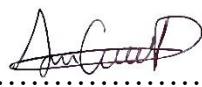




Tesina de Grado en Ciencias Biológicas

PARÁSITOS DE PECES COMO BIOINDICADORES DE CALIDAD AMBIENTAL EN EL RÍO SUQUÍA, CÓRDOBA, ARGENTINA

Tesinista: Delfina San Cristóbal

Firma 

Directora: Dra. Carmen Gilardoni

Firma 

Co-directora: Dra. Andrea Hued

Firma 

Instituto de Biología de Organismos Marinos (IBIOMAR CCT CONICET-
CENPAT), Cátedra de Diversidad Biológica IV (UNC-FCEFyN)

Año 2023


Tesina de Grado en Ciencias Biológicas

Título:

*“Parásitos de peces como bioindicadores de calidad ambiental en el Río Suquía,
Córdoba, Argentina”*

Tribunal examinador:


Nombre y apellido: Dra. Noelia Guyón


Firma.....

Nombre y apellido: Dra. Luciana Torre


Firma.....

Nombre y apellido: Dra. Paola Lax


Firma.....

Calificación: 10

Fecha: 18/12/23

ÍNDICE

RESUMEN	4
SUMMARY	5
INTRODUCCIÓN	6
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS	10
Sitios de estudio.....	10
Caracterización de la calidad del agua.....	11
Recolección de <i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	11
Procesamiento de peces.....	12
Estudios parasitológicos.....	14
Análisis moleculares.....	14
Censo de aves.....	16
Análisis cuantitativos.....	16
RESULTADOS	18
Caracterización de la calidad del agua	18
Condición de los peces	20
Índice de Condición de Fulton.....	20
Análisis histológico.....	20
Identificación y descripción de parásitos	23
Clase Trematoda.....	25
Clase Monogenea.....	33
Clase Cestoda.....	34
Clase Gordiida.....	36
Análisis cuantitativos	38
Índices de diversidad y similitud.....	38
Modelos lineales generalizados.....	39
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIÓN	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

RESUMEN

El incremento de la contaminación ambiental sobre los cuerpos de agua dulce, nos impulsa a buscar herramientas efectivas para detectar la calidad de los mismos. El objetivo de este trabajo fue evaluar si los parásitos en la especie nativa *Cnesterodon decemmaculatus*, de la cuenca del Río Suquía, pueden constituirse como bioindicadores de calidad ambiental. Para ello, se seleccionaron cuatro sitios a lo largo de un gradiente de contaminación, se colectaron 30 peces en cada uno y se realizaron estudios morfológicos, moleculares y cuantitativos de la parasitofauna. Además, se calculó el Índice de Condición de Fulton e Índices Histopatológicos en los peces, y el Índice de Calidad del Agua e Índices de Diversidad Biológica de los parásitos y aves asociadas a ambientes acuáticos. Se hallaron seis especies de parásitos: cuatro pertenecientes al phylum Platyhelminthes (tres de la clase Digenea, una de Monogenea y una de Cestoda) y una del phylum Nematomorpha (clase Gordiida). La mayor diversidad de digeneos, se observó en los sitios con mayor diversidad de aves e invertebrados, indicando una estrecha relación con los hospedadores de sus ciclos de vida. El monogeneo solo se detectó en el sitio de menor calidad. El cestodo se halló en tres de los cuatro sitios, sin revelar relación con el gradiente mientras que el nematomorfo sólo estuvo presente en los sitios con mayor calidad del agua. La menor diversidad de parásitos se registró en el sitio con mayor urbanización. En conclusión, diferentes factores (calidad del agua, urbanización, diversidad de hospedadores) afectan a los ensamblajes parasitarios y a las especies, destacando el potencial de los parásitos como bioindicadores de calidad ambiental.

Palabras claves: parásitos, peces, bioindicadores, contaminación, Río Suquía.

SUMMARY

Freshwater environmental pollution increase has led to search effective tools to assess the water quality of aquatic resources. The aim of this study was to evaluate whether parasites from the fish native species *Cnesterodon decemmaculatus* can serve as bioindicators in the Suquía River basin. A total of 30 individuals were collected at four sites along a pollution gradient. Morphological, molecular, and quantitative studies of the parasitofauna was performed. Additionally, Fulton's Condition and Histopathological Indices on fish, as well as the Water Quality and Biological Diversity Indices of parasites, and birds associated with water systems, were calculated. Six parasitic species were found: four belonging to the phylum Platyhelminthes (three from the class Digenea, one from Monogenea and one from Cestoda) and one belonging to the phylum Nematomorpha (class Gordiida). The highest diversity of digeneans was observed in sites with higher diversity of birds and invertebrates, indicating a close relationship with the hosts of their life cycles. The monogenean was only recorded in the lowest-quality site. The cestode was found in three out of four sites, without revealing a relationship with the pollution gradient. The nematomorph was only present in sites with higher water quality. The lowest parasite diversity was recorded in the most urbanized site. Summarizing, different factors (water quality, urbanization, host diversity) affect parasite assemblages and species, highlighting the potential of parasites as bioindicators of environmental quality.

