

Estudio taxonómico y espacial de la parasitofauna presente en especies del género *Austrolebias* Costa, 1998 en el Uruguay

Lic. Renzo Vettorazzi
Maestría en Ciencias Biológicas
PEDECIBA Biología

Orientador: Dr. Walter Norbis

Co-orientador: Dr. Sergio R. Martorelli

Tribunal: Dr. Marcelo Loureiro (presidente),
Dra. Graciela García, Dr. Uriel Koziol (vocales)

Facultad de Ciencias
Universidad de la República
Montevideo, Uruguay
Abril 8, 2022

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que me acompañaron desde lo moral, lo académico, y desde ambos lugares. En particular:

A mi familia. Los Vettorazzi, principalmente mi padre, y los Fernández, destacadamente mi querida abuela.

Mis amigos, los Fósiles. En especial mi gran amiga la Lic. Lucía Farías, quien me acompañó a los muestreos del 2019.

El laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces (FREPE). Principalmente la Dra. Deinse Vizziano, quien intercedió para que pudiera hacer la Maestría, y el Dr. Walter Norbis, mi orientador y guía en el ambiente académico.

El Centro de Estudios de Parásitos y Vectores (CEPAVE) de La Plata, Argentina, que me recibió con mucho afecto. Especialmente el Dr. Sergio Martorelli, mi co-orientador de tesis, y su grupo, que me enseñaron muchísimo en tan solo 20 días.

El Dr. Alejandro Márquez (que en paz descanse) y la MSc. Ana Laura Reyes de Microscopía Electrónica de Barrido, que me enseñaron y ayudaron con dicha técnica.

Al laboratorio de Genética Evolutiva, que me abrió sus puertas para realizar estudios de sistemática molecular, en particular el Dr. Néstor Ríos, quien me enseñó, y aún me enseña, a trabajar con dicha técnica, algo necesario en la taxonomía de hoy en día.

Al MSc. Nicolás Papa, quien me ayudó y enseñó a mantener a las *Austrolebias* en el acuario de la Facultad de Ciencias.

Al Instituto de Investigaciones Pesqueras (IIP), particularmente el Dr. Daniel Carnevia, que me permitió procesar parte del material de la tesis en su laboratorio.

Al Laboratorio de Biología Parasitaria, mi nuevo hogar de trabajo, que me tuvieron paciencia y consideración en las etapas finales de la tesis.

Al tribunal, el Dr. Marcelo Loureiro, la Dra. Graciela García y el Dr. Uriel Koziol, por revisar la tesis tan rápidamente y por sus comentarios constructivos y muy educativos.

RESUMEN

Los peces anuales son organismos dulceacuícolas pertenecientes al diverso orden Cyprinodontiformes. Dentro de este orden, la familia Rivulidae contiene a las especies Neotropicales. Los peces anuales habitan en charcos temporales; cuerpos naturales de agua que experimentan una fase de sequía recurrente. Debido a esto, presentan una biología particular, con períodos en los cuales solo sobreviven sus huevos enterrados en diapausa, resistentes a la sequía. Un género de peces anuales que ha sido ampliamente utilizado como modelo para distintas disciplinas es *Austrolebias*. En Uruguay existen 21 de las especies reportadas para este género, de las cuales 14 son consideradas amenazadas. Un aspecto poco estudiado de las *Austrolebias* son sus parásitos, con tan solo seis reportes en Sudamérica, ninguno de los cuales considera aspectos ecológicos. En función de este desconocimiento, se procuró describir los parásitos presentes de distintas especies de *Austrolebias* en Uruguay, y evaluar posibles patrones espaciales a diferentes escalas. En el 2018 (muestreo piloto) se muestrearon 15 sitios, se obtuvieron 127 peces y 114 parásitos. En el 2019 se muestrearon 12 sitios, se obtuvieron 259 peces y 2152 parásitos. Los parásitos fueron procesados mediante distintas metodologías para estudios de microscopía óptica, de microscopía electrónica de barrido, y cuando fue posible, para identificación molecular. Se encontró un total de 18 taxa de organismos parásitos, divididos en 5 adultos y 13 estadíos larvales. Con los datos taxonómicos se construyeron matrices de riqueza taxonómica y abundancia de parásitos por cuenca hidrográfica, por charco temporal, y por especie de hospedador y charco temporal. Se realizaron exploraciones gráficas y análisis multivariados para determinar posibles patrones en función de la similitud en componentes de comunidad parasitaria. Se encontró que la distancia y conectividad ecológica entre charcos temporales son importantes determinantes de la similitud entre los componentes de comunidad parasitarios, y que el ambiente tiene mayor incidencia sobre la estructura comunitaria de los parásitos que el ensamble de hospedadores pertenecientes al género *Austrolebias*. La baja resolución taxonómica alcanzada para ciertos taxa parasitarios larvales podría estar enmascarando algunos patrones espaciales, y las aves como hospedadores definitivos de ciertos grupos podrían estar generando un efecto homogeneizador.

ÍNDICE

1. Introducción	4
1.1 Hipótesis de trabajo	14
1.2 Objetivo general	14
1.2 Objetivos específicos	15
2. Capítulo 1	16
2.1 Materiales y métodos	17
2.2 Resultados y com.	24
3. Capítulo 2	83
3.1 Materiales y métodos	84
3.2 Resultados	91
4. Discusión	120
4.1 Estudio taxonómico	121
4.2 Estudio espacial	153
Conclusiones	168
Perspectivas	169
Bibliografía	170

1. INTRODUCCIÓN

Los peces anuales son peces dulceacuícolas pertenecientes al diverso Orden Cyprinodontiformes, más específicamente al Suborden Aplocheiloidei. Estos últimos se distribuyen a lo largo de las regiones biogeográficas tropicales, mostrando monofilias al nivel de Familia en función de ellos (Familia Notobranchiidae en Región Afrotropical, Familia Aplocheilidae en Región Indomalaya y Familia Rivulidae en Región Neotropical; Loureiro & de Sá 2015). Hipotéticamente, estas relaciones monofiléticas fueron establecidas debido a eventos de especiación vicariante (Costa 2013) y/o de dispersión-extinción relacionados con el movimiento de los continentes (y subsecuentes consecuencias climáticas) y la expansión del océano Atlántico (Costa et al. 2017).

Dentro de los Rivulidae, existen tres subfamilias: Kryptolebiasinae, Rivulinae y Cynolebiasinae, donde solo las dos últimas corresponden a peces con ciclos anuales. La subfamilia Cynolebiasinae en particular ocupa parches endémicos correspondientes a distintos biomas tales como el bioma pampeano (pastizales templados y savanas), pastizales tropicales y subtropicales, pantanales (pastizales inundables), pluviselva y algunos relictos de bosque seco (Costa 2010). Contiene dos tribus, Cynopoecilini y Cynolebiasini, soportados por diversas sinapomorfías y marcadores moleculares (Loureiro & de Sá 2015). Según Costa (2010), esta última tribu está compuesta por ocho géneros: *Nematolebias* Costa, 1998 (cuenca costera sudeste de Brasil), *Xenurolebias* Costa, 2006 (bosque atlántico sudeste de Brasil), *Ophthalmolebias* Costa, 2006 (este de Brasil), *Simpsonichthys* Carvalho, 1959 (centro de la plataforma continental brasileña), *Spectrolebias* Costa & Nielsen, 1997 (cuenca de ríos Paraguay, Guaporé, Xingu, Araguaia, y Tocantins), *Hypsolebias* Costa, 2006 (cuenca de ríos Jequitinhonha, São Francisco, y Urucua), *Cynolebias* Steindachner, 1876 (cuenca de ríos São Francisco y Urucua), y *Austrolebias* Costa, 1998 (cuenca de La Plata, Patos-Merín, y sudoeste del Amazonas), esta última con un total de 48 especies reportadas para la ciencia a lo largo de toda su distribución (Loureiro et al. 2018).

Los charcos temporales donde habitan los peces anuales son cuerpos naturales de agua que experimentan una fase de sequía recurrente. Suelen ser llanos (20-100 cm de profundidad), cercanos a fuentes de aguas permanente (ríos o humedales permanentes),

ocupando un amplio rango de territorios muy heterogéneos (Arim et al. 2011; Piñeiro-Guerra et al. 2014). Como ya se ha mencionado, alternan entre sequías y períodos húmedos, o hidroperíodos, durante lo que se denomina la temporada húmeda o lluviosa, la cual comprende desde el otoño temprano hasta la primavera tardía (marzo a octubre en el rango de distribución de las *Austrolebias*, con cierta plasticidad según las condiciones climáticas de cada año) (Williams 2006; Arezo et al. 2007; Berois et al. 2014; 2015; Loureiro et al. 2015). Además de los peces anuales, otros animales (invertebrados inferiores, bivalvos, artrópodos, otros peces, anfibios, reptiles, y diversas aves de bañado) también recurren a estos ecosistemas (Williams 2006; Liguori 2011), ya sea para alimentación, reproducción y/o refugio, y muchas de ellas, las más hidro-dependientes, presentan adaptaciones específicas para transitar parte de su ciclo de vida en ambientes temporales (Williams 2006).

En Uruguay existen 21 de las especies reportadas para el género *Austrolebias* (Tab. 1). Las mismas representan un modelo para el desarrollo de estudios biológicos importantes y de auge creciente, enfocados desde diversas disciplinas, como ser aspectos taxonómicos, sistemáticos, genéticos, del desarrollo, filogeográficos, evolutivos, ecológicos, y biogeográficos, con el fin de conocer su historia de vida (Huber 1996; Costa 2002; 2003; 2006; Loureiro 2004; Loureiro et al. 2004; Arezo et al. 2007; Loureiro & García 2008; Loureiro et al. 2011; Luque et al. 2011; Berois et al. 2014; Keppler et al. 2014; Delgado & García 2015; Gutiérrez et al. 2015; Loureiro et al. 2015; Nielsen & Pillet 2015; Montes et al. 2017 a, b, c; Barneche et al. 2017). Por ser peces anuales, el género *Austrolebias* presenta características particulares, como por ejemplo el rápido desarrollo y ciclo de vida, lo cual les permite alcanzar la madurez sexual en poco tiempo (Berois et al. 2015). Además, presentan huevos con la capacidad de resistir la desecación y entrar en diapausas para detener el desarrollo durante las estaciones secas, hasta que los charcos vuelvan a rebosar de agua (Fava & Toledo-Piza 2007; Rodao et al. 2015). Demuestran un gran despliegue del comportamiento sexual, involucrando territorialidad y cambios morfo-comportamentales dependiendo del rol individual que asumen como resultado de la competencia intraespecífica (Passos et al. 2015). En cuanto a las relaciones filogenéticas entre especies del género, las mismas son complejas, formando

clados de especies que presentan la capacidad de hibridar entre sí cuando las barreras alopatricas existentes entre charcos temporales desaparecen (Costa 2006, García et al. 2006; 2012; 2019; 2020, Loureiro et al. 2018). A su vez, en un mismo charco temporal pueden coexistir hasta cinco especies de peces anuales (tanto del *Austrolebias* como del género *Cynopoecilus*) (Loureiro et al. 2015).

En este sentido, según la escala considerada, hay distintas características ecológicas que influyen en la estructura de las comunidades de peces en los charcos temporales. La coexistencia entre especies dentro del mismo charco temporal (pequeña escala) está dada por diferencias en estrategias tróficas que se manifiestan en gran parte mediante variables morfométricas entre grupos funcionales (Keppler et al. 2014). A escalas mayores (por ejemplo, grupos de charcos temporales en una misma cuenca), la coexistencia de poblaciones se ve favorecida por la conectividad entre las mismas, implicando dinámicas de metapoblaciones y metacomunidades (Loureiro et al. 2015). En escalas biogeográficas (distintas cuencas), los patrones, la estructura genética, la diversidad de los clados y la riqueza endémica de las distintas áreas, dependen en gran medida de la conectividad entre áreas, además de la vagilidad de las especies (Loureiro et al. 2015).

Los peces anuales no solo coexisten con otros peces, sino que forman parte de las redes ecológicas construidas por toda la fauna circundante que utiliza a los charcos temporales como hábitat o recurso. Un importante actor en estas redes son las aves piscívoras, quienes depredan peces anuales cuando el nivel del agua de los charcos temporales comienza a descender debido a la evaporación (Costa 1998; 2009; Winemiller & Jepsen 1998; Volcan & Guadagnin 2019). No existen reportes particulares de ofidios consumiendo peces anuales, pero sí depredando anfibios de ambientes circundantes a los charcos temporales como ser bañados (Carreira et al. 2005; Carreira et al. 2012).

Se ha observado que cambios en el área de los charcos, el número de microhábitats, el nivel de aislamiento entre charcos y alteraciones en indicadores climáticos de disponibilidad de agua (temperatura del aire, volumen pluviométrico, entre otros) tienen

el mayor impacto en la composición y la abundancia de especies de peces en los charcos temporales (Volcan & Guadagnin 2019). Este tipo de disturbios puede provenir de la actividad antrópica, por ejemplo, mediante el aplanamiento de charcos para plantaciones de arroz y soja, el drenaje de cursos de agua para fines agrícolas (como ser el riego, en ocasiones secando los charcos por completo), o construyendo represas (eventualmente provocando inundaciones que derivan en la unión entre charcos temporales con sistemas lénticos, evitando que los primeros se des sequen por completo). Ejemplos de estos disturbios pueden encontrarse en diversos puntos de la cuenca Patos-Merín, del Río Negro y del Río Uruguay (OEA, 1992). Como resultado, existen 20 especies de *Austrolebias* consideradas prioritarias para la conservación según el sistema nacional de áreas protegidas (SNAP), donde 14 de esas 20 ya se han categorizado como amenazadas (Tab. 1) (Soutullo & Martínez-Lanfranco 2013; Berois et al. 2014).

Tabla 1. Lista de especies del género *Austrolebias* Costa, 1998 reportadas para Uruguay, basada en las publicaciones de Arezo et al. (2007), Costa (2002; 2003; 2006), Loureiro & García (2008), Loureiro et al. (2004; 2011), y Serra & Loureiro (2018).

Especie	Procedencia (Uruguay)
<i>Austrolebias affinis</i> (Amato, 1986)	Río Negro
* <i>A. alexandri</i> (Castello & López, 1974)	R. Uruguay
* <i>A. arachan</i> Loureiro, Azpelicueta & García, 2014	R. Negro, Laguna Merín
<i>A. bellottii</i> (Steindachner, 1881)	R. Uruguay, R. de la Plata
<i>A. charrua</i> Costa & Cheffe, 2001	L. Merín
* <i>A. cheradophilus</i> (Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1965)	L. Merín, L. Castillos, L. de Rocha
* <i>A. cinereus</i> (Amato, 1986)	R. de la Plata
* <i>A. elongatus</i> (Steindachner, 1881)	R. Uruguay
* <i>A. gymnoventris</i> (Amato, 1986)	L. Merín
<i>A. juanlangi</i> Costa, Cheffe, Salvia & Litz, 2006	R. Negro, L. Merín
<i>A. luteflammulatus</i> (Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1965)	L. Merín, L. Castillos, L. Rocha
* <i>A. melanoorus</i> (Amato, 1986)	R. Negro
<i>A. nigripinnis</i> (Regan, 1912)	R. Uruguay, R. de la Plata
* <i>A. periodicus</i> (Costa, 1999)	R. Cuareim
* <i>A. prognathus</i> (Amato, 1986)	L. Merín
* <i>A. quirogai</i> Loureiro, Duarte & Zarucki, 2011	R. Negro, L. Merín
<i>A. queguay</i> Serra & Loureiro, 2018	R. Queguay
* <i>A. reicherti</i> (Loureiro & García, 2004)	L. Merín
* <i>A. vazferreirai</i> (Berkenkamp, Etzel, Reichert & Salvia, 1994)	R. Negro, L. Merín

* *A. viarius* (Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, L. Merín, L. Castillos 1965)

* *A. wolterstorffi* (Ahl, 1924) L. de Patos

* Estatus de conservación “amenazada” según la SNAP (Soutullo & Martínez-Lanfranco 2013).

A pesar del gran conocimiento que se tiene sobre *Austrolebias*, y la gran importancia que tienen como modelo, un aspecto que ha sido poco estudiado es su parasitofauna.

La definición del término “parásito” nunca ha llegado a un consenso (Zelmer 1998; Tatcher 2006; Goater et al. 2014), en parte por el hecho de que los organismos que suelen clasificarse como tales provienen de diversas y muy distintas líneas evolutivas, incluyendo procariotas, plantas, hongos, protozoarios, y metazoarios, incluso vertebrados. Las únicas características vinculantes son que presentan una forma de vida metabólicamente dependiente de otro organismo denominado hospedador, que tienen adaptaciones morfológicas y fisiológicas a vivir dentro o sobre sus hospedadores (evadiendo su sistema inmunológico), que son capaces de disminuir la aptitud reproductiva de sus hospedadores, y finalmente, que los parásitos suelen ser de especies distintas a la de sus hospedadores (Zelmer 1998; Goater et al. 2014). La relación biológica entre hospedador y parásito se denomina parasitismo, y es una de las tantas interacciones simbióticas complejas que se expresan en la naturaleza. Dentro del concepto paraguas “simbiosis” podemos distinguir cuatro tipos: foresis, comensalismo, mutualismo y explotación. A su vez, se pueden pensar cuatro clases de explotación: depredación y parasitoidismo (siempre matan a su presa u hospedador), y microdepredación y parasitismo (nunca matan a su presa u hospedador) (Goater et al. 2014). Por más que esta es la clasificación más utilizada y reproducida, debe tenerse presente que la misma tiene una base trófica muy fuerte (quien obtiene materia y energía de quien, y con qué resultado sobre las partes), la cual no refleja en su totalidad la íntima relación evolutiva, coevolutiva y ecológica que acarrearán hospedadores y parásitos (Zelmer 1998; Combes 2001; Goater et al. 2014). Adicionalmente, los parásitos usualmente se clasifican en ecto- y endoparásitos, dependiendo de si habitan sobre o dentro de sus hospedadores, respectivamente. Una tercera clasificación propuesta por algunos autores es la de “parásitos de sangre”, ya que un parásito capaz de infiltrar y

sobrevivir el sistema circulatorio o linfático de su hospedador requiere diversas adaptaciones específicas que exceden las presentes en parásitos de la cavidad corporal o el lumen digestivo (Thatcher 2006).

En esta relación simbiótica, los peces pueden oficiar tanto de hospedadores paraténicos (el parásito permanece en estasis, sin desarrollo), intermediarios (el parásito se desarrolla en otros estadios larvales, pero no alcanza la forma adulta) como definitivos (el parásito alcanza la adultez y se reproduce), dependiendo del parásito en cuestión. Los ictioparásitos son muy diversos, con un amplio número de taxa agrupados en cuatro reinos que incluyen las bacterias, los protozoos, los hongos y los animales. Dentro de los organismos eucariotas, hay ocho phyla con representantes de reconocida importancia: Microsporidia, Ciliophora, Cnidaria (Myxozoa), Platyhelminthes, Nematoda, Acanthocephala, Arthropoda y Annelida. De estos ocho phyla, solo los últimos cinco corresponden a animales multicelulares, representando aproximadamente 14 clases (Thatcher 2006). Los ectoparásitos de peces se pueden encontrar en la superficie del cuerpo, debajo de escamas, en las aletas, boca, narinas o branquias (ya que estos lugares presentan mayor contacto con el ambiente externo que con el interno), mientras que los endoparásitos de peces se hallarán en el resto de los hábitats internos del pez (lumen digestivo, cavidad del cuerpo, vísceras y mesenterios, musculatura, cavidad craneana, cerebro, humor acuoso y cristalino, etc.).

Cada vez más, se comprende que los parásitos son importantes actores ecológicos en diversos aspectos, por ejemplo, para el control poblacional (Gregory & Hudson 2000), en la modelación de las redes tróficas (Dunne et al. 2013; Lafferty et al. 2006), del comportamiento de sus hospedadores (Poulin 1994; 2010; 2013), como bioindicadores (Landsberg et al. 1998; Sures 2004; Gómez & Nichols 2013; Brázová et al. 2015; Nachev & Sures 2016; Leite et al. 2017; Sures et al. 2017; Vidal-Martinez et al. 2019) e incluso, su presencia puede funcionar como una presión selectiva que juega un papel en la dirección evolutiva de los hospedadores (Penn & Potts 1998; Capaul & Ebert 2003; Koskella 2018).

En este sentido, es importante conocer que los parásitos pueden utilizar hospedadores de diferentes formas, en función del rol que éstos últimos cumplan en sus ciclos de vida. Muchos textos describen los ciclos de vida de los principales grupos de parásitos. En este caso se utiliza como referencia el libro de Goater et al. (2014), quien compila y sintetiza todos los estudios precedentes. Ciertos organismos, como la gran mayoría de los crustáceos parásitos o los platelmintos de la clase Monogenea, presentan ciclos de vida directos. Estos también se denominan monoxenos y significa que el parásito requiere un único hospedador para desarrollarse hasta la madurez sexual. Este hospedador se denomina hospedador definitivo. Grosso modo, el resto de los organismos parásitos son heteroxenos, es decir que presentan ciclos de vida complejos donde se requiere más de un hospedador para alcanzar la madurez sexual. Típicamente, los hospedadores involucrados en estos ciclos de vida siguen una escala trófica en paralelo con el desarrollo del parásito, en función de que los mecanismos de infección suelen estar asociados a la depredación. Por ejemplo, en un ciclo de vida de tres hospedadores, el llamado primer hospedador intermediario será tal que podrá ser consumido por el segundo hospedador intermediario, y el segundo hospedador intermediario podrá ser consumido por el hospedador definitivo, transfiriendo así a los parásitos a lo largo de la cadena alimenticia. Alternativamente, en el caso de la subclase Digenea dentro de los platelmintos, el pasaje del primer (un molusco) al segundo (un artrópodo o un vertebrado) hospedador intermediario suele ser por una fase de vida libre que puede infectar activamente por penetración de las capas externas del cuerpo. En general, dentro de cada hospedador intermediario, la forma larval sufre cambios, hasta que, en el hospedador definitivo, se convierte en adulto. También existen hospedadores denominados paraténicos, en donde las formas larvales no cambian, sino que solamente son transportadas, y hospedadores accidentales, para los cuales los parásitos no están adaptados y usualmente significan que el ciclo de vida será trunco.

Conocer los ciclos de vida es clave para interpretar la ecología de los parásitos. La ecología parasitaria es una interdisciplina donde se involucran no solo las dinámicas de los parásitos en sus ambientes, sino la de todos los hospedadores que intervienen en los ciclos de vida. Es esto por lo que los parasitólogos dedicados a esta disciplina han

decidido acuñar nuevos términos para referirse a las distintas escalas ecológicas de los parásitos, ya que existían muchas confusiones acerca de cuándo se estaba hablando de los parásitos y cuándo de los hospedadores. Entonces, cuando se habla del conjunto de parásitos de una misma especie dentro de un mismo hospedador, se habla de infrapoblación, y el conjunto de las infrapoblaciones es la infracomunidad. Cuando se expande la escala y se refiere a todas las infrapoblaciones en una población hospedadora, se habla de metapoblación (o xenopoblación), y el conjunto de todas las metapoblaciones es el componente de comunidad (o xenocomunidad). Todas las metapoblaciones parasitarias presentes en una comunidad hospedadora conforman la suprapoblación, y todas las suprapoblaciones conforman la comunidad compuesta (Aguilar-Aguilar 2008; Goater et al. 2014). En este sentido, existen parásitos con una estrategia generalista, con la capacidad de infectar un amplio rango de nichos hospedadores, llamados eurixenos. Aquellos con una estrategia más especialista y un rango de nichos hospedadores más restringido se denominan estenoxenos. Cuando la coevolución parásito-hospedador fue tal que el parásito solo se encuentra adaptado para convivir en estrecha relación con una única especie hospedadora, este se denomina un parásito oioxeno (Esch & Fernandez 1993).

Desde el punto de vista de los peces anuales, los estudios de ecología parasitaria involucran únicamente a la familia Nothobranchiidae, correspondiente a la región paleotropical, principalmente el continente africano (Nezhybová et al. 2017). En dichos trabajos, los autores concluyen que los peces anuales son principalmente hospedadores intermediarios de especies parásitas alógenas (que utilizan varios ambientes en sus ciclos de vida). En cuanto a los peces anuales neotropicales, no existe ningún antecedente netamente enfocado en la ecología parasitaria de los componentes de comunidades. Por más que los trabajos taxonómicos previamente citados (Tab. 2) presentan, en su mayoría, los índices parasitológicos descriptivos clásicos (prevalencia, intensidad media, abundancia media) de los cuales se derivan hipótesis ecológicas, estos solo comprenden una escala de estudio que va desde la infrapoblación (intensidad, abundancia) a la metapoblación (prevalencia), ya que solo refieren a una especie de hospedador.

Todo esto hace evidente la necesidad de preservar las comunidades de parásitos que habitan en las poblaciones de hospedadores (componente de comunidad; Aguilar-Aguilar 2008) y con ello la alta complejidad en niveles de conectividad que aportan (Lafferty et al. 2006; Gómez & Nichols 2013). Sin embargo, para lograr esto de forma efectiva, es necesario conocer *a priori* qué parásitos habitan en qué hospedadores, y qué rol cumplen estos últimos en el ciclo de vida de los primeros.

En Sudamérica, los trabajos sobre parásitos de peces anuales son verdaderamente escasos. Para Argentina existen dos especies de parásitos reportadas (Montes et al. 2017; Marcotegui et al. 2018), para Brasil dos especies (Luque et al. 2011; Monteiro et al. 2018), en Venezuela una mención (con identificación a nivel de Phylum y clase; Nico & Thomerson 1989), y en Uruguay solo tres reportes (Delgado & García 2015; Pereira & Vaz 1993; Taberner et al. 2003) (Tab. 2). Estos tres antecedentes uruguayos implican el ectoparásito isópodo cymothoideo *Telotha henselii* (Taberner et al. 2003), y tres reportes de nemátodos: *Hedruris iheringi* (Pereira & Vaz 1933) y *Contracaecum* sp. 1 y 2 (Delgado & García 2015). Este último corresponde a un estudio del complejo hospedador-parásito desde una perspectiva genética donde se reportan dos especies no identificadas del género *Contracaecum* mediante técnicas moleculares (Delgado & García 2015).

Tabla 2. Reportes de parásitos de peces anuales en Sudamérica.

Pais	Hospedador	Parasitos	Cita
Argentina	<i>Austrolebias bellottii</i>	<i>Neoechinorhynchus villoldoi</i>	Montes et al. 2017
	<i>A. bellottii</i>	<i>Trichodinas bellottii</i>	Marcotegui et al. 2018
Brasil	<i>A. bellottii</i>	<i>Hedruris iheringi</i>	Luque et al. 2011
	<i>Cynopoecylus melanotaenia</i>	<i>Dendrorchis pampae</i>	Monteiro et al. 2018
Uruguay	<i>A. charrua</i> <i>A. wolterstorffi</i> <i>A. viarius</i> <i>A. reicherti</i> <i>A. cheradophilus</i> <i>C. melanotaenia</i>	<i>Contracaecum</i> sp. 1 y 2	Delgado & García 2015

	<i>A. prognathus</i>	<i>Telotha henselii</i>	Taberner et al. 2013
	<i>A. bellottii</i>	<i>Hedruris iheringi</i>	Pereira & Vaz 1933
Venezuela	<i>Austrofundulus transilis</i> <i>Rachovia maculipinis</i>	Nematoda y Trematoda	Nico & Thomerson 1989

1.1 Hipótesis de trabajo

Teniendo en cuenta todo lo mencionado anteriormente, y en particular: el estudio parasitológico realizado en peces de la familia Nothobranchiidae y los reportes de parásitos en peces anuales de Sudamérica, el uso de los peces anuales como recurso trófico de aves piscívoras, y que las especies de *Austrolebias* prácticamente mueren en su totalidad cada año, se espera las mismos funcionen principalmente como hospedadores intermediarios, y que la presencia de parásitos adultos sea eventual o nula. Además, en base a que la variabilidad en condiciones climáticas y el aislamiento geográfico propio de los charcos temporales (Loureiro 2004; Delgado & García 2015; Loureiro et al. 2015; Volcan & Guadagnin 2020), se espera que existan diferencias entre la composición y/o diversidad taxonómica de los componentes de comunidad de parásitos de distintos charcos temporales en distintas cuencas hidrográficas.

1.2 Objetivo general

Estudiar los parásitos presentes en distintas especies del género *Austrolebias* desde una óptica sistemática y cuantitativa, evaluando la existencia de posibles patrones espaciales. Esto permitirá generar insumos para distintas hipótesis sobre ciclos de vida parasitarios y sobre la conectividad entre los charcos temporales, lo cual es un aporte trascendente para planes de manejo y conservación de la biodiversidad en estos ambientes (Loureiro et al. 2015).

1.3 *Objetivos específicos*

Realizar muestreos de peces del género *Austrolebias* provenientes de charcos temporales de al menos dos cuencas hidrográficas del Uruguay.

Identificar a los hospedadores y examinarlos en busca de endo- y ectoparásitos metazoarios, cuantificándolos.

Identificar taxonómicamente los parásitos hallados mediante morfología y sistemática molecular cuando sea necesario y en la medida de lo posible.

Comparar estadísticamente y mediante métodos multivariados, la diversidad taxonómica de parásitos entre los distintos charcos temporales y entre las distintas cuencas hidrográficas.

Establecer, mediante la información disponible sobre los ciclos biológicos de los parásitos hallados y la diversidad de otros hospedadores presentes en los charcos temporales, hipótesis de ciclos de vida parasitarios y de conectividad ecológica.

2. CAPÍTULO 1:

Identificación taxonómica de los parásitos hallados en peces del género *Austrolebias*

Objetivos específicos:

Realizar muestreos de peces del género *Austrolebias* provenientes de charcos temporales de al menos dos cuencas hidrográficas del Uruguay.

Identificar a los hospedadores y examinarlos en busca de endo- y ectoparásitos metazoarios, cuantificándolos.

Identificar taxonómicamente los parásitos hallados mediante morfología y sistemática molecular cuando sea necesario y en la medida de lo posible.

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo, procedimientos de captura y manipulación de hospedadores

Se realizaron muestreos en distintos charcos temporales a lo largo del territorio uruguayo en los meses de junio, julio agosto y septiembre años 2018 (muestreo piloto) y en los meses de agosto (y principios de septiembre) y octubre de 2019. En el primer año, se muestrearon 15 sitios, en el segundo 12 (Fig. 1; Tab. 3). La selección de los charcos temporales se realizó buscando la mayor cantidad y diversidad de especies de *Austrolebias* posible. En función de los objetivos de la tesis y la logística disponible para el traslado de los peces vivos al laboratorio, se intentó balancear el compromiso entre número de especies y número de muestra.

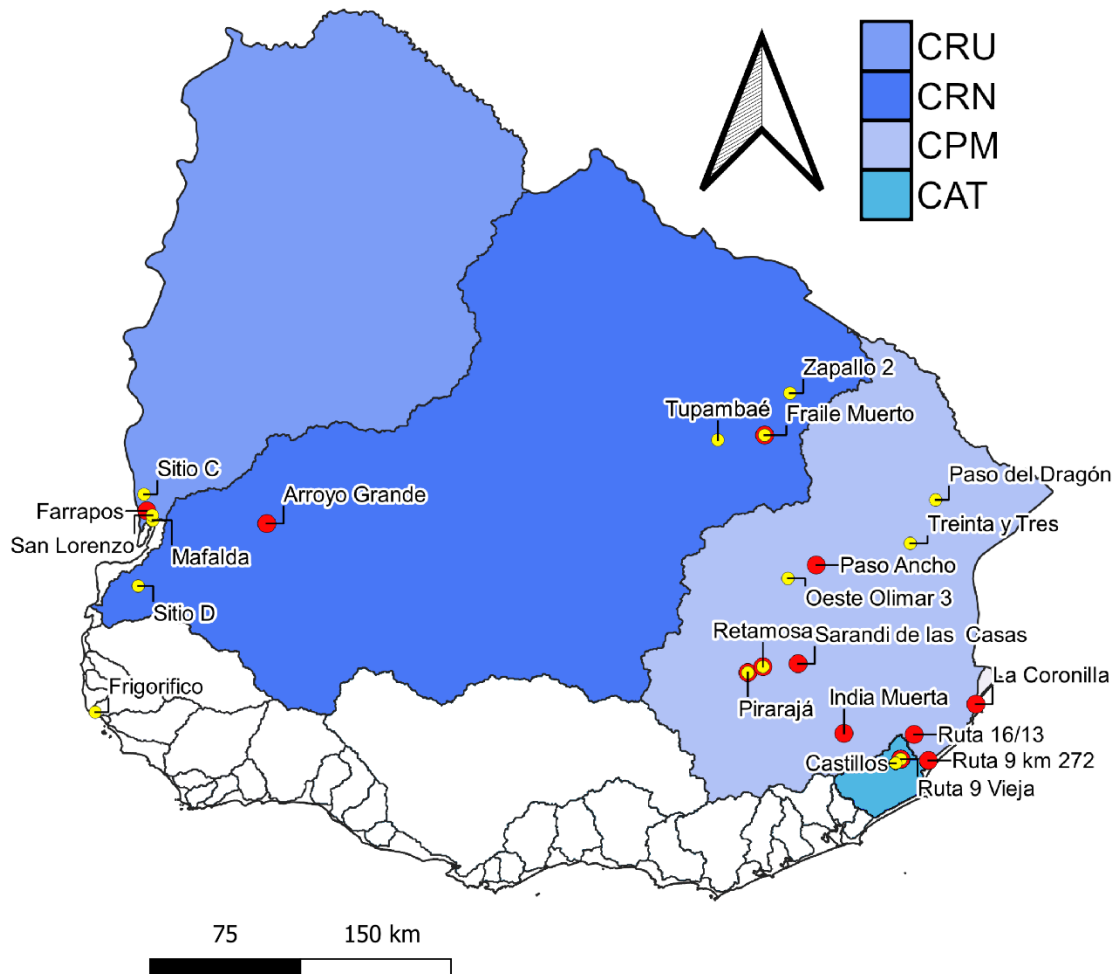


Figura 1. Charcos temporales muestreados en los años 2018 (puntos amarillos) y 2019 (puntos rojos). Los mismos son nombrados en función de la ruta, río o pueblo más cercano para hacer referencia a los mismos a lo largo del trabajo. Se muestra la sección uruguaya de las cuencas hidrográficas en donde se localizan los charcos muestreados durante el 2019 y la gran mayoría de las del 2018 (a excepción de Frigorífico). CAT: Cuenca Atlántica; CRN: Cuenca del Río Negro; CRU: Cuenca del Río Uruguay; CPM: Cuenca Patos-Merín. Mapa realizado mediante el programa libre QGISv3.4.

Tabla 3. Coordenadas geográficas de los charcos temporales muestreados en los años 2018 y el 2019.

	Sitio	Latitud	Longitud
2018	Castillos	34°13'16.04" S	53°57'26.44" W
	Fraile Muerto	32°25'01.88" S	54°40'41.80" W
	Frigorífico	33°56'24.48" S	58°21'46.50" W
	Mafalda	32°53'06.20" S	58°02'46.40" W
	Oeste Olimar 3	33°12'15.86" S	54°32'59.70" W
	Paso del Dragón	32°46'24.88" S	53°44'13.14" W
	Pirarajá	33°43'21.62" S	54°46'15.57" W
	Retamosa	33°41'25.79" S	54°41'15.25" W
	Ruta Vieja	34°11'54.88" S	53°55'44.63" W
	San Lorenzo	32°51'28.50" S	58°02'56.70" W
	Sitio C	32°44'34.00" S	58°05'40.00" W
	Sitio D	33°14'47.10" S	58°07'34.64" W
	Treinta y Tres	33°00'44.18" S	53°52'36.94" W
	Tupambaé	32°26'37.42" S	54°56'10.37" W
Zapallo 2	32°11'10.33" S	54°32'19.67" W	
2019	Arroyo Grande	32°90'38.36" S	57°41'85.53" W
	E. de Farrapos	32°83'37.16" S	58°07'84.26" W
	Fraile Muerto	32°25'01.88" S	54°40'41.80" W
	India Muerta	34°05'67.33" S	54°24'18.72" W
	La Coronilla	33°89'62.65" S	53°51'55.24" W
	Paso Ancho	33°13'13.11" S	54°39'46.17" W
	Pirarajá	33°43'21.62" S	54°46'15.57" W
	Retamosa	33°41'25.79" S	54°41'15.25" W
	Ruta 16/13	34°06'31.89" S	53°85'55.04" W
	Ruta 9 Km 272	34°20'62.64" S	53°77'66.26" W
	Ruta 9 vieja	34°11'54.88" S	53°55'44.63" W
Sarandí de las Casas	33°67'38.92" S	54°49'42.62" W	

Los peces colectados fueron llevados vivos al acuario de la Facultad de Ciencias (piso 3 ala sur), donde fueron mantenidos en peceras, individualizándolos por charco para evitar el posible intercambio de parásitos de distintas localidades. El agua de las peceras fue

filtrada para prevenir cualquier tipo de contaminación de los peces, de modo que solo presentaran los parásitos del charco temporal de donde fueron extraídos. Se los alimentó con tubifex, y a las especies piscívoras con larvas de peces colectadas en el estanque de la Facultad de Ciencias. Una muestra del tubifex y de las larvas de peces fueron analizadas a microscopio óptico para descartar la presencia de parásitos en los mismos.

La eutanasia de los peces se realizó en el Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces (Facultad de Ciencias), con sobredosis de eugenol seguido de una rápida incisión cervical para eliminar cualquier posibilidad de que el pez permaneciera con vida durante la posterior disección.

Todos los procedimientos de manipulación en el campo y en el laboratorio, la mantención en el laboratorio y la eutanasia se realizaron bajo los lineamientos del protocolo 240011-002308-14, aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Facultad de Ciencias (Universidad de la República, Uruguay), que sigue las sugerencias internacionales de la AMVA para la manipulación y la eutanasia de peces (Leary et al. 2013).

Examen parasitológico

Los peces sacrificados fueron medidos (largo total y estándar) y pesados previo a su disección. Luego fueron examinados bajo lupa (microscopio binocular estereoscópico) para la búsqueda de parásitos, manteniéndolos en solución salina 0,9% (que imita el ambiente interno del pez), para que los parásitos permanezcan con vida al salir de su hábitat. Se revisó superficie corporal, narinas, boca, ano y aletas. También se extirparon las branquias y observaron individualmente bajo lupa.

Luego, los peces fueron seccionados desde el ano hasta la horquilla branquial a lo largo del vientre, exponiendo los órganos internos para la búsqueda de endoparásitos. Se revisaron los principales órganos internos. Se comenzó con el corazón ya que la sangre coagula rápidamente. El tracto digestivo se separó en estómago e intestino cuando fue

posible distinguirlos. Se buscaron parásitos enquistados en la pared exterior del tracto y se abrió transversalmente el mismo en busca de endoparásitos adultos. En los casos donde el intestino fue muy largo, se lo subdividió en segmentos de 30 milímetros. Se tomó nota del contenido estomacal identificable a nivel macroscópico. El hígado se cortó en secciones para extraer posibles parásitos enquistados dentro del mismo, o que habitan libres dentro de los vasos sanguíneos o tubos biliares. La vesícula biliar se comprimió entre porta y cubre y se observó a microscopio. La vejiga natatoria, vejiga urinaria y riñón se extrajeron y examinaron, abriéndolos en placas de Petri individuales. Se abrió el cráneo y los ojos del pez en busca de parásitos cerebrales, del humor acuoso y/o del cristalino. Se extrajo la piel del pez en busca de parásitos enquistados en la capa subcutánea. Se disgregó el músculo axial de forma mecánica (pinzas y tijera) para buscar parásitos enquistados en músculo. Cavidad del cuerpo y mesenterios también fueron examinados. En todos los casos, si se encontraban parásitos, se los apartaba mediante el uso de pipeta Pasteur en una placa de Petri con solución salina 0,9% para lavarlos y observarlos *in vivo* antes de procesarlos. Los parásitos hallados fueron fijados según su taxonomía general (nivel Phylum, Orden o Clase), la cual implica diferencias morfo-fisiológicas que deben tenerse en cuenta para que la preservación del animal sea la mejor posible.

Digeneos y monogeneos fueron fijados aplicando calor de llama mientras se les comprimía levemente entre porta y cubreobjetos con una gota de solución salina e introduciendo paulatinamente formol 10%. Cuando la muestra estaba dañada, incompleta, o había gran cantidad de individuos, parte del material se fijó directamente en etanol 95% para posteriores análisis moleculares. El mismo procedimiento se aplicó para los cestodos, con la diferencia de que se dejaban 15-20 minutos en heladera (4°C) para relajar la musculatura. Cestodos muy largos se fijaron en secciones y preservaron en un mismo tubo de 1,5 ml. A su vez, siempre que fue posible, se guardó material fijado sin presión (solo con formol 10% caliente, a aproximadamente 70°C) para biometría. Los nemátodos fueron colocados en solución salina 0,9% caliente para que relajaran la musculatura, y luego se los fijó en etanol 70%, el mismo medio donde se preservaron. Cuando fue posible y pertinente, parte del material se fijó y preservó en glutaraldehído

para microscopía electrónica de barrido (MEB del inglés), y en alcohol 95% y frío (4°C) para genética.

Las tinciones utilizadas para platelmintos fueron siempre progresivas, con variantes del colorante carmín: carmín clorhídrico y carmín de Langeron. Se lavó el material en agua destilada durante 5 minutos, se lo expuso a una deshidratación leve en etanol 70% durante 10 minutos aproximadamente y se lo sumergió en el carmín durante el tiempo respectivo según el tipo de tinción (3-5 minutos en carmín clorhídrico, 20-30 minutos en carmín de Langeron). A continuación, los especímenes fueron deshidratados en tandas de 10 minutos en series de etanol de concentración creciente (70%, 80%, 96%, dos veces en 100%). Una vez teñido y deshidratado, los especímenes fueron diafanizados en una solución de eugenol - etanol 70% (proporción 1:1), y montados de forma permanente en Entellan® o Bálsamo de Canadá, según la disponibilidad del medio de montaje. Los nematodos fueron montados de forma transitoria, diafanizándolos en alcohol glicerinado y colocándolos entre porta y cubre para su observación.

Los parásitos fueron observados bajo microscopía óptica con microscopio Olympus BX41, se les tomó microfotografías mediante cámara digital adaptada, y midieron con el programa libre ImageJ. Las ilustraciones fueron *in silico*, mediante tableta digital Genius i608X usando el programa libre GIMP2. Todas las medidas fueron expresadas en micrómetros, de la forma: promedio \pm desvío estándar (mínimo-máximo); a no ser que se mencione lo contrario. Cuando no fue posible calcular promedio ni desvío, se muestra la única medida disponible.

Las identificaciones taxonómicas se realizaron mediante las claves de Beberley-Burton (1984) y Thatcher (2006), actualizada mediante el catálogo de especies Sudamericanas de Cohen et al. (2013) y con la base de datos en línea NCBI Taxonomy (Schoch et al. 2020), WormSpecies y ITIS para Monogenea (Trematoda). Sey (1991), Gibson et al. (2002), Jones et al. (2005) y Bray et al. (2008) para Digenea (Trematoda). Rego et al. (1999) y Thatcher (2006) para Cestoda, y Moravec (1998) para Nematoda, además de

una búsqueda bibliográfica exhaustiva pertinente a las particularidades de cada taxa de parásito hallado.

Métodos de sistemática molecular

Para análisis de sistemática molecular se extrajo ADN total de especímenes enteros utilizando digestión por proteinasa K, seguido por extracción con cloruro de sodio y precipitación por etanol (modificado de Medrano et al. 1990). Amplificación por PCR (polymerase chain reaction, del inglés) del gen citocromo oxidasa I (COX1) se realizó siguiendo los pasos propuestos por Steenkiste et al. (2014) para el trabajo con platelmintos. Los cebadores utilizados fueron los mismos descritos en el artículo: Dice1F (Moszczyńska et al. 2009) y Dice11R (Steenkiste et al. 2014), debido a su alta efectividad reportada (>80%; Steenkiste et al. 2014). La secuenciación genómica de los amplicones se llevó a cabo a través del servicio de secuenciación comercial de Macrogen (ABI 3730xl System).

Las secuencias de referencia utilizadas para los análisis de sistemática molecular se descargaron de las bases de datos de GenBank y WormBase ParaSite, siguiendo el criterio de que los organismos incluidos en el árbol presentaran similitud genética (observada mediante la herramienta BLAST), morfológica y ecológica. El alineamiento de las secuencias se realizó mediante el algoritmo MUSCLE en el programa MEGA v.10 (Kumar et al. 2018). Adicionalmente, se utilizó el software libre DnaSP v.6 (Rozas et al. 2017) para determinar la existencia de haplotipos y eliminar posibles redundancias en el análisis. El modelo de sustitución nucleotídica (modelo evolutivo) utilizado fue evaluado mediante el Criterio de Información de Akaike (Akaike 1974), Criterio corregido de Información de Akaike (Sugiura 1978), y el Criterio de Información Bayesiana (Schwarz 1978), según el programa JModeltest v.2.1.3 (Darriba et al. 2012), mediante la plataforma en línea CIPRES (Miller et al. 2010).

Los árboles filogenéticos de máxima verosimilitud (maximum likelihood) se construyeron mediante el programa PhyML v3.0 (Guindon et al. 2010), ponderando los nodos de los

clados mediante análisis de Bootstrap (1000 pseudorrelicas). Los árboles correspondientes a inferencia bayesiana se llevaron a cabo corriendo cuatro cadenas de Markov con 50 millones de generaciones, a través del programa MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist, 2001), en la plataforma en línea CIPRES (Miller et al. 2010). Se utilizó el paquete Tracer v1.7 (Rambaut et al. 2018) para verificar estacionalidad luego del proceso. La diferenciación entre linajes incluidos en el análisis se evaluó computando la distancia genética p entre los mismos (1000 pseudorrelicas de bootstrap), mediante el programa MEGA v.10 (Kumar et al. 2018).

Métodos para microscopía electrónica de barrido (MEB)

El material fijado y conservado en glutaraldehído al 2,5% en buffer de fosfato se lo lavó en el mismo buffer tres veces para quitar el fijador. Luego se procedió a deshidratarlo en series de etanol de concentración creciente de 70%, 80%, 90%, 95%, y finalmente repitiendo dos veces el pasaje por etanol absoluto. Al material deshidratado se le realizó secado de punto crítico con CO₂, se lo montó sobre cinta de carbono en los portaobjetos especializados para MEB y luego se lo metalizó con plasma de oro. una vez finalizado este proceso, se observaron y fotografiaron las muestras a microscopio electrónico de barrido (Jeol JSM-5900LV).

Índices parasitológicos

Los índices parasitológicos se calcularon según Bush et al. (1997), utilizando el software libre QPweb (Reiczigel et al. 2019) para el cálculo de intervalos de confianza del 95%, tanto de la prevalencia (mediante el método de Blaker; IC) y de la intensidad media de infección (mediante el medio de Bootstrap con sesgo corregido y acelerado, o *bias-corrected and accelerated bootstrap*; BCa).

2.2 RESULTADOS Y COMENTARIOS

Durante los meses de junio a septiembre del año 2018, y agosto a octubre del 2019, se realizaron muestreos en distintos charcos temporales del este y oeste del Uruguay, acompañando el gradiente de especies dentro del género *Austrolebias*. En el 2018 se muestrearon 15 charcos, se extrajo un total de 127 peces y se halló un total de 114 parásitos en los mismos. En el 2019, se muestrearon 12 charcos, se colectaron 259 peces y se halló un total de 2152 parásitos en los mismos.

Los parásitos hallados en las distintas especies de *Austrolebias* se clasificaron en un total de 18 taxa. De estos, 5 correspondieron con individuos adultos, de las cuales solo en 4 pudo determinarse la especie. Estos correspondieron a una especie de monogeneo (*Gyrodactylus sp.*), 3 trematodos (*Catadiscus uruguayensis*, *Dendrorchis pampae*, y *Ophiodiplostomum cf. spectabile*), y una especie de cestode (*Chambriella sp.*). Las formas larvales no permitieron mayor resolución taxonómica que género, familia y en algunos casos orden, debido a la carencia de estructuras internas (gónadas), a que las bases de datos de secuenciación de COX1 no contenían referencias que permitieran identificarlas, y/o a que en algunos casos los ejemplares fueron muy pocos o en mal estado como para determinar especie con seguridad. Con estas consideraciones, se definieron 7 morfotipos de metacercarias (*Strigea sp.*, *Opisthgonimus sp.*, *Travtrema sp.*, *Opisthorchiidae*, *Posthodiplostomum sp. 1 y 2*, y *Tylodelphys sp.*), 3 metacestodes (*Valipora cf. campylancristrota*, *Sparganum aff. proliferum*; cisticercoide de la familia *Proteocephalidae*), y 3 larvas de nemátodos (*Contraecum sp. tipo 2 y 3 sensu* Moravec, 1998; larvas L3 del orden *Rhabditida* clasificadas como *species inquerenda*).

En función de que el muestreo en el 2019 fue mucho más satisfactorio y, en cuanto a resultados taxonómicos, abarcó todo lo encontrado en el 2018, se decidió reportar la prevalencia y la intensidad media solamente en función de los resultados parasitológicos del año 2019 (Tab. 4).

Tabla 4. Resumen de parásitos, sitio de infección, mes de muestreo (Ago: agosto; Oct: octubre), sitio de muestreo, hospedadores, prevalencia (intervalos de confianza del 95% según método de Blake), e intensidad media (mediante método de bootstrap acelerado y corrección de sesgo (BCa)) correspondiente al año 2019. A. aff) *Austrolebias affinis*; A. ale) *A. alexandri*; A. ara) *A. arachan*; A. bel) *A. bellottii*; A. cha) *A. charrua*; A. che) *A. cheradophilus*; A. gym) *A. gymnoventris*; A. jua) *A. juanlangi*; A. lut) *A. luteoflammulatus*; A. nig) *A. nigripinnis*; A. pro) *A. prognathus*; A. qui) *A. quirogai*; A. vaz) *A. vazferreirai*; A. via) *A. viarius*; A. wol) *A. wolterstorffi*. AG) Arroyo Grande; EdF) Esteros de Farrapos; FM) Fraile Muerto; IM) India Muerta; LC) La Coronilla; PA) Paso Ancho; PIR) Pirarajá; R1613) Ruta 16/13; R9272) Ruta 9 km 272; R9V) Ruta 9 vieja; RET) Retamosa; SIC) Sarandí de las Casas.

	Sitio de Infección	Charco	Hosp	P (IC) 95%	IM (BCa)	
Monogenoidea						
<i>Gyrodactylus sp.</i>	Branquias	Ago	EdF	<i>A. nig</i>	11 (1-44)	1 (N/A)
			FM	<i>A. vaz</i>	9 (2-27)	1 (N/A)
			R1613	<i>A. che</i>	7 (0,3-30)	1 (N/A)
Digenea adultos						
<i>Catadiscus uruguayensis</i>	Intestino	Ago	RET	<i>A. pro</i>	25 (1-75)	3 (N/A)
<i>Phyllodistomum pampae</i> n. comb.	Vejiga urinaria	Ago	FM	<i>A. vaz</i>	4 (0,2-21)	1 (N/A)
			LC	<i>A. cha</i>	42 (18-71)	14 (9-17)
			R9V	<i>A. via</i>	4 (0,2-20)	4 (N/A)
<i>Ophiodiplostomum cf. spectabile</i>	Músculo	Ago	LC	<i>A. cha</i>	27 (10-54)	2 (1-4)
Digenea larvales						
<i>Strigea sp.</i>	Músculo	Ago	FM	<i>A. vaz</i>	4 (0,2-21)	1 (N/A)
			EdF	<i>A. bel</i>	50 (10-90)	2 (1-2)
				<i>A. nig</i>	11 (1-44)	1 (N/A)
		Oct	EdF	<i>A. ale</i>	7 (0,4-31)	5 (N/A)
				<i>A. bel</i>	23 (11-42)	6 (2-11)
<i>Opisthogonimus sp.</i>	Músculo, Mesenterio	Ago	LC	<i>A. cha</i>	8 (0,4-37)	12 (N/A)
			PA	<i>A. wol</i>	11 (2-32)	3 (2-3)
			RET	<i>A. che</i>	17 (1-59)	6 (N/A)
			EdF	<i>A. ale</i>	40 (15-72)	1,25 (1-2)
				<i>A. bel</i>	50 (1-90)	1 (N/A)
				<i>A. nig</i>	56 (25-83)	2 (1-4)
			FM	<i>A. qui</i>	40 (15-72)	45 (9-78)
				<i>A. vaz</i>	61 (39-79)	50 (31-87)
		Oct	R9272	<i>A. cha</i>	17 (3-46)	28 (26-28)
			SIC	<i>A. gym</i>	33 (2-87)	1 (N/A)
			AG	<i>A. aff</i>	68 (45-85)	7 (4-11)
	EdF	<i>A. ale</i>	14 (3-42)	1 (N/A)		
		<i>A. bell</i>	8 (1-24)	3 (1-5)		

<i>Travtrema</i> sp.	Músculo, Mesenterio	Ago	EdF	<i>A. nig</i>	8 (0,4-34)	2 (N/A)
			LC	<i>A. cha</i>	25 (7-54)	27 (1-52)
		Oct	AG	<i>A. aff</i>	42 (22-66)	2 (1-4)
			EdF	<i>A. bel</i>	8 (1-24)	5 (1-5)
Opisthorchiidae	Músculo, Mesenterio	Ago	FM	<i>A. vaz</i>	13 (4-32)	2 (1-2)
			LC	<i>A. cha</i>	42 (18-71)	2 (1-4)
			R1613	<i>A. cha</i>	7 (0,3-30)	2 (N/A)
			R9V	<i>A. via</i>	13 (4-31)	2 (1-3)
				<i>A. lut</i>	17 (1-59)	1 (N/A)
		Oct	R9272	<i>A. cha</i>	67 (37-88)	19 (5-54)
			AG	<i>A. aff</i>	16 (4-39)	2 (1-4)
			EdF	<i>A. ale</i>	29 (10-58)	6 (4-9)
				<i>A. bel</i>	15 (5-34)	6 (2-13)
				<i>A. nig</i>	54 (26-78)	15 (1-49)
			SIC	<i>A. gym</i>	33 (2-87)	6 (N/A)
	<i>A. cha</i>		100 (5-100)	3 (N/A)		
<i>Posthodiplostomum</i> sp. 1	Músculo	Ago	FM	<i>A. vaz</i>	4 (0,2-21)	5 (N/A)
			PA	<i>A. wol</i>	42 (22-66)	4 (2-5)
<i>Posthodiplostomum</i> sp. 2	Músculo	Oct	IM	<i>A. cha</i>	100 (22-100)	20 (1-20)
		Ago	PA	<i>A. wol</i>	16 (4-39)	2 (1-3)
<i>Tylodelphys</i> sp.	Hígado	Ago	PA	<i>A. wol</i>	5 (0,3-25)	2 (N/A)
			PIR	<i>A. che</i>	32 (15-55)	8 (4-14)
			RET	<i>A. che</i>	33 (6-73)	4 (N/A)
Cestodos adultos						
<i>Chambriella</i> sp.	Celoma	Ago	PA	<i>A. wol</i>	5 (0,3-25)	1 (N/A)
			R1613	<i>A. cha</i>	27 (10-54)	2 (1-2)
Cestodos larvales						
<i>Sparganum</i> aff. <i>proliferum</i>	Celoma	Ago	LC	<i>A. cha</i>	67 (37-88)	8 (4-13)
			PA	<i>A. wol</i>	5 (0,3-25)	1 (N/A)
			PIR	<i>A. che</i>	5 (0,2-22)	1 (N/A)
			RET	<i>A. che</i>	17 (0,9-59)	3 (N/A)
			R1613	<i>A. cha</i>	20 (6-47)	4 (1-6)
			R9V	<i>A. via</i>	4 (0,2-20)	1 (N/A)
		Oct		<i>A. lut</i>	17 (0,9-59)	1 (N/A)
			IM	<i>A. cha</i>	50 (3-98)	4 (N/A)
			R9272	<i>A. cha</i>	33 (12-63)	3 (1-5)
			SIC	<i>A. gym</i>	33 (2-87)	12 (N/A)
<i>Valipora</i> cf. <i>campylancristrota</i>	Vejiga urinaria Mesenterio	Ago	R9V	<i>A. via</i>	42 (23-63)	4 (2-7)
				<i>A. lut</i>	50 (15-85)	3 (1-4)
			PIR	<i>A. che</i>	14 (4-34)	2 (1-3)

			RET	<i>A. pro</i>	25 (1-75)	1 (N/A)
			R1613	<i>A. cha</i>	47 (22-71)	4 (2-7)
		Oct	R9272	<i>A. cha</i>	25 (7-54)	7 (2-11)
			SIC	<i>A. gym</i>	33 (2-87)	1 (N/A)
			AG	<i>A. aff</i>	84 (61-96)	3 (2-3)
			EdF	<i>A. ale</i>	14 (3-42)	1 (N/A)
				<i>A. bel</i>	4 (0,2-18)	1 (N/A)
Nematodos larvales						
<i>Contracaecum</i> sp. tipo 2	Celoma	Oct	EdF	<i>A. bel</i>	8 (1-24)	2 (N/A)
			R9272	<i>A. cha</i>	8 (0,4-37)	1 (N/A)
<i>Contracaecum</i> sp. tipo 3	Celoma	Oct	R9272	<i>A. cha</i>	17 (3-46)	1 (N/A)
Nematodo L3	Hígado, Corazón	Ago	LC	<i>A. cha</i>	8 (0,4-37)	1 (N/A)
			R1613	<i>A. cha</i>	13 (2-39)	2 (1-2)
			R9V	<i>A. via</i>	4 (0,2-20)	1 (N/A)
		Oct	SIC	<i>A. gym</i>	33 (2-87)	2 (N/A)

Descripciones e identificación taxonómica

Las descripciones de todos los organismos parásitos encontrados en las especies de *Austrolebias* estudiadas siguieron el siguiente formato: identidad sistemática, descripción morfológica y/o molecular (según corresponda; incluye tablas y figuras necesarias en cada caso), resumen taxonómico y comentarios. Todas las medidas se reportan en micrómetros, por lo cual no se utilizan símbolos de unidades. Las medidas tienen el formato: promedio \pm desvío estándar (mínimo-máximo), explicitando las excepciones. Cabe destacar que, por practicidad a la hora del análisis de los resultados debido a la escasez de peces y bajas abundancias encontrada durante el año 2018, solo se utilizaron los datos provenientes de los muestreos del 2019 para el cálculo de prevalencia e intensidad media. A su vez, para aquellos parásitos hallados durante los dos meses de muestreo, los índices parasitológicos se reportan para ambos meses de muestreo (agosto y octubre) por separado. Nada de esto influye en los resultados netamente taxonómicos ya que todo lo hallado durante el 2018, también se halló durante el 2019.

Phylum Platyhelminthes

Clase Monogenoidea Carus, 1863

Subclase Monopisthocotylea Odhner, 1912

Orden Gyrodactylidea

Familia Gyrodactylidae Cobbold, 1864

Género *Gyrodactylus* Nordmann, 1832

***Gyrodactylus* sp. (Fig. 2)**

Medidas basadas en un ejemplar, único de los tres especímenes hallados del cual se pudieron observar las estructuras duras del opistoaptor con claridad, es decir anclas, ganchos marginales, barra superficial y barra profunda, aunque solo algunos de los ganchos marginales pudieron verse en detalle. Las medidas se tomaron siguiendo lo estipulado por Shinn et al. (1996).

