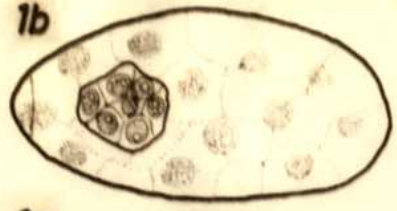
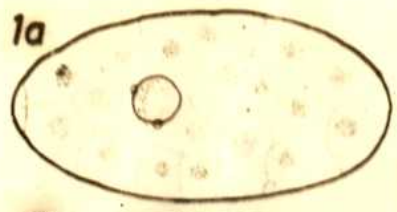
1. Huevo o cápsula ovígera. (fig. 1a-1)

Con el término "huevo" se designa comunmente en helmintología la cápsula que contiene el óvulo fecundado o huevo propiamente dicho. La cápsula mide 81-105/46-56 μ y presenta un grosor uniforme de 0,7 μ aproximadamente. Según Smyth (1966) en la mayoría de los trematodes está compuesta por una proteína resistente, la esclerotina, y una lipoproteína. Es de forma oval con un polo un poco más agudo que el otro, forma común de los huevos en la familia *Diplostomatidae*.

No pudieron encararse estudios histológicos y embriológicos detallados, como los realizados por Chen (1937) Rees (1940) y otros para diversas especies de trematodes, pues exigen abundante cantidad de huevos y miracidios (varios miles), para poder realizar cortes histológicos. Sólo fue posible realizar observaciones sobre el material vivo, empleando diversas coloraciones vitales y empleando un objetivo de inmersión en aceite.

Los diversos estados de desarrollo del huevo observados han sido denominados a, b, c, etc., según particularidades de su morfología y comportamiento fácilmente reconocibles:

- estado a (fig 1a) cigota no dividida
- estado b (fig 1b) cigota dividida en 8-12 blastómeros
- estado c (fig 1c) mórula pequeña de aproximadamente 38/27 μ .
- estado d (fig 1d) mórula (gástrula ?) esférica de aprox. 40-50 μ de diámetro.
- estado e (fig 1e) embrión comienza a alargarse, se comienza a ver límites de las zonas ocupadas por las hileras de placas epidermales.
- estado f (fig 1f) alargamiento más pronunciado, se observan células flamígeras activas y leve pigmento en la zona de los ocelos.
- estado g (fig 1g) el embrión ya se encuentra doblado en la cápsula, el pig-



I 0,05 mm

II 0,02 mm

Explicación de las figuras.

- Fig. l a-h estadíos de desarrollo del miracidio
l i-k primeras divisiones de la cigota
l l extremo anterior del miracidio cercano al nacimiento
l m células epiteliales dorsales del miracidio fijados con
l n células epiteliales ventrales del miracidio técnica de Lynch
l o,p miracidio libre (en vivo, ligeramente aplastado)

Fig. la-h escala I

Fig. lm-p escala II

Fig. li-l sin escala.

mento de los ocelos aumenta, pero aún es de color pardo. Se aprecian estructuras internas.

estado h (fig 1h) miraci6nio maduro, listo para eclosionar, movimientos libres dentro de la c6psula.

El polo agudo de la c6psula ov6gera presenta el op6rculo (polo opercular) y la cigota, de aproximadamente 15μ , se encuentra cerca de 6l. (estado a, fig. 1a). La cigota est6 rodeada por numerosas c6lulas vitel6genas que se caracterizan por su n6cleo granulado. A veces se observan 2 cuerpos peque1os al lado de la cigota (cuerpos polares?).

Como es com6n en el desarrollo del 6vulo fecundado en la familia *Diplostomatidae*, las primeras divisiones de la cigota se hacen poco despu6s de caer al agua. Se pudo observar un estado de la cigota con el citoplasma no dividido y con dos n6cleos grandes con nucleolo bien visible, (fig. 1i). Luego se observaron 2 c6lulas de aproximadamente el mismo tama1o y otra en divisi6n (fig. 1k). En otra oportunidad se apreciaron 6 c6lulas de 2 tama1os, donde las m6s grandes corresponden probablemente a lo que Ishii (1934) (seg6n Chen 1937) llama "propagatory cells" y las m6s peque1as "somatic cells" (fig. 1j). En estos primeros estadios se observan unas prolongaciones citoplasm6ticas en el ectoderma (fig. 1i,j). Seg6n Rees (1940, fig. 14) para *Parorchis acanthus* en la primera divisi6n la diferencia de tama1o de las 2 c6lulas es poco evidente, siendo mayor la c6lula som6tica. Lo mismo ocurre en *Paragonimus kellicotti* Ward seg6n los estudios de Chen (1937, fig. 27a). En las divisiones sucesivas la c6lula som6tica se divide en c6lulas peque1as, mientras que la c6lula propagatoria permanece m6s grande (Chen 1937, fig. 28a, 29a, 30a; Rees, 1940, fig. 15,18).

En el estadio siguiente (fig. 1b) el embri6n mide $22/24$ y tiene aproximadamente 8-12 c6lulas. En los embri6nes mayores de 30μ ya no fue posible contar el n6mero de c6lulas. En un embri6n en desarrollo que se rompi6 durante la observaci6n, se notaron durante la desintegraci6n c6lulas de 6μ y otras de 11μ de di6metro.

Las c6lulas vitel6genas, que se aprecian bien en los estadios a-e, son de aproximadamente 20μ de di6metro con un n6cleo grande granulado, cuyo contenido a

veces aparece en movimiento, probablemente movimiento browniano, como también lo observó Huggins (1954) para Hysteromorpha triloba.

El joven embrión se va alargando (estadio e) hasta ocupar aproximadamente 2/3 partes de la longitud de la cápsula (fig. 1e) y en este momento se comienza a observar en los bordes del cuerpo las divisiones producidas por las placas epidermales. Comienzan a notarse movimientos de contracción y en muchos casos el embrión adopta una posición inclinada en la cápsula. La porción posterior del cuerpo se encuentra curvada, alcanzando el miracidio desarrollado aproximadamente 1/3 a 1 1/2 de la longitud de la cápsula (fig. 1g, h). Las células flamígeras en movimiento pueden observarse a partir del estadio f. Aquí también se comienza a observar el pigmento levemente pardo de los ocelos, que aumenta paulatinamente hasta aparecer como 2 manchas de forma arriñonada. A partir de este momento el miracidio está completamente desarrollado y listo para eclosionar.

Muchas de las estructuras del miracidio, como ser los ocelos, glándula apical, glándulas laterales, células cerebrales, células germinales, células flamígeras, parte de las placas epidermales, las ciliias, pueden apreciarse ya mientras permanece en la cápsula. El espacio entre el cuerpo del miracidio y la pared de la cápsula está ocupado por vacuolas de diversos tamaños.

En algunos miracidios de desarrollo lento a temperatura ambiente baja (la temp. media en el período osciló entre 5,1-20,6°C) se observó la aparición del pigmento de los ocelos en un estado de desarrollo más temprano, correspondiente entre e y d. En un caso el desarrollo fue defectuoso, apareciendo solo un ocelo pigmentado. Este miracidio murió en la cápsula.

1.1 Eclosión.

El miracidio completamente desarrollado generalmente permanece dentro de la cápsula unos días antes de nacer con el extremo anterior hacia el opérculo, con mayor o menor movimiento. Cuando el miracidio está próximo a emerger, comienza a activarse notablemente. Las ciliias baten enérgicamente, la larva rota seguidamente 360° en sentido longitudinal de la cápsula. Con el extremo anterior realiza movimientos contra el polo opercular, donde puede observarse una masa gelati-

nosa. De Fasciola hepatica se conoce que segrega una enzima que disuelve una sustancia cementante proteica situada contra el opérculo, que en ese punto se abre, quedando adherido a la cápsula en el otro extremo (Rowan 1956). Algo similar debe ocurrir en D. compactum, pues se ha observado un miracidio con movimientos activos, frotando vigorosamente contra el extremo opercular durante una hora, y luego nació en pocos instantes (Fig. 11). Otros miracidios aparentemente no lograron disolver el cemento contra el opérculo; se observaron activos hasta 3 horas, con movimientos rápidos durante la primer hora, luego paulatinamente más lentos, para morir finalmente dentro de la cápsula. Park (1936) observa en Neodiplostomum lucidum también un movimiento activo de las ciliias, y al miracidio nadar vigorosamente dentro de la cápsula antes de nacer. Pero esto no debe ser general para todos los miracidios, ya que no ocurre en Cotylophoron cotylophoron (Bennett 1936), en Hysteromorpha triloba (Humphins 1954) y en Parorchis acanthus (Rees 1940).

1.2. Estímulo desencadenante de la eclosión.

La eclosión tendría lugar por un estímulo desencadenante luego que se ha producido la madurez por un proceso posiblemente complejo de larga duración. Cual es el estímulo preciso de la eclosión en el caso de D. compactum no pudo ser determinado, pues elevación de la temperatura, exposición a la luz solar o lámpara de Hg, enfriamiento seguido por aumento brusco de temperatura, no tuvieron efecto inmediato sobre la eclosión de los huevos desarrollados mantenidos en portaobjetos excavados. Posiblemente el estímulo del enfriamiento fue demasiado breve, ya que estudios de diversos autores muestran que la eclosión se estimula manteniendo los huevos varios días a temperaturas bajas (hasta 5°C), sometiéndolos luego a un ascenso considerable de temperatura (28-30°C) y a la luz solar (Dönges 1964, Harris et al 1967, Odening et al 1970).

El opérculo abierto queda adherido por un extremo a la cápsula después de emerger el miracidio. De esta forma se pueden reconocer fácilmente las cápsulas cuyos miracidios han nacido y diferenciarlos de huevos no desarrollados o muertos.

1.3. Observaciones durante el desarrollo de los huevos.

Las primeras divisiones de la cigota se hacen poco después de caer al agua. En este estado pueden permanecer vitales durante mucho tiempo. El desarrollo ulterior depende evidentemente de la temperatura, pero parece depender de otros factores ya que en huevos mantenidos a la misma temperatura el desarrollo es variable.

El material de huevos, colocado en los portaobjetos excavados, fue sometido a diversos tratamientos térmicos que se representan en los cuadros 1 y 2. Los grupos A, B, C y D se formaron según el siguiente criterio: En el grupo A (5 portaobjetos) se incluyen todos los preparados que tuvieron tratamiento térmico con temperatura elevada. En el grupo B (3 portaobjetos) se incluyen todos los preparados en los que se desarrollaron miracidios mientras se los mantenía a temperatura ambiente. En los grupos C y D (1 portaobjeto cada uno) se incluyen los preparados en los que no ocurrió desarrollo luego de transcurrir mas de 20 días después del desarrollo de miracidios en los otros portaobjetos que fueron incluidos en el grupo B.

El cuadro 1 muestra los resultados en los 4 grupos de huevos tratados, el número de miracidios desarrollados, las eclosiones, muertes en la cápsula y el número de huevos no desarrollados, de los cuales en el cuadro 2 se indican con una o los que se mueren (contenido lisado), con 0 los que se pierden y con A los que se eliminan durante o al final del período de observación. En el cuadro 2 se representa el tiempo que permaneció cada grupo en el ambiente o en estufa, indicando el número de huevos desarrollados según fechas y las temperaturas medias ambiente meteorológicas promedio de períodos de 15 días. El número de días que los miracidios permanecen en la cápsula antes de eclosionar, no se incluyen en el cuadro 1 y se indican a continuación.

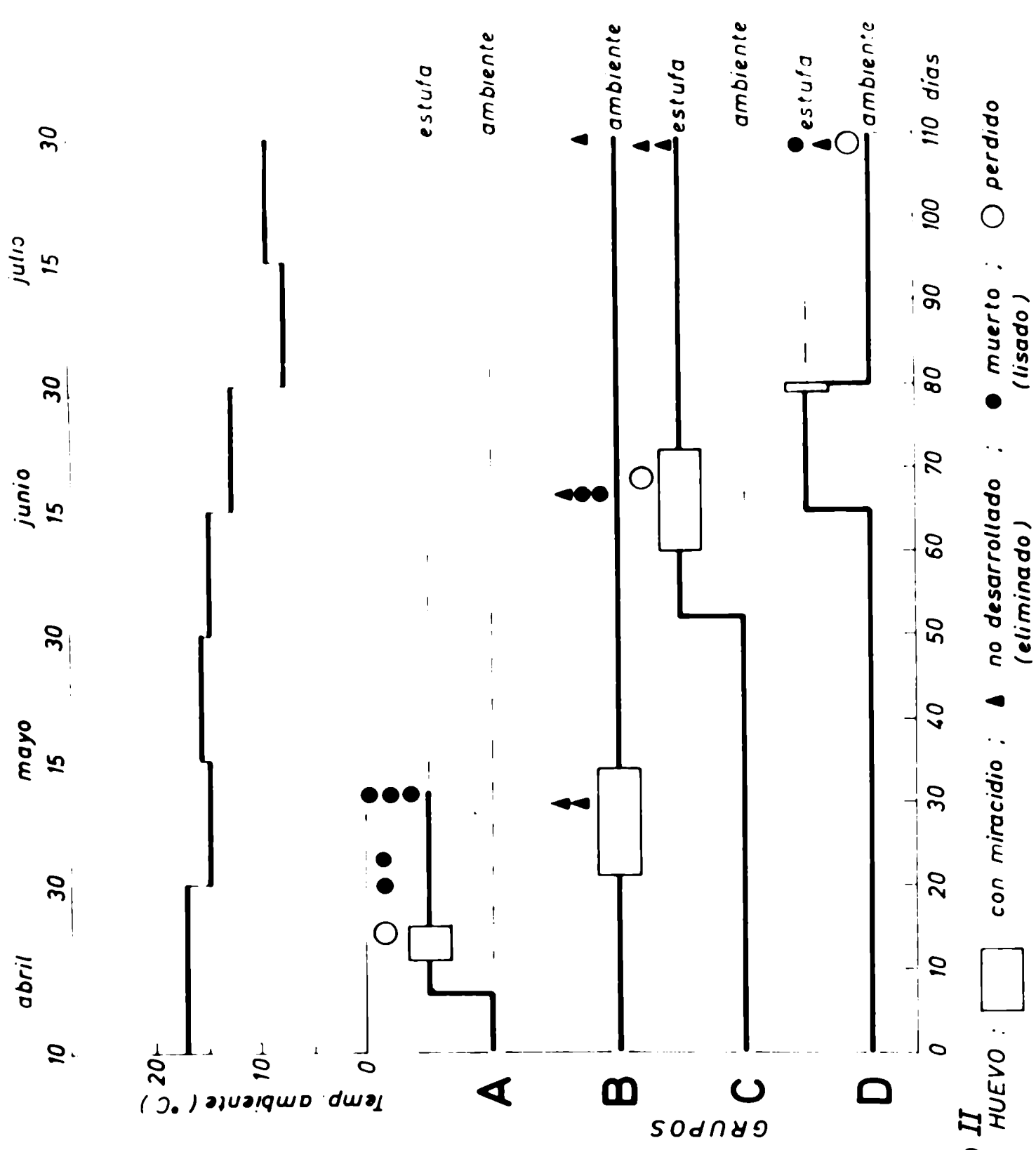
Todos los huevos provenían de la infestación experimental en pollos y fueron recogidos a los 3-6 días después de la infestación.

Grupo A: 29 huevos permanecieron primeramente 6-8 días en el ambiente

Cuadro I

grupo	n° huevos	permanecen		días a 25-29	se desarrollan a miracidio					no se desarrollan		
		días	temp. media ⁺		n° total	en días	emergen	mueren en capsula	se pierden	n° total	se mueren	eliminan o pierden
A	29	6-8	17	3-23	23	11-15	17	2	4	6	6	-
B	16	102	7,5-17	-	10	21-34	10	-	-	6	2	4
C	9	52	14,8-17	8-58	6	60-72	4	2	-	3	-	3
D	5	64	14,7-17	15	2	79	2	-	-	3	desarrollo deficiente 2	1

+ promedio quincenal de la temperatura media ambiente °C



Cuadro II

(temperatura media 11,3-19,7°C), luego se colocaron en estufa a 25-29°C durante 23 días; 23 de estos huevos completaron su desarrollo a edad de 11-15 días, de los cuales 17 emergieron espontáneamente después de permanecer entre 1-11 días en la cápsula; de los restantes, 2 se murieron en la cápsula después de 3 y 10 días y 4 se perdieron o accidentaron después de permanecer 2-14 días en la cápsula. 6 huevos no se desarrollaron y murieron en diversas edades, indicados con o en el cuadro 2.

Grupo B: 16 huevos permanecieron durante 102 días a temperatura ambiente (las temperaturas correspondientes a períodos de 15 días representados en cuadro 2); 10 de estos huevos completaron su desarrollo en 21-34 días, eclosionaron después de permanecer 1-7 días en la cápsula y 6 no se desarrollaron (cuadro 2).

Grupo C: 9 huevos permanecen 52 días en el ambiente (temperaturas según cuadro 3) y en este tiempo permanecieron aproximadamente en el estadio b (fig. 1b). Luego se colocaron en estufa a 25-29°C durante 58 días y la mayoría comenzó a desarrollarse rápidamente. 6 huevos completaron su desarrollo a una edad de 60-72 días, de los cuales 8-20 días eran de estufa; 4 de ellos eclosionaron y 2 miracidios murieron en la cápsula; 3 huevos no se desarrollaron.

Grupo D: 5 huevos permanecieron 64 días en el ambiente (temperaturas según cuadro 2) y no avanzaron más que entre el estadio a y b (fig. 1a y 1b) y fueron colocados luego a estufa durante 15 días: 2 huevos se desarrollaron hasta el miracidio y 2 progresaron notablemente. Se retiraron luego de la estufa y permanecieron en el ambiente, donde la temperatura media había disminuido notablemente (cuadro 2, junio 30-julio 15). Los miracidios desarrollados emergieron después de permanecer 22 y 28 días en la cápsula y otros 2 se desarrollaron defectuosamente, uno de ellos murió en la cápsula, el otro se perdió. El restante huevo no se desarrolló en todo el período de observación.

En el grupo A los huevos respondieron al efecto térmico artificial (es-

tufa) con una aceleración del desarrollo; en el grupo B aun a la temperatura de 15°C se desarrolla la mayoría de los huevos. En ambos grupos el período de desarrollo del miracidio se encuentra aproximadamente en los límites dados para diversos representantes de las familias *S t r i g e i d a e* y *D i p l o s t o m a t i d a e*, en los cuales para una temperatura entre 18-24°C el desarrollo se completó luego de 10-23 días (Dönges 1964, Odening et al. 1970, Harris et al 1967, Nasir 1960, Tscherner 1972). A medida que aumenta la temperatura el desarrollo se acelera aun más, H. triloba incubados a 37°C emergen en 6-8 días (Hughhins 1954) y Diplostomum ketupanensis a 38°C en 6 días (Ganapati y Rao 1962).

En el grupo C y D influye otro factor externo, que inhibió el desarrollo de todos los huevos, a pesar de encontrarse en las mismas condiciones térmicas que el grupo B. Este factor externo no controlado en los ensayos, podría ser el grado de anaerobiosis del medio de cultivo. El déficit de O₂ puede tener diverso origen: limitación de la difusión en la preparación bajo el cubreobjeto y/o desarrollo de flora bacteriana. En los portaobjetos colocados en cápsulas de petri en la estufa, el agua contenida en ésta se evaporaba y condensaba contra la tapa, para caer nuevamente sobre el portaobjeto, dejando los bordes del cubreobjeto siempre embebido de agua y asegurando una mejor difusión.

Para Fasciola hepatica se demostró que la mortalidad es poco variable a diferentes tensiones de O₂; pero el desarrollo y la emergencia en condiciones aerobicas son mucho más rápidas que en condiciones de baja tensión de O₂ (Smyth 1966). Con esto se explicaría también que en un recipiente donde se vertió toda la restante masa de la materia fecal de los pollos y donde el medio por consiguiente estaba en estado de putrefacción, el desarrollo de los huevos se realizó en forma más lenta en comparación con los frascos aireados. Esto se comprobó sacando muestras de huevos del fondo del recipiente. En este recipiente también resultaron varios caracoles infestados.

En todos los grupos se observan huevos muertos (o, contenido lisado), hue-

vos no desarrollados (A) y sin cambio aparente (O). Este hecho evidentemente debe ser atribuido a diferencias propias de cada huevo, es decir a factores endógenos, ya sea infertilidad o alguna respuesta fisiológica del tipo diapausa "letargo". Para decidir entre estas alternativas se necesitan experimentos detallados aun no realizados.

La relación de huevos muertos (lisados) sobre el total del ensayo para cada uno de los grupos es la siguiente:

$$\text{Grupo A: } \frac{2}{29} = 17 \%$$

$$\text{Grupo B: } \frac{6}{16} = 12,5 \%$$

$$\text{Grupo C: } 0$$

$$\text{Grupo D: } \frac{1}{5} = 20 \%$$

Considerando todos los huevos no desarrollados, incluyendo los lisados y los eliminados sin desarrollo al final de la observación, se tienen las siguientes relaciones:

$$\text{Grupo A: } \frac{6}{29} = 20,6 \%$$

$$\text{Grupo B: } \frac{6}{16} = 37,5 \%$$

$$\text{Grupo C: } \frac{3}{9} = 33,3 \%$$

$$\text{Grupo D: } \frac{3}{5} = 60 \%$$

Los datos obtenidos dan solo una idea sobre las condiciones de desarrollo; se obtendrán resultados mas precisos en los ensayos en los que se controla además de la temperatura la tensión de O₂ del medio de cultivo.