Keywords: parasites, fish, bioindicators, pollution, Suquía River.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el crecimiento demográfico y el consecuente aumento de actividades humanas, ha generado una gran alteración de los ecosistemas de agua dulce en el mundo. Principalmente los procesos físicos, químicos y biológicos son los que se ven afectados y, de esta manera, también la biota residente (Hued y Bistoni, 2005). En ese sentido, resulta imprescindible innovar en técnicas o herramientas que nos permitan caracterizar y evaluar dichos ecosistemas y, en consecuencia, facilitar un acercamiento al área y permitir el estudio de los mismos. En particular, los bioindicadores de calidad ambiental resultan de gran importancia, ya que su principal ventaja es la de presentar una gran sensibilidad a los cambios externos, permitiendo estimar el deterioro ambiental; además su utilización resulta de bajo costo, a diferencia de otros indicadores físicos o químicos. Desde hace varias décadas, los parásitos han sido reconocidos y utilizados como bioindicadores de impacto antrópico debido a la importancia funcional sobre las comunidades animales (Poulin, 1999). En particular, los parásitos de peces pueden reflejar sus hábitos alimenticios incluyendo interacciones con comunidades de organismos bentónicos, macroinvertebrados y otros peces y, por otro lado, el rol de los hospedadores en las redes tróficas, ya que pueden contener larvas que se transmiten a otros vertebrados (peces, aves, mamíferos) al ser depredados. Así, el ensamble de parásitos puede ser evaluado no solo en la influencia sobre la salud de los peces, sino también en los cambios de diversidad, abundancia, prevalencia o riqueza de especies de parásitos en función al estrés ambiental (Landsberg y col., 1998).

El monitoreo de los efectos de contaminantes sobre los organismos puede ser abordado de forma muy efectiva y poco costosa teniendo en cuenta el estudio de su parasitofauna. Los parásitos presentan varias ventajas que les permiten ser utilizados como bioindicadores. Estos organismos poseen ciclos de vida complejos con alternancias de diferentes estadios de desarrollo, que presentan determinados requerimientos biológicos para su transmisión y supervivencia. Por lo tanto, una misma especie puede servir como indicadora a distintos niveles, ya que su ciclo puede involucrar varios taxones, abarcando un nivel ecológico bastante amplio. Sin embargo, las respuestas de diferentes grupos taxonómicos pueden ser múltiples; mientras algunos parásitos son extremadamente sensibles a los cambios externos del ambiente (por causas naturales o antrópicas), otros pueden presentar resistencia e incrementar en número en ambientes contaminados (Lafferty, 1997). Como regla general, las poblaciones de endoparásitos con ciclos de vida indirectos tienden a disminuir y los ectoparásitos con ciclos de vida directos tienden a aumentar en ambientes expuestos a

polución (Mackenzie, 1999). A su vez, los contaminantes pueden actuar sobre los parásitos de manera directa cuando entran en contacto con los estadios de vida libre o con los adultos en el tracto digestivo, o indirectamente, afectando a los hospedadores involucrados en sus ciclos de vida. Por su parte, las respuestas de los ectoparásitos también pueden diferir frente a la presencia de contaminantes. Algunos, al estar en contacto directo constante con los contaminantes, han desarrollado evolutivamente flexibilidad y resistencia a los cambios en el ambiente; en consecuencia, son más tolerantes a modificaciones en la calidad ambiental que sus hospedadores (Mackenzie, 1999). Sin embargo, se han encontrado respuestas diferentes en donde contrariamente se observa una mayor sensibilidad de los ectoparásitos en sitios contaminados (Sures y col., 2017).

Ciertas especies o estadios de parásitos pueden ser bioindicadores y de esta manera, al igual que con otros organismos indicadores, es posible utilizar a cada taxón de manera individual, por ejemplo, en el análisis de los efectos directos de los contaminantes hacia los estadios de vida libre de digeneos (Pietroock y Marcogliese, 2003; Hua y col., 2016) o la respuesta de ciertos contaminantes en una especie de nematomorfo (Achiorno y col., 2008). Sin embargo, el abordaje de parásitos como bioindicadores puede realizarse también, evaluando los efectos a nivel de ensamblajes y comunidades parasitológicas, utilizando componentes como riqueza de especies y diversidad, de acuerdo a diferentes condiciones ambientales (Halmetoja y col., 2000; Bertora y col., 2021).