Anatomía general típica de gyrodactylidos con región cefálica poseyendo dos bulbos cefálicos posiblemente glandulares (no pudo observarse) con manchas oculares y la boca en la superficie ventral. Cuerpo fusiforme, levemente ensanchado en la región media por causa del útero vivíparo; largo total del cuerpo 575, ancho máximo 174. Faringe por debajo de la boca circular, muscular conspicua, esférica; largo 47, ancho 48. Se observa una estructura ovalada entre la faringe y el útero que posiblemente sea el órgano copulatorio masculino, pero no pudieron observarse detalles de escleritos ni estructura interna; largo 34, ancho 24. No se observa esófago, enseguida luego de la faringe surgen los ciegos intestinales que se extienden hasta el extremo posterior del espacio uterino, pero no se conectan. Espacio uterino ovalado; largo 247, ancho 129. En el espacio uterino se gestan dos generaciones (un embrión que gesta otro embrión). Ovario ovalado, entre los extremos distales de los ciegos intestinales, levemente comprimido por el extremo posterior del espacio uterino ensanchado; largo 31, ancho 39. Vitelario ausente. Testículo ovalado en el espacio entre el ovario y el opistoaptor; largo 33, ancho 53. Opistoaptor en el extremo terminal con dos hamuli sin raíz interna ni proyecciones visibles, articulados por una barra ventral sin escudo y una barra dorsal, y

16 ganchos marginales sin filamentos. Esclerito haptorial cilíndrico ausente. Las medidas de los elementos del opistoaptor se exponen en la Tabla 5.

Tabla 5. Medidas basadas en los elementos del opistoaptor de un ejemplar y su embrión, tomadas según Shinn et al. (1996). A: Ancho, L: Largo, N/A: No Aplica.

Hamulus	L Total	68 ± 5,6 (60-76)
	L Mango	53 ± 4,9 (44-56)
	L Punta	23 ± 7,0 (18-35)
	L Raíz	17 ± 3,3 (14-22)
Barra ventral	L	32 ± 0,3 (31-32)
	A	7 ± 0,1 (N/A)
Barra dorsal	L	27 ± 3,0 (25-29)
	A	3 ± 0,01 (N/A)
Ganchos marginales	L Total	24 ± 1,7 (21-26)
	L Mango	19 ± 1,5 (16-21)
	L Hoz	5 ± 0,7 (3-6)
	A Hoz Hoja	3 ± 0,5 (2-4)
	A Hoz Base	3 ± 0,3 (2-3)

Comentarios

En función de que solo se contó con un ejemplar para realizar la descripción morfológica, y de que no pudieron realizarse disecciones de los escleritos del opistoaptor para visualizarse en detalle las barras y todos los ganchos marginales (ya que todos los organismos se montaron de forma permanente y algunos estaban en mal estado), para la ilustración se asumió que todos los ganchos marginales presentaban simetría, como es lo más usual en las especies del género *Gyrodactylus*. En función de esto, no fue posible realizar una identificación a nivel específico. Sin embargo, la presencia de un par de hamuli, las dos barras laterales dorsal y ventral, y los ganchos marginales, y condición vivípara permiten ubicar este monogeneo dentro del género mencionado.

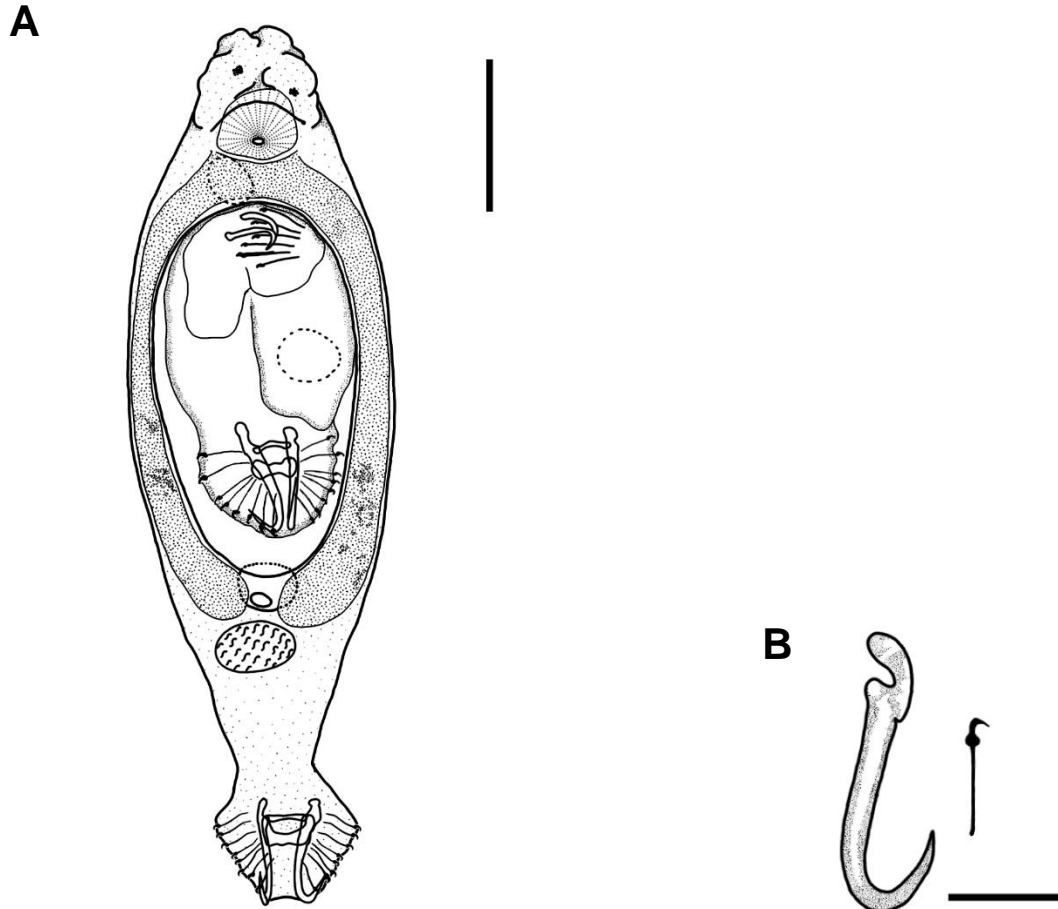


Figura 2. *Gyrodactylus* sp. Nordmann, 1832 obtenido de los filamentos branquiales de *Austrolebias nigripinnis* provenientes del Departamento de Río Negro, *A. vazferreirai* del Departamento de Cerro Largo, y *A. cheradophilus* del Departamentos de Rocha. A) Vista general de la anatomía del monogeneo; escala 100 μ m. B) Detalle de hamulus y gancho marginal; escala 25 μ m. Las barras ventral y dorsal no pudieron verse con el detalle necesario para ilustrarlas de forma confiable.

Resumen taxonómico

Localidad: Esteros de Farrapos (Depto. de Río Negro); Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo); Ruta 16/13 (Depto. De Rocha).

Hospedador: *Austrolebias nigripinnis*, *A. vazferreirai*, *A. cheradophilus*.

Sitio de infección: filamentos branquiales.

Prevalencia (IC): 11 (1-44) %; 9 (2-27) %; 7 (0,3-30) % (respectivamente).

Intensidad media (BCa): 1(N/A) (*idem* para todos).

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Superfamilia Paramphistomoidea Fischoeder, 1901

Familia Diplodiscidae Cohn, 1904

Genero *Catadiscus* Cohn, 1904

***Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 (Fig. 3)**

Descripción general basada en 3 organismos coloreados y montados de forma permanente tal como se describe en materiales y métodos.

Cuerpo sub-piriforme con tegumento liso, superficie de la región anterior con pigmentación irregular. Largo total 1277 ± 218 (1100-1520), ancho al nivel ecuatorial 405 ± 31 (370-430). Apertura bucal con bordes ondulados, diámetro 133 ± 15 (120-150). Faringe (*sensu* Jones et al. 2005) inmediatamente debajo de la apertura bucal, fuertemente muscular, con sacos faríngeos (*sensu* Jones et al. 2005) presentes, musculosos, extramurales; largo 211 ± 13 (200-225), ancho 169 ± 4 (165-173). Esófago presente, delgado; largo 97 ± 15 (80-110). Bulbo faríngeo muscular; largo 103 ± 20 (80-115), ancho 90 ± 17 (70-100); largo del bulbo faríngeo representa un 8% del total del cuerpo. Ciegos intestinales cortos, extendiéndose hasta el nivel ecuatorial, largo 301 ± 57 (250-405). Acetábulo subterminal, con estrechamiento medial presente; largo 386 ± 23 (350-393), ancho 323 ± 13 (310-335); largo acetabular representa 29% del largo total; largo de la faringe representa 28% del largo acetabular.

Poros genital al nivel de la bifurcación intestinal. Saco del cirro pequeño; largo 141 ± 8 (134-150), ancho 37 ± 8 (30-45); extremo distal mostrando vesícula seminal con reservorio de esperma. Vitelario agrupado en varios folículos, con distribución mayormente en los laterales del cuerpo, tocando o sobrepasando el extremo posterior de los ciegos intestinales. Testículo intercecal, ovalado; largo 112 ± 10 (100-120), ancho 56 ± 21 (33-75). Ovario post-testicular, opuesto diagonalmente al testículo, ovalado; largo 108 ± 16 (90-120), ancho 77 ± 13 (65-90). Glándulas de Mehlis visibles sobre el margen

posterior del ovario. Útero complejo, ocupando toda la región post-cecal del cuerpo. Huevos operculados; largo 81 ± 4 (78-86), ancho 43 ± 2 (41-45).

Comentarios

La identificación taxonómica basada en Sey (1991) y Jones et al. (2005) coloca a los especímenes bajo el género *Catadiscus*, debido a los divertículos orales extramurales, la presencia de un saco del cirro, la presencia de un solo testículo y la distribución del vitelario. Los ejemplares son morfológica y biométricamente coincidentes con la especie *Catadiscus uruguayensis*. De acuerdo con Sey (1991), la principales características de esta especie son: ciegos intestinales cortos, folículos vitelinos simétricamente distribuidos en los laterales del cuerpo sin confluir anteriormente, proporción largo del acetábulo – largo total del cuerpo menos a 1:4, huevos de tamaño mayor a 0,1 milímetro, y testículos y ovario separados por las vueltas uterinas.

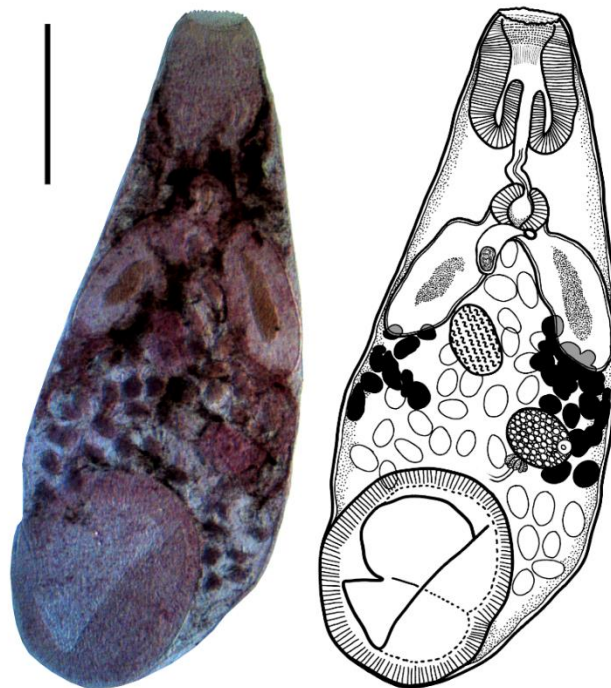


Figura 3. *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 obtenido de la primer porción intestinal de *Austrolebias prognathus* provenientes del Departamento de Lavalleja. Escala 300 μ m.

Resumen taxonómico

Localidad: Retamosa (Depto. de Lavalleja).

Hospedador: *Austrolebias prognathus*.

Sitio de infección: primer porción del intestino.

Prevalencia (IC): 25 (1-75) %.

Intensidad media (BCa): 3 (N/A).

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Familia Gorgoderidae Looss, 1899

Género *Phyllodistomum* Braun, 1899

***Phyllodistomum pampae* (Monteiro, Wendt & Zebal, 2018) n. comb (Fig. 4)**

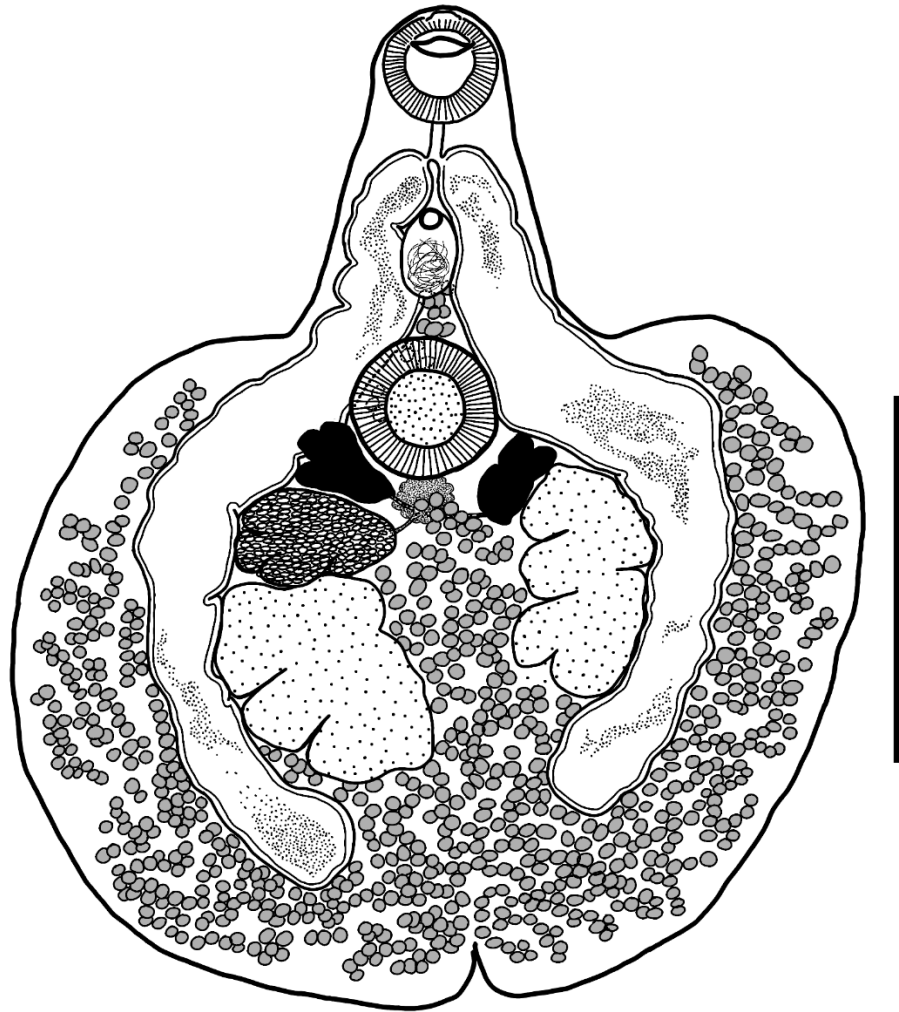
Descripción basada en 10 individuos teñidos y montados permanentemente. Cuerpo sin espinas, comprimido dorsoventralmente, dividido en dos zonas claramente distinguibles, largo total (LT) 1374 (216; 1030-1730). Región Anterior (RA) angosta, 441 (77; 330-530) de largo y 274 (29; 230-320) de ancho. Región Posterior (RP) amplia, foliar, con márgenes lisos, 921 (149; 705-1200) de largo y 1087 (153; 890-1300) de ancho. Relación RA-LT 32%; RP-LT 67%. Ventosa oral (VO) bien desarrollada, subterminal, ventral, 157 (20; 125-200) de largo, 151 (22; 118-190) de ancho, con 10 papilas en torno al borde (Fig. 4B) y otras distribuidas en la región sin patrón aparente. Esófago (tramo pre-bifurcal) corto, simple, 71 (33; 35-150) de longitud. Ciegos intestinales anchos, simples, con bifurcación preacetabular, ramas extendiéndose hasta la zona posterior de la RP. Acetábulo (AC) bien desarrollado, circular, en la transición entre RA y RP, 195 (24; 170-230) de largo, 196 (26; 145-235) de ancho. Relación largo VO:AC 81 (9; 69-94) %, ancho 77 (5; 71-86) %. Glándulas vitelarias aglomeradas en masas pareadas, pequeñas, de forma irregular, cuasi-triangular; vitelario izquierdo (Vizq) 156 (43; 95-260) de largo y 75 (26; 35-115) de ancho, vitelario derecho (Vder) 149 (35; 105-235) de largo y 66 (13; 40-

85) de ancho. Los vitelarios se unen por un ducto vitelino. Ovario (Ov) único, amfitípico, posterior a glándulas vitelógenas, pre-testicular y muy cercano o contactando con testículo del mismo lado, lateral o sub-lateral al testículo del lado opuesto, de forma irregular, cuasi-ovalado, 221 (32; 173-270) de largo y 113 (23; 70-140) de ancho. Oviducto se ensancha en ootipo, rodeado por células columnares de la glándula de Mehlis, y se conecta con el ducto vitelino. Testículos pareados, cuasi-ovalados, con melladuras moderadamente profundas, ligeramente oblicuos uno respecto del otro, testículo posterior (TP) 344 (63; 270-440) de largo y 197 (47; 110-265) de ancho; testículo anterior (TA) 324 (72; 185-415) de largo y 186 (41; 120-255) de ancho. Relación TP:LT 23 (3; 16-28)%, TA:LT 25 (3; 22-31)%. Vesícula seminal (Vsem) sacciforme, preacetabular, 119 (24; 75-150) de largo y 68 (18; 25-88) de ancho, con residuo seminal, desemboca en gonoporo ubicado inmediatamente posterior a la bifurcación intestinal. Saco del cirro y cirro ausentes, canal de Laurer no observado. Huevos pequeños, no operculados, esféricos u ovalados, 24 (1; 21-25) de largo y 18 (1; 16-20) de ancho. Vesícula excretora no visible, poro excretor subterminal. Melladura terminal presente.

Comentarios

Las características morfológicas de este digeneo lo asemejan, dentro de la familia Gorgoderidae, a los representantes de los géneros *Phyllodistomum* y *Dendrorchis*, que a su vez presentan una morfología muy similar entre sí. Monteiro et al. (2018) describen a *Dendrorchis pampae* para un pez anual de Brasil, cuyas características coinciden ampliamente con los ejemplares hallados en *Austrolebias*. Sin embargo *D. pampae* presenta los bucles uterinos que nunca penetran de forma notoria hacia la porción anterior del cuerpo. Este es un carácter diagnóstico del género *Phyllodistomum* y que lo diferencian de *Dendrorchis* (Gibson et al. 2005; Volonterio & Ponce de León 2005). En función de esto, se opina que la especie descrita por Monteiro et al. (2018) debería ubicarse dentro del género *Phyllodistomum*, y nombrarse *Phyllodistomum pampae* (Monteiro, Wendt & Zebal, 2018) n. comb.

A



B

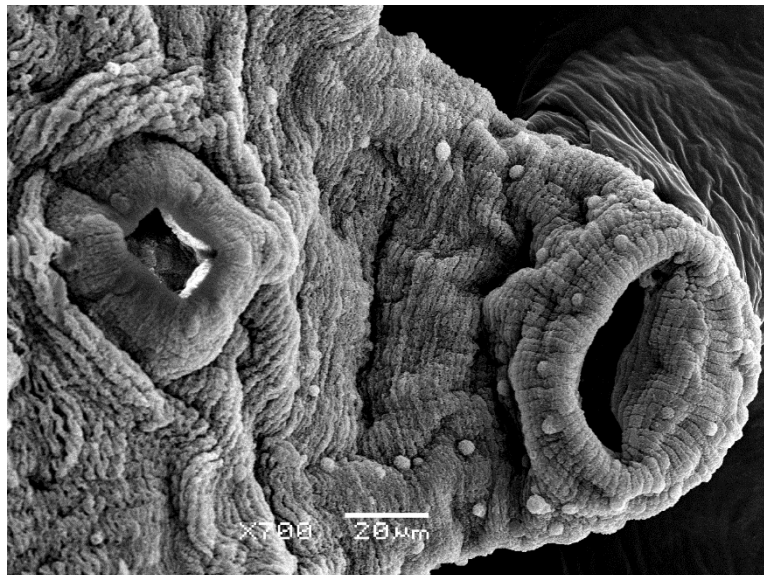


Figura 4. Ilustración (A) y microscopía electrónica de barrido de la región anterior (B) de *Phyllodistomum pampae* (Monteiro, Wendt & Zebral, 2018) n. comb. obtenido de la vejiga urinaria de *Austrolebias vazferreirai* provenientes del Departamento de Cerro Largo, y *A. viarius*, y *A. charrua* del Departamento de Rocha. Los huevos no están insertos en el parénquima, sino que se encuentran dentro de los bucles uterinos, pero no fue posible dibujar el útero debido a su complejidad. Escala de A: 500 µm.

Resumen Taxonómico

Localidad: Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo); Ruta 9 vieja; La Coronilla (Depto. de Rocha), respectivamente.

Hospedador: *Austrolebias vazferreirai*; *A. viarius*; *A. charrua*.

Sitio de infección: vejiga urinaria.

Prevalencia (IC): 4 (0,2-21) %; 4 (0,2-20) %; 42 (18-71) %, respectivamente.

Intensidad media (BCa): 1 (N/A); 4 (N/A); 14 (9-17), respectivamente.

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood, 2003

Familia Proterodiplostomidae Dubois, 1936

Género *Ophiodiplostomum* Dubois, 1936

***Ophiodiplostomum cf. spectabile* Dubois, 1936 (Fig. 5)**

Descripción basada en 5 individuos teñidos y montados permanentemente. Medidas reportadas en micrómetros, con formato: promedio (desviación estándar; mínimo-máximo).

Cuerpo bipartito, largo total 3615 (639; 2600-4225). Región anterior piriforme, cóncava ventralmente, 1640 (173; 1425-1825) de largo y 1300 (215; 1000-1600) de ancho; región posterior cilíndrica, con leve agudización terminal, 1970 (483; 1175-2400) de largo y 1010 (186; 800-1300) de ancho. Ventosa oral circular, pequeña, terminal, diámetro 140 (14;120-160). Faringe circular, pequeña, inmediatamente posterior a la ventosa oral, 96

(13; 8-115) de largo, 106 (7; 100-115) de ancho. Región intestinal pre-bifurcal (“esófago” según Dubois, 1936) corta, 208 (23; 180-240) de largo. Ciegos intestinales subterminales al extremo posterior del cuerpo. Acetábulo vestigial, diámetro longitudinal 93 (10; 80-115), diámetro transversal 100 (15; 85-120). Órgano de Brandes (o tribocítico) posterior al acetábulo, sin papilas ni glándulas visibles, con apertura alargada longitudinalmente, terminando en el borde posterior de la región anterior del cuerpo, 493 (53; 450-570) de largo y 381 (24; 350-413) de ancho.

Ovario ovalado, aproximadamente esférico, pre-testicular, medial, diámetro longitudinal 223 (45; 150-270) y transversal 204 (32;150-230). Testículos en tándem o levemente oblicuos, subiguales, situados en la zona posterior de la región posterior; testículo anterior, 263 (73; 135-320) de diámetro longitudinal, 225 (71; 100-270) de diámetro transversal; testículo posterior, 296 (68; 185-370) de diámetro longitudinal, 251 (65; 140-300) de diámetro transversal. Reservorio vitelino intertesticular. Folículos vitelarios aglomerados en grandes masas laterales, abarcando desde el borde posterior del testículo anterior hasta el borde anterior del Órgano de Brandes, a veces sobrepasando levemente. Útero intercecal, ascendiendo hasta el borde posterior de la región anterior. Paraprostata pequeña, sacciforme, 140 (22; 125-175) de largo y 45 (15-65) de ancho. Huevos ovalados, 118 (4; 111-123) de largo y 68 (6; 62-74) de ancho.

Comentarios

Siguiendo las claves de Jones et al. (2005), los individuos colectados en *Austrolebias charrua* pudieron ubicarse dentro de la subfamilia Ophiodiplostominae principalmente por la presencia de un cuerpo dividido, ausencia de pseudoventosas anteriores, órgano tribocítico grande sin papilas, testículos en tándem, ovario pretesticular y vitelarios distribuidos tanto en la región anterior como posterior del cuerpo. Además, la presencia de una paraprostata pequeña, y la ausencia de un saco paraprostático muscular, permiten ubicarlo dentro del género *Ophiodiplostomum*. Dentro del género, la especie con mayores similitudes morfológicas es *O. spectabile* Dubois, 1936 (Tab. 6). Sin

embargo, resta hacer una comparación formal con el material original para confirmar la identidad, por lo cual se denomina la especie como *conferatur*.

Tabla 6. Comparación biométrica de las especies de *Ophiodiplostomum* reportadas para Sudamérica. *Ophiodiplostomum spectabile* fue reportada en dos ocasiones con diferencias métricas que ameritaron su doble mención. A: Ancho; AC: Acetábulo; H: Huevos; L: Largo; LT: Largo Total; Ov: Ovario; Ppt: Parapróstata; RA: Región Anterior; RP: Región Posterior; TA: Testículo Anterior; TP: Testículo Posterior; VO: Ventosa Oral.

	<i>Ophiodiplostomum cf. spectabile</i>	<i>O. spectabile</i>	<i>O. spectabile</i>	<i>O. ancyloides</i>	<i>O. aristoterisi</i>
LT	3615 ± 639 (2600-4225)	1102 ± 173 (791-1358)	2000-3200	3300-4140	—
RA L	1640 ± 173 (1425-1825)	—	960-1440	2500-3240	2236-2631
A	1300 ± 215 (1000-1600)	470 ± 60 (378-550)	740-1140	900-960	2105-2342
RP L	1970 ± 483 (1175-2400)	—	1050-2100	1200-1500	1105-1736
A	1010 ± 186 (800-1300)	—	600-870	390-420	789-973
VO	140 ± 14 (120-160)	55 ± 11 (41-74)	48-75	40-60	185-246
Fr L	96 ± 13 (80-115)	73 ± 5 (65-82)	67-96	72-75	185-228
A	106 ± 7 (100-115)	47 ± 7 (39-60)	51-77	81-87	—
AC L	93 ± 10 (80-105)	48 ± 8 (39-68)	58-74	165-180	197-216
A	100 ± 15 (85-120)	76 ± 9 (51-86)	75-95	200-215	—
OT L	493 ± 53 (450-570)	90 ± 13 (77-102)	430-720	1350-1800	1184-1315
A	381 ± 24 (350-413)	85 ± 17 (69-102)	305-540	450-630	1710-2105
TA L	263 ± 73 (135-320)	365 ± 56 (307-478)	325-470	230-270	37-491
A	225 ± 71 (100-270)	259 ± 11 (218-341)	230-370	215-245	—
TP L	296 ± 68 (185-370)	154 ± 24 (137-205)	315-520	200-255	432-499
A	251 ± 65 (140-300)	217 ± 48	220-405	180-245	—
Ov L	223 ± 45 (150-270)	153 ± 32 (116-218)	150-185	150	197-216
A	204 ± 32 (150-230)	210 ± 49 (102-259)	150-185	—	—
Ppt L	140 ± 22 (125-175)	—	150-230	310-320	55-98
H L	118 ± 4 (111-123)	131 ± 27 (116-191)	90-99	108-126	92-141
A	68 ± 6 (62-74)	64 ± 12 (48-82)	54-67	60-75	49-74
OS:	151%	115%	83%	24%	94%
AC					
RA:	83%	—	91%	208%	202%
RP					
RP:L	14%	8%	22%	41%	35%
T					
Loc	Uruguay	Brasil	Brasil	Brasil	Brasil
Hosp	<i>Austrolebias charrua</i>	<i>Liophis miliaris</i>	<i>Coluber pantherinus</i>	<i>Coluber sp.</i>	<i>Liophis miliaris</i>
Cita	Este trabajo	Pinto et al. 2012	Dubois 1936	Dubois 1936	Ruiz & Rangel 1954

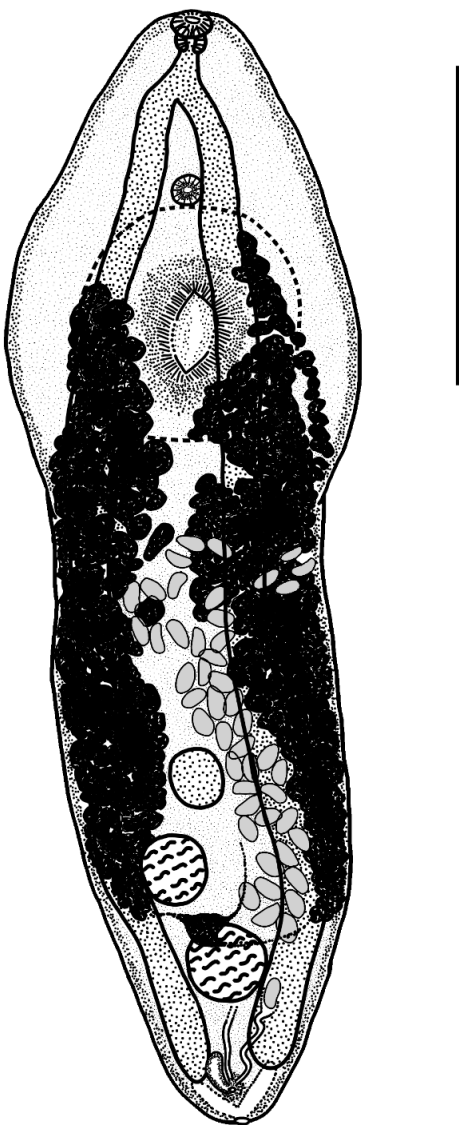


Figura 5. Ilustración de *Ophiodiplostomum cf. spectabile* Dubois, 1936 obtenido del músculo de *Austrolebias charrua* provenientes del Departamento de Rocha. Escala 1000 μm .

Resumen Taxonómico

Localidad: La Coronilla (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias charrua*.

Sitio de infección: músculo.

Prevalencia (IC): 27 (10-54) %.

Intensidad media (BCa): 2 (1-4).

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood, 2003

Superfamilia Diplostomoidea Poirier, 1886

Familia Strigeidae Railliet, 1919

Genero *Strigea* Abildgaard, 1790

Metacercaria tipo '*Tetracotyle*' (*Strigea* sp. 3 *sensu* Hamann et al. 2018) (Fig. 6)

Descripción basada en 4 individuos teñidos y montados permanentemente. Metacercaria encapsulada, de quiste grueso, de origen parasitario. Larva tetracotyliforme. Cuerpo liso, bipartito, largo total 609 (42; 575-665), dividido por surco del órgano tribocítico en región anterior con forma de copa, de largo 253 (41; 200-300) y ancho 461 (26; 425-485), y región posterior cilíndrica, un poco aplanada dorsoventralmente, de largo 356 (36; 320-375) y ancho 309 (36; 260-345). Ventosa oral terminal, musculosa, tulipiforme, largo 62 (3; 58-63) y ancho 64 (3; 60-68). Pseudoventosas cocleariformes, presentes a ambos lados de la ventosa oral, eje menor 108 (25; 80-125), eje mayor 138 (7; 133-143). Acetábulo circular, pequeño, en región anterior, largo 85 (7; 80-95), ancho 83 (2; 80-85). Órgano tribocítico presente, grande, en región posterior (debajo del surco del órgano tribocítico) con apertura horizontal, labio posterior con melladura medial; largo 157 (20; 143-186), ancho 181 (14; 160-193).

Glándulas laterales presentes, pares, cada una distribuida dentro de un saco a lo largo del margen correspondiente del cuerpo. Ciegos intestinales no visibles.

Primordio gonadal en región posterior del cuerpo, no siempre se pudo distinguir testes de ovario, por lo que se midió el conjunto (desde el borde anterior del primordio reproductor anterior hasta el borde posterior del órgano reproductor posterior), denominándolo zona del reproductor; largo 88 (11; 75-100), ancho 157 (13; 140-170). Vesícula excretora en forma de V, con apertura en poro excretor terminal.

Comentarios

El quiste grueso, la forma general del cuerpo con región anterior cóncava, la presencia de surco del órgano tribocítico ('bolsillo suctor' *sensu* Hoffman 2011), la presencia de pseudoventosas, la ventosa oral terminal, las glándulas laterales, y la disposición de los primordios del reproductor, permiten clasificar estas metacercarias dentro del morfotipo *Tetracotyle* (Hoffman 2011). Los géneros adultos reportados para este morfotipo son *Strigea*, *Cotylurus*, *Apatemon*. Las características de la metacercaria no permiten hacer mayor inferencias sobre la identificación. No obstante, varias metacercarias del género *Strigea* reportadas en anfibios de Argentina son similares biométricamente a las de halladas en *Autrolebias* (Hamann et al. 2018).

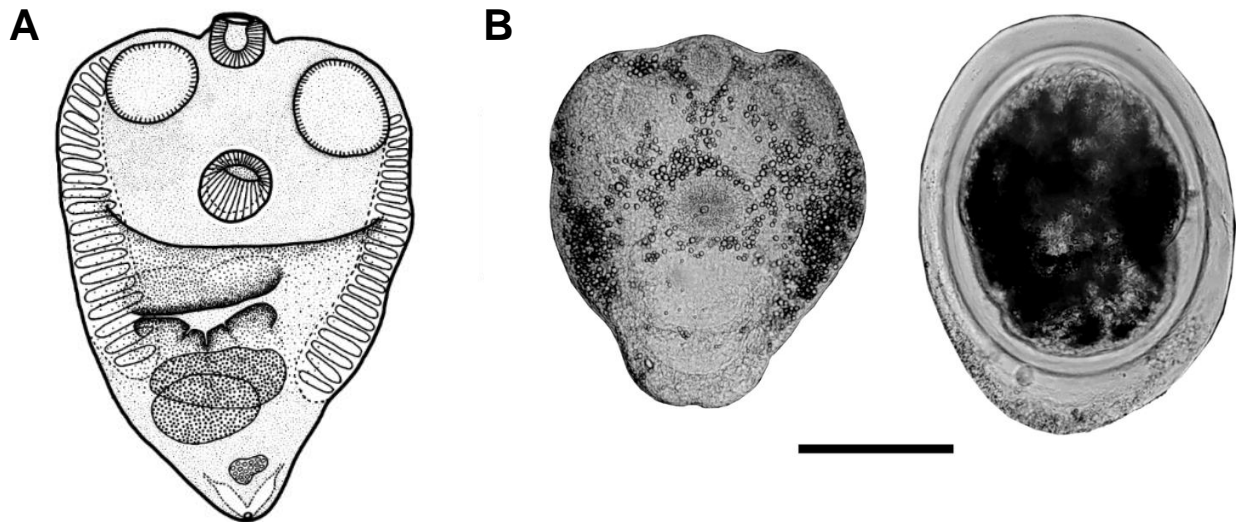


Figura 6. Metacercarias del morfotipo *Tetracotyle* sp. De Filippi, 1854 encontradas en músculo de *Austrolebias bellottii*, *A. nigripinni*, *A. alexandrii* provenientes del Departamento de Río Negro, y *A. vazferreirai* del Departamento de Cerro Largo. Nótese las diferencias en tamaño debido a la relajación muscular por el método de fijación. A) Ilustración basada en individuo muerto bajo leve presión; escala 200 μ m. B) Micrografías de individuo vivo fuera y dentro del quiste; escala 200 μ m.

Resumen Taxonómico

Localidad: Esteros de Farrapos (Depto. de Río Negro); Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo).

Hospedador: *Austrolebias bellottii*, *A. nigripinnis*, *A. alexandri*, *A. vazferreirai*.

Sitio de infección: músculo.

Prevalencia (IC):

Agosto	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	50 (10-90) %
		<i>A. nigripinnis</i>	11 (1-44) %
Octubre	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	4 (0,2-21) %
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	7 (0,4-31) %
		<i>A. bellottii</i>	23 (11-42) %
		<i>A. nigripinnis</i>	8 (0,4-34) %

Intensidad media (CBa):

Agosto	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	2 (1-2)
		<i>A. nigripinnis</i>	1 (N/A)
Octubre	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	1 (N/A)
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	5 (N/A)
		<i>A. bellottii</i>	6 (2-11)
		<i>A. nigripinnis</i>	1 (N/A)

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Familia Opisthgonimidae Travassos, 1928

Genero *Opisthgonimus* Lühe, 1900

Metacercaria tipo '*Opisthgonimus*' (Fig. 7)

Descripción basada en 10 individuos teñidos y montados permanentemente. Quiste esférico, pequeño, cubierto por una lámina transparente fácilmente desenquistables. Fuera del quiste la metacercaria es dístoma, periforme, cubierta de pequeñas espinas a excepción de las ventosas. Largo total 825 ± 108 (600-1010), ancho medio 304 ± 33 (220-350). Ventosa oral subterminal, ventral, circular y conspicua, con 6 papilas, 3 a cada lado de la boca que se abre transversalmente con forma semi-triangular o de gota, donde

el borde posterior de la boca es más amplio que la anterior; largo de la ventosa oral 143 ± 19 (03-173), ancho 149 ± 22 (95-175). Esófago no observable. Faringe musculosa, oval; largo 43 ± 3 (38-48), ancho 53 ± 8 (30-60). Entre la faringe y el acetábulo existe la horquilla de los ciegos intestinales, los cuales se extienden posteriormente hasta la región media de la vesícula excretora. Acetábulo medial, circular, con 11 papilas sobre los bordes; largo 114 ± 11 (103-133), ancho 120 ± 17 (88-138). Relación largo ventosa oral - largo acetábulo 1,26. Presenta una acumulación de células internas que se tiñen de forma más intensa, siempre en forma de "J", sobre el margen posterior del acetábulo (relacionado seguramente con los primordios del ovario y las estructuras de genitales que lo rodean), y acumulaciones celulares teñidas de forma más intensa inmediatamente luego de los ciegos intestinales (primordios testiculares). Vesícula excretora de tamaño variable en especímenes vivos, a veces llegando hasta el margen posterior del acetábulo, con forma de corazón o saco; largo 334 ± 49 (245-445), ancho 162 ± 38 (108-225). Poro excretor terminal, algunos ejemplares aún con la cicatriz del desprendimiento de la cola cercarial.

Comentarios

Si bien esta metacercaria no presenta un desarrollo avanzado de su sistema genital como para establecer mejor su posible filiación taxonómica, la morfología que se observa, a saber: cuerpo claramente alargado cubierto de espinas, ventosa oral subterminal más grande o de igual tamaño a la ventral, testículos posteriores oblicuos u opuestos y vesícula excretora en Y con los brazos muy cortos; permite ubicar las metacercarias encontradas dentro de la familia Ophistogonimidae, y muy posiblemente del género *Opisthogonimus*. Estadios larvales y adultos de estos digeneos han sido citados en anfibios y ofidios estudiados en Argentina, Brasil y Uruguay (Travassos 1928; Mañe-Garzon 1965; Restrepo & Montaña 2002; Volonterio et al. 2006; Hamann et al. 2009; Hamann et al. 2010; Pinto et al. 2012; Hamann et al. 2014; Mati et al. 2015; Müller et al. 2021).

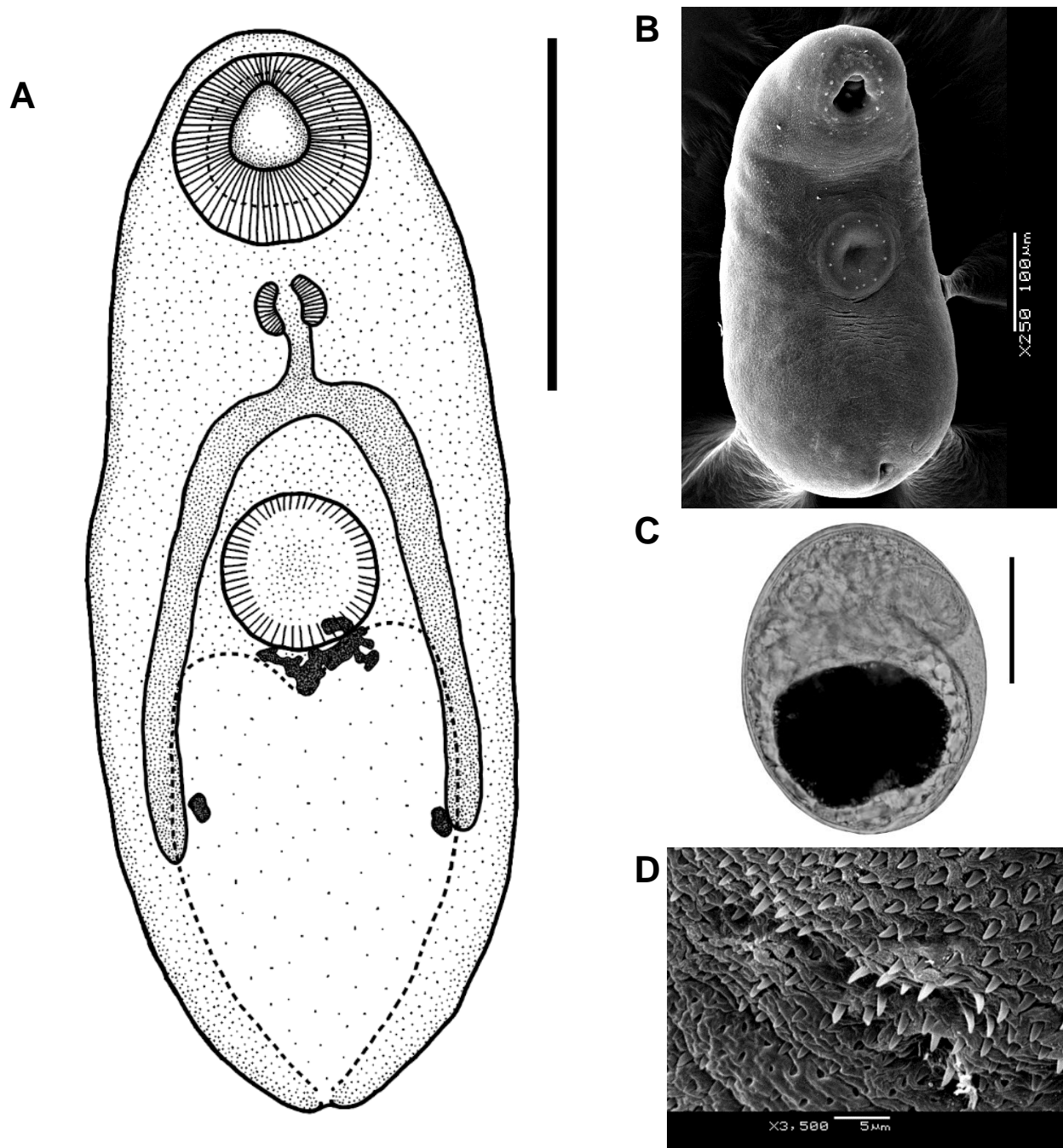


Figura 7. Metacercarias del morfotipo *Opisthogonimus* sp. encontradas en músculo de *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii* y *A. nigripinni* provenientes del Departamento de Río Negro, *A. vazferreirai* y *A. quirogai* del Departamento de Cerro Largo, *A. gymnoventris* y *A. cheradophilus* del Departamento de Lavalleja, *A. charrua* del Departamento de Rocha, y *A. wolterstorfi* del Departamento de Treinta y Tres. A) Ilustración basada en individuo muerto bajo leve presión; escala 300 μm . B) Imagen de Microscopía Electrónica de Barrido de metacercaria desenquistadas y fijada sin presión. C) Individuo vivo dentro del quiste; escala 200 μm . D) Detalles de las espinas del tegumento.

Resumen Taxonómico

Localidad: Arroyo Grande, Esteros de Farrapos (Depto. de Río Negro); Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo); La Coronilla, Ruta 9 km 272 (Depto. de Rocha); Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres); Retamosa, Sarandí de las Casas (Depto. de Lavalleja).

Hospedador: *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. cheradophilus*, *A. charrua*, *A. vazferreirai*, *A. gymnoventris*, *A. nigripinni*, *A. quirogai*, *A. wolterstorfi*.

Sitio de infección: músculo.

Prevalencia (IC):

Agosto	Farrapos	<i>A. alexandri</i>	40 (15-72) %
		<i>A. bellottii</i>	50 (1-90) %
		<i>A. nigripinnis</i>	56 (25-83) %
	Fraile Muerto	<i>A. quirogai</i>	40 (15-72) %
		<i>A. vazferreirai</i>	61 (39-79) %
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	8 (0,4-37) %
	Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	11 (2-32) %
Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	17 (1-59) %	
Octubre	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	68 (45-85) %
	Farrapos	<i>A. alexandri</i>	14 (3-42) %
		<i>A. bellottii</i>	8 (1-24) %
		<i>A. nigripinnis</i>	8 (0,4-34) %
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	17 (3-46) %
	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	33 (2-87) %

Intensidad media (CBa):

Agosto	Farrapos	<i>A. alexandri</i>	1 (1-2)
		<i>A. bellottii</i>	1 (N/A)
		<i>A. nigripinnis</i>	2 (1-4)
	Fraile Muerto	<i>A. quirogai</i>	45 (9-78)
		<i>A. vazferreirai</i>	50 (31-87)
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	12 (N/A)
Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	3 (2-3)	
Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	6 (N/A)	
Octubre	Farrapos	<i>A. alexandri</i>	1 (N/A)
		<i>A. bellottii</i>	3 (1-5)
		<i>A. nigripinnis</i>	2 (N/A)
	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	7 (4-11)
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	28 (26-28)
Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	1 (N/A)	

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Familia Plagiorchiidae Lühe, 1901

Género *Travtrema* Pereira, 1929

Metacercaria Plagiorchiidae tipo '*Travtrema*' (Fig. 8)

Descripción basada en 5 individuos teñidos y montados permanentemente. Cuerpo homogéneo, piriforme, sin espinas ni papilas visibles a microscopía de campo claro, largo total 708 ± 90 (620-850), ancho medial 276 ± 36 (240-330). Ventosa oral subterminal, musculosa, bien desarrollada, circular, sin papilas ni dentículos visibles, largo 129 ± 9 (115-140) y ancho 141 ± 14 (125-160), coincidente con apertura oral circular, lisa. Esófago corto, con forma de copa, largo 46 ± 23 (30-85) y ancho 29 ± 12 (15-43), que termina en faringe musculosa bien desarrollada, largo 45 ± 5 (40-53) y ancho 54 ± 4 (50-60). Ciegos intestinales se extienden hasta la zona reproductora (región del primordio gonadal). Presenta un saco del cirro en el espacio posterior a la bifurcación intestinal y anterior al acetábulo, que se tiñe de forma más intensa y deriva en un poro hacia la superficie ventral. Acetábulo sencillo, musculoso y conspicuo, ovalado transversalmente, largo 157 ± 11 (150-175) y ancho 180 ± 25 (140-210). Acetábulo representa un 22% del largo total. Ventosa oral representa un 82% del acetábulo. Posterior al acetábulo existe la zona reproductora con los primordios gonadales poco desarrollados, formando cuatro cúmulos esféricos de células y ductos con conexiones indefinidas. Posterior a la zona reproductora existe la vesícula excretora en forma de saco, con apertura en el poro excretor terminal, largo 137 ± 13 (125-153) y ancho 81 ± 7 (70-88).

Comentarios

La familia Plagiorchiidae es muy diversa, y prácticamente cualquier configuración de caracteres puede implicar un representante de esta (lo cual es reconocidamente un problema; Bray et al. 2008). En el caso de esta metacercaria, la forma el cuerpo,

disposición de las ventosas, presencia de prefaringe y faringe, extensión de los ciegos intestinales, posición del futuro poro genital y de los primordios gonadales, permiten ubicar a la metacercaria en esta familia. Luego, dentro de la familia Plagiorchiidae, el cuerpo ovalado, el marcado desarrollo de las ventosas, la ventosa ventral ecuatorial y levemente alargada horizontalmente, y la presencia del saco del cirro (en este caso su primordio) anterior a la ventosa ventral permiten ubicar a estas metacercarias dentro del género *Travtrema*. La única diferencia es la vesícula excretora que en vez de forma de Y, presenta forma de I expandida. No obstante, Hamann & Gonzalez (2009) identifican metacercarias del género *Travtrema* que presentan vesícula excretora con forma de I expandida. El género *Travtrema* corresponde a trematodos que parasitan varias especies de serpientes de Sudamérica como hospedadores definitivos, y anuros como segundos hospedadores intermediarios (Goodman 1958; Bray et al. 2008; Hamann & Gonzalez 2009; Hamann et al. 2010; Lunaschi & Drago 2010). Hasta el momento existe solo una especie reportada para Uruguay, *T. stenocotyle* (Tatcher 1993; Pinto & de Melo 2012), sin embargo, la localidad y el hospedador tipo son desconocidos. Por más que la probabilidad de que la metacercaria corresponda a *Travtrema stenocotyle* sea alta, hasta no tener la forma adulta para confirmar la identidad se considera prudente nombrar a la metacercaria como *Travtrema sp.*

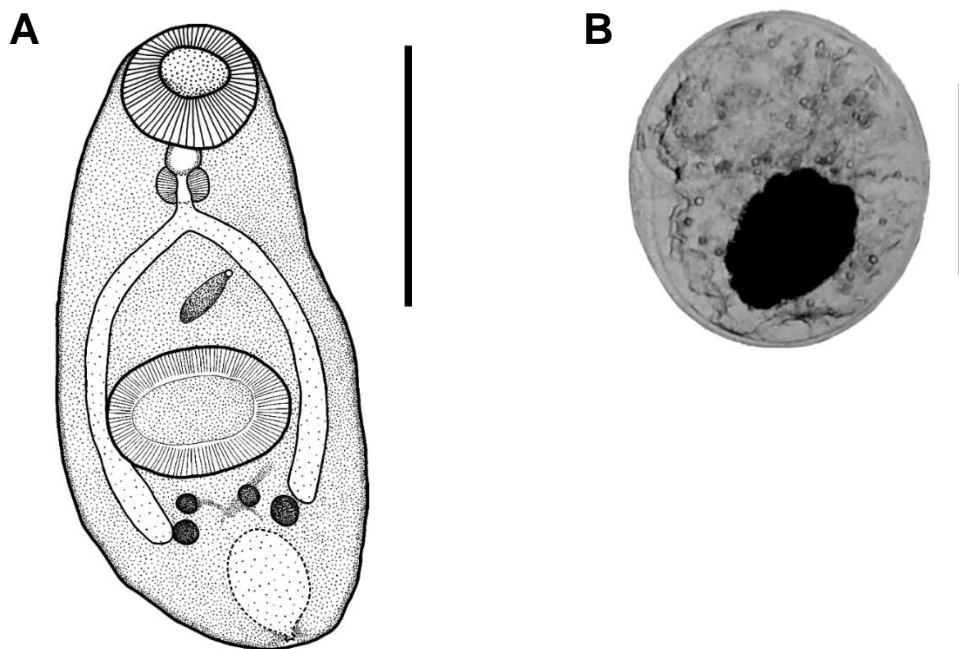


Figura 8. Metacercarias del morfotipo *Travtrema* sp. encontradas en músculo de *Austrolebias affinis*, *A. bellottii*, y *A. nigripinni* provenientes del departamento de Río Negro, y *A. charrua* del Departamento de Rocha. A) Ilustración basada en individuo muerto bajo leve presión; escala 300 µm. B) Micrografías de individuo enquistado vivo; escala 200 µm.

Resumen Taxonómico

Localidad: Esteros de Farrapos, Arroyo Grande (Depto. de Río Negro); La Coronilla (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias affinis*, *A. bellottii*, *A. charrua* y *A. nigripinni*.

Sitio de infección: músculo y mesenterios.

Prevalencia (IC):

Agosto	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	25 (1-75) %
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	25 (7-54) %
Octubre	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	42 (22-66) %
	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	8 (1-24) %
		<i>A. nigripinnis</i>	31 (11-59) %

Intensidad media (BCa):

Agosto	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	1 (N/A)
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	27 (1-52)
Octubre	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	2 (1-4)
	E. de Farrapos	<i>A. bellottii</i>	5 (1-5)
		<i>A. nigripinnis</i>	4 (1-9)

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Plagiorchiida La Rue, 1957

Familia Opisthorchiidae (Looss, 1899) Braun, 1901

Metacercaria 'Opisthorchiidae' (Fig. 9)

Descripción basada en 7 individuos teñidos y montados permanentemente. Cuerpo alargado, suavemente agudizado hacia el extremo posterior, con extremo redondeado. Al ser montado en posición ventral, la zona medial circundante al acetábulo se ensancha debido a la protrusión de este en estado natural. líneas de pliegue debajo de la ventosa

oral obedecen al mismo artefacto del montaje. Al ser montado en posición lateral, se observa que el cuerpo se curva en C en sentido ventral. Superficie con espínulas pequeñas, escamiformes; no se observaron espinas ni papilas a microscopía de campo claro. Largo total del cuerpo 681 ± 160 (520-970), ancho máximo al nivel ecuatorial 174 ± 29 (130-220). Ventosa oral subterminal, musculosa, bien desarrollada, circular, sin papilas ni dentículos visibles, largo 113 ± 24 (88-155) y ancho 104 ± 15 (78-125), coincidente con apertura oral circular, lisa. Acetábulo sencillo, musculoso y conspicuo, protruye de la línea ventral del cuerpo, largo 90 ± 14 (75-113) y ancho 85 ± 17 (65-113). Ventosa oral representa un 13 % del largo total. Acetábulo representa un 13% del largo total. Relación acetábulo-ventosa oral de 80%. Esófago (ducto entre boca y bifurcación cecal, medido desde el borde posterior de la ventosa oral hasta el inicio de la bifurcación cecal) simple, largo 74 ± 19 (50-103). Faringe ausente. Ciegos intestinales se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo. Primordio reproductor al nivel del acetábulo, con una porción estable que comienza en medio del espacio entre la bifurcación cecal y el borde anterior del acetábulo (espacio sub-bifurcal), se extiende lateralmente por detrás del acetábulo y termina próximo al borde posterior del mismo, y una porción fragmentada que se acumula en una o dos masas a los costados o superpuestas con la vesícula excretora. Lateralmente se observa que el primordio del reproductor se extiende desde el espacio sub-bifurcal a nivel ventral hasta el dorso a la altura del borde posterior del acetábulo. Siguiendo el borde posterior del acetábulo, de forma inmediata o casi inmediata, existe la vesícula excretora en forma de saco alargado (forma de maza; “club-shaped”) con apertura en el poro excretor terminal, largo 272 ± 70 (185-385) y ancho 61 ± 8 (50-70). Vesícula excretora representa un 40% del largo total.

Comentario

El cuerpo pequeño, elongado, con ventosas bien desarrolladas y que protruyen del contorno general del cuerpo, la faringe ausente, la extensión de los ciegos intestinales, y el tamaño pequeño de los primordios reproductores, permiten ubicar a esta metacercaria en la familia Opisthorchiidae (Hoffman 2011). La única diferencia es la vesícula excretora que en vez de forma de Y, presenta forma de I. No obstante, en las

ilustraciones de Hoffman (2011), la vesícula excretora presenta forma de I. La secuenciación del gen para citocromo oxidasa 1 (COX1) de estas metacercarias coincide en un 82,9% (e-valor = $9,4e-08$) con *Opisthorchis viverrini* (PRJNA222628; base de datos WormBase ParaSite, Version: WBPS15). El porcentaje de coincidencia (< 90%). No obstante, en función de la alta diversidad que presenta esta familia y de la ausencia tanto de la forma adulta como de otras secuencias de referencia que sirvan para confirmar la identidad de los especímenes, no se considera prudente determinar taxonómicamente a los individuos más allá de familia.

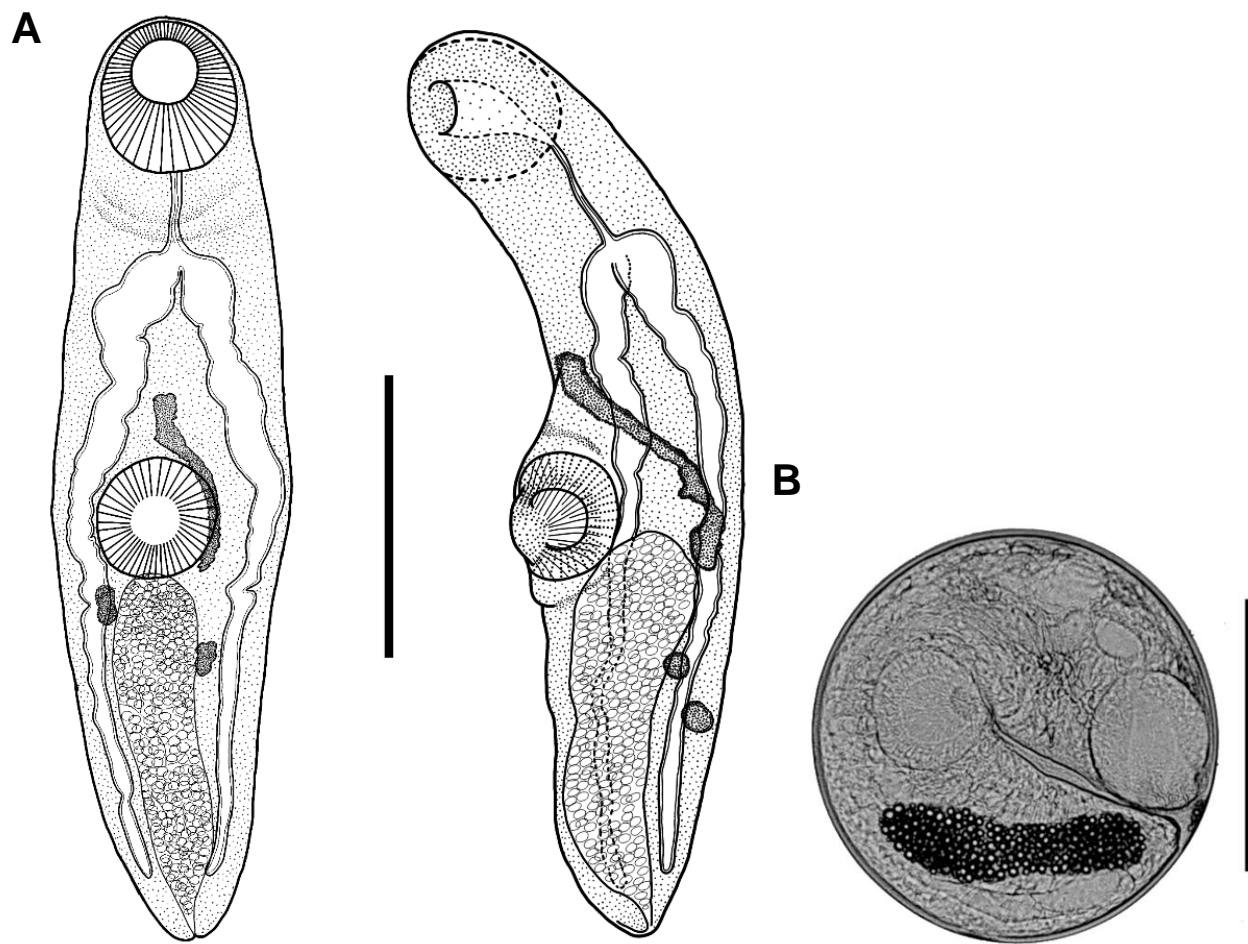


Figure 9. Metacercarias del morfotipo *Opisthorchis* sp. encontradas en músculo de *Austrolebias vazferreirai* provenientes del Departamento de Cerro Largo, *A. gymnoventris* y *A. charrua* del Departamento de Lavalleja, *A. affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. nigripinnis* y *A. luteoflammulatus* del Departamento de Río Negro, y *A. viarius* y *A. charrua* del Departamento de Rocha. A) Ilustración basada en individuo muerto bajo leve presión; escala 200 μ m. B) Micrografías de individuo enquistado vivo; escala 200 μ m.

Resumen Taxonómico

Prevalencia e intensidad se calculan para ambos meses de muestreo por separado (agosto y octubre).

Localidad: Esteros de Farrapos, Arroyo Grande (Depto. de Río Negro); Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo); La Coronilla, Ruta km 16/13; Ruta 9 km 272, Ruta 9 vieja (Depto. de Rocha); Sarandí de las Casas (Depto. de Lavalleja).