2. Miracidio. (Fig. lm, n, o, p)

El miracidio emergido representa el primer estado larval libre. Es sumamente contráctil y mide en vivo hasta 108-121/27 μ . Se pueden observar las siguientes estructuras:

Células epiteliales: Exteriormente se encuentran las grandes células epiteliales, sin núcleos, portadoras de las cilias, ordenadas en 4 anillos. El primer anillo cubre el extremo anterior hasta la mitad de los ocelos y lo forman 6 células: 2 dorsales y 4 ventrales. El segundo anillo llega hasta aproximadamente la mitad del cuerpo y está formado por 9 células angostas: 4 dorsales, 3 ventrales y 2 laterales. El tercer anillo está formado por 4 células: 2 dorsales y 2 ventrales y el último anillo está formado por 3 células más cortas, 1 dorsal y 2 latero-ventrales. La ordenación y número de las células epiteliales se expresa generalmente con una fórmula: $6+9+4+3=22$ siendo esta fórmula típica para miracidios de la familia *Diplostomatidae*, como lo citan Pearson (1956, 1961), Dönges (1964), Harris et al (1967) y otros. Excepciones a la regla son Hysteromorpha triloba con $6+8+4+3=21$ (Huggins 1954) Uvulifer ambloplitis con $6+6+4+3=19$ (Hunter y Hunter 1935). Los posibles errores que se pueden cometer al establecer el número de las células epiteliales los discute Pearson (1961).

Las células epiteliales están densamente cubiertas por cilias, que en la porción anterior del miracidio miden 5,5 μ para luego alargarse y medir en el resto del cuerpo hasta 11 μ . Las cilias están unidas a su cuerpo basal, que se observó solo al desintegrarse el miracidio.

Las células epiteliales dejan entre sí espacios intercelulares angostos sin cilias. El extremo anterior o terebratorium no está cubierto por placas epiteliales y tampoco presenta cilias, sino 2 pares de pelos sensitivos que se encuentran sobre pequeñas papilas. En el terebratorium desembocan la glándula apical y las glándulas laterales. Si la glándula apical desemboca por más de un poro, como en el caso de Posthodiplostomum cuti-

cola según Dönges (1964), no pudo ser determinado con seguridad.

Subepitelio y fibras musculares: Debajo de las células epiteliales se han observado pequeñas células aproximadamente esféricas que se interpretan como capa subepitelial, y luego las fibras musculares longitudinales y circulares, que aseguran la contractilidad de la larva.

Los núcleos de las fibras musculares longitudinales están distribuidas mas o menos irregularmente y los de las circulares aparecen en una sola línea en el medio del cuerpo. Se han contado a lo largo 22 núcleos, de los cuales probablemente la mitad corresponde a la cara dorsal y la otra mitad a la cara ventral. Las fibras musculares y sus núcleos son difíciles de observar y solo por unos instantes antes de morir la larva por desecamiento entre portaobjeto y cubreobjeto. Dönges (1964) observó 14 núcleos de las fibras circulares en cada cara en P.cuticola y Pearson (1956, 1961) da un número similar para Alaria arisaemoides y Neodiplostomum intermedium. A lo largo de los bordes, entre los diversos órganos y la cutícula, se observaron algunos núcleos grandes, probablemente pertenecientes a células parenquimatosas.

Glándula: En la parte anterior del cuerpo se encuentra la glándula apical que se presenta en dos expansiones unidas por un canal mas o menos angosto según las contracciones del cuerpo. Está repleta de una sustancia granulosa en la que nadan más de cuatro formaciones circulares, probablemente núcleos, que debido al movimiento de la larva, se mueven en el contenido de la glándula hacia adelante o atrás. Smyth (1966) cita 4 núcleos en la glándula apical como norma general; pero para H. triloba se citan 5-6 y para D. variabile 5. En D. compactum se observó que tanto el número como el tamaño son variables. Esta glándula apical fue considerada por autores antiguos correspondiente al tracto intestinal. Su naturaleza glandular fue observada por Lynch (1933), quien propuso el término de glándula apical, aceptado y empleado por autores posteriores. Su función no está del todo aclarada, se supone que es proteolítica y que interviene du-

rante la penetración en el hospedador. Esta glándula ha sido observada no solo en miracidios de la familia *D i p l o s t o m a t i d e e*, sino en representantes de diversas familias y puede considerarse un carácter general de los trematodes digeneos.

A ambos costados de la glándula apical desemboca una pequeña glándula lateral que presenta un núcleo grande; se prolonga hasta la mitad de la distancia entre el extremo anterior y los ocelos. Estas glándulas son llamadas también "glándulas de penetración" o "glándulas cefálicas", pero el papel que juegan durante la penetración aun no está aclarado y las enzimas que intervienen no se identificaron. Algunos autores sostienen que estas glándulas segregan un material que luego forma la cutícula del esporoquiste (Smyth 1966). Estas glándulas están presentes también en Posthodiplostomum cuticola, Neodiplostomum intermedium, Hyronimus chelydrae, y no se citan para Neodiplostomum lucidum, Hysteromorpha triloba y algunas otras especies.

Sistema nervioso y órganos sensoriales:

En el cuarto anterior del cuerpo se encuentran 2 ocelos de 8-10/6 μ de forma arriñonada, cuya concavidad presenta 2 lentes transparentes, siendo el resto fuertemente pigmentado de negro. Posterior a los ocelos se observa una masa densa de células pequeñas que se tiñen fácilmente, que representa la masa neural o ganglio cerebral y llega casi hasta la bolsa germinal.

Lynch (1933) y Döniges (1964) describen pares de nervios o filamentos que llegan a los ocelos, terebratorium, a las papilas laterales y a la bolsa germinal.

En D. compactum no se observaron tales filamentos, tal vez por falta de una coloración específica.

En el espacio entre el primero y segundo anillo de células epiteliales se encuentran, a ambos lados, las llamadas papilas laterales. Están presentes en casi todos los miracidios descritos y se les atribuye función

quimiorreceptora. Anterior a la papila lateral se observa la papila radial más pequeña. Según otros autores, las papilas radiales existen en la base de cada célula epitelial del primer anillo epitelial, pero D. compactum solo se vieron las del borde.

Células germinales: Posterior a la glándula apical, o sea cubriendo aproximadamente el tercer cuarto del cuerpo, se encuentra la bolsa germinal que contiene alrededor de 9 células germinales, grandes y sueltas.

Bolsa caudal: Posterior a la bolsa germinal y cubriendo el último cuarto del cuerpo se encuentra la bolsa caudal, que también posee algunos núcleos, generalmente se contaron 6. Dönges (1964) en P. cuticola la encuentra similar en contenido, tinción y consistencia a la glándula apical y con una prolongación hacia el extremo posterior sin poder determinar un poro hacia el exterior, Huggins (1954) relaciona la bolsa caudal y las células que contiene con las células germinales, junto con 3 pares de células de cada lado que se encuentran en el parénquima. Park (1936) interpreta a la bolsa situada en el último cuarto del cuerpo de Neodiplostomum lucidum, que contiene un fluido granular y uno o varias células germinales, como bolsa germinal con células germinales. Anterior a la bolsa se encuentran unas células en el parénquima, que también interpreta como células germinales. En Diplostomum variabile, según Harris et al (1967), están presentes una bolsa germinal y una bolsa glandular posterior con 4 núcleos.

Sistema excretor: Está formado por 2 pares de células flamíferas (proto-nefridios) de 13 μ de largo, uno anterior, lateral al ganglio cerebral, inmediatamente posterior a los ocelos y un par posterior, al nivel del límite entre la bolsa germinal y la caudal. Los canales son sumamente difíciles de observar y sólo se logran ver pocos instantes antes de la muerte por desecamiento. De las células flamíferas terminales anterior y posterior parten finos canales que se dirigen hacia la línea media del cuerpo cerca del borde lateral, allí se unen en un canal común más ancho, que

describe una serie de asas, luego se dirige hacia los ocelos, allí dobla y corre recto hasta el extremo posterior de la bolsa germinal, donde describe nuevamente unas asas, para desembocar al exterior en el espacio entre el tercer y cuarto anillo de células epiteliales.

2.1. Comportamiento del miracidio.

El miracidio tiene una vida corta de pocas horas (máximo observado 12 horas). Presenta un fototactismo positivo marcado, que facilita aislarlo aun de recipiente grandes; enfocando la luz de una lupa binocular en un punto, los miracidios nadan rápidamente hacia la superficie del agua en la región iluminada. Sus movimientos son rápidos, rotando sobre sí mismo de modo que el camino recorrido forma helicoides alargadas según el eje longitudinal de su cuerpo.

Es muy sensible a la manipulación, y se desintegra fácilmente. La observación en vivo ha sido facilitada utilizando clara de huevo, para reducir los movimientos sin destrucción entre portaobjeto y cubreobjeto. La penetración propiamente dicha en el molusco hospedador no pudo observarse. Se intentó observar la penetración del miracidio bajo lupa binocular en un recipiente pequeño. Los miracidios nadaban indiferentes, sin mostrar ni mayor actividad ni mayor atracción por el caracol. Hasta tocaban el molusco, para alejarse luego nuevamente de él. Este comportamiento difícilmente se puede explicar. Bennet (1936) en Cotylophoron cotylophoron tampoco pudo observar la penetración de los miracidios en el caracol en experimentos observados durante 3 horas y supone, que la constante actividad de los caracoles y las condiciones anormales inhibieron la infestación. Obtiene solo un 10 % de infestación al exponer un ejemplar del caracol a pocos miracidios y 100 % si el número de miracidios es grande, habiendo en este caso peligro de sobreinfestación. Por el contrario, la penetración de Fasciola hepatica y F. gigantica sí ha podido ser observada fácilmente (Dawes 1959, 1960 a, c; Bacigalupo 1934). Basándose en los resultados de otros autores, Campbell (1961) supone que

en frascos con pequeña cantidad de agua no se crea el gradiente necesario de la sustancia de atracción para una orientación de los miracidios de modo que solo se observa su activación pero no quimiotaxismo.

3. Esporoquistes.

Los caracoles usados durante el primer desarrollo experimental del ciclo, se infestaron sin control en un acuario de 10 litros. Los 20 Biomphalaria peregrina originales, puestos en dicho acuario, habían producido gran cantidad de descendientes, de los cuales se obtuvieron entre febrero y agosto de 1968 41 ejemplares infestados, sin registrar los posibles muertos por sobreinfestación. Estos caracoles se usaron para la producción de cercarias, observaciones en los esporoquistes hijas maduros y para inclusiones en parafina.

El número de caracoles infestados para estudiar el desarrollo de los esporoquistes fue reducido (9) y se obtuvo al realizar por segunda vez el ciclo de desarrollo completo (infestación en pollos en abril de 1972), donde la cantidad obtenida de huevos fue menor que la primera vez.

No pudo realizarse una infestación cuantitativa de los moluscos por no disponerse de gran número de miracidios al mismo tiempo y con ello poder determinar con exactitud, entre otras cosas, la edad de los esporoquistes observados.

De 23 caracoles Biomphalaria peregrina colocados en recipientes con huevos desarrollados, o sea en contacto por varios días con un número indeterminado de miracidios que emergían, se infestaron 9 caracoles (39%). 2 caracoles colocados junto con 5 miracidios libres cada uno, en recipientes de 4,5 cm³ de agua no se infestaron, resultando negativa la autopsia 60 días mas tarde. Dönges (1964) observa que la infestación resulta mayor cuanto menor es la cantidad de agua en que se coloca el caracol y los miracidios, pero a partir de cierta cantidad de agua (40 cm³ y más) no hay diferencia en el porcentaje de infestación, lo que se explicaría con los resultados de Campell (1961), citados anteriormente.

3.1. Esporoquiste madre. (Fig 2a-g)

Los esporoquistes madres se localizan en la parte anterior del caracol entre el corazón y el extremo anterior. A la edad de 13-18 días miden 710-1300/53-137 μ y contienen 7-10 masas germinales, que se componen de 8-10 "células germinales" pequeñas que se desprenden y dan lugar luego a los esporoquistes hijas.

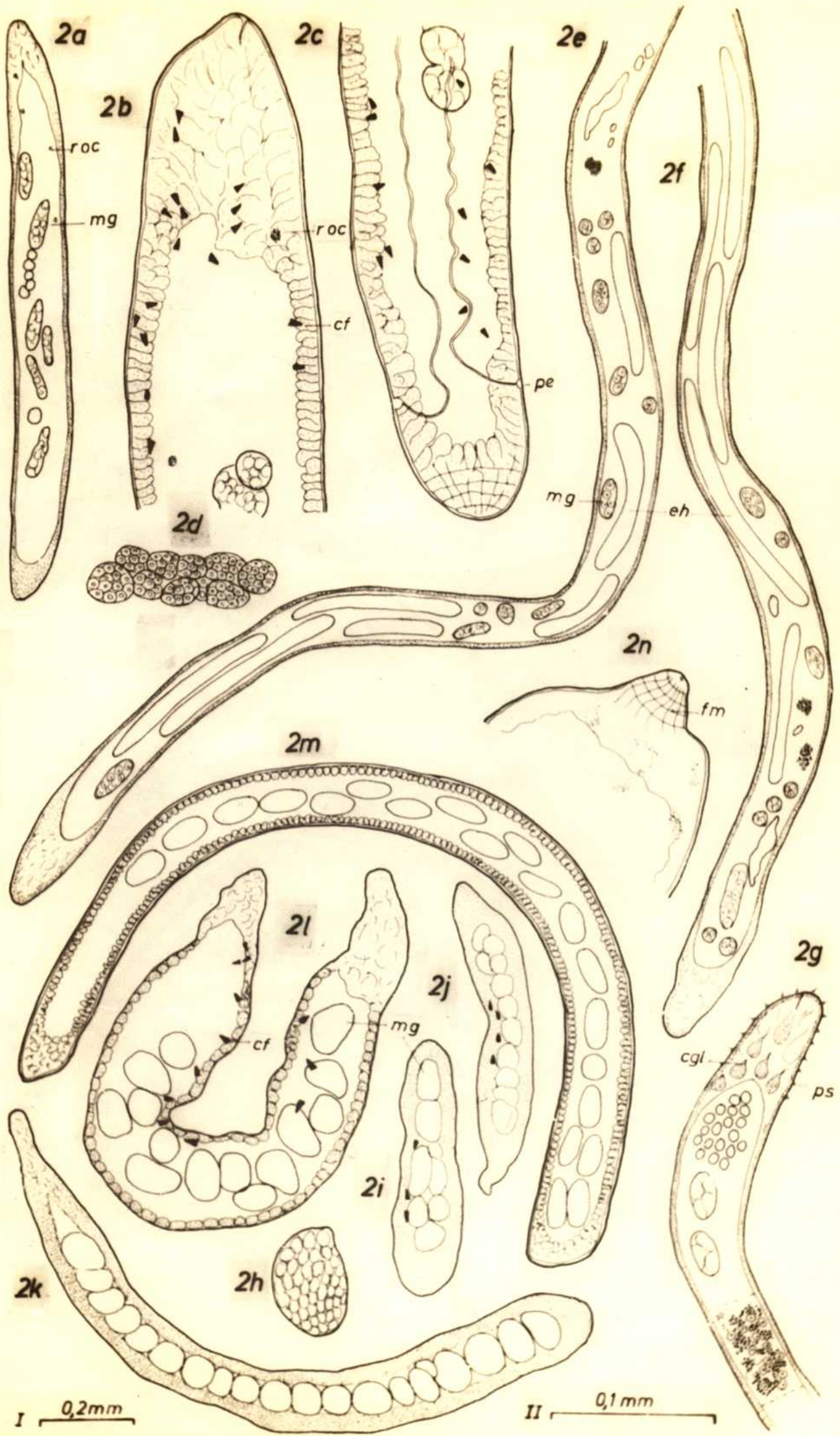
El esporoquiste madre consiste fundamentalmente en una bolsa alargada que contiene las masas germinales, en distintos estados de desarrollo. Exteriormente está cubierto por una cutícula, debajo de ella se encuentran una capa fina de células epiteliales cilíndricas, que dejan un espacio central donde nadan libremente las masas germinales. Los extremos están rellenos con células epiteliales y parenquimatosas, además se observan algunas células granuladas, posiblemente glandulares.

Las células flamíferas del sistema excretor se han multiplicado enormemente y ya no se puede determinar su número. Con mucha dificultad pudieron verse los poros excretores en el extremo posterior.

Los extremos del esporoquiste son muy similares y es difícil distinguir el anterior del posterior. Suelen observarse restos del pigmento de los ocelos del miracidio repartidos en varias manchas, cercanas a uno de los extremos, que se considera el anterior. Este es a veces un poco más aguzado y puede observarse un poro rodeado de estriaciones circulares, posiblemente el resto de la glándula apical o el poro de nacimiento de los esporoquistes hijos.

El extremo posterior es un poco más redondeado, y cerca de él están las desembocaduras de los canales excretores. Como estas desembocaduras solo se observan en condiciones de deshidratación y aplastamiento adecuado, no sirven para diferenciar el extremo anterior del posterior, siendo mejor indicación la presencia de los restos de pigmentación.

Los esporoquistes madres de aproximadamente 30 días de edad miden hasta 8,5 mm/124 μ y ya presentan esporoquistes hijas desarrolladas. Los restos del pigmento de los ocelos aun se sigue observando. En un ejemplar



Explicacion de las figuras

- Fig. 2a esporoquiste madre de 10 días de edad
- 2b extremo anterior del esporoquiste madre de la fig. 2a
- 2c extremo posterior del esporoquiste madre de la fig. 2a
- 2d masa germinal del mismo esporoquiste madre
- 2e extremo anterior de un esporoquiste madre de 30 días de edad
- 2f extremo posterior
- 2g extremo anterior de un esporoquiste madre de 40 días, mostrando entre las líneas de punto el aspecto de la superficie de la cutícula
- 2h-k estados de desarrollo de esporoquistes hijos dentro de la madre
- 2l esporoquiste hijo maduro, cercano al nacimiento
- 2m esporoquiste hijo libre en el hepatopancreas
- 2n extremo anterior de un esporoquiste madre mostrando fibras musculares
- Fig. 2a,e,f,g escala I
- Fig. 2b,c,d,h-m dibujos a mano libre de ejemplares vivos, escala II aproximada
- Fig. 2n sin escala

de 5 mm/94 μ la cutícula mide 2,7 μ de espesor, la capa epitelial 10-13 μ y la cavidad interna 62 μ . Los esporoquistes hijas miden alrededor de 600/30 μ . La cutícula presenta estriaciones leves debidas probablemente a la musculatura y además granulaciones que se pronuncian y oscurecen más con la edad y le dan un aspecto opaco, dificultando la observación.

Si bien se ha podido determinar morfológicamente el probable poro de nacimiento, no fue posible observar el nacimiento de esporoquistes hijas, como lo observó Dönges (1864). Durante las manipulaciones entre porta y cubreobjeto se ha observado mas de una vez la evacuación de esporoquistes, y en un esporoquiste madre de 30 días hasta en 4 sitios a la vez. Lo más probable es que estos lugares sean de menor resistencia y por lesión durante la preparación se ha evacuado material hacia el exterior, ya que suelen observarse evaginaciones de la cutícula en los extremos anterior y posterior, originados posiblemente por un aumento de presión. El poro de nacimiento en otros *S t r i g e i d a e* y *D i p l o s t o m a t i d a e* es apical.

Dönges (1964) observó el nacimiento de un esporoquiste hijo en P. cuticola, que por movimientos activos se abrió el camino por el extremo anterior, naciendo por el poro apical. Este poro se observa solo durante el nacimiento, antes y después no puede detectarse en el esporoquiste vivo. Los esporoquistes madres de más de 40 días de edad presentan un aspecto degenerado, con constricciones y ya no contienen mas hijas desarrolladas, sino una serie de masas germinales pequeñas. En un ejemplar de esta edad se han observado papilas (¿sensitivas?) con una cerda corta en el extremo anterior y una serie de células granuladas, probablemente glandulares. Las papilas (¿sensitivas?) seguramente ya existen en edades anteriores aunque no han sido vistas.

El desarrollo y la morfología del esporoquiste madre de D. compactum concuerda con las descripciones correspondientes a esporoquistes de otros *S t r i g e i d a e* y *D i p l o s t o m a t i d a e* (Cort, Ameel y van der Woude 1951; Cort y Oliver 1941, Huggins 1954; Dönges 1964; Harris

et al 1967). Hay pocas diferencias entre las especies, que en general tienen una longitud entre 4-12 mm. El esporoquiste de Cercaria laruei según Cort y Olivier (1941) es extremadamente largo, con 25 mm, y el de H. triloba según Hughhins (1954) muy corto con 2 mm de largo. Los esporoquistes madre de D. compactum presentan una longitud intermedia y no se han observado caracteres llamativamente diferentes de los de otras especies.

3.2. Esporoquiste hijo. (Fig 2h-m, 3a)

Los esporoquistes hijos se desarrollan a partir de las masas germinales que se encuentran en los esporoquistes madres. Pueden adquirir dentro de la madre una longitud de aproximadamente 650 μ y contienen alrededor de 13-18 masas germinales, a partir de las cuales se desarrollarán las cercarias. Entre los 18-30 días después de la infestación, los hijos nacen y migran hacia el hepatopáncreas y la gonada. Cortes histológicos de caracoles infestados mostraron mayor densidad de esporoquistes en la gonada. A los 30 días, aproximadamente, los esporoquistes hijos miden entre 600-800/50 y aumentan las masas germinales a 20-27. Las medidas y la cantidad de masas germinales son muy variados.