Por su parte los peces, hospedadores de diversos parásitos, también son utilizados como bioindicadores ya que constituyen un grupo altamente representativo en los sistemas acuáticos; cumplen un rol clave en la dinámica ecológica de las comunidades debido a las posiciones que pueden presentar en la cadena trófica y, además, algunas de sus especies poseen un alto valor económico (Fausch y col., 1990). Una de las especies más utilizadas como bioindicadora en el ámbito de la ecotoxicología, es *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae, Cyprinodontiforme) (Bonifacio y col., 2016; Zambrano y col., 2018). Es endémica de América Neotropical, abarcando un área que comprende a Argentina, Uruguay y Brasil (Lucinda, 2005). Particularmente en nuestro país, es una especie muy bien representada, teniendo una amplia distribución y abundancia en ríos, arroyos y lagunas, principalmente de la región pampeana (Liotta, 2005). Ha sido utilizada como bioindicadora en diversas investigaciones llevadas a cabo en cuerpos de agua de Argentina (Zambrano y col., 2018; Rautenberg y col., 2022). En estos trabajos se puso de manifiesto su tolerancia

frente a ambientes degradados (Hued y Bistoni, 2005). Lo expuesto justifica la consideración de estos peces como probables hospedadores, permitiéndonos estudiar la parasitofauna de los mismos, tanto en ambientes alterados como en aquellos que presentan buena calidad del agua.

En los últimos años se han realizado estudios sobre el impacto de diferentes tipos de contaminantes en peces de la cuenca del río Suquía (Córdoba, Argentina) y cómo estos peces pueden ser buenos indicadores (Merlo y col., 2011; Maggioni y col., 2012; Rautenberg y col., 2015). Esta cuenca pertenece a un sistema aún mayor cuya desembocadura es parte de uno de los humedales más importantes de Argentina; junto a las desembocaduras de los ríos Xanaes y Dulce y la Laguna Mar Chiquita conforman un sistema que sostiene una gran diversidad acuática y terrestre que se distribuye en un rango de ambientes dulceacuícolas y mixohalinos. Esta zona fue declarada como sitio Ramsar para su conservación a nivel mundial, debido a la alta biodiversidad que la caracteriza (Ramsar Convention Bureau, 2002). Sin embargo, a pesar de esto, no escapa al incremento del impacto ambiental producto de actividad antrópica (crecimiento poblacional, actividad industrial y agrícola). La región más gravemente afectada corresponde a las secciones media y baja de la cuenca del Río Suquía, provocando alteraciones significativas en la distribución y abundancia de los peces, así como también en sus parámetros fisiológicos, como consecuencia del deterioro ambiental (Hued y Bistoni, 2005; Hued y col., 2012; Rautenberg y col., 2015; Zambrano y col., 2018).

Hasta el momento, en Argentina, la información acerca de parásitos de peces como indicadores de disturbios antrópicos, sigue siendo escasa, a pesar del constante incremento de investigaciones en esta área (Revenge y col., 2005; Sueiro y col., 2017; Taglioretti y col., 2018; Tammone y col., 2019; Bertora y col., 2021). En particular, en el trabajo de Taglioretti y col. (2018) se registró mayor abundancia de algunos parásitos en los sitios más urbanizados y Bertora y col. (2021) observaron una disminución de la diversidad de los ensamblajes parasitarios en cursos de agua más contaminados.

En la provincia de Córdoba, en la cuenca del Río Suquía, la fauna parasitaria de peces y su relación con ambientes alterados, no ha sido investigada aún. Por ello cobra relevancia conocer las respuestas de estos organismos y de las interrelaciones bióticas que puedan ocurrir. Debido a lo expuesto, la implementación del estudio de los parásitos en el monitoreo del estado de salud de dicha cuenca, aportará nuevos conocimientos que brindarán información útil para resolver problemáticas, manejar áreas que involucran la pérdida de

biodiversidad y aspectos relacionados a la salud pública. A su vez, se abordará una temática que tiene pocos antecedentes en nuestro país y que permitirá un fuerte trabajo interdisciplinario, desde diferentes áreas del conocimiento (parasitología, ictiología, ecotoxicología, entre otras).

OBJETIVO GENERAL

Determinar las asociaciones parásito-hospedador de la especie íctica nativa *Cnesterodon decemmaculatus* y establecer si los parásitos registrados pueden constituirse como bioindicadores de calidad del agua a lo largo de un gradiente de contaminación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Determinar por métodos morfológicos los macroparásitos (helmintos y crustáceos) hallados en *C. decemmaculatus* y caracterizar los ensambles parasitarios a lo largo del gradiente de contaminación ambiental del sistema en estudio.
- 2- Determinar por métodos moleculares los trematodes digeneos hallados en *C. decemmaculatus*.
- 3- Identificar por métodos histológicos los microparásitos (protozoos) y las patologías en órganos, tales como hígado, intestino, branquias de los peces analizados.
- 4- Determinar la calidad del agua en cada sitio de muestreo.
- 5- Comparar los ensambles parasitarios entre sitios contaminados y de referencia a lo largo del gradiente ambiental en la cuenca.
- 6- Establecer asociaciones entre parámetros de calidad ambiental, del hospedador (índice de condición, alteraciones histopatológicas), de potenciales hospedadores involucrados en el ciclo de vida de los parásitos (riqueza, diversidad y abundancia de aves) y de los parásitos (prevalencia, abundancia, riqueza y diversidad).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de estudio