Hospedador: *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. charrua*, *A. vazferreirai*, *A. gymnoventris*, *A. luteoflammulatus*, *A. nigripinnis*, *A. viarius*.

Sitio de infección: músculo y mesenterio.

Prevalencia (IC):

Agosto	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	13 (4-32) %
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	42 (18-71) %
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	7 (0,3-30) %
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	13 (4-31) %
Octubre	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	16 (4-39) %
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	29 (10-58) %
		<i>A. bellottii</i>	15 (5-34) %
		<i>A. nigripinnis</i>	54 (26-78) %
	Ruta 9 vieja	<i>A. luteoflammulatus</i>	17 (1-59) %
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	67 (37-88) %
	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	33 (2-87) %
		<i>A. charrua</i>	100 (5-100) %

Intensidad media (BCa):

Agosto	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	2 (1-2)
	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	2 (1-4)
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	2 (N/A)
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	2 (1-3)
Octubre	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	2 (1-4)
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	6 (4-9)
		<i>A. bellottii</i>	6 (2-13)
		<i>A. nigripinnis</i>	15 (1-49)
	Ruta 9 vieja	<i>A. luteoflammulatus</i>	1 (N/A)
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	19 (5-54)
	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	6 (N/A)
		<i>A. charrua</i>	3 (N/A)

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood, 2003

Familia Diplostomidae Poirier, 1886

Género *Posthodiplostomum* Dubois, 1936

Metacercaria '*Posthodiplostomum* sp. 1' (Fig. 10)

Descripción basada en 6 individuos teñidos y montados permanentemente. Metacercaria morfotipo *Neascus*, extendida o plegada sobre sí mismo dentro de un holgado quiste transparente de pared fina; ovalado o levemente agudizado hacia los extremos. Fuera del quiste, la metacercaria muestra tener superficie lisa, sin espinas ni tubérculos o papilas notorias. Largo total del cuerpo, 617 ± 69 (500-690). Dividido en dos regiones notoriamente distinguibles por una constricción. Región anterior aplanada dorsoventralmente, foliar, 463 ± 70 (405-570) de largo y 336 ± 70 (230-410) de ancho, llevando los órganos de adhesión. Región posterior cónica o redondeada, 156 ± 44 (85-200) de largo, 209 ± 34 (150-240) de ancho, donde se encuentran los órganos reproductores. Boca terminal, coincidente con la ventosa oral, circular, 37 ± 4 (33-43) de largo, 36 ± 4 (33-43) de ancho. Faringe muscular, ovalada, inmediatamente tras la apertura bucal en la ventosa oral, 29 ± 2 (25-30) de largo y 26 ± 3 (25-33) de ancho. Esófago ausente. Ciegos intestinales simples, delgados, extendiéndose hasta la zona media de la región posterior. Acetábulo circular, subigual a la ventosa oral (p-valor = 0.18), 40 ± 4 (35-45) de largo y 44 ± 4 (35-45). Órgano tribocítico ovalado transversalmente, con dos glándulas adhesivas posteriores, también ovaladas; 94 ± 20 (58-115) de largo y 113 ± 19 (83-138) de ancho.

En la región posterior se diferencian dos acumulaciones celulares con tinción más intensa, alargados transversalmente, pero sin forma concreta. Probablemente se trate de primordios testiculares. Ovario intertesticular, tendiendo a ser ovalado, pero con mucha variabilidad entre especímenes (coeficiente de variación mayor a 30%), probablemente también por ser primordios. En función de esto, se midió toda la zona

reproductiva (desde extremo anterior del primordio testicular anterior hasta el extremo posterior del primordio testicular posterior), la cual sí se observó que mantenía consistencia entre especímenes (coeficiente de variación de 12%); largo 84 ± 10 (71-95) y ancho 100 ± 20 (70-125). Bursa copulatoria en la zona posterior de la región posterior, compuesta por tres lóbulos. Apertura de la Bursa subterminal. Vejiga excretora no observada, poro excretor terminal.

Comentarios

Las metacercarias morfotipo *Neascus* fueron descritas originalmente por Hughes (1927) y se caracterizan por presentar normalmente un quiste de origen parasitario, holgado. Región anterior foliácea u ovalada; región posterior bien desarrollada. Pseudoventosas presentes o ausentes. Vejiga de reserva ramificada en canales mediales y laterales, formando una red en la región anterior; canales mediales y laterales pueden conectarse o no a través de comisuras; cuerpos excretores libres en los canales; parásitos de peces y oligoquetos (Gibson et al. 2002). Metacercarias *Neascus* han sido descritas para digeneos de los géneros: *Uvulifer*, *Posthodiplostomum*, *Ornithodiplostomum*, *Bolbophorus*, *Neodiplostomum*. El cuerpo bipartito, los testículos grandes en comparación con el ovario, el testículo anterior asimétrico y el testículo posterior reniforme permiten asignar las metacercarias encontradas en *Austrolebias* en el género *Posthodiplostomum*. Metacercarias de este género se han reportado para peces de agua dulce en Argentina (Ostrowski 1973; Doma & Ostrowski 1994; Digiani 2000; Ritossa et al. 2013) y existe un estudio del punto negro, usualmente ocasionado por metacercarias del tipo *Neascus*, en peces de agua dulce de Uruguay (Texeira & Eguren 2008).

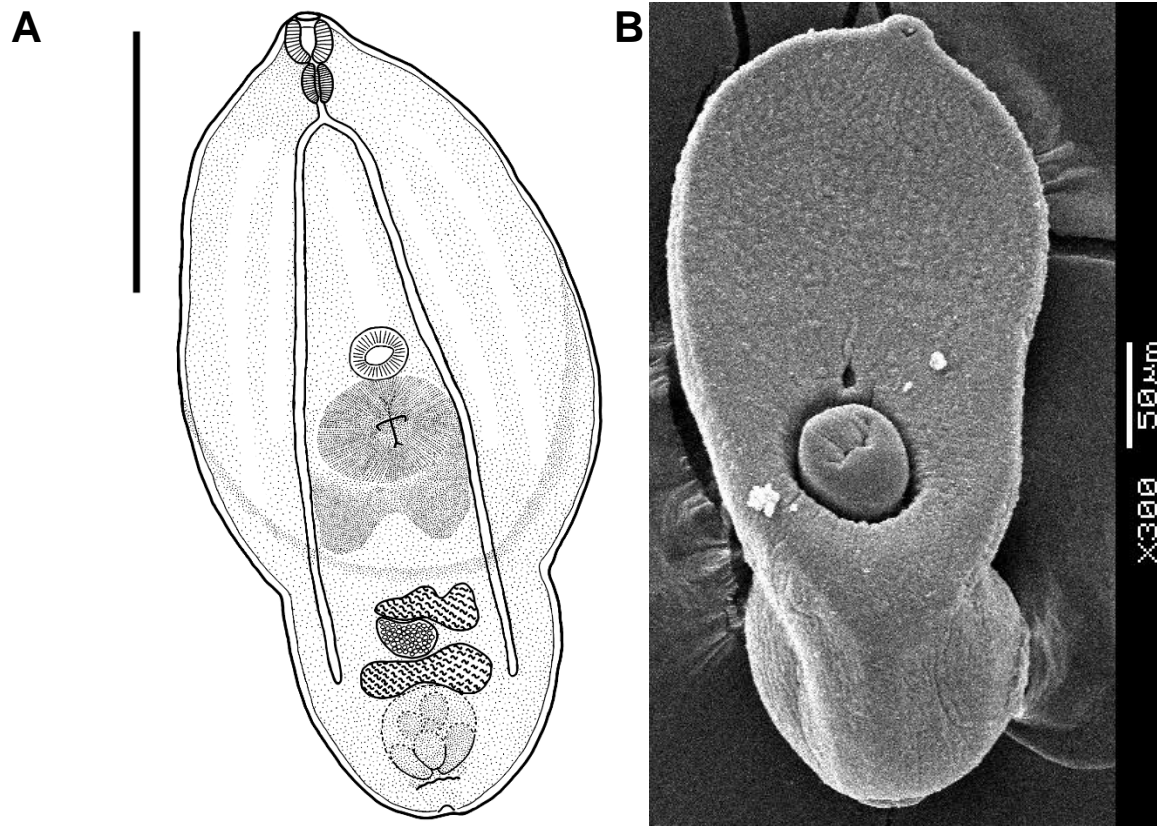


Figura 10. Metacercarias del morfotipo *Posthodiplostomum* sp. 1 (tipo *Neascus*) encontradas en músculo de *Austrolebias vazferreirai* provenientes del Departamento de Cerro Largo, *A. charrua* del departamento de Rocha, y *A. wolterstorfi* del Departamentos de Treinta y Tres. A) Ilustración basada en individuo muerto bajo leve presión; escala 200 µm. B) Imagen de metacercaria desenquistada tomada con microscopio electrónico de barrido; nótese la invaginación del acetábulo y la protrusión del órgano tribocítico.

Resumen Taxonómico

Localidad: Fraile Muerto (Depto. de Cerro Largo); Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres); India Muerta (Depto. de Rocha).

Hospedador: *A. charrua*, *A. vazferreirai*, *A. wolterstorfi*.

Sitio de infección: músculo.

Prevalencia (IC):

Agosto	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	4 (0,2-21) %
	Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	42 (22-66) %
Octubre	India Muerta	<i>A. charrua</i>	100 (22-100) %

Intensidad media (BCa):

Agosto	Fraile Muerto	<i>A. vazferreirai</i>	5 (N/A)
	Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	4 (2-5)
Octubre	India Muerta	<i>A. charrua</i>	20 (1-20)

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood, 2003

Familia Diplostomidae Poirier, 1886

Género *Posthodiplostomum* Dubois, 1936

Metacercaria '*Posthodiplostomum* sp. 2' (Fig. 11)

Descripción basada en 4 individuos teñidos y montados permanentemente. Metacercaria morfotipo *Neascus*, con superficie lisa y papilas dispersas sobre la región anterior sin patrón aparente. Largo total del cuerpo 532 ± 37 (477-562), dividido al nivel del órgano tribocítico en región anterior, comprimida dorsoventralmente, agudizada hacia el extremo anterior, y región posterior más pequeña, redondeada, con pedúnculo terminal que sobresale del poro excretor. Largo región anterior 397 ± 33 (349-424), ancho 153 ± 31 (126-186); largo región posterior 117 ± 16 (101-138), ancho 106 ± 8 (94-111). Ventosa oral circular, terminal, largo 29 ± 3 (25-32) y ancho 27 ± 1 (25-28). Faringe muscular, esférica, inmediatamente a continuación de la musculatura de la ventosa oral, largo 23 ± 3 (20-26), ancho 16 ± 4 (12-21). Esófago simple, delgado, largo 54 ± 11 (40-68), desemboca en la bifurcación de los ciegos intestinales. Los ciegos se extienden hasta el límite posterior del órgano tribocítico, sin entrar en la región posterior del cuerpo. Acetábulo circular, simple, con poro aplanado en sentido anteroposterior, largo 40 ± 3 (36-44), ancho 37 ± 4 (32-40). Órgano tribocítico inmediatamente posterior al acetábulo, subigual al mismo, circular, con espinas en su superficie y un pliegue con forma de U invertida en su centro, con células teñidas de forma más intensa sobre el borde posterior; largo 38 ± 4 (35-43), ancho 35 ± 7 (27-43).

Al igual que con el morfotipo 1, en la región posterior se diferencian los primordios gonadales. No obstante, en el morfotipo 2 los mismos se encuentran mejor delimitados y permiten tomar medidas de cada primordio gonadal. Testículos más largos que anchos, en tándem; largo del testículo anterior 28 ± 4 (22-31), ancho 54 ± 7 (48-64); largo del testículo posterior 27 ± 4 (24-32), ancho 69 ± 6 (60-74). Ovario intertesticular, ovalado, colocado hacia uno de los laterales (posición variable, pero nunca medial); largo 18 ± 2 (16-20), ancho 39 ± 12 (23-51). Posterior a la región reproductiva se encuentra la bursa copuladora invaginada, circular, largo 37 ± 5 (32-41), ancho 44 ± 10 (33-53).

Comentarios

Los mismos comentarios realizados para *Posthodiplostomum* sp. 1 cuentan para esta metacercaria. La diferencia entre *P. sp. 1* y 2 radica en la presencia de espinas en el acetábulo. Sin embargo, considerando las congruencias en el resto de las características morfológicas, y tomando en cuenta la reportada variabilidad de caracteres al nivel del acetábulo (Ritossa et al. 2013), es que se clasifican estas metacercarias bajo dicho género. La ausencia de reportes de metacercarias tipo *Neascus* con estas características puede implicar el hallazgo de una nueva especie. No obstante, se requiere la descripción del adulto y estudios de sistemática molecular para poder definir esto con mayor confianza.

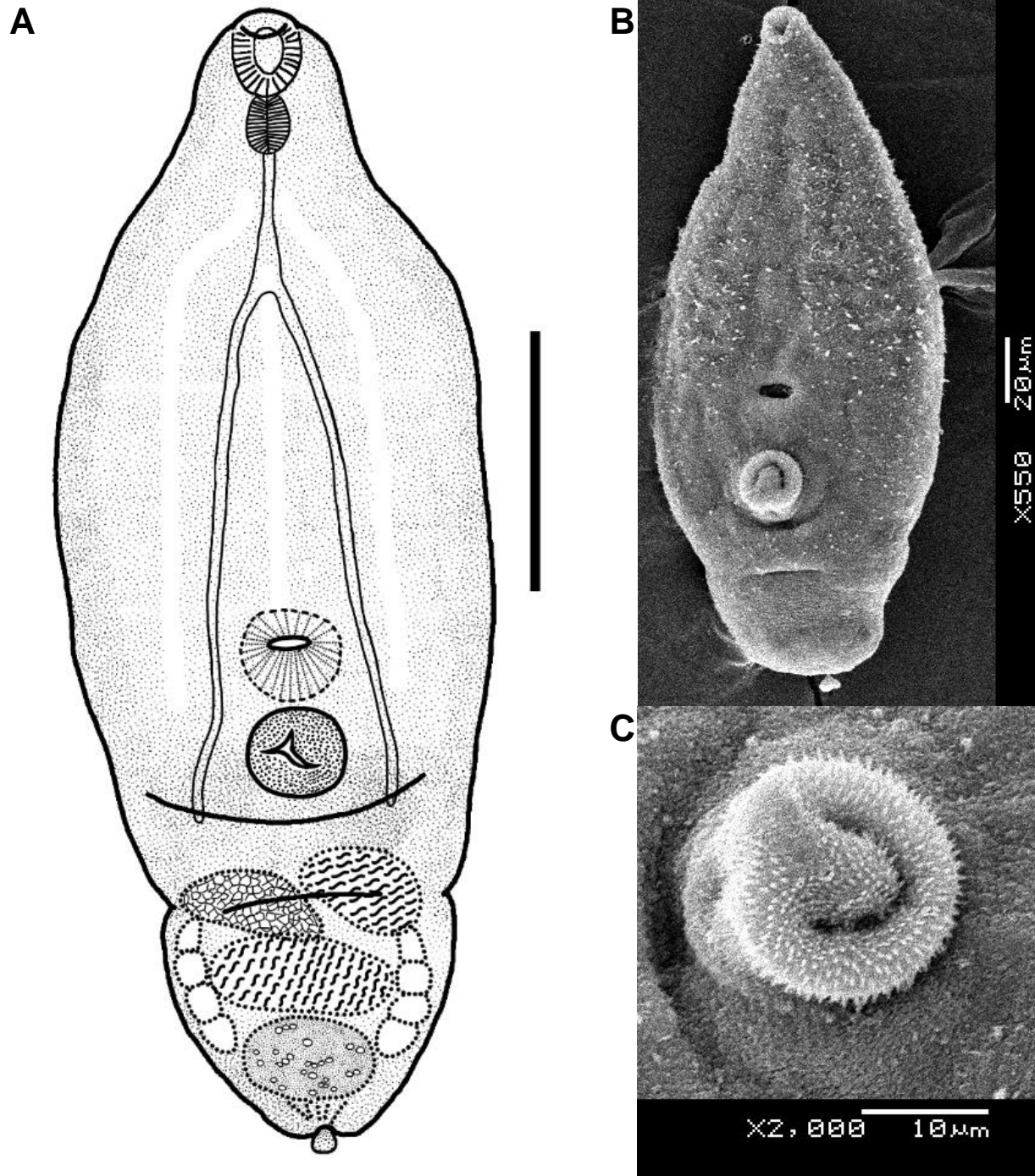


Figura 11. Ilustración y micrografías de metacercarias del morfotipo *Posthodiplostomum* sp. 2 (tipo *Neascus*) obtenidas del músculo de *Austrolebias wolterstorfi* provenientes del Departamento de Treinta y Tres. A) Ilustración basada en individuos fijados con leve presión; escala 100 μm. B) Microscopía electrónica de barrido (MEB) de vista general de individuo fijado sin presión. C) Detalle del acetábulo con espinas.

Resumen taxonómico

Localidad: Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres).

Hospedador: *Austrolebias wolterstorfi*.

Sitio de infección: músculo.

Prevalencia (IC): 16 (4-39) %

Intensidad media (BCa): 2 (1-3).

Clase Trematoda Rudolphi, 1808

Subclase Digenea Carus, 1863

Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood, 2003

Familia Diplostomidae Poirier, 1886

Género *Tylodelphys* Diesing, 1850

Metacercaria tipo *Diplostomulum* de '*Tylodelphys sp.*' (Fig. 12)

Descripción basada en 4 individuos teñidos y montados permanentemente. Cuerpo alargado, homogéneo, sin constricción notoria que permita distinguir región anterior y posterior del cuerpo. No se observaron dentículos en microscopía óptica ni en microscopía electrónica de barrido (MEB), largo total 940 ± 96 (850-1050), ancho medial 188 ± 19 (160-200). En MEB, se observaron papilas pequeñas, simples, distribuidas de forma dispersa y sin patrón aparente a lo largo de toda la superficie corporal y en los extremos posterior y anterior. El margen posterior del órgano tribocítico como referencia del final de la región anterior determina una extensión de esta última mucho mayor que la región posterior, la cual es pequeña, agudizada levemente, terminando redondeada.

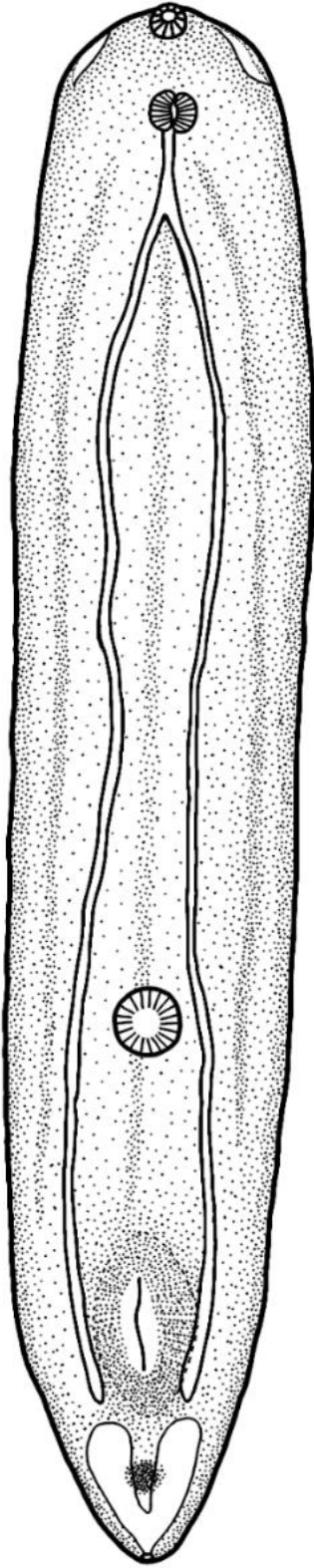
Ventosa oral terminal, con apertura levemente bilabial en el sentido del eje del cuerpo. Pseudoventosas presentes, observables en MEB a modo de hendiduras en los laterales del extremo anterior, a la altura de la ventosa oral. Faringe muscular, esférica, pequeña, inmediatamente por debajo de la ventosa oral; 22 ± 2 (20-23; n=2) de largo y 22 ± 2 (20-23). Esófago sencillo, 57 ± 12 (48-66) de largo, que bifurca en dos ciegos intestinales

largos que llegan hasta la región posterior. Acetábulo en la segunda mitad del cuerpo, más cercano al órgano tribocítico que a la ventosa oral, circular, pequeño, 44 ± 6 (38-50) eje longitudinal, 39 ± 5 (33-45) eje transversal. Órgano tribocítico posterior al acetábulo, a modo de una hendidura medial, elíptica, alargada longitudinalmente, rodeada de células glandulares (se tiñen más fuerte con carmín); 106 ± 13 (95-120) eje longitudinal, 65 ± 12 (55-80) eje transversal. En región posterior existe un conjunto de células que se tiñen fuertemente, posible primordio genital (zona del reproductor); 15 ± 3 (13-20) eje longitudinal, 17 ± 5 (13-23) eje transversal. Vesícula excretora en forma de V, que desemboca en poro excretor terminal en el extremo posterior. *In vivo* se observaron tres canales longitudinales, uno medial y dos laterales, con corpúsculos excretorios principalmente en los laterales.

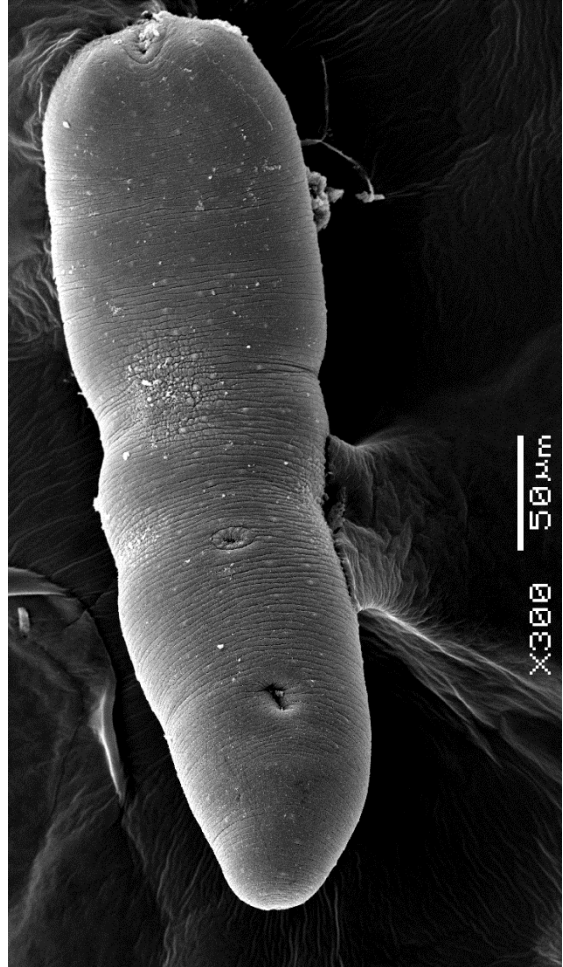
Comentarios

Estas metacercarias pertenecen a un grupo larval denominado *Diplostomulum* por Hughes (1929). Se caracteriza principalmente por no formar quiste de origen parasitario, presentar el cuerpo cónico, el sistema nefridial con una gran cantidad de corpúsculos ovales o redondeados, y por presentar dos órganos laterales anteriores llamados ventosas laterales. Las metacercarias halladas en las *Austrolebias* presentan forma alargada donde no se observa la bipartición del cuerpo, región posterior cónica, y presencia de pseudo-ventosas (poco notorias en estadio larval). Además de estas características, las posiciones relativas del acetábulo y el órgano tribocítico, permitieron asimilar a las metacercarias aquí descritas con metacercarias del género *Tylodelphys* Diesing, 1850 (Gibson et al. 2002). Adultos de *Tylodelphys* se han reportado en aves de Argentina, Brasil y Venezuela (Fernandes et al. 2015, Blasco-Costa et al. 2017), y metacercarias en peces de Argentina, Chile, Perú y Uruguay (Szidat 1969; Morey 2018; Pelegrini et al. 2019).

A



B



C

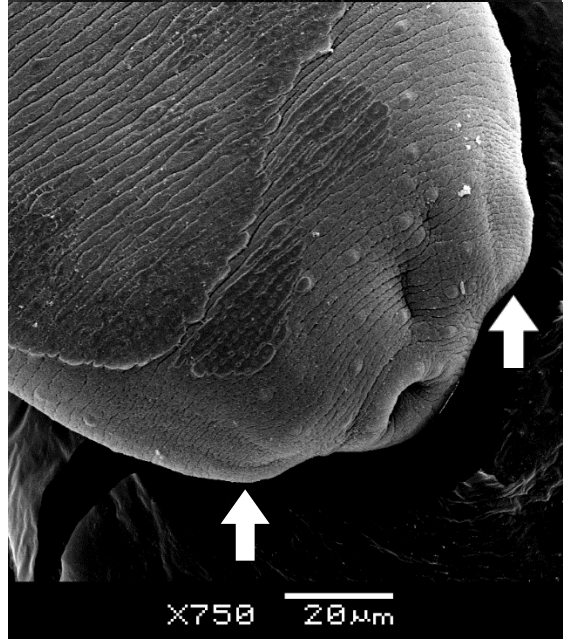


Figura 12. Ilustración y micrografías de metacercarias del morfotipo *Tylodelphys* obtenidas del músculo de *Austrolebias cheradophilus* provenientes del Departamento de Lavalleja, y *A. wolterstorfi* del Departamento de Treinta y Tres. A) Ilustración basada en individuos fijados con leve presión; escala 200 µm. B) Microscopía electrónica de barrido (MEB) de vista general de individuo fijado sin presión. C) Detalle del extremos anterior donde se visualizan las pseudoventosas.

Resumen taxonómico

Localidad: Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres); Pirarajá y Retamosa (Depto. de Lavalleja).

Hospedador: *A. cheradophilus*, *A. wolterstorfi*.

Sitio de infección: hígado.

Prevalencia (IC):

Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	5 (0,3-25) %
Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	32 (15-55) %
Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	33 (6-73) %

Intensidad media (BCa):

Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	2 (N/A)
Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	8 (4-14)
Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	4 (N/A)

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Proteocephalidea Mola, 1928

Familia Monticellidae La Rue, 1911

Género *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999

***Chambriella* sp. (Fig. 13)**

Descripción basada en 6 individuos teñidos y montados permanentemente. Solo en un caso se pudo obtener largo total. Cestodo de tamaño intermedio, aplanado dorsoventralmente; largo total 24961, ancho máximo 740 (un solo ejemplar entero). Escólex bien delimitado, sub-esférico, con ápice cónico truncado poco prominente; largo

316 ± 24 (299-333), ancho 428 ± 28 (407-448). Metascolex ausente. Ventosas bilobuladas, periformes, sin margen posterior libre ni solapado con zona de proliferación (cuello); lóbulo anterior con hendidura poco pronunciada, de menor tamaño que el lóbulo posterior, lóbulo posterior adhesivo, con oquedad como producto de la musculatura conspicua; diámetro del lóbulo anterior 92 ± 4 (88-97), posterior 110 ± 10 (95-118); relación entre diámetro del lóbulo anterior y posterior 84%; relación entre el largo total de las ventosas bilobuladas y el largo del escólex 64%. Cuello más delgado que el escólex; largo de la zona proliferativa 145 ± 48 (111-179), ancho 395 ± 48 (361-429). Estróbilo acraspedote, con 30 segmentos: 20 proglótides inmaduras (desde el primer segmento con primordios de reproductor hasta aparición de paredes uterinas), 9 maduras (útero con divertículos, ovarios, saco del cirro y cirro formado), 1 grávida; las proglótides maduras más largas que anchas; largo 1667 ± 206,54 (1491-1965), ancho 653 ± 19 (638-679). Testículos, ovarios, folículos vitelinos y útero en posición cortical. Testículos numerosos, en un solo campo, distribuidos irregularmente, diámetro 103 ± 14 (76-146). Saco del cirro simple, con paredes finas y sin musculatura circular notoria, periforme alargado; espermiducto interno sencillo, enrollado hacia el extremo ciego del saco del cirro; largo del saco del cirro 273 ± 56 (227-348), ancho 65 ± 5 (62-69); largo del cirro evaginado 320 ± 54 (277-390). Ovario bilobulado, levemente folicular, manteniéndose así en todos los estadios de las proglótides; largo 358 ± 36 (303-413), ancho 204 ± 24 (158-246). Folículos vitelinos forman dos bandas laterales, alcanzando márgenes anteriores y posteriores de las proglótides. Divertículos uterinos presentes, bien desarrollados; desarrollo uterino tipo 2 (*sensu* de Chambrier et al. 2004); largo del útero 1764 ± 512 (1338-2615), ancho 402 ± 80 (286-495). Poros genitales pre-ecuatoriales, alternados irregularmente. Atrio genital presente. Vagina anterior a la apertura del saco del cirro en el atrio genital. Esfínter anular no observado.

Tabla 7. Comparación de cestodos proteocefálicos sudamericanos con mayor similitud a los encontrados en *Austrolebias charrua* y *A. wolterstorfi* en charcos temporales de los Departamentos de Treinta y Tres y Rocha. #: número; A: ancho; Ad: ancho del ovario derecho; AM: ancho máximo; AP: ancho de proglótide (madura); d: diámetro; DLA: diámetro del lóbulo anterior de las ventosas; DLP: diámetro del lóbulo posterior de las ventosas; L: largo; LC: largo del cirro; LO: largo del ovario; LSC: largo del saco del cirro; LT: largo total; SC: saco del cirro; ZP: zona proliferativa.

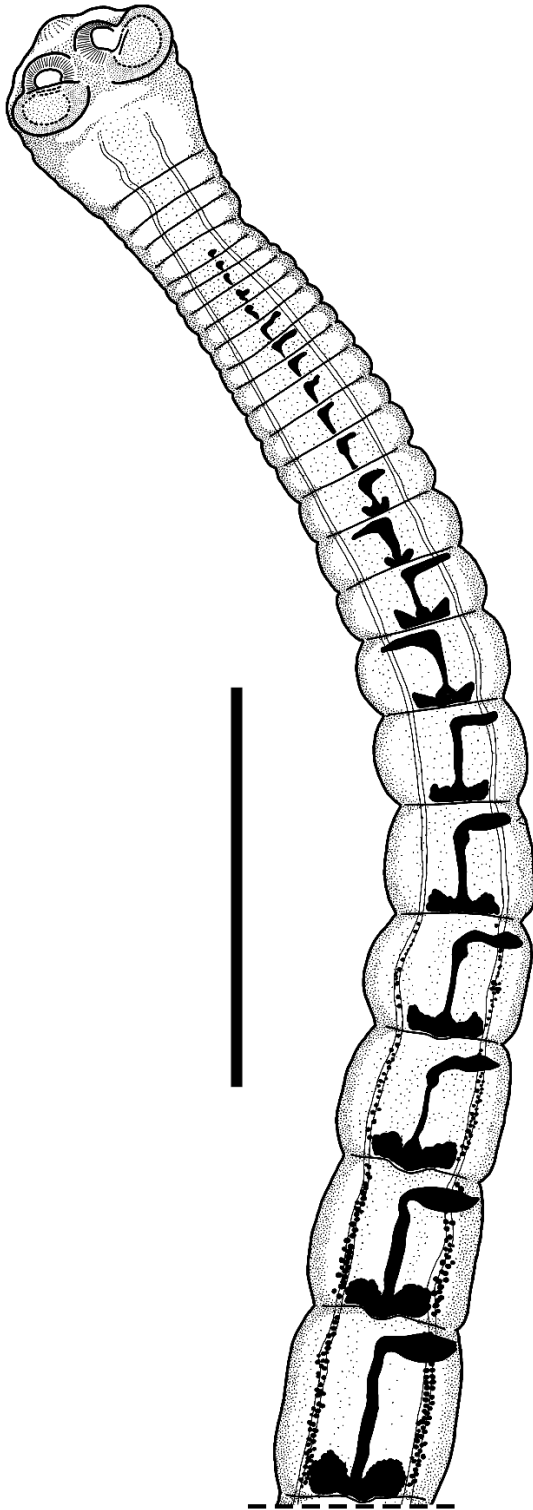
Especie		<i>Chambriella</i> sp.	<i>Synbranchiella mabelae</i>	<i>Chambriella megacephala</i>
Reference		Este trabajo	Arredondo et al. 2017	Alves et al. 2017
Hospedador		<i>Austrolebias charrua</i> <i>Austrolebias wolterstorfi</i>	<i>Synbranchus marmoratus</i>	<i>Zungaro jahu</i>
Localidad		Uruguay	Argentina	Brasil
LT		25 mm	28-88 mm	21-34
AM		740		hasta 1075
Escólex	L	316 ± 24 (299-333)	755 (710-800)	715
	A	428 ± 28 (407-448)	775 ± 2 (710-840)	820
	L/A	74%	97%	87%
Ventosas	DLA	92 ± 4 (88-97)	490 (430-550)	205
	DLP	110 ± 10 (95-118)	315 ± 7 (300-340)	230
	DLA/DLP	84%	156%	89%
Ventosa/Escólex	L	64%	107%	61%
ZP	L	145 ± 48 (111-179)	510 (460-510)	785-800
	A	395 ± 48 (361-429)	1,33 ± 2 (1,10-1,66) mm	355-490
Cirro	L	320 ± 54 (277-390)	380 (325-415)	75-190
SC	L	273 ± 56 (227-348)	200 (140-225)	215-470
	A	65 ± 5 (62-69)	80 ± 12 (65-90)	106-180
Proglótide	L	1667 ± 206,54 (1491-1965)	1150 (960-1380)	–
	A	653 ± 19 (638-679)	515 ± 17 (400-690)	–
	#	30	51 ± 3 (37-67)	–
LC/LSC		1,17	1,9	0,72
LSC/AP		0,49	0,39	28-38
Testículos	d	103 ± 14 (76-146)	75 (45-100)	48-80
	#		65 ± 25 (40-80)	83-134
Ovario	L	358 ± 36 (303-413)	280 (225-315)	–
	A	204 ± 24 (158-246)	400 ± 12 (235-590)	–
LO/LP		0,21	0,24	0,2-0,3
Útero	L	1764 ± 512 (1338-2615)	880 (760-1000)	–
	A	402 ± 80 (286-495)		–

Comentarios

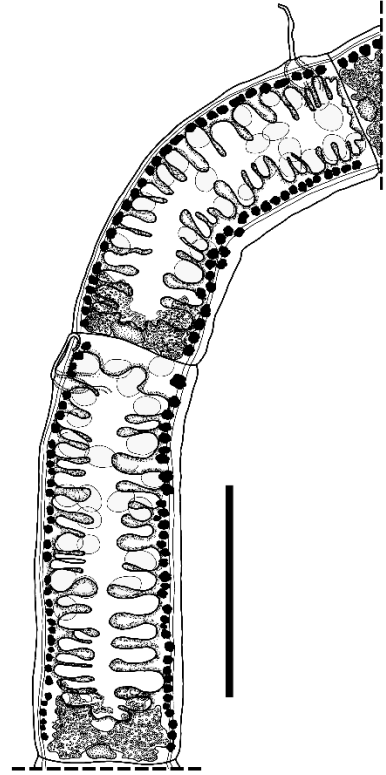
La presencia de cuatro ventosas musculares en el escólex, con una región apical glandular, estróbilo acraspedote con proglótides bien separadas y conteniendo numerosos testículos, además del vitelario distribuido en bandas a lo largo de los bordes marginales de los proglótides, un ovario bilobulado y un útero medial con divertículos laterales, clasifica a los especímenes dentro del orden Proteocephalidea (Rego et al. 1999). Luego, la ausencia de metascólex, las ventosas bilobuladas separadas por un septo, la posición cortical de los órganos reproductores en las proglótides, y la presencia de un saco del cirro sigmoide y voluminoso, permite clasificarlos dentro de la familia Monticellidae (Khalil et al. 1994; Alves et al. 2017a).

Los especímenes son similares a tres géneros dentro de dicha familia, *Chambriella*, *Reggenbachiella* y *Synbranchiella*, estos dos últimos constituidos recientemente en función de estudios moleculares y leves diferencias morfológicas (Alves et al. 2017; Arredondo et al. 2017). En función de las características diferenciales presentadas en el trabajo de Arredondo et al. (2017), los especímenes hallados en *Austrolebias* fueron clasificados como *Chambriella* por presentar ventosas bilobuladas pequeñas en función del largo del escólex (64%, a diferencia de 107% en *Synbranchiella*) y saco del cirro simple (diferencia con *Riggenbranchiella*). De todas formas, siguiendo las recomendaciones de Alves et al. (2017a), con pocos especímenes y sin estudios de sistemática molecular, es prudente no avanzar en la clasificación más allá del género.

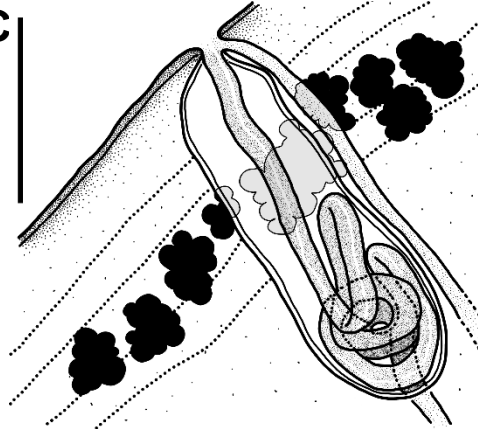
A



B



C



D

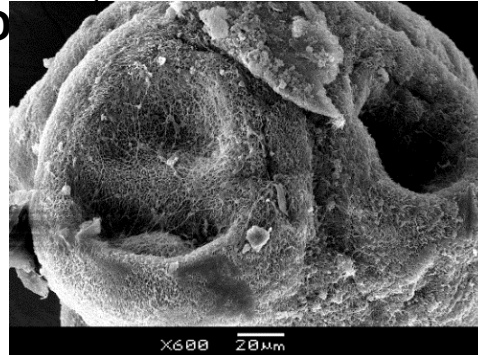


Figura 13. Ilustración de individuo de *Chambriella* sp. Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 hallados en celoma de *Austrolebias charrua* proveniente del Departamento de Rocha, y *A. wolterstorfi* del Departamento de Treinta y Tres. A) Región anterior del cuerpo donde se observan el escólex, la zona de proliferación (cuello) y las proglótides inmaduras con el sucesivo desarrollo del reproductor; escala 1000 μ m. B) Proglótides maduras con divertículos uterinos, ovarios bilobulados, vitelario en folículos cortico-laterales y cirros evaginados; escala 1000 μ m. C) Detalle del saco del cirro y el cirro invaginado, con la desembocadura compartida del cirro y el útero en el gonoporo; escala 100 μ m. D) Microscopía electrónica de barrido mostrando detalle del escólex, con una de las ventosas completamente visibles y otra invaginada.

Resumen taxonómico

Localidad: Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres); Ruta 16/13 (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias wolterstorfi*; *A. charrua* (respectivamente).

Sitio de infección: celoma.

Prevalencia (IC): 5 (0,3-25) %; 27 (10-54) % (respectivamente).

Intensidad media (BCa): 1 (N/A); 2 (1-2) (respectivamente).

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Diphyllbothridea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008

Familia Diphyllbothriidae Lühe, 1910

Género *Sparganum* Ijima, 1905

***Sparganum* aff. *proliferum* (Fig. 15)**

Descripción basada en 3 individuos teñidos y montados de forma permanente, y 7 individuos procesados para sistemática molecular según los procedimientos descritos en Materiales y Métodos. Estadío larval pleurocercoide. Región anterior más ancha que el resto del cuerpo, con estriación transversal notoria. Escólex terminal con botrias laterales. Presencia de poro excretor posteroterminal. No se observa ningún desarrollo de los órganos internos. Parasitando cavidad y musculo de peces dulceacuícolas.

Como resultado de la identificación mediante sistemática molecular basada en código de barra ('barcoding', del inglés) con el marcador mitocondrial citocromo oxidasa subunidad

1 (COX1), se obtuvieron siete secuencias de entre 546 y 691 pares de bases. Las mismas alinearon 376 pares de bases con 120 secuencias de distintos géneros dentro de la familia obtenidas de la base de datos GeneBank. Dicho análisis incluyó secuencias de (cantidad de secuencias entre paréntesis): *Echinococcus granulosus* (2; grupo externo), *Schistocephalus solidus* (1); *Spirometra decipiens* (8), *S. erinaceieuropaei* (95), *S. mansoni* (4), *S. ranarum* (1), *S. theileri* (1); *Diphyllobothrium tetrapterum* (3); *Diplogonoporus balaenopterae* (4); *Sparganum proliferum* (1), *Sparganum sp.* (7; especímenes de este trabajo). El árbol filogenético resultante coloca a los especímenes en un clado monofilético con la secuencia de *Sparganum proliferum* de Venezuela (número de acceso en GeneBank: AB015753), separados del resto de los géneros incluidos (Fig. 14). A su vez, la distancia genética entre el clado *Sparganum sp.* (este trabajo) y *S. proliferum* es la menor en todo el análisis (p-distancia = 0.08).

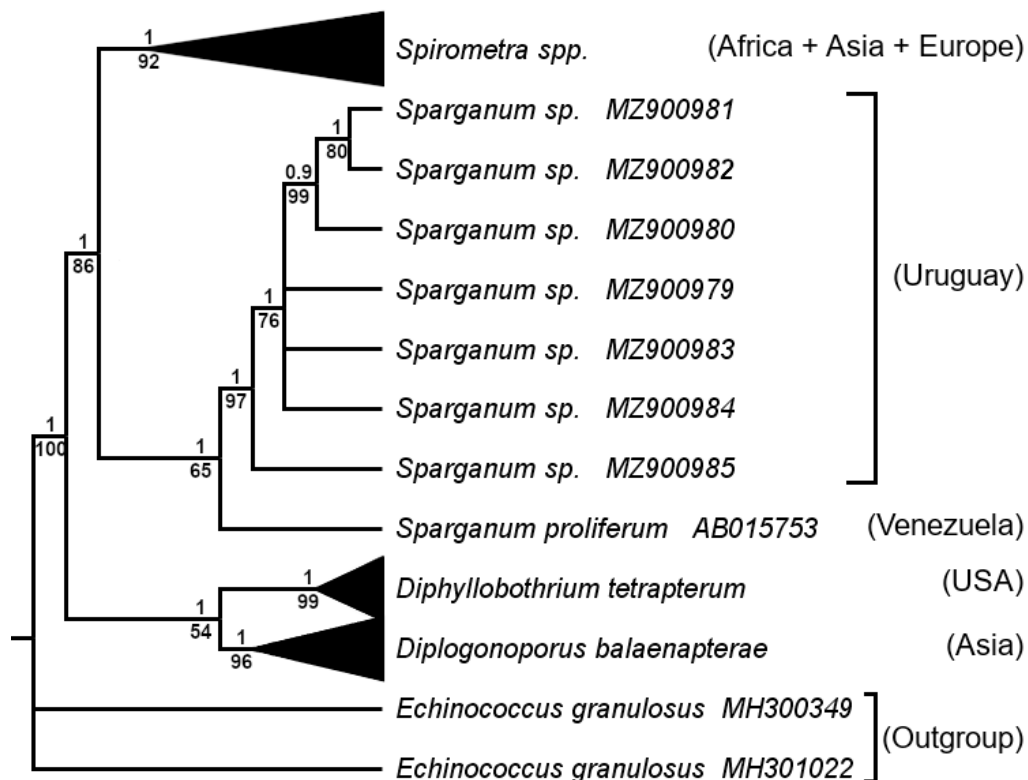


Figura 14. Árbol filogenético consenso entre el análisis de máxima verosimilitud (1000 pseudo-replicas de bootstrap) e inferencia bayesiana. Los soportes de los nodos corresponden a valores de bootstrap (valor encima del nodo) y probabilidad bayesiana en porcentaje (valor debajo del nodo). El clado *Spirometra spp.* comprende las especies *Spirometra decipiens*, *S. erinaceieuropaei*, *S. mansoni*, *S. ranarum*, *S. theileri*.

Tabla 8. Divergencia genética (expresada como valores de distancia p) entre secuencias del gen COX1 de los grupos de especies incluidos en los análisis filogenético. Los respectivos valores de error estándar se presentan encima de la diagonal. Obtenido con MEGA v10. Echi: *Echinococcus granulosus*; Dipl: *Diplogonoporus balaenoptera*; Dyph: *Diphyllobothrium tetrapterum*; S.pro: *Sparganum proliferum*; S.UY: *Sparganum aff. proliferum*; Sp.de: *Sp. decipiens*; Sp.er: *Sp. erinaceieuropaei*; Sp.ma: *Sprionetra mansoni*; Sp.ra: *Sp. ranarum*; Sp.th: *Sp. theileri*.

	Echi	Dipl	Sp.ma	Sp.er	Sp.ra	Sp.de	Sp.th	Diph	S.pro	S.UY
Echi		0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Dipl	0,24		0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Sp.ma	0,25	0,16		0,01	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01
Sp.er	0,29	0,19	0,06		0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01
Sp.ra	0,26	0,15	0,01	0,06		0,01	0,01	0,02	0,02	0,02
Sp.de	0,26	0,17	0,03	0,06	0,03		0,01	0,02	0,02	0,01
Sp.th	0,24	0,16	0,10	0,14	0,10	0,11		0,02	0,02	0,02
Diph	0,24	0,15	0,17	0,20	0,17	0,18	0,18		0,02	0,02
S.pro	0,24	0,15	0,14	0,17	0,14	0,15	0,12	0,20		0,01
S.UY	0,23	0,15	0,12	0,15	0,13	0,13	0,13	0,19	0,08	

Comentarios

La morfología general del cuerpo y de las botrias de las larvas plerocercoides permitió llegar hasta el género *Sparganum* (Borteiro et al. 2015; Arrabal et al. 2020). Luego, por métodos de sistemática molecular utilizando una región del gen que codifica para COX1, se identificó a los individuos como *Sparganum aff. proliferum*, aunque tanto la posición de las secuencias en el árbol filogenético, como las distancias genéticas, hacen pensar que podrían pertenecer a otra especie dentro del género. Debido a la escasez de secuencias que codifiquen la región del gen COX1 que se secuenciaron en este trabajo, se nombra a los individuos como *species affinis*, hasta que sea posible realizar mayores estudios para corroborar la identidad.

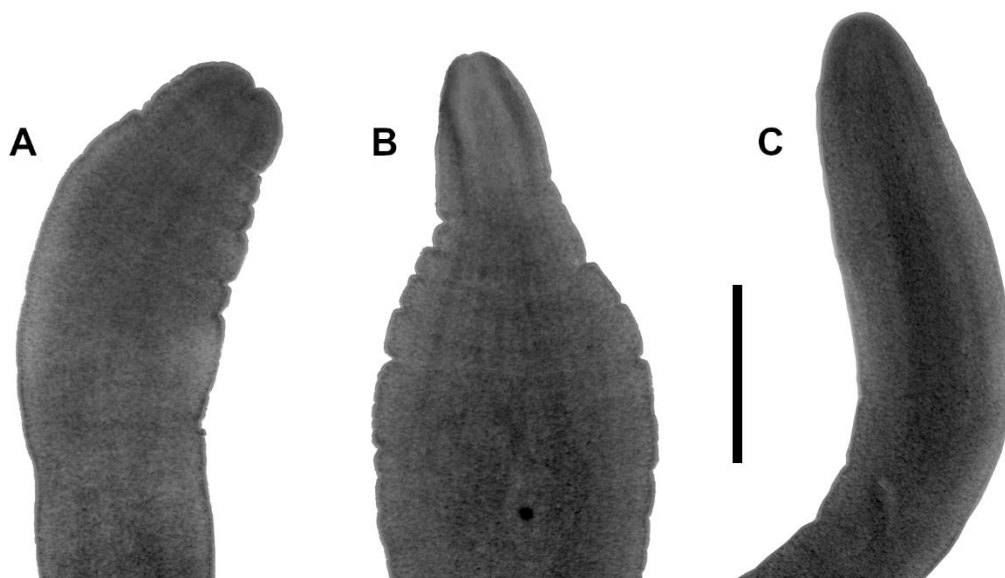


Figura 15. Escólex de *Sparganum aff. proliferum* hallados en *Austrolebias cheradophilus* provenientes del Departamento de Lavalleya, *A. charrua*, *A. luteoflammulatus* y *A. viarius* del Departamento de Rocha, y *A. wolterstorfi*, provenientes de charcos temporales del Departamento de Treinta y Tres. Se muestran distintos estados de invaginamiento: A) completamente invaginado; B) en proceso de desinvaginamiento; C) completamente evaginado. Escala 500 μ m.

Resumen Taxonómico

Localidad: Pirarajá, Retamosa (Depto. de Lavalleya); La Coronilla, Ruta 16/13, Ruta 9 vieja, Ruta 9 km 272, India Muerta (Depto. de Rocha); Paso Ancho (Depto. de Treinta y Tres).

Hospedador: *Austrolebias charrua*, *A. cheradophilus*, *A. luteoflammulatus*, *A. viarius* y *A. wolterstorfi*.

Sitio de infección: celoma.

Prevalencia (IC):

Agosto	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	67 (37-88) %
	Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	5 (0,3-25) %
	Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	5 (0,2-22) %
	Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	17 (0,9-59) %
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	20 (6-47) %
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	4 (0,2-20) %
		<i>A. luteoflammulatus</i>	17 (0,9-59) %

Octubre	India Muerta	<i>A. charrua</i>	50 (3-98) %
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	33 (12-63) %
Intensidad media (BCa):			
Agosto	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	8 (4-13)
	Paso Ancho	<i>A. wolterstorfi</i>	1 (N/A)
	Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	1 (N/A)
	Retamosa	<i>A. cheradophilus</i>	3 (N/A)
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	4 (1-6)
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	1 (N/A)
		<i>A. luteoflammulatus</i>	1 (N/A)
Octubre	India Muerta	<i>A. charrua</i>	4 (N/A)
	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	3 (1-5)

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Cyclophyllidea

Familia Gryporhynchidae Spassky & Spasskaya, 1973

Género *Valipora* Linton, 1927

***Valipora cf. campylancristrota* (Wedl, 1855) Baer and Bona, 1958 (Fig. 16)**

Clasificación basada en 7 individuos, de los cuales solo dos sirvieron para tomar medidas de los ganchos. Metacestode libre en el lumen de la vejiga urinaria. Con cuatro ventosas iguales y rostellum con dos coronas de 10 ganchos cada una, una proximal compuesta de ganchos pequeños, y una distal compuesta de ganchos más largos y robustos. Largo total del metacestode 429 ± 22 (410-453), ancho máximo del primordio de estróbilo 147 ± 3 (144-150). Largo del escólex 196 ± 15 (187-213), ancho máximo del escólex 136 ± 19 (115-150). Ventosas cuatro, circulares, simples, subiguales entre sí; diámetro mayor 48 ± 4 (43-58), diámetro menor 41 ± 4 (31-45). Largo total de ganchos distales 22 ± 1 (20-23); hoja (contorno interno de la porción anterior del gancho), 13 ± 1 (11-14); manubrio (contorno interno de la porción posterior del gancho), 15 ± 1 (14-16); proporción de la hoja en el manubrio distal 74-88%. Largo total de ganchos proximales 11 ± 1 (10-12); hoja 6 ± 1 (5-7); manubrio 9 ± 1 (7-10); proporción de la hoja al manubrio proximal 69-79%.

Comentarios:

Según la clave para metacestodes de Rego et al. (1999), la ausencia de un quiste, el sitio de infección (vejiga urinaria), el escólex con cuatro ventosas y un rostellum (característica de Cyclophyllidea) con dos filas de ganchos, unos grandes (anteriores) y otros pequeños (posteriores), clasifica a estos metacestodes en el género *Valipora* (Rego et al. 1999). Actualmente para Sudamérica se conocen las especies *V. campylancristrota*, *V. minuta*, *V. unilateralis*, *V. ardeolae*, *V. spinosa* y un morfotipo no identificado *Valipora sp.*, todas parasitando peces (hospedador intermediario) y aves (hospedador definitivo) de Brasil (Rego & Rolas, 1972; Rego et al. 1999; Arruda et al. 2001; Scholz et al. 2004; Lizama et al. 2005; Monteiro et al. 2009; Takemoto et al. 2009; Pinto et al. 2012). De estas especies, la biometría de los especímenes aquí estudiados es más coincidentes con la reportada para *V. campylancristrota*, en tanto que se observa que los ejemplares hallados se encuentran dentro de los rangos de tamaño publicados, en especial el tamaño y forma de los ganchos del rostellum (Scholz et al. 2004; Ortega-Oliver et al. 2008). del escólex de los ejemplares hallados se encuentran por fuera del rango de tamaños reportados para otras especies, a excepción de los reportados para *V. campylancristrota* (Scholz et al. 2004). Por esta razón se lo nombra como *Valipora cf. campylancristrota*, y se recomienda comparar con el material tipo para confirmar la identificación.

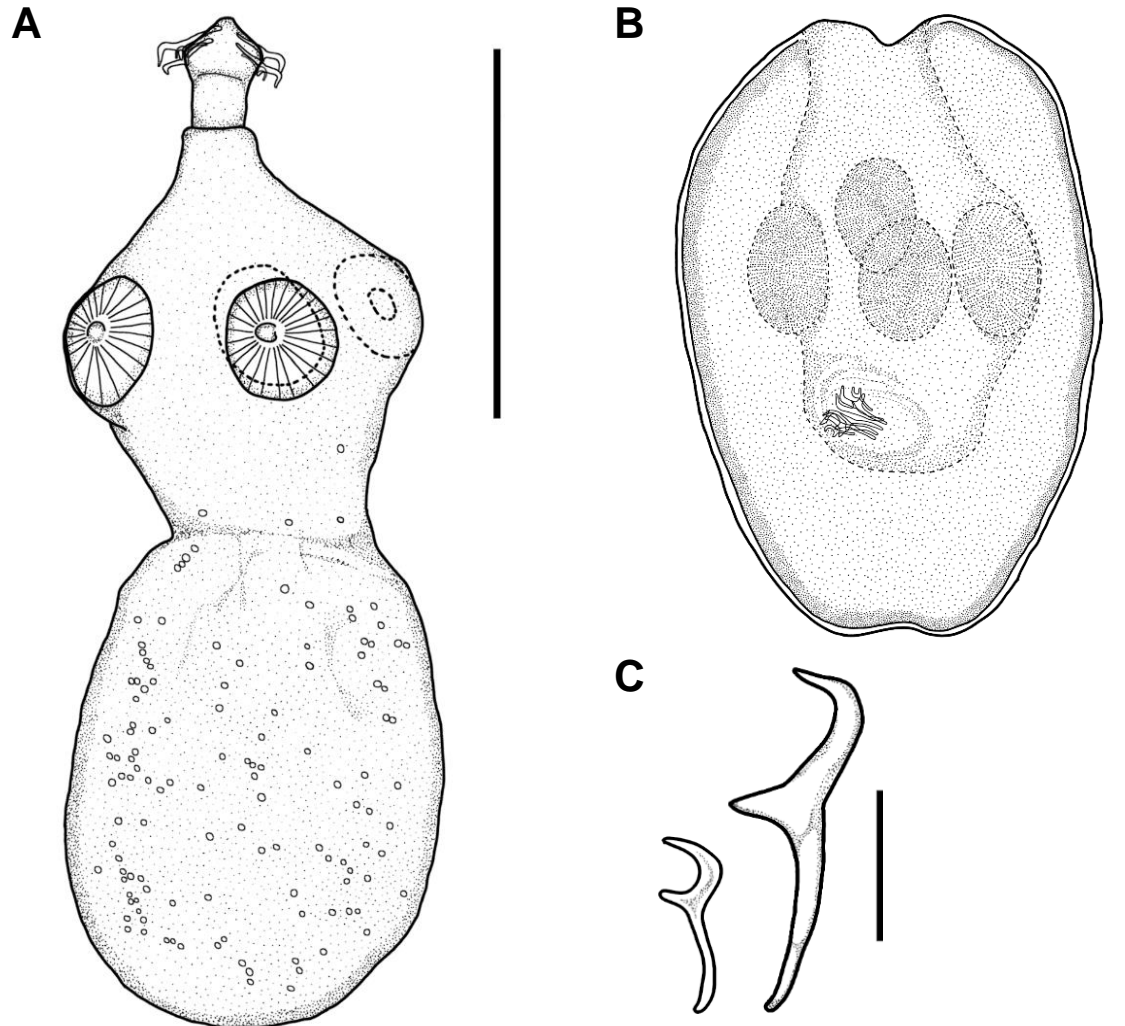


Figura 16. Ilustración de metacestodes de *Valipora cf. campylancristrota* (Wedl, 1855) Baer and Bona, 1958 hallados en vejiga urinaria de *Austrolebias gymnoventris* provenientes del Departamento de Lavalleya. Las ilustraciones se basaron en ejemplares fijados con leve presión. A) metacestode completo, evaginado; escala 150 μm . B) metacestode invaginada (cisticercoide); escala 100 μm . C) detalle de los ganchos (pequeño y grande) del rostellum; escala 10 μm .

Resumen taxonómico

Localidad: Sarandí de las Casas (Depto. de Lavalleya)

Hospedador: *Austrolebias gymnoventris*

Sitio de infección: vejiga urinaria

Prevalencia (IC): 33 (2-87) %

Intensidad media (BCa): 12 (N/A)

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Proteocephalidea Mola, 1928

Familia Proteocephalidae La Rue, 1911

Cisticercoide Proteocephalidae (*species inquerenda*) (Fig. 17)

Descripción basada en 3 individuos teñidos y montados permanentemente. Individuos invaginados, enquistados en mesenterio o superficie externa del intestino del hospedador. Quiste ovalado, de grosor 45 ± 9 (35-51), largo 776 ± 7 (769-782), ancho medio 500 ± 46 (450-539). El parénquima presenta varias corpúsculos calcáreos (corpúsculos). El escólex presenta cuatro ventosas acetabulares, circulares, con musculatura notoria en los bordes y de márgenes libres (dobladadas sobre si mismas en ocasiones). Las mismas son subiguales, de largo 112 ± 9 (99-131) y ancho 67 ± 9 (52-78). En el extremo anterior del escólex, en medio de las cuatro ventosas, presenta un órgano apical al estilo de una ventosa vestigial (o rostellum sin ganchos), circular, sencillo, largo 94 ± 2 (92-95), ancho 75 ± 10 (64-84). El extremo posterior presenta una apertura en el quiste que permite la evaginación del individuo. En ciertos pliegues del tegumento pueden observarse los microtricos.

Comentarios

La presencia cuatro ventosas acetabulares simples, una región glandular en el extremo apical del escólex, y el hecho de que estuvieran enquistados en mesenterio y/o superficie del intestino u otros órganos, clasifica a estos cisticercoides dentro de la familia Proteocephalidae (Rego et al. 1999). En función de que fueron encontrados infectando una gran variedad de órganos y hospedadores, no es posible asegurar la existencia de una sola especie. A su vez, la ausencia de caracteres descriptivos más allá de las ventosas, hace difícil aumentar la resolución taxonómica de la clasificación.