Los esporoquistes hijos se diferencian de las madres por carecer de pigmento de ocelos y por tener los extremos anterior y posterior fácilmente distinguibles. El extremo anterior es más aguzado y relleno por células parenquimatosas, mientras que el extremo posterior es redondeado con una pared más angosta. El sistema excretor está representado por una gran cantidad de células flamíferas, que ya se observan tempranamente. En los ejemplares muy jóvenes las masas germinales se hallan muy apretadas y son difíciles de contar (fig 2i-k). A medida que aumentan de longitud, las masas germinales se mueven libremente en la cavidad del cuerpo.

Los hijos desarrollados, que ya producen cercarias, miden 1.405-3.410/62-155 μ . Varias veces se ha observado el nacimiento de cercarias por un poro genital situado sobre el borde a poca distancia del extremo anterior, y que sólo se observa al salir la cercaria (fig 3b).

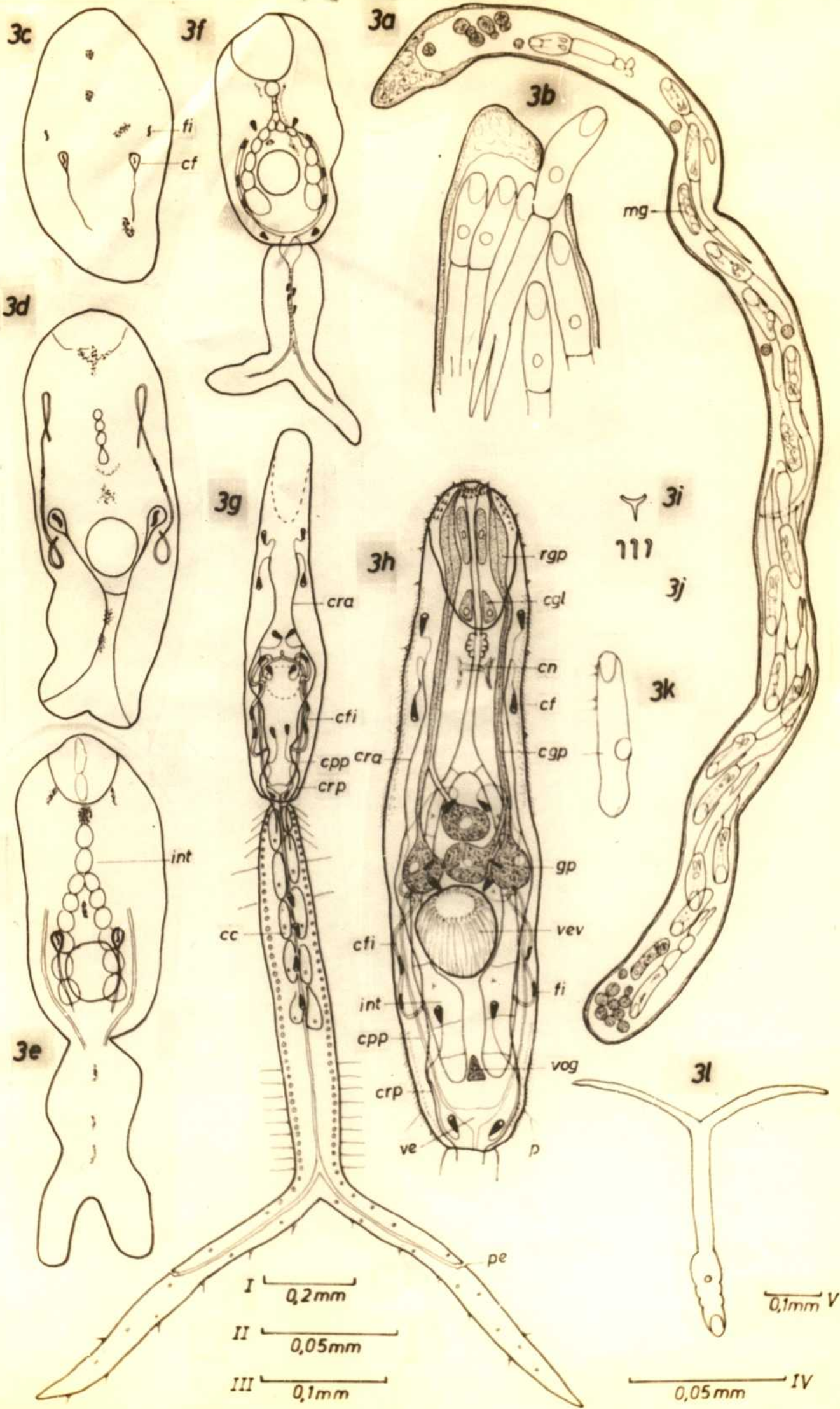
Como no se infestaron los caracoles individualmente, sino que se dejaron en contacto con huevos embrionados en recipientes de 250 ml durante varios días, no puede establecerse con exactitud cuánto tiempo transcurrió hasta la liberación de cercarias. Aproximadamente pasan 50-60 días hasta la aparición de las primeras cercarias, o sea cuando los esporoquistes hijos tienen alrededor de 30 días de edad. Estos datos concuerdan con lo que citan otros autores para otras especies de *Diplostomatidae*. En H. triloba el desarrollo es mucho más rápido, pues Hughhins (1954) obtiene cercarias ya 14 días después de la infestación, y aunque no especifica la temperatura de desarrollo, afirma que se produjo durante los cálidos meses de verano.

Los esporoquistes hijos maduros contenían 20-25 cercarias desarrolladas y una serie de masas germinales no diferenciadas. Los esporoquistes hijas de H. triloba solo contienen 6, mientras que Cort y Olivier (1941) observaron entre 24-100 cercarias por esporoquiste en diversas especies y en un caso alrededor de 1.000 cercarias en un esporoquiste no especificado.

Con la edad el esporoquiste se hace cada vez más opaco, debido a la acumulación de gránulos en la capa subcuticular.

4. Cercaria. (Fig 3c-1)

El desarrollo ^{de} la cercaria es similar al de los esporoquistes: las masas germinales primeramente alargadas se dividen en masas mas pequeñas circulares, las cuales dan origen a las cercarias. Ya tempranamente, antes de que el embrión muestra semejanza con una cercaria, se observa el sistema excretor, representado por un par de células flamíferas. Este sistema es el primero en desarrollarse; las células que componen el tracto digestivo y los esbozos de las glándulas de penetración se observan posteriormente. Dejando el estudio del desarrollo completo del sistema excretor para un trabajo futuro, los datos observados muestran gran similitud con el desarrollo de dicho sistema en Diplostomum flexicaudum (= D. spa-



Explicación de las figuras

- Fig. 3a esporoquiste hijo con cercarias maduras
3b extremo anterior de esporoquiste hijo con nacimientos de cercarias
3c-f estados de desarrollo de la cercaria
3g cercaria madura
3h cuerpo de la cercaria
3i espina triangular del órgano de penetración
3j gancho de la ventosa ventral
3k cuerpo de la cercaria en perfil, mostrando pelos sensitivos
3l cercaria en posición de descanso
- Fig. 3a escala I
Fig. 3b sin escala
Fig. c-e escala II
Fig. 3f,g escala III
Fig. 3i j k sin escala
Fig. 3h escala IV
Fig. 3l escala V

taceum indistinctum, según Dubois 1970) de acuerdo con Hussey (1941)(Fig. 3c-f).

La cercaria desarrollada, emergida del caracol, nada libremente en el agua, y representa la segunda larva libre. En las cercarias muertas por calor, el cuerpo mide 205/52 μ , el tronco caudal 246 μ y las furcas 245 μ de largo (Fig. 3g-1).

En el extremo anterior del cuerpo se encuentra el órgano de penetración, cuya porción anterior es evaginable. Sobre ella hay 3 filas de espinas triangulares fuertes y luego siguen 5 filas irregulares donde las espinas son gradualmente más débiles. Alrededor del orificio oral hay algunas espinas más largas, rectas, dirigidas hacia adelante. Entre éstas y las filas de espinas triangulares hay una zona sin espinas. En el resto del cuerpo las espinas se encuentran más espaciadas, dejando una zona libre al nivel de las glándulas de penetración y la ventosa ventral. Se encuentran papilas sensitivas con pelos cortos distribuidas en forma rala. Además de las espinas, el cuerpo presenta pelos sensitivos: un par insertado a los costados a la altura de la vesícula excretora; luego viendo la cercaria de perfil, (Fig. 3k) sobre la línea media dorsal, hay 2 pelos cortos en la mitad del órgano de penetración, 2 más largos a la altura de la comisura nerviosa y otro a la altura de la ventosa ventral. El tronco caudal no presenta espinas, sólo pelos sensitivos: 4 pares cortos a la altura del primer cuerpo caudal, un par a la altura del segundo y un par a la altura del tercer cuerpo caudal; y luego 7-9 pares posteriores. Las furcas caudales presentan en espacios regulares unos pelos o cerdas cortos.

En la porción anterior del órgano de penetración se observan con dificultad 2 células alargadas y en la porción posterior 2 células glandulares grandes, opacas, que se colorean bien con los colorantes vitales.

Se han observado hasta ahora glándulas unicelulares similares sólo en A-laria arisaemoides de la familia D i p l o s t o m a t i d a e y en algunas cercarias de la familia C y a t h o c o t y l i d a e. Están presen-

tes en la cercaria de Posthodiplostomum nanum Dubois 1937 (Ostrowski de Núñez 1973). Su función aún no se conoce.

Existen 4 glándulas de penetración grandes, cuya secreción actúa en la disolución de los tejidos del segundo hospedador. Dos de ellas son mediales, una tras la otra, y se encuentran entre la bifurcación de los ciegos y la ventosa ventral; las otras 2 se encuentran a los costados de la segunda célula, anterior o, cuando la cercaria se estira, un poco lateral respecto de la ventosa ventral. Los conductos de la célula anterior medial y la derecha corren a la derecha y los de la célula posterior medial y la izquierda corren a la izquierda del esófago, forman un reservorio amplio en el órgano de penetración y desembocan en orificios individuales en la zona sin espinas a los costados del orificio oral.

El tracto intestinal comienza con el orificio oral en el extremo anterior del cuerpo, atraviesa el órgano de penetración, presenta una faringe, que se tiñe levemente, situada posterior al órgano de penetración; un esófago de aproximadamente doble longitud que la faringe, que se bifurca en 2 ciegos septados en 6 células cada uno, las últimas más anchas que las anteriores. La ventosa ventral bien desarrollada se encuentra en la segunda mitad del cuerpo, y lleva un anillo simple de 39-46 ganchos.

El sistema excretor está formado por 6 pares de células flamíferas o protonefridios en el cuerpo y dos pares en la cola. El canal recolector anterior (cra), que recibe los 4 primeros protonefridios, y el posterior (crp) que recibe los 2 últimos del cuerpo y los 2 del tronco caudal, se unen para formar un canal común (cfi) de cada lado, que recorre primeramente un trecho en forma ondulada hacia adelante y lleva 3 flamíferas intercalares, que actúan en el transporte del líquido en el canal. A la altura del borde anterior de la ventosa ventral el canal se bifurca, una rama dobla hacia el extremo posterior (cpp) y corre en forma recta hasta la vesícula excretora, y la otra rama se une con la correspondiente del otro lado para formar una comisura preacetabular, que en el medio sobre el eje del cuerpo, presenta un proceso ciego dirigido hacia el extremo anterior.

De la vesícula excretora parte un canal excretor que corre por el medio del tronco caudal y desemboca, previa dilatación pequeña, aproximadamente en el medio de las furcas caudales. El número de las células flamígeras o protonefridios se expresa con la fórmula: $2 ((2+2) + (2+(2))) = 16$.

Los esbozos de las gonadas están representadas por un grupo de células situadas en el espacio entre la última porción de los ciegos.

Del sistema nervioso sólo se han observado una comisura postfaringea de la que parten 2 nervios hacia adelante y 2 hacia atrás.

El tronco caudal, un poco mas largo que el cuerpo, es atravesado por 4 haces musculares fuertes, que hacen posible el movimiento característico.

Las paredes del tronco son onduladas y debajo de la cutícula se observan a lo largo mas o menos 60 núcleos. Posiblemente pertenecen a una musculatura circular, como supone Dönges (1964), que no pudo ser observada. A lo largo de la línea media se encuentran 5 pares de células transparentes, los llamados cuerpos caudales, de forma rectangular u ovalada. De éstas células parten finos filamentos hacia las paredes del tronco. Han sido citadas prolongaciones filamentosas similares para algunas cercarias, mientras aparentemente faltan en otras (Tscherner 1972). La función de los cuerpos caudales aun no está aclarada. Algunos autores (Cort y Brooks 1928) interpretan los filamentos como tejido conectivo para sujetar los cuerpos caudales, y otros (Miller 1924) los consideran glándulas, y los filamentos como sus conductos. Actualmente se supone que tienen función de almacenar glicógeno (Smyth 1966).

Las furcas, un poco más cortas que el tronco, presentan también una serie de núcleos y ayudan en la locomoción característica.

4.1. Vinculaciones sistemáticas dentro de la familia Diplostomatidae sobre la base de la morfología de las cercarias.

Existen descripciones de más de 60 cercarias con 4 glándulas de penetración. Sólo un número reducido tiene la disposición de las glándulas como la cercaria de Diplostomum (A) compactum, pero se diferencian de ella

por una serie de caracteres, como número de protonefridios, existencia de cuerpos caudales, pelos sensitivos, etc. Pertenecen a diversos géneros, como Cotylurus, de la familia Strigeidae y a varios de la familia Diplostomatidae, como Diplostomum, Tylodelphys, Hysteromorpha.

Algunas de las cercarias conocidas del género Cotylurus, que presentan una disposición de las glándulas similar a D. compactum, difieren de ella por el número de 24 protonefridios, y un par de manchas oculares no pigmentadas, ambos caracteres típicos del género (Niewadomska 1970) Dubois (1970) incluye por sus características en este género también a Cercaria allotropicalis Nasir y Scorza 1968, a pesar de no conocerse su desarrollo ulterior. Las cercarias de la familia Diplostomatidae, similares a D. compactum, que presentan la misma cantidad y disposición de glándulas de penetración, sin poseer ocelos no pigmentados, son:

Tylodelphys clavata: se diferencia morfológicamente por la distribución y cantidad de pelos sensitivos en el tronco caudal, por la especie del primer hospedador y por la localización en el segundo hospedador (según Niewadomska 1960, 1963; según Dubois 1970 esta cercaria pertenece a T. coniferum).

Tylodelphys excavata: se diferencia por el número y forma de los cuerpos caudales y además penetra en anfibios.

Didelphodiplostomum variable (= Diplostomum variable): se diferencia en detalles del sistema excretor, en la cantidad de pelos sensitivos en el tronco caudal y en su desarrollo ulterior (Harris et al 1967).

Hysteromorpha triloba: se diferencia por la cantidad de protonefridios y por no presentar cuerpos caudales (Huggins 1954).

Cercaria breconensis Probert 1966 se diferencia por la cantidad de protonefridios, los cuerpos caudales y en que su hospedador es un caracol de la familia Limnaeidae.

Con Cercaria sudanensis N 5 Archibald y Marshall 1932 es difícil la comparación pues los protonefridios no fueron observados. No presenta cuerpos caudales.

Como ha sido recalcado nuevamente en el "Simposio sobre cercarias", Alemania 1968 (Odening 1971), las características de las cercarias tienen mucha importancia para la determinación de relaciones filogenéticas. Aunque no siempre es posible reunir características típicas de familias, hay ejemplos en la superfamilia Strigeoidea, en que ciertas características de las cercarias pueden ser atribuidas a determinados géneros.

Existe el grupo llamado "rhabdoceca", cuyas cercarias reúnen las características de tener 3 pares de glándulas de penetración, un intestino rudimentario y falta de ventosa ventral. Dönges (1964) reúne todas las cercarias que se ajustan a estos caracteres y las compara con las cercarias que también poseen 6 glándulas de penetración pero tienen ventosa ventral. Encuentra algunos caracteres más, que sólo aparecen en el grupo "rhabdoceca", como manchas oculares con pigmento, posición en forma de gancho durante el reposo en el agua, etc. Además este grupo se caracteriza por tener una determinada forma de metacercaria enquistada, el neascus. Sus estados adultos pertenecen a 4 géneros, Posthodiplostomum, Uvuliver, Ornithodiplostomum y Crassiphiala, todos parásitos de aves.

De los géneros Neodiplostomum y Fibricola se conocen hasta ahora 6 cercarias que con excepción de Fibricola intermedius, tienen las glándulas de penetración anterior a la ventosa ventral; todas tienen 5 pares de protonefridios en el cuerpo y un par en la cola, un par de manchas oculares sin pigmento, y penetran en anfibios. Estos géneros aparecen repartidos en dos subfamilias en la sistemática clásica: Neodiplostomum en Diplostomatinae, parásitos de aves, y Fibricola en Allariinae, parásitos de mamíferos. Sobre la base a la similitud de sus cercarias, algunos autores (Pearson 1959, Odening 1965) sostienen que debe considerarse a Fibricola como un subgénero de Neodiplostomum.

El género Diplostomum fue dividido por Dubois (1970) en 6 subgéneros: de

2 de ellos se conocen algunos ciclos completos (subgén. Diplostomum y Tylodelphys), en 3 faltan descripciones de cercarias (Adenodiplostomum, Glossodiplostomum y Dolichorchis) y el último (Austrodiplostomum) es tema del presente trabajo.

Del subgénero Diplostomum se conocen 7 ciclos completos (D. spathaceum murrayense, D. micradenum), de los cuales 6 se ajustan a los siguientes caracteres: cercarias con 4 glándulas de penetración posterior a la ventosa ventral, 6 pares de protonefridios en el cuerpo y 2 en la cola, el hospedador intermediario primario es un caracol Limnaeidae y las cercarias penetran en los ojos y cerebro de peces. La 7ª especie, D. micradenum, es distinta: tiene un par de glándulas anterior a la ventosa ventral y un par posterior. El número de protonefridios es 8 pares en el cuerpo y 2 pares en la cola. La cercaria es albergada por un caracol Limnaeidae y penetra en renacuajos.

Del subgénero Tylodelphys se conocen los ciclos de T. excavata y de T. clavata. Existe cierta discusión sobre si la cercaria T. clavata descrita por Niewadomska 1960 (= Cercaria letifera Fuhrmann) es la correspondiente a T. clavatum (Nordmann) nec Ciurea, o pertenece a T. coniferum (Mehlis 1846), como supone Dubois (1961, 1964, 1970). Ambas cercarias son morfológicamente muy parecidas: 4 glándulas de penetración anteriores a la ventosa ventral, 6 protonefridios en el cuerpo y 2 en la cola y el hospedador es un Planorbidae. Se diferencian solo por caracteres menores: en los cuerpos caudales y en la disposición de los pelos sensitivos. El desarrollo ulterior es distinto, T. excavata tiene como hospedador secundario a renacuajos, mientras que T. clavata se encuentra en el ojo de peces de agua dulce. Ambas cercarias son muy similares a la de D. compactum, por lo que Szidat (1969) supone una estrecha vinculación de esta especie con el género Tylodelphys.

El género Hysteromorpha fue creado por Lutz (1931) para ubicar a Distomum trilobum Rudolphi 1819. Huggins (1954) descubre su ciclo biológico y pone en duda la validez del género Hysteromorpha, dado que el ciclo es tí-

pico del género Diplostomum, la cercaria tiene 4 glándulas de penetración preacetabulares y penetra en peces para enquistarse en el músculo.

Didelphodiplostomum variabile es un representante de la subfamilia A l a r i i n a e, que reúne las especies que parasitan a mamíferos. Harris et al (1967) describen el ciclo biológico, la cercaria también tiene 4 glándulas de penetración preacetabulares similar a D. compactum y poco se diferencia morfológicamente de ella, pero penetra en larvas de urodelos. Estos autores discuten la validez del género Didelphodiplostomum, incluyendo la especie en el género Diplostomum. Dubois (1970) sostiene la validez del género Didelphodiplostomum, pero señala la estrecha relación morfológica de la cercaria con las del subgénero Tylodelphys, que hace suponer en un origen común o una derivación del género Didelphodiplostomum de Tylodelphys.

Por lo visto, también la cercaria de H. triloba presenta similitud con las cercarias de Tylodelphys, Didelphodiplostomum y Austrodiplostomum respecto de las glándulas de penetración y otros caracteres, aunque la fórmula protonefridial concuerda con D. micradenum, que a su vez tiene una posición intermedia respecto de las glándulas de penetración. La relación morfológica de la cercaria de Didelphodiplostomum, parásito de mamíferos, con las cercarias de géneros que parasitan aves, es particularmente interesante como caso paralelo al problema Neodiplostomum-Fibricola.

4.2. Comportamiento de la cercaria.

Las cercarias emergidas nadan libremente en el agua, alternando fases de actividad, que duran fracciones de segundo, y fases de reposo que duran 20-30 segundos. Durante el período de reposo nadan con el cuerpo dirigido hacia abajo, manteniendo el cuerpo y el tronco derecho y las furcas formando un ángulo de aproximadamente 90-120°. El cuerpo muestra 2 constricciones más pronunciadas a la altura de la faringe y esófago, y otras 2-3 más leves, posteriores, más o menos evidentes según el estado de contracción. Durante el período de actividad nadan con el tronco y las furcas di-

rigidas hacia adelante, con el movimiento típico para furcocercarias. Este movimiento, que solo puede ser registrado con cinematografía, fue analizado por Neuhaus (1953) en Trichobilharzia szidati, Graefe, Hohorst y Dräger (1967) en Schistosoma mansoni, Graefe y Burkert (1972) en Diplostomum spathaceum y Dönges (1964), por microfotografía, en Posthodiplostomum cuticola, consiste basicamente en flexiones laterales rápidas del tronco, manteniéndose el cuerpo derecho y las furcas, movidas en forma pasiva durante el movimiento del tronco, son presionadas contra el agua, de modo que resulta un movimiento hacia adelante (fig. 6i).