La cuenca del río Suquía está localizada en la región central de la provincia de Córdoba, Argentina. Particularmente, el río nace en el dique San Roque y desemboca en la laguna Mar Chiquita; corre aproximadamente 35 km antes de pasar por la ciudad de Córdoba y otros 150 km más desde este punto hasta llegar a la laguna. A lo largo del río, se seleccionaron cuatro sitios de muestreo (Figura 1) en base a un gradiente de contaminación determinado en investigaciones previas (Bistoni y col., 1999; Pesce y Wunderlin, 2000; Hued y Bistoni, 2005; Zambrano y col., 2018): **1-** Río Yuspe (Y) ($31^{\circ}14'S$; $64^{\circ}31'O$) (a 70 km de la ciudad de Córdoba), correspondiente al sitio de referencia, **2-** La Calera (LC) ($31^{\circ}21'S$; $64^{\circ}21'O$) (20 km, antes de la ciudad de Córdoba), **3-** Isla de los Patos (IDP) ($31^{\circ}24'S$; $64^{\circ}12'O$) (ciudad de Córdoba) y **4-** Desembocadura del Río Suquía (DRS) ($30^{\circ}54'S$; $62^{\circ}52'O$) (a 160 km de Córdoba). En época de caudales bajos (Mayo/Julio de 2022), en cada uno de los sitios se procedió a recolectar muestras de agua y a realizar la captura de ejemplares, tal como se detalla en los siguientes apartados.

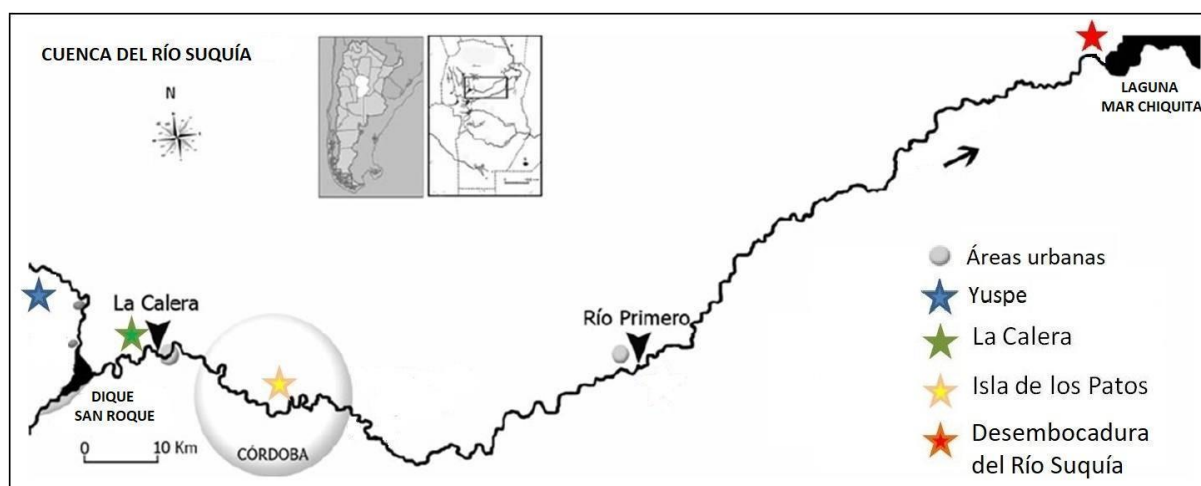


Figura 1. Sitios de muestreo a lo largo de la cuenca del Río Suquía (mapa extraído y modificado de Maggioni y col., 2012). La flecha indica el sentido de la corriente de agua.

Caracterización de la calidad del agua

En cada sitio de estudio se tomaron muestras de agua, las cuales fueron trasladadas al laboratorio, donde se procedió a medir diferentes variables físicas y químicas según técnicas estándar (APHA, 1998): oxígeno disuelto (mg/L), demanda biológica de oxígeno (DBO) (mg/L), dureza (mg/L), amonio (mg/L), nitritos (mg/L), nitratos (mg/L), cloruros (mg/L), magnesio (mg/L), sulfatos (mg/L), fósforo (mg/L), calcio (mg/L), sólidos disueltos y totales (mg/L), coliformes totales (NMP/100 ml), pH y temperatura (°C). A partir de estas variables, se calculó el Índice de Calidad del Agua (ICA), según Pesce y Wunderlin (2000) quienes lo propusieron específicamente para evaluar la calidad del Río Suquía. Este índice arroja un valor que varía de 0 a 100, indicando este último valor la mejor calidad de agua. Debido a inconvenientes en la medición de los pesticidas por parte del laboratorio encargado de la realización de los mismos y dado que en los últimos años se han realizado monitoreos frecuentes de pesticidas en la cuenca del Río Suquía, se decidió caracterizar las aguas de la cuenca de acuerdo a las concentraciones reportadas de plaguicidas a partir de los trabajos de los últimos años (Rautenberg y col., 2022; Bertrand y col., 2023; Zambrano, 2023).