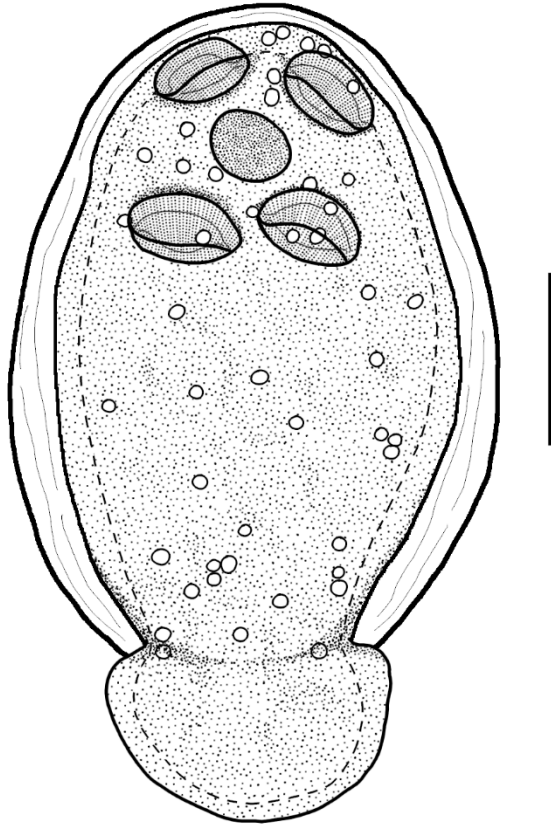


Figura 17. Ilustración de metacestode de la familia Proteocephalidae fijados bajo presión, hallados en el mesenterio de *Austrolebias cheradophilus*, *A. gymnoventris* y *A. prognathus* provenientes del Departamento de Lavalleja, *Austrolebias affinis*, *A. alexandri* y *A. bellottii* del Departamento de Río Negro, y *A. charrua*, *A. luteoflammulatus* y *A. viarius* del Departamento de Rocha. Parte del metacestode se encuentra evaginado a través del extremo posterior; esto no fue tomado en cuenta para las medidas del largo total. Escala 200 μm .

Resumen taxonómico

Localidad: Arroyo Grande, Esteros de Farrapos (Depto. de Río Negro); Pirarajá, Retamosa, Sarandí de las Casas (Depto. de Lavalleja); Ruta 16/13, Ruta 9 vieja (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. charrua*, *A. cheradophilus*, *A. gymnoventris*, *A. luteoflammulatus*, *A. prognathus*, *A. viarius*.

Sitio de infección: mesenterios.

Prevalencia (IC):

Agosto	Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	14 (4-34) %
	Retamosa	<i>A. prognathus</i>	25 (1-75) %
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	47 (22-71) %
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	42 (23-63) %
		<i>A. luteoflammulatus</i>	50 (15-85) %
Octubre	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	25 (7-54) %
	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	84 (61-96) %
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	14 (3-42) %
		<i>A. bellottii</i>	4 (0,2-18) %
	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	33 (2-87) %

Intensidad media (BCa):

Agosto	Pirarajá	<i>A. cheradophilus</i>	2 (1-3)
	Retamosa	<i>A. prognathus</i>	1 (N/A)
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	4 (2-7)
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	4 (2-7)
		<i>A. luteoflammulatus</i>	3 (1-4)
Octubre	Ruta 9 km 272	<i>A. charrua</i>	7 (2-11)
	Arroyo Grande	<i>A. affinis</i>	3 (2-3)
	E. de Farrapos	<i>A. alexandri</i>	1 (N/A)
		<i>A. bellottii</i>	1 (N/A)
	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	1 (N/A)

Phylum Nematoda

Clase Chromadorea Inglis, 1983

Subclase Chromadoria Pearse, 1942

Orden Rhabditida Chitwood, 1933

Familia Anisakidae Railliet & Henry, 1912

Género *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912

***Contracaecum* sp. tipo 2 (*sensu* Moravec, 1998) (Fig. 18)**

Descripción basada en 7 individuos montados de forma transitoria en glicerol alcohólico como aclarante. Largos siempre se consideran en el sentido del eje corporal, anchos siempre se consideran perpendiculares al mismo. Nematodo larval con cutícula estriada simple, sin espinas ni papilas superficiales observables; largo total 8844 ± 4407 (4379-17448), ancho medio 385 ± 147 (181-590). Estriación más acentuada sobre los extremos. Extremo anterior tri-radiado, con tres labios bien definidos; interlabia presente. Diente cefálico en labio ventral, largo 11 ± 3 (6-15), otros dos labios con una papila terminal sencilla cada uno. Poro excretor sobre la base del labio ventral. Esófago simple, cilíndrico, sin sticosomas, sin división en sección muscular y glandular; largo 858 ± 233 (617-1185), ancho 63 ± 20 (42-98); 10% del largo total. Anillo nervioso a una distancia del extremo anterior de 217 ± 93 (58-312). Esófago desemboca en ventrículo más ancho que largo; largo 47 ± 21 (28-92), ancho 79 ± 30 (46-136). Apéndice ventricular posterior (AVP) presente; largo 251 ± 52 (172-303), ancho 72 ± 24 (45-108); 3% del largo total. Ciego intestinal anterior (CIA) presente; largo 457 ± 219 (199-805), ancho 74 ± 36 (41-147); 5% del largo total. Proporción AVP/CIA (en base a largos) 55%. Órganos reproductores, aperturas gonadales (vagina) y papilas terminales (machos) no observables en ninguno de los ejemplares. Cola cónica; largo 104 ± 14 (76-120), ancho 71 ± 18 (54-104). Fásmidos presentes, deiridios no observables. Mucrón corto presente. Cabe destacar que el largo total, la distancia del anillo nervioso al extremo anterior, el largo del ventrículo y el largo y ancho del ciego intestinal anterior mostraron un coeficiente de variabilidad entre 43-50%.

Comentario

La existencia de ventrículo esofágico, ciego intestinal anterior (CIA), apéndice ventricular posterior (AVP) y el poro excretor situado sobre la base de los labios bucales clasifican estas larvas dentro del género *Contracaecum* (Moravec 1998). La presencia del diente cefálico y el CIA más largo que el AVP clasifican a estas larvas en el segundo morfotipo de *Contracaecum* definido por Moravec (1998). No obstante, existen varias incongruencias biométricas con la descripción de este morfotipo dadas por el autor. De los 7 ejemplares utilizados para la descripción solo 1 presenta medidas que caen dentro de los intervalos reportados por Moravec (1998). Los otros son menores en tamaño.

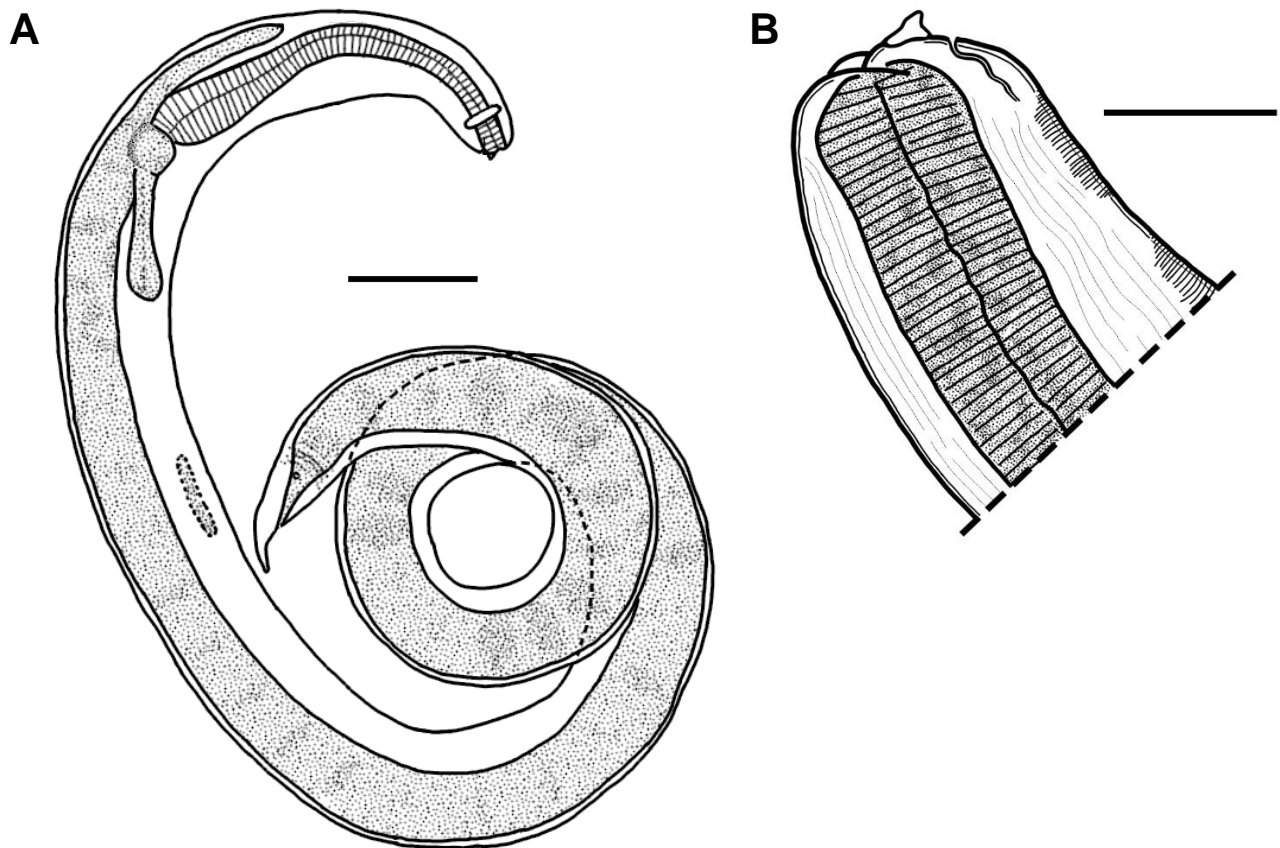


Figura 18. Larva L3 de *Contracaecum* sp. Tipo 2 (*sensu* Moravec, 1998) obtenidos de *Austrolebias bellottii* provenientes del Departamento de Río Negro, y *A. charrua* del Departamento de Rocha. A) Ilustración del ejemplar in toto; escala 200 μ m. B) Detalle de la región anterior con diente cefálico; escala 50 μ m.

Resumen taxonómico

Localidad: Esteros de Farrapos (Depto. de Río Negro); Ruta 9 km 272 (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias bellottii*; *A. charrua* (respectivamente).

Sitio de infección: celoma.

Prevalencia (IC): 8 (1-24) %; 8 (0,4-37) % (respectivamente).

Intensidad media (BCa): 2 (N/A); 1 (N/A) (respectivamente).

Clase Chromadorea Inglis, 1983

Subclase Chromadoria Pearse, 1942

Orden Rhabditida Chitwood, 1933

Familia Anisakidae Railliet & Henry, 1912

Género *Contracaecum* Railliet & Henry, 1912

***Contracaecum* sp. tipo 3 (*sensu* Moravec 1998) (Fig. 19)**

Descripción basada en solo 2 individuos montados de forma transitoria en glicerol alcohólico como aclarante, por lo que no se reporta máximo ni mínimo. Cutícula estriada simple idem *Contracaecum* sp tipo 2. Largo total 8286 ± 649 , ancho medio 297 ± 19 . Estriación regular sin acentuaciones pronunciadas sobre los extremos. Extremo anterior tri-radiado, con tres labios bien definidos, que protruyen del resto del patrón cuticular; interlabia poco desarrollada. Diente cefálico ausente, cada labio con papila terminal cónica, sencilla. Poro excretor sobre la base del labio ventral. Esófago simple, cilíndrico, sin sticosomas, sin división en sección muscular y glandular; largo 825 ± 30 , ancho 38 ± 4 ; 10% del largo total. Anillo nervioso a una distancia del extremo anterior de 125 ± 65 . Esófago desemboca en ventrículo más ancho que largo; largo 36 ± 1 , ancho $63 \pm 0,3$. Apéndice ventricular posterior (AVP) presente; largo 370 ± 87 , ancho 76 ± 2 ; 4% del largo total. Ciego intestinal anterior (CIA) presente; largo 520 ± 68 , ancho 78 ± 12 ; 6% del largo total. Proporción AVP/CIA (en base a largos) 71%. Órganos reproductores, aperturas gonadales (vagina) y papilas terminales (machos) no observables en ninguno de los

ejemplares. Cola cónica, con terminación redondeada; largo 100 ± 13 , ancho 88 ± 6 . Fásmidos y deiridios no observables. Mucrón ausente.

Comentarios

La existencia de ventrículo esofágico, ciego intestinal anterior (CIA), apéndice ventricular posterior (AVP) y el poro excretor situado sobre la base de los labios bucales clasifican estas larvas dentro del género *Contracaecum* (Moravec 1998). El nematodo presenta todas las características generales de *Contracaecum sp.* tipo 2, con la excepción de que no presenta diente cefálico, en cada labio existe una papila cónica prominente, y la cola tiene terminación redondeada sin mucrón. Estas características clasifican a los individuos bajo larvas *Contracaecum sp.* tipo 3 según Moravec (1998).

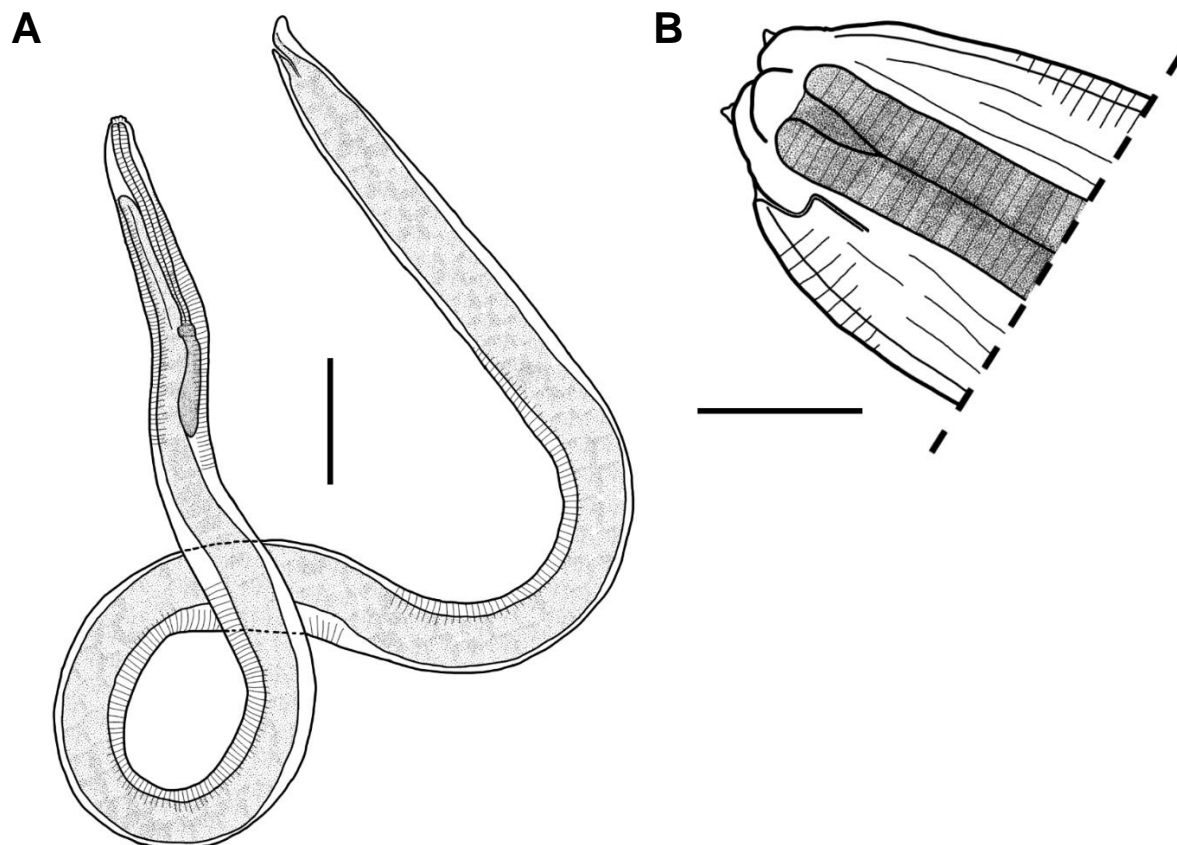


Figura 19. Larva L4 de *Contracaecum sp.* Tipo 3 (*sensu* Moravec, 1998) obtenidos de *Austrolebias charrua* provenientes del Departamento de Rocha. A) Ilustración del ejemplar in toto; escala 500 μm . B) Detalle de la región anterior con papilas cefálicas; escala 50 μm .

Resumen taxonómico

Localidad: Ruta 9 km 272 (Depto. de Rocha)

Hospedador: *Austrolebias charrua*

Sitio de infección: celoma.

Prevalencia (IC): 17 (3-46) %

Intensidad media (BCa): 1 (N/A)

Clase Chromadorea Inglis, 1983

Subclase Chromadoria Pearse, 1942

Orden Rhabditida Chitwood, 1933

Nematoda L3 (*species inquerenda*) (Fig. 20)

Solo un ejemplar mostró las estructuras internas de forma adecuada como para ser ilustradas y medidas. Individuos larvales pequeños, con cutícula suave sin espinas ni estriación pronunciada; largo total 721, ancho al nivel ecuatorial 20. No se observaron deiridios, fásquidos, papilas cefálicas ni labios. Esófago cilíndrico simple, más ancho en la base; largo 67, ancho de la base 12. Largo del esófago representa un 9% del largo total del cuerpo. Cola simple, cónica, largo 96, ancho al nivel anal 16. Largo de la cola representa un 13% del largo total del cuerpo. Existen células prominentes esparcidas a lo largo del cuerpo, con mayor acumulación en la región posterior, en torno al ano y la cola. Primordio genital presente como un cumulo celular; distancia del primordio genital al extremo posterior 251. Parásitos de hígado y corazón, usualmente en cápsula fina, posiblemente de origen hospedador ya que en ocasiones se observó conteniendo más de un individuo.

Comentarios

La presencia de un ensanchamiento en la región posterior esófago, la distancia entre el ano y el extremo terminal de la cola, y el sitio de infección en donde se hallaron enquistados fueron las únicas características que pudieron utilizarse para la clasificación de estos ejemplares, y que permitieron llegar solo hasta el orden Rhabditida.

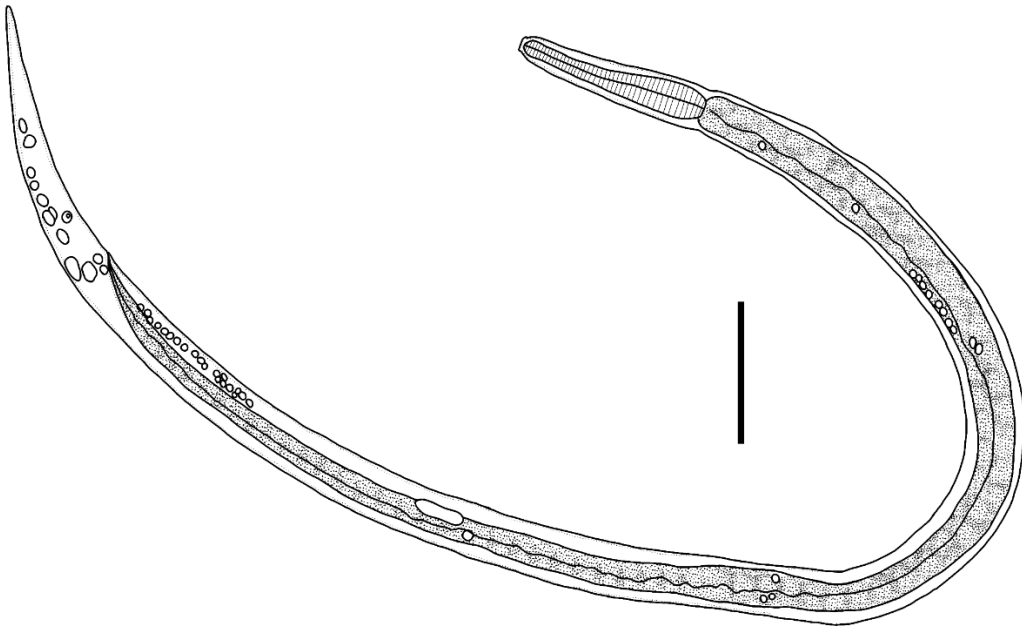


Figura 20. Ilustración in toto de nematodo rhabdítico larval (*species inquerenda*) encontrado en hígado y corazón de *Austrolebias gymnoventri* provenientes del Departamento de Lavalleja, y *A. charrua* y *A. viarius* del Departamento de Rocha. Escala 50 μm .

Resumen taxonómico

Localidad: Sarandí de las Casas (Depto. de Lavalleja); La Coronilla, Ruta 16/13, Ruta 9 vieja (Depto. de Rocha).

Hospedador: *Austrolebias charrua*, *A. gymnoventris*, *A. viarius*.

Sitio de infección: hígado y corazón.

Prevalencia (IC):

Agosto	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	8 (0,4-37) %
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	13 (2-39) %
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	4 (0,2-20) %
Octubre	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	33 (2-87) %

Intensidad media (BCa):

Agosto	La Coronilla	<i>A. charrua</i>	1 (N/A)
	Ruta 16/13	<i>A. charrua</i>	2 (1-2)
	Ruta 9 vieja	<i>A. viarius</i>	1 (N/A)
Octubre	Sarandí de las Casas	<i>A. gymnoventris</i>	2 (N/A)

3. CAPÍTULO 2:

Estudio espacial de las comunidades parasitarias halladas en peces del género *Austrolebias*

Objetivos específicos:

Comparar estadísticamente y mediante métodos multivariados, la diversidad taxonómica de parásitos entre los distintos charcos temporales y entre las distintas cuencas hidrográficas.

Establecer, mediante la información disponible sobre los ciclos biológicos de los parásitos hallados y la diversidad de otros hospedadores presentes en los charcos temporales, hipótesis de ciclos de vida parasitarios y de conectividad ecológica.

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El largo estándar de los hospedadores muestreados en los charcos fue explorado gráficamente, comparando entre sexos y meses de colecta. También se compararon los tamaños de los peces anuales correspondientes al subgénero *Megalebias* (*Austrolebias prognathus*, *A. wolterstorffi*, y *A. cheradophilus*; *sensu* Loureiro et al. 2018) con el resto de las *Austrolebias*. Esto último es para profundizar en la hipótesis de que, si existieran diferencias significativas, los organismos del subgénero *Megalebias* podrían ocupar un rol diferente en las redes tróficas y por ende tener acceso a otras especies de parásitos que las del resto de las *Austrolebias* consideradas en este estudio. Dichas comparaciones se realizaron gráficamente mediante diagrama de cajas (boxplot), y estadísticamente mediante test de Mann-Whitney (U) (Mann & Whitney 1947; Zar 1996).

Para evaluar la riqueza taxonómica de los parásitos a lo largo de los sitios muestreados se calcularon y graficaron las abundancias, abundancias relativas y prevalencias de infección según Bush et al. (1997). En principio, la prevalencia de infección se representó en función de los meses de muestreo sin discriminar por sexo de hospedador. Luego, según la disponibilidad de los datos, se comparó la abundancia parasitaria total entre sexo de hospedador y entre meses de colecta, explorando posibles patrones generales mediante la aplicación del test estadístico no paramétrico de Mann-Whitney (U) (Mann & Whitney 1947; Zar 1996), y el análisis múltiple de la varianza no paramétrico (PERMANOVA) de dos factores (Anderson 2001): mes de colecta y sexo, con los datos de abundancia transformados a logaritmo de $X+1$, y el índice de similitud de Bray-Curtis. También se analizaron ambos factores juntos (mes de colecta y sexo). Se buscó evaluar la existencia de una relación entre el número de parásitos y la talla de los hospedadores infectados. Para ello, se consideró el valor de abundancia de cada infracomunidad (*sensu* Aguilar-Aguilar 2008) y se exploró la relación entre el tamaño de los hospedadores (largo estándar en centímetros) y la abundancia parasitaria mediante regresión funcional con el método de eje mayor reducido (*reduced major axis* o RMA del inglés; Warton et al. 2006) y tests de correlación con el índice Tau de Kendall (Kendall's Tau) (Press et al. 1992). Cabe destacar que en este estudio se muestrearon especies

que naturalmente presentan un mayor tamaño promedio dentro de los peces anuales: las pertenecientes al subgénero *Megalebias* (*Austrolebias prognathus*, *A. wolterstorffii* y *A. cheradophilus*; Costa 2002; 2006). De este modo, con la misma metodología descrita anteriormente, se estudiaron posibles diferencias de talla y abundancia parasitaria entre el subgénero *Megalebias* y el resto de las especies de *Austrolebias* muestreadas. *Austrolebias vazferreirai* también presenta grandes tamaños, pero fue incluido junto con el resto de las *Austrolebias* para mantener un criterio taxonómico en la división de tallas. Además, se agruparon los hospedadores en categorías según el número de taxa de sus infracomunidades, y se evaluaron diferencias entre las tallas de los grupos mediante el test de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis 1952). Los hospedadores sin parásitos no fueron considerados para estos dos últimos análisis ya que su inclusión aportaría ruido y no contribuiría a responder la pregunta planteada. Todos los análisis utilizaron 9999 permutaciones de Monte Carlo.

Se realizaron curvas de rarefacción (Mao Tau) para las estimaciones de riqueza taxonómica por charco temporal, de modo de evaluar la representatividad de las muestras y determinar el número óptimo de hospedadores que mejor estima la diversidad de parásitos presentes en el charco temporal. Para esto se utilizó el programa libre EstimateS (Colwell et al. 2012), eligiendo en el mismo la opción “basada en muestras” (Sample-Based), donde cada hospedador corresponde a una muestra en cada charco. Las configuraciones de diversidad del programa para la aleatorización y rarefacción fueron: 500 corridas para las aleatorizaciones, extrapolación a 40 muestras (arbitrario), y estimación de la rarefacción y la extrapolación en cada muestra. Para la estimación de la riqueza taxonómica con datos de abundancia, la configuración fue: índice no-paramétrico Chao1 (Chao, 1984) clásico (Basualdo 2017), valor de 10 como límite superior de abundancia para la consideración de las muestras en el modelo, y generación de ciclos aleatorios con reemplazo de los individuos de cada charco. Como consecuencia de esto, todos los hospedadores con valores de abundancia menores a 10 debieron ser eliminados del análisis. Este procedimiento se aplicó para los datos obtenidos de los muestreos del 2018 con el fin de que los resultados se utilizaran como base para definir el número de peces que se procuró muestrear en el 2019. Luego, se volvieron a construir

curvas de rarefacción con los datos obtenidos de los muestreos del 2019 para conocer la representatividad de estos.

Para los análisis estadísticos se utilizaron solamente los datos provenientes de los muestreos realizados durante el año 2019. Esto es en función de que en el año 2018 tanto el número de hospedadores como la riqueza taxonómica parasitaria hallada fueron muy escasos. Adicionalmente, consecuencia del desconocimiento de la dinámica ecológica de los parásitos de las *Austrolebias*, los muestreos realizados durante el año 2018 (distintos charcos a lo largo de todo el hidropériodo) no pudieron ser utilizados para dilucidar patrones espaciales. Debido a esto, el año 2018 fue considerado como un muestreo piloto. Por otro lado, las larvas de *Contracaecum sp.* fueron consideradas en su conjunto, es decir sin separar entre tipo 2 y 3 (*sensu* Moravec 1998) debido a las bajas prevalencias y abundancias que hubieran dificultado los procedimientos estadísticos. De todas formas, para tomar esta decisión se tuvo en cuenta que la distribución, los hospedadores y los nichos dentro de los hospedadores para ambos morfotipos, era prácticamente el mismo.

Con la riqueza taxonómica parasitaria, primero se buscó comprender a qué función de distribución se ajustaban los mismos, con el fin de trabajar con la estadística adecuada e interpretar mejor los resultados. Para ello se utilizó el T-test de Anscombe de bondad de ajuste a la distribución Binomial Negativa (BN), mediante el programa libre EcoMeth v.7.4 (Krebs 2014). Este test también permite estimar el parámetro de agregación k de la distribución BN. Adicionalmente, se complementó la estimación del nivel de agregación de los datos parasitológicos mediante el método gráfico del índice de Discrepancia de Poulin (1993) (índice D). Éste índice consiste en calcular el área entre la línea de una distribución uniforme hipotética y la curva de acumulación (escalonada, por trabajar con un número muestral relativamente pequeño) entre parásitos y hospedadores. Si denominamos a esta área como A, y al área debajo de la curva de acumulación como B, entonces el índice D es la proporción de A en A+B (Poulin 1993). Esto significa que D varía entre 0 y 1, donde valores más cercanos a 1 implicarán un mayor nivel de agregación. Este método es especialmente útil en parasitología ya que es netamente

gráfico y no depende de ningún estimador paramétrico ni del ajuste a una función de distribución. Poulin (1993) recomienda que el índice solo sea utilizado para comparar muestras si las mismas no son pequeñas (mayores o iguales a 50) y si son aproximadamente del mismo tamaño (porque el índice es dependiente del número de hospedadores y de la riqueza taxonómica de parásitos, es decir de la representatividad de la muestra). Es por esto, que el índice D se calculó solamente a modo de descriptor exploratorio del total de parásitos en el total de los hospedadores muestreados en todos los charcos temporales (escala espacial Uruguay).

Escala espacial Uruguay

Se realizó una exploración gráfica general de la distribución espacial de la riqueza morfológica parasitaria, tomando en cuenta todos los charcos temporales. Esto se llevó a cabo graficando las abundancias absolutas y las relativas de cada taxa parasitario. También se realizó el análisis gráfico de la relación entre la abundancia parasitaria en escala logarítmica (neperiana) y su frecuencia de ocurrencia, metodología sugerida por Digby & Kempton (1978) para la exploración de patrones espaciales. La frecuencia de ocurrencia se calculó cuantificando las veces que se halló un determinado taxón parasitario en el conjunto total de todos los hospedadores.

Escala espacial Cuencas hidrográficas del Uruguay

Para el estudio espacial de la riqueza taxonómica parasitaria a nivel de las hidro-regiones uruguayas, se agruparon los datos de los muestreos realizados en el año 2019 en función de las cuencas hidrográficas a las que pertenecen los charcos temporales muestreados (Cuenca hidrográfica del Río Uruguay, del Río Negro, Patos-Merín y del Atlántico). No se clasificó entre taxa de hospedadores en esta instancia ni entre taxa parasitario. Se calculó la prevalencia, la abundancia y la abundancia relativa en cada cuenca hidrográfica.

Luego, para cada grupo de cuenca hidrográfica se discretizaron los charcos temporales y las especies de *Austrolebias* (subgénero *Megalebias* incluido) muestreadas en cada charco. Con los datos ordenados de esa manera, se utilizó el test estadístico no-paramétrico PERMANOVA (Anderson 2001) con índice de similaridad de Morisita (Morisita 1959) para determinar si no existen diferencias significativas entre las cuencas hidrográficas consideradas.

Escala espacial charco temporal

A este nivel de análisis, los datos fueron separados por charco temporal, sin tomar en cuenta las especies de *Austrolebias* colectadas en cada charco. Con ello, se analizó gráficamente la distribución de abundancias parasitarias y prevalencias de infección en los distintos sitios. Se aplicó el test estadístico no-paramétrico Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis 1952) para la comparación entre las abundancias parasitarias de cada charco temporal. En caso de encontrarse diferencias significativas (p -valor $< 0,05$) entre charcos, se verificaron los resultados con el test estadístico no-paramétrico (post-hoc) Mann-Whitney (Mann & Whitney 1947; Zar 1996).

Considerando que la riqueza taxonómica y la abundancia parasitaria hallada en cada charco podrían ser parámetros identificadores de estos últimos, se construyó una matriz con el logaritmo de la abundancia de los distintos taxa parásitos presentes en los charcos temporales. Esta matriz fue utilizada para la aplicación de métodos estadísticos multivariados de agrupamiento (*clustering* del inglés) y ordenación. Estos métodos funcionan en base a algún índice de similitud que se utiliza para los cálculos de las distancias matemáticas que luego dan lugar a los grupos. Para los análisis de agrupamiento y ordenación se utilizó el índice de Morisita (Morisita 1959) según las recomendaciones de Chao et al. (2006) para muestreos desiguales.

Los dendogramas se construyeron con el método de grupo de pares no ponderados con media aritmética (UPGMA del inglés, o *Average Linkage*) con distancia de Morisita y 9999 permutaciones de *bootstrap*, para confirmar el grado de credibilidad de los nodos.

Se definieron grupos a priori a través de una interpretación gráfica de los resultados, y para evaluar la definición de dichos grupos, se utilizó el método multivariado de ordenación conocido como escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS del inglés) (Manly & Alberto 2017). Tomando en cuenta ambos métodos y previendo de que no quedara ningún charco temporal individualizado, se definieron grupos a un nivel de similitud de aproximadamente 40% en el dendograma.

La significancia estadística de los grupos generados a partir de los análisis mencionados anteriormente fue analizada mediante el test estadístico multivariado no-paramétrico de análisis de similitud (ANOSIM del inglés; Clarke 1993), seguido del método de porcentajes de similitud (SIMPER del inglés; Clarke 1993). Éste último permitió conocer la contribución de cada taxa parasitario a la conformación de los grupos.

Escala espacial charco temporal y hospedadores (charco-hospedador)

Se construyeron gráficos de abundancia y abundancia relativa de cada charco temporal muestreado durante el año 2019, separando por especies de *Austrolebias* y por los distintos taxa parasitarios hallados en cada una.

Para los análisis multivariados se construyó una matriz similar a la utilizada en el estudio de la escala espacial anterior, pero en este caso se incluyó la variable hospedador en la clasificación de los parásitos por charco temporal. De este modo, la presencia de una misma especie de *Austrolebias* en distintos charcos temporales queda definida como niveles distintos dentro de la matriz.

Se repitió el mismo procedimiento aplicado anteriormente: se realizó el análisis multivariado de agrupamiento mediante dendograma UPGMA, se definieron grupos para un nivel de similitud del 40% en el dendograma (para hacerlo comparable con el método anterior), y se realizó un análisis multivariado de ordenación NMDS, y se utilizó el test estadístico multivariado no-paramétrico ANOSIM, seguido por el método SIMPER.

Estos métodos (tanto a escala charco temporal como a escala charco-hospedador) permitieron explorar la similitud entre los componentes de comunidad parasitarios presentes en los distintos hospedadores en cada charco temporal.

Todos los datos, las matrices y las gráficas fueron realizados utilizando el programa Excel (2018). Todos los test estadísticos se realizaron utilizando el programa libre PAST v.4.06 (Hammer et al. 2001). La Normalidad de los datos se evaluó mediante el test L de Lilliefors (Abdi & Moli 2007) y la homogeneidad de varianza (homocedasticidad) entre las muestras mediante el test de Levene. El valor crítico alfa siempre se fijó en 0,05 para todos los test estadísticos.

3.2 RESULTADOS

Los peces colectados en el año 2018 correspondieron a 13 especies: *Austrolebias affinis* (Amato, 1986); *A. alexandri* Castello & López, 1974; *A. arachan* Loureiro, Azpelicueta & García, 2004; *A. bellottii* Steindachner, 1881; *A. charrua* Costa & Cheffe, 2001; *A. cheradophilus* Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1964; *A. juanlangi* Costa, Cheffe, Salvia & Litz, 2006; *A. luteoflammulatus* Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1964; *A. nigripinnis* Regan, 1912; *A. prognathus* Amato, 1986; *A. vazferreirai* Berkenkamp, Etzel, Reichert & Salvia, 1994; *A. viarius* Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1964; *A. wolterstorffi* Ahl, 1924. Los peces colectados en el año 2019 correspondieron a las mismas especies que en el 2018, con la adición de *A. gymnoventris* Amato, 1986 y *A. quirogai* Loureiro, Duarte & Zarucki, 2011.

Tabla 9. Resumen de largo estándar (LSt), peso (P) y desvíos estándar respectivos (DS) de las *Austrolebias* colectadas (Hosp), dividido en machos (M) y hembras (H), indicando año, mes (Jun: Junio; Jul: Julio; Ago: Agosto; Sep: Septiembre; Oct: Octubre) y localidad. Referencias: A. aff) *Austrolebias affinis*; A. ale) *A. alexandri*; A. ara) *A. arachan*; A. bel) *A. bellottii*; A. cha) *A. charrua*; A. che) *A. cheradophilus*; A. gym) *A. gymnoventris*; A. jua) *A. juanlangi*; A. lut) *A. luteoflammulatus*; A. nig) *A. nigripinnis*; A. pro) *A. prognathus*; A. qui) *A. quirogai*; A. vaz) *A. vazferreirai*; A. via) *A. viarius*; A. wol) *A. wolterstorffi*.

	Charco	Hosp	M	LSt ± DS	P ± DS	H	LSt ± DS	P ± DS
2018								
Jun	Sitio C	<i>A. bel</i>	3	6,35 ± 1,30	3,48 ± 1,95	4	5,75 ± 0,29	2,43 ± 0,27
		<i>A. nig</i>	1	3,94	0,86	0	—	—
	Sitio D	<i>A. aff</i>	8	4,1725 ± 0,20	0,98 ± 0,20	2	4,03 ± 0,12	1,08 ± 0,01
		<i>A. ara</i>	2	4,295 ± 0,11	1,02 ± 0,02	0	—	—
	Mafalda	<i>A. bel</i>	1	5,28	1,89	1	4,66	1,23
		<i>A. ale</i>	9	3,67 ± 1,10	0,69 ± 1,19	1	3,93	0,86
	San Lorenzo	<i>A. bel</i>	3	3,84 ± 0,07	0,59 ± 0,08	1	4,78	1,49
	Treinta y Tres	<i>A. lut</i>	8	4,08 ± 0,30	0,90 ± 0,26	1	3,97	0,89
Ago	Fraile Muerto	<i>A. vaz</i>	3	7,49 ± 1,70	6,11 ± 2,95	3	6,53 ± 0,70	3,97 ± 1,48
		<i>A. ara</i>	2	5,085 ± 0,69	2,26 ± 0,80	0	—	—
	Tupambaé	<i>A. ara</i>	10	4,86 ± 0,39	1,91 ± 0,47	3	4,43 ± 0,14	1,35 ± 0,14
		<i>A. jua</i>	10	4,24 ± 1,65	1,01 ± 2,71	5	3,97 ± 1,32	0,83 ± 1,66
	Zapallo 2	<i>A. vaz</i>	2	8,44 ± 0,94	7,99 ± 1,80	3	7,04 ± 1,60	5,14 ± 2,67
Sep	Castillos	<i>A. via</i>	2	3,72 ± 0,74	0,79 ± 0,54	0	—	—
	Frigorífico	<i>A. nig</i>	6	3,98 ± 0,13	0,83 ± 0,14	0	—	—
	Oeste Olimar 3	<i>A. wol</i>	1	8,62	7,53	0	—	—

	Paso del Dragon	<i>A. wol</i>	8	5,52 ± 0,40	1,80 ± 0,44	0	—	—
		<i>A. cha</i>	0	—	—	1	4,55	1,19
	Piraraja	<i>A. che</i>	3	5,27 ± 0,62	1,90 ± 0,64	3	5,14 ± 0,25	1,88 ± 0,22
		<i>A. cha</i>	0	—	—	2	4,975	1,41
	Retamosa	<i>A. pro</i>	10	5,85 ± 1,56	1,95 ± 2,77	2	5,97 ± 0,51	2,06 ± 0,39
		<i>A. che</i>	1	6,84	4,13	0	—	—
	Ruta 9 vieja	<i>A. che</i>	1	9,49	10,96	1	7,11	6,04
2019								
Ago	Farrapos	<i>A. ale</i>	10	2,92 ± 0,31	0,77 ± 0,26	0	—	—
		<i>A. bel</i>	3	3,66 ± 0,25	1,31 ± 0,34	1	3,79	1,35
		<i>A. nig</i>	9	2,92 ± 0,39	0,74 ± 0,32	0	—	—
	Fraile Muerto	<i>A. qui</i>	12	3,62 ± 1,62	1,34 ± 3,27	0	—	—
		<i>A. vaz</i>	12	6,18 ± 0,48	6,43 ± 1,59	9	4,99 ± 0,86	3,99 ± 2,39
	La Coronilla	<i>A. cha</i>	5	3,74 ± 0,77	1,59 ± 1,09	7	3,14 ± 0,82	0,97 ± 0,75
	Paso Ancho	<i>A. wol</i>	14	6,06 ± 0,76	5,77 ± 1,92	5	5,44 ± 0,64	4,20 ± 1,28
	Pirarajá	<i>A. che</i>	7	5,21 ± 0,42	3,95 ± 0,76	15	4,58 ± 0,45	2,83 ± 0,81
	Retamosa	<i>A. che</i>	3	5,65 ± 1,12	4,96 ± 2,99	3	5,07 ± 0,46	4,16 ± 0,71
		<i>A. pro</i>	3	7,58	11,51	1	7,43	10,18
		<i>A. via</i>	2	3,58 ± 1,38	1,35 ± 2,75	0	—	—
	Ruta 16/13	<i>A. cha</i>	7	4,89 ± 0,64	3,56 ± 0,53	8	4,02 ± 0,26	2,13 ± 0,37
	Ruta 9 vieja	<i>A. via</i>	7	4,11 ± 0,21	2,00 ± 0,32	17	3,65 ± 0,22	1,55 ± 0,39
		<i>A. lut</i>	4	3,48 ± 0,54	1,07 ± 0,49	2	3,81 ± 0,28	1,63 ± 0,43
Oct	Arroyo Grande	<i>A. aff</i>	5	4,29 ± 0,35	2,30 ± 0,37	14	3,36 ± 0,30	1,27 ± 0,23
	Sarandí de las Casas	<i>A. gym</i>	1	3,16	0,82	2	2,67	0,75 ± 0,18
		<i>A. cha</i>	1	3,48	1,3	0	—	—
	Ruta 9 km 272	<i>A. cha</i>	6	3,81 ± 0,52	1,85 ± 0,72	6	3,89 ± 0,38	1,86 ± 0,35
	India Muerta	<i>A. cha</i>	0	—	—	2	3,97 ± 0,43	2,25 ± 0,77
	Farrapos	<i>A. ale</i>	14	3,42 ± 0,60	1,19 ± 0,68	0	—	—
		<i>A. bel</i>	19	4,34 ± 0,63	2,28 ± 0,70	7	3,64 ± 0,61	1,50 ± 0,68
		<i>A. nig</i>	4	3,23 ± 0,51	0,99 ± 0,59	9	2,90 ± 0,54	0,78 ± 0,61

Año de muestreo 2018

Los charcos y las especies de *Austrolebias* muestreadas durante los distintos meses del año 2018 no fueron los mismos (Tab. 9). A su vez, haber muestreado a lo largo del hidroperíodo en el año 2018 implicó que los hospedadores de cada mes de muestreo tuvieran distinta edad y en consecuencia tamaño (Fig. 21). En este sentido, se comparó el largo estándar entre sexos y meses de muestreos. Cuando no se discriminó por meses, los machos y las hembras no mostraron diferencias significativas (Lilliefors L= 0,1383; p-valor << 0,0001<0,05; Levene p-valor = 0,96>0,05; Student T= 1,04; p-valor

(permutaciones Monte Carlo=9999) = 0,30>0,05). Al separar entre meses de muestreo, las hembras de *Austrolebias* no mostraron diferencias significativas (Levene p-valor (medias)= 0,0003; Kruskal-Wallis Hc= 5,62; p-valor= 0,13>0,05), mientras que los machos sí mostraron diferencias significativas (Levene p-valor (medianas)= 0,051>0,05; Kruskal-Wallis Hc= 25,87; p-valor= 1,01x10⁻⁵<0,05) entre los pares Agosto-Junio, Agosto-Julio, Septiembre-Junio, Septiembre Julio (Tab. 10).

Tabla 10. Resultado del test no paramétrico de Mann-Whitney (post-hoc) para la comparación del largo estándar de hospedadores del género *Austrolebias* entre meses de muestreo del año 2018. Por encima de la diagonal se muestran los valores del estadístico U del test. Por debajo de la diagonal se muestran los p-valores del test. Se marcan con un asterisco aquellos valores estadísticamente significativos (p-valor < 0,05).

	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
Junio		101,5	92	116,5
Julio	0,55		79	103
Agosto	0,0057*	0,00091*		351
Septiembre	0,0068*	0,0012*	1	

Estudios de Abundancia parasitaria

Trabajando bajo la hipótesis de que la riqueza específica de los hospedadores se relaciona positivamente con la riqueza taxonómica parasitaria, se optó por muestrear distintos charcos a lo largo del hidropériodo del año 2018, priorizando una mayor cantidad de especies de *Austrolebias*. Se observó un aumento del número de parásitos (abundancia total, sin discriminar entre los taxa parasitarios) en los hospedadores muestreados a medida que se avanzó en el tiempo. En el mes de junio del año 2018 hubo una abundancia parasitaria de 5 y en septiembre de 84 (Fig. 21A). A su vez, existió un aumento de la prevalencia de infección (P) desde junio (n=24; P=4%) hasta agosto (n=41; P=24%), con un descenso en septiembre (n=41; P=15%) (Fig. X1B). No se separó por sexo porque hubo muy pocas hembras y los cálculos de prevalencia no hubieran sido informativos.

No se encontró relación entre el largo estándar de las *Austrolebias* muestreadas durante el año 2018 y la abundancia parasitaria encontrada en las mismas (sin discriminar entre

sexo, localidad, ni especie) (Kendall's Tau ~ 0 ; p-valor (permutaciones Montecarlo=9999) $\sim 1 > 0,05$).

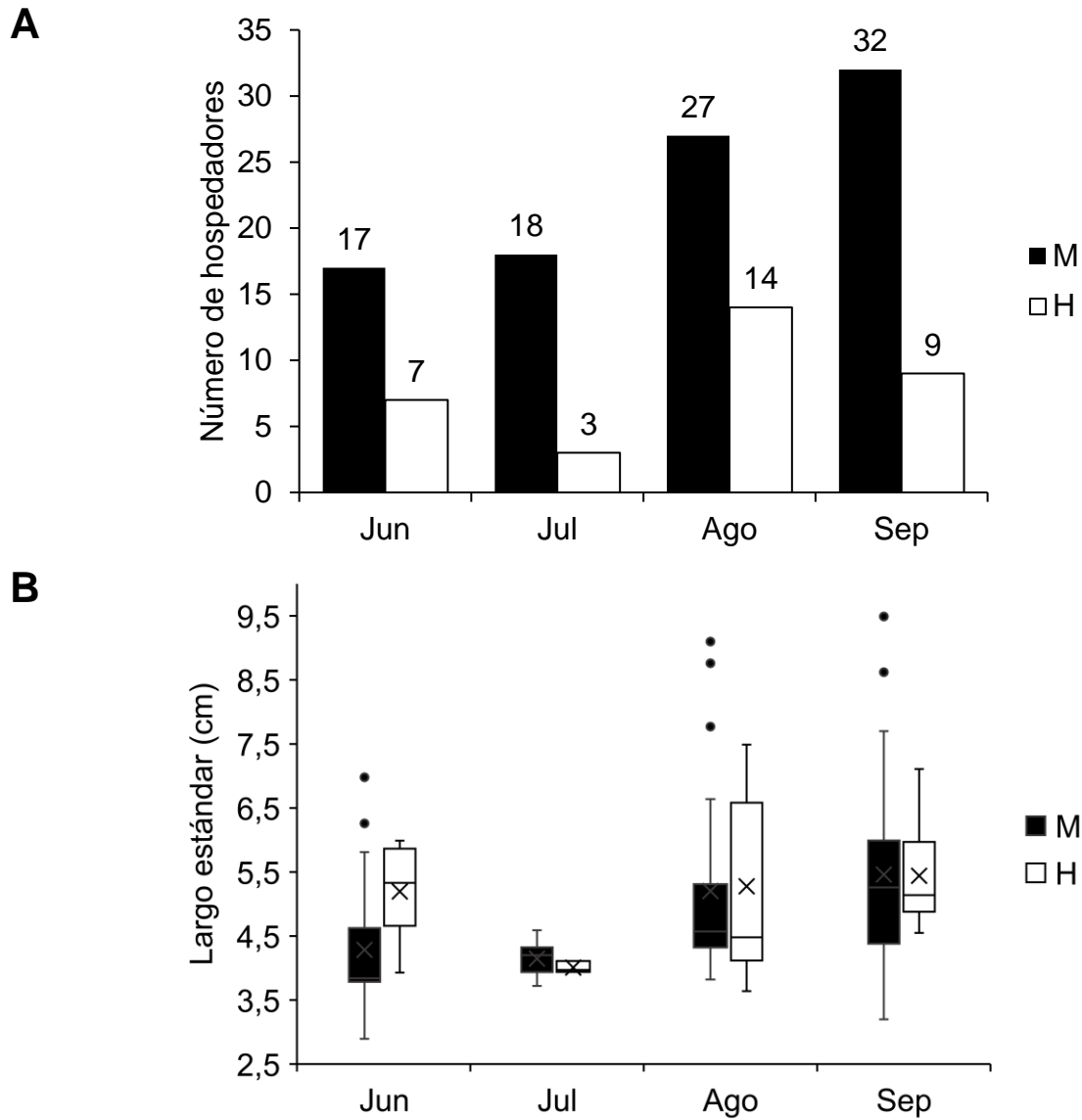


Figura 21. Datos cuantitativos y cualitativos generales (sin discriminar entre especies ni entre sitios de muestreo) de las *Austrolebias* colectadas durante los meses de junio (Jun), julio (Jul), agosto (Ago) y septiembre (Sep) del 2018, separadas por sexo (M: machos; H: hembras). A) Cantidad de hospedadores muestreados durante cada mes. B) Diagrama de cajas (boxplot) de los largos estándar de las *Austrolebias* colectadas durante cada mes; para cada caja se indica la mediana (línea horizontal dentro de la caja), la media (cruz dentro de la caja), y los datos anómalos (o *outliers*, con puntos fuera de la caja).

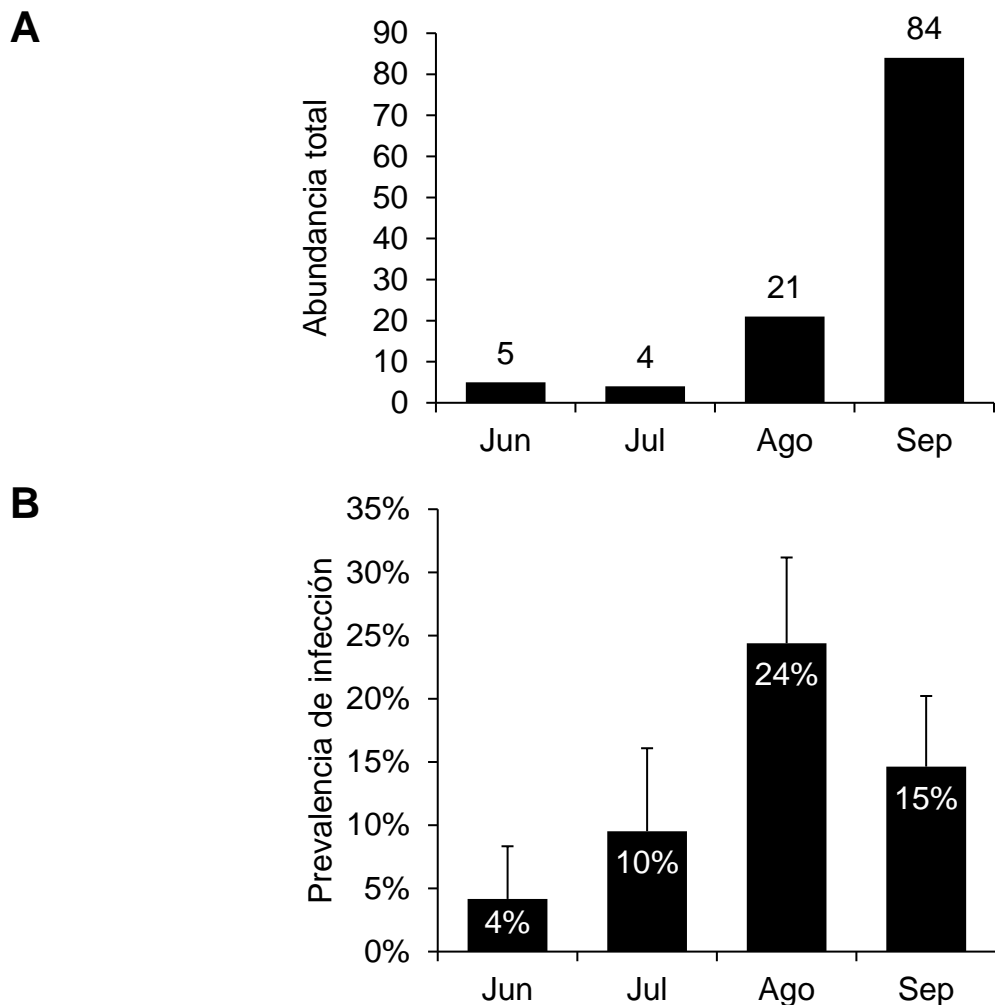


Figura 22. Abundancia parasitaria total (A) y prevalencia de infección (B) de las *Austrolebias* muestreadas en charcos temporales del Uruguay, durante los meses de junio (Jun), julio (Jul), agosto (Ago) y septiembre (Sep), del 2018.

Curvas de rarefacción (Mao Tau)

De los 15 charcos muestreados durante el año 2018, solo 8 pudieron ser utilizados para la construcción de las curvas de rarefacción, ya que los restantes 7 presentaron prevalencia de infección 0%. A su vez, la mayoría de los valores de riqueza taxonómica estimada ($S(\text{est})$) no pudieron ser extrapolados por este programa debido a la baja riqueza taxonómica parasitaria de referencia, a excepción del charco temporal de la localidad de Tupambaé (Dept. de Cerro Largo). De los charcos no extrapolados, solo Fraile Muerto, Frigorífico, Treinta y Tres y Retamosa mostraron una tendencia asintótica. Esto muestra que la riqueza taxonómica parasitaria presente en los peces colectados

durante el año 2018 no está bien representada, y que hubiera sido conveniente muestrear más peces. En función de la única extrapolación que pudo realizarse con los datos del año 2018 (Tupambaé, Fig. 23), se decidió procurar un número de muestras para el año 2019 de entre 20 y 30 peces por charco, y de ser posible, por especie de *Austrolebias*.

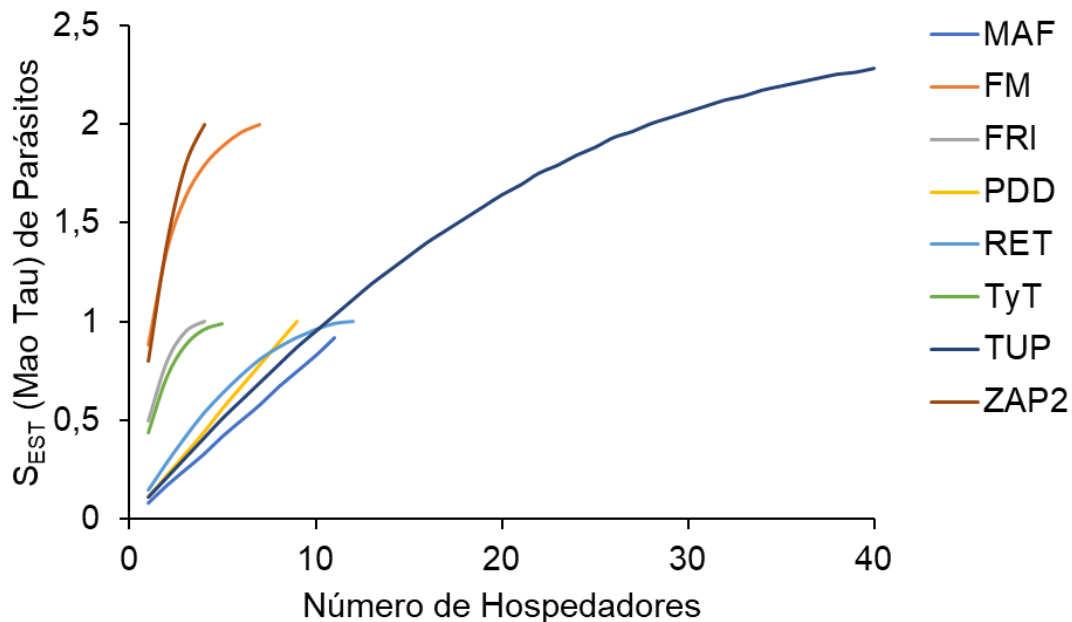
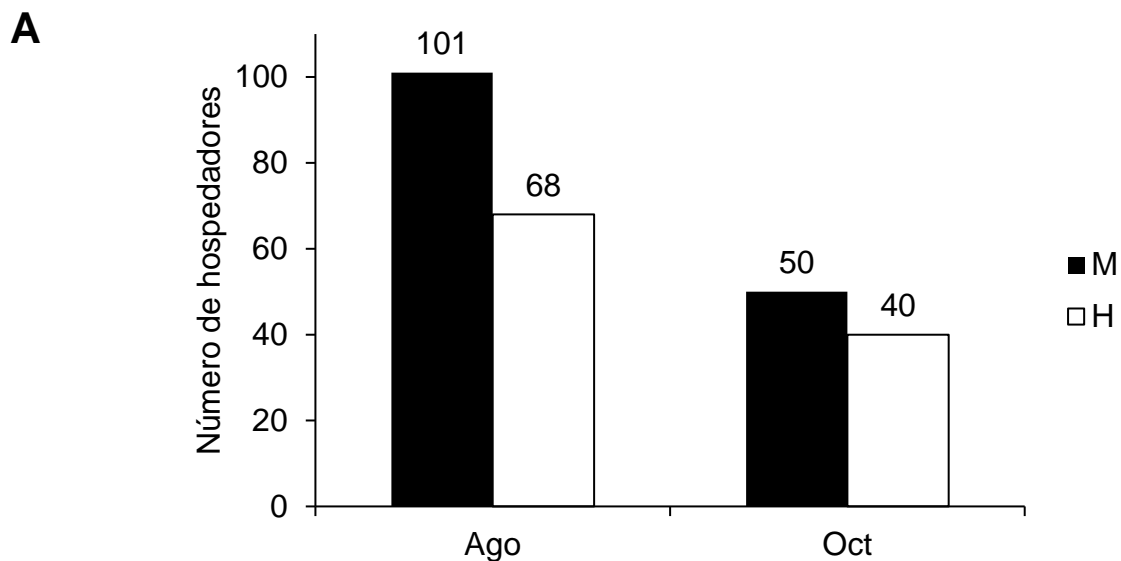


Figura 23. Curvas de rarefacción (Mao Tau) realizada con el programa EstimateS mediante el índice no paramétrico para estimación con datos de abundancia, Chao1. Se estima la riqueza taxonómica de parásitos (S_{EST}) (a nivel de género) por número de hospedadores (sin dividir por especie de *Austrolebias*) para cada localidad muestreada durante el año 2018: Mafalda (MAF); Fraile Muerto (FM); Frigorífico (FRI); Paso del Dragón (PDD); Retamosa (RET); Treinta y Tres (TyT); Tupambaé (TUP); Zapallo 2 (ZAP2).

En función de estos resultados, durante el año 2019 se decidió muestrear sobre el final del hidroperíodo para obtener mayor prevalencia de peces infectados y con mayor abundancia y riqueza taxonómica de parásitos. Además, obtener muestras sobre el final del hidroperíodo aumenta la probabilidad de que los peces anuales hayan pasado por al menos una puesta de huevos, asegurando así que el muestreo tenga menor impacto en la conservación del género.

Año de muestreo 2019

Las *Austrolebias* muestreadas no presentaron diferencias significativas entre los largos estándar de machos y hembras (sin discriminar entre los meses de muestreo) (Lilliefors $L = 0,10$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) $\ll 0,0001$; Levene (medianas) p-valor= $0,042 < 0,05$; Mann-Whitney $U = 5911$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) = $0,61$) (Fig. 24). Al comparar los largos estándar del subgénero *Megalebias* con el resto de las especies de *Austrolebias* muestreadas, se encontraron diferencias significativas (Mann-Whitney $U = 216,5$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) = $1,25E-7$). Al analizar los largos estándar entre meses de muestreo, los machos no presentaron diferencias significativas (Lilliefors $L = 0,1122$; p-valor $\ll 0,0001$; Levene p-valor (medianas) = $9,33 \times 10^{-7}$; Mann-Whitney $U = 1597$; p-valor (permutaciones Monte Carlo=9999) = $0,81$), mientras que las hembras presentaron diferencias significativas (Lilliefors $L = 0,104$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) = $0,0063$; Levene p-valor (medianas) = $0,018$; Mann-Whitney $U = 452$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) $\ll 0,0001$).