Las cercarias en un tubo de ensayo o microcubeta a la luz difusa se reparten uniformemente en el recipiente. Iluminados desde arriba, tienden a acumularse en el fondo. Al colocar el tubo de ensayo en posición horizontal y cubriéndolo con papel negro fotográfico pero dejando una ranura por donde penetra la luz, las cercarias se acumulan, después de una hora alrededor de la ranura. Al reducir notablemente la luz o al pasar la mano entre el recipiente con cercarias y la fuente de luz, produciendo un efecto de sombra, la mayoría de las cercarias comienzan un período de actividad.

Hasta ahora solo pocas cercarias fueron investigadas acerca de sus reacciones a la luz. En general, las cercarias que poseen ocelos pigmentados, como P. cuticola, y especies de la familia Schistosomatidae, y ocelos no pigmentados como Diplostomum spathaceum, Apheringostrigea cornu, muestran fototactismo positivo (Dönges 1964, Lee 1962, Haas 1969, Tscherner 1972). Para cercarias sin ocelos no se han encontrado datos referentes al fototactismo. Estudios experimentales sobre reacciones a diversas intensidades y cambios de luz fueron realizados por Dönges (1964) para P. cuticola y por Haas (1969) (citado según v. Brand 1972) para D. spathaceum. Estas cercarias se activan si la intensidad de luz disminuye bruscamente (efecto de sombra), como también se observó en D. compactum. La interpretación del comportamiento de las cercarias de D. compactum, que por un lado tienden a acumularse en el fondo del recipiente ilumina-

do, pero en un tubo de vidrio oscurecido se concentran alrededor de la ranura por donde penetra la luz, o sea mostrarían fototactismo positivo a pesar de no poseer ocelos, aun no es muy clara. Por el otro lado se mostró que la luz influye en la emergencia de larvas de Diphyllbothrium latum, que tampoco poseen ocelos (Grabiec et al 1963, citado según v. Brand 1972). Muchas especies de cercarias tienden a acumularse en la superficie del agua (Döniges 1964, Williams 1966), pero según v. Brand (1972) no siempre puede decidirse entre geotactismo negativo o fototactismo positivo. La cantidad de cercarias de D. compactum que emergen de un caracol es variada y depende naturalmente de la cantidad de miracidios que han infestado el caracol y de otros factores que influyen sobre la emergencia. Durante los ensayos que se refieren a continuación, la cantidad máxima de cercarias emergidas durante 24 horas, de un solo caracol después de un estímulo térmico, fue de 3.800.

Para observar los factores que influyen en la emergencia de las cercarias se colocaron caracoles infestados en frascos individuales de 10 ml de agua, 5 de ellos en un ambiente completamente oscuro y 5 en las condiciones normales del laboratorio. Cada 4 horas se cambió el agua y se fijaron las cercarias para su recuento. En el primer grupo de caracoles, los cambios de agua también fueron realizados en la oscuridad. El porcentaje de cercarias emergidas en cada período se representa en las figuras C y D y el porcentaje de cercarias emergidas en función de la temperatura en la figura E. De las curvas representadas se deduce lo siguiente:

1. La diferencia de respuesta entre luz y oscuridad puede ser atribuida solamente a efectos térmicos. No se observa dentro de las temperaturas ensayadas, la incidencia de factores endógenos o exógenos sincronizados con ritmos circadianos de luz en la emergencia.
2. Mínimos de emergencia se observan en las primeras horas del día y se presentan en ambos grupos durante el primer día y debe atribuirse también al mínimo térmico, hallándose el cultivo ya a baja temperatura, probablemente cerca del umbral.

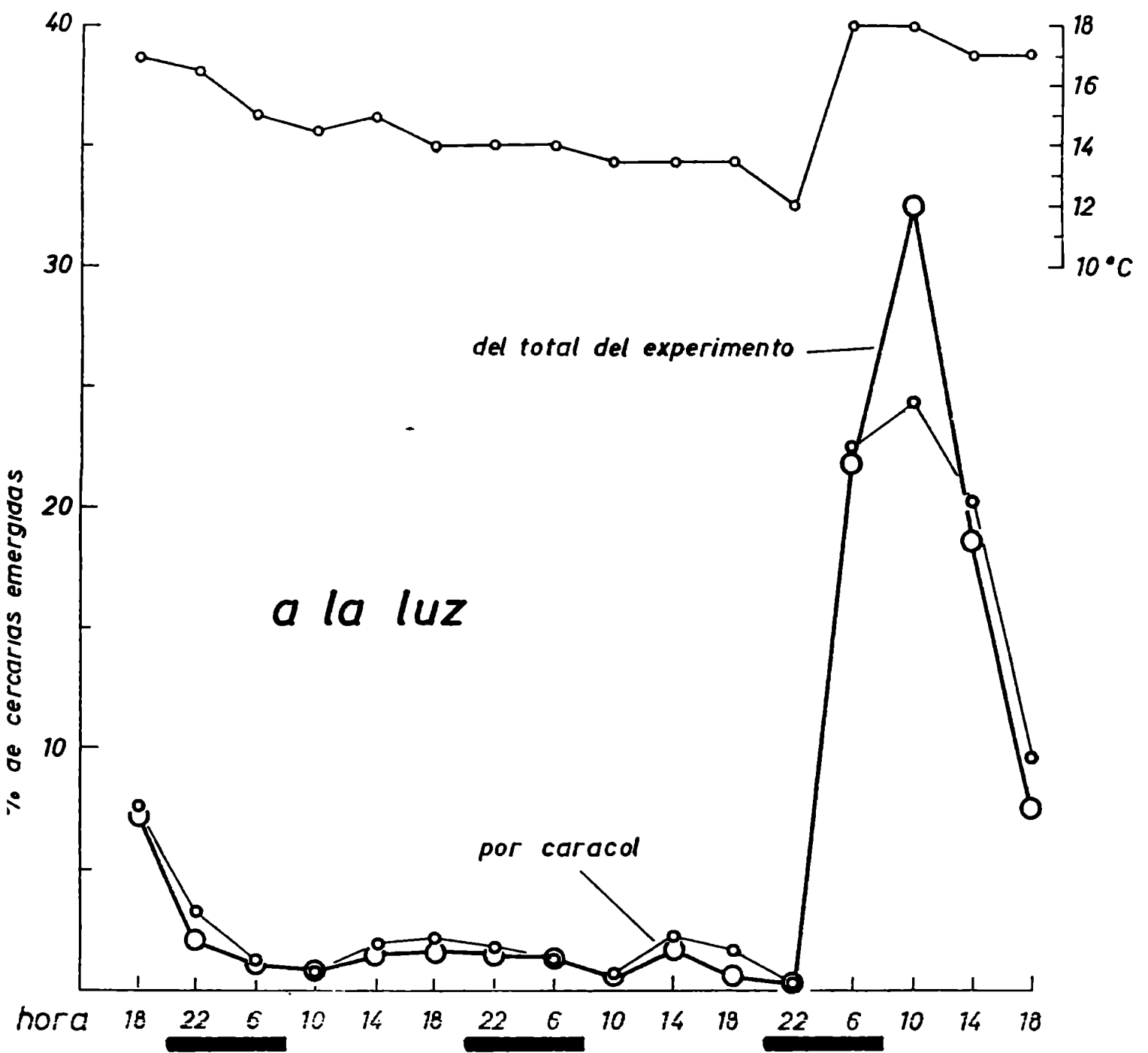


Fig. C porcentaje de cercarias emergidas a la luz en función de la temperatura.

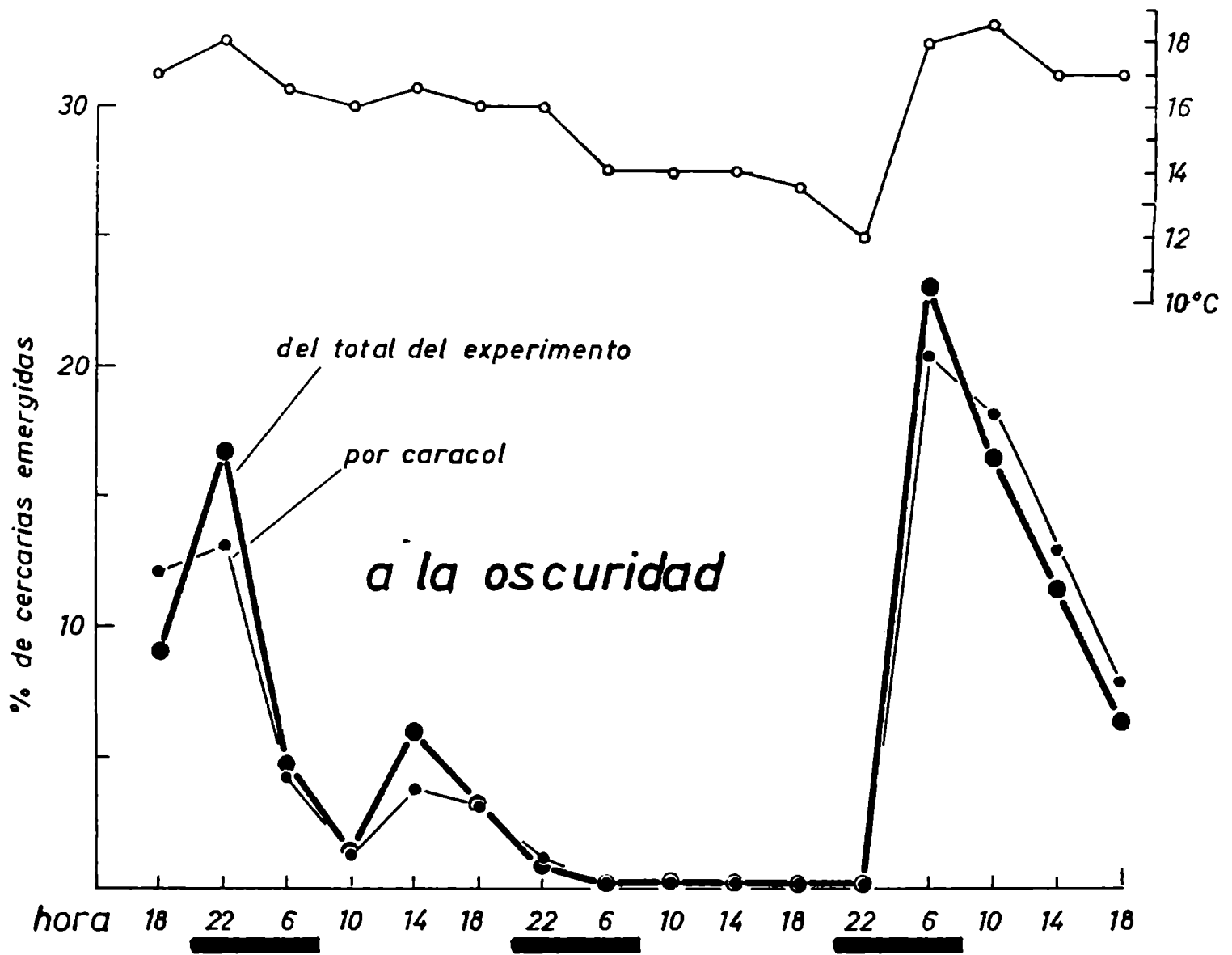


Fig. D porcentaje de cercarias emergidas a la oscuridad en función de la temperatura.

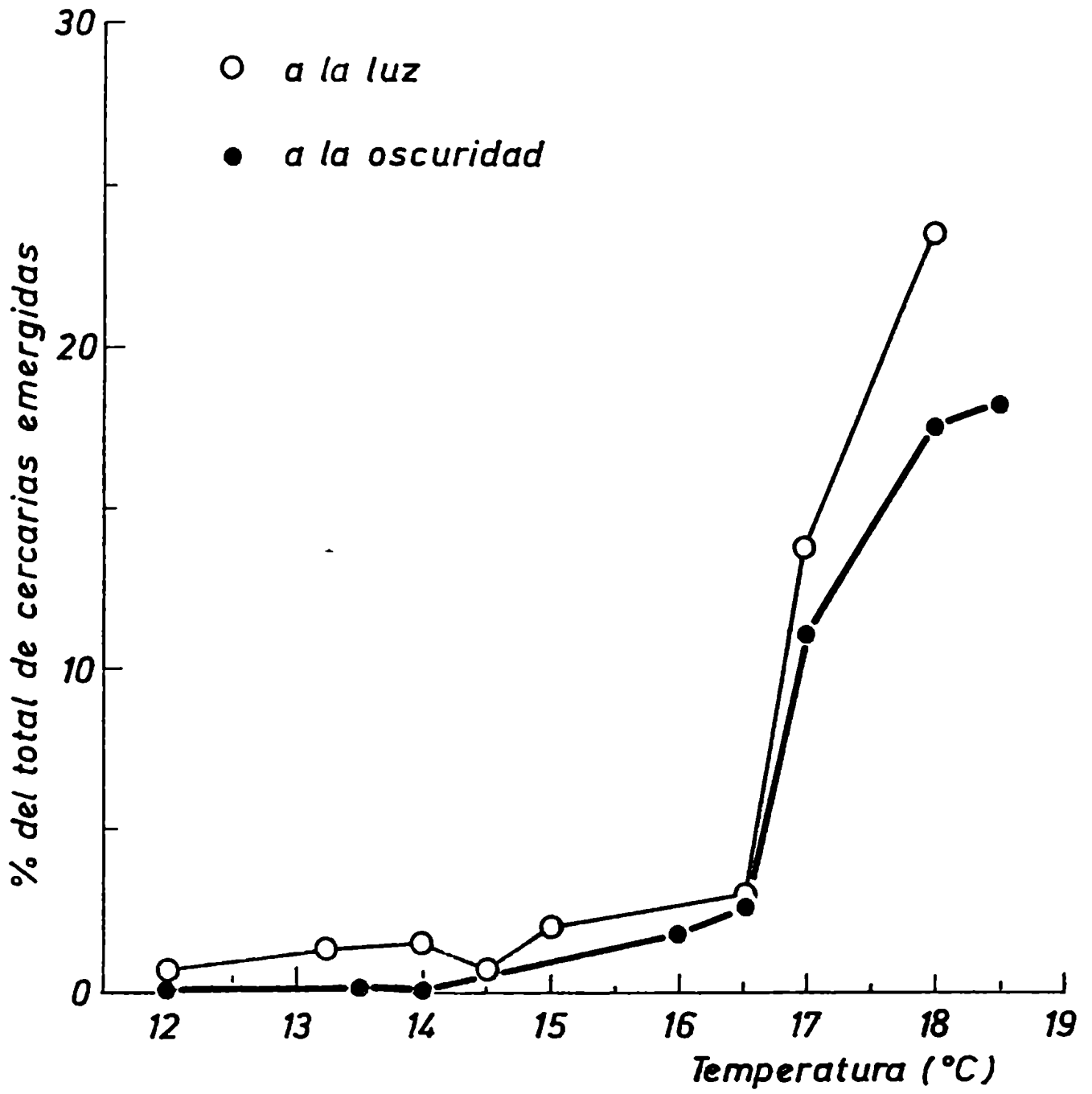


Fig. E porcentaje del total de cercarias emergidas en función de la temperatura.

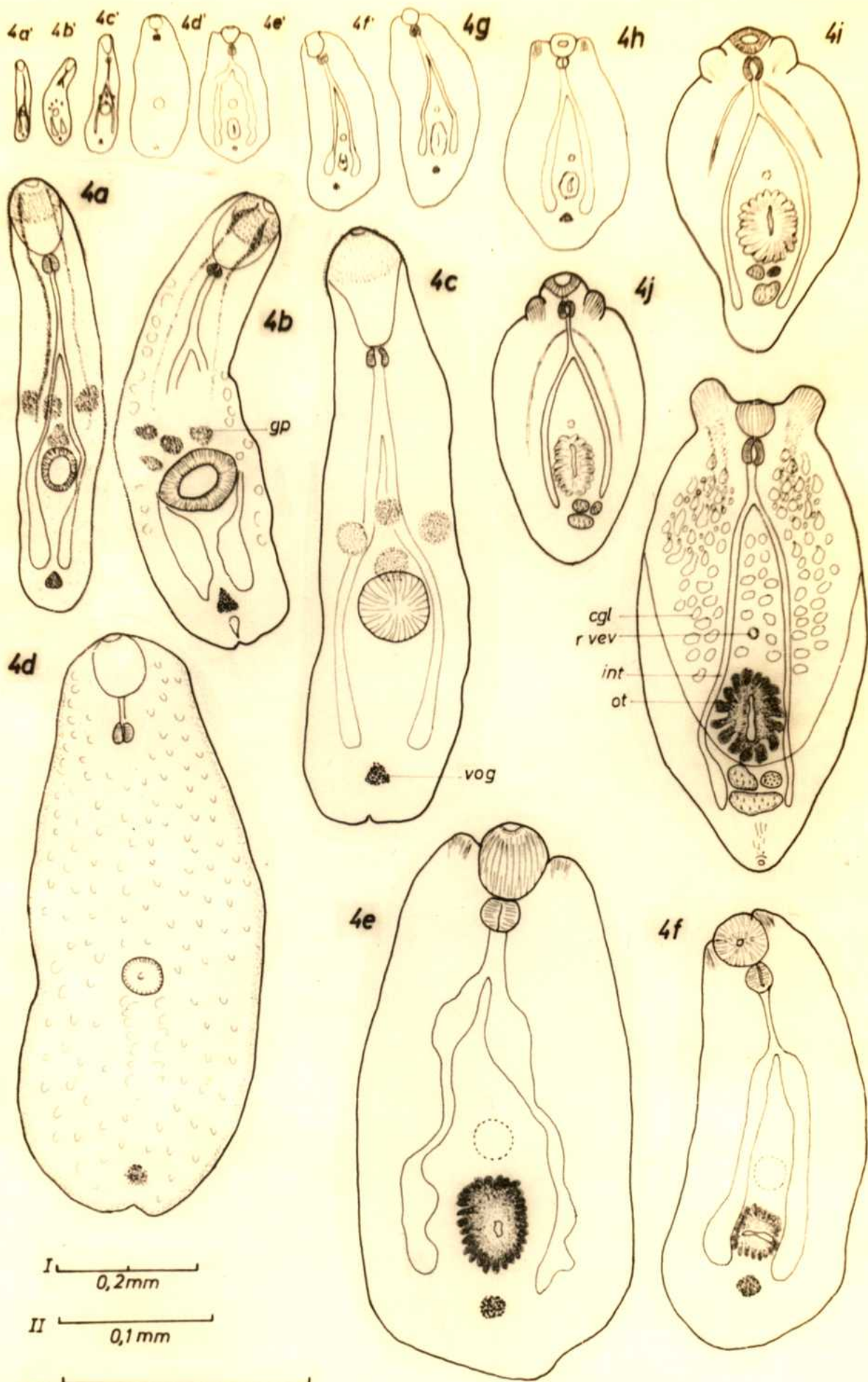
3. El umbral de emergencia se halla entre 16 y 17°C, en el que se observa varias veces mayor emergencia de cercarias.
4. Mantenidos a temperatura baja de 14-15°C la emergencia es baja pero las cercarias continúan su maduración en el caracol para emerger en masa al ascender la temperatura por encima del umbral. Se observaría así que la emergencia más brusca a la luz que a la oscuridad solo se debe al programa térmico.
5. La emergencia parece ser estimulada intensamente en forma transitoria (diferencial) por el incremento térmico, para luego bajar a un valor de adaptación menor. La latencia de la respuesta de emergencia es de varias horas.

55. Metacercaria.

La joven metacercaria (Fig. a, a') de reciente penetración, conserva aún muchos de los rasgos de la cercaria. El tamaño y forma del cuerpo es similar al de la cercaria. La cutícula y el órgano cefálico están provistos de espinas; se observan las glándulas de penetración y sus conductos, aunque sus límites no son muy netos. El tracto digestivo, la ventosa ventral y los esbozos genitales, no sufrieron modificaciones. El sistema excretor es similar al de la cercaria, salvo la prolongación ciega en la comisura preacetabular, que se observa mas claramente. En vivo se notó en el extremo anterior una serie de papilas (¿sensitivas?) también presentes en la cercaria.

En los estados sucesivos (Fig. b', c') hasta aproximadamente 10 días de edad, se nota un aumento de tamaño, desaparición paulatina de conductos y glándulas de penetración. Aparecen células grandes, transparentes, con un núcleo grande, conocidas como "Riesenzellen" (= células gigantes) (Sizdat 1924), características de muchas especies de *Strigoidae* y *Diplostomatidae* en esta etapa de su metamorfosis.

En un estado posterior (Fig. d, d') ya no se observan los ciegos intestinales y la ventosa ventral comienza a desaparecer. Si los ciegos intesti-



Explicación de las figuras

Fig. 4 a' - f', a-j	estadios de desarrollo de la metacercaria
4 k	metacercaria madura
Fig. 4 a' - f', g-k	escala I
Fig. 4 f	escala II
Fig. 4 e	escala III
Fig. a-d	escala IV

nales desaparecen por completo o si no se perciben por estar ocultas por las células gigantes, no pudo ser establecido con seguridad; en este estado intermedio (d) no se aprecian ni en preparados totales ni en vivo. El grado de desaparición de la ventosa ventral es variable, se pueden ver ejemplares sin ciegos intestinales con ventosa ventral relativamente mas pequeña que en otros, que ya muestran pseudoventosas.