Recolección de *Cnesterodon decemmaculatus*

La captura de machos y hembras de *C. decemmaculatus* (Figura 2) se llevó a cabo utilizando redes de mano. Se recolectaron entre 13 y 30 individuos en cada sitio de estudio (un total de 103 peces), de acuerdo a la disponibilidad de ejemplares en cada ambiente. Los mismos fueron transportados vivos al laboratorio y dispuestos en peceras acondicionadas, hasta el momento de su procesamiento.



Figura 2. Macho adulto de *Cnesterodon decemmaculatus* (extraída de Akva.sk).

Procesamiento de peces

Para el procesamiento de las muestras, los individuos fueron sacrificados por decapitación. Este procedimiento contó con la aprobación de la Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Acta N° 24/2021, IDEA-CONICET). Luego, fueron pesados y se midió la longitud total y estándar de cada uno de ellos. A partir de estos parámetros se calculó el Factor de Condición de Fulton (K) a fin de determinar el estado de salud general de los ejemplares (Van der Oost y col., 2003):

$$K = P/LE^b$$

donde P es el peso corporal húmedo (g), LE es el largo estándar (mm) y b es la pendiente de la relación longitud/peso (hembras: b= 3,12; machos: b= 2,73) (Zambrano, 2023).

Posteriormente, utilizando una lupa, se procedió a la extracción de diferentes órganos y/o tejidos, con el fin de realizar la observación preliminar de los parásitos presentes y conservar muestras para el procesamiento y análisis histológico. Para ello, muestras de hígado, intestino y branquias de siete peces por sitio, fueron fijadas con solución Davidson y procesadas a través de técnicas histológicas de rutina (tejido embebido en parafina, cortado a 4-6 µm de espesor y teñido con hematoxilina y eosina). Dicho procedimiento fue realizado por personal del Laboratorio de Histología del CCT CONICET-CENPAT. Los preparados obtenidos fueron observados bajo microscopio óptico (MO) para evaluar alteraciones histológicas. Luego, se calcularon índices semicuantitativos de daños histológicos en hígado y branquias, según Bernet y col. (1999) y modificados por Maggioni y col. (2012) y Rautenberg y col. (2015). Para ello, se seleccionaron cinco áreas al azar sobre el hígado de cada individuo. Dentro de cada una se contabilizaron las alteraciones histológicas y se estimó el porcentaje de superficie ocupado por las mismas. Para el análisis histológico de branquias se también se tomaron al azar, cinco laminillas primarias por individuo. A su vez, de cada una se seleccionaron diez laminillas secundarias y se contabilizaron las alteraciones histológicas, estimando el porcentaje de daño.

En cada área seleccionada, las alteraciones histológicas registradas se clasificaron en cuatro *patrones de reacción (Pr)*: disturbios circulatorios, cambios regresivos, cambios progresivos e inflamación. Por otra parte, se asignó un *factor de importancia* patológica a cada lesión o alteración (W) siendo mínima (W=1, lesión reversible cuando la exposición al tóxico finaliza y las condiciones de calidad del medio mejoran, estas alteraciones pueden desaparecer y

recuperar el órgano su estructura normal), moderada ($W=2$, lesión sólo reversible si la toxicidad es neutralizada) o marcada ($W=3$, lesión irreversible, aún si la toxicidad o el daño cesó). Por otro lado, el grado de extensión de la alteración en el órgano, se estimó a través del *valor de ocurrencia* (a), que toma valores de 0 a 8, siendo el 8 la afección más extendida dentro de cada órgano analizado. Los valores de ocurrencia fueron ordenadas en intervalos, otorgando a cada uno una categoría (Tabla 1).

Tabla 1. Valor de ocurrencia (a) de acuerdo a la extensión del daño (%): 0: nulo, 2: bajo, 4: medio, 6: moderado, 8: severo. Los valores de ocurrencia fueron agrupados en 3 categorías (A, B y C) de acuerdo a la gravedad de las lesiones registradas.

Categoría	Valor de ocurrencia				
	0	2	4	6	8
A	0-1%	1,1-10%	10,1-20%	20,1-30%	> 30%
B	0-5%	5,1-15%	15,1-25%	25,1-50%	> 50%
C	0-5%	5,1-25%	25,1-50%	50,1-75%	> 75%

De acuerdo a los valores de W y a se estimaron los siguientes índices histopatológicos:

Índice histopatológico por órgano (IH_{org}): permite cuantificar el grado de lesión de cada órgano, al realizar la sumatoria del producto entre W y a , para cada alteración registrada en el órgano analizado. De esta manera se calculó para cada individuo un índice para hígado ($IH_{Híg}$) y otro para branquias (IH_{Br}):

$$IH_{org} = \sum IH_{Org.pr}$$

Índice histopatológico total (IH_{Total}): representa el estado general del pez al considerar las lesiones registradas para todos los órganos estudiados:

$$IH_{Total} = \sum IH_{Híg} + IH_{Br}$$

Por último, el valor de cada índice fue relativizado al máximo valor posible que puede alcanzar cada uno de acuerdo a las patologías registradas, la importancia y extensión de cada una de ellas. Esto permitió realizar comparaciones entre sitios y con otros estudios realizados anteriormente.