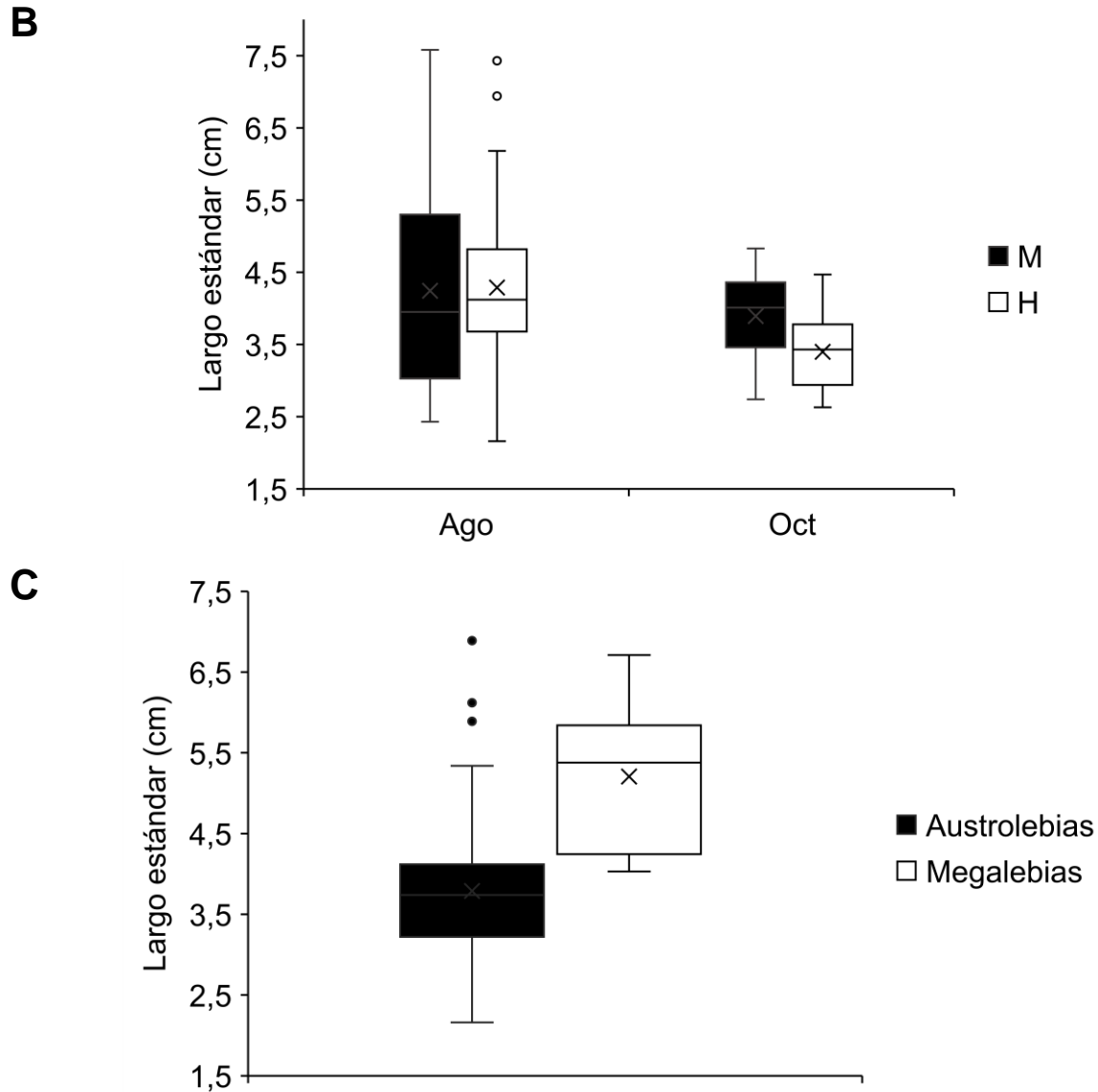


Figura 24. Datos cuantitativos y cualitativos generales (sin discriminar entre especies ni entre sitios de muestreo) de las *Austrolebias* colectadas durante los meses de agosto (Ago) y octubre (Oct) del 2019, separadas por sexo (M: machos; H: hembras). A) Cantidad de hospedadores muestreados durante cada mes. B) Diagrama de cajas (boxplot) de los largos estándar de las *Austrolebias* colectadas durante cada mes. C) Boxplot de los largos estándar de los peces anuales correspondientes al subgénero *Megalebias* y el resto de las especies de *Austrolebias* muestreadas. Para cada caja de los boxplot se indica la mediana (línea horizontal dentro de la caja), la media (cruz dentro de la caja), y los datos anómalos (o *outliers*, con puntos fuera de la caja).

Estudios de Abundancia parasitaria

La prevalencia parasitaria total en el año 2019, sin diferenciar entre sitios, taxa parasitaria o especie hospedadora, fue de 64% en el muestreo de fines de agosto, y de 72% en el muestreo de octubre (Fig. 25A). Al separar entre sexos se observó que, en agosto, los machos de *Austrolebias* muestreados presentan un 69% de prevalencia de infección, y las hembras un 56%, mientras que en octubre un 60% de los machos estaban infectados y las hembras un 88% (Fig. 25B).

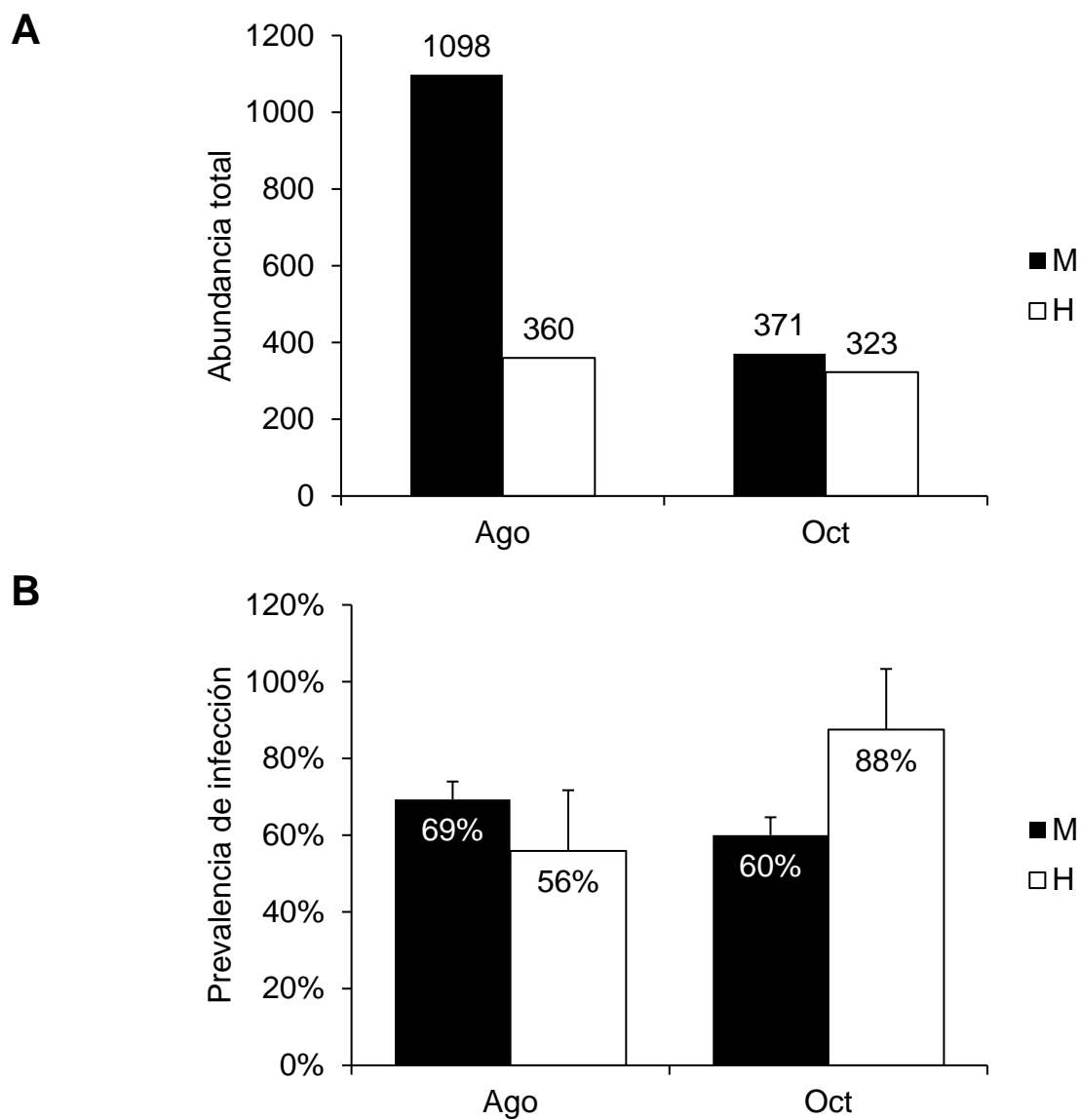


Figura 25. Abundancia parasitaria total (A) y prevalencia de infección (B) de las *Austrolebias* muestreadas en charcos temporales durante fin de agosto (Ago) y el mes de octubre (Oct) del 2019, sin discriminar entre sitios de muestreo ni especies hospedadoras.

La comparación de la abundancia parasitaria total entre machos y hembras no mostró diferencias significativas (Mann-Whitney $U=5563,5$; p-valor (permutaciones Monte Carlo=9999) $=0,21 > 0,05$). Tampoco lo hizo al comparar entre meses de muestreo (sin discriminar por sexo) (Mann-Whitney $U=5036$; p-valor (permutaciones Monte Carlo=9999) $=0,06 > 0,05$). Al discriminar a los hospedadores por mes de muestreo y por sexo, los machos no mostraron diferencias significativas (Mann-Whitney $U=577,5$; p-valor (permutaciones Monte Carlo=9999) $=0,98 > 0,05$), ni tampoco las hembras (Mann-Whitney $U=549$; p-valor (permutaciones Monte Carlo=9999) $=0,47 > 0,05$). En función de estos resultados, no se realizan distinciones entre meses de colecta ni entre sexo de los hospedadores para los subsecuentes resultados.

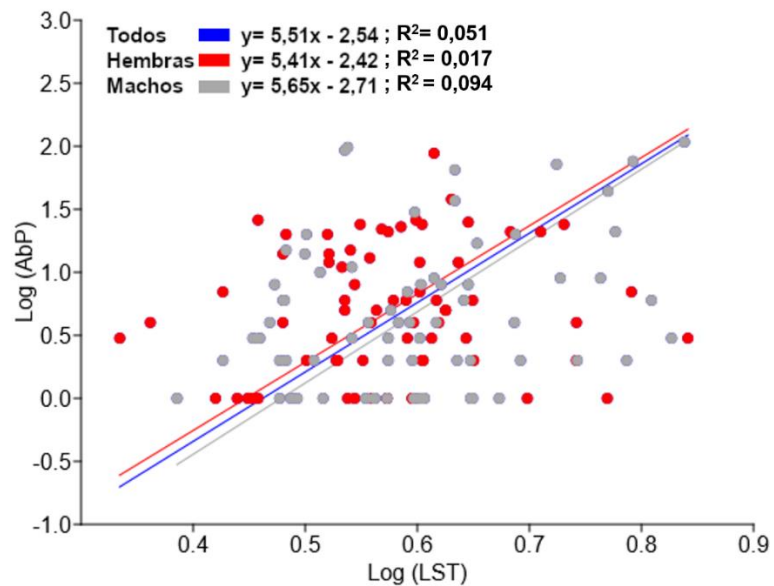
El test de PERMANOVA (utilizando índice de Similitud de Bray-Curtis; permutaciones Monte Carlo=9999) de dos factores (mes de colecta y sexo), mostró diferencias levemente significativas de la abundancia parasitaria entre los meses de colecta ($F=3,74$; p-valor $=0,04 < 0,05$), pero no entre sexos ($F=1,28$; p-valor $=0,25 > 0,05$), aunque sí detectó una interacción significativa entre ambos factores ($F=2,98$; p-valor $=0,02 < 0,05$).

Relación entre la talla y la abundancia parasitaria

Se halló una correlación positiva entre la abundancia parasitaria (sin discriminar entre taxa, sitio de muestreo, ni especie hospedadora) y el largo estándar de los hospedadores muestreados en el año 2019 (Kendall's Tau= 0,14; p-valor (permutaciones Montecarlo=9999) = 0,024) (Fig. 26). Al discriminar entre sexos, se encontró una correlación positiva y levemente significativa entre la abundancia parasitaria y el largo estándar de los machos (Kendall's Tau= 0,18; p-valor (permutaciones Montecarlo N=9999) = 0,041), pero no de las hembras (Kendall's Tau= 0,04; p-valor (permutaciones Montecarlo N=9999) = 0,64).

Los test estadísticos sobre las pendientes y sobre los índices de correlación de cada modelo de regresión funcional de eje mayor reducido (RMA) se muestran en la Tabla 11. La comparación entre las regresiones funcionales mediante el test estadístico χ^2 no mostró diferencias significativas ($p\text{-valor} = 0,97 > 0,05$; Fig. 26A). Al comparar, mediante esta misma metodología, el subgénero *Megalebias* con el resto de las *Austrolebias* muestreadas, los modelos de regresión funcional RMA tampoco mostraron ser estadísticamente distintos ($p\text{-valor} = 0,45 > 0,05$; Fig. 26B).

A



B

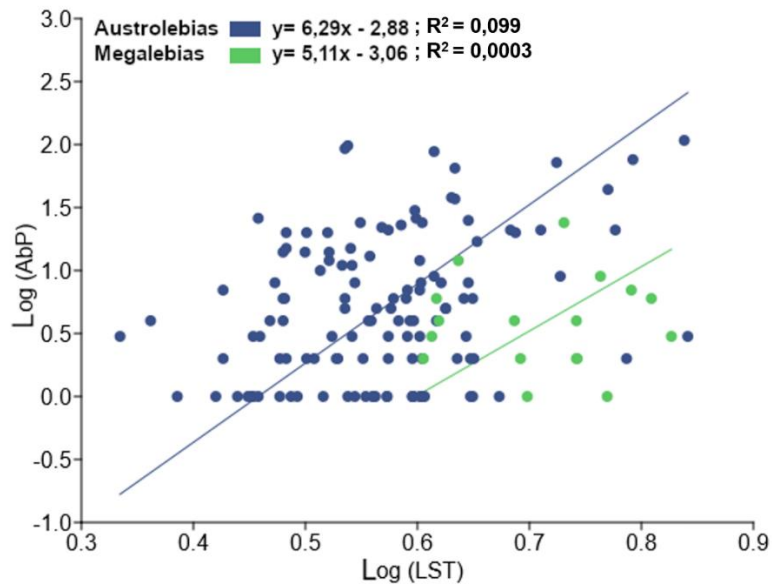


Figura 26. Relación entre la abundancia parasitaria y el largo estándar de los hospedadores infectados en escala logarítmica. A) Se muestran los datos en conjunto y clasificados por sexo, presentando la ecuación de la recta de cada línea de tendencia construida mediante el modelo de regresión funcional de eje mayor reducido (RMA del inglés). B) Idem A, pero los datos se clasifican entre subgénero *Megalebias* y el resto de las *Austrolebias* muestreadas. AbP: Abundancia parasitaria; LST: Largo estándar en centímetros.

Tabla 11. Resultados de los test estadísticos para las pendientes y para los índices de correlación (R) de las líneas de tendencia resultantes del modelo de regresión funcional de eje mayor reducido (RMA del inglés) entre la abundancia parasitaria y el largo estándar de los hospedadores infectados (en conjunto y clasificados por sexo). Se marcan con un asterisco aquellos resultados estadísticamente significativos (p-valor < 0,05).

		Machos	Hembras	Todos
Pendiente	Estadístico	8,6	8,382	12,059
	p-valor	2,00E-12*	4,01E-12*	2,56E-23*
Índice de correlación (R)	Estadístico	2,639	1,118	2,723
	p-valor	0,0103*	0,267	0,00731*

No se encontraron diferencias significativas entre las tallas de los hospedadores y el número de taxa parasitarias que albergaban (Kruskal-Wallis Hc= 0,66; p-valor 0,72 > 0,05).

Curvas de rarefacción (Mao Tau)

De los 12 charcos temporales muestreados en el año 2019, solo en 5 se lograron muestrear 20 o más peces. Sin embargo, las curvas de rarefacción para la estimación de riqueza taxonómica construidas a partir de los datos obtenidos en el año 2019 muestran ser más satisfactorias para la mayoría de los charcos muestreados, ya que casi todas alcanzan el valor asintótico aproximadamente a partir de los 15 hospedadores (Fig. 27). Esteros de Farrapos, Paso Ancho, Fraile Muerto y notoriamente La Coronilla, son los charcos temporales que mostraron estar submuestreados respecto al número de muestras.

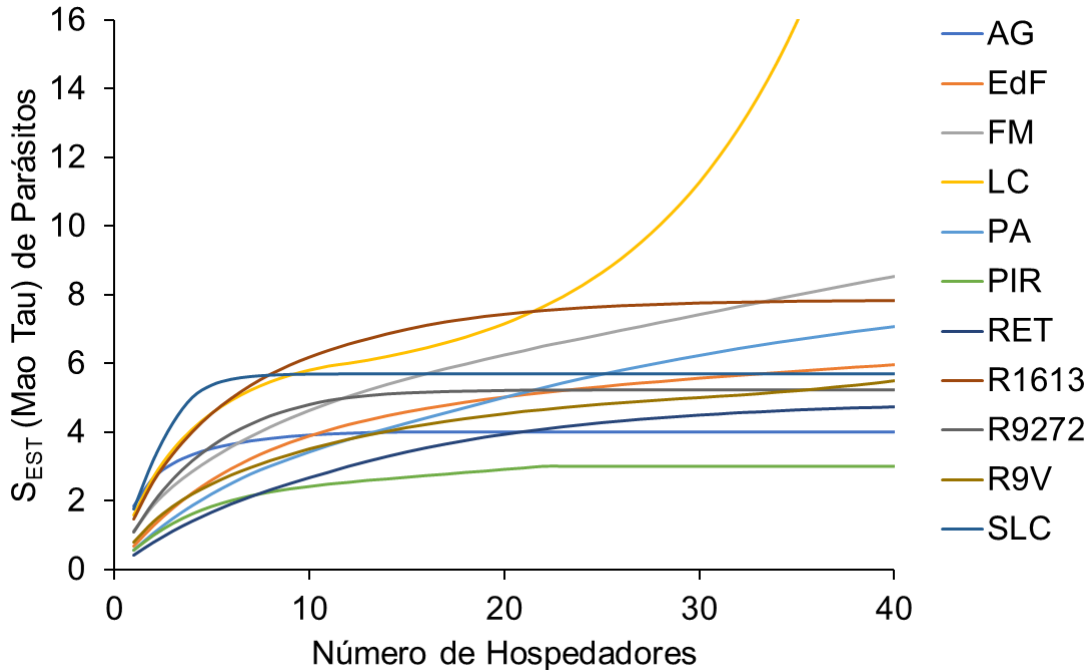


Figura 27. Curvas de rarefacción (Mao Tau) realizada con el programa EstimateS mediante el índice no paramétrico para estimación con datos de abundancia, Chao1. Se estima la riqueza taxonómica de parásitos (S_{EST}) (a nivel de género) por número de hospedadores (sin dividir por especie de *Austrolebias*) para cada localidad muestreada: Arroyo Grande (AG); Esteros de Farrapos (EdF); Fraile Muerto (FM); India Muerta (IM); La Coronilla (LC); Paso Ancho (PA); Pirarajá (PIR); Ruta 16/13 (R1613); Ruta 9 km 272 (R9272); Ruta 9 vieja (R9V); Retamosa (RET); Sarandí de las Casas (SLC).

En función de la pobre representación de la comunidad compuesta de los parásitos de *Austrolebias* muestreadas durante el año 2018, se optó por utilizar únicamente los datos parasitológicos del año 2019 para la exploración de los patrones espaciales. Aunque existieron algunos charcos temporales del año 2019 que estuvieron submuestreados (Fig. 27), en todos ellos se encontraron hospedadores infectados (algo que no sucedió en el año 2018), de modo que todos pudieron ser incluidos en los análisis multivariados.

Bondad de ajuste y distribución de los datos

El conjunto de los datos de abundancia parasitaria por hospedador mostró tener un buen ajuste a la función de distribución Binomial Negativa (BN) ($k = 0,45$; T de Anscombe = $-10,74 \times 10^6$, $ES_T = 9,98 \times 10^6$, donde T es el estadístico y ES_T su error estándar); $T/ES_T = 1,1$ de modo que no se rechaza la hipótesis de ajuste a la distribución BN). Por esta

razón es que los análisis estadísticos se realizaron mediante estadística no-paramétrica. El Índice de Discrepancia (D) de Poulin (1993) resultó en un valor de 0,992 (Fig. 28).

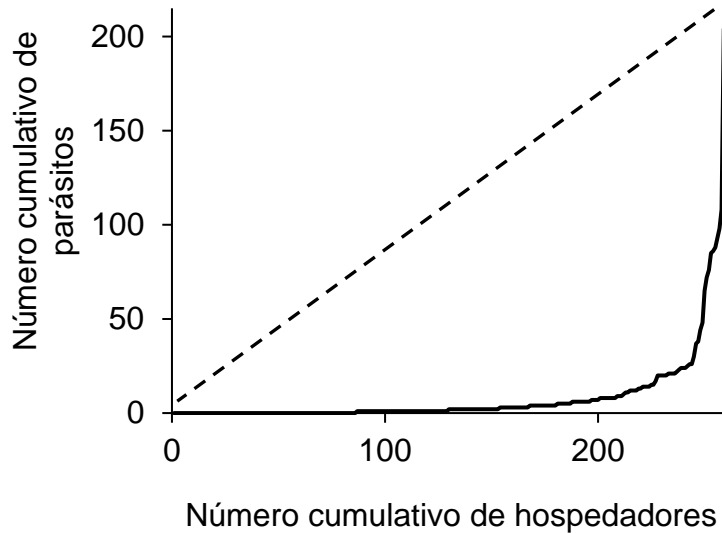


Figura 28. Curva del número cumulativo de parásitos versus hospedadores del género *Austrolebias* (sin discriminar entre taxa ni localidad), muestreadas en distintos charcos temporales del Uruguay. Línea punteada correspondiente a una distribución uniforme hipotética de parásitos entre los hospedadores. El área entre la línea punteada y la curva equivale al índice de Discrepancia (D), que en este caso toma un valor de 0,992.

Escala espacial Uruguay

La comunidad compuesta de parásitos en las distintas especies de *Austrolebias* muestreadas en las cuencas del Río Uruguay, R. Negro, Costa Atlántica y Patos-Merín, mostró estar representada mayoritariamente por estadíos larvales, tanto en número de taxa (12 taxa de 17 totales utilizados para el análisis) como en abundancia (95% del total de parásitos encontrados en *Austrolebias* fueron larvas, 5% adultos) (Fig 29B y C). Dentro de los organismos larvales, 67% correspondió a los taxa *Opisthgonimus* (morfortipo metacercarial; 1080 individuos, 50% del total) y Opisthorchiidae (morfortipo metacercarial que no pudo definirse más allá de la familia; 365 individuos, 17% del total) (Fig 29A; B). En cuanto a los parásitos adultos, el más abundante fue *Phyllodistomum "pampae"* (3%), que incluso fue relativamente más abundante que algunos taxa larvales (Fig 29C).

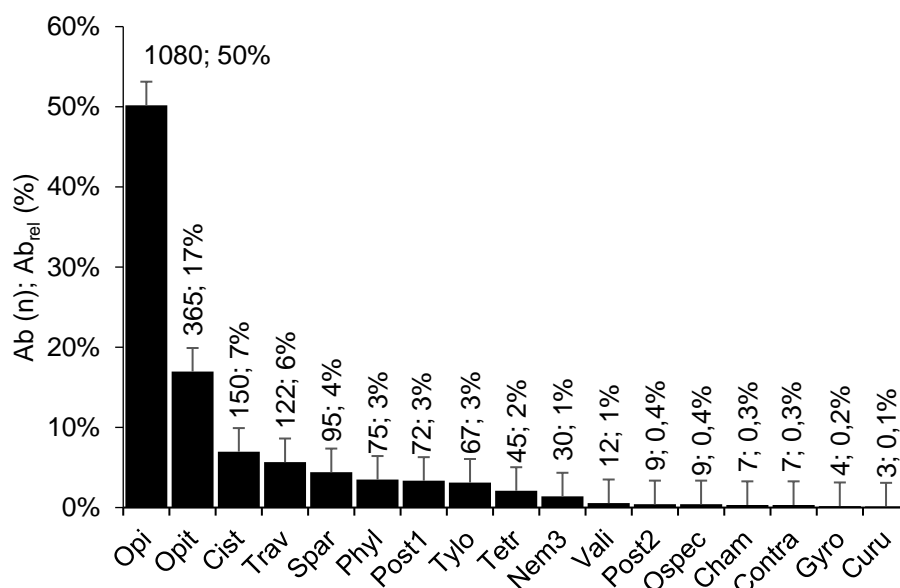
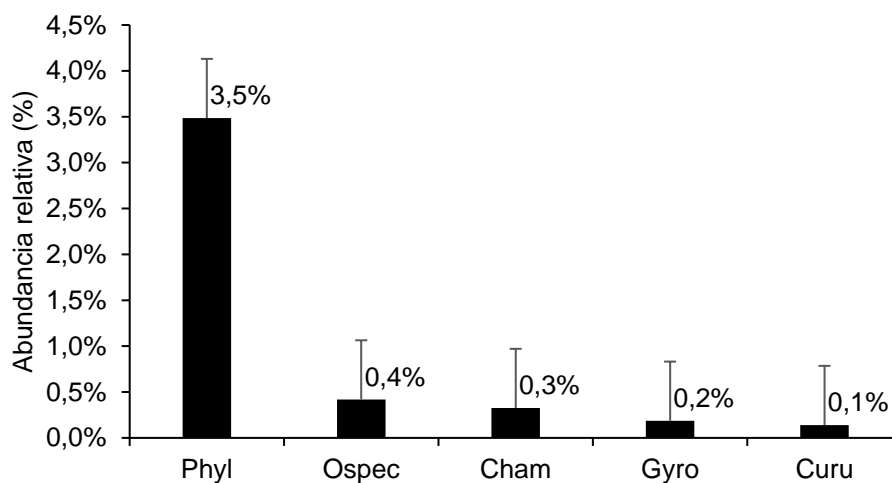
A**B**

Figura 29. Representaciones gráficas de la abundancia de distintos parásitos encontrados en hospedadores del género *Austrolebias* muestreadas en charcos temporales del Uruguay (sin discriminar entre sitios de muestreo ni especies hospedadoras), durante fines de agosto y octubre del 2019. A) Abundancia absoluta (Ab) y Abundancia relativa (Ab_{rel}) de cada parásito; B) Abundancia relativa de los parásitos adultos. Referencias - Cham: *Chambriella* sp.; Cist: Cisticercoide; Contra: *Contracaecum* sp.; Curu: *Catadiscus uruguayensis*; Gyro: *Gyrodactylus* sp; Nem3: Nematodo L3; Opi: *Opisthogonimus*; Opit: Opisthorchiidae; Ospec: *Ophiodiplostomum spectabile*; Post1: *Posthodiplostomum* sp. 1; Post2: *Posthodiplostomum* sp. 2; Phyl: *Phyllodistomum pampae* n. comb.; Spar: *Sparganum* aff. *proliferum*; Tetr: *Tetracotyle*; Trav: *Travtrema*; Tylo: *Tylodelphys*; Vali: *Valipora* cf. *campylancristota*.

El logaritmo neperiano de la abundancia visto en función de la frecuencia de ocurrencia mostró tres grupos. Uno de baja ocurrencia (menor a 8) y abundancia (menor a 3),

comprendido por 7 taxa (*Catadiscus uruguayensis*, *Valipora cf. campylancristrota*, *Posthodiplostomum sp. 2*, *Ophiodiplostomum spectabile*, *Chambriella sp.*, *Gyrodactylus sp.* y *Contracaecum sp.* tipo 2), otro de ocurrencia intermedia (entre 8 y 25) y abundancia intermedia (entre 3 y 5), compuesto por 7 taxa (*Phyllodistomum "pampae"*, *Tylodelphys sp.*, *Posthodiplostomum sp. 1*, *Strigea sp.*, *Travtrema sp.*, *Sparganum cf. proliferum* y *Nematodo L3*), y un último grupo de alta ocurrencia (mayor a 40) y abundancia (mayor a 5) conformado por 3 taxa (*Opisthgonimus sp.*, Opisthorchiidae, Cisticercoide) (Fig. 30). Se observó un intervalo sin representantes entre los grupos de ocurrencia y abundancia intermedia y alta.

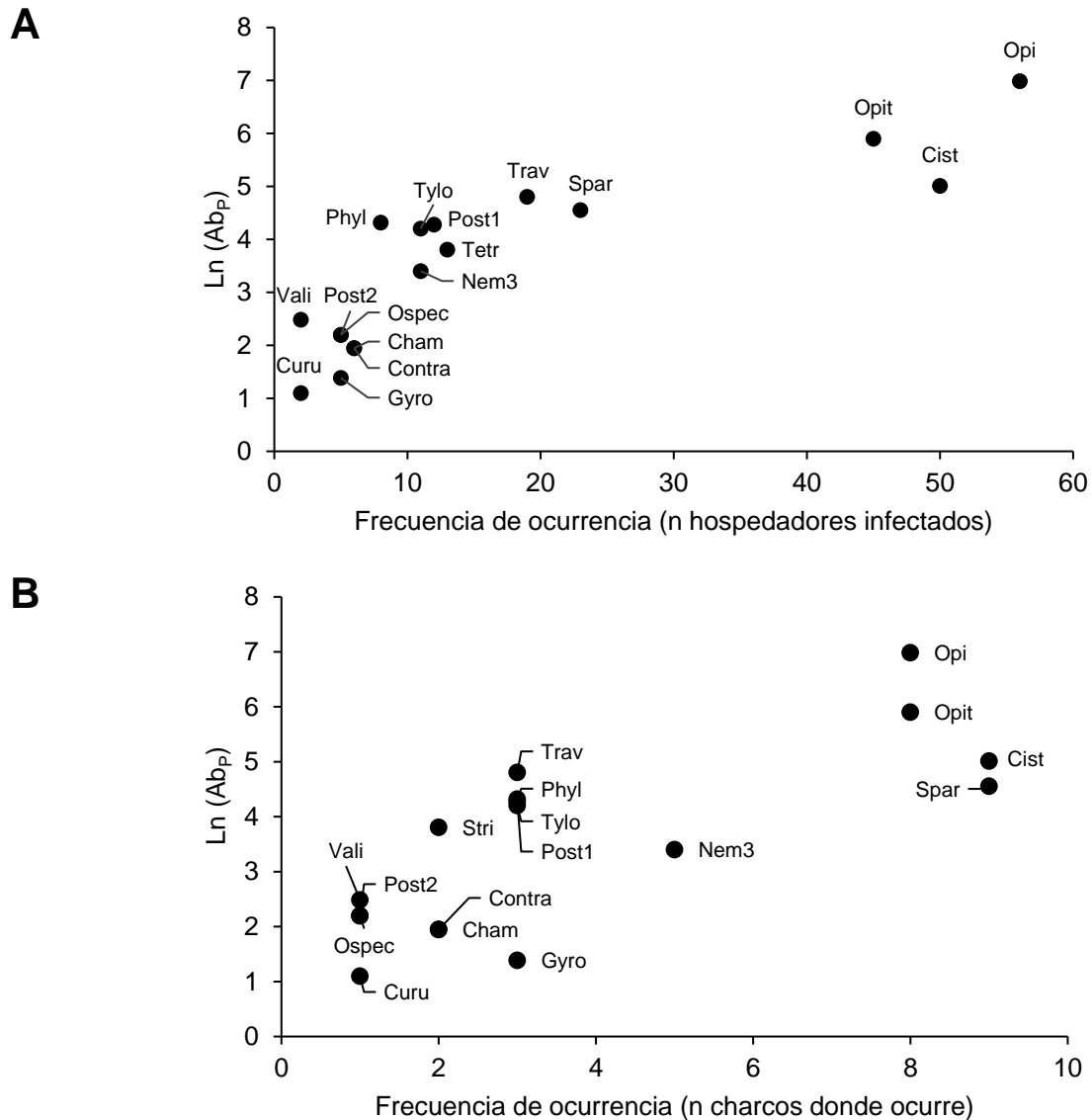


Figura 30. Relación entre el logaritmo neperiano de la abundancia absoluta de cada parásito (Ab_P) y la frecuencia de ocurrencia de estos. En A) la frecuencia de ocurrencia se calcula como el número de hospedadores infectados. En B) la frecuencia de ocurrencia se calcula como el número de charcos donde ocurre cada parásito. Cham: *Chambriella sp.*; Cist: Cisticercoide; Contra: *Contracaecum sp.*; Curu: *Catadiscus uruguayensis*; Gyro: *Gyrodactylus sp.*; Nem3: Nematodo L3; Opi: *Opisthogonimus*; Opit: Opisthorchiidae; Ospec: *Ophiodiplostomum spectabile*; Post1: *Posthodiplostomum sp. 1*; Post2: *Posthodiplostomum sp. 2*; Phyl: *Phyllodistomum pampae n. comb.*; Spar: *Sparganum aff. proliferum*; Tetr: *Tetracotyle*; Trav: *Travtrema*; Tylo: *Tylodelphys*; Vali: *Valipora cf. campylancristota*.

Escala espacial Cuencas hidrográficas del Uruguay

El cálculo de abundancias relativa y prevalencia de infección a nivel de las cuencas hidrográficas del Uruguay (Tab. 12) mostró que la cuenca con mayor representación cuantitativa de parásitos durante el año 2019 fue la cuenca del Río Negro (CRN). En cuanto a la prevalencia de infección (P) por cuenca hidrográfica, la cuenca que mostró mayor número de peces infectados en relación con el N total de peces muestreados (sin separar entre especies de hospedador) también fue la CR. No obstante, la cuenca hidrográfica Patos-Merín (CPM) es la que presenta mayor número de peces infectados. A su vez, la cuenca que mostró menor abundancia y abundancia relativa fue la Cuenca Atlántica (CAT) (64 y 0,03 respectivamente). Esto no fue así en cuanto a la prevalencia total, cuyo menor valor se corresponde con la Cuenca del Río Uruguay (CRU) (54%).

Tabla 12. Datos cuantitativos de los hospedadores muestreados en cuatro cuencas hidrográficas del Uruguay durante el año 2019. Se muestra el número total de los hospedadores muestreados por cuenca (n_{HOS}), la cantidad de hospedadores infectados (H_{INF}), la abundancia parasitaria total para cada cuenca hidrográfica (Ab_P), la abundancia parasitaria relativa (Ab_{REL}), y la prevalencia de infección total de cada cuenca hidrográfica (P). CAT: Cuenca del Atlántico; CPM: Cuenca Patos-Merín; CRN: Cuenca del Río Negro; CRU: Cuenca del Río Uruguay.

	n_{HOS}	H_{INF}	Ab_P	Ab_{REL}	P
CRU	76	41	256	0,12	54%
CRN	54	45	1099	0,51	83%
CPM	99	68	733	0,34	69%
CAT	30	19	64	0,03	63%

Las cuencas hidrográficas no mostraron diferencias significativas entre ellas en función de la riqueza taxonómica y la abundancia de parásitos (PERMANOVA (Morisita) $F=1,177$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) = 0,23). Al discriminar entre charcos temporales dentro de las cuencas hidrográficas (utilizando las cuencas hidrográficas para agrupar a los charcos temporales y evaluar las diferencias estadísticas entre los grupos resultantes), se encontraron diferencias significativas (PERMANOVA (Morisita) $F=2,251$; p-valor (permutaciones Monte Carlo= 9999) = 0,004 < 0,05) entre la cuenca hidrográfica del Río Uruguay y la del Río Negro ($F=4,885$; p-valor= 0,032 < 0,05).

Escala espacial charco temporal

Al separar entre los charcos temporales muestreados durante el año 2019, el que mostró mayor abundancia parasitaria (sin clasificar por taxa parasitario) fue Fraile Muerto (946 parásitos), seguido por Esteros de Farrapos (256 parásitos) y luego Ruta 9 km 272 y La Coronilla (con 242 y 235 parásitos, respectivamente). Los que presentaron menor abundancia parasitaria fueron Retamosa y Sarandí de las Casas (21 y 25 parásitos, respectivamente) (Fig. 31A). Por otro lado, en cuanto a las prevalencias de infección (Fig.31B), Arroyo Grande mostró mayor proporción de peces infectados (95%, $n=19$), seguido por Ruta 9 km 272 (92%, $n=12$) y La Coronilla (92%, $n=12$). La menor proporción de peces infectados la obtuvo Pirarajá (45%; $n=22$) seguido por Retamosa (50%; $n=12$).

Teniendo en cuenta la abundancia clasificada entre los taxa parásitos presentes, la comparación estadística entre charcos temporales resultó en que las únicas diferencias significativas encontradas fueron entre Fraile Muerto y Pirarajá (Mann-Whitney $U=101$; p-valor= 0,026 < 0,05) y entre Fraile Muerto e India Muerta (Mann-Whitney $U=95$; p-valor = 0,012 < 0,05). El resto de los charcos temporales no mostraron diferencias significativas entre si (Mann-Whitney p-valor > 0,05).

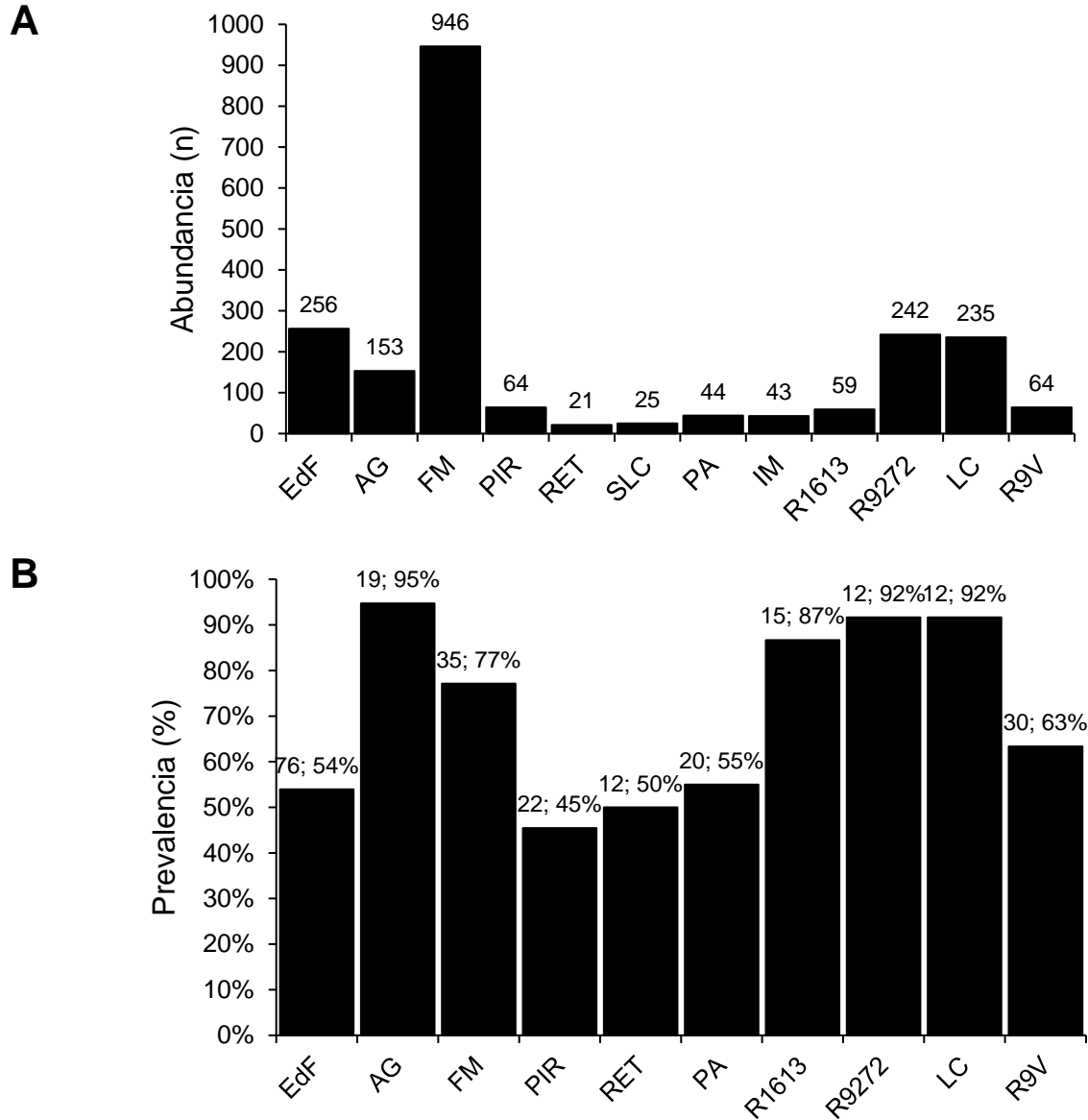
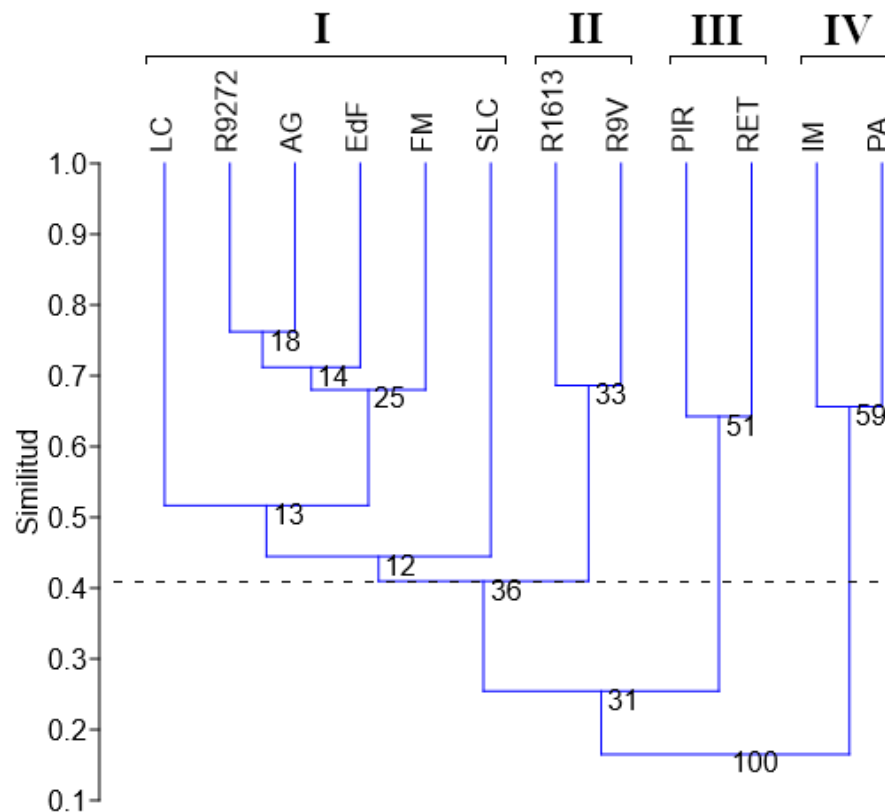


Figura 31. Abundancias (A) y prevalencias (B) (con el formato “número de hospedadores; prevalencia (%)”) de parásitos hallados en distintas especies de peces del género *Austrolebias* provenientes de diferentes charcos temporales durante el año 2019. No se separa entre especies parásitas ni especies hospedadoras. Se excluyen los charcos temporales Sarandí de las Casas e India Muerta del gráfico de prevalencias (B) por el bajo número de hospedadores muestreados en ellos (4 y 2 respectivamente). Arroyo Grande (AG); Esteros de Farrapos (EdF); Fraile Muerto (FM); La Coronilla (LC); Paso Ancho (PA); Pirarajá (PIR); Ruta 16/13 (R1613); Ruta 9 km 272 (R9272); Ruta 9 vieja (R9V); Retamosa (RET).

Los métodos multivariados utilizados para observar la similitud de charcos temporales en función de su riqueza taxonómica y la abundancia parasitaria (sin diferenciar entre especies de *Austrolebias* presentes en cada charco) mostraron coherencia en sus

resultados. El dendograma mostró que a 40% de similitud (aproximadamente) pueden definirse 4 grupos (9999 permutaciones de bootstrap) (Fig. 32A). Uno de estos grupos se conformó por la mayoría de los charcos temporales (La Coronilla (LC) + Ruta 9 km 272 (R9272) + Arroyo Grande (AG) + Esteros de Farrapos (EdF) + Fraile Muerto (FM), a los cuales se une Sarandí de las Casas (SLC)), y los otros 3 se conformaron por dos charcos temporales cada uno (Ruta 16/13 (R1613) + Ruta 9 vieja (R9V); Pirarajá (PIR) + Retamosa (RET); India Muerta (IM) + Paso Ancho (PA)) (ANOSIM (Morisita) $R = 0,456$; $p\text{-valor} = 0,0024 < 0,05$; 9999 permutaciones de bootstrap). Las diferencias estadísticas entre grupos se presentan en la Tabla 13. El análisis de porcentaje de similitud (del inglés SIMPER) mostró que los taxa parasitarios que más contribuyeron a la generación del dendograma fueron *Opisthgonimus sp.* (Opi; 15,4%), Opisthorchiidae (Opit; 13,9%) y Cistircercoides (Cist; 13,4%). Los resultados del escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS) generado con distancias de Morisita (Fig. 32B) confirmaron los mismos grupos que se definieron mediante el análisis de agrupamiento (UPGMA).

A



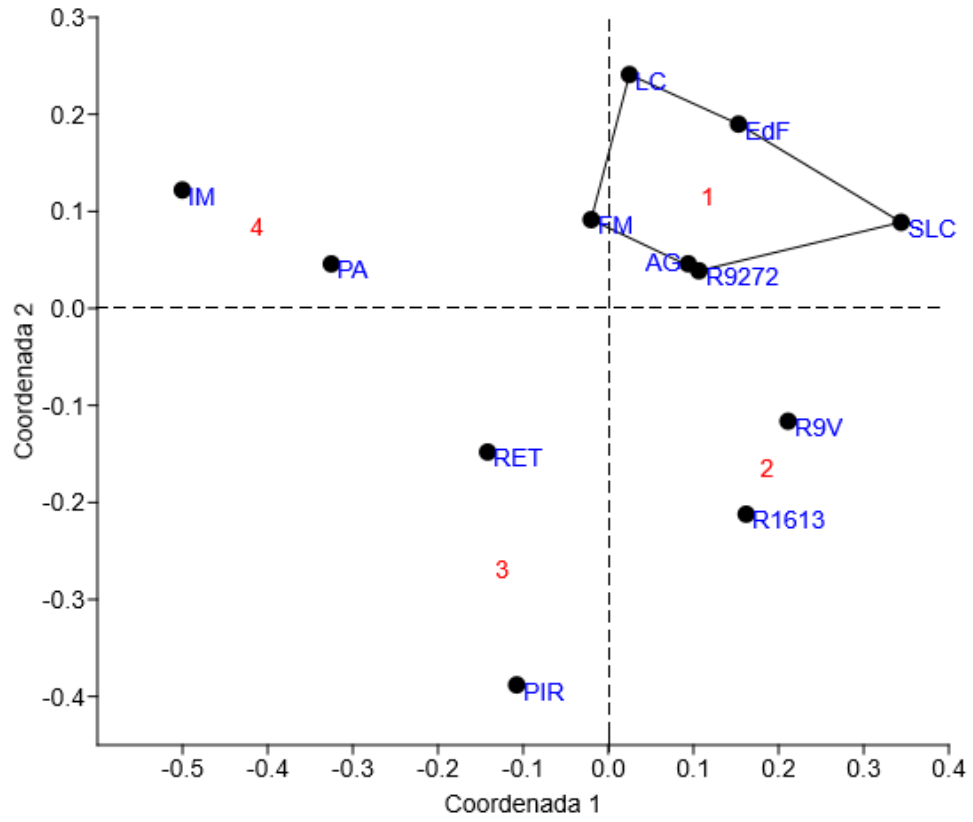
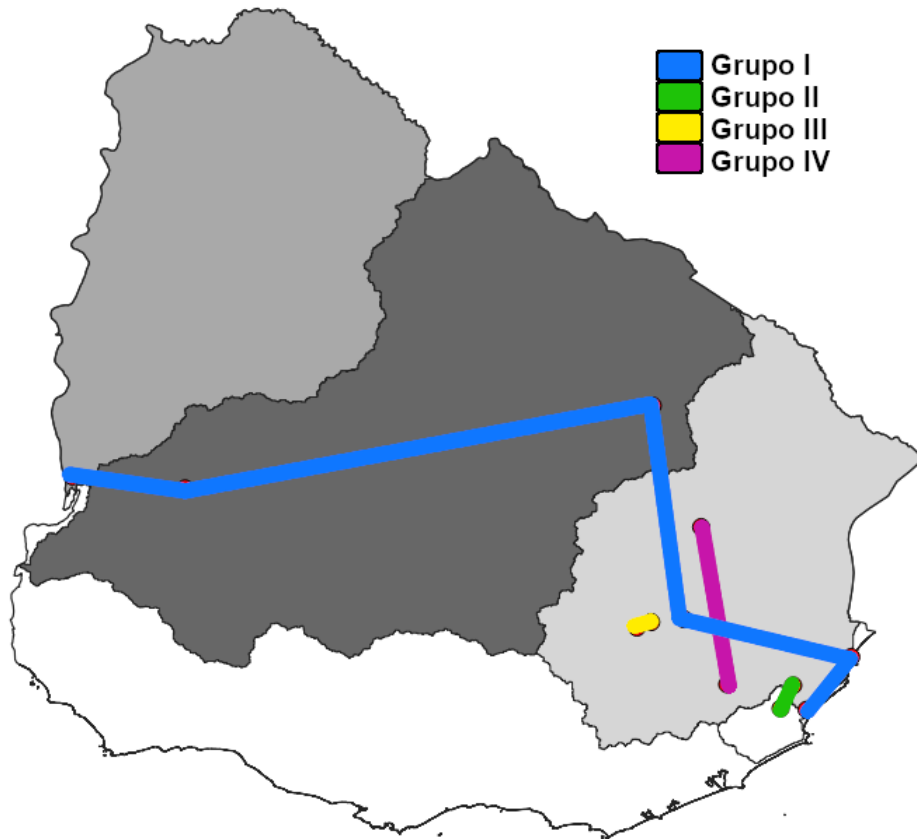
B**C**

Figura 32. Análisis multivariado de la riqueza taxonómica parasitaria tomando en cuenta los charcos temporales muestreados en función de los parásitos presentes en los mismos (sin separar entre especies por charco). A) Análisis de agrupamiento (UPGMA) (correlación cofenética= 0,83), con valores de bootstrap (9999 repeticiones) en los nodos, expresados en porcentaje. B) Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) utilizando la distancias de Morisita (estrés= 0,16). Aproximadamente al 40% de similitud en el dendograma (A) se identifican 4 grupos (I-IV) que se etiquetan en rojo en el NMDS. En azul, se etiquetan los charcos temporales muestreados: Arroyo Grande (AG); Esteros de Farrapos (EdF); Fraile Muerto (FM); India Muerta (IM); La Coronilla (LC); Paso Ancho (PA); Pirarajá (PIR); Ruta 16/13 (R1613); Ruta 9 km 272 (R9272); Ruta 9 vieja (R9V); Retamosa (RET); Sarandí de las Casas (SLC). C) Representación gráfica de los grupos definidos al 40% de similitud mediante métodos multivariados de agrupamiento (UPGMA) y ordinal (NMDS).

Tabla 13. Comparación entre grupos del test estadístico de análisis de similitud (ANOSIM), basado en los grupos generados a partir del dendograma UPGMA (Fig. 32A). Se indica con un asterisco aquellos valores que muestran diferencias significativas (p -valor < 0,05).

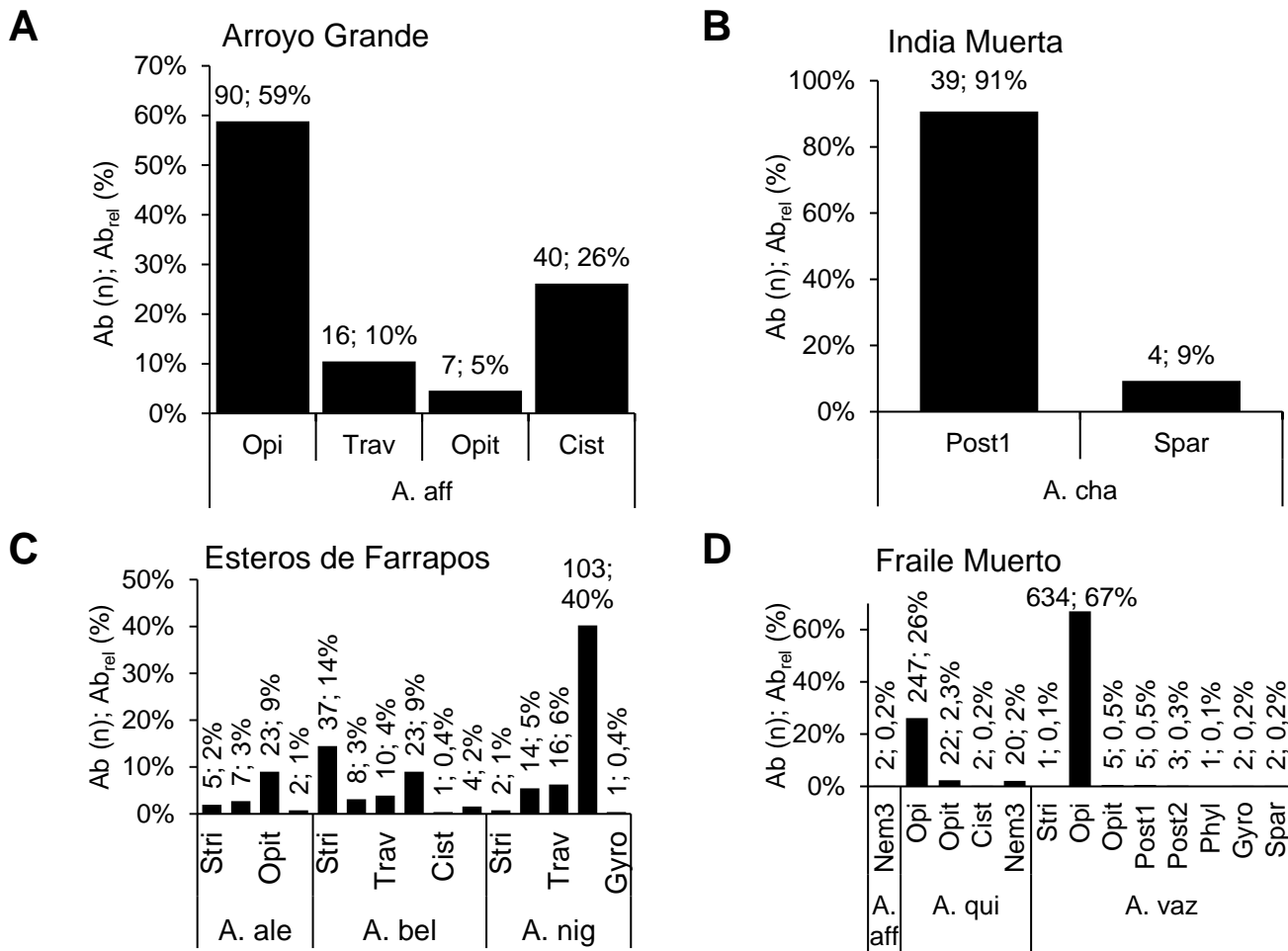
	I	IV	III	II
I		0,035*	0,0366*	0,0366*
IV	0,035*		0,3388	0,33
III	0,0366*	0,3388		0,3329
II	0,0366*	0,33	0,3329	

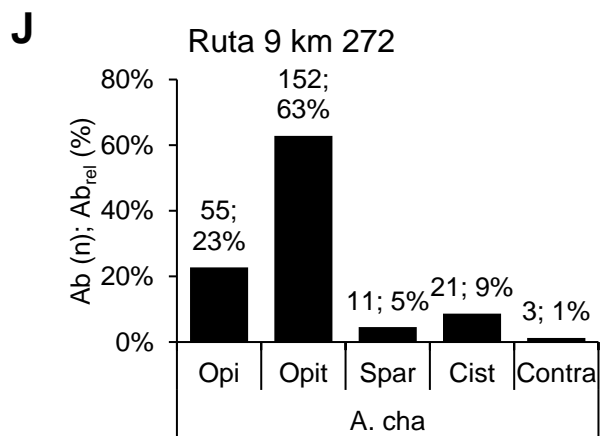
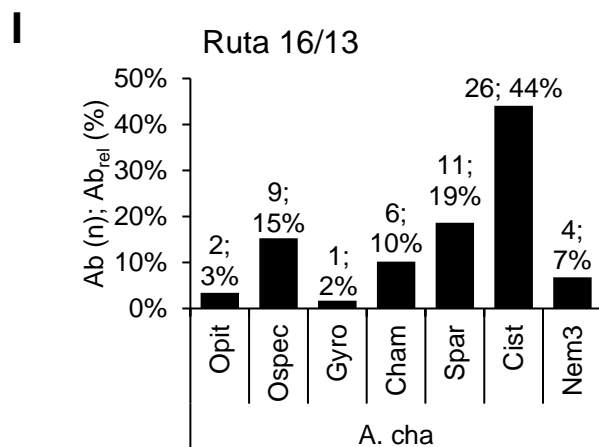
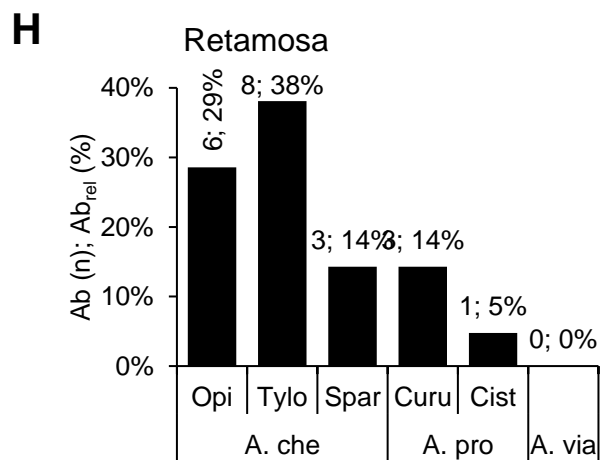
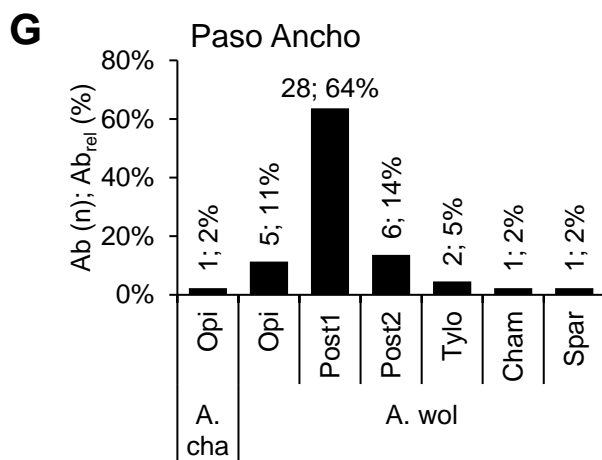
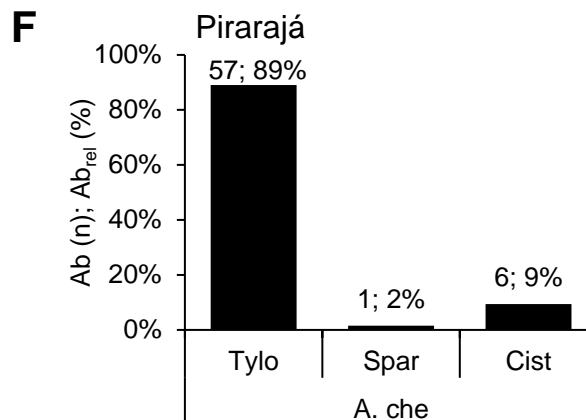
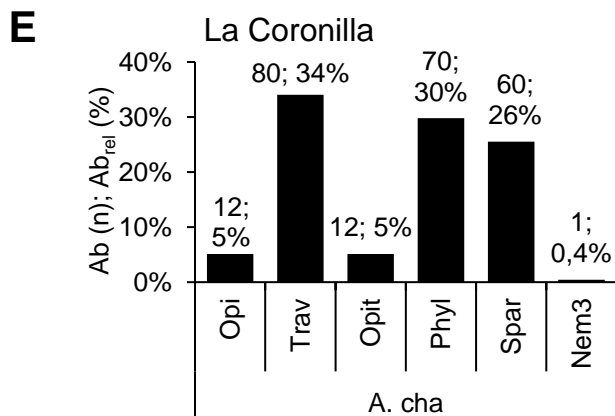
Escala espacial Charco temporal y hospedadores

En términos generales, el logaritmo de la abundancia parasitaria vista en función de los hospedadores y la localidad no permitió visualizar un patrón espacial. Los mayores valores de abundancia se encontraron en los hospedadores *Austrolebias nigripinnis* en Esteros de Farrapos, *A. affinis* en Arroyo Grande, *A. quirogai* y *A. vazferreirai* en Fraile Muerto, y *A. charrua* en Ruta 9 km 272 y La Coronilla. En todos estos hospedadores y

sitios, los parásitos que más contribuyeron al componente de comunidad en términos de abundancia fueron las larvas (Fig. 33A, C, D, E, J).