Respecto al sistema excretor, se desarrollan los canales laterales hacia el extremo anterior; la prolongación ciega, que arranca de la comisura preacetabular, es más larga; existe también una prolongación ciega hacia el extremo posterior.

Los estados posteriores (e, f, e', j', g, h) se caracterizan por el gradual aumento de tamaño, aparición y desarrollo de las pseudoventosas y órgano tribocítico. Los ciegos intestinales se observan nuevamente llenos de contenido granulado. La ventosa ventral sigue en su proceso de reducción. A partir de este momento se nota un mayor desarrollo de los órganos genitales (i, j, k), un testículo anterior más pequeño, a su lado el ovario y un testículo posterior mayor.

En el estado k, la larva está madura y lista para infestar. Presenta ahora gran cantidad de células glandulares repartidas por todo el ancho del cuerpo en la zona anterior al órgano tribocítico. Los conductos finos que se observan llegar a pseudoventosas probablemente se originan en estas glándulas. En vivo se aprecian pequeñas papilas (¿sensitivas?), con una cerda corta, en varios lugares de la cutícula, tanto en los estadios jóvenes como en el maduro. Los estadios representados en las figuras 4a-k provienen de infestación natural en pejerreyes; los estadios obtenidos experimentalmente concuerdan en su morfología con los representados, pudiendo atribuirse una edad de aproximadamente 10 días a los estadios c-d, 20 días a g-h, 40-45 días a i-j y 8-10 semanas hasta alcanzar el estadio k. Estas metacercarias experimentales se obtuvieron en septiembre a diciembre de peces mantenidos en acuarios en el laboratorio, a temperatura ambiente, y se observó que metacercarias de la misma edad, obtenidas del mis-

mo pez, diferían en tamaño y estado de desarrollo. Posiblemente la maduración de la metacercaria hasta el estadio k puede realizarse también más rápido, como indicarían metacercarias que comenzaban el desarrollo de las glándulas unicelulares, obtenidas 4 semanas después de la infestación. En este caso, el pez se encontraba en un acuario al aire libre, durante el mes de febrero.

El sistema excretor desarrollado en la metacercaria madura comprende el sistema protonefridial, compuesto por las células flamígeras y sus correspondientes túbulos, y el plexo paranefridial, compuesto por canales principales y ramificaciones pequeñas, en cuyos extremos se encuentran un concremento oval.

El sistema protonefridial es difícil de observar por el grosor de la larva. La cantidad de células flamígeras ha aumentado considerablemente respecto de la cercaria, pero no pudo determinarse su número exacto, probablemente mayor que el número contado de 37 pares de protonefridios.

El plexo paranefridial comenzó a desarrollarse a partir de la prolongación ciega preacetabular de la cercaria que, como canal medial anterior (cma), se prolongó primeramente hacia el extremo anterior hasta el nivel de la faringe, allí se une con los 2 canales laterales (c.l.) que se formaron naciendo de los canales principales primarios (cpp) que llevan a la vesícula excretora, ya existentes en la cercaria. De los canales laterales sale una rama, que se dirige hacia el extremo posterior, los canales laterales posteriores (clp). Además existe un canal medial posterior (cmp), opuesto al canal medial anterior.

Todos estos canales nuevos, que forman el plexo paranefridial, presentan gran cantidad de ramificaciones pequeñas, en cuyo extremo se encuentra un concremento ovalado, de 13-19 μ , probablemente de naturaleza calcárea, como se cita para otros representantes del género.

Las metacercarias se localizan en el diencefalo, mesencefalo y metencefalo y rara vez en la médula. En los peces muy infestados, las larvas se alojan debajo de la piamadre y se observan sus movimientos al abrir el crá-

neo y descubrir el cerebro.

5.1. Vinculación sistemática dentro de la familia Diplostomatidae sobre la base de la morfología del plexo paranefridial.

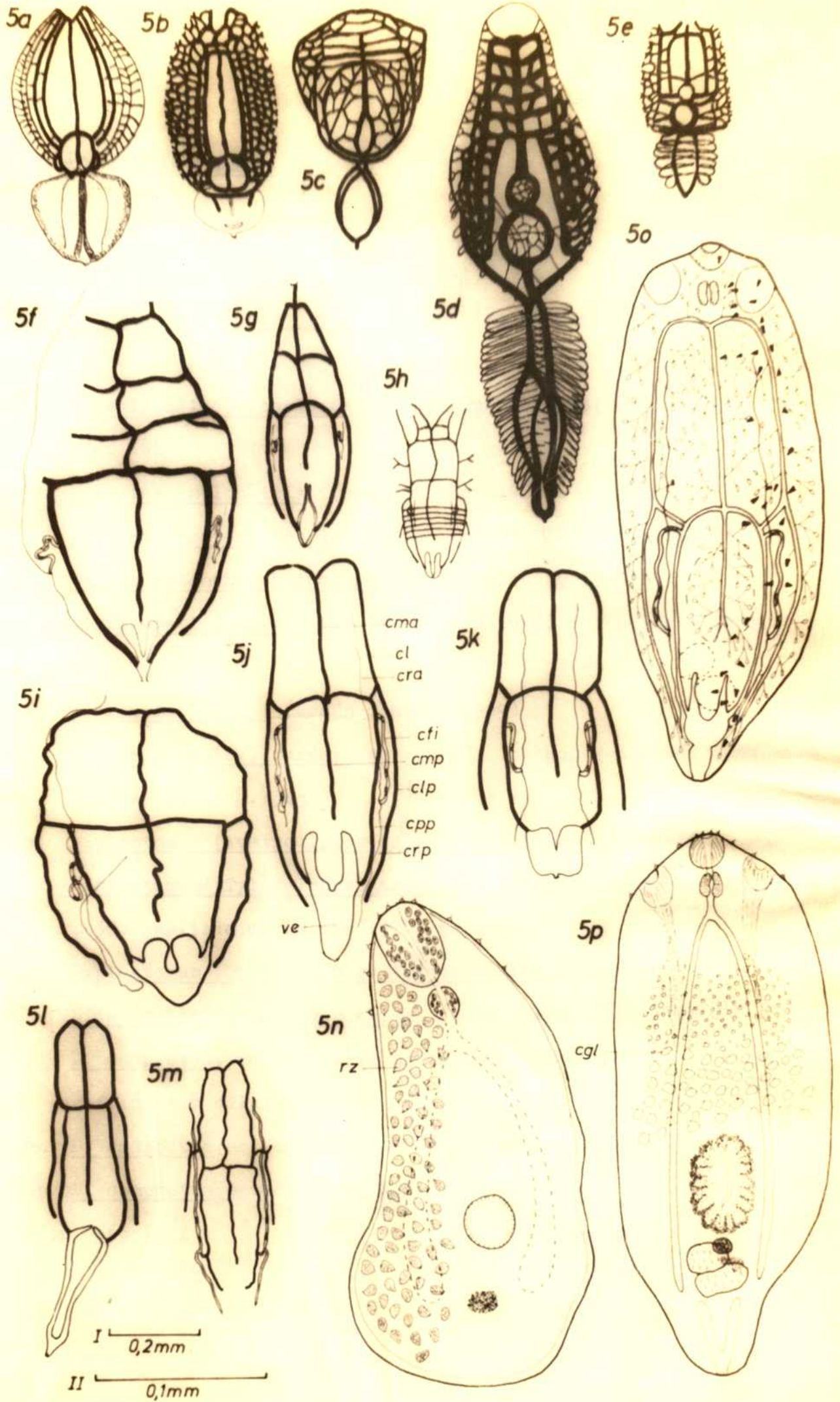
El estudio del sistema paranefridial ofrece importantes contribuciones para la sistemática específica y genérica. Si analizamos los plexos paranefridiales descritos de las especies pertenecientes a algunos géneros y subgéneros de la familia *Diplostomatidae*, en la misma forma como lo realizamos para las cercarias, resultan grupos claramente diferenciables:

Los géneros Posthodiplostomum, Ornithodiplostomum, Crassiphiala y Uvulifer, que coinciden con el grupo de cercarias "rhabdocaecas", tienen un plexo paranefridial parecido; Posthodiplostomum y Ornithodiplostomum con varios canales paralelos con muchas comisuras transversales y un canal anular alrededor del órgano tribocítico en el cuerpo anterior, menor número de canales anchos en el cuerpo posterior. Concrementos granulados pequeños (hasta aprox. 10 μ). Las diferencias específicas son determinadas por el número de canales paralelos, comisuras transversales, forma de presentación de los canales en el cuerpo posterior, etc.

En base a este esquema, se justifica plenamente la creación del género Posthodiplostomoides para P. leonensis M.O. Williams 1969, que mas bien se parece al tipo de Uvulifer y Crassiphiala. Su cercaria aún no se conoce.

Uvulifer presenta además muchas comisuras transversales en forma de anillo en el cuerpo posterior que faltan en Crassiphiala, pero ambas presentan otras comisuras alrededor del órgano tribocítico.

En los géneros Neodiplostomum y Fibricola el plexo paranefridial está constituido por pocos canales (uno medial anterior, 2 laterales, 1 medial posterior) con comisuras transversales (una en Neodiplostomum, 2 en Fibricola); los canales presentan ramificaciones con concretos grandes (hasta aprox. 20 μ) en su porción terminal ciega. La similitud de las cerca-



Explicación de las figuras

Flexo paranefridial de la metacercaria de:

- Fig. 5a Posthodiplostomum nanum (original)
- 5b Ornithodiplostomum ptychocheilus (según Hughes y Piszczek 1928, de Skrjabin, 1971, pág 194)
- 5c Crassiphiala bulboglossa (según Hughes 1928, de Srjabin 1971, pág. 191)
- 5d Uvulifer ambloplitis (según Hughes 1927)
- 5e Posthodiplostomoides leonensis (según Williams 1969)
- 5f Neodiplostomum sphathoides (según Odening 1965)
- 5g Fibricola intermedia según Pearson 1959, de Skrjabin 1971, pag. 264
- 5h Alaria marcianae (según Johnson 1969)
- 5i Diplostomum (D.) murrayense (según Johnson y Simpson 1939, de Dubois 1970 pag. 343)
- 5j Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum (original)
- 5k Diplostomum (Tylodelphys) excavatum excavatum (según Komiya 1938, ampliado de Dubois 1970, pag. 384)
- 5l Diplostomum (Dolichorchis) tregenna (según Khalil 1963)
- 5m Didelphodiplostomum variabile (según Harris et al 1967)
- 5o D. compactum, metacercaria experimental de 2 meses, plexo paranefridial y células flamígeras
- 5n D. compactum metacercaria experimental de 10 días
- 5p D. compactum metacercaria experimental, de 2 meses de edad

Fig. 5o,p escala I

Fig. 5n escala II

rias sugiere un mayor parentesco de estos 2 géneros que el considerado en la clasificación sistemática actual (Pearson 1956, 1961; Odening 1965) y el análisis del sistema paranefridial de la metacercaria agrega un argumento más en favor de este punto de vista.

El sistema paranefridial en Hysteromorpha triloba no fue estudiado en detalle.

En el género Diplostomum el desarrollo del plexo paranefridial es similar en los subgéneros Diplostomum, Dolichorchis, Austrodiplostomum y Tylodelphys, y muy parecido a los géneros Neodiplostomum y Fibricola, de los cuales se diferencian por no presentar comisuras transversales.

La diferencia entre los subgéneros Diplostomum, Austrodiplostomum y Tylodelphys solo está dada en el origen y recorrido del canal que lleva las flamígeras intercalares. En el subgénero Dolichorchis solo se describió el plexo paranefridial en D.(D) tregenna, que básicamente es similar al de los otros subgéneros.

A la discusión sobre la posición sistemática de Didelphodiplostomum variable (ver pag. 20) puede agregarse respecto del plexo paranefridial que, siendo básicamente similar, difiere en el recorrido de los canales en comparación con el género Diplostomum, otro argumento para no ser incluido en él. Por el otro lado, la diferencia del plexo paranefridial comparado con el de otro género de la subfamilia Alarriinae, p. ej. Alaria, es mucho mayor, presentándose también aquí una situación similar al problema Neodiplostomum-Fibricola.

El análisis de comparación de la estructura del plexo paranefridial se basa sobre las escasas descripciones detalladas que existen de este sistema en la familia Diplostomatidae y debe aguardarse a ver si la situación de otras especies en los géneros considerados confirman las observaciones.

5.2. Estudios referentes a los efectos producidos por la metacercaria en el hospedador.

D. compactum fue hallado en infestación natural en Basilichthys microlepidotus Girard, Austroatherina smitti Lahille, Basilichthys bonariensis, Jenynsia lineata, Percichthys trucha y Salmo gairdneri. Szidat y Mani (1951) llaman la atención sobre el hecho que en el mismo biotopo otros peces, como Galaxias maculatus y Cnesterodon decemmaculatus no contenían larvas. Debido a las dificultades de mantener pejerreyes en cautividad, todos nuestros estudios referentes al ciclo de desarrollo de D. compactum fueron realizados con Cnesterodon decemmaculatus y Phalloceros caudimaculatus, dos peces comunes en los cursos de agua del Plata y fáciles de mantener en cautividad, que fueron criados en su mayoría en el laboratorio. Con una serie de experimentos preliminares se procuró observar detalles del proceso de penetración de las cercarias y su posible migración hacia el cerebro, donde se alojan finalmente, y determinar además los efectos de la infestación en el comportamiento del hospedador así como posibles deformaciones provocadas por el ataque del parásito.

5.2.1. Serie experimental.

1. Peces de 1-4 cm de longitud colocados en un acuario de 250 ml de agua con abundantes cercarias (1000 y más) se muestran nerviosos, efectúan rápidos y bruscos movimientos durante la natación y mueren frecuentemente en el curso de pocas horas. Se comprueba la penetración de las cercarias (10-30 por pez) por aplastamiento del pez y hallazgo de los cuerpos de las cercarias recién penetradas. En el fondo del acuario pueden hallarse aisladas las colas de las cercarias, que aún realizan movimientos de natación.

En Phalloceros caudimaculatus se observan también frecuentemente rastros sanguinolentos correspondientes a las lesiones provocadas por la penetración de las cercarias. Estos rastros se hallan en diversas partes del cuerpo, lo que parecería indicar que no hay un lugar de preferencia de penetración.

2. 13 Cnesterodon decemmaculatus infestados en conjunto con un número me-

nor, pero indeterminado, de cercarias en un acuario de 4 litros: 3 murieron entre 1 y 2 días después de la infestación y contenían numerosos cuerpos de cercarias en diversos lugares del cuerpo; 1 mostró natación anormal y pérdida de equilibrio y al ser revisado después de 7 días contenía una larva en el cerebro; 6 murieron en diversas fechas (entre 2 meses y 3 meses y 16 días) y no contenían larvas en el cerebro ni en el cuerpo; 3 mostraron un comportamiento característico: se mantenían por lo general inmóviles en el fondo del acuario apoyados sobre un lado, y al ser molestados nadaban en forma anormal, a veces también de lado, y luego se dejaban caer nuevamente al fondo del acuario. Se alimentaban de los restos de alimento que caían al fondo del acuario, cerca de su boca y para comer realizaban movimientos de natación sin coordinación. Uno de estos 3 peces fue revisado y contenía 12 larvas en el cerebro 10 días después de la infestación, el segundo no contenía larvas a los 10 días y el tercero tampoco contenía larvas 2 meses después de la infestación. Este último pez mostró torcimiento de la columna vertebral con sentido dorso-ventral; pero sin embargo con el tiempo comenzó a recuperarse, nadando en forma casi normal hacia la superficie, si bien mantenía la deformación del cuerpo y sus movimientos eran evidentemente más lentos que un pez normal.

13 Phalloceros caudimaculatus fueron infestados con un número indeterminado pero reducido de cercarias: 7 revisados entre 2-90 días fueron positivos, y 6 revisados entre 90 días y 8 meses fueron negativos. Uno de estos últimos también mostró columna vertebral torcida, después de la infestación.

3. Por último se realizó un ensayo en el cual 5 Phalloceros caudimaculatus fueron expuestos individualmente a 20 cercarias cada uno en aproximadamente 30 ml de agua, con repetición de la infestación a los 7 días. Otro grupo de 5 peces sin infestación sirvió de testigo. Durante 3 meses los animales fueron pesados a intervalos de 2-3 semanas y se observaron cuidadosamente todos los cambios de su comportamiento

o alteraciones anatómicas. Dos de los infestados mostraron también deformación de la columna vertebral.

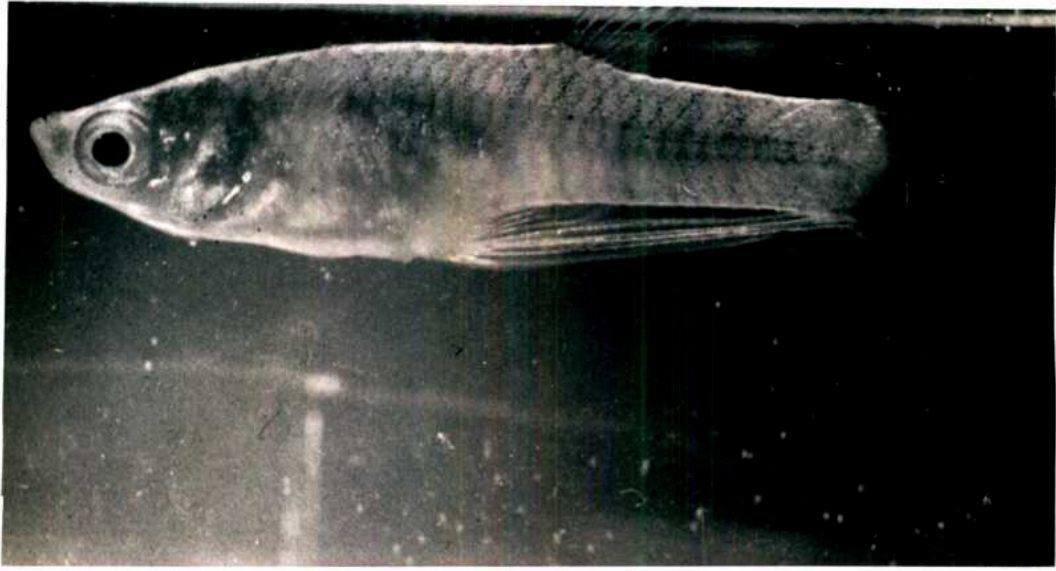
Estos 2 peces anormales murieron a los 4 meses y 4 1/2 meses y no contenían larvas en el cerebro. Los 3 peces restantes siguieron vivos sin alteraciones anatómicas hasta 6 meses después de la infestación, y tampoco contenían larvas en el cerebro. La natación, posición en el agua y captura del alimento fueron aparentemente normales en los peces deformados. Los 5 peces testigos permanecieron sin alteraciones anatómicas. La variación en el peso tanto en los 5 peces infestados como en los 5 no infestados fue grande, y no puede concluirse que la infestación provoque una disminución significativa de peso. El experimento debería repetirse luego de un estudio previo sobre animales normales para establecer cuidadosamente los factores que inciden sobre la variación diaria de peso entre otros posibles ritmos de ingestión.

En resumen se concluye que:

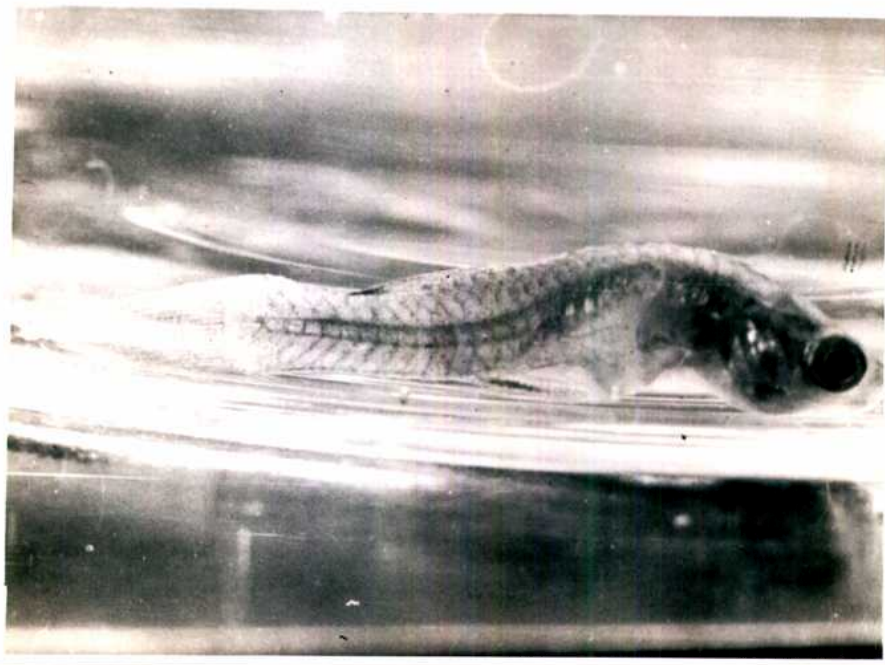
- a) hay evidencia experimental de penetración de cercarias en diversas partes del cuerpo demostrada por los rastros de lesiones y el hallazgo dentro del pez de los cuerpos de las cercarias penetradas.
- b) las cercarias se desarrollan sólo en el cerebro a donde llegan luego de aprox. 11 horas, y sobreviven como metacercarias 10 días en Cnesterodon decemmaculatus y hasta 3 meses en Phalloceros caudimaculatus, después de la infestación.