Estudios parasitológicos

Todos los órganos de los peces, así como la superficie corporal, aletas, ojos, opérculos y cavidad bucal y branquial fueron examinados bajo microscopio estereoscópico en búsqueda de macroparásitos. Se extrajeron todos los órganos con los fines de ser cuidadosamente prospectados bajo lupa: músculo (filete), hígado, branquias, tracto digestivo, corazón, cerebro y gónadas. Los parásitos hallados fueron observados *in vivo* bajo MO, utilizando colorantes vitales como azul de Nilo o rojo neutro con el fin de realizar su identificación preliminar.

Los ejemplares fueron identificados y determinados taxonómicamente mediante bibliografía especializada (Yamaguti, 1963; Khalil y col., 1994; Gibson y col., 2002; Hanelt y col., 2005; Bray y col., 2008). Algunos especímenes de cada especie hallada fueron fijados en solución buffer de formol al 10% y conservadas en etanol 70% luego de 48 h. Los mismos fueron teñidos con carmín acético, deshidratados en una serie progresiva de etanoles (70%, 80%, 90%, 96%, 100%), diafanizados con metilsalicilato y montados con bálsamo de Canadá sintético entre porta y cubreobjetos. Estos preparados definitivos fueron observados y fotografiados al MO. A partir de las fotografías se tomaron medidas (μm) de las estructuras diagnósticas, indicando el promedio y el rango (mínimo-máximo). Para cada especie de parásito se calcularon los siguientes parámetros de infección, según Bush y col. (1997):

Prevalencia (P): número de hospedadores infectados sobre el total de hospedadores examinados, expresada en porcentaje (%).

Intensidad Media (IM): número de parásitos hallados sobre el total de hospedadores infectados.

Abundancia Media (AM): número de parásitos hallados sobre el total de hospedadores examinados.

Análisis moleculares

Los estudios moleculares fueron realizados solamente en las especies de digeneos por miembros del Laboratorio de Parasitología (IBIOMAR, CCT CONICET-CENPAT). Se realizaron extracciones de ADN utilizando un kit comercial GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma, St. Louis, Missouri), siguiendo las instrucciones del kit para muestras de tejidos. Se realizaron amplificaciones de las regiones ITS2 y 28S del ADN ribosomal (ADNr) mediante reacciones en cadena de la polimerasa (PCRs). Las PCRs

se realizaron en un volumen de 50 µl que incluyó solución buffer 10X (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 500 mM KCl), 0.2 mM de cada dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 µM de cada cebador y 1 U de Taq polimerasa Platinum. En cada reacción se sembraron 2 µl de ADN. Los cebadores utilizados para amplificar la región ITS2 fueron “forward primer 5.8S-ITS2: 5'-GCTCGTGTGTCGATGAAGAG-3'”, situada 114 pb del extremo 3' de la región 5.8S y “reverse primer ITS2-28S: 5'-AGGCTTCGGTGCTGGGCT-3'”, situado 34 pb del extremo 5' de la región. Los cebadores utilizados para amplificar la región 28S fueron “forward primer 28S-28S: 5'-GTGAATACCCGCTGAACTTAAGC-3'”, situado a 16 pb del extremo 3' de la región 28S y “reverse primer 28S-28S: 5'-TCTCCTTGGTCCGTGTTTCAA-3'” situado a 868 pb del extremo 5' de la región 28S (Pina, 2011) (Figura 3).

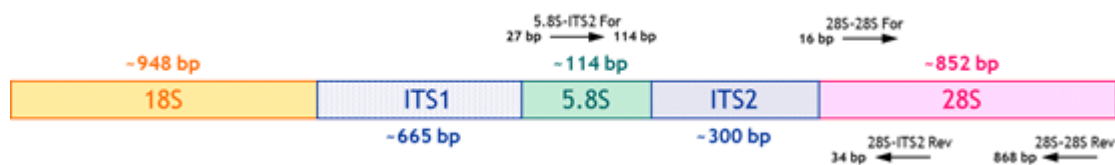


Figura 3. Esquema de las regiones 18S, ITS1, 5.8S, ITS2 y 28S del ADN ribosomal y los cebadores utilizados para amplificar las regiones ITS2 y 28S. Extraído de Pina (2011).

Las PCRs fueron realizadas en un termociclador con las siguientes condiciones de ciclado:

- 28S: 5 min de desnaturalización a 94 °C; 40 ciclos durante 30 seg a 94 °C, 30 seg a 52 °C, 2 min a 72 °C; y una extensión final por 10 min a 72 °C.
- ITS2: 5 min de desnaturalización a 94 °C; 40 ciclos durante 30 seg a 94 °C, 30 seg a 56 °C, 2 min a 72 °C; y una extensión final por 10 min a 72 °C.