En aquellos charcos temporales de donde se muestreó más de una especie de *Austrolebias* (Fig. 33C, D, G, H, K, L), al menos uno de los taxa parásitos hallados siempre se compartió entre dos o más de las especies hospedadores (la única excepción fue Retamosa; Fig. 33H). A su vez, todos los taxa parásitos que se compartieron entre distintos hospedadores dentro de un mismo charco correspondieron a estadios larvales, principalmente de trematodos.





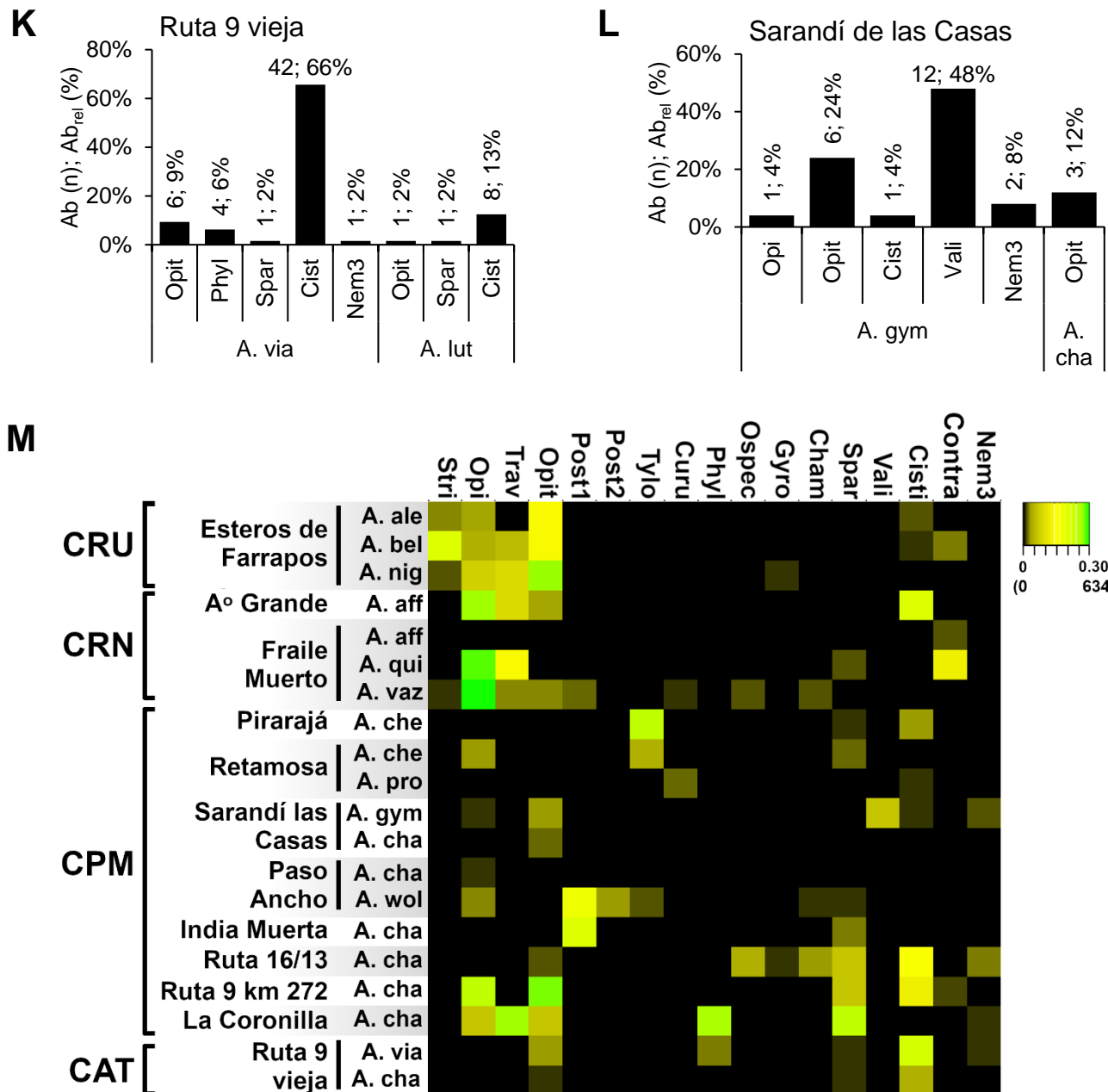
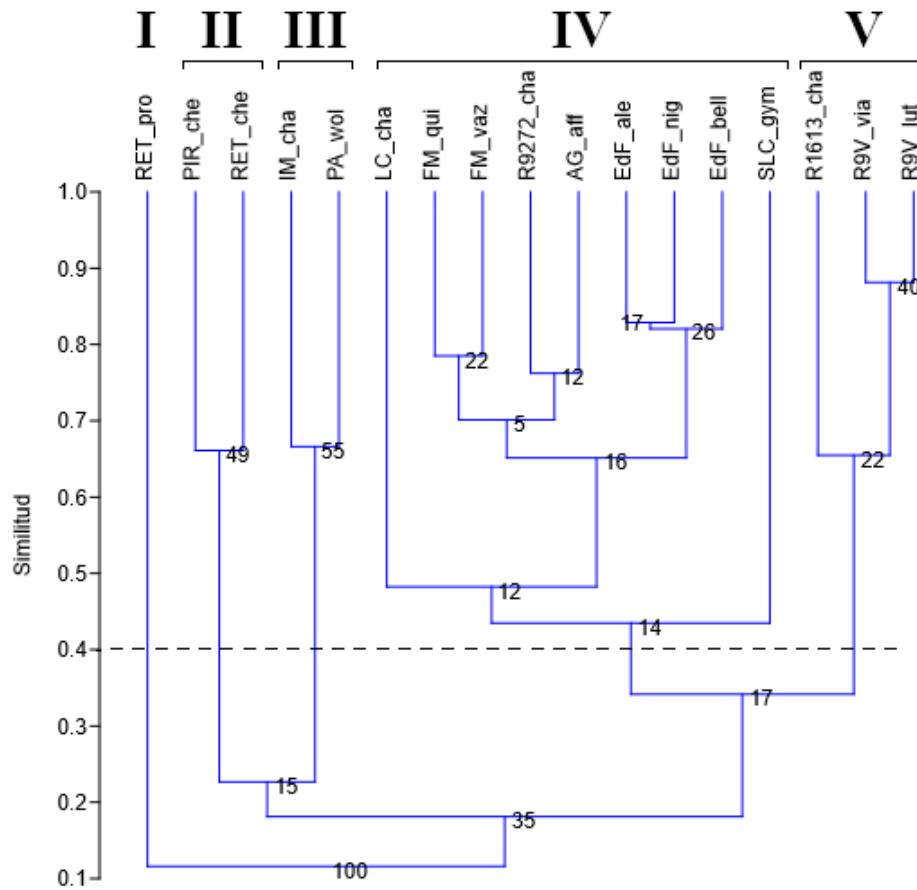
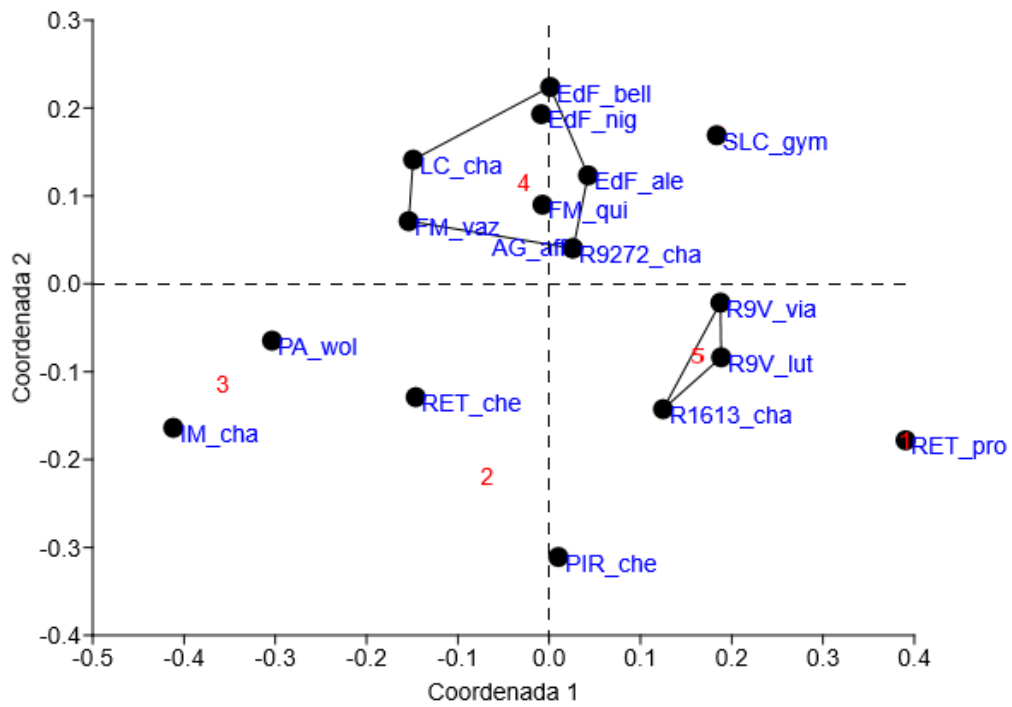


Figura 33. A-L) Abunancia (Ab) y abundancia relativa (Ab_{rel}) (proporción respecto del total, expresada en porcentaje) de los distintos parásitos en sus respectivos hospedadores dentro de los charcos temporales donde fueron muestreados. M) Mapa de calor resumiendo los datos de abundancia presentados en las figuras A-L; la escala de color muestra los valores de abundancia en escala logarítmica (0-0.30) y en términos absolutos (0-634). (Cham: *Chambriella* sp.; Cist: Cisticercoide; Contra: *Contraeaecum* sp.; Curu: *Catadiscus uruguayensis*; Gyro: *Gyrodactylus* sp; Nem3: Nematodo L3; Opi: *Opisthoganimus*; Opit: Opisthorchiidae; Ospec: *Ophiodiplostomum* cf. *spectabile*; Phyl: *Phyllodistomum* "pampae"; Post1: *Posthodiplostomum* sp. 1; Post2: *Posthodiplostomum* sp. 2; Spar: *Sparganum* aff. *proliferum*; Stri: *Strigea*; Trav: *Travtrema*; Tylo: *Tylodelphys*; Vali: *Valipora* cf. *campylancristrota*. Aff: *Austrolebias affinis*; ale: *A. alexandri*; bell: *A. bellottii*; nig: *A. nigripinnis*;

qui: *A. quirogai*; vaz: *A. vazferreirai*; cha: *A. charrua*; wol: *A. wolterstorfi*; che: *A. cheradophilus*; pro: *A. prognathus*; via: *A. viarius*; lut: *A. luteoflammulatus*; gym: *A. gymnoventris*. CAT: cuenca hidrográfica atlántica; CPM: cuenca hidrográfica Patos-Merín; CRN: cuenca hidrográfica Río Negro; CRU: cuenca hidrográfica Río Uruguay.

Para los estudios multivariados a esta escala no se tomaron en cuenta los factores que presentaban un único elemento, porque aportaban muchos ceros a las matrices y generaban distorsiones en los resultados. A grandes rasgos, los análisis multivariados mostraron que los patrones son similares a los obtenidos en la escala espacial anterior (Fig. 32 versus Fig. 34). Manteniendo el mismo criterio, se evaluaron los grupos a una similitud del 40% en el dendograma UPGMA, resultando en la formación de 5 grupos (ANOSIM (Morisita) $R = 0,8753$; p -valor = 0.0001; 9999 permutaciones de Bootstrap). El análisis de porcentaje de similitud (del inglés SIMPER) mostró que los taxa parasitarios que más contribuyeron a la generación del dendograma fueron *Opisthgonimus sp.* (Opi; 16,2%), Opisthorchiidae (Opit; 14,7%) y Cistircercoides (Cist; 11,9%).

De estos 5 grupos, 4 se correspondieron con la conformación de los grupos de la escala anterior. La única diferencia fue la conformación de un nuevo grupo conteniendo únicamente a los *A. prognathus* de Retamosa (RET_pro). Las diferencias estadísticas entre grupos se presentan en la Tabla 14, a excepción del grupo RET_pro, ya que el test estadístico ANOSIM requiere al menos dos integrantes de cada grupo para evaluar la variabilidad intragrupo.

A**B**

C

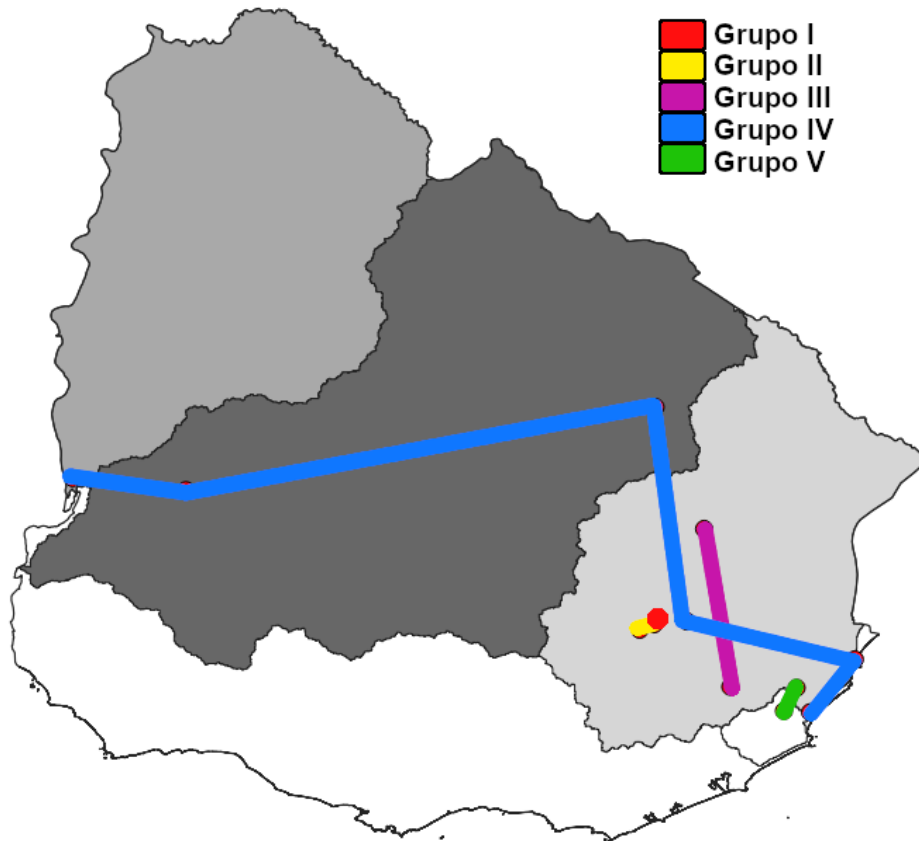


Figura 34. Análisis multivarido de la riqueza taxonómica parasitaria tomando en cuenta los charcos temporales y los hospedadores muestreados, en función de los parásitos presentes en los mismos. A) Análisis de agrupamiento (cluster) por el método de grupo de pares no ponderados con media aritmética (dendograma UPGMA) con distancia de Morisita (Correlación cofenética = 0,84) y con valores de Bootstrap (9999 repeticiones) en los nodos expresados en porcentaje. B) Análisis ordinal de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) utilizando la distancias de Morisita (estrés = 0,17). Al 45% de similitud en el dendograma (A) se identifican 6 grupos en el NMDS (etiquetas en rojo). Etiquetas en azul corresponden al sitio (charco temporal) y el hospedador muestreado en el mismo. Arroyo Grande (AG); Esteros de Farrapos (EdF); Fraile Muerto (FM); India Muerta (IM); La Coronilla (LC); Paso Ancho (PA); Pirarajá (PIR); Ruta 16/13 (R1613); Ruta 9 km 272 (R9272); Ruta 9 vieja (R9V); Retamosa (RET); Sarandí de las Casas (SLC). C) Representación gráfica de los grupos definidos al 40% de similitud mediante métodos multivariados de agrupamiento (UPGMA) y ordinal (NMDS). Aff: *Austrolebias affinis*; ale: *A. alexandri*; bell: *A. bellottii*; nig: *A. nigripinnis*; qui: *A. quirogai*; vaz: *A. vazferreirai*; cha: *A. charrua*; wol: *A. wolterstorfi*; che: *A. cheradophilus*; pro: *A. prognathus*; via: *A. viarius*; lut: *A. luteoflammulatus*; gym: *A. gymnoventris*.

Tabla 14. Resultado (p-valor) de la comparación entre grupos del test estadístico de análisis de similitud (ANOSIM), basado en los grupos generados a partir del dendograma UPGMA (Fig. 34A). Se indica con un asterisco aquellos valores que muestran diferencias significativas (p-valor < 0,05).

	IV	III	II	V
IV		0,0184*	0,0186*	0,003*
III	0,0184*		0,3314	0,1032
II	0,0186*	0,3314		0,1006
V	0,003*	0,1032	0,1006	

Las ponderaciones de los nodos del dendograma UPGMA, que indican el valor de Bootstrap (9999 repeticiones) en porcentaje, fueron relativamente bajos (a excepción del nodo basal de 100%), siendo el nodo IM_cha + PA_wol (*A. charrua* de India Muerta y *A. prognathus* de Paso Ancho, respectivamente) el único en superar un valor del 50%.

4. DISCUSIÓN

4.1 Estudio taxonómico

De las 15 especies de *Austrolebias* muestreadas a lo largo del 2018 y del 2019, 14 se encuentran dentro del listado de la SNAP (Soutullo et al. 2013) como prioritarias para la conservación (*A. charrua* siendo la única excepción). Esto tuvo gran influencia en la decisión de modificar el método de muestreo de los charcos entre los años 2018 y 2019. A diferencia del primer año, donde se muestrearon charcos temporales a lo largo de todo el hidroperíodo, en el segundo año se priorizó muestrear sobre el final del hidroperíodo, aumentando así la probabilidad de que hubiesen existido eventos reproductivos entre los peces antes de ser colectados. A su vez, esto seguramente incrementó las posibilidades de que los estadios infectivos de los parásitos hallados, se encontraran con los peces que se examinaron.

Los peces del género *Austrolebias* mostraron actuar principalmente como hospedador intermediario, albergando mayor riqueza taxonómica de formas larvales que de formas adultas. De hecho, la gran mayoría de los parásitos adultos encontrados fueron considerados como el producto de posibles infecciones accidentales que derivaron en el hallazgo, por parte del parásito, de un nicho ecológico utilizable. Del mismo modo, existió una muy baja prevalencia de parásitos externos, con una completa ausencia de crustáceos parásitos. Es probable que los ciclos anuales de las *Austrolebias* sean el principal factor que lleva a la poca efectividad de estos hospedadores como definitivos, sobre todo en tanto a parásitos monoxenos refiere. Esto es porque los parásitos adultos, incapaces de escapar del ambiente interno de las *Austrolebias*, mueren junto a estas en los eventos anuales de extinción generacional que estos peces sufren.

Esto podría ser la causa de que no se conozcan parásitos externos en ningún género de peces anuales neotropicales, a excepción del único reporte regional en *Austrolebias* de Taberner et al. (2003), quienes encontraron el crustáceo parásito *Telothea henselii* Martens, 1869 en *A. prognathus* (previamente *Cynolebias prognathus*) de Uruguay. Aún así, los autores argumentan que, en función de la variabilidad específica de los hospedadores reportados en su trabajo, es deducible que *T. henselii* es eurixeno (amplio

rango de hospedadores), y que su presencia en *A. prognathus* probablemente haya sido accidental. Ellos alegan que esto podría haber sucedido por eventos de inundación por parte de cursos de agua permanente donde habitan hospedadores no anuales, y en donde también se ha encontrado el parásito (Taberner et al. 2003).

A continuación, se discutirán todos los parásitos encontrados en *Austrolebias*, comentando sobre la situación sistemática de los grupos, argumentando la hipótesis de identidad taxonómica y los posibles ciclos de vida que pudieron haber llevado a encontrar estos organismos infectando las *Austrolebias*.

***Gyrodactylus* sp. Nordmann, 1832**

Este hallazgo constituye el reporte de un nuevo hospedador para el género *Gyrodactylus* sp. De las 26 especies de *Gyrodactylus* reportadas para Sudamérica, solo 7 se han hallado en hospedadores del orden Cyprinodontiformes. Estas son *Gyrodactylus turnbulli* Harris, 1986 de Perú, *G. milleri* Harris, 2000 y *G. poeciliae* Harris, 2000 de Venezuela, y *G. decemmaculati* Vega, 2019, *G. breviradix* Vega, 2019, *G. marplatensis* Taglioretti, 2020, y *G. pampeanus* Taglioretti, 2020, de Argentina (An et al. 1991; Harris & Cable 2000; Vega et al. 2019; Taglioretti et al. 2020). Sin embargo, para la familia Rivulidae (que comprende a las *Austrolebias*) no existe ningún reporte, siendo este el primero.

Ectoparásitos monoxenos, y particularmente *Gyrodactylus* sp. con su poliembrionía pedogenética, no requieren de ningún hospedador intermediario para completar su ciclo de vida, ya que los juveniles nacen con la capacidad de infectar un nuevo hospedador definitivo. El pasaje de agua a través de las branquias suele arrastrar a los monogonoideos jóvenes y derivarlos a otros peces cercanos. Esa forma de transmisión rápida y directa es lo que hace que *Gyrodactylus* sea tan riesgoso para la acuicultura, donde los peces se encuentran en condiciones de confinamiento (Grano-Maldonado et al. 2018). Los charcos temporales comprenden espacios reducidos que podrían

pensarse en el mismo sentido que las condiciones de acuicultura. Por lo tanto, es de esperar encontrar una mayor prevalencia y abundancia de estos parásitos.

Esta desviación de lo esperado está reportada por los trabajos de An et al. (1991), Harris & Cable (2000), Taglioretti et al. (2020) y Vega et al. (2019), quienes encuentran abundancias parasitarias de *Gyrodactylus* que oscilaron entre 3 y 17 parásitos, en muestras de hospedadores de entre 120 y 172 peces. Puede notarse que la prevalencia e intensidad de infección es moderada y acompaña lo observado en *Austrolebias*.

Por un lado, es posible que la manipulación a la hora del muestreo de los hospedadores esté jugando un papel en los resultados observados, ya que estos parásitos son capaces de desprenderse de los peces y nadar activamente para infectar nuevos hospedadores, escapando de condiciones adversas (Grano-Maldonado et al. 2018; Schelkle et al. 2021). La captura inicial y la posterior manipulación de las *Austrolebias* previo a su eutanasia para la búsqueda de parásitos implicaron distintos momentos en los que los monogoneos pudieron soltarse de las branquias. Por otro lado, desde una perspectiva ecológica, la sequía total anual de los charcos temporales implica que el monogoneo nunca podría llegar a establecerse en la población de *Austrolebias*, y que dependería del ingreso de aguas permanentes sobre charcos temporales por eventos de inundación, para poder acceder a los peces anuales como hospedadores. Aun si esto sucediera, a medida que el agua de los charcos temporales se evapora y aumenta la morbilidad de los hospedadores allí presentes, la población de *Gyrodactylus* también disminuiría en número hasta desaparecer. Entonces, es comprensible que los índices parasitológicos nunca sean altos si los muestreos son sobre el final del hidroperíodo.

Esta hipótesis sobre una dinámica de cambio de hospedador tras la ingesión de cursos permanentes sobre charcos temporales y la progresiva disminución de parásitos acompañando la morbilidad de los hospedadores, es interesante porque comprendería un uso ambiental de los charcos temporales y sus *Austrolebias* (y quizá otros peces anuales). Estos ecosistemas podrían funcionar como un amortiguador (“buffer”) de la parasitosis en poblaciones de peces de cursos dulceacuícolas circundantes.

***Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939**

Este hallazgo representa el primer reporte del género *Catadiscus* infectando y desarrollándose (parásitos adultos y grávidos con contenido alimenticio en sus ciegos intestinales) en un pez (Vettorazzi et al. 2020).

De las 16 especies del género *Catadiscus* reportadas para Sudamérica y que son actualmente válidas, los especímenes hallados en *Austrolebias* presentan las mayores similitudes con *C. uruguayensis*, *C. rochai* Correa & Artigas, 1978, *C. hylae* Incorvaia, 1983, y *C. pomaceae* Hamann, 1992. Esto es en función de ciertos caracteres morfológicos con relevancia fenotípica para el género, particularmente la forma general del cuerpo, la presencia de ondulaciones en la apertura oral, presencia de sacos faríngeos extramurales, presencia de bulbo esofágico, morfología del acetábulo, distribución de los folículos vitelinos, posición relativa de gónadas y útero, posición del gonoporo y tamaño de los huevos (Sey 1991; Jones et al. 2005). A su vez, todas estas especies parasitan anfibios o reptiles de Argentina, Brasil y Uruguay (Sey 1991), excepto *C. pomacea* que fue encontrada en el caracol *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1801) (Hamann 1992).

En contraste con los individuos descritos en este trabajo, *C. pomaceae* presenta bucles uterinos que se extienden entre la apertura bucal y la bifurcación cecal, faringe más grande, y una relación acetábulo-largo total distinta (Hamann 1992). *Catadiscus hylae* es diferente en no presentar bordes ondulados en la apertura bucal, y presentar menor número de folículos vitelinos que además no pasan el extremo posterior de los ciegos intestinales (Incorvaia 1983). *Catadiscus rochai* es diferente a los especímenes encontrados en este trabajo en no presentar bucles uterinos entre los testículos y el ovario (Corrêa and Artigas 1979; Sey 1991).

Así, los individuos hallados en *Austrolebias* presentan mayor similitud con los reportes de *C. uruguayensis* (Sey 1991; Lunaschi & Drago 2002), con la excepción de algunas

variantes en el tamaño de los folículos vitelinos, el tamaño de los huevos y el tamaño de los testículos. No obstante, todas estas diferencias son reportadas en la literatura. Suriano (1970) y Ostrowski (1978) redescubrieron *C. uruguayensis*, ofreciendo mayor introspección en ciertas discrepancias con la descripción original de Freitas & Lent (1939). Por un lado, Suriano (1970) y Ostrowski (1978) mencionan que los folículos vitelinos son similares a los huevos en tamaño, distinto a lo reportado originalmente por Freitas & Lent (1939) donde los folículos vitelinos son marcadamente más pequeños que los huevos. Tanto Suriano (1970) como Ostrowski (1978) también aceptan que huevos menores a 0,1 mm pueden pertenecer a *C. uruguayensis*, mientras que Freitas & Lent (1939) establecían como regla dicotómica en sus claves que huevos mayores a 0,1 mm no correspondían a dicha especie. En cuanto a la genitalia, Ostrowski (1978) menciona que los testículos y los ovarios tuvieron tamaños similares en *C. uruguayensis* colectado de renacuajos de la especie *Hyla pulchella* (Duméril & Bibron, 1841), y que los colectados de ranas adultas presentaron testículos más grandes. En los especímenes encontrados en *Austrolebias*, los testículos y el ovario presentaron tamaños similares. Una posible explicación es la atrofia testicular que se reporta en el género *Catadiscus* a medida que el útero se llena de huevos (Freitas and Lent 1939; Ostrowski 1978). Cabe mencionar que Ostrowski (1978) propone una sinonimia entre *C. uruguayensis* y *Catadiscus cohni* Travassos, 1926. Sin embargo, *C. cohni* no fue considerado en este trabajo debido a la condición de vitelario post-cecal y la ausencia de bucles uterinos entre el testículo y el ovario (Sey 1991). Es evidente que la familia Diplodiscidae requiere mayor atención, ya que existen incongruencias en las descripciones morfológicas disponibles. Además, como comenta Queiroz et al. (2021) en su estudio sobre *Catadiscus marinholutzi* Freitas & Lent, 1939, la monofilia de Diplodiscidae no es clara.

Catadiscus uruguayensis ha sido reportado parasitando el anfibio *Leptodactylus latrans* en Uruguay (Freitas & Lent 1939), el cual está asociado a los mismos ecosistemas donde ocurren poblaciones de *A. prognathus* y *A. cheradophilus* (Naya et al. 2003; Berois et al. 2015). Conjuntamente, las especies *A. prognathus* y *A. cheradophilus* son parte de los depredadores tope de los sistemas temporales, pudiendo ser capaces de consumir renacuajos y peces (Costa 2009; Laufer et al. 2009). Dicho comportamiento trófico

sumado a la reportada presencia del parásito en los ecosistemas de estos peces, refuerza la hipótesis de que ambas especies hayan sido infectados por *C. uruguayensis* mediante ingesta de renacuajos con metacercarias enquistadas en su superficie (Hamann et al. 2013). En este sentido, los renacuajos podrían no ser la única presa que lleve a la presencia de este parásito en *Austrolebias*, ya que es conocida la capacidad de las cercarias de diversas especies de *Catadiscus* de enquistarse en cualquier superficie de forma no específica (Ostrowski 1978; Hamann et al. 2013). Esto significa que podrían enquistarse en la superficie de otros moluscos o insectos que también formen parte de la dieta de las *Austrolebias* hospedadoras (Laufer et al. 2009). En este sentido, Queiroz et al. (2021) en sus infecciones artificiales con *C. marinholutzi* no encuentran metacercarias enquistadas en la superficie de anuros, pero sí en el interior de la pecera donde los mantenían, y los mismos resultaron infectados con el parásito mediante un mecanismo no observado.

El hecho de que los especímenes de *C. uruguayensis* encontrados en *Austrolebias* hayan sido adultos es un indicativo de la habilidad de estos parásitos de desarrollarse y llevar adelante sus ciclos de vida en peces de agua dulce. Esto corrobora la estrategia generalista del género *Catadiscus*, más allá de la plausibilidad de que esta infección haya sido un evento accidental. La accidentalidad de la infección puede explicar la baja incidencia de este parásito en estos hospedadores.

***Phyllodistomum pampae* (Monteiro, Wendt & Zebral, 2018) n. comb.**

Este reporte constituye una nueva localidad y un nuevo hospedador para la especie, hasta ahora solo mencionada para Brasil en la literatura, en el pez anual *Cynopoecilus melanotaenia* (Monteiro et al. 2018).

No obstante, existe una discrepancia a la hora de clasificar estos parásitos. Monteiro et al. (2018) reporta *Dendrorchis pampae* como una nueva especie de gorgodéridos, infectando peces anuales de la especie *Cynopoecilus melanotaenia*, en el sur de Brasil. Este rivúlido también se encuentra en Uruguay, y comparte charcos temporales con

diversas especies de *Austrolebias* (Loureiro & de Sá 2015, en Berois et al. 2015). De acuerdo con la descripción de Monteiro et al. (2018), los bucles uterinos de *D. pampae* nunca penetran en la porción anterior del cuerpo, característica que también puede observarse en las imágenes del artículo (Monteiro et al. 2018). Según las claves taxonómicas de Gibson et al. (2005), este carácter corresponde al género *Phyllodistomum* y es la condición morfotípica que separa este género de *Dendrorchis*. Una diferencia entre la especie reportada por Monteiro et al. (2018) y los especímenes encontrados es *Austrolebias* es que, en los primeros, los testículos y el ovario son prácticamente subiguales, mientras que en los segundos los testículos son siempre más grandes que el ovario. De todas formas, el tamaño y forma (lóbulos y melladuras) de las gónadas se ha explicado por otros autores como variación fenotípica intraespecífica dentro del género (Stunžėnas et al. 2017; Zhokhov et al. 2017). Es decir que, morfológicamente, los individuos presentes en *Austrolebias* y los reportados por Monteiro et al. (2018), muy probablemente correspondan a la misma especie, pero bajo el género *Phyllodistomum*.

Según Amato & Amato, 1993 (que cita a Brooks & Macdonald, 1986), el carácter más importante a la hora de agrupar las especies de *Phyllodistomum* es la posición del ovario respecto a las glándulas vitelógenas y la expansión del útero en el parénquima. De las 7 especies formalmente reportadas como *Phyllodistomum* parasitando peces sudamericanos (Lunaschi & Martorelli 1990; Kohn et al. 2007; Montes & Martorelli 2015), solamente *P. mugilis* y *P. ruschii* presentan estos caracteres con la misma configuración que los especímenes hallados en las distintas especies de *Austrolebias* (Fig. 4A y descripción). No obstante, *P. mugilis* y *P. ruschii* difieren de los especímenes en la morfología general, en el sentido de que ninguna presenta una división marcada de la región anterior y posterior del cuerpo, ni la región posterior es foliada. Esto es, incluso considerando las deformaciones morfológicas propias de la preparación y fijación de los parásitos (Bakke 1988). Además, tanto *P. mugilis* como *P. ruschii* presentan hospedadores con historias de vida y rangos de nicho ecológico muy distintos a los de las *Austrolebias*. En este sentido, se propone en este trabajo nombrar a los individuos

encontrados en peces anuales como *Phyllodistomum pampae* (Monteiro, 2018), enmendando la clasificación de Monteiro et al. (2018).

Es curiosa la presencia de estos parásitos adultos en *Austrolebias* (con alimento en sus ciegos intestinales y numerosos huevos en sus úteros), ya que la forma de vida extrema de estos peces debería dificultar el establecimiento de infrapoblaciones de parásitos adultos. La poca información sobre los ciclos de vida de los gorgodéridos (Volonterio & Ponde de León 2005; Monteiro et al. 2018) hace complejo determinar las posibles razones por lo cual se encontró este parásito en estos ambientes tan particulares. Por su parte, Monteiro et al. (2018) proponen dos escenarios de cómo esto podría haber sucedido, los cuales son extrapolables a las *Austrolebias* ya que en ambos casos se trata de peces anuales. Uno de ellos es el ingreso de hospedadores no-anuales a los charcos temporales por eventos de inundación, seguido por procesos de derrame ('spillover') sobre los peces anuales. El otro escenario es la posibilidad de que el primer o el segundo hospedador intermediario presenten la capacidad de sobrevivir durante el período de sequía de los charcos temporales, y que el parásito permanezca latente dentro de éstos hasta que arribe el hidropériodo. En este sentido, Ubelaker & Olsen (1972), en uno de los pocos trabajos que estudia el ciclo de vida de un gorgodérido (*Phyllodistomum bufonis*), proponen a un anfibio como el hospedador definitivo, mejillones pequeños como primer hospedador intermediario y náyades de libélula como el segundo. Lunaschi & Martorelli (1990), por su parte, reportaron estadios larvales de *P. spatula* en el camarón dulceacuícola *Palaemonetes argentinus*. Existen representantes de todos estos taxa en los charcos temporales, y todos presentan alguna estrategia para sobrevivir los períodos de sequía. Entonces, es posible que los escenarios planteados por Monteiro et al. (2018) no sean excluyentes, en tanto que quizá, en este caso, el derrame no se dé entre peces no-anuales y anuales como ellos proponen, sino de anfibios a peces anuales como hospedadores alternativos.

***Ophiodiplostomum cf. spectabile* Dubois, 1936**

El reporte de *Ophiodiplostomum cf. spectabile* en *Austrolebias charrua* constituye el primer reporte del género *Ophiodiplostomum* en peces y en Uruguay. A su vez, *A. charrua* es un nuevo hospedador para el parásito.

Los individuos encontrados en *A. charrua* coinciden con la descripción de la subfamilia Ophiodiplostominae dada por Jones et al. (2005). Además, la presencia de una parapróstata pequeña, un órgano tribocítico grande, la presencia del vitelario en ambas regiones del cuerpo y la ausencia de un saco paraprostático muscular, hacen que se clasifiquen dentro del género *Ophiodiplostomum* Dubois, 1936 según la clave propuesta por los mismos autores. Sin embargo, aunque dicha clave permite clasificar sin problemas a los ejemplares hallados al nivel de género, hay ciertas discrepancias con la descripción tal como la propone Dubois (1936). A diferencia de la descripción de Dubois (1936), los ejemplares hallados en *A. charrua* presentaron: la región anterior y posterior del cuerpo de tamaños disimiles, la ventosa oral subigual o levemente más grande que el acetábulo, vitelario extendido anteriormente hasta el margen anterior del órgano tribocítico. No obstante, el hecho de que las diferencias morfológicas no hallan impedido llegar a género según la clave de Jones et al. (2005) es indicativo de que, para estos autores, las discrepancias existentes no justifican la creación de un nuevo género, en especial si las diferencias en dichas estructuras pudieran deberse al método de montaje (Bakke 1988).

Las especies de *Ophiodiplostomum* halladas en reptiles sudamericanos son *Ophiodiplostomum spectabile* (para Argentina en *Philodryas sp.* y para Brasil en *Coluber sp.*, *Crotalus durissus terrificus*, *Eunectes deschauenseei*, *Liophis poecilogyrus* (= *Leimadophis poecilogyrus*), *Liophis miliaris* (= *Liophis miliaris miliaris*), *Liophis reginae*, *Liophis typhlus*, *Mastigodryas bifossatus* (= *Dryadophis bifossatus*, *Drymobius bifossatus*), *Xenodon merremi*), *Ophiodiplostomum ancyloides* (para Brasil en *Coluber sp.*) y *Ophiodiplostomum aristoterisi* (para Brasil en *Liophis miliaris*) (Ruiz & Rangel 1954; Fernandes & Kohn 2014). Muchas de estas especies de serpientes también se

encuentran en Uruguay (a excepción de *E. deschauenseei*, *L. reginae*, *L. typhlus*, *M. bifossatus*), y están adaptadas a ecosistemas semiacuáticos circundantes a los charcos temporales como bañados (Carreira et al. 2005; Carreira et al. 2012), de modo que podrían ser los verdaderos hospedadores definitivos de los ejemplares encontrados en *A. charrua*. Morfológicamente, estos ejemplares son distintos de *O. ancyloides* y *O. aristoterisi*, principalmente porque estos últimos presentan la región anterior del cuerpo más grande que la posterior, lo cual es un carácter decisivo para diferenciarlos. Otras diferencias son el tamaño del órgano tribocítico, morfología y arquitectura de los órganos reproductores, la presencia del vitelario mayoritariamente en la región posterior, y otros caracteres biométricos (Tab. 6). Todo esto hace que los especímenes hallados en *A. charrua* presenten las mayores similitudes con *O. spectabile*. No obstante, existen algunas incongruencias con la descripción original de Dubois (1936) y la re-descripción realizada por Pinto et al. (2012). Los ejemplares aquí estudiados son biométricamente mayores, a excepción de los testículos. Esto último no es raro en individuos progenéticos, es decir, que pasan por la maritogénesis (metamorfosis de la metacercaria al adulto) en el segundo hospedador intermediario (Poulin & Cribb, 2002). Lo que sí es poco común es que formas progenéticas sean de mayor tamaño que sus verdaderas formas adultas (Poulin & Cribb, 2002; Lefebvre & Poulin, 2005). Adicionalmente, *O. spectabile* presenta una vesícula seminal notoriamente voluminosa y un reservorio vitelino intertesticular pequeño, mientras que en los especímenes hallados en *A. charrua*, la vesícula seminal no pudo ser observada, y el reservorio vitelino fue conspicuo.

A pesar de estas diferencias, tomando en cuenta la condición progenética y la ambigüedad en las características morfológicas reportadas para la especie (Dubois 1936; Pinto et al. 2012), se propuso nombrar a los individuos aquí descritos como *Ophiodiplostomum conferatur spectabile* (*Ophiodiplostomum cf. spectabile*), hasta hacer una comparación formal con el material original e incluir marcadores moleculares que colaboren en dilucidar las incongruencias taxonómicas.

La suposición de que *A. charrua* sea un hospedador accidental proviene no solo de que todos los reportes hasta el momento mencionan ofidios como hospedador definitivo, sino también de que los parásitos fueron hallados en músculo, algo no esperable en estos

organismos, cuyos adultos suelen encontrarse en el lumen intestinal. Por más que el ciclo de vida de *O. spectabile* es desconocido, Pinto et al. (2012) citan a Dubois (1970) y Noronha et al. (2009), quienes reportan la presencia de metacercarias de *O. spectabile* en tres especies de anfibios de Brasil, *Hyla albomarginata* (Spix, 1824), *H. punctatissima* Boulenger, 1882, y *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815), enquistados debajo de la piel o en peritoneo. Para completar el ciclo, estos anfibios deben ser ingeridos por el hospedador definitivo, ofidios. Sin embargo, debido a la proximidad ecológica de *A. charrua* con varias especies de anfibios, sobre todo en etapa de renacuajo (Berois et al. 2015), es posible que estos peces presenten acumulación exógena de este parásito, ya sea por infección activa o pasiva, transformándolos en hospedadores accidentales. Luego, tras la falta de un hospedador definitivo, las metacercarias podrían haber madurado progenéticamente en adultos dentro del quiste intramuscular en el pez, hasta salir del quiste por la reducción del aparato quistogenético el cual genera y sustenta el mismo. El desarrollo progenético ha sido reportado en varias especies de trematodos, incluyendo la familia Proterodiplostomidae (Pérez-Ponce de León et al. 1992; Galaktionov & Dobrovolskij, 2003; Guidelli et al. 2003; Vettorazzi et al. 2019). Esto explicaría por qué los ejemplares adultos de *O. cf. spectabile* fueron hallados grávidos y en plena puesta de huevos dentro del músculo lateral de *A. charrua*.

Metacercaria tipo ‘*Tetracotyle*’ (*Strigea* sp. 3 sensu Hamann et al. 2018)

Este es el primer reporte de metacercarias del tipo *Tetracotyle* (muy probablemente del género *Strigea*) en las especies *Austrolebias bellottii*, *A. nigripinnis*, *A. alexandri*, *A. vazferreirai*.

La taxonomía de Diplostomoidea hace hincapié en la importancia del tipo de metacercaria para definir distintos niveles de resolución sistemática. Esto fue confirmado por Shoop (1989), quien tomó en consideración los caracteres morfológicos de 27 especies de adultos y siete especies de metacercarias, representando dos familias, Diplostomidae y Strigeidae. Como resultado, obtuvo cinco grupos hermanos que mostraron buena concordancia con los dendogramas basados en morfología del adulto

y de estadios metacercariales. Sin embargo, en base a la clave de Gibson et al. (2002), la forma larval no permite dilucidar la taxonomía de los ejemplares hallados con mayor resolución que la familia, al menos desde la morfología, ya que la clasificación a niveles inferiores (incluso subfamilia) consisten en la caracterización del vitelario (distribución de los folículos en el parénquima) y los órganos reproductores. Ninguna de estas estructuras se encontró desarrollada en las metacercarias halladas. No obstante, desde la ecología, Gibson et al. (2002) mencionan que el hospedador definitivo tiene utilidad en la clasificación, dividiendo la Familia Strigeidae en las subfamilias Strigeinae y Duboisellinae en función de si el adulto se encuentra en aves o mamíferos, respectivamente. Debido a que los ejemplares son metacercarias halladas en peces anuales en ambientes temporales circundantes a bañados y cursos de agua permanente, y a lo hallado en ambientes similares (Hamann et al. 2018), lo más plausible es que el hospedador definitivo sea un ave, de modo que las metacercarias corresponderían a la subfamilia Strigeinae (Gibson et al. 2002). Luego, la presencia y forma de la faringe y las glándulas laterales indican que los especímenes descritos en este trabajo corresponden a alguna de las 3 metacercarias del género *Strigea* reportadas por Hamann et al. (2018), encontradas en Argentina para los hospedadores *Leptodactylus chaquensis* Cei, 1950, *L. latinasus* Jiménez de la Espada, 1875 y *Lepidobatrachus laevis* Budgett, 1899. En función de la morfología general del cuerpo y la posición del órgano tribocítico, los especímenes encontrados en *Austrolebias* probablemente correspondan a *Strigea* sp. 3 (Hamann et al. 2018).

Más allá de esto último, tanto *Leptodactylus chaquensis* como *L. latinasus* han sido reportadas para Uruguay. Las formas larvales de estos anfibios habitan en charcos temporales (Heyer 1969) donde a su vez desarrollan su vida las especies de *Austrolebias* en donde se encontraron los especímenes aquí reportados. Las *Austrolebias* como segundo hospedador intermediario expande la eurixenicidad de estos parásitos, ya que hasta el momento se consideraba que solo infectaban anfibios como segundos hospedadores intermediarios (Gibson et al. 2005; Hamann et al. 2018).

Metacercaria tipo ‘*Opisthogonimus*’ Lühe, 1900

Este es el primer reporte de metacercarias del tipo *Opisthogonimus* infectando peces anuales de las especies *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. cheradophilus*, *A. charrua*, *A. vazferreirai*, *A. gymnoventris*, *A. nigripinni*, *A. quirogai*, *A. wolterstorfi*.

Hamann & Gonzalez (2009) describen distintas metacercarias infectando varias especies de renacuajo en el noreste argentino, de las cuales las metacercarias de *Opisthogonimus* encontradas en *Physalaemus santafecinus* Barrio, 1965 y en *Odontophrynus americanus* (Duméril & Bibron, 1841) son las que presentan mayor similitud morfológica con los especímenes hallados en *Austrolebias*. Particularmente, estas similitudes estuvieron dadas por características del género como ser el cuerpo cubierto de espinas al estilo de escamas, la ventosa oral más grande que el acetábulo, el saco del cirro curvo (o su primordio, que se observa como una acumulación de células en forma de ‘J’), y el poro genital en la zona testicular (Hamann & Gonzalez 2009), aunque esto último no fue observado en los especímenes que parasitaban *Austrolebias*. La principal diferencia que existe entre las metacercarias halladas por Hamann & Gonzalez (2009) y las encontradas infectando *Austrolebias*, es el tamaño (largo total y ancho medial), aunque estos caracteres no siempre son tomados en cuenta ya que pueden ser un artefacto del método de fijación (Bakke 1988). Más allá de esto, las otras similitudes morfológicas mencionadas igualmente permiten suponer que estas larvas pertenezcan al género *Opisthogonimus*.

Este género, junto con los otros dos de la familia Opisthogonimidae (*Paracotyletrema* y *Liophistrema*) comprenden especies parásitas de ofidios como hospedadores definitivos (Bray et al. 2008). Además, *Opisthogonimus* ha sido reportada para Sudamérica, particularmente en Argentina, Brasil y Uruguay, en un amplio número de ofidios y anuros, siendo estos últimos los hospedadores intermediarios (sobre todo en fase de renacuajos) (Travassos 1928; Mañe-Garzon 1965; Hamann et al. 2009; Hamann et al. 2010; Hamann et al. 2014; Mati et al. 2015; Müller et al. 2021; Pinto et al. 2012; Restrepo & Montaña 2002). Cabe mencionar que la descripción original de *Paracotyletrema* (Volonterio et al.

2006) fue realizada para *Liophis anomalus* (Günther, 1858) en Uruguay, ofidio que se alimenta de anfibios que conviven, sobre todo en fase renacuajo, con peces anuales en los charcos temporales (Heyer 1969; Berois et al. 2015).

La alta abundancia, prevalencia y distribución de estas metacercarias en las poblaciones de *Austrolebias* en donde fueron halladas, y todos los reportes antedichos en diversos hospedadores, deja claro que estos parásitos son eurixenos. A su vez, demuestra que la relación hospedador-parásito posiblemente esté establecida y que muy probablemente se mantenga en el tiempo. En este sentido, las *Austrolebias* funcionarían de segundo hospedador intermediario, además de los renacuajos que coexisten en los charcos temporales.

Metacercaria tipo '*Travtrema*' Pereira, 1929

Este reporte corresponde al primer hallazgo de metacercarias Plagiorchiidae, muy probablemente del género *Travtrema*, utilizando peces como segundo hospedador intermediario. Además, *Austrolebias affinis*, *A. bellottii*, *A. charrua* y *A. nigripinni* son nuevos hospedadores intermediarios para este parásito.

Hamman & Gonzalez (2009) reportan la presencia de metacercarias en renacuajos de las especies *Scinax nasicus* (Cope, 1862), *Elachistocleis bicolor* (Guérin-Méneville, 1838), *Odontophrynus americanus*, *Leptodactylus latinasus*, *Physalaemus albonotatus* (Steindachner, 1864) y *P. santafecinus*. Dichas metacercarias son muy similares a las halladas en *Austrolebias* en base a su biometría y morfología general del cuerpo, disposición interna de órganos y primordios reproductores, y tamaño relativo de las ventosas. Las autoras pudieron determinar que estas metacercarias correspondían a la especie *Travtrema aff. stenocotyle* Cohn, 1902 mediante infecciones experimentales de caracoles de agua dulce de la especie *Ampullaria canaliculata* Lamarck, 1801. Parásitos del género *Travtrema* parasitan varias especies de serpientes de Sudamérica como hospedadores definitivos, y anuros como segundos intermediarios (Bray et al. 2008; Fernandes & Kohn 2014; Goodman 1958; Hamann & Gonzalez 2009; Hamann et al.

2010; Lunaschi & Drago 2010). Entre los países donde *Travtrema* fue reportado (particularmente *T. stenocotyle*), se incluye Uruguay, aunque la localidad y el hospedador tipo son desconocidos (Pinto & de Melo, 2012).

Tras los experimentos con *T. stenocotyle*, Hamann et al. (2010) concluyen que la estrategia de infección de la cercaria al segundo hospedador intermediario es tanto activa como pasiva (penetración directa por parte de la cercarias o ingesta de estas por parte de renacuajos), y que la transmisión de la metacercaria al hospedador definitivo es trófica. En los charcos temporales donde los renacuajos están en convivencia estrecha con las *Austrolebias*, es probable que éstas últimas sean hospedadores intermediarios alternativos, más aun teniendo en cuenta la reportada falta de especie-especificidad por parte de las cercarias de los parásitos en cuestión (Hamann et al. 2010; Pinto et al. 2012).

Metacercaria tipo ‘Opisthorchiidae’ (Looss, 1899) Braun, 1901

Este es el primer reporte de la presencia de metacercarias del tipo Opisthorchiidae, muy probablemente del género *Opisthorchis* sp. Blanchard, 1895, en poblaciones de peces anuales de las especies *Austrolebias affinis*, *A. alexandri*, *A. bellottii*, *A. charrua*, *A. vazferreirai*, *A. gymnoventris*, *A. luteoflammulatus*, *A. nigripinnis* y *A. viarius*. Es la primera vez que se reporta este género en peces de Uruguay.

La forma general del cuerpo y de las ventosas, la relación de tamaños entre estas últimas, la disposición de los primordios del sistema reproductor y la forma de la vesícula excretora, colocan a las metacercarias dentro de la familia Opisthorchiidae. La secuenciación del gen COX1 pretendió colaborar en la identificación, ya que es ampliamente utilizado como código de barra por grandes bases de datos como BOLD (Ratnasingham & Hebert 2007) y WormBase ParaSite (Howe et al. 2016; Howe et al. 2017). Sin embargo, presentan la dificultad de que pueden existir vacíos en el conocimiento de ciertos grupos en organismos silvestres, como en este caso. Las

secuencias mostraron la mayor similitud con el género *Opisthorchis*, pero solo existen secuencias de las especies zoonóticas conocidas.

Bray et al. (2008) mencionan que el género *Opisthorchis* es muy diverso y que probablemente la monofilia del mismo no sea tal. La mayor diferencia parece existir entre parásitos de mamíferos y aves, cuya superficie es suave, sin espinas, y que presentan forma agudizada hacia el extremo anterior, y parásitos de peces, con espinas en la superficie y cuerpo no agudizado. Aun así, la ambigüedad en la tipificación morfológica de los géneros de la familia y la ausencia de secuencias del gen COX1 en las bases de datos generó desconfianza a la hora de asignar los especímenes a algún género dentro de la familia.

La familia Opisthorchiidae está reportada para la gran mayoría de los grupos de vertebrados (Bray et al. 2008). Para aves y mamíferos de Sudamérica, Fernandes et al. (2015) compilan reportes de distintas especies de *Amphimerus* Barker, 1911 para un amplio rango de hospedadores mamíferos de Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. Los mismos autores mencionan especies del género *Amphimerus*, *Cladocystis* Poche, 1926, *Diasiella* Travassos, 1949, *Metorchis* Looss, 1899 y *Pachytrema* Looss, 1907 parasitando una gran diversidad de aves en Brasil y Venezuela (Fernandes et al. 2015). Para anfibios y reptiles sudamericanos no hay reportes.

Existen diversos reportes de la familia Opisthorchiidae para peces silvestres (sin tomar en cuenta los reportes por zoonosis de peces asiáticos) de Sudamérica: *Neocladocystis intestinalis* (Vaz, 1932) en intestino de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) del Río Paraná, Brasil (Kohn et al. 2007; Lehun et al. 2020) y *Amphimerus* sp. en varios peces de agua dulce de la provincia de Manabí, Ecuador (Romero-Alvarez et al. 2020). No obstante, cabe mencionar que la única descripción de metacercarias de *Opisthorchis* (particularmente *O. viverrini* Poirier, 1886) provenientes de Laos tienen una gran similitud morfológica de características taxonómicamente relevantes con los encontrados en *Austrolebias*, como los tamaños relativos de la ventosa oral y el acetábulo, la forma de

la vesícula excretora y superficie espinosa del cuerpo, tanto enquistadas como desenquistadas (Rim et al. 2008).

Thatcher (2006) comenta acerca de la biología de los Opisthorchiidae parásitos de peces, y menciona que la transmisión trófica del segundo hospedador intermediario al hospedador definitivo es a través de depredación piscívora. A su vez, como ya se mencionó, hay una gran variedad de especies de esta familia parasitando aves de Sudamérica (Fernandes et al. 2015). Esto significa que las *Austrolebias* ofician de hospedador intermediario, donde las metacercarias enquistadas permanecen a la espera de que algún pez de mayor porte o algún ave piscívora las ingiriera.

No es común que existan peces de gran porte en charcos temporales, ya que estos usualmente pertenecen a cursos de agua permanente y no presentan adaptaciones para resistir la desecación de los charcos luego del hidropériodo. La única excepción sería durante algún evento de inundación. No obstante, existen diversas especies de aves de gran porte que se alimentan asiduamente de las *Austrolebias* presentes en estos ambientes, como ser *Aramides ypecaha* Vieillot, 1819, *Ardea cocoi* Linnaeus, 1766, *Butorides striata* (Linnaeus, 1758), *Casmerodius albus* (Linnaeus, 1758), *Ciconia maguari* (Gmelin, 1789), *Cinclodes fuscus* (Vieillot, 1818), *Egretta thula* (Molina, 1782), *Harpiprion caeruleus* (Vieillot, 1817), *Himantopus mexicanus* (Müller, 1776), *Nycticorax nycticorax* (Linnaeus, 1758), *Pardirallus sanguinolentus* (Swainson, 1838), *Phimosus infuscatus* (Lichtenstein, 1823), *Pitangus sulphuratus* (Linnaeus, 1766), *Plegadis chihi* (Vieillot, 1817), *Syrigma sibilatrix* Ridgway, 1878, *Theristicus caudatus* (Boddaert, 1783), *Tringa melanoleuca* (Gmelin, 1789) (Liguori 2011). Cabe mencionar que *A. cocoi*, *B. striata*, *N. nycticorax* y *S. sibilatrix* son reportadas como hospedadores definitivos para especies de *Amphimerus* en la región (Fernandes et al. 2015), lo cual aumenta la probabilidad de que estos animales estén involucrados en ciclos de vida de estos parásitos de *Austrolebias*.

Por otra parte, algunos de los charcos en donde se encontraron estas metacercarias, como La Coronilla, son ambientes más cercanos a centros urbanos y acción antrópica.

Esto podría alejar la presencia de aves y animales silvestres, pero haría más probable la presencia de animales domésticos como felinos, los cuales pueden ingerir peces de los charcos a medida que el nivel del agua en estos desciende por la evaporación, y funcionar como hospedadores definitivos accidentales.

Metacercaria '*Posthodiplostomum* sp.' Dubois, 1936

La descripción de dos morfotipos del género *Posthodiplostomum*, denominados *P. sp. 1* y *P. sp. 2*, constituyen los primeros reportes de este género en peces anuales del Uruguay. Particularmente, *A. charrua*, *A. vazferreirai*, y *A. wolterstorfi* constituyen nuevos segundos hospedadores intermediarios en los ciclos de vida de estos parásitos.

Los individuos de la superfamilia Diplostomoidea, caracterizada por la presencia del órgano tribocítico, presentan 5 tipos generales de metacercarias que por su morfología se nombran del mismo modo que el género al que se asemejan: *Tetracotyle*, *Diplostomulum*, *Neascus*, *Prohemistomulum*, *Neodiplostomulum*. Según la clave taxonómica de Gibson et al. (2002), las metacercarias tipo *Neascus* se diferencian del tipo *Diplostomulum* (la más similar entre los otros tipos) en que estas últimas tienen una región posterior poco desarrollada, generalmente pequeña o cónica y sin ningún primordio genital, mientras que las *Neascus* sí presentan primordios genitales e incluso, en ocasiones, órganos reproductores prácticamente desarrollados. A su vez, el quiste de origen parasitario en *Neascus* es holgado (la larva puede extenderse por completo dentro de este), y en *Diplostomulum* no lo es, o las metacercarias están libres.

Existen dos familias que presentan metacercarias del tipo *Neascus*: Diplostomidae y Proterodiplostomidae, según la ausencia o presencia de la parapróstata, respectivamente. Con metacercarias es difícil asumir que esta glándula estuviese o no formada, debido a que el sistema reproductor se encuentra en etapas rudimentarias del desarrollo, de modo que la clave de Gibson et al. (2002) solo permite llegar hasta el nivel de subfamilia con confianza.

No obstante, existen antecedentes que ayudan a dilucidar la taxonomía con mayor resolución. Particularmente, los trabajos de Ostrowski (1973), Doma & Ostrowski (1994) y Ritossa et al. (2013), quienes encuentran y describen metacercarias tipo *Neascus* en peces dulceacuícolas, y una investigación de Digiani (2000), ambas llevadas a cabo en Argentina. En este último trabajo, la autora identifica parásitos adultos que se encontraban parasitando aves de la especie *Plegadis chihi*, y los asoció a metacercarias tipo *Neascus* enquistadas en los peces dulceacuícolas que habitan en los sitios donde el ave (hospedador definitivo) se alimentaba. Todos estos autores mencionados anteriormente identifican a las metacercarias como parte del género *Posthodiplostomum* y lo confirman mediante infecciones artificiales (Ostrowski 1973; Doma & Ostrowski 1994; Ritossa et al. 2013). Entonces, debido a que los hospedadores son ecológica y biogeográficamente similares a las *Austrolebias* (en tanto que las particularidades de la historia de vida de los peces anuales no limitan la presencia de parásitos desde un punto de vista de ecológico, sino en un sentido temporal), y a que las descripciones coinciden en gran medida con las de esta tesis, lo más probable es que estos últimos también pertenezcan al género *Posthodiplostomum*. Apoyando esta conclusión, cabe destacar que, en un trabajo no publicado, Berneche et al. (2017) hallaron metacercarias tipo *Neascus* en tres especies de *Austrolebias* de Argentina.