No puede asegurarse por qué ruta migran, pero sí, que no se encuentran en otras partes del cuerpo a las 72 horas de la penetración.

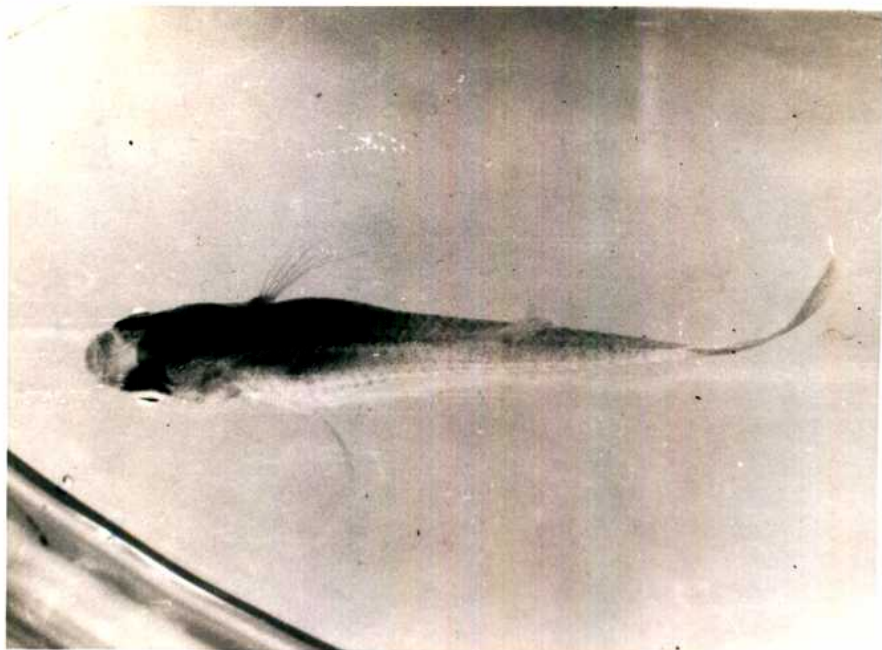
- c) en comparación con peces testigos mantenidos en acuarios en las mismas condiciones, los infestados muestran frecuentemente diversas anomalías como dificultades de natación, pérdida de equilibrio e incapacidad para realizar movimientos coordinados, quietud e imposibilidad de tomar alimento en suspensión en el agua, tomando sólo con el alimento que hallan cerca en el fondo del acuario; asimetría de posición al nadar y al posarse en el fondo del acuario, y finalmente deformación de la columna



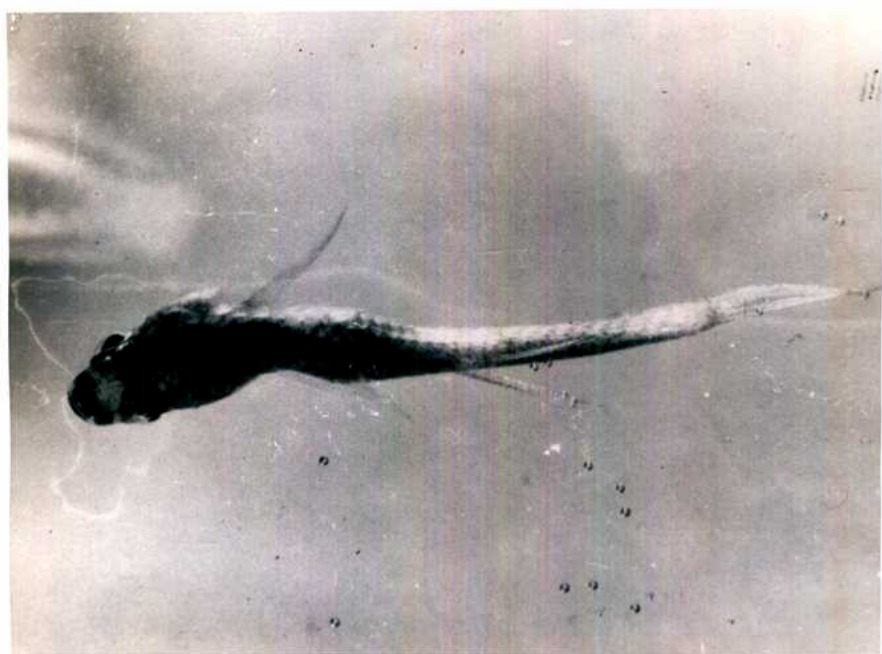
pez normal



pez infestado deformado



pez normal



pez infestado deformado

vertebral (kypholordosis), similar a la que ha sido citada por diversos autores en relación con lesiones parasitarias.

d) en infestaciones masivas hay 100 % de mortalidad en pocas horas.

e) los peces lesionados aparentemente podrían recuperarse en parte retornando a una actividad casi normal. Las cercarias penetradas y/o las metacercarias que se habrían desarrollado en el cerebro aparentemente no perdurarían indefinidamente, como ha podido ser comprobado en peces lesionados en vías de recuperación, que revisados a los 2 meses o más no contenían parásitos en el cerebro.

De los resultados obtenidos en los diversos ensayos de infestación realizados parece evidente que: luego de un breve período después de la infestación (0-3 días) 82 % de los peces revisados contenían cercarias (hasta 30) en su cuerpo con diversa localización; posteriormente (hasta 3 meses) solo 42 % está parasitado, pero solo contienen metacercarias (hasta 28) en el cerebro. En la clase de 3-8 meses después de la infestación ninguno de los 6 individuos revisados contenía parásitos.

Conviene señalar que los ejemplares negativos de la clase de 3-8 meses mostraron rastros de penetración luego de la infestación y alteraciones morfológicas o de comportamiento con posterioridad, signo evidente del ataque por los parásitos. De esto se concluye que con el tiempo tanto las cercarias penetradas como las metacercarias alojadas en el cerebro son eliminados del pez en recuperación. La desaparición progresiva con el tiempo de los parásitos penetrados podría atribuirse a una deficiente adaptación a estos hospedadores experimentales, lo que parecería coincidir con las observaciones de Szidat y Mani (1951) en el ambiente natural y para Jenynsia lineata (+) experimentalmente. Cabe preguntar si la eliminación pro-

(+) Szidat y Mani (1951, p.375) atribuyeron la cercaria con la cual experimentaron en Jenynsia lineata erroneamente a Tyloodelphys destructor (ver pág. 1) Habiendo sido la cercaria de D. compactum , J. lineata figura entre los hospedadores naturales (ob. cit. p. 360).

Presencia de los parásitos también ocurre en el pejerrey, que es su hospedador en los diversos embalses de nuestro país.

Los pejerreyes del embalse Río Tercero revisados en los años 1968 (27.II. 9 ejemplares; 3.XII. 50 ejemplares) y 1972 (4.IV.44 ejemplares) eran todos ejemplares de aproximadamente 30 cm de longitud, de aspecto sano y bien nutrido. La infestación con D. compactum era del 100 %, y en mayor grado en el año 1968 (varios centenares por pez) y menor en el año 1972 (número máximo contado 256, la mayoría de los peces contenía no más de 100). Según los comentarios del jefe de la Estación de Piscicultura, señor A. Lercari, raramente solían aparecer pejerreyes con columna vertebral torcida, pero en el año 1972 la frecuencia era mayor que en años anteriores. Entre los 44 ejemplares pescados el 4.IV.72 se encontró un ejemplar torcido.

5.2.2. Discusión de los resultados.

El acto mismo de la penetración de la cercaria no llegó a observarse. En recipientes pequeños las cercarias nadaban alrededor del pez, sin prestarle mayor atención. Al tocarlo, no se prendían o se soltaban inmediatamente, probablemente como resultado de los movimientos bruscos del pez.

En varias especies de cercarias, la migración se realiza (según Davie 1936, Miller 1954, Hoffman y Hundley 1957 y Hoffman y Hoyme 1958) por los vasos del sistema circulatorio; según Erasmus (1959) Cercaria X Baylis migra por los tejidos conectivo y muscular, aunque también puede encontrarse en el sistema circulatorio. Johnson (1971) determina en experimentos luego de infestación masiva, fijación y posterior análisis histológico a intervalos regulares de tiempo, que la migración de Cotylurus erraticus al pericardio de la trucha se realiza en el curso de 8 horas por el sistema circulatorio como ruta más frecuente y por el tejido conectivo.

Los rastros sanguinolentos en la piel, las deficiencias en la natación y captura del alimento, y hasta muerte en infestaciones masivas, son efectos observados para diversas especies de la familia D i p l o s t o m a

t i d a e y S t r i g e i d a e ya por Szidat (1923, 1924, 1927), los autores arriba mencionados y otros. La muerte sería provocada finalmente por la destrucción de tejidos durante la penetración, pérdida de sangre por fuertes hemorragias internas, obstrucciones de vasos sanguíneos, etc. Se han mencionado diversos factores como posibles causantes de deformaciones de la columna vertebral en peces. Así por ejemplo, infestaciones con protozoos como Lentospora cerebralis, que ataca los cartílagos del oído (Hempel 1951); Glugea pseudotumefasciens, causante de hidropesía (Mann 1940, Pflugfelder 1952) e Ichthyosporidium, agente de la tuberculosis de peces. Reichenbach-Klienke (1954) relaciona las deformaciones observadas en Salmo irideus con la presencia masiva del A c a n t h o c e p h a l a Echinorhynchus truttae. Aquí las toxinas producidas por el parásito provocarían un desplazamiento del equilibrio encimático, típico para lesiones del tejido óseo. Deficiencias de vitaminas y hormonas entre otras causas, también podrían provocar alteraciones en el desarrollo normal de la columna vertebral.

Pflugfelder (1952) observa en peces infestados con Glugea pseudotumefasciens, y con la columna vertebral torcida, que la epífisis fue completamente destruida por el parásito. Estudia luego el efecto de la extirpación de la epífisis en peces recién nacidos, obteniendo, entre otros resultados, una deformación notable de la columna vertebral, que no se observa si quedan restos basales de la epífisis, y deficiente aumento de peso.

La deformación de la columna vertebral ocurrida en los 3 ejemplares de Phalloceros caudimaculatus debe ser atribuida a la presencia del parásito ya que se produjo después de la infestación con cercarias de D. compactum, y los peces eran absolutamente normales antes de la infestación. Nunca se observó que P. caudimaculatus y C. decemmaculatus mantenidos en iguales condiciones mostraran esta lesión.

Cuál es la lesión producida por el parásito que da origen a esta deformación, es un problema que debe ser estudiado con nuevos ensayos. Sobre

la base de los resultados obtenidos hasta el momento se presentan las siguientes alternativas:

- a) la deformación de la columna vertebral se produce directamente por lesión local de nervios o músculos.
- b) se produce indirectamente por dañar la epífisis u otros centros que intervienen en el desarrollo normal de músculos y huesos.
- c) la alteración del equilibrio puede producirse por lesión del laberinto.

En todos estos casos el efecto es inespecífico, sólo se produce por la presencia directa o penetración de la cercaria. Estos daños podrían incidir en la naturaleza en una mayor mortalidad de los alevinos y pejerreyes pequeños, mientras no producirían lesiones aparentes en los adultos. Así se explicaría el aspecto saño y normal de los pejerreyes capturados en el embalse del río Tercero.

Fuster de Plaza y Boschi (1957) atribuyen las desnutriciones y las deformaciones vertebrales halladas en los pejerreyes de diversos embalses de Córdoba, directamente a la presencia de los parásitos en el cerebro del pejerrey. La desnutrición sería una consecuencia de la reducción de la actividad del metabolismo individual por falta de capacidad de búsqueda de alimento, y no por carencia de alimento natural de los ambientes habitados. En el estudio de los citados autores, los pejerreyes con acentuadas deformaciones eran los más parasitados, infiriendo que las larvas de los trematodes son la causa de tales perturbaciones vertebrales.

Por el otro lado, Cabrera (1963), menciona el hallazgo de un pejerrey deformado sin parásitos en el cerebro. Dado que son muchas las causas que pueden producir anormalidades de desarrollo de la columna vertebral de peces, no puede darse contestación definitiva a la pregunta sobre el papel que juega la larva de D. mordax en estas lesiones. Si bien según nuestros ensayos en C. decemmaculatus y F. caudimaculatus podría ocurrir que los parásitos fueran eliminados por el hospedador luego de producida una lesión orgánica perdurable, existen por el otro lado los pejerreyes sanos

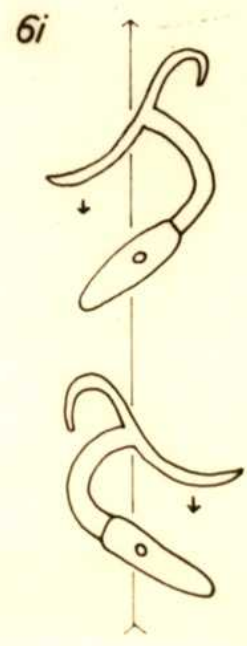
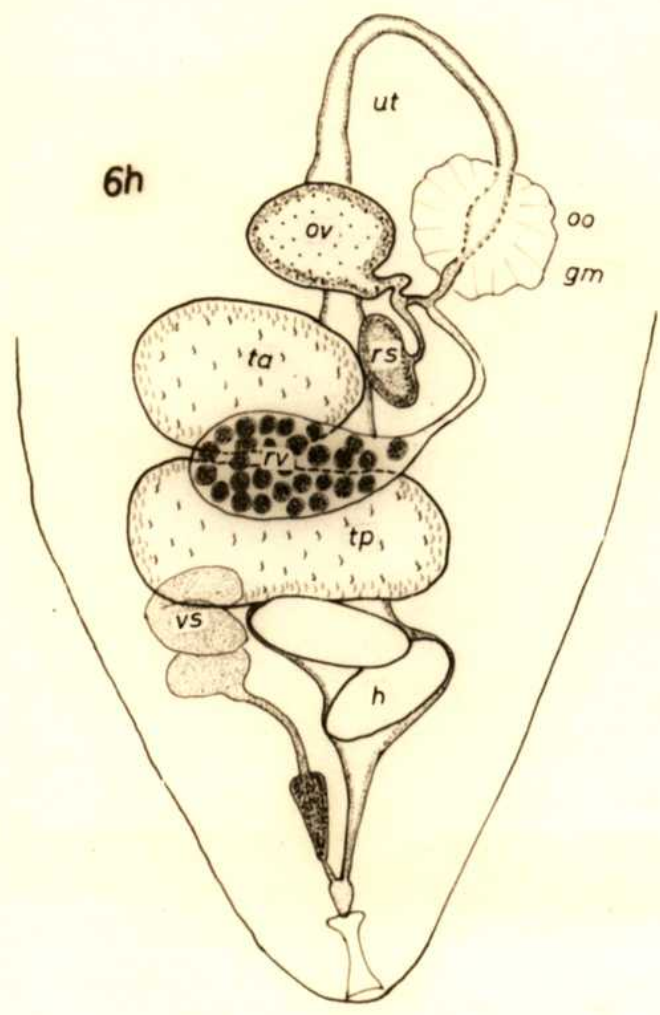
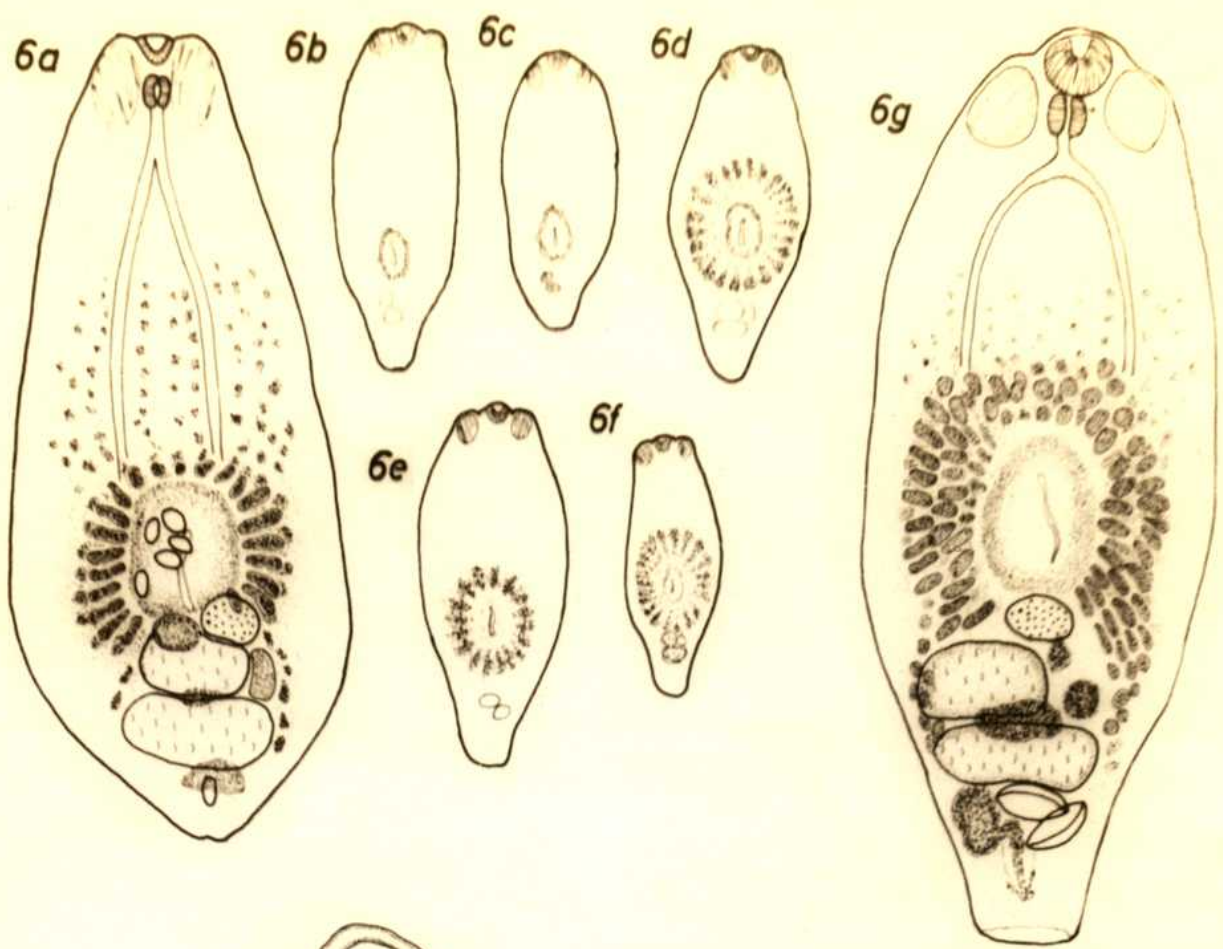
y normales, pero altamente infestados con las larvas de D. compactum. Debe ser tema de investigaciones futuras el establecer cuál es la lesión precisa que provoca las deformaciones vertebrales en peces parasitados con D. compactum, qué otros factores intervienen y qué diferencia hay con peces sanos y normales, igualmente parasitados.

Respecto de mis experimentos con peces infestados artificialmente es interesante observar que ambas alteraciones: deformación de la columna y pérdida de peso, también fueron observados por Pflugfelder (1952) en su ensayo de destrucción de epífisis. La explicación más simple es que una, pérdida de peso, resulta de la otra, alteración de la movilidad, que trae consecuentes deficiencias en la captura de alimento.

6. Adulto. (Fig. 6a, d-h)

La forma del cuerpo es oval alargada, con una parte posterior poco desarrollada, que luego de fijados los ejemplares, por la contracción, no se diferencia bien de la parte anterior. En estado vivo, la diferencia entre los segmentos anterior y posterior es más evidente. La cutícula está provista ventralmente de espinas finas y pequeñas papilas (¿sensitivas?). La ventosa oral es pequeña, le sigue inmediatamente la faringe, un poco mayor. El esófago es muy corto, se bifurca en 2 ciegos intestinales que alcanzan el nivel posttesticular. A cada lado de la ventosa oral se encuentra una pseudoventosa provista de muchas glándulas. Los ejemplares experimentales observados en el intestino recientemente abierto, se hallaban fuertemente adheridos por su extremo anterior a la pared intestinal, posiblemente por intermedio de las pseudoventosas que, según Smyth (1966) juegan un papel en la fijación a la pared intestinal en algunos *Strigida* e. Las pseudoventosas de Diplostomum phoxini segregan estearasas y parecen intervenir en una digestión extracorporea, como el órgano tribocítico.

No existe ventosa ventral, aun cuando a veces se puede observar en su lugar una serie de núcleos más coloreados anteriores respecto del órgano



I 0,5mm

II 0,2mm

Explicación de las figuras

- Fig. 6a D. compactum, adulto de Phalacrocorax b. brasilianus
6b metacercaria del pejerrey, infestación natural
6c metacercaria de Phalloceros decemaculatus, experimental
6d adulto de 44 horas de edad del pollo
6e,g adulto de 3 días del pollo
6f adulto de 14 días del pollo
6h esquema de órganos genitales
6l fases de movimientos de la cercaria (según Graefe y Burkert 1972)
- Fig. a-f escala I
Fig. 6g escala II

tribocítico, que ocupa el tercer cuarto del cuerpo. Su superficie está cubierta por finísimas espinas. El aparato genital ocupa el último cuarto del cuerpo, y está compuesto por el ovario, situado más o menos en la línea media, o corrido hacia la izquierda del cuerpo; le siguen los testículos, uno anterior más pequeño, de forma esferoidal u ovoidal y uno posterior de forma ligeramente arriñonada.