Los productos de las PCRs fueron separados mediante electroforesis a 120V en un gel de agarosa 1% teñido con gel Green. En cada corrida se incluyó un control negativo para visualizar una posible contaminación. Los productos de PCR que arrojaron bandas positivas fueron enviados a purificar y secuenciar a MacroGen, Corea (<https://dna.macrogen.com/>). Se obtuvieron dos secuencias para cada muestra positiva (forward y reverse) utilizando los mismos cebadores de las PCRs. Ambas secuencias fueron visualizadas, alineadas y procesadas utilizando los programas FinchTv (<http://www.geospiza.com/finchtv>) y MultiAlin (Corpet, 1988) de manera de obtener secuencias consenso de buena calidad con la mayor cantidad de pares de bases posibles. Las secuencias finales fueron depositadas en GenBank y se buscaron similitudes genéticas con secuencias disponibles utilizando la plataforma BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Censo de aves

Dado que las aves son potenciales hospedadores definitivos de ciclos de vida de algunos de los grupos de parásitos hallados (digeneos y cestodos), la determinación de su diversidad y abundancia puede ser clave para interpretar la diversidad de parásitos (Hechinger y Lafferty, 2005). Por esta razón, se realizaron puntos de conteos en cada sitio de estudio de aves íntimamente asociadas a cuerpos de agua, determinadas a partir de su dieta (peces y moluscos) y hábitat frecuente (orillas). Se consideró un radio de 50 m para los puntos de conteos y estos fueron distribuidos en la ribera del río. Se establecieron al menos 10 puntos de conteo por sitio, separados por una distancia mínima de 100 m entre ellos. En cada punto se identificaron las especies observadas y/o escuchadas y se contó el número de individuos por especie durante un período de 15 min, de manera tal de obtener una estimación puntual de la riqueza y abundancia de las especies detectadas (Bibby y col., 2000). El censo de aves fue realizado por el Dr. David Vergara-Tabares, perteneciente al Grupo de Ecología y Ecofisiología de Aves del IDEA (CONICET-UNC).

Análisis cuantitativos

Para evaluar diferencias entre los índices de Condición de Fulton (K) y los índices histopatológicos (IH) de cada sitio se utilizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis (Siegel y Castellan, 1988).

Para cada pez y sitio de estudio se calculó la carga parasitaria (CP) como el número total de parásitos de todas las especies, la riqueza de especies parásitas (S), el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H), el índice de dominancia de Simpson (D) y los índices de similitud cualitativos (Jaccard y Sorensen) (Magurran, 2004). Los datos parasitológicos (S, H y CP) fueron analizados en función del sitio, largo total (LT) y sexo de los peces, utilizando Modelos Lineales Generalizados (MLG). Estos análisis fueron realizados mediante el software R (R Core Team, 2021). En cada caso, se plantearon los modelos más complejos posibles en base a una descripción previa de datos en la cual se incluyeron los efectos independientes e interacciones que tenían sentido biológico y mostraban algún patrón que pudiera ser significativo. La selección del mejor modelo se llevó a cabo mediante el criterio de información de Akaike (AIC) (Burnham y Anderson, 2004). Se tuvo en cuenta las distribuciones de las variables respuestas según su naturaleza y la sobredispersión de los datos. La CP y S se modelaron con una distribución binomial negativa y el H con una

distribución normal. La significancia de los modelos seleccionados se evaluó con un $p < 0.05$.

Para determinar si existen diferencias de los índices de diversidad H calculados para los parásitos totales y los que utilizan a aves como hospedadores definitivos, y para las aves, entre los sitios estudiados, se realizaron pruebas de *t* de Student para muestras independientes (Zhang y Wang, 2017).

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA

A partir de los parámetros físicos, químicos y biológicos medidos en cada sitio de muestreo, se estimó el ICA. Los valores obtenidos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Variables físicas, químicas y biológicas registradas en cada sitio de muestreo y el Índice de Calidad del Agua (ICA) asociado. Y: Yuspe; LC: La Calera; IDP: Isla de los Patos; DRS: Desembocadura del Río Suquia; DBO: Demanda Biológica de Oxígeno; DL: por debajo del límite de detección.

	Y	LC	IDP	DRS
pH	7,44	8,14	8,08	8,04
Temperatura	11,87	17,57	16,73	10,16
Oxígeno disuelto	8,88	10,01	8,49	9,1
DBO	0,65	0,88	0,3	1,72
Dureza	32,3	150,1	48,2	305
Amonio	0,13	0,17	0,17	0,44
Nitritos	0,0007	0,0021	0,0313	0,0279
Nitratos	0,51	<DL	27,28	5,66
Cloruros	9,4	25,8	5,9	101
Magnesio	2,1	13,1	2,5	16,6
Sulfatos	16,2	27,6	267,1	274,4
Fósforo	<DL	<DL	<DL	1,17
Calcio	9,5	38,5	15,1	94,5
Sólidos disueltos	24	91	358	634
Sólidos totales	75,2	126	476	1124,8
Coliformes totales	370	4e ³	12e ³	4300
ICA	88,1	85,9	71,6	66,3

Los valores de ICA de cada sitio, evidenciaron el gradiente de calidad existente a lo largo de la cuenca del Río Suquía, donde Y fue el sitio con mejor calidad del agua mientras que el sitio con más baja calidad correspondió a DRS. El gradiente queda demostrado también en parámetros, tales como amonio, nitritos, sulfatos y sólidos disueltos y totales.

A partir de los trabajos recientes llevados a cabo por Rautenberg y col. (2022), Zambrano (2023) y Bertrand y col. (2023) quienes midieron pesticidas en diferentes tramos de la cuenca, se realizó un listado de dichas sustancias a fin de contribuir a la caracterización del estado general de la cuenca (Tabla 3)

Tabla 3. Pesticidas detectados y reportados por trabajos recientes, a lo largo de la cuenca del Río Suquía. (1) Rautenberg y col., 2022; (2) Zambrano, 2023; (3) Bertrand y col., 2023. Los nombres destacados en negrita indican valores superiores al límite establecido para la protección de la biota acuática según las Guías Canadienses de Calidad del Agua (CCME, 2014) o según las Guías Argentinas de Calidad Ambiental del Agua (SRHN, 2004).

Pesticidas registrados en la cuenca del Río Suquía

2,4-D ^[3]	alfa-Clordano ^[1]	alfa-Hexaclorociclohexano ^[1]
4,4'-DDE ^[1]	Clorobencilato ^[1]	d-Hexaclorociclohexano ^[1]
4,4'-DDT ^[1]	Cloroneb ^[1]	g-Hexaclorociclohexano ^[1]
Acetoclor ^[3]	Clorpirifos ^[1,3]	cis-Permetrina ^[1]
Aldrin ^[1]	Dicamba ^[3]	trans-Permetrina ^[1]
AMPA ^[3]	Dieldrin ^[1]	Pirimifos metil ^[2]
Atrazina ^[2,3]	Endrina aldehído ^[1]	Propacloro ^[1]
Azoxistrobina ^[3]	Glifosato ^[3]	Tebuconazole ^[3]
Carbendazim ^[3]	Heptacloro ^[1]	Trifluralina ^[1]
alfa-Cipermetrina ^[3]	Hexaclorobenceno ^[1]	

CONDICIÓN DE LOS PECES

Índice de Condición de Fulton (K)

La condición general de los individuos, evaluada a través del índice K no mostró diferencias significativas en machos provenientes de los diferentes sitios en la cuenca. Por su parte, en hembras, se observaron diferencias en los valores de K (Tabla 4), presentando valores más altos en la DRS) y LC, mientras que los menores se registraron en Y e IDP.

Tabla 4. Valores promedios del Índice de Condición de Fulton (K) y su error estándar asociado para cada sitio, diferenciados en hembras (H) y machos (M). Medias con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($p > 0,05$). Y: Yuspe; LC: La Calera; IDP: Isla de los Patos; DRS: Desembocadura del Río Suquia.

	Y	LC	IDP	DRS
M	1,48 ± 0,12	1,67 ± 0,23	1,62 ± 0,23	1,65 ± 0,20
H	1,23 ± 0,39 ^A	1,45 ± 0,21 ^{B C}	1,37 ± 0,32 ^{A B}	1,53 ± 0,26 ^C

Análisis histológico

A partir del análisis histológico realizado se registraron diferentes alteraciones tisulares en los órganos estudiados. En la Tabla 5 se muestran las patologías observadas en branquias e hígados, el patrón de reacción al que pertenece cada una de ellas, su factor de importancia (W) y la categoría asociada de acuerdo a la extensión de las mismas (a) (categorías explicitadas en Tabla 1, página 11).

Tabla 5. Patrones de reacción y alteraciones histológicas halladas en los órganos de los peces analizados, asociadas a su factor de importancia (W) y clasificadas en tres categorías diferentes de acuerdo a sus valores de ocurrencia (a) (A, B y C; ver Tabla 1).

Patrón de reacción	Órgano /Alteraciones histológicas	W	Categoría valor a
Disturbios circulatorios	Hígado		
	Hemorragia	1	A
	Dilatación de sinusoides	1	C
	Congestión vascular	1	C
	Branquia		
	Congestión vascular de canales marginales	1	C
	Aneurisma	1	C

Cambios regresivos	Hígado		
	Degeneración hidrópica	1	C
	Metamorfosis grasa	2	B
	Picnosis de células hepáticas	2	A
	Fibrosis	3	A
	Necrosis	3	A
	Branquia		
	Estiramiento de células pavimentosas	1	C
	Fusión del extremo distal de laminillas secundarias vecinas	2	C
	Acortamiento de laminillas secundarias	2	B
Cambios progresivos	Branquia