En Uruguay solo existe un estudio publicado sobre el punto negro, también llamada diplostomiasis (Texeira & Eguren 2008). El punto negro es la melanización causada por la presencia de quistes metacercariales del tipo *Neascus* en los tejidos del pez. El estudio se llevó a cabo en dos especies de peces de agua dulce, *Astyanax aff. fasciatus* Cuvier, 1819 y *Oligosarcus jenynsii* (Günther, 1864), aunque mencionan haber encontrado punto negro en otros peces ajenos al estudio (Texeira & Eguren 2008). No obstante, el trabajo es un reporte de caso y por ende los autores no realizan una descripción taxonómica ni dibujan las metacercarias. Cabe destacar que en *Austrolebias*, las metacercarias de *Posthodiplostomum* no generaron melanización en el área del enquistamiento.

Metacercaria ‘*Tylodelphys sp.*’ Diesing, 1850

Este es el primer reporte de metacercarias del género *Tylodelphys* en hospedadores del género *Austrolebias*. A su vez, *A. cheradophilus* y *A. wolterstorfi* corresponden a nuevos segundos hospedadores intermediarios en los ciclos de vida de estos parásitos.

La forma alargada y la falta de bipartición notoria del cuerpo, la región posterior cónica y las posiciones relativas del acetábulo y el órgano tribocítico, junto con la presencia de pseudo-ventosas (aunque poco notorias en estadio larval), son caracteres que asimilan los especímenes hallados a metacercarias del género *Tylodelphys* Diesing, 1850 (Gibson et al. 2002).

En Sudamérica existen cinco especies de *Tylodelphys* consideradas válidas: *T. elongata* (Lutz, 1928), *T. americana* (Dubois, 1936), *T. adulta* Lunaschi & Drago, 2004 y *T. brevis* Drago & Lunaschi, 2008, cuyas descripciones se basan en adultos obtenidos de aves piscívoras en Argentina, Brasil y Venezuela, y *T. jenynsiae* Szidat, 1969, de la que solo se conoce el estadio metacercarial, parásito de la cavidad corporal de peces de agua dulce que ha sido descrito morfológicamente y molecularmente (Fernandes et al. 2015, Blasco-Costa et al. 2017). Szidat (1969) también describe a *Tylodelphys destructor* Szidat & Nani, 1951 (*Tylodelphys* como epíteto genérico para denominar a las larvas de *Tylodelphys*), reportándola para Argentina, Chile y Uruguay, además de otras metacercarias argentinas pertenecientes al orden Strigeatoidea (donde se encuentra la familia Diplostomoidea y el género *Tylodelphys*). *Tylodelphys destructor* fueron aquellos con mayores similitudes morfológicas a las metacercarias encontradas en *Austrolebias*, aunque solo en los primeros estadios de desarrollo, principalmente por la presencia de pseudo-ventosas y forma alargada del cuerpo (Szidat 1969). Sin embargo, estos fueron encontrados en la cavidad craneana de *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) de Argentina, mientras que los especímenes hallados en *Austrolebias* estaban en los vasos sanguíneos del hígado. *Tylodelphys jenynsiae* también es similar desde la biometría, pero presenta una división del cuerpo notoria y una región anterior más ancha lo cual genera una forma general del cuerpo diferente. No

obstante, la falta de la forma adulta y/o evidencia molecular hizo que fuera prudente no asignar una identidad taxonómica al nivel de especie.

Szidat (1969) menciona haber encontrado adultos del género *Tylodelphys* en aves ictiófagas de bañados de Sudamérica, particularmente las especies *Mycteria americana* Linnaeus, 1758. Esta especie ha sido reportada para Uruguay (Claramunt & Cuello 2004). La presencia de *Tylodelphys* en estas garzas hace pensar que es posible que otras aves de bañado también oficien de hospedadores definitivos, especialmente las que se han observado alimentándose de peces anuales en los charcos temporales (Liguori 2011).

Morey (2018) reporta metacercarias de *Tylodelphys* en hígado e intestino de *Corydoras splendens* (Castelnau, 1855) y *Brochis multiradiatus* (Orcés, 1960) provenientes del Amazonas peruano (Perú). Este es el primer reporte en la bibliografía Sudamericana donde se indica la presencia de *Tylodelphys* en hígado, tal como los hallados en *Austrolebias*. Ribeiro et al. (2019) también encuentran metacercarias Diplostomidae *gen. sp.* en hígado (entre otros órganos) de *Clarias gariepinus* Burchell, 1822, pero no logran clasificar los parásitos a nivel de género. No obstante, las similitudes morfológicas mostradas permiten inferir que se trata de una metacercaria del tipo *Tylodelphys*. Finalmente, es importante mencionar que Berneche et al. (2017) (no publicado), reportaron metacercarias tipo *Diplostomulum*, en hígado de tres especies de *Austrolebias* de Argentina. *Corydoras splendens*, *B. multiradiatus*, *C. gariepinus* comparten con *Austrolebias* la característica de tener una fuerte asociación con el fondo de los ambientes dulceacuícolas que habitan. En el caso de las *Austrolebias*, esta asociación viene dada por el comportamiento de enterrarse a modo de defensa, y las puestas también se realizan bajo el fango o turba (Berois et al. 2015). Por esto, es esperable que *C. splendens*, *B. multiradiatus*, *C. gariepinus* y *Austrolebias* presenten una fauna parasitaria similar, más allá de las distancias geográficas, ya que la existencia de un ave como hospedador definitivo hace que las barreras alopátricas sean difusas. No obstante, las metacercarias de *Tylodelphys* reportadas por Morey (2018) en las distintas especies de peces se diferencian de las que se hallaron infectando *Austrolebias* en ciertos

caracteres morfológicos. Principalmente, las descritas por Morey (2018) presentan la región anterior del cuerpo más ancha que la región posterior, y presentan largos y anchos notoriamente mayores. Adicionalmente, Pelegrini et al. (2019) han encontrado metacercarias del género *Tylodelphys* en el humor vítreo y la cavidad del cuerpo de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) de Brasil. Éstas se diferencian de las halladas en *Austrolebias* en que el extremo anterior es agudo en lugar de achatado o trunco, carecen de pseudo-ventosas a los lados de la ventosa oral, y habitan un ambiente distinto dentro de sus hospedadores. Pelegrini et al. (2019) realizaron estudios moleculares con el gen COX1 y determinaron que las metacercarias de *H. malabaricus* no corresponden a ninguna especie sudamericana, aunque en la filogenia sus especímenes aparecen vinculados a *Tylodelphys jenynsiae*. Los autores discuten que esta similitud no es suficiente para generar conclusiones ya que existen otras 4 especies válidas de *Tylodelphys* en Sudamérica de las cuales no hay secuencias COX1 para incluir en el trabajo. Es conocida la plasticidad fenotípica intraespecífica de parásitos de hospedadores ectotermos, aunque el hospedador no juega un rol central en dicha plasticidad (Poulin & Latham 2003). En consecuencia, y debido a que no existen trabajos al respecto que involucren al género *Tylodelphys*, se prefiere no profundizar en hipótesis de esta índole.

La presencia de *T. destructor* en cavidad craneal de *O. bonariensis* posiblemente se deba a que estos parásitos manipulan el comportamiento de su hospedador intermediario para que sea más susceptible a ser depredado (Poulin 2010; Poulin 2013; Iritani & Sato 2018). En *Austrolebias*, la infección hepática puede significar un drenaje de nutrientes y una afectación de la aptitud reproductiva, debido a que el hígado juega un rol en el metabolismo de las grasas, la generación de reservas y la vitelogénesis en peces (Bruslé & Anadon 1996). De este modo, es posible que la presencia de parásitos en este órgano desemboque en consecuencias comportamentales para los hospedadores, haciéndolos más susceptibles a la depredación por parte del hospedador definitivo.

No existen reportes para Uruguay de *Tylodelphys* adulto parasitando aves o mamíferos (Fernandes et al. 2015). Sin embargo, haber hallado el segundo hospedador

intermediario en este trabajo seguramente signifique que, en los charcos temporales, existen gasterópodos actuando de primeros hospedadores intermediarios y potencialmente aves capaces de oficiar de hospedadores definitivos.

***Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999**

Este es el primer reporte del género *Chambriella* en peces de Uruguay. A su vez, *Austrolebias wolterstorfi* y *A. charrua* son nuevos hospedadores para este género de parásitos.

Las características de los 2 escólex y el individuo completo hallados en *Austrolebias* permitió llegar hasta el nivel taxonómico de género, principalmente debido a la morfología de las ventosas, la distribución de los órganos en las proglótides y la forma del saco del cirro. Actualmente, el género *Chambriella* tiene 5 representantes en peces de agua dulce de Sudamérica (Chambrier et al. 2015; Alves et al. 2017a; b). De estos representantes, solamente *Chambriella megacephala* Woodland, 1934 tiene nombre asignado, mientras que el resto no pudo determinarse la especie por ser inmaduros, de modo que se nombraron *Chambriella* sp. 1 al 4 (Alves et al. 2017a). Comparaciones biométricas con *C. megacephala* muestran que éstos presentan un escólex más grande que los especímenes hallados, además de un cirro más corto. Sin embargo, la proporción entre el largo de las ventosas y el del escólex es similar al de los parásitos de *Austrolebias*. Del mismo modo, el saco del cirro de *C. megacephala* comprende un amplio rango de largos que involucra el tamaño que presentan los especímenes aquí descritos, además de ser morfológicamente más similares (son sencillos). A su vez, se realizaron comparaciones biométricas con *Synbranchiella mabelae* Arredondo, Alves & Gil de Pertierra, 2017 (Arredondo et al. 2017) en función de la proximidad ecológica que presenta el hospedador tipo de esta especie (la anguila de bañado *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795, presente en Uruguay) con *Austrolebias* (Tab. 7). En este caso, la proporción del largo de la ventosa y del escólex de *S. mabelae* fue mucho mayor al de los especímenes aquí descritos, y la morfología del cirro y el saco del cirro no son coincidentes, en tanto que los de *S. mabelae* son más conspicuos y complejos. Estas

características indican una mayor proximidad morfológica con el género *Chambriella* que con *Symbranchiella*, aunque no a nivel específico con *C. megacephala*. A pesar de esto, Alves et al. (2017a) recomiendan no describir nuevas especies cuando existe un escaso número de individuos hallados y se carece de un análisis molecular que acompañe la caracterización morfológica clásica. En función de esto es que se consideró prudente clasificar a los especímenes hallados en *Austrolebias* como *Chambriella sp.*

En tanto a aspectos ecológicos, varios autores coinciden en que la mayoría de las especies dentro del orden Proteocephalidea que parasitan siluriformes de Sudamérica, son estenoxenicas (Chambrier & Vaucher 1999; Scholz & Chambrier 2003). Esto quiere decir que presentan un corto rango de posibles hospedadores. De hecho, los miembros de la familia Monticelliidae han sido históricamente considerados oioxénicos (específicos de una sola especie hospedadora) (Brooks 1978; Brooks & Deardorff 1980; Rego 1999). No obstante, evidencia más reciente ha mostrado que eventos de cambio de hospedador por mecanismos de derrame (“spillover”) podrían ser más comunes de lo propuesto para dicha familia (Chambrier & Vaucher 1999; Chambrier et al. 2004; Alves et al. 2017a; Arredondo et al. 2017).

Los peces anuales no funcionarían de hospedadores definitivos eficientes en función de su corto y extremo ciclo vital, que evita la permanencia de grupos endógenos de parásitos adultos. No obstante, eventos de inundación por desborde de ríos (debido a lluvias excesivas, construcción de represas, efectos colaterales del cambio climático, etc.) pueden derivar en el ingreso de aguas permanentes en los charcos temporales. Esto puede derivar en el ingreso de formas larvales de parásitos propios de cursos permanentes en los charcos temporales, pudiendo eventualmente infectar nuevos hospedadores como las *Austrolebias*. La baja intensidad de *Chambriella sp.* en las *Austrolebias* analizadas va de la mano con esta hipótesis ecológica, ya que es esperable que eventos de derrame en poblaciones de peces anuales sean excepciones puntuales.

***Sparganum aff. proliferum* Ijima, 1905**

(= *Spirometra decipiens* complejo 1 *sensu* Kutcha et al. 2021)

Este trabajo constituye el primer reporte sudamericano de parásitos del género *Sparganum* (= *Spirometra sensu* Kutcha et al. 2021) infectando peces de forma natural.

Los plerocercoides de la familia Diphyllbothriidae son clasificadas dentro del género paraguas *Sparganum* hasta que son identificadas en su forma adulta o mediante estudios moleculares. Esta clasificación es tal debido a que es en la fase *Sparganum* cuando estos cestodos presentan un riesgo para la salud humana. En este sentido, los resultados de este trabajo son importantes desde un punto de vista de prevención sanitaria en toda la región uruguaya de la cuenca hidrográfica Laguna dos Patos, donde se distribuyen las especies hospedadoras (Costa 2006) en donde fueron encontrados los plerocercoides.

El género *Sparganum* es particularmente relevante porque la especie *S. proliferum* es el causante de la sparganosis proliferativa, que en ocasiones puede ser mortal. Debido a los coloridos diseños de las *Austrolebias*, estos peces son muy buscados por acuaristas en sus ambientes naturales, los charcos temporales, al punto de que se consideran prioritarias para la conservación en Uruguay (Loureiro et al. 2013). Esto significa que los humanos podrían estar expuestos a los parásitos sobre todo mediante los microcrustáceos infectados por procercooides en el agua. La alta prevalencia y nivel de intensidad de los hospedadores examinados pone en evidencia el riesgo sanitario planteado a partir de este hallazgo.

La presencia de *Sparganum aff. proliferum* en *A. charrua*, *A. cheradophilus*, *A. luteoflammulatus*, *A. viarius*, *A. wolterstorfi* no es congruente con las expectativas generales propuestas por Holtz & Gilman (2013) y Kutcha et al. (2017), quienes concluyen que las formas larvales de *Sparganum* presentes en peces derivan en adultos del género *Diphyllbothrium* Cobbold, 1858. Representantes de este género, específicamente *D. tetrapterum* (von Siebold, 1848), fueron incluidos en el análisis filogenético y se constató que eran parafiléticos con los individuos hallados en

Austrolebias. Estos resultados demuestran la falta de conocimiento acerca de estos parásitos en ambientes silvestres, sobre todo en Sudamérica.

Las observaciones morfológicas indican que los especímenes pertenecen al género enigmático *Sparganum*, según los criterios de Noya et al. (1999), Scholz et al. (2019) y Arrabal et al. (2020). Esto es coherente con los resultados moleculares, aunque algunos aspectos son importantes de destacar. El soporte del nodo monofilético entre *Sparganum proliferum* (Venezuela) y los especímenes hallados en este trabajo fue de 67 para el método de máxima verosimilitud, y probabilidad posterior de 1 para el método de inferencia bayesiana (Fig. 14). Además, la distancia genética entre estos dos grupos presentó un valor de p (proporción de sitios nucleotídicos diferentes) de 0,08. Este valor suele ser muy elevado como para considerar conespecificidad. En un artículo similar, Arrabal et al. (2020) compararon especímenes identificados morfológicamente como *Sparganum sp.* de Argentina contra una base de datos del gen COX1 similar a la utilizada en este trabajo y con la misma metodología. Ellos obtuvieron un soporte de nodo de máxima verosimilitud de 67 para la monofilia entre *S. proliferum* (Venezuela) y sus secuencias, y una distancia genética de 0,04 (Arrabal et al. 2020). De acuerdo con lo propuesto por Almeida et al. (2016), Arrabal et al. (2020) concluyeron que esta distancia sería suficiente para identificar a los especímenes como parte de la especie *S. proliferum*. Esto es porque existen reportes de géneros dentro de la familia Diphyllbothriidae con variabilidad interespecífica de distancias genéticas de entre 0,06 a 0,14 (Okamoto et al. 2007; Almeida et al. 2016). Las distancias genéticas presentes entre *S. proliferum* (Venezuela) y los especímenes hallados en *Austrolebias* fueron de 0,08 (mayores a 0,07), lo cual cae dentro del rango de distancias genéticas interespecíficas mencionadas anteriormente. El resto de los grupos presentan distancias genéticas que caen fuera de dicho rango (Tab. 8). Es probable entonces que los individuos encontrados en *Austrolebias* correspondan a una especie distinta a las reportadas hasta el momento. Por estas razones es que se incluyen a los individuos dentro de la especie *S. aff. proliferum*, con la denominación *affinis*, hasta que haya más datos disponibles sobre estos parásitos en la ecorregión.

Recientemente, la sistemática de *Spirometra* spp. ha sido resuelta mediante un abordaje multidisciplinario que incluye morfología, ecología y sistemática molecular, y se concluye la existencia de tan solo 5 especies (Kutcha et al. 2021). En América solo estaría presente la especie *Spirometra decipiens*, compuesta por dos complejos, el complejo 1 en Sudamérica y el complejo 2 en Norteamérica. En este sentido, *Sparganum proliferum* (la misma secuencia que mostró mayor similitud con los parásitos hallados en *Austrolebias*) quedó incluida en el complejo 1 de *S. decipiens*, de modo que esa sería su nueva denominación taxonómica. Armua-Fernandez et al. (2021) encontraron larvas de *Spirometra* sp. en anfibios de Uruguay, al igual que adultos en ofidios del mismo país. Al realizar sistemática molecular, los ejemplares también pertenecieron a *S. decipiens* complejo 1. Es probable entonces que las larvas encontradas en *Austrolebias* también pertenezcan a *S. decipiens* complejo 1. Lamentablemente, la región del gen COI secuenciada para esta tesis no coincide con la utilizada en los estudios de Kutcha et al. (2021), de modo que no pueden hacerse comparaciones directas.

***Valipora* cf. *campylancristrota* (Wedl, 1855) Baer and Bona, 1958**

Este es el primer reporte del género *Valipora* y la especie *Valipora campylancristrota* en Uruguay.

Para Sudamérica, *V. campylancristrota* se ha reportado solamente en Brasil, en forma larval, parasitando una amplia gama de familias de peces (Scholz et al. 2004; Alves et al. 2017). Cabe destacar que existe un reporte reciente de *V. campylancristrota* para peces anuales, particularmente de la especie *Millerichthys robustus* (Miller & Hubbs, 1974) en México (Mosqueda-Cabrera et al. 2019). A su vez, este país es el único para el cual se ha reportado la forma adulta de estos parásitos, encontrados en la garza *Ardea alba* Linnaeus, 1758 (Ortega-Olivares et al. 2008).

Como se ha mencionado anteriormente, garzas del género *Ardea* (entre otras) se han reportado alimentándose de peces en charcos temporales del Uruguay (Liguori 2011), muy posiblemente incluyendo *Austrolebias* en sus dietas. Esto convertiría a estas aves

de gran porte en potenciales hospedadores definitivos de *V. cf. campylancristrota* en Uruguay.

Estas aves son migratorias (Liguori 2011), por lo que se hubiera esperado encontrar el parásito en cuestión en más hospedadores y charcos temporales, sobre todo en función de la gran eurixenicidad reportada para los mismos (Alves et al. 2017). No obstante, *V. cf. campylancristrota* solo fue encontrado parasitando una especie hospedadora, *A. gymnoventris*, en un solo charco temporal (Sarandí de las Casas). Esto podría indicar que por más que *A. alba* sea migratoria, la misma puede tener preferencia por alimentarse en charcos temporales de determinadas regiones, como ser aquellos que estén de paso en sus rutas de vuelo.

Solo uno de 3 peces anuales examinados en este trabajo estuvo infectados por *V. cf. campylancristrota*. En función de la distribución agregada de las metapoblaciones parasitarias (*sensu* Aguilar-Aguilar 2008), haber encontrado un hospedador infectado tras haber muestreado solamente 3, podría considerarse como un indicativo de que la prevalencia de infección es alta. Además, es importante recordar que la intensidad de infección también fue moderadamente alta (intensidad media de 12). Esto quizá sea producto de la acumulación de formas larvales en *Austrolebias* tras el paso del tiempo y el confinamiento, que se acentúa en los charcos temporales.

Cisticercoide Proteocephalidae La Rue, 1911 (*species inquerenda*)

Estas larvas se consideraron en conjunto. No obstante, en función de la alta diversidad hospedadora y el gran número de localidades en donde fue encontrado este parásito, es posible que corresponda a más de una especie con formas larvales crípticas.

La revisión de Rego et al. (1999) acerca de los cestodos presentes en teleósteos de agua dulce de Sudamérica presenta una clave de cestodos larvales la cual llega a una resolución de orden y en ocasiones hasta género. Aplicando esta clave a los especímenes hallados en *Austrolebias*, se llega a la conclusión de que los mismos

pertenecen al orden Proteocephalidea por estar enquistados en el mesenterio o superficie externa del intestino del hospedador, y presentar escólex con cuatro ventosas acetabulares.

Hasta la fecha, la clasificación más ampliamente utilizada dentro del orden Proteocephalidea es la del modelo de las familias Proteocephalidae y Monticelliidae, las cuales se han mantenido incluso luego de presentar cuestionamientos a raíz de revisiones moleculares (Zehnder & Mariaux, 1999; Scholz & de Chambrier, 2003; Chambrier et al. 2004; Hypsa et al. 2005). Estas familias se diferencian, entre otras cosas, en que los proteocefálicos presenta ventosas simples mientras que los monticélicos ventosas bilobuladas. Según las claves de parásitos de peces de agua dulce de Norteamérica (Hoffman 2011), la ausencia de metascolex es suficiente para clasificar a estos parásitos dentro del género *Proteocephalus* Weinland, 1858, el más rico en especies dentro de la familia. Un estudio de este género realizado por Scholz et al. (1997) menciona que en los metacestodes de estos organismos, los microtricos de la neodermis son prominentes. Los especímenes hallados en *Austrolebias* presentan esta característica. Todo esto sumado a detalles acerca de las larvas cisticercoides y ciclos de vida discutidos por Rego (1995), hace suponer que quizá los individuos encontrados pertenezcan al género *Proteocephalus*. De todas formas, no se considera prudente acotar tanto la clasificación sin mayor evidencia.

En cuanto a las medidas, la biometría de estos organismos en los distintos reportes es muy variable por no presentar estructuras duras que no se distiendan con la fijación (Rakke 1988). No obstante, desde el trabajo de Hunter (1929) sobre especímenes del género *Proteocephalus*, ya se conoce que, durante las últimas etapas de desarrollo larvario, los organismos pueden llegar a medir hasta 1,2 cm. Los especímenes hallados en *Austrolebias* entran perfectamente dentro de los rangos de tamaño reportados para individuos de la familia Proteocephalidae.

Diversos trabajos reportan que los metacestodes de proteocefálicos suelen encontrarse en grandes cantidades en peces de agua dulce los cuales sirven de hospedadores

paraténicos para que el parásito pueda alcanzar al hospedador definitivo (un pez piscívoro, un anfibio o un reptil) (Rego, 1995, Rego et al. 1999, Scholz, 1999). Este probablemente sea el caso de los proteocefálicos larvales encontrados en *Austrolebias*. No obstante, las intensidades medias de este parásito con respecto de las de los otros que componen la comunidad compuesta es baja (entre 1 y 7), aunque la prevalencia de infección alcanzó niveles altos (hasta 84%). Con base a estos datos y a que los hospedadores definitivos de parásitos proteocefálicos son peces piscívoros, podría asociarse la presencia de estos cisticercoides en *Austrolebias* con eventos de inundación.

Como fue mencionado, los eventos de derrame parasitario por inundaciones de los charcos temporales parecerían ser un mecanismo común en estos ambientes. Así mismo, el hallazgo de estos metacestodes se suma al de las metacercarias para soportar la idea de que las *Austrolebias* son hospedadores paraténicos de varios taxa parasitarios, y por ende cumplen un rol crucial en el mantenimiento de varios ciclos de vida parasitarios.

***Contracaecum* sp. Railliet & Henry, 1912**

Las larvas anisákidas encontradas en *Austrolebias bellottii* y *A. charrua* demostraron ser dos morfotipos distintos, denominados por Moravec (1998) como *Contracaecum* sp. tipo 2 y tipo 3. Larvas L3 y L4 de *Contracaecum* sp. han sido reportadas para un amplio número de peces sudamericanos, tanto de agua dulce como salada, que ofician como hospedadores intermediarios (Moravec 1998; Pinheiro et al. 2018; Ángeles-Hernández et al. 2020; Sardella et al. 2020). Los hospedadores definitivos son aves piscívoras o pinnípedos (Anderson 2000; Ángeles-Hernández et al. 2020; Garbin et al. 2011)

En peces anuales del Uruguay existen solamente dos antecedentes de reportes de nematodos parásitos. Uno es el de Pereira & Vaz (1993), quienes reportan la presencia de *Hedruris iheringi* Pereira and Vaz, 1933 en *A. bellottii* (prev. *Cynolebias bellottii*). El otro es de Delgado & García (2015), quienes encuentran larvas de *Contracaecum* sp. en

varias especies de *Austrolebias* y en *Cynopoecylus melanotaenia* (Regan, 1912). En dicho trabajo, las larvas correspondieron a dos especies identificadas molecularmente, aunque no se les asignó ningún epíteto específico (fueron nombradas *Contracaecum sp.* 1 y 2; Delgado & García 2015). Las autoras estudiaron la coevolución de estas dos especies de *Contracaecum* con sus hospedadores *Austrolebias*, dado que las larvas estuvieron presentes en dos nichos distintos dentro de los peces: el celoma y el hígado. Por más que el antecedente no ofrece una caracterización morfológica detallada de los especímenes, a través de las imágenes de su trabajo es posible determinar que la especie que reportan para el celoma probablemente corresponda a *Contracaecum sp.* tipo 2 en función de su tamaño (Moravec 1998). Por el contrario, las larvas que Delgado & García (2015) reportan en el hígado son muy pequeñas como para corresponder a cualquiera de los morfotipos de *Contracaecum sp.* encontradas en este trabajo.

Delgado & García (2015) reportan altos números de abundancia y prevalencia para los hospedadores y las localidades muestreadas, mientras que, en este trabajo, tanto la prevalencia como la intensidad de infección y abundancia fueron bajas. De hecho, en este trabajo se muestreó el charco temporal de La Coronilla, una de las localidades donde Delgado & García (2015) reportan haber encontrado gran número de nematodos. De hecho, en dicha localidad no se encontró ningún individuo de *Contracaecum sp.* parasitando los peces anuales analizados. Esto quizá se deba a algún evento puntual ocurrido en el marco de los muestreos correspondientes al trabajo de Delgado & García (2015). Es sabido que en los ciclos de vida de *Contracaecum sp.*, invertebrados pequeños como copépodos, isópodos o poliquetos son capaces de actuar como primeros hospedadores intermediarios, albergando la larva L3 (Moravec 1998). Estos invertebrados podrían haber sido infectados en sus ambientes naturales y luego derivar hacia los charcos temporales como consecuencia de inundaciones y desbordes de cursos de agua permanente. Alternativamente, la propia llegada de hospedadores definitivos a los charcos temporales, como ser aves piscívoras (Moravec 1998), podría dar inicio al ciclo de vida de *Contracaecum sp.* En conclusión, mediante cualquiera de los mecanismos mencionados, los nemátodos parásitos pudieron haberse establecido en los charcos temporales hasta el final del hidroperíodo durante los muestreos de Delgado

& García (2015) de modo de generar las grandes prevalencias y abundancias reportadas. Sin embargo, ninguno de estos escenarios hipotéticos parecería haberse repetido durante los muestreos de esta tesis, donde la presencia de *Contracaecum sp.* en *Austrolebias* aparenta ser accidental.

Nematodo L3 (*species inquerenda*)

Estas larvas de nematodos L3 (en función del desarrollo de la faringe y el nulo desarrollo de estructuras sexuales) no pudieron ser identificadas. Se encontraron en una distribución y un rango de hospedador similar al de las larvas de *Conctracaecum sp.*, con la diferencia que estas estaban en el hígado de sus hospedadores, y en ocasiones en el corazón. Esto es congruente con lo encontrado por Delgado & García (2015) en *Austrolebias* del suroeste del país, misma región del Uruguay de donde se recabaron las larvas L3 de esta tesis. Entonces, es probable que estas últimas correspondan al mismo grupo que las identificadas molecularmente por Delgado & García (2015). Las autoras de dicho trabajo nombran a las larvas como *Contracaecum sp.* en base a sistemática molecular. No obstante, ciertos caracteres de los individuos hallados en esta tesis, como la ausencia de ciego intestinal y apéndice ventricular hacen dudar de que estos nemátodos correspondan a dicho género.

4.2 Estudio espacial

Año de muestreo 2018

Los datos recabados durante el año 2018 permitieron observar un patrón a lo largo del tiempo en cuanto al tamaño de los hospedadores, la prevalencia y la abundancia parasitaria. Las diferencias de tamaño corporal encontradas entre los peces colectados en junio y julio, con respecto a aquellos colectados durante agosto y septiembre, no presentaron relación estadística con la abundancia parasitaria, pero hubo un marcado aumento del número de parásitos a medida que avanzó el hidropériodo. Esto se corresponde con lo descrito para la parasitosis en peces anuales africanos, confirmando una dinámica ecológica similar a latitudes similares (Nezhybová et al. 2017). En función de esto, el año 2018 fue tomado como una experiencia piloto que permitió planificar los muestreos del año 2019, enfocando los mismos sobre el último tramo del hidropériodo. A su vez, dicha planificación acompañó el compromiso ético de conservar de la biodiversidad, el cual implica perturbar lo menos posible a las comunidades naturales, en este caso, realizando los muestreos sobre el final del hidropériodo de modo de maximizar la probabilidad de que las *Austrolebias* hayan tenido al menos un evento reproductivo.

El análisis cuantitativo de lo hallado durante el año 2018 permite concluir que el número de parásitos presenta una relación positiva con el transcurso del tiempo, similar a lo conocido para la contraparte ecológica africana de los Rivulidae, los Nothobranchiidae (Nezhybová et al. 2017). Los parásitos se acumulan con el tiempo al ir completando sus ciclos de vida hasta llegar a las *Austrolebias* adultas. Aquellos parásitos que utilizan a las *Austrolebias* como hospedadores intermediarios se deberían acumular más rápidamente y existir en mayor abundancia que aquellos que utilizan a las *Austrolebias* como hospedador definitivo. En el caso de los digeneos, la subclase de parásitos más representativo en las *Austrolebias* (cuali- y cuantitativamente), requieren un primer hospedador intermediario molusco en el cual se reproducen asexualmente para liberar cientos de cercarias las cuales, mediante distintas estrategias (Goater et al. 2014), logran

infectar al segundo hospedador intermediario, en este caso las *Austrolebias*. Los eucestodos encontrados en *Austrolebias* (que fueron la subclase de parásitos que sigue a los digeneos en representatividad), no presentan fases de reproducción asexual como la de los digeneos, no obstante, la infección del segundo hospedador intermediario casi siempre suele ser pasiva, por transmisión trófica. En ambos casos, el transcurso del tiempo incide en el aumento de las infrapoblaciones, en tanto que aumenta la probabilidad de que se den eventos de infección.

Otro fenómeno observado a partir de los muestreos del año 2018, fue que la prevalencia de infección descendió con el paso del tiempo, de modo que, aunque el número de parásitos aumentó, el número de hospedadores infectados disminuyó. En el año 2018, el número de hospedadores totales muestreados fue similar al comienzo y al final de los muestreos, y es posible que este descenso en la prevalencia de infección sea una consecuencia de que la mortalidad de las *Austrolebias* comience por aquellos hospedadores que albergan las mayores infrapoblaciones parasitarias. Esto tiene sentido ya que los parásitos suelen generar efectos negativos sobre sus hospedadores (Poulin & Morand 2000). Si tal fuera el caso, y los peces infectados fallecen antes que los no infectados, es esperable que la prevalencia de infección disminuya a medida que el hidroperíodo llega a su final.

Año de muestreo 2019

En el año 2019, donde los muestreos fueron sobre el final del hidroperíodo, se observó el mismo patrón que durante el año 2018, pero solamente con relación a los machos. Esto también es coherente con la biología de las *Austrolebias*. Debido a los grandes despliegues fenotípicos y comportamentales referidos al cortejo y la competencia sexual (Berois et al. 2015), los machos invierten más energía que las hembras (quienes reservan sus esfuerzos para la generación y puesta de huevos), y sobre el final del hidroperíodo mueren primero (Lanés et al. 2014; Berois et al. 2015). De este modo, la disminución de la prevalencia parasitaria en machos entre los meses de agosto y octubre

(y su aumento en las hembras), puede estar vinculada a esta inversión en las proporciones sexuales de las poblaciones de *Austrolebias* sobre el final de hidroperíodo.

No obstante, a diferencia de los datos del año 2018, los muestreos durante el final del hidroperíodo del año 2019 permitieron dilucidar una relación entre el tamaño de los hospedadores y la abundancia parasitaria. Al vincular esto con el hecho de que los muestreos fueron más representativos (visto a través de las curvas de rarefacción), es posible suponer que en el año 2018 la sub-representatividad de las poblaciones muestreadas es lo que no permitió determinar dicha relación mediante los test estadísticos. Esta relación entre el largo estándar y la abundancia parasitaria de los hospedadores muestreados durante el año 2019, existió por más que no hubo diferencias significativas del largo estándar de los peces al comprar entre los meses de muestreo. Esto deja establecido que las diferencias de tamaño propias de las distintas especies de *Austrolebias* muestreadas durante el año 2019 son suficientes para dilucidar diferencias en el tamaño de las infrapoblaciones parasitarias. Cabe destacar que en este estudio se muestrearon especies que naturalmente presentan un mayor tamaño promedio dentro de los peces anuales: las pertenecientes al subgénero *Megalebias* (*Austrolebias prognathus*, *A. wolterstorffii* y *A. cheradophilus*). Consecuentemente, estos hospedadores tuvieron largos corporales estándar superiores al resto de las *Austrolebias* muestreadas. En base a lo discutido anteriormente, se hubiera esperado que las especies del subgénero *Megalebias* albergaran el mayor número de parásitos, pero esto no fue así en todos los casos. El motivo de esta incongruencia no es claro. Quizá radique en un artefacto del muestreo, ya que fueron relativamente pocos los individuos del subgénero *Megalebias* muestreados, y la distribución agregada de los parásitos podría haber resultado en un submuestreo de los parásitos de estas especies de *Austrolebias* de gran tamaño.

De todas formas, considerando el conjunto de los datos, tanto el tiempo de acumulación exógena de parásitos como el tamaño de los hospedadores juegan un rol importante en la conformación de las infrapoblaciones parasitarias en los peces anuales.

Existen reportes sobre la relación positiva entre el tamaño de los hospedadores y el tamaño de la infracomunidad de parásitos que albergan (número de especies de parásitos) (Poulin 2000; 2007; 2013; Amundsen et al. 2003). La explicación suele ser que con el paso del tiempo no solo aumenta el tamaño, sino que también aumenta la probabilidad de encuentro con formas infectivas de varias especies parásitas, ya sea mediante eventos de contacto directo (infección activa) o por transmisión trófica (infección pasiva) (Poulin 2000; 2013). A su vez, mayor tamaño implica más espacio físico para contener infracomunidades más grandes sin que la salud del hospedador se vea comprometida (Poulin 2000; 2013) ni que existan mecanismos denso-dependientes de competencia (Poulin 2007). Esta relación entre tamaño del hospedador y tamaño de las infrapoblaciones e infracomunidades parasitarias está particularmente observada en segundos hospedadores intermediarios de trematodos (Poulin 2007), como han demostrado serlo varias especies de *Austrolebias* en este estudio. Sin embargo, en esta tesis, el largo estándar de las *Austrolebias* estudiadas no mostró diferencias significativas en función del tamaño de las infracomunidades que albergaban. Debido al amplio reporte que existe sobre este fenómeno, es plausible que este resultado anómalo sea un artefacto del diseño de muestreo, ya que muy probablemente, parte de la fauna parasitaria presente en *Austrolebias* no haya sido muestreada en función de la mortalidad natural sobre el final del hidroperíodo.

Las curvas de rarefacción (Mao Tau) mostraron que, en función de los datos parasitarios recabados, varias de las poblaciones y comunidades de *Austrolebias* muestreadas en distintos charcos temporales estuvieron bien representadas. Dentro de las excepciones que no mostraron tendencia asintótica, La Coronilla llama la atención por desplegar un comportamiento extraño en la extrapolación del modelo. Curvas de rarefacción que alcanzan valores asintóticos y luego continúan creciendo suelen presentar gran heterogeneidad en la composición de especies, además de alta influencia por parte de especies raras (Dove & Cribb 2006). Si bien los datos de La Coronilla no parecen indicar la presencia de ninguna de las especies consideradas raras en este trabajo (ver Fig. 30), es posible que la alta dominancia de ciertos parásitos en contraste con otros menos

frecuentes haya generado una mala interpretación por parte del algoritmo del programa EstimateS a la hora de extrapolar esta curva en particular.

Escala espacial Uruguay

El análisis entre la frecuencia de ocurrencia y la abundancia parasitaria resultó ser el más informativo para inferir patrones a partir de la rareza de los taxa parásitos per se. Los tres grupos de taxa parasitarios que se observan en dicha relación corresponden, el primero a taxa locales y raros, el segundo a taxa locales y comunes, y el tercero a taxa ampliamente distribuidos y abundantes (Digby & Kempton 1987). Algunos de estos grupos acompañaron lo esperado en función de la escasa ocurrencia de los taxa parásitos adultos, como *Catadiscus uruguayensis*, *Ophiodiplostomum spectabile*, *Chambriella sp.* y *Gyrodactylus sp.* Estos organismos adultos, junto con los taxa larvales *Valipora cf. campylancristota*, *Posthodiplostomum sp. 2* y *Contraecum sp.* (que engloba ambos morfotipos hallados), componen el primer grupo (taxa locales y raros) (Digby & Kempton 1987), y son los que probablemente correspondan a eventos de derrame parasitario (“spillover”) por inundaciones y/o infecciones accidentales.

El segundo grupo implica taxa que se han encontrado en gran abundancia, pero en pocos charcos. Este grupo se compone principalmente por larvas, y la única excepción es *Phyllodistomum pampae* n. comb. Es posible que estas infrapoblaciones parasitarias se hayan establecido en sus poblaciones de hospedadores. Al menos dos de los charcos temporales en donde este parásito fue encontrado (R9V y LC) están sujetos a impacto antropogénico y de ganadería. Es común que, en un escenario como este, los charcos pierdan su capacidad de desecarse completamente, generando mezcla de cohortes y permitiendo la supervivencia de *Austrolebias* durante períodos más extendidos en el tiempo (García 2019). Alternativamente, es posible que las formas larvales de *P. pampae* n. comb. sobrevivan en el molusco (primer hospedador intermediario), quienes podrían tener formas de resistir la desecación (Monteiro et al. 2018).

El tercer grupo corresponde a los tres taxa larvarios más abundantes y distribuidos en las distintas poblaciones de *Austrolebias* muestreadas. Similar al segundo grupo, seguramente estos parásitos estén establecidos en la *Austrolebias*, utilizándolas como hospedadores intermediarios en sus ciclos de vida. Posiblemente, los hospedadores definitivos de estos parásitos se encuentren en íntima sincronía con los ciclos anuales de los charcos temporales. No obstante, se requiere un seguimiento de la dinámica hospedador-parásito a mayor escala temporal para poner a prueba esta hipótesis.

Al realizar el gráfico considerando la frecuencia de ocurrencia como el número de charcos temporales en donde se encontró un determinado parásito, se observa que estos últimos siguen un patrón muy similar a cuando la frecuencia de ocurrencia es considerada como el número de hospedadores infectados. La única diferencia importante más allá de los cambios de posición relativa de los elementos dentro de los grupos, fue *Sparganum aff. proliferum*, el cual tuvo un corrimiento hacia la derecha, denotando que se encontró en un número moderado de hospedadores, pero dispersos en un gran número de charcos temporales. Más allá de esto, en general parecería existir una correspondencia entre el número de hospedadores que infectan los parásitos y el número de charcos en donde ocurren los mismos. Por más que esta correspondencia no es explorada con mayor profundidad en esta tesis, es posible decir que dicha correspondencia no depende de la especie de hospedador, ya que las comunidades de *Austrolebias* fueron específicas de cada charco.

Escala espacial Cuencas hidrográficas del Uruguay

En función de que el gradiente de especies del género de *Austrolebias* es hidro-dependiente y que los charcos temporales son naturalmente aislados (Berois et al. 2015), se esperaba que existieran diferencias entre las comunidades compuestas de parásitos de las cuencas, principalmente las del Río Uruguay y Patos-Merín.

La ausencia de dichas diferencias puede deberse a distintos factores. Por un lado, puede que exista un efecto del número de muestra. El gran desbalance de sitios de muestreo

en las distintas cuencas hidrográficas podría haber tenido influencia en que no se percibieran diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Es interesante que, por más que la cuenca hidrográfica Patos-Merín sea la más representada en tanto a número de charcos temporales muestreados y número de hospedadores totales examinados, la cuenca hidrográfica con mayor abundancia parasitaria total fue la de Río Negro. Lo mismo sucede con las prevalencias. No obstante, el número de hospedadores infectados muestra ser mayor en Patos-Merín. Esto indican la importancia de considerar la proporción de hospedadores pertenecientes a los distintos grupos considerados, a la hora de interpretar los datos.

Por otro lado, el hecho de que la mayoría de los parásitos hallados en *Austrolebias* correspondieran a formas larvales, y que los hospedadores definitivos de muchos de ellos muy probablemente sean aves, implica que quizá las barreras geográficas entre los charcos temporales no sean suficientes como para generar un patrón espacial a gran escala. Las formas adultas de los parásitos alojados en el tracto digestivo de las aves generan huevos que son liberados con las heces de dichos animales, los cuales, a su vez, muchas de las aves que se reportaron consumiendo *Austrolebias* en charcos temporales de la cuenca Patos-Merín son migradoras (Ligouri 2011). De esta forma, todos los charcos temporales en donde las aves hospedadoras se alimentaron a lo largo de sus rutas migratorias podrían haber sido infectados.

El clima y las condiciones ambientales influyen tanto sobre los hospedadores como sobre los propios parásitos, de modo que los factores abióticos de un ecosistema podrían ser los que más incidencia tienen sobre la conformación de los componentes de comunidad y la comunidad compuesta de parásitos, incluso más que el ensamble de hospedadores (Berkhout et al. 2020). En este estudio, no se tomaron en cuenta las variables ambientales. No obstante, en términos generales, Uruguay presenta una variabilidad climática moderada a lo largo de todo el territorio, sobre todo entre meses de una misma estación, como fue el caso en los muestreos del año 2019 (Barreiro et al. 2019). Esto se corresponde con los mapas de temperatura promedio recabados de las bases de datos de INUMET (Fig. 35). Si se comparan dichos mapas con los de los sitios de muestreo

del año 2019 (Fig. 1), se observa que la temperatura promedio entre septiembre y octubre varió de 13-15°C a 16-18°C, respectivamente, lo cual probablemente implique variaciones en la temperatura del agua de los charcos temporales. De todas formas, esta fluctuación es inferior a los rangos de temperatura que soportan los peces anuales del género *Austrolebias* en Sudamérica (Podrabsky et al. 2015). Debido a que no se tienen los datos de temperatura de los charcos temporales muestreados, y que tampoco se realizaron muestreos seriados en los charcos temporales a lo largo del hidroperíodo, no se puede hacer ninguna inferencia acerca de la variación de temperatura como para suponer cuánto pudo haber incidido la variación de la misma en la conformación de los componentes de comunidad parasitaria de las poblaciones de *Austrolebias*. No obstante, en función de la reportada repercusión que tiene la temperatura ambiental en las formas larvales de digeneos y cestodos (Achiorno & Martorelli 2016; Altman et al. 2016; Berkhout et al. 2020), es esperable que la misma haya incidido en la sucesión ecológica de las infracomunidades parasitarias, y en la conformación, a lo largo de todo el hidroperíodo, de los componentes de comunidad observados en los muestreos del año 2019. Aun así, la dominancia de algunos pocos taxa parasitarios larvales y la alta motilidad de los hospedadores definitivos reportados para los parásitos larvales encontrados en *Austrolebias* (aves, reptiles, y mamíferos), hace que sea esperable que no existan patrones espaciales detectables mediante métodos generales como los utilizados a esta escala de análisis.

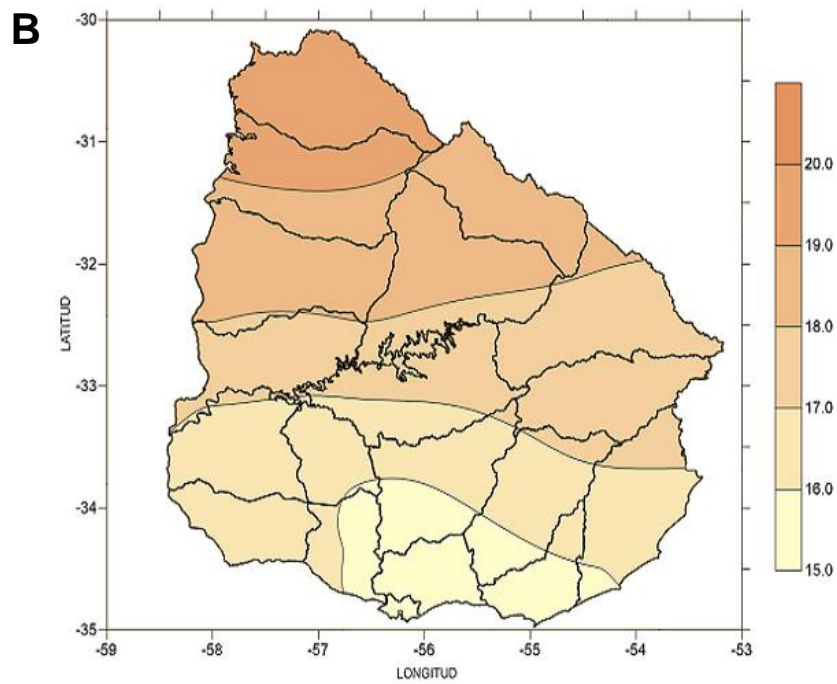
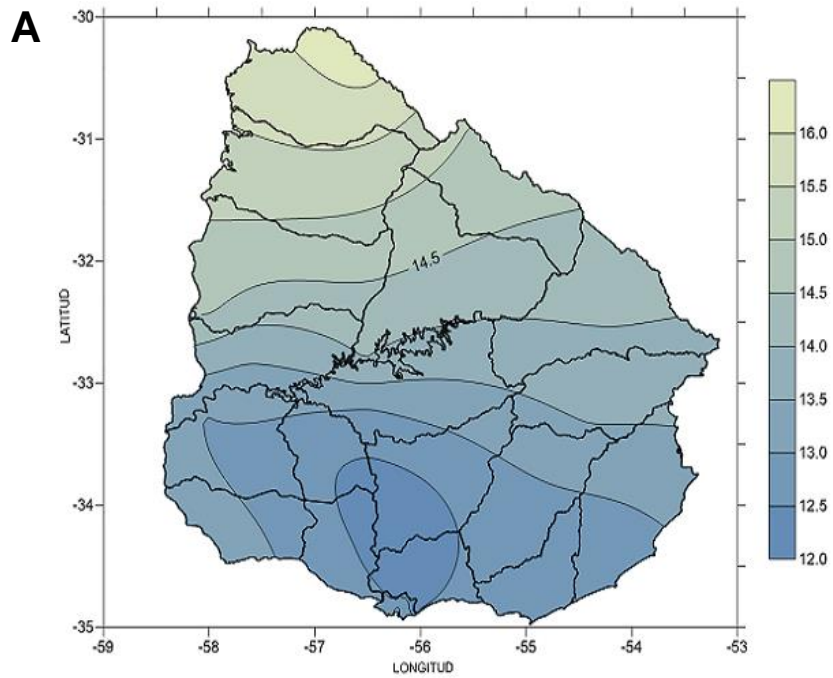


Figura 35. Mapas de isoclinas de temperatura promedio ($^{\circ}\text{C}$) durante los meses de septiembre (A) y octubre (B), correspondientes al año 2019. Obtenidos de INUMET (<https://www.inumet.gub.uy/clima>).

Escala espacial charco temporal

Los charcos temporales analizados pueden ser interpretados como el conjunto de factores abióticos actuando sobre cada población de hospedadores y sus infracomunidades. En conjunto, las infracomunidades parasitarias contenidas en cada charco temporal conforman los componentes de comunidad, o las comunidades compuestas (en función de si los charcos presentaron una o más de una especie de hospedador, respectivamente). Este enfoque es interesante ya que las *Austrolebias* de tamaños intermedios (como las especies muestreadas en esta tesis) presentan estrategias tróficas generalistas, de modo que no hay diferencias significativas en sus dietas (Laufer et al. 2009; Keppeler et al. 2014; Berois et al. 2015). Esto significa que no se espera que las infracomunidades de cada hospedador, y por ende los componentes de comunidad de cada población hospedadora, varíen dentro de un mismo charco, ya que la incorporación de muchos de los taxa parasitarios hallados es mediante transmisión trófica. A su vez, aquellos parásitos que utilizan estrategias de infección activa (como ser diversas cercarias de digeneos), tampoco suelen ser especie-específicos (Poulin 2007; Goater et al. 2014).

El hecho de que los soportes de la mayoría de los nodos en los análisis de dendograma fueran relativamente bajos (aunque hay que recordar que los valores de nodo son porcentajes de un total de 9999 permutaciones), podría explicarse por al menos dos razones, no necesariamente excluyentes. Por un lado, en función de que los taxa parasitarios que mostraron mayor contribución a la formación del dendograma fueron los estadíos larvales con menor resolución taxonómica (*Opisthogonimus* sp., Opisthorchiidae y Cisticercoides), es posible que exista más de una especie incluida en dichos taxa (no reconocibles por morfología), y que por ende realmente exista una mayor segregación espacial que la observada. Por otro lado, el efecto de aves migratorias y como posibles hospedadores definitivos podría homogenizar la distribución de parásitos larvales en el espacio debido a las grandes distancias que recorren en sus rutas (Nezhybová et al. 2017). No obstante, esto último no sería cierto para dos de los taxa

que presentaron mayor contribución al dendograma (*Opisthogonimus* sp., Opisthorchiidae), ya que utilizan principalmente reptiles como hospedador definitivo.

En función de que la variación de temperatura fue moderada en los muestreos realizados durante el año 2019 (Barreiro et al. 2019), y que los mismos fueron temporalmente próximos y durante la misma estación, sería de esperar que las similitudes o diferencias entre los componentes de comunidad de las *Austrolebias* en los charcos temporales estén predichas, al menos en parte, por la distancia entre ellos. En este sentido, existen reportes del decaimiento de la similitud entre componentes de comunidad parasitaria de distintos sitios en función del incremento de la distancia entre ellos (Poulin & Monrad 1999 y Poulin 2003). Este fenómeno ocurrió principalmente para los charcos temporales de la cuenca Patos-Merín y el charco temporal de la cuenca Atlántica (Ruta 9 vieja; R9V). Según los grupos formados al 40% de similitud en el dendograma correspondiente, charcos cercanos entre sí, como India Muerta (IM) y Paso Ancho (PA), Retamosa (RET) y Pirarajá (PIR), y Ruta 9 vieja (R9V) y Ruta 16/13 (R1613), albergan hospedadores con parásitos similares.

Contrario a lo esperado, el análisis de grupos también asoció charcos muy distantes entre sí, como ser Ruta 9 km 272 (R9272) – Arroyo Grande (AG) (~340 km de distancia), y AG – Fraile Muerto (FM) (~245 km de distancia). Existen reportes de desvíos de lo esperado en tanto al decaimiento de la similitud con el aumento de la distancia entre charcos (Poulin 2003; Fellis & Esch 2005). Las explicaciones para este fenómeno por parte de los distintos autores convergen en que existe una multifactoriedad en la determinación de la estructura espacial de la parasitofauna. Es decir que, en esos casos donde la distancia no parece determinar la similitud entre charcos, existen otros determinantes naturales que juegan un papel más fuerte en la estructuración de las comunidades compuestas. Estos pueden ser la naturaleza alogénica de los parásitos (Fellis & Esch 2005), saturación del componente de comunidad parasitario en los hospedadores de los distintos charcos, homogeneidad de hábitat, convergencia en el componente de comunidad parasitario por causa de efectos locales, y/o efectos estocásticos (Poulin 2003). Los muestreos realizados en este trabajo no permiten

profundizar en estas cuestiones. Sin embargo, es cierto que los parásitos presentes en las distintas especies de *Austrolebias* muestreadas son parásitos alógenos, porque utilizan más de un ambiente (acuático y terrestre, en este caso) para completar sus ciclos vitales (Fellis & Esch 2005; Goater et al. 2014).

Como se mencionó, Fellis & Esch (2005) encuentran que existe una marcada tendencia negativa entre la distancia y la riqueza específica compartida para los parásitos alogénicos, particularmente aquellos que utilizan peces como hospedadores intermediarios y aves como hospedadores definitivos. En primera instancia esto es contradictorio con los resultados de este trabajo, que van más acordes a lo reportado por Karvonen & Valtonen (2004), donde la relación es positiva. No obstante, aunque no de forma explícita, Fellis & Esch (2005) incluyen la variable tiempo en su explicación del fenómeno que observan. Los autores discuten que el decaimiento de la similitud a medida que avanza la distancia entre sitios estudiados, seguramente se deba a que la dispersión de las aves lleva a que lugares próximos tengan mayor probabilidad de ser colonizados primero. En el contexto de charcos temporales y aves migratorias que se alimentan de los peces anuales presentes en mismos, si se prolonga el proceso mencionado por Fellis & Esch (2005) en el tiempo, las aves irían llegando a charcos cada vez más lejanos. Entonces, no es impensable que sobre el final del hidroperíodo, el componente de comunidad presente en *Austrolebias* de ciertos charcos temporales, aunque distantes, sean similares. En el caso de los hospedadores reptiles, que presentan menor capacidad migratoria (Carreira et al. 2012), otros efectos de los mencionados anteriormente podrían estar en juego.

A su vez, existe un corredor biológico a lo largo del Río Negro (Gutierrez et al. 2012) que posiblemente conecte la fauna de Esteros de Farrapos (EdF), AG (que además están próximos espacialmente) y FM, particularmente los potenciales hospedadores definitivos de los parásitos compartidos entre los tres charcos. Luego, entre FM y los charcos cuenca hidrográfica Patos-Merín no existe una distancia tal que impida imaginar posibles escenarios de contacto entre ellos, más si se considera que la mayoría de los taxa parasitarios que estos charcos comparten utilizan aves como hospedador definitivo. Los

charcos temporales FM y La Coronilla (LC) son los únicos que permanecen sin explicación de por qué son similares. Es probable que esta similitud entre FM y LC sea un artefacto del muestreo, o de efectos puntuales producto del momento en el que se obtuvieron las muestras. Como ya fue discutido anteriormente, los muestreos del año 2019 se llevaron a cabo a fines del hidroperíodo, donde existe alta mortandad de machos que quizá albergaban otros parásitos que no pudieron tomarse en cuenta en este estudio. En este sentido, cabe recordar que la mayoría de los charcos temporales que conforman el grupo 1 (excepto R9272), son los charcos que figuran como submuestreados en las curvas de rarefacción.

Adicionalmente, los patrones espaciales entre sitios, aún más aislados y en niveles tróficos similares, pueden verse afectados por eventos locales de extinción (Poulin 2003; Karvonen & Valtonen 2004). Por más que el estudio de esta tesis carezca de una perspectiva temporal (el muestreo corresponde a una fotografía de un determinado momento), los charcos temporales se caracterizan por sus eventos anuales de renovación poblacional (extinción de adultos, repoblación de juveniles) (Berois et al. 2015), que, desde el punto de vista parasitario, podrían ser comparables a eventos puntuales de extinción. Es lógico que la mortandad anual natural de las *Austrolebias* también genere ciclos anuales de reinicio de los componentes de comunidad parasitarios de cada charco temporal. Siguiendo este razonamiento, es probable que existan extinciones locales de ciertas infrapoblaciones parasitarias si, por algún efecto climático o disturbio antrópico puntual, los hospedadores definitivos no pudieran volver a tener acceso a los charcos temporales.

En conclusión, los patrones de similitud de componentes de comunidad parasitaria a una escala espacial de charco temporal podrían deberse a diversos factores, tanto bióticos (referidos principalmente a la dinámica ecológica de los hospedadores) como abióticos (distancia, características ambientales y efectos climáticos), moldeados por dinámicas anuales como ser la migración de hospedadores, los eventos de derrame por inundación, anomalías climáticas como sequías, y/o disturbios antrópicos.

Escala espacial Charco temporal y hospedadores

Tal como lo recomienda Berkhout et al. (2020), al estudiar patrones espaciales de componentes de comunidad parasitario, es necesario evaluar la incidencia que podría llegar a tener la comunidad de hospedadores. Los resultados de esta tesis parecerían coincidir con la conclusión de estos autores, quienes, como se discutió anteriormente, sostienen que las características ambientales tienen un efecto mayor que el de los hospedadores sobre la estructura del componente de comunidad parasitario (Berkhout et al. 2020). Esto se aprecia en tanto que al incluir a los hospedadores como factor en los métodos multivariados de clasificación y ordenación, la topología y el nivel de similitud son comparables a los obtenidos cuando solo se tomaron en cuenta los charcos temporales.

La única diferencia fue la separación del hospedador *A. prognathus* del charco temporal Retamosa. Este hospedador es piscívoro y uno de los depredadores tope en los ambientes anuales, además de presentar las mayores diferencias morfológicas respecto al resto de las especies *Austrolebias* muestreadas (Costa 2009; Loureiro et al. 2015). A su vez, fue la única especie hospedadora en donde se halló el parásito adulto *Catadiscus uruguayensis*, razón por la cual el método multivariado lo colocó en un grupo aparte. Debido a su posición trófica, se esperaba encontrar mayor diversidad taxonómica parasitaria en este hospedador. Sin embargo, los parásitos encontrados en Retamosa no correspondieron a organismos cuyos hospedadores definitivos fueran peces, de modo que cualquier ingesta de estos parásitos por parte de *A. prognathus* llevaría a una depredación concomitante (digestión del hospedador y del parásito) (Johnson et al. 2010; Thieltges et al. 2013). Cabe mencionar que sobre el final del hidroperíodo, los depredadores tope son escasos. De hecho, fueron solamente 3 los peces de *A. prognathus* que pudieron ser analizados.

Otra razón por la cual puede existir similitud en los componentes de comunidad parasitarios de los charcos temporales y las distintas especies de *Austrolebias* que los habitan, es el poco tiempo geológico de existencia de estos ambientes (Poulin 2003;

Fellis & Esch 2005; Karvonen & Valtonen 2009). Esto es porque ambientes jóvenes implican colonizaciones recientes y, por ende, poco tiempo evolutivo para la especiación de parásitos en las distintas subpoblaciones hospedadoras en formación. En este sentido, se estima que los charcos temporales en Uruguay se formaron por intrusiones marinas en el Mioceno, (Costa 2010), y luego, durante este mismo período geológico, surgieron las primeras especies de *Austrolebias* uruguayas (Costa et al. 2017). Posteriormente, hubo una serie de eventos de especiación hasta el Pleistoceno tardío (García 2006; García et al. 2014). Además, debido a que los peces anuales actúan ampliamente como segundos hospedadores intermediarios, la existencia de parásitos en los charcos temporales y sus *Austrolebias* debió estar precedida por la llegada de los hospedadores definitivos. Entonces, no solo los charcos temporales y las especies actuales de *Austrolebias* son relativamente nuevos en tiempos geológicos y evolutivos, sino que muy probablemente también lo sean sus parásitos. Este es otro posible factor incidiendo en el patrón espacial observado del componente de comunidad parasitario, pero se requiere una investigación ecológica que incluya un componente temporal y filogeográfico para poder ir más allá de lo especulativo.