La glándula de Mehlis y el receptáculo seminal se encuentran a la izquierda del testículo anterior y se observan mejor en vivo que coloreado. La relación entre uno y otro órgano se ilustra en la figura 6h. No existe canal de Laurer. Posterior a los testículos se observa la vesícula seminal, grande, alargada. Su parte distal tiene paredes musculosas y constituye el canal eyaculador, que desemboca en un canal hermafrodita, corto, de forma triangular. La glándula vitelógena, pequeña, se encuentra entre los testículos; los folículos vitelinos más grandes se encuentran agrupados principalmente en forma de estrella alrededor del órgano tribocítico; otros pequeños se extienden posteriormente hasta el nivel del testículo posterior; anteriormente cubren el segundo cuarto del cuerpo. El útero forma un asa que puede llegar hasta el nivel anterior del órgano tribocítico, se dirige luego en línea más o menos recta hacia el extremo posterior y desemboca en el canal hermafrodita corto, triangular, que a su vez desemboca en el fondo de una bolsa copuladora pequeña. Los huevos fijados en el útero miden 87-98/40-52.

Los ejemplares adultos obtenidos en el biguá se encuentran en la última porción del intestino. Miden hasta 2,5 mm de largo, la medida dada por Szidat y Nani (1951) es de 1,4 mm pero sus ejemplares están contraídos; Dubois (1970) cita 1,8 mm. Los ejemplares obtenidos experimentalmente en el pollo como mucho más pequeños y su tamaño no varía mucho entre las 44 horas y 14 días después de la infestación.

Se realizaron también infestaciones repetidas en un benteveo (Pitangus sulfuratus bolivianus) con metacercarias de D. compactum de pejerreyes de proveniencia desconocida adquiridos en una pescadería. El benteveo murió 2

días después de la última infestación y sólo contenía D. compactum sin huevos, que no se diferencian en su aspecto y tamaño de los de la misma edad de los pollos.

6.1. Desarrollo en el hospedador final.

Si bien el adulto de D. compactum fue encontrado originalmente y luego repetidas veces en el biguá, Phalacrocorax b. brasiliensis, cabe preguntarse si el biguá es el hospedador específico y único para este parásito, o si existen otras aves ictiófagas, en las que el parásito se desarrolle favorablemente. El hecho que hace pensar en otros hospedadores es la pequeña cantidad de ejemplares que se han hallado hasta ahora: Szidat recolectó los parásitos de 6 biguaes entre 1948-1953 y encontró 6 D. compactum. Yo he autopsiado 4 biguaes en 1962 encontrando 4 ejemplares, y 5 biguaes en 1966 encontrando otros 4 ejemplares de D. compactum. Todas estas aves provenían del establecimiento de Obras Sanitarias de la Nación, Capital. Repetidas revisiones de pejerreyes capturados en los decantadores del mismo establecimiento, mostraron que solamente contenían la metacercaria de Tylodelphys destructor, salvo esporádicamente una de D. compactum. Con este bajo porcentaje de infestación en los pejerreyes se explicaba fácilmente la pequeña cantidad de adultos hallados. Muy asombrosa fue entonces la autopsia de 2 ejemplares de biguá capturados en el embalse del Río Tercero en diciembre de 1968 que, salvo un trematode dañado que podría interpretarse como la parte posterior de D. compactum, no contenían parásitos de esta especie, sino sólo Hysteromorpha triloba. La infestación de los pejerreyes en la misma fecha fue del 100 %, con centenares de ejemplares.

Investigaciones sistemáticas en forma extensa sobre la fauna parasitaria de aves ictiófagas en nuestro país, son escasas. Doero y col. (1968, 1972) estudian varias especies de aves, sin hallar D. compactum.

Para hallar otros hospedadores de D. compactum debería intensificarse la búsqueda en otras aves ictiófagas que frecuentan los embalses afectados.

La supervivencia de D. compactum en el hospedador final es otro problema no resuelto ya que no pudieron realizarse infestaciones en biguá, por fallar los intentos de captura. En los pollos infestados con 2-3 cerebros de los pejerreyes capturados en diciembre de 1968 (que contenían varios centenares de larvas por cerebro) se obtuvieron entre 41 y 760 ejemplares por pollo hasta 6 días después de la infestación, y 140 a los 14 días. En el segundo ciclo, abril 1972, la infestación en los pejerreyes era menor y por consiguiente el número de larvas administrado por pollo reducido (hasta 320). Se recogieron 4-13 ejemplares por pollo entre el 4º y el 9º día después de la infestación.

La diferencia de tamaño entre los ejemplares de 44 horas y de 14 días de edad es muy pequeña, y todos aun más pequeños que las metacercarias con que se hizo la infestación (Fig 6b). A pesar de esta reducción de tamaño produjeron huevos perfectamente viables. La diferencia de tamaño entre los adultos experimentales y los del biguá es de 1:3. La cantidad de huevos en los adultos experimentales es en general pequeña; se encuentran en su útero 1-12 huevos, en un caso se contaron 30. Los ejemplares descritos por Szidat y Nani (1951) contenían 25-30 huevos en el útero, mientras que nuestros ejemplares del biguá solo presentan hasta 11 huevos. Las diferencias con respecto al tamaño entre el material experimental y el del biguá, puede deberse a:

1. en hospedadores no específicos el desarrollo no es normal, afectando tamaño, forma y posición de las gonadas, etc. Estudios relativos a las diferencias de ejemplares criados en diversas especies de hospedadores han sido realizado por Ching (1961), Dönges (1967) Campbell(1972) y otros. Berrie (1961) obtiene adultos de Diplostomum phoxini en gaviotas de doble tamaño que en lauchas
2. el tiempo que permanece en el hospedador específico, dependiendo de factores como nutrición, hormonales y otros, para desencadenar el proceso fisiológico de la maduración.
3. La dieta del hospedador; a pesar de que no existen estudios en trema-

todes sobre la influencia de la dieta del hospedador sobre el parásito, hay estudios en cestodes que muestran tales influencias (von Brand 1972). Con respecto al número de huevos producidos, valen los mismos argumentos. Dönges (1964) recupera el 4,8 % de adultos de infestaciones con F. cuticola en diversas razas de pollos, que contenían solo 1-3 huevos en el útero y la materia fecal de los pollos una cantidad ínfima de huevos.

De una cantidad similar de quistes administrados al hospedador específico, resultaron adultos que llegaron a producir 500 huevos por gramo de materia fecal. Influye además probablemente el método de revisión; al autopsiar los intestinos inmediatamente después de la muerte, mientras los parásitos se encuentran vivos, éstos pierden muchos huevos durante el manipuleo, lo que no ocurre si se fija el intestino entero antes de la revisión.

En general, los trematodes de la familia Strigeidae y Diplostomatidae maduran en 3-9 días en su hospedador definitivo, gracias a que la metacercaria ya ha adquirido un alto grado de desarrollo, lo que no ocurre en muchos otros trematodes, por ejemplo de la familia Echinostomatidae.

La mayoría vive durante un período reducido, de 10-30 días (Dönges 1964, Odening y Borckert 1971) con un máximo de producción de huevos alrededor del 6-9 día, y luego mueren siendo eliminados o digeridos por el hospedador. Hay también especies del género Strigea y Apharigostrigea que viven 5-7 meses o más con producción de huevos (Odening 1965, 1967; Tscherner 1972).

7. Ecología del ciclo de desarrollo.

El ciclo biológico de D. compactum requiere 3 hospedadores obligatorios. El primer hospedador, Biomphalaria peregrina, tiene una distribución amplia en Sudamérica. Vive en aguas quietas sobre plantas acuáticas o también sobre piedras, como se la ha encontrado a orillas del embalse, Río Terce-ro. En los acuarios se la ha observado poner huevos desde la primavera

hasta el comienzo del otoño. Es un molusco típico de agua dulce. Szidat y Nani (1951) obtienen algunos ejemplares infestados con D. compactum (ver pag 1) en el lago Pellegrini. Resultado negativo tuvo la revisión de mas de mil ejemplares de B. peregrina en marzo 1968 en el embalse Rio Tercero, lo mismo en diciembre 1968 y abril 1972, si bien el número de caracoles revisados en las últimas oportunidades fue mucho menor, ya que eran muy escasos.

Como lo muestran los resultados en el desarrollo del huevo (pág. 11) éstos no se desarrollan uniformemente, a pesar que el medio circundante se mantenga a temperatura constante, pudiendo quedar detenido el desarrollo en una fase temprana, debido a factores anaeróbicos o endógenos desconocidos. A temperaturas mayores de 25°C los miracidios completan su desarrollo en 11-15 días (tiempo que podría reducirse si los huevos se encontraran a esta temperatura desde la postura, lo que no ocurrió en nuestros experimentos). A temperaturas mas bajas el desarrollo se retarda o queda detenido, para seguirlo si la temperatura sube nuevamente. Asimismo la presencia de una mayor o menor tensión de O₂ influiría en la rapidez del desarrollo. O sea, temperatura, O₂ y luz regularía, acelerando o inhibiendo el desarrollo y la eclosión de los miracidios, facilitando la infestación de un mayor número de hospedadores intermediarios. De esta manera los huevos puestos al final del verano pueden mantener su vitalidad durante los meses de frío y seguir su desarrollo con los ascensos de temperatura de primavera, época que coincide con el mayor desarrollo del molusco, su hospedador intermediario.

Esta aptitud de poder sobrevivir en un gran rango de temperatura o mantenerse vitales a temperaturas bajas, permite la supervivencia y desarrollo también a los huevos caídos en diversas profundidades del lago, en que reinan diferentes condiciones de temperatura, O₂ y luz.

Durante el ciclo experimental, el desarrollo de los esporoquistes en los moluscos no se realizó bajo control térmico, sino a las temperaturas oscilantes del ambiente. Según Dönges (1964) el desarrollo de los esporo-

quistes también depende de la temperatura y variaciones de solo 2°C (manteniendo el medio a temperatura constante) resultan en varios días de diferencia en la emergencia de cercarias. Temperaturas de más de 24°C resultan inhibitoras en el desarrollo de los esporoquistes de P. cuticola. Durante el desarrollo de los esporoquistes en enero-febrero 1968, las primeras cercarias se obtuvieron 50-60 días desde la postura de los huevos y en el de abril 1972 se obtuvieron cercarias entre fines de julio y agosto. La emergencia de las cercarias depende también de la temperatura, habiéndose establecido el umbral de emergencia a 16-17°C, debajo del cual el % emergido es muy bajo. El desarrollo puede seguir a temperatura mas bajas, acumulándose las cercarias para emerger cuando la temperatura supera un cierto umbral. Esta adaptación sería también de alto valor para la supervivencia de la especie.

El segundo hospedador lo constituyen peces de agua dulce (pág 39), en especial el pejerrey Basilichtys bonariensis. Este último puede vivir también en aguas salobres, como la laguna de Chascomús y otras de la provincia de Buenos Aires. Muchos de los lagos del interior del país fueron poblados con siembra de pejerreyes provenientes de la laguna de Chascomús que según Lahille (1929) tuvieron su origen en especies euryhalin s. En los lagos de embalse de Córdoba el pejerrey se encuentra altamente infestado (90-100 %) mientras que los pejerreyes de las aguas salobres de Chascomús presentan rara vez algunos ejemplares del parásito. Estos peces pueden haberse infestado en las zonas limítrofes con ríos y arroyos, donde también se encuentra B. peregrina.

El hospedador definitivo es el biguá y posiblemente otras aves ictiófagas, siendo el biguá el ave más frecuente.

En el ciclo biológico en la naturaleza de D. compactum llama la atención el bajo porcentaje de infestación del hospedador primario y definitivo y el alto porcentaje de infestación en el segundo hospedador. Es posible que los moluscos infestados produzcan cercarias por mucho tiempo (ya que en el primer ciclo experimental los caracoles infestados vivieron varios

meses), facilitando así la reinfestación de los 2^ohospedadores. Esto llevaría a una acumulación de metacercarias en el 2^ohospedador natural, si estos no son eliminados como ocurrió en los peces no específicos experimentales. Posiblemente los peces grandes, de 25-30 cm de longitud, altamente infestados, no constituyen la presa adecuada para el biguá (Bó 1956 revisa contenidos estomacales de 13 ejemplares de biguá y encuentra porañitos, mojarras y pejerreyes hasta 14 cm de longitud, pero también bagres hasta 25 cm de longitud), alimentándose preferentemente de pejerreyes jóvenes. Aunque no se dispone de datos sobre la infestación en peces jóvenes, puede suponerse que estarían menos infestados pero mas debilitados que los peces grandes, constituyendo una presa fácil para las aves. La acumulación de metacercarias en el hospedador secundario también contribuiría a la supervivencia de la especie, que permite, si se confirma la no eliminación de la metacercaria en el pejerrey, mantener el ciclo por largos períodos. Desequilibrio similar en la infestación de los diferentes hospedadores encontraron Odening et al(1970)para Cotylurus cucullus en Berlín.

En condiciones favorables, el ciclo se completa en aproximadamente 85 días (50-60 días hasta emergencia de cercarias, 4-6 semanas hasta maduración de la metacercaria y 3-4 días hasta maduración del adulto y producción de huevos).

Resumen y conclusiones.

Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum (Lutz 1928) Dubois 1970 presenta un ciclo típico del género Diplostomum con 3 hospedadores obligatorios. Si bien se conocían los estados de metacercaria y adulto, solo existían descripciones incompletas de la cercaria. No se conocían hasta ahora los demás estados larvales como miracidio y esporoquistes y pocos datos sobre la biología y ecología de la especie. Con la obtención experimental del ciclo completo de desarrollo en el laboratorio, se logró describir la morfología de los diversos estados larvales y realizar observaciones sobre las condiciones de desarrollo.

El huevo se desarrolla en forma similar que otros de la familia Diplostomatidae y dentro de las condiciones experimentales el tiempo mínimo hasta la formación del miracidio maduro es de 11-15 días a 25-29°C. El desarrollo de los embriones no es uniforme en huevos mantenidos en las mismas condiciones, observándose huevos que permanecen estacionarios luego de los primeros estadios de división durante tiempos prolongados, comenzando su desarrollo después de un estímulo exterior (ascenso de temperatura). Este retardo en el desarrollo de los huevos en la familia Diplostomatidae fue observado por varios autores.

El miracidio puede permanecer uno o varios días dentro de la cápsula ovífera antes de eclosionar. El estímulo desencadenante de la eclosión no pudo ser determinado para esta especie, pero se presume que calor y luz solar son importantes para eclosiones masivas, como para otras especies de miracidios. Antes de eclosionar, el miracidio efectúa movimientos vigorosos dentro de la cápsula ovífera, como ocurre en algunos miracidios. La morfología del miracidio en general es similar a la descrita para otras especies de Diplostomatidae, observándose detalles estructurales de menor importancia diferentes a otras especies. El miracidio muestra un fototaxismo marcado y tiene pocas horas de vida. Fenetra en caracoles Biomphalaria peregrina y se desarrolla en un esporoquiste madre, que da lugar a muchos esporoquistes hijos. Las dos generaciones de espo-

roquistes son morfológicamente distintas y no presentan caracteres llamativamente diferentes a las de otras especies.

Estos primeros estadios larvales, dada su similitud con los de otras especies de la familia *Diplostomidae*, no son por si suficientes para identificar a *D. compactum* y solo contribuyen al conocimiento general de la especie y su estudio ofrece interesantes aspectos para la ecología del desarrollo.

Las cercarias nacen de los esporoquistes hijos 50-60 días después de la postura del huevo. Las cercarias presentan 2 pares de glándulas de penetración anteriores a la ventosa ventral, 6 pares de protonefridios en el cuerpo, 2 pares de protonefridios y 3 pares de cuerpos caudales en el tronco caudal. Estos y otros caracteres las diferencian de otras especies del género *Diplostomum* y muestran mas parentesco con las del subgénero *Tylodelphys* y el género *Didelphodiplostomum* que con las del subgénero *Diplostomum*, lo que podría indicar un origen común o derivación de un subgénero del otro.

La emergencia de las cercarias depende de la temperatura. Se ha podido establecer un umbral de emergencia a 16-17°C, por debajo de esta temperatura las cercarias no emergen o en cantidad muy reducida. Las cercarias penetran en la naturaleza en el segundo hospedador, algunos peces de agua dulce, con mayor frecuencia en el pejerrey, *Basilichthys bonariensis*, desarrollándose a metacercaria en el cerebro luego de aproximadamente 4-8 semanas. Experimentalmente se infestaron *Phalloceros caudimaculatus* y *Cnesterodon decemmaculatus* y se produjeron lesiones por la penetración, visualizados por los rastros sanguinolentos en la piel, dificultades en la natación, pérdida de equilibrio, incapacidad para realizar movimientos coordinados, todos efectos observados también para otras especies de *Diplostomidae*. La penetración de las furcocercarias de *D. compactum* puede producir en algunos casos deformación de la columna vertebral, aun cuando no pudo determinarse definitivamente si ello resulta por lesión local de nervios o músculos o por dañar centros que intervie-

nen en el desarrollo normal de músculos y huesos, como la epífisis. En los peces experimentales, la metacercaria que se desarrolla en el cerebro es eliminada después de 2-3 meses, pero se supone que en su hospedador natural, el pejerrey, se mantiene mas tiempo. La morfología del plexo paranefridial de la metacercaria muestra la misma estructura básica que en los restantes subgéneros del género Diplostomum, que aparentemente solo difieren en el origen y recorrido del canal que lleva las flamígeras intercalares.

Las metacercarias pueden desarrollarse experimentalmente a su forma adulta en pollos domésticos, donde solo adquieren 1/3 del tamaño del adulto encontrado naturalmente en el biguá, Phalacrocorax brasilianus brasilianus. Los adultos experimentales producen huevos perfectamente viables. Habiendo encontrado hasta ahora pocos ejemplares de D. compactum en el biguá, aun en ejemplares provenientes de una zona donde los pejerreyes están altamente infestados, se sospecha que pueden existir otras aves ictiófagas que actúen como hospedador definitivo.

Sobre la base de los resultados obtenidos, pueden intensificarse los estudios sobre diversos aspectos aun no suficientemente aclarados de la fisiología y ecología del parásito y sobre los efectos producidos en su hospedador natural, el pejerrey, en las diversas edades, a fin de proteger uno de nuestros peces mas importantes para la economía pesquera.

Bibliografía.

- Archibald, H.G. y Marshal A. 1932.- A study of some cercarias obtained from molluscs in the Sudan. *Parasitology* 24:344-349.
- Arvy, L. 1954.- Distomatose cerebro rachidienne due a Diplostomulum phoxini (Faust) Hughes 1929, chez Phoxinus laevis A.G. *Ann. Parasit. hum. et comp.* 29:510-520.
- Bacigalupo, J. 1934.- Distomatosis por Fasciola hepatica, su ciclo evolutivo en la República Argentina. Imp. A. López, Buenos Aires, 216 pp.
- Bednarz, S. 1962.- The developmental cycle of germ-cells in Fasciola hepatica L. 1758 (Trematoda, Digenea). *Zool. Poloniae* 12 (4) 439-466.
- Bennet, H.J. 1936.- The life history of Cotylophoron cotylophoron, a trematode from ruminants. *Ill. Biol. Monogr.* 14:1-119.
- Berrie, A.D. 1960.- The influence of various definitive hosts on the development of Diplostomum phoxini (Strigeida, Trematoda). *J. Helminth.* 34:205-210.
- Bo, N.A. 1956.- Observaciones morfológicas y etológicas sobre el biguá. *El Hornero* 10(2):147-157.
- Boero, J.J. y J.E. Led 1968.- Los parásitos de las aves argentinas. *Rev. Fac. Vet. La Plata* 10 (22) IIIa época:97-129.
- Boero, J.J. y J.E. Led y E. Brandetti 1972.- Algunos parásitos de la avifauna argentina. *Analecta Veterinaria* 4 (1):17
- v. Brand, T. 1972.- *Parasitenphysiologie*. Gustav Fischer Verlag Stuttgart. 353pp.
- Cabrera, S. 1963.- Sobre un ejemplar deformado de pejerrey (Basilichtys bonariensis) encontrado en Punta Lara. *Neotropica* 9(28): 38-40.
- Campbell, R. 1972.- New experimental hosts for Posthodiplostomum minimum (Trematoda, Diplostomatidae) *J. Parasitol* 58(6):1051.

- Campbell, W.C. 1961.- Notes on the egg and miracidium of Fascioloides magna (Trematoda) Trans. Am. microsc. Soc. 80:308-319.
- Chaia, G. 1956.- Technica para concentracao de miracidios. Rev. Brasileira Malariol. e Doencas Trop. 8(2):355-358.
- Chen, P.D. 1937.- The cell cycle in the trematode Paragonimus kellicotti Ward. Trans. Am. microsc. Soc. 56:208-236.
- Ching, H.L. 1961.- The development and morphological variation of Philophthalmus gralli Mathis y Leger 1910 with a comparison of species of Philophthalmus Looss 1899 Proc. helminth. Soc. Wash 28:130-138.
- Cort, W.W. Ameel D.J. y van der Woude 1951.- Early developmental stages of strigeoid mother sporocysts. Proc. helm. Soc. Wash. 18:5-9.
- Cort, W.W. and Brooks S.T. 1928.- Studies on the holostome cercariae from Douglas Lake Michigan. Trans. Am. microsc. Soc. 47:179-221.
- Cort, W.W. y Olivier L. 1941.- Early developmental stages of strigeid trematodes in the first intermediate host. J. Parasitol. 27: 493-501.
- Davis, D.L. 1936.- Pathological studies on the penetration of the cercaria of the strigeid trematode Diplostomum flexicaudum. J. Parasitol. 22:329-337.
- Dawes, B. 1959.- Penetration of the liver-fluke, Fasciola hepatica, into the snail, Limnaea truncatula. Nature, Lond. 184:1334-1335.
- 1960.- Penetration of Fasciola gigantica Cobbold, 1856, into snail hosts. Nature, Lond. 185:51-53.
- Dönges, J. 1964.- Der Lebenszyklus von Posthodiplostomum cuticola (v. Nordmann 1832) Dubois 1936 (Trematoda, Diplostomatidae) Z.f. Parasitenkunde 24:169-248.
- 1967.- Der modifizierende Einfluss des Endwirtes auf die Entwicklung des Darmegels Isthmiophora melis (Schrank, 1788). I; II. Z.f. Parasitenkunde 29:1-14 (1967); 30:179-184 (1968)

- Dubois, G. 1961.- Le genre Diplostomum von Nordmann 1832 (Trematoda Strigeida) Bull. Soc. neuchatel Sci Nat. 84:113-124.
- 1964.- Du Status de quelques Strigeata La Rue, 1926 (Trematoda) ibid 87:27-71.
- 1970.- Synopsis des Strigeidae et des Diplostomatidae (Trematoda) Mem. Soc. Neuchatel Sci Nat. 10(2):259-727.
- Erasmus, D.A. 1959.- The migration of Cercaria X Baylis (Strigeida) within the fish intermediate host. Parasitology 49:173-190
- Fox, A.C. 1965.- The life cycle of Bolbophorus confusus (Krauss 1914) Dubois 1935 (Trematoda, Strigeidae) and the effects of the metacercaria on fish hosts. Ph.D. Dissertation Montana, State University, Bozeman.
- Fuster de Plaza y E. Boschi 1957.- Desnutrición y deformaciones vertebrales en pejerreyes de los embalses de Córdoba. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dep. Invest. pesqueras.1-26.
- Ganapati F.N. and K.H. Rao 1962.- Ecological and life-history studies on a strigeid metacercaria (Trematoda:Diplostomatidae) from freshwater fishes of Andhra Pradesh. Parasitology 52:519-525
- Grabiec, S.; A.Guttowa y W. Michajlow 1963.- Acta Parasitol Polon. 11: 229-238.
- Graefe, G. y D.G. Burkert, 1972.- Zur Lokomotionsmechanik von Diplostomatiden und Echinostomatiden-Cercarien (Trematoda). Zool. Anz. Leipzig 188 (5/6):366-369.
- Graefe, G., W. Hohorst and H. Dräger 1967.- Forked tail of the cercaria of Schistosoma mansoni - a rowing device. Nature 215:207-208.
- Gregoire, et col. 1956.- Nouvelle metode de diagnostic la distomatose. Ann. Med Vet. 100 (5):294.
- Haas, W. 1969.- Z. vergl. Physiol. 64:254-287.
- Harris, A.H. Harkema R. y G.C. Miller 1967.- Life history and taxonomy of Diplostomum variable (Chandler 1932) (Trematoda, Diplostomatidae). J. Parasitol. 53(3):577-583.

- Haempel, O. 1951.- Neue Untersuchungen über die Pockenkrankheit der Fische. Arch. Fischereiwiss. 3:55-64.
- Hoffman, G.L. y J.B. Hoyme 1958.- The experimental histopathology of the "tumor" on the brain of the stickleback caused by Diplostomum baeri eucaliae (Hoffman and Hundley, 1957)(Trematoda: Strigeidae) J. Parasitol. 44:374-378.
- Hoffman, G.L. y J.B. Hundley 1957.- The life cycle of Diplostomum baeri eucaliae n. subsp. (Trematoda, Strigeidae) J. Parasitol. 43:613-627.
- Hughes, R.C. 1927.- Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) No. IV. A new metacercaria Neascus ambloplitis sp. nov. representing a new larval group. Trans. Am. microsc. Soc. 46:248-267.
- 1929.- Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) No. X Neascus bulboglossa (van Haitsma) J. Parasit. 15:52-57.
- Hughes, R.C. y Piszczek, F.H. 1929.- Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) No. XI. Neascus ptychocheilus (Faust) J. Parasit. 15:58-63.
- Hunter, G.W. y W.S. Hunter 1934.- The life history of the black grub of bass, Grassiphiala ambloplitis (Hughes)(Abstr.) J. Parasit. 20:328.
- Hughes, E.J. 1954.- Life history of a strigeid trematode, Hysteromorpha triloba (Rudolphi 1819) Lutz 1931. I, II. Trans. Am. microsc. Soc. 73(1):1-15; 73(3):221-236.
- Hussey, K. 1941.- Comparative embryological development of the excretory system in digenetic trematodes. Trans. Am. microsc. Soc. 50(2):171-210.
- Ishii, Y. 1934.- Studies on the development of Fasciolopsis buski Part I. Development of the eggs outside the host. J. Med. Assoc. Formosa 33:1-30.

- Johnson A.D. 1968.- Life history of Alaria marcianae (La Rue, 1917) Walton 1949 (Trematoda, Diplostomatidae). J. Parasit. 54:324-332.
- Johnson, K.A. 1971.- The migration of Cotylurus erraticus cercariae (Trematoda, Strigeidae) in rainbow trout (Salmo gairdneri) and their effects on the host. J. Parasit. 57(2):244-251.
- Johnston, T.H. y E.R. Simpson 1939.- The diplostomulum stage of Cercaria murrayensis. Trans. Roy. Soc. S.A. 63(2):230-237.
- Khalil, L.F. 1963.- On Diplostomulum tregenna, the diplostomulum stage of Diplostomum tregenna Nazmi Gohar, 1932, with an experimental demonstration of part of the life cycle. J. Helminth 37(3):199-206.
- Komiya, Y. 1939.- Die Entwicklung des Exkretionssystems einiger Trematodenlarven aus Alster und Elbe, nebst Bemerkungen über ihren Entwicklungszyklus Z. Parasitenkunde 10:340-385.
- Kümmel, G. 1965.- Druckfiltration als ein Mechanismus der Stoffausscheidung bei Wirbellosen. Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle. Sekretion und Exkretion. 2. wiss. Konferenz der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte. 1964, :203-227.
- Lahille, F. 1929.- El pejerrey. Boletín Minist. Agric. Nec. 28(3):261-396
- Lee, H.F. 1962.- Life history of Heterobilharzia americana Price 1929, a schistosome of the raccoon and other mammals in southeastern United States. J. Parasitol. 48:728-739.
- Lutz, A. 1928.- Estudios de zoología y parasitología venezolanas. 133 pp. Rio de Janeiro.
- 1931.- Contribuicao ao conhecimento da ontogenia das Strigeida. I. Ontogenia de Hemistomum trilobum (Rudolphi 1819) Mem. Inst. Oswaldo Cruz 25:333-342.
- Lynch, J.E. 1934.- The miracidium of Heronimus chelydrae MacCallum Quart. J. micr. Sci N.S. 76:13-32.

- Mann, H. 1940.- Knochenweiche und Wirbelsäulverkrümmung bei Karpfen nach Erkrankung an ansteckender Bauchwassersucht. Zool. Anz. 131: 228-238.
- McMullen, D.B. y P.C. Beaver 1945.- Studies on schistosome dermatitis IX. Amer. J. Hyg. 42:128-155.
- Miller, H.M. 1924.- Studies on furcocercous cercariae. I. Cercaria douthitti Cort and Cercaria echinocauda O'Rooke. Trans. Am. microsc. Soc. 43:145-151.
- Miller, J.H. 1954.- Studies on the life history of Posthodiplostomum minimum (Mac Callum 1921) J. Parasit. 40:255-270.
- Nasir, P. 1960.- Trematode parasites of snails from Edgbaston Pool: the life history of the strigeid Cotylurus brevis Dubois and Rausch, 1950 Parasitology 50:551-575.
- Nasir, P. y J.V. Scorza 1966.- Studies on freshwater larval trematodes. Part XIV. A new species of strigeid cercarias, Cercaria al-lotropicalis, from Venezuela with a key to related species. Proc. helm. Soc. Wash. 33:87-90.
- Neuhaus, W. 1953.- Die Schwimmbewegungen der Cercarie von Trichobilharzia szidati. Zool. Jb. Physiol. 64:323-331.
- Niewadomska, K. 1960.- On two cercariae of the genus Tylodelphys Dies., T. excavata Rud. and T. clavata (Nord.)(Diplostomatidae). Acta parasit. Polon. 8(28):427-437.
- 1963.- New observations on the morphology of cercaria of Tylodelphys excavata (Rud) and T. clavata (Nord) nec Ciurea (=C. letifera Fuhrmann) (Trematoda, Diplostomatidae). Bull. Acad. polon. Sci. Ser. Biol 11:383-387.
- 1971.- An analysis of the main morphological features of furcocercariae and their systematic importance. In: Perspectives of research on cercariae. (Odening 1971), :73-78.
- Odening, K. 1965.- Der Lebenszyklus von Neodiplostomum spathoides Dubois (Trematoda, Strigeida) im Raum Berlin nebst Beiträgen zur

Entwicklungsweise verwandter Arten. Zool. Jb. Syst. 92:
523-624.

- Odening, K. 1967.- Lebenszyklen von Strigea falconis palumbi (Viborg),
S. strigis (Schrank) und S. sphaerula (Rudolphi) (Trematoda,
Strigeida) im Raum Berlin. Zool. Jb. Syst. 94:1-67.
- 1971.- Perspectives of research on cercariae. Parasitologis-
che Schriftenreihe 21, 205 pp. Jena.
- Odening, K; Mattheis T. y Bockhardt, I. 1970.- Der Lebenszyklus von Coty-
lurus c. cucullus (Thoss) (Trematoda, Strigeida) im Raum
Berlin. Zool. Jb. Syst. 97:125-198.
- Ostrowski de Núñez, M. 1964.- Estudios biológicos sobre Diplostomulum
mordax del cerebro del pejerrey, Basilichthys bonariensis.
(Trematoda). Neotropica 10(33):114-119.
- 1968.- Sobre el ciclo biológico de Austrodiplos-
tomum mordax Szidat y Nani 1951. Neotropica 14(44):85-88.
- 1973.- Sobre el ciclo biológico experimental de
Posthodiplostomum nanum Dubois 1937. Physis B. 32(84):121-
132.
- Park, P.J. 1936.- The miracidium of Neodiplostomum lucidum La Rue and
Bosma. Trans. Am. microsc. Soc. 55:49-54.
- Fearson, J.C. 1956.- Studies on the life cycles and morphology of the
larval stages of Alaria arisaemoides Augustine and Uribe
1927 and Alaria canis La Rue and Fallis 1936. (Trematoda,
Diplostomidae). Canad. J. Zool. 34:295-387.
- 1959.- Neodiplostomum intermedium n. sp. from the allied
rat, Rattus assimilis, with remarks on the genera Neodiplos-
tomum and Fibricola (Trematoda:Diplostomatidae) Parasito-
logy 49:111-120.
- 1961.- Observations on the morphology and life cycle of
Neodiplostomum intermedium (Trematoda:Diplostomatidae). Pa-
rasitology 51:133-172.

- Flugfelder, O. 1953.- Wirkungen der Epiphysektomie auf die Postembryonal-
entwicklung von Lebistes reticulatus Peters. Roux'Archiv
146:115-136.
- Probert, A.J. 1966.- Studies on larval trematodes infecting the freshwa-
ter molluscs of Llangorse Lake, South Wales. III. Furcocer-
cariae. J. Helminth. 40(1-2):91-114.
- Rees, G. 1940.- Studies on the germ cell cycle of the digenetic tremato-
de Parorchis acanthus Nicoll. I. Anatomy of the genitalia
and gametogenesis in the adult. Parasitology 31:417-433;
II. ibid 32(4):372-391.
- Reichenbach Klinke, H. 1954.- Rückratverkrümmung bei Fischen nach Acan-
thocephalen (Kratzer)- Befall. Z.f. Parasitenkunde 16:253-
254.
- Ringuelet, R. 1942a.- El pejerrey (Odonthestes bonariensis) del embalse
Anzulon (La Rioja). Notas del Museo de La Plata, Zoología,
7(58):177-200.
- 1942b.- Ecología alimenticia del pejerrey (Odonthestes bo-
nariensis) con notas limnológicas sobre la Laguna Chascomús.
Rev. Museo La Plata (N.S.) Zoología, 2:427-461.
- Rowan, W.E. 1956.- The mode of hatching of the egg of Fasciola hepatica.
Expl. Parasitology 5:118-137.
- Skrjabin, I.K. 1971.- Trematodes del hombre y de los animales domésticos.
Tomo 24. Moscu, Akad. Nauk SSSR (ruso).
- Smyth, J.D. 1966.- The physiology of trematodes. Oliver and Boyd. Edin-
burgh, London. 256 pp.
- Someren, 1947.- (ver Gregoire y col. 1956).
- Szidat, L. 1923.- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Holostomiden.
Zool. Anz. 58:299-314.
- 1924.- Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Holostomiden.
Zool. Anz. 61:249-266.
- 1927.- Über ein Fischsterben im Kurischen Haff und seine Ursa-

chen. Z. Fischerei 25:83-90.

- Szidat, L. 1928.- Zur Revision der Trematodengattung Strigea Abildgaard.
Zbl. Bakt. L. Originale 105:204-215.
- 1929.- Beiträge zur Kenntnis der Gattung Strigea (Abidlg).
Allgemeiner Teil: Untersuchungen über die Morphologie, Physiologie und Entwicklungsgeschichte der Holostomiden nebst Bemerkungen über die Metamorphose der Trematoden und die Phylogenie derselben. Z. Parasitenk. 1:612-687.
- II. Teil. Spezieller Teil: Revision der Gattung Strigea nebst Beschreibung einer Anzahl neuer Gattungen und Arten.
Z. f. Parasitenkunde 1:688-764.
- 1952.- Dos larvas de trematodes enemigos de la piscicultura.
Mundo Atomico 3 (9).
- 1956.- Über die Parasitenfauna von Percichthys trucha (Cuv & Val.) Girard der patagonischen Gewässer und die Beziehungen des Wirtsfisches und seiner Parasiten zur paharktischen Region. Arch. Hydrobiol. 51(4):542-577.
- 1969.- Structure, development and behaviour of new strigeatoid metacercaria from subtropical fishes of South America.
J. Fish. Res. Board of Canada, 26(4):753-786.
- Szidat, L. y A. Nani, 1951.- Diplostomiasis cereбрalis del pejerrey. Una grave epizootia que afecta a la economía nacional producida por larvas de trematodes que destruyen el cerebro de los pejerreyes. Rev. Mus. Arg. Cienc. Nat. Bernardino Rivadavia. Zoologia I (8):323-384.
- Tscherner, W. 1972.- Der Entwicklungskreislauf von Apharyngostrigea cornu (Zeder, 1800) (Trematoda, Strigeidae). Zool. Jb. Syst. 99:263-311.
- Williams, M.C. 1966.- Studies on the morphology and life-cycle of Diplostomum (Diplostomum) gasterostei (Strigeida: Trematoda). Parasitology 57:693-706.

- Williams, M.C. 1966.- Studies on the adult and diplostomulum of Diplostomum (Dolichoerchis) leonensis (Strigeida; Trematoda) Parasitology 57:673-681.
- 1969.- Posthodiplostomoides leonensis, gen. nov. (Strigeida, Trematoda) Rev. Zool. Bot. Afr. 79:142-144.
- van der Woude, W.W. Cort y D.J. Ameel 1953.- The early development of the daughter aporocysts of the Strigeoidea (Trematoda). J. Parasitology 39:38-44.

Cuadros de medidas

<u>Cercaria</u>				promedio	Error del promedio			
		max	min	x	E	x-E	x+E	n
cuerpo	l	234	169	204,9	8,7	196,1	213,6	15
	a	58	46	52,4	2,5	49,9	54,9	14
tronco caudal	l	299	203	246,3	15,0	231,3	261,3	15
	a	39	29	34,6	2,3	32,3	36,9	15
furcas	l	273	203	245,7	11,2	234,4	257,0	15
	a	26	17	23,7	3,4	20,2	27,2	8
ventosa ventral	l	30	23	27,1	1,6	25,4	28,8	11
	a	34	23	28,6	2,2	26,3	30,9	9

Metacercaria (infestación natural)

				promedio	Error del promedio			
		max	min	x	E	x-E	x+E	n
cuerpo	l	1.017	911	959,9	24,2	935,6	984,1	10
	a	360	328	338,8	7,1	331,6	345,9	10
ventosa oral	l	67	54	57,8	2,6	55,1	60,4	10
	a	67	56	58,5	2,8	55,6	61,3	10
faringe	l	46	37	41,5	2,0	39,4	43,5	10
	a	37	32	35,4	1,4	33,9	36,8	10
órgano tribocítico	l	180	159	167,2	5,8	161,3	173,0	10
	a	95	84	93,9	2,4	91,4	96,3	10
gonadas	l	116	106	110,0	3,6	106,3	113,6	10
	a	95	74	84,1	3,5	80,5	87,6	10

(medidas en micrones)

(l = largo, a = ancho)

Cuadros de medidas

Metacercaria experimental

			promedio Error del					
	' max	' min	' x	' E	' x-E	' x+E	' n	'
cuerpo	l	826	731	784,0	37,1	746,8	821,1	6
	a	339	296	305,0	18,0	286,9	323,0	6
ventosa	l	59	54	55	2,1	53,0	57,3	6
oral	a	59	54	57	3,6	53,3	60,6	6
faringe	l	40	29	35,5	5,3	30,2	40,8	6
	a	37	27	32,8	4,4	28,4	37,2	6
órgano	l	159	137	148,0	7,3	140,6	155,3	6
tribo-	a	106	84	96,8	8,6	88,1	105,5	6
citico	l	106	84	98,6	9,4	89,2	108,0	6
gonadas	a	106	84	91,3	9,4	81,9	100,7	6

Adultos obtenidos en pollos y benteveo

	edad	cuerpo	max	min	x	E	x-E	x+E	n
44 h (pollo)	l		975	731	817,3	58,8	758,5	876,2	8
	a		445	286	350,6	49,3	301,3	399,9	8
14 días (pollo)	l		879	646	782,8	51,2	731,5	834,0	10
	a		360	275	301,8	19,0	282,7	320,8	10
48 h (benteveo)	l		720	593	664,2	37,3	626,8	701,5	10
	a		286	243	264,7	8,8	255,8	273,5	10

(medidas en micrones)
(l = largo, a = ancho)

Cuadro de medidas (medidas en micrones)

Adulto en el biguá.				promedio	Error del promedio			
'		' max	' min	' x	' E	' x-E	' x+E	' n
cuerpo	l	2.500	1.800	2264	344,6	1.920	2.600	6
	a	1.120	800	976	138,2	838,4	1.114,9	6
ventosa	l	98	58	77,6	22,9	54,6	100,5	5
oral	a	98	69	83	16,5	66,4	99,5	5
órgano	l	638	435	509	105,6	403,6	615,0	6
triboc.	a	556	307	395	99	295,5	494,8	6
ovario	l	127	92	111,5	18,4	93,0	129,9	6
	a	179	104	148,5	30,4	118,0	178,9	6
test.	l	232	127	181,8	46,7	135,0	228,5	5
ant.	a	377	261	310,8	61,3	249,4	372,1	5
test.	l	232	116	170,4	51,8	118,5	222,2	5
post.	a	452	324	369,8	61,6	308,1	431,4	5
huevo	l	98	87	95	4,8	90,2	100,0	6
	a	52	40	45,1	4,9	40,1	50,1	7
=====								
huevo	l	105	81	93,7	1,0	92,7	94,7	57
vivo	a	56,7	45,9	52,0	0,6	51,3	52,6	57
=====								

(l = largo, a = ancho)

Abreviaturas.

bc	bolsa caudal
bg	bolsa germinal
cc	cuerpos caudales
ce	células epiteliales
cf	células flamíferas
cfi	canal común con flamíferas intercalares
cg	célula germinal
cgl	células glandulares
cgp	conductos de las glándulas de penetración
cl	canal lateral
clp	canal lateral posterior
ci	cilias
cma	canal medial anterior
cmp	canal medial posterior
cn	comisura nerviosa
cp	célula parenquimatosa
cpp	canal principal primario
cpr	célula propagatoria
cra	canal recolector anterior
crp	canal recolector posterior
cs	célula somática
cse	célula subepitelial
eh	esporoquiste hijo maduro
fi	flamígera intercalar
fm	fibra muscular
fmc	fibra muscular circular
fml	fibra muscular longitudinal
ga	glándula apical
gl	glándula lateral
gm	glándula de Mehlis
gp	glándula de penetración

int	intestino
l	lentes
mn	masa neural
mg	masa germinal
mge	masa gelatinosa
n	núcleo
nfmc	núcleo de la fibra muscular circular
oc	ocelos pigmentados
oo	ootipo
op	opérculo
ov	ovario
p	pelo sensitivo
pe	poro excretor
pg	poro genital
pl	papila lateral
pr	papila radial
ps	papilas sensitivas
rgp	reservorio de los conductos de las glándulas de penetración
roc	resto del ocelo pigmentado
rs	receptáculo seminal
rv	receptáculo vitelino
reve	resto de la ventosa ventral
rz	"Riesenzellen" (Célula gigante)
ta	testículo anterior
te	terebratorium
tp	testículo posterior
ut	útero
ve	vesícula excretora
vev	ventosa ventral
vog	vestigios de órganos genitales
vs	vesícula seminal