CONCLUSIONES

Las *Austrolebias* cumplen un rol central en el ciclo de vida de diversos parásitos como segundos hospedadores intermediarios. También juegan un papel en posibles eventos de derrame parasitario ('spillover') como hospedadores accidentales. Más allá de las novedades producto de esta tesis, queda claro que se requieren estudios más exhaustivos, espaciales y temporales, para conocer a fondo la parasitofauna (*sensu* Poulin & Morand 2000) presente en los peces anuales del Uruguay, y sus dinámicas ecológicas.

En lo que a posibles hospedadores definitivos refiere, las aves acuáticas (garzas) y los ofidios son los principales candidatos en función de las formas larvales presentes en *Austrolebias*, seguidas mamíferos y peces. Animales domésticos como perros y gatos también podrían estar jugando un rol en los ciclos de vida, eventualmente exponiendo a los humanos a posibles enfermedades zoonóticas. En función de la gran cantidad de parásitos que se comparten entre *Austrolebias* y anfibios, puede suponerse que ambos representan nichos ecológicos parasitarios superponibles, y que por lo tanto seguramente ocupen posiciones similares en las redes tróficas.

En base a los resultados, la estructura infracomunitaria parecería estar más influenciada por el tamaño de los hospedadores que por el tiempo de acumulación exógena, aunque no son excluyentes. A nivel de componente de comunidad parasitario, su estructura parecería estar mayormente determinada por las condiciones ambientales y características locales de cada charco, que por el ensamble de hospedadores.

En función de la gran importancia que tienen los parásitos para las redes ecológicas (Lafferty et al. 2006), es necesario avanzar en la determinación de los ciclos de vida de los parásitos para conocer las formas adultas de las larvas presentes en *Austrolebias* y todos los hospedadores involucrados, ayudándose de técnicas moleculares como el código de barra y la sistemática molecular. De este modo, podrán surgir mejores estrategias integrativas de manejo y conservación para las especies amenazadas asociadas a charcos temporales y ambientes circundantes del Uruguay.

PERSPECTIVAS

En función de los inconvenientes sucedidos durante los muestreos del año 2018, ciertas preguntas con perspectiva temporal no pudieron ser consideradas, ya que no existió un diseño de muestreos tal que permitiera explorarlas. En este sentido, sería interesante muestrear de forma seriada un mismo charco temporal (o un conjunto de charcos temporales, pero no un número tan ambicioso como en esta tesis), haciendo un seguimiento de la parasitosis en los peces anuales del mismo a lo largo de todo el hidroperíodo. De esta forma, podría evaluarse la sucesión ecológica de parásitos en dichos ambientes, teniendo en cuenta no solo las *Austrolebias* sino también otros potenciales hospedadores que formen parte de los ciclos biológicos.

Sería importante identificar todos los parásitos hallados hasta el nivel de especie, para dar mejor resolución a los estudios espaciales que utilizan las bases de datos taxonómicas como insumo. Para ello, y sobre todo en los organismos larvales, deben completarse los estudios de sistemática molecular y de microscopía electrónica, siendo imprescindible obtener más muestras.

Resultaría interesante realizar un estudio más profundo de comparación y contraste entre las *Austrolebias* de distintos gremios tróficos en los charcos temporales, con el fin de evaluar mejor qué factores están influyendo en la fauna parasitaria presente en los peces anuales de este género.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdi, H., & Molin, P. (2007). Lilliefors/Van Soest's test of normality. *Encyclopedia of measurement and statistics*, 540-544.
- Achiorno, C. L., & Martorelli, S. R. (2016). Effect of temperature changes on the cercarial-shedding rate of two trematodes. *Iheringia. Série Zoologia*, 106(00), e2016020.
- Aguilar-Aguilar, R. (2008). Gusanos parásitos de fauna silvestre: algunas formas de estudio. *Elementos*, 72, 55-61.
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification, *IEEE T. Automat. Contr.*, 19, 716-723.
- Almeida, G. G., Coscarelli, D., Melo, M. N., Melo, A. L. & Pinto, H. A. (2016). Molecular identification of *Spirometra* spp. (Cestoda: Diphylobothriidae) in some wild animals from Brazil. *Parasitology international*, 65(5), 428-431.
- Altman, K. A., Paull, S. H., Johnson, P. T., Golembieski, M. N., Stephens, J. P., LaFonte, B. E., & Raffel, T. R. (2016). Host and parasite thermal acclimation responses depend on the stage of infection. *Journal of Animal Ecology*, 85(4), 1014-1024.
- Alves, P. V., de Chambrier, A., Luque, J. L. & Scholz, T. (2017a). Untangling convoluted taxonomy of *Chambriella* Rego, Chubb & Pavanelli, 1999 (Cestoda: Proteocephalidae), with erection of *Riggenbachiella* n. gen. and the description of a new species from pimelodid catfishes in the Neotropical Region. *Systematic parasitology*, 94(3), 367-389.
- Alves, P. V., de Chambrier, A., Scholz, T. & Luque, J. L. (2017b). Annotated checklist of fish cestodes from South America. *ZooKeys*, 650, 1-250.
- Amato, S. B. & Amato, J. F. R. (1993). A new species of *Phyllodistomum* Braun, 1899 (Digenea: Gorgoderidae) from *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes: Pimelodidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88, 557-559.
- Amundsen, P. A., Knudsen, R., Kuris, A. M. & Kristoffersen, R. (2003). Seasonal and ontogenetic dynamics in trophic transmission of parasites. *Oikos*, 102(2), 285-293.
- An, L., Jara, C. A. & Cone, D. K. (1991). Five species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea) from freshwater fishes of Peru. *Canadian journal of Zoology*, 69(5), 1199-1202.

- Anderson, R. M. (2000). Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2nd Edition. Wallingford, Oxon, UK, CABI Publishing, 650 pp.
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral ecology*, 26(1), 32-46.
- Ángeles-Hernández, J. C., Gómez-de Anda, F. R., Reyes-Rodríguez, N. E., Vega-Sánchez, V., García-Reyna, P. B., Campos-Montiel, R. G. & Zepeda-Velázquez, A. P. (2020). Genera and Species of the Anisakidae Family and Their Geographical Distribution. *Animals*, 10(2374), 1-23.
- Arezo, M. J., D'Alessandro, S., Papa, N., De Sà, R. & Berois, N. (2007). Sex differentiation pattern in the annual fish *Austrolebias charrua* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Tissue and Cell*, 39(2), 89-98.
- Arim, M., Berazategui, M., Barreneche, J. M., Ziegler, L., Zarucki, M. & Abades, S. R. (2011). Determinants of density–body size scaling within food webs and tools for their detection. *Advances in Ecological Research*, 45, 1-39.
- Armúa-Fernández, M. T., Burutarán, M., Bazzano, V., Félix, M. L., Castro, O., & Venzal, J. M. (2021). Molecular Characterization of *Spirometra decipiens* Complex (Eucestoda: Diphyllbothriidea) from Uruguay. *Taxonomy*, 1(3), 270-277.
- Arrabal J. P., Pérez M. G., Arce L. F. & Kamenetzky L. (2020). First identification and molecular phylogeny of *Sparganum proliferum* from endangered felid (*Panthera onca*) and other wild definitive hosts in one of the regions with highest worldwide biodiversity. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 13, 142-149.
- Arredondo, N. J., Vieira Alves, P. & Gil de Pertierra, A. A. (2017). A new genus of proteocephalid tapeworm (Cestoda) from the marbled swamp eel *Synbranchus marmoratus* Bloch (Synbranchiformes: Synbranchidae) in the River Paraná basin, Argentina. *Folia Parasitologica*, 64(15), 1-12.
- Arruda, V. S. D., Pinto, R. M. & Muniz-Pereira, L. C. (2001). New host and geographical records for helminths parasites of Ardeidae (Aves, Ciconiiformes) in Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18, 225-232.
- Bakke, T. A. (1988). Morphology of adult *Phyllodistomurn umblae* (Fabricius) (Platyhelminthes, Gorgoderidae): the effect of preparation, killing and fixation procedures. *Zoologica Scripta*, 17(1), 1-13.

- Barneche, J., Montes, M. M., Marcotegui, P. S., Aranguren, F., Hermann, D. & Martorelli, S. R. (2017). Estudio Preliminar de los Parásitos de tres especies de peces del género *Austrolebias*. Resumen aceptado en IX Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos (EMEAP), Congreso EMEAP 2017.
- Barreiro, M., Arizmendi, F. & Trinchin, R. (2019). Variabilidad observada del clima en Uruguay. Proyecto "Fortalecer las capacidades de Uruguay para la adaptación al cambio climático en la zona costera", Segundo Producto. DINAMA, Uruguay.
- Basualdo, C. V. (2017). Choosing the best non-parametric richness estimator for benthic macroinvertebrates databases. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 70(1-2), 27-38.
- Berkhout, B. W., Borregaard, M. K., Brandl, R., Brändle, M., Dehling, D. M., Hof, C. & Thieltges, D. W. (2020). Host assemblage and environment shape β -diversity of freshwater parasites across diverse taxa at a continental scale. *Global Ecology and Biogeography*, 29(1), 38-49.
- Berois, N., Garcia, G. & de Sá, R. O. (2015). Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution. CRC Press, New York, 327 pp.
- Berois, N., Arezo, M. J. & de Sá, R. O. (2014). The Neotropical genus *Austrolebias*: an emerging model of annual killifishes. *Cell & Developmental Biology*, 3(2), 1000136.
- Beverley-Burton, M. (1984). Monogenea and Turbellaria. En L. Margolis & Z. Kabata (Eds.) *Guide to the parasites of fishes of Canada. Part I. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, 74, 209 pp.
- Blasco-Costa, I., Poulin, R. & Presswell, B. (2017). Morphological description and molecular analyses of *Tylodelphys* sp. (Trematoda: Diplostomidae) newly recorded from the freshwater fish *Gobiomorphus cotidianus* (common bully) in New Zealand. *Journal of Helminthology*, 91(3), 332-345.
- Bray, R. A., Gibson, D. I. & Jones, A. (2008). *Keys to the Trematoda*, volume III. Centre for Agricultural Bioscience International and Natural History Museum. Wallingford, UK, 848 pp.
- Brooks, D. R. & Macdonald, C. A. (1986). A new species of *Phyllodistomum* Braun, 1899 (Digenea: Gorgoderidae) in a Neotropical catfish, with discussion of the generic relationships of the Gorgoderidae. *Canadian journal of zoology*, 64(6), 1326-1330.

- Brooks, D. R. (1978). Evolutionary history of the cestode order Proteocephalidea. *Systematic Zoology*, 27(3), 312-323.
- Brooks, D. R. & Deardorff, T. L. (1980). Three Proteocephalid Cestodes from Colombian Siluriform Fishes, Including *Nomimoscolex alovarius* sp. n. (Monticelliidae: Zygobothriinae), 47(1), 15-21.
- Bruslé, J. & Anadon, G. G. (1996). The structure and function of fish liver. En Datta Munshi, J.S. & Dutta, H.M. (Eds.) *Fish Morphology: Horizon of New Research*. 1st Edition. Routledge, 77-93.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M. & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 83(4), 575-583.
- Capaul, M. & Ebert, D. (2003). Parasite-mediated selection in experimental *Daphnia magna* populations. *Evolution*, 57(2), 249-260.
- Carreira, S., Meneghel, M. & Achaval, F. (2005). *Reptiles de Uruguay*. Facultad de Ciencias, Montevideo.
- Carreira, S., Brazeiro, A., Camargo, A., da Rosa, I., Canavero, A. & Maneyro, M. (2012). Diversity of reptiles of Uruguay: knowledge and information gaps. *Boletín de la Sociedad Zoológica de Uruguay*, 21(1-2), 9-29.
- Chambrier, A. & Vaucher, C. (1999). Proteocephalidae et Monticelliidae (Eucestoda: Proteocephalidea) parasites de poissons d'eau douce au Paraguay, avec descriptions d'un genre nouveau et de dix espèces nouvelles. *Muséum d'histoire naturelle de Genève*, 106(1), 165-240.
- Chambrier, A., Zehnder, M., Vaucher, C. & Mariaux, J. (2004). The evolution of the Proteocephalidea (Platyhelminthes, Eucestoda) based on an enlarged molecular phylogeny, with comments on their uterine development. *Systematic Parasitology*, 57(3), 159-171.
- Chambrier, A. D. & Scholz, T. (2008). Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of firewood catfish *Sorubimichthys planiceps* (siluriformes: Pimelodidae) from the Amazon River. *Folia Parasitologica*, 55(1), 17-28.
- Chambrier, A., Kuchta, R. & Scholz, T. (2015). Tapeworms (Cestoda: Proteocephalidea) of teleost fishes from the Amazon River in Peru: additional records as an evidence of unexplored species diversity. *Revue suisse de Zoologie*, 122(1), 149-163.

- Chao, A. (1984). Non-parametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics* 11, 265-270.
- Chao, A., Chazdon, R. L., Colwell, R. K. & Shen, T. J. (2006). Abundance-based similarity indices and their estimation when there are unseen species in samples. *Biometrics*, 62(2), 361-371.
- Claramunt, S. & Cuello, J. P. (2004). Diversidad de la biota uruguaya: Aves. *Anales del Museo de Historia Natural y Antropología*, 10(6), 1-76.
- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian journal of ecology*, 18(1), 117-143.
- Cohen, S. C., Justo, M. C. N. & Kohn, A. (2013). South American Monogenoidea parasites of fishes, amphibians and reptiles. *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)*.
- Colwell, R. K., Chao, A., Gotelli, N. J., Lin, S. Y., Mao, C. X., Chazdon, R. L. & Longino, J. T. (2012). Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation, and comparison of assemblages. *Journal of plant Ecology*, 5(1), 3-21.
- Combes, C. (2001). *Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions*. University of Chicago Press.
- Corrêa A. A. S., Artigas P. T. (1979). *Catadiscus rochai* n. sp. (Trematoda; Paramphistomidae), parasito de *Dromicus typhlus* (L.) (Ophidia; Colubridae). *Memórias do Instituto Butantan*, 42(43), 145-149.
- Costa, W. J. E. M. (1998). Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: evolution and miniaturization of rivulid fishes (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei). *Journal of Comparative Biology*, 3(1), 32-92.
- Costa, W.J.E.M. (2002). Monophyly and phylogenetic relationships of the neotropical annual fish genera *Austrolebias* and *Megalebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Copeia* 2002(4), 916-927.
- Costa, W.J.E.M. (2003). Rivulidae (South American Annual Fishes). En R.E. Reis, S.O. Kullander & C.J. Ferraris, Jr. (Eds.) *Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil, 526-548.

- Costa, W. J. (2006). The South American annual killifish genus *Austrolebias* (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): phylogenetic relationships, descriptive morphology, and taxonomic revision. *Zootaxa*, 1213, 1-162.
- Costa, W. J. (2009). Trophic radiation in the South American annual killifish genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 20(2), 179.
- Costa, W. J. (2010). Historical biogeography of cynolebiasine annual killifishes inferred from dispersal–vicariance analysis. *Journal of Biogeography*, 37(10), 1995-2004.
- Costa, W. J., Amorim, P. F. & Mattos, J. L. O. (2017). Molecular phylogeny and timing of diversification in South American Cynolebiini seasonal killifishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 116, 61-68.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics, and parallel computing. *Nature methods*, 9(8), 772-772.
- Delgado, C. & García, G. (2015). Coevolution between *Contracaecum* (Nematoda, Anisakidae) and *Austrolebias* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) host-parasite complex from SW Atlantic coastal basins. *Parasitology research*, 114(3), 913-927.
- Digby, P. G. N. & Kempton, R. A. (1987). *Multivariate analysis of ecological communities*. 1st Edition. London: Chapman and Hall, 206 pp.
- Digiani, M. C. (2000). Digeneans and cestodes parasitic in the white-faced ibis *Plegadis chihi* (Aves: Threskiornithidae) from Argentina. *Folia Parasitologica*, 47(3), 195-204.
- Doma, I. & Ostrowski de Núñez, M. (1994) Biología poblacional de *Posthodiplostomum nanum* Dubois, 1937 (Trematoda, Diplostomidae) en *Jenynsia lineata* (Jennyns) y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jennyns) (Pisces, Atheriniformes), de la laguna Chis-Chis, provincia de Buenos Aires. *Revista Brasileira de Biología*, 54, 669-679.
- Dove, A. D. & Cribb, T. H. (2006). Species accumulation curves and their applications in parasite ecology. *Trends in Parasitology*, 22(12), 568-574.
- Dubois, G. (1936). Les diplostomes de reptiles (Trematoda: Proterodiplostomidae nov. fam.) du Musée de Vienne. *Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de Neuchâtel*, 61(1), 1-80.
- Dubois, G. (1970). Les Strigeata (Trematoda) de la collection A. Lutz. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 68(1), 169-196.

- Dunne, J. A., Lafferty, K. D., Dobson, A. P., Hechinger, R. F., Kuris, A. M., Martinez, N. D., McLaughlin, J.P., Mouritsen, K.N., Poulin, R., Reise, K. and Stouffer, D.B. & Stouffer, D. B. (2013). Parasites affect food web structure primarily through increased diversity and complexity. *PLoS Biol*, 11(6), e1001579.
- Esch, G. W. & Fernandez, J. C. (1993). A functional biology of parasitism: Ecological and evolutionary implications. 1st Edition. Springer Science & Business Media, 337 pp.
- Fava D. & Toledo-Piza M. (2007). Egg surface structure in the annual fishes *Simpsonichthys* (subgenera *Ophthalmolebias* and *Xenurolebias*) and *Nematolebias* (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): variability and phylogenetic significance. *Journal of Fish Biology*, 71(3), 889-907.
- Fellis, K. J. & Esch, G. W. (2005). Autogenic-allogenic status affects interpond community similarity and species area relationship of macroparasites in the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, from a series of freshwater ponds in the piedmont area of North Carolina. *Journal of Parasitology*, 91(4), 764-767.
- Fernandes, B. M. M. & Kohn, A. (2014). South American trematodes parasites of amphibians and reptiles. Rio de Janeiro, Brazil: Oficina de Livros, 226 pp.
- Fernandes, B. M. M., Justo, M. C. N., Cárdenas, M. Q. & Cohen, S. C. (2015). South American trematodes parasites of birds and mammals. Rio de Janeiro: Biblioteca de Ciências Biomédicas. ICICT. Fiocruz–RJ.
- Freitas JFT, Lent H (1939) Revisão do gênero *Catadiscus* Cohn 1904 (Trematóda. Paramphistomoidea). *Boletim Biológico*, 4, 305-315.
- Galaktionov, K. V. & Dobrovolskij, A. (2013). The biology and evolution of trematodes: an essay on the biology, morphology, life cycles, transmissions, and evolution of digenetic trematodes. Springer Science & Business Media, 624 pp.
- Garbin, L., Mattiucci, S., Paoletti, M., González-Acuña, D. & Nascetti, G. (2011). Genetic and morphological evidence for the existence of a new species of *Contraecaecum* (Nematoda: Anisakidae) parasite of *Phalacrocorax brasilianus* (Gmelin) from Chile and its genetic relationships with congeners from fish-eating birds. *Journal of Parasitology*, 97(3), 476-492.

- García, G. (2006). Multiple simultaneous speciation in killifishes of the *Cynolebias adloffii* species complex (Cyprinodontiformes, Rivulidae) from phylogeography and chromosome data. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 44(1), 75-87.
- García, G., Gutiérrez, V., Vergara, J., Calvino, P., Duarte, A. & Loureiro, M. (2012). Patterns of population differentiation in annual killifishes from the Paraná–Uruguay–La Plata Basin: the role of vicariance and dispersal. *Journal of Biogeography*, 39(9), 1707-1719.
- García, G., Gutiérrez, V., Ríos, N., Turner, B., Santiñaque, F., López-Carro, B., & Folle, G. (2014). Burst speciation processes and genomic expansion in the neotropical annual killifish genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Genetica*, 142(1), 87-98.
- García, G., Ríos, N., Gutiérrez, V., Serra, S., & Loureiro, M. (2019). Transcriptome-Based SNP Discovery and Validation in the Hybrid Zone of the Neotropical Annual Fish Genus *Austrolebias*. *Genes*, 10(10), 789.
- García, G., Gutiérrez, V., Ríos, N., Papa, N., Serra, S., & Loureiro, M. (2020). Characterization of a hybrid zone between two annual killifish genus *Austrolebias* from the Biosphere Reserve and Ramsar Sites in South America. *Hydrobiologia*, 847(2), 421-442.
- García, D. (2019). Dinámica temporal e historias de vida de dos especies de peces anuales del Río Uruguay bajo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.
- Gibson, D. I., Jones, A. & Bray, R. A. (2002). Keys to the Trematoda, volume I. CAB International and Natural History Museum, Wallingford and London, UK, 544 pp.
- Goater, T. M., Goater, C. P. & Esch, G. W. (2014). Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites. 2nd Edition. Cambridge University Press, 497 pp.
- Gómez, A. & Nichols, E. (2013). Neglected wildlife: parasitic biodiversity as a conservation target. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 222-227.
- Goodman, J. D. (1958). Travtrematinae nom. nov. for *Leptophyllinae* Byrd, Parker and Reiber, 1940 (Plagiorchiidae: Trematoda). *The Journal of parasitology*, 44(1), 106-109.
- Grano-Maldonado, M. I., Moreno-Navas, J. & Rodriguez-Santiago, M. A. (2018). Transmission strategies used by *Gyrodactylus gasterostei* (Monogenea) on its host, the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. *Fishes*, 3(2), 20.
- Gregory, R. D. & Hudson, P. J. (2000). Population biology: parasites take control. *Nature*, 406(6791), 33-34.

- Guidelli, G.M., Isaac, A., Takemoto, R.M. & Pavanelli, G.C. (2003). Endoparasite infracommunities of *Hemisorubim platyrhynchos* (Valenciennes, 1840) (Pisces: Pimelodidae) of the Baía River, upper Paraná River floodplain, Brazil: specific composition and ecological aspects. *Brazilian Journal of Biology*, 63(1), 261-268.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3), 307-321.
- Gutiérrez, O., Panario, D., Achkar, M. & Brazeiro, A. (2012). Corredores biológicos de Uruguay. Informe Técnico. Convenio MGAP/PPR – Facultad de Ciencias/Vida Silvestre Uruguay/ Sociedad Zoológica del Uruguay/CIEDUR, 31 pp.
- Gutiérrez, V., Rego, N., Naya, H. & García, G. (2015). First complete mitochondrial genome of the South American annual fish *Austrolebias charrua* (Cyprinodontiformes: Rivulidae): peculiar features among cyprinodontiforms mitogenomes. *BMC genomics*, 16(1). P. 879.
- Hamann, M. I. (1992). *Catadiscus pomaceae* sp. n. (Trematoda, Paramphistomatidae) from *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1801) (Prosobranchia, Ampullariidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(1), 9-14.
- Hamann, M. I. & Gonzalez, C. E. (2009). Larval digenetic trematodes in tadpoles of six amphibian species from Northeastern Argentina. *Journal of Parasitology*, 95(3), 623-628.
- Hamann, M. I., Kehr, A. I. & González, C. E. (2010). Helminth community structure of *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae) from a South American subtropical area. *Diseases of Aquatic Organisms*, 93(1), 71-82.
- Hamann, M. I., Kehr, A. I., & Gonzalez, C. E. (2013). Biodiversity of trematodes associated with amphibians from a variety of habitats in Corrientes Province, Argentina. *Journal of Helminthology*, 87(3), 286-300.
- Hamann, M. I., Kehr, A. I. & González, C. E. (2014). Helminth community structure in the Argentinean bufonid *Melanophryniscus klappenbachi*: importance of habitat use and season. *Parasitology Research*, 113, 3639-3649.
- Hamann, M. I., Fernández, M. V. & Gonzalez, C. E. (2018). Metacercariae of Strigeidae parasitizing amphibians of the Chaco Region in Argentina. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(1), 1-6.

- Hammer, Ø., Harper, D. A. & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Harris, P. D. & Cable, J. (2000). *Gyrodactylus poeciliae* n. sp. and *G. milleri* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from *Poecilia caucana* (Steindachner) in Venezuela. *Systematic Parasitology*, 47(2), 79-85.
- Heyer, R. (1969). The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*, 23, 421-428.
- Hoffman, G. L. (2011). *Parasites of North American freshwater fishes*. Cornell University Press.
- Holtz M. L. & Gilman R. (2013). Sparganosis. En A.J. Magill, D.R. Hill, T. Solomon & E.T. Ryan (Eds.) *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease*. 9th Edition. W.B. Saunders, 917-920.
- Howe, K. L., Bolt, B. J., Cain, S., Chan, J., Chen, W. J., Davis, P. & Sternberg, P. W. (2016). WormBase 2016: expanding to enable helminth genomic research. *Nucleic acids research*, 44(1), 774-780.
- Howe, K. L., Bolt, B. J., Shafie, M., Kersey, P. & Berriman, M. (2017). WormBase ParaSite– a comprehensive resource for helminth genomics. *Molecular and biochemical parasitology*, 215(1), 2-10.
- Huber, J. H. (1996). Updated checklist of taxonomic names, collecting localities and bibliographic references of oviparous Cyprinodont fishes (Atherinomorpha, Pisces). *Société Française d'Ichtyologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France*. 399 pp.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (2001). MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17, 754-755.
- Hughes, R. C. (1927). Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) No. VI. A new metacercaria *Neascus ambloplitis* sp. nov. representing a new larval group. *Transactions of the American Microscopical Society*, 46(4), 248-267.
- Hughes, R. C. (1929). Studies on the trematode family Strigeidae (Holostomidae) No. XIX. *Diplostomulum scheuringi* sp. nov. and *D. vegrandis* (La Rue). *The Journal of Parasitology*, 15(4), 267-271.
- Hunter, G. W. (1929). Life-history Studies on *Proteocephalus pinguis* La Rue. *Parasitology*, 21(4), 487-496.

- Hypša, V. & SCHOLZ, T. (2005). Phylogeny, evolution and host–parasite relationships of the order Proteocephalidea (Eucestoda) as revealed by combined analysis and secondary structure characters. *Parasitology*, 130(3), 359-371.
- Incorvaia, I. S. (1983). *Catadiscus hylae* sp. nov. (Trematoda: Paramphistomidae) parásito intestinal de *Hyla pulchella* Dumeril y Bibron, 1841 (Anura; Hylidae) de la provincia de Buenos Aires, República Argentina. *Neotropica*, 29, 91-95.
- Iritani, R. & Sato, T. (2018). Host-manipulation by trophically transmitted parasites: the switcher-paradigm. *Trends in parasitology*, 34(11), 934-944.
- Johnson, P. T. J., Dobson, A., Lafferty, K. D., Marcogliese, D. J., Memmott, J., Orlofske, S. A., Poulin, R., Thieltges, D. W. (2010). When parasites become prey: ecological and epidemiological significance of eating parasites. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 362-371.
- Jones, A., Bray, R. A. & Gibson, D. I. (2005). Keys to the Trematoda, volume II. CAB International and Natural History Museum, Wallingford and London, UK, 768 pp.
- Karvonen, A. & Valtonen, E. T. (2004). Helminth assemblages of whitefish (*Coregonus lavaretus*) in interconnected lakes: similarity as a function of species-specific parasites and geographical separation. *Journal of Parasitology*, 90(3), 471-476.
- Keppeler, F. W., Lanés, L. E. K., Rolon, A. S., Stenert, C., Lehmann, P., Reichard, M. & Maltchik, L. (2014). The morphology–diet relationship and its role in the coexistence of two species of annual fishes. *Ecology of Freshwater Fish*, 24(1), 77-90.
- Khalil, L. F., Jones, A. & Bray, R. A. (1994). Keys of the cestode parasites of vertebrates. CAB International, Wallingford, UK, 768 pp.
- Kohn, A., Fernandes, B. M. & Cohen, S. C. (2007). South American trematodes parasites of fishes. Imprinta Express Ltda, Rio de Janeiro, 318 pp.
- Koskella, B. (2018). Resistance gained, resistance lost: An explanation for host–parasite coexistence. *PLoS biology*, 16(9), 1-7.
- Krebs, C. J. (1999). *Ecological methodology*. 2nd Edition. Menlo Park, Benjamin/Cummings. 620 pp.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*, 47(260), 583-621.

- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.
- Kuchta, R., Oros, M., Ferguson, J. & Scholz, T. (2017). *Diphyllobothrium nihonkaiense* tapeworm larvae in salmon from North America. *Emerging infectious diseases*, 23(2), 351-353.
- Kuchta, R., Kołodziej-Sobocińska, M., Brabec, J., Młocicki, D., Sałamatin, R., & Scholz, T. (2021). Sparganosis (*Spirometra*) in Europe in the molecular era. *Clinical Infectious Diseases*, 72(5), 882-890.
- Lafferty, K. D., Dobson, A. P. & Kuris, A. M. (2006). Parasites dominate food web links. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30), 11211-11216.
- Landsberg, J. H., Blakesley, B. A., Reese, R. O., McRae, G. & Forstchen, P. R. (1998). Parasites of fish as indicators of environmental stress. *Environmental Monitoring and Assessment*, 51(1-2), 211-232.
- Lanés, L. E. K., Keppeler, F. W. & Maltchik, L. (2014). Abundance variations and life history traits of two sympatric species of Neotropical annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in temporary ponds of southern Brazil. *Journal of Natural History*, 48(31-32), 1971-1988.
- Laufer, G., Arim, M., Loureiro, M., Piñeiro-Guerra, J. M., Clavijo-Baquet, S. & Fagúndez, C. (2009). Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. *Neotropical Ichthyology*, 7(1), 77–86.
- Leary, S. L., Underwood, W., Anthony, R., Cartner, S., Corey, D., Grandin, T., Greenacre, C., Gwaltney-Brant, S., McCrackin, M.A., Meyer, R. and Miller, D. (2013). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Schaumburg, IL: American Veterinary Medical Association, 121 pp.
- Lefebvre, F. & Poulin, R. (2005). Progenesis in digenean trematodes: a taxonomic and synthetic overview of species reproducing in their second intermediate hosts. *Parasitology*, 130(6), 587-605.
- Lehun, A. L., Hasuike, W. T., Silva, J. O. S., Ciccheto, J. R. M., Michelan, G., Rodrigues, A. D. F. C. & Takemoto, R. M. (2020). Checklist of parasites in fish from the upper Paraná River floodplain: An update. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29(3), e008720.

- Liguori, L. (2011). Relación tamaño corporal-area en aves que utilizan un sistema de charcos temporales. Tesina de Grado. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay.
- Lizama, M. A., Takemoto, R. M. & Pavanelli, G. C. (2005). Influence of host sex and age on infracommunities of metazoan parasites of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (Prochilodontidae) of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Parasite*, 12(4), 299-304.
- Loureiro, M. (2004). Sistemática y biogeografía de los peces anuales de la subtribu Cynolebiatina (Cyprinodontiformes: Rivulidae: Cynolebiatinae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Loureiro, M., Azpelicueta M. M. & García, G. (2004). *Austrolebia arachan* (Cyprinodontiformes, Rivulidae), a new species of annual fish from northeastern Uruguay. *Rev. Suisse Zool.*, 111(1), 21-30.
- Loureiro, M. & García G. (2008). *Austrolebias reicherti* Loureiro & García, a valid species of annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from Uruguay. *Zootaxa*, 1940, 1-15.
- Loureiro, M., Duarte, A. & Zarucki, M. (2011). A new species of *Austrolebias* Costa (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from northeastern Uruguay, with comments on distribution patterns. *Neotropical Ichthyology*, 9(2), 335-342.
- Loureiro, M., Zarucki, M., González, I., Vidal, N. & Fabiano, G. (2013). Peces continentales, 91-112 pp. En A. Soutullo, C. Clavijo & J.A. Martínez-Lanfranco (Eds.) *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares*. SNAP/DINAMA/MVOTMA y DICYT/MEC, Montevideo, 222 pp.
- Loureiro, M., Borthagaray, A., Hernández, D., Duarte, A., Pinelli, V. & Arim, M. (2015). *Austrolebias* in space: Scaling from ponds to biogeographical regions. En Berois N., Garcia G. & de Sá R.O. (Eds.) *Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, New York.
- Loureiro, M. & de Sá, R.O. (2015). Diversity of Aplocheiloidei. En N. Berois, G. Garcia & R.O. de Sá (Eds.) *Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, New York.
- Loureiro, M., Sá, R.D., Serra, S.W., Alonso, F., Lanés, L.E.K., Volcan, M.V., Calviño, P., Nielsen, D., Duarte, A. and Garcia, G. (2018). Review of the family Rivulidae

- (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology*, 16(3), e180007.
- Lunaschi L., I. & Martorelli S. R. (1990). Presencia de *Phyllodistomum spatula* Odhner, 1902 (Trematoda: Gorgoderidae) en dos especies de pimelódidos de la provincia de Buenos Aires, Argentina y aportes al conocimiento de su ciclo biológico. *Neotropica*, 567-574.
- Lunaschi, L. I. & Drago, F. B. (2002). Primer registro de *Catadiscus uruguayensis* Freitas y Lent, 1939 (Digenea: Diplodiscidae) como parásito de reptiles. *Neotrópica*, 48, 65-67.
- Lunaschi, L. I. & Drago, F. B. (2010). Platyhelminthes, Trematoda, Digenea Carus, 1863: distribution extension in Argentina and new Anura and Ophidia hosts. *Check List*, 6(3), 447-450.
- Luque, J. L., Aguiar, J. C., Vieira, F. M., Gibson, D. I. & Santos, C. P. (2011). Checklist of Nematoda associated with the fishes of Brazil. *Zootaxa*, 3082(1), 1-88.
- Manly, B. F., & Alberto, J. A. N. (2017). *Multivariate statistical methods: a primer*. 4th Edition. Chapman and Hall, CRC Press, 253 pp.
- Mann, H. B., & Whitney, D. R. (1947). On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*, 18(1), 50-60.
- Mañé-Garzón, F. & Gortát, A. M. (1965). Sobre algunos trematodos de ofidios del Uruguay. *Comunicaciones Zoologicas del Museo de Historia Natural de Montevideo*, 8(107), 1-23.
- Marcotegui, P. S., Montes, M. M., Barneche, J., Ferrari, W. & Martorelli, S. (2018). Geometric morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate trichodinid species combined with traditional morphology and molecular analysis. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 7(2), 228-236.
- Mati, V. L. T., Pinto, H. A. & Melo, A. L. (2015). Helminths of *Liophis miliaris* (Squamata, Dipsadidae): a list of species and new records. *Helminthologia*, 52(2), 159-166.
- Medrano, J. F., Aasen, E. & Sharrow, L. (1990). DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques*, 8(1), 43.
- Microsoft Corporation. (2018). Microsoft Excel. Retrieved from <https://office.microsoft.com/excel>.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W., and Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 2010(1), 1-8.

- Monteiro, C. M., Santos, M. D., Zuchi, N. A. & Brasil-Sato, M. C. (2009). Ecological parameters of the endohelminths in relation to size and sex of *Prochilodus argenteus* (Actinopterygii: Prochilodontidae) from the Upper São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 26, 753-757.
- Monteiro, C. M., Wendt, E. W. & Zebral, Y. D. (2018). *Dendrorchis pampae* sp. n. (Digenea: Gorgoderidae) from *Cynopoeilus melanotaenia* (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae) a killifish from southern Brazil, with an emended diagnosis of *Dendrorchis*. *Journal of helminthology*, 93(2), 203-207.
- Montes, M. M. & Martorelli, S. R. (2015). An ecological and comparative analysis of parasites in juvenile *Mugil liza* (Pisces, Mugilidae) from two sites in Samborombón bay, Argentina. *Iheringia. Série Zoologia*, 105, 403-410.
- Montes M. M., Barneche J, Marcotegui P, Garcia I, Ferrari W & Martorelli S.R. (2017). Nuevos registros de microsporidios parasitando el pez anual *Austrolebias elongatus* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes: Rivulidae) la rana arborícola *Boana pulchella* (Amphibia: Anura: Hylidae) y el camarón *Palaemonetes argentinus* (Malacostraca: Decapoda: Palaemonidae). Resumen aceptado en Congreso EMEAP 2017.
- Montes M. M., Barneche J., Croci Y., Garcia I., Marcotegui P., Ferrari W, Casciotta J. & Martorelli S. R. (2017). Nuevos registros de mixosporidios parasitando *Austrolebias nigripinis* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) y *Crenicichla tesay* (Perciformes: Cichlidae). Resumen aceptado en Congreso EMEAP 2017.
- Montes, M. M., Barneche, J., García, I., Preisz, S. & Martorelli, S. R. (2017). New data on the acanthocephalan *Neoechinorhynchus villoldoi* Vizcaíno, 1992 (Neoechinorhynchidae: Acanthocephala), based on specimens found in *Austrolebias bellottii* (Steindachner, 1881) (Rivulidae: Cyprinodontiformes) from Punta Indio, Argentina. *Check List*, 13(4), 53-59.
- Moravec, F. (1998). Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical Region. Academia, Publishing House of the Academy of Sciences of the Czech Republic, 464 pp.
- Morey, G. A. M. (2018). Metacercariae of *Tylodelphys* sp. (Trematoda: Diplostomidae) parasite of *Brochis multiradiatus* and *Corydoras splendens* (Siluriformes: Callichthyidae) from the Peruvian Amazon. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 40, e41280.

- Morisita, M. (1959). Measuring of the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ., Ser. E (Biol.), 2, 215-235.
- Mosqueda-Cabrera, M. Á., Labastida-Valerio, J. Á., Sotelo-Viveros, A. M., Becerra-García, R. E. & Jiménez-García, M. I. (2019). Helmintos del pez anual *Millerichthys robustus* (Teleostei: Rivulidae), una especie endémica de México. Revista mexicana de biodiversidad, 90, e902652.
- Moszczyńska, A., Locke, S. A., McLaughlin, J. D., Marcogliese, D. J. & Crease, T. J. (2009). Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. Molecular Ecology Resources, 9, 75-82.
- Müller, M. I., Emmerich, E., de Alcantara, E. P., Ungari, L. P., Ebert, M. B., Morais, D. H. & da Silva, R. J. (2021). First molecular assessment of two digenean parasites of the lancehead snake *Bothrops moojeni* Hoge, 1966 (Serpentes, Viperidae) in Brazil. Parasitology Research, 120(3), 971-977.
- Naya, D., Maneyro, R., Camargo, A., Canavero, A. & da Rosa, I. (2003). Seasonal changes in gut length of the South American common frog *Leptodactylus ocellatus* (Amphibia, Anura). Biociências, 11(1), 47-52.
- Nezhybová, V., Reichard, M., Blažek, R., & Ondračková, M. (2017). Metazoan parasites of African annual killifish (Nothobranchiidae): abundance, diversity, and their environmental correlates. Biotropica, 49(2), 229-238.
- Nico, L. G. & Thomerson, J. E. (1989). Ecology, food habits and spatial interactions of Orinoco Basin annual killifish. Acta Biologica Venezuelica, 12(3-4), 106-120.
- Nielsen, D. T. B., Pillet, D. (2015). *Austrolebias accorsii*, a new annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae: Cynolebiatinae) from the upper Río Grande basin, Amazon basin, Bolivia. Aqua, International Journal of Ichthyology, 21, 172–179.
- Noronha, D., M. R. Sá, M. Knoff, L.C. Muniz-Pereira, and R. M. Pinto. (2009). Adolpho Lutz ea Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 154 pp.
- Noya, O., de Noya, B., Arrechdera, H., Torres, J. & Argüello, C. (1992). *Sparganum proliferum*: an overview of its structure and ultrastructure. International journal for parasitology, 22(5), 631-640.

- O.E.A., O.P.P., B.I.D. (1992). Uruguay - Estudio Ambiental Nacional; Plan de acción ambiental. In Estudio ambiental naciona. Plan de acción ambiental, OEA.
- Okamoto, M., Iseto, C., Shibahara, T., Sato, M. O., Wandra, T., Craig, P. S., & Ito, A. (2007). Intraspecific variation of *Spirometra erinaceieuropaei* and phylogenetic relationship between *Spirometra* and *Diphyllobothrium* inferred from mitochondrial CO1 gene sequences. *Parasitology international*, 56(3), 235-238.
- Ortega-Olivares, M. P., Barrera-Guzmán, A. O., Haasová, I., Salgado-Maldonado, G., Guillén-Hernández, S. & Scholz, T. (2008). Tapeworms (Cestoda: Gryporhynchidae) of fish-eating birds (Ciconiiformes) from Mexico: new host and geographical records. *Comparative Parasitology*, 75(2), 182-195.
- Ostrowski, M. (1973). Sobre el ciclo biológico de *Posthodiplostomum nanum* Dubois, 1937 (Trematoda, Diplostomatidae). *Physis*, 32, 121-132.
- Ostrowski, M. (1978). Fauna de agua dulce de la República Argentina. IX. Sobre representantes de la familia Paramphistomatidae (Trematoda). *Physis*, 38(95): 55–62.
- Passos C., Tassinio B., Rosenthal G.G. & Reichard M. (2015). Reproductive behavior and sexual selection in annual fishes. En N. Berois, G. Garcia & R.O. de Sá (Eds.) *Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, New York.
- Pelegri, L. S., Gião, T., Vieira, D. H. M. D., Müller, M. I., da Silva, R. J., de León, G. P. P. & Abdallah, V. D. (2019). Molecular and morphological characterization of the metacercariae of two species of diplostomid trematodes (Platyhelminthes, Digenea) in freshwater fishes of the Batalha River, Brazil. *Parasitology research*, 118(7), 2169-2182.
- Penn, D. & Potts, W. K. (1998). Chemical signals and parasite-mediated sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10), 391-396.
- Pereira, C. & Vaz, Z. (1933). Nematóides parasitos de *Cynolebias bellotti* (Pisces, Cyprinodonta). *Revista de Biologia e Higiene*, 4(2), 59-61.
- Pérez-Ponce de León, G, Osorio-Sarabia, D & García-Prieto, L. (1992). Helminthofauna del "juile" *Rhamdia guatemaltensis* (Pisces: Pimelodidae) del Lago de Calemaco. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 43(1), 25-52.
- Pinto, H. A., Mati, V. L. & de Melo, A. L. (2012). New hosts and localities for trematodes of snakes (Reptilia: Squamata) from Minas Gerais State, Southeastern Brazil. *Comparative Parasitology*, 79(2), 238-246.

- Piñeiro-Guerra, J. M., Fagúndez-Pachón, C., Oesterheld, M. & Arim, M. (2014). Biodiversity–productivity relationship in ponds: community and metacommunity patterns along time and environmental gradients. *Austral Ecology*, 39(7), 808-818.
- Podrabsky, J. E., Riggs, C. L. & Wagner, J. T. (2015). Tolerance of Environmental Stress. En N. Berois, G. Garcia & R.O. de Sá (Eds.) *Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution*. CRC Press, New York.
- Poulin, R. (1993). The disparity between observed and uniform distributions: A new look at parasite aggregation. *International Journal for Parasitology*, 23(7), 937-944.
- Poulin, R. (1994). The evolution of parasite manipulation of host behaviour: a theoretical analysis. *Parasitology*, 109(1), 109-118.
- Poulin, R. & Morand, S. (1999). Geographical distances and the similarity among parasite communities of conspecific host populations. *Parasitology*, 119(4), 369-374.
- Poulin, R. (2000). Variation in the intraspecific relationship between fish length and intensity of parasitic infection: biological and statistical causes. *Journal of Fish Biology*, 56(1), 123-137.
- Poulin, R. & Morand, S. (2000). The diversity of parasites. *The quarterly review of biology*, 75(3), 277-293.
- Poulin, R. & Cribb, T.H. (2002). Trematode life cycles: short is sweet?. *Trends in Parasitology*, 18(4), 176-183.
- Poulin, R., & Latham, A. D. M. (2003). Effects of initial (larval) size and host body temperature on growth in trematodes. *Canadian Journal of Zoology*, 81(4), 574-581.
- Poulin, R. (2007). *Evolutionary ecology of parasites*. UK, Princeton university press, 332 pp.
- Poulin, R. (2010). Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. *Advances in the Study of Behavior*, 41, 151-186.
- Poulin, R. (2013). Parasite manipulation of host personality and behavioral syndromes. *Journal of Experimental Biology*, 216(1), 18-26.
- Press, W. H., Teukolsky, S. A., Flannery, B. P. & Vetterling, W. T. (1992). Numerical recipes in C. *SMR*, 693(1), 59-70.
- QGIS Development Team (2018). QGIS Geographic Information System version 3.4. Open-Source Geospatial Foundation Project. <https://www.qgis.org/en/site/index.html>.

- Queiroz, M. S., Alves, P. V., López-Hernández, D., Anjos, L. A., & Pinto, H. A. (2021). Exploring Neotropical anuran parasites: a morphological, life cycle and phylogenetic study of *Catadiscus marinholutzi* (Trematoda: Diplostomidae). *Parasitology*, 148(7), 798-808.
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M. A. (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*, 67(5), 901-904.
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355-364.
- Rego, A. A. & Rolas, F. J. T. (1972). Cestóides parasitos de *Butorides virescens* (L.). *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, 16(1), 35-37.
- Rego, A. A. (1995). A new classification of the cestode order Proteocephalidea Mola. *Revista Brasileira de Zoologia*, 12(4), 791-814.
- Rego, A. A., Chubb, J. C. & Pavanelli, G. C. (1999). Cestodes in South American freshwater teleost fishes: keys to genera and brief description of species. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(2), 299-367.
- Reiczigel, J., Marozzi, M., Fabian, I., Rozsa, L. (2019). Biostatistics for parasitologists – a primer to Quantitative Parasitology, *Trends in Parasitology*, 35(4), 277-281.
- Restrepo, H. C. & Montaña, J. B. (2002). Hallazgo de *Opisthogonimus* sp. (Luehe, 1990) (Trematoda: Opisthogonimidae: Opisthogoniminae) en *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758) (Viperidae: Crotalinae). *Medicina Veterinaria*, 19(7), 108-111.
- Ribeiro, J. S., Oliveira, F. C. R. D. & Ederli, N. B. (2019). First report of Diplostomidae metacercariae (Trematoda: Digenea) in African catfish *Clarias gariepinus* (Siluriformes: Clariidae) in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28(4), 677-684.
- Rim, H. J., Sohn, W. M., Yong, T. S., Eom, K. S., Chai, J. Y., Min, D. Y. & Insisengmay, S. (2008). Fishborne trematode metacercariae detected in freshwater fish from Vientiane Municipality and Savannakhet Province, Lao PDR. *The Korean Journal of Parasitology*, 46(4), 253-260.
- Ritossa, L., Flores, V. & Viozzi, G. (2013). Life-cycle stages of a *Posthodiplostomum* species (Digenea: Diplostomidae) from Patagonia, Argentina. *The Journal of Parasitology*, 99(5), 777-780.

- Rodao M., Montagne J., Clivio G., Papa N. & Casanova G. (2015). Sperm and egg envelope ultrstructure and some considerations on its evolutionary meaning. En N. Berois, G. Garcia & R.O. de Sá (Eds.) Annual fishes: life history strategy, diversity, and evolution. CRC Press, New York.
- Romero-Alvarez, D., Valverde-Muñoz, G., Calvopina, M., Rojas, M., Cevallos, W., Kumazawa, H., ... & Sugiyama, H. (2020). Liver fluke infections by *Amphimerus* sp. (Digenea: Opisthorchiidae) in definitive and fish intermediate hosts in Manabí province, Ecuador. PLoS neglected tropical diseases, 14(6), e0008286.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. Molecular biology and evolution, 34(12), 3299-3302.
- Ruiz, J. M. & Rangel, J. M. (1954) Estrigeidas de repteis brasileiros (Trematoda: Strigeata). Mem. Inst. Butantan, 26(1), 257-278.
- Schelkle, B., Paladini, G., Shinn, A. P., King, S., Johnson, M., van Oosterhout, C. & Cable, J. (2011). *Iredactylus rivuli* gen. et sp. nov. (Monogenea, Gyrodactylidae) from *Rivulus hartii* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) in Trinidad. Acta Parasitologica, 56(4), 360-370.
- Schoch, C.L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C.L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B. and Sharma, S. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources, and tools. Database, 2020:baaa062.
- Scholz, T., Špakulov, M., Šn, V., Kráiová, I. & Hanzelová, V. (1997). A multidisciplinary approach to the systematics of *Proteocephalus macrocephalus* (Creplin, 1825) (Cestoda: Proteocephalidae). Systematic Parasitology, 37(1), 1-12.
- Scholz, T. (1999). Life cycles of species of *Proteocephalus*, parasites of fishes in the Palearctic Region: a review. Journal of Helminthology, 73(1), 1-19.
- Scholz, T. & de Chambrier, A. (2003). Taxonomy and biology of proteocephalidean cestodes: current state and perspectives. Helminthologia, 40(2), 65-78.
- Scholz, T., Bray, R. A., Kuchta, R. & Řepová, R. (2004). Larvae of gryporhynchid cestodes (Cyclophyllidea) from fish: a review. Folia parasitologica, 51(2-3), 131-152.
- Scholz, T., Kuchta, R. & Brabec, J. (2019). Broad tapeworms (Diphyllobothriidae), parasites of wildlife and humans: recent progress and future challenges. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 9, 359-369.

- Schwarz, G. (1978). Estimating the dimension of a model. *Annals of statistics*, 6(2), 461-464.
- Sey, O. (1991). *CRC Handbook of the Zoology of Amphistomes*. CRC press.
- Serra, W. S. & Loureiro, M. (2018). *Austrolebias queguay* (Cyprinodontiformes, Rivulidae), a new species of annual killifish endemic to the lower Uruguay river basin. *Zoosyst. Evol.* 94(2), 547-556.
- Shinn, A. P., des Clers, S., Gibson, D. I. & Sommerville, C. (1996). Multivariate analyses of morphometrical features from *Gyrodactylus spp.* (Monogenea) parasitising British salmonids: light microscope-based studies. *Systematic Parasitology*, 33(2), 115-125.
- Shoop, W. L. (1989). Systematic analysis of the Diplostomidae and Strigeidae (Trematoda). *Journal of Parasitology*, 75(1), 21-32.
- Soutullo, A., Clavijo, C. & Martínez-Lanfranco, J. A. (2013). *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares. SNAP/DINAMA/MVOTMA y DICYT/MEC*, Montevideo, 111 pp.
- Steenkiste, N., Locke, S. A., Castelin, M., Marcogliese, D. J. & Abbott, C. L. (2015). New primers for DNA barcoding of digeneans and cestodes (Platyhelminthes). *Molecular Ecology Resources*, 15(4), 945-952.
- Stunžėnas, V., Petkevičiūtė, R., Poddubnaya, L. G., Stanevičiūtė, G. & Zhokhov, A. E. (2017). Host specificity, molecular phylogeny and morphological differences of *Phyllodistomum pseudofolium* Nybelin, 1926 and *Phyllodistomum angulatum* Linstow, 1907 (Trematoda: Gorgoderidae) with notes on Eurasian ruffe as final host for *Phyllodistomum spp.* *Parasites & vectors*, 10(1), 1-15.
- Sugiura, N. (1978). Further analysts of the data by akaike's information criterion and the finite corrections: Further analysts of the data by akaike's. *Communications in Statistics-Theory and Methods*, 7(1), 13-26.
- Sures, B., Nachev, M., Pahl, M., Grabner, D. & Selbach, C. (2017). Parasites as drivers of key processes in aquatic ecosystems: Facts and future directions. *Experimental Parasitology*, 180, 141-147.
- Suriano, D. M. (1970). Estudio sobre la fauna parasitaria de *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Amphibia, Leptodactylidae) de la República Argentina. I. Trematodes. *Revista Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Zoologia*, 10(15), 215–239.

- Szidat, L. (1969). Structure, development, and behaviour of new strigeatoid metacercariae from subtropical fishes of South America. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 26(4), 753-786.
- Taberner, R., Volonterio, O. & De León, R. P. (2003). Description of the pulli stages of *Telotha henselii* (Von Martens, 1869) (Isopoda, Cymothoidae), with new hosts and locality records from Uruguay and Argentina. *Crustaceana*, 76(1), 27-37.
- Taglioretti, V., García-Vásquez, A., Rossin, M. A., Pinacho-Pinacho, C. D., Rubio-Godoy, M. & Timi, J. T. (2020). Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 parasitizing *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae) from the southern limit of the family in the Neotropical region. *Parasitology research*, 119(6), 1713-1728.
- Takemoto, R. M., Pavanelli, G. C., Lizama, M. A., Lacerda, A. C. F., Yamada, F. H., Moreira, L. H. A. & Bellay, S. (2009). Diversity of parasites of fish from the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 69(2), 691-705.
- Texeira, F. & Eguren, G. (2008). Prevalence and intensity of black-spot disease in fish community from a subtropical stream (Santa Lucía river basin, Uruguay). *Limnetica*, 27(20), 251-258.
- Thatcher, V.E. (2006). *Amazon fish parasites (Volume 1) (2nd Edition)*. Pensoft Publishers, 508 pp.
- Thieltges, D. W., Amundsen, P. A., Hechinger, R. F., Johnson, P. T. J., Lafferty, K. D., Mouritsen, K. N., Preston, D. L., Reise, K., Zander, C. D., Poulin, R. (2013). Parasites as prey in aquatic food webs: implications for predator infection and parasite transmission. *Oikos*, 122(10), 1473-1482.
- Travassos, L. (1928). Fauna helminthológica de Matto Grosso. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 21(11), 309-341.
- Ubelaker, J. E. & Olsen, O. W. (1972). Life cycle of *Phyllodistomum bufonis* (Digenea: Gorgoderidae) from the boreal toad, *Bufo boreas*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 39(1), 94-100.
- Vega, R., Razzolini, E., Arbetman, M. & Viozzi, G. (2019). Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) parasitizing introduced poeciliids in Patagonia. *Zootaxa*, 4664(3), 423-433.

- Vettorazzi, R. I., Norbis, W. A. & Martorelli, S. R. (2020). Novel host report for *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 (Trematoda, Diplodiscidae) infecting *Austrolebias* Costa, 1998 species from Uruguay. *Check List*, 16(5), 1277-1282.
- Vettorazzi, R., Letamendia, M. & Carnevia, D. (2019). *Parvaprostatum synbranchi* n. gen. n. sp. (Trematoda: Diplostomida), parásito de la anguila *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 en Uruguay. *Neotropical Helminthology*, 13(2), 1-10.
- Vidal-Martínez, V. M., Velázquez-Abunader, I., Centeno-Chalé, O. A., May-Tec, A. L., Soler-Jiménez, L. C., Pech, D. & Hernández-Mena, D. I. (2019). Metazoan parasite infracommunities of the dusky flounder (*Syacium papillosum*) as bioindicators of environmental conditions in the continental shelf of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Parasites & vectors*, 12(277), 1-18.
- Volcan, M. V. & Guadagnin, D. L. (2020) Annual and non-annual fish assemblages respond differently to environmental and spatiotemporal variations of temporary wetlands from southern Brazil. *Freshwater Biology*, 65(15), 2023-2036.
- Volonterio, O. & Ponce de León, R. (2005). Description of *Dendrorchis retrobiloba* n. sp. (Digenea: Gorgoderidae) from *Astyanax fasciatus* (Teleostei: Characidae) from southern Uruguay, with an emended diagnosis of the genus *Dendrorchis*. *Journal of Parasitology*, 91(5), 1204-1207.
- Volonterio, O., Baletta, S. & Meneghel, M. (2006). A new genus and species of Opisthogonimid (Digenea) of *Liophis anomalus* (Serpentes: Colubridae) from Uruguay. *Journal of Parasitology*, 92(5), 1058-1063.
- Warton, D. I., Wright, I. J., Falster, D. S. & Westoby, M. (2006). Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological reviews*, 81(2), 259-291.
- Williams, D. D. (2006). *The biology of temporary waters*. Oxford University Press, 348 pp.
- Winemiller, K. O. & Jepsen, D. B. (1998). Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs. *Journal of fish Biology*, 53, 267-296.
- Zar, J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. (3rd Edition). Prentice Hall, 662 pp.
- Zehnder, M. P. & Mariaux, J. (1999). Molecular systematic analysis of the order Proteocephalidea (Eucestoda) based on mitochondrial and nuclear rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 29(11), 1841-1852.

Zelmer, D. A. (1998). An evolutionary definition of parasitism. *International Journal for Parasitology*, 28(3), 531-533.

Zhokhov, A. E., Morozova, D. A. & Pugacheva, M. N. (2017). Trematodes (Plathelminthes) of *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) in Lake Tana, Ethiopia. *Inland Water Biology*, 10(2), 219-227.



Novel host report for *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 (Trematoda, Diplodiscidae) infecting *Austrolebias* Costa, 1998 species from Uruguay

Renzo I. Vettorazzi¹, Walter A. Norbis¹, Sergio R. Martorelli²

1 Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Laboratorio de Fisiología de la Reproducción y Ecología de Peces, Iguá 4225 Malvín Norte, Montevideo, P.C. 11400, Uruguay. **2** Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE-UNLP-CONICET), Boulevard 120 s/n e/60 y 64, C.P. 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Corresponding author: Renzo Vettorazzi, rvetto@fcien.edu.uy

Abstract

The genus *Catadiscus* Cohn, 1904 has a total of 16 known species that infect the intestinal tract of reptiles, amphibians, and mollusks. However, *Catadiscus* has never been found in teleosts. The annual fish *Austrolebias prognathus* (Amato, 1986) and *A. cheradophilus* (Vaz-Ferreira, Sierra de Soriano & Scaglia de Paulete, 1965) were collected from temporary ponds in the southeast of Uruguay. The specimens found in the intestinal tract of these hosts were morphologically identified as *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939, which until now were only known to infect amphibians. This work represents the first report of the genus *Catadiscus* infecting and developing in a fish host.

Keywords

Annual fish, new host, parasite, South America, temporary pond.

Academic editor: Moisés Gallas | Received 22 June 2020 | Accepted 17 September 2020 | Published 29 September 2020

Citation: Vettorazzi RI, Norbis WA, Martorelli SR (2020) Novel host report for *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 (Trematoda, Diplodiscidae) infecting *Austrolebias* Costa, 1998 species from Uruguay. Check List 16 (5): 1277–1282. <https://doi.org/10.15560/16.5.1277>

Introduction

In South America, the genus *Catadiscus* Cohn, 1904 has a total of 16 known species which infect the intestinal tract of reptiles, amphibians and mollusks (two species from reptiles, 10 from amphibians, three known to infect both, and one reported in a mollusk) (Freitas 1943; Lent et al. 1946; Freitas and Dobbin 1956; Mañé-Garzón and Gortari 1965; Suriano 1970; Ostrowski 1978; Corrêa and Artigas 1979; Incorvaia 1983; Hamann 1992; Hamann et al. 2014). Particularly in Uruguay, three species have been reported: one from reptiles (*Catadiscus dolichocotyle* Cohn, 1913 in *Liophis miliaris* (Linnaeus, 1758) and *Chironius fuscus* (Linnaeus, 1785)), and two from

amphibians (*Catadiscus corderoi* Mañé-Garzón, 1958 in *Pseudis meridionalis* Miranda-Ribeiro, 1926 and *Pseudis minutus* Günther, 1858; and *Catadiscus uruguayensis* Freitas & Lent, 1939 in *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815)) (Freitas and Lent 1939; Mañé-Garzón and Gortari 1965). These hosts, specifically the amphibian ones, can be found in habitats associated with freshwater ecosystems, such as wetlands and temporary ponds, where tadpoles cohabit with teleost known as annual fishes.

Annual fishes (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) stand as an attractive model worldwide for several topics including evolution and genetics, as well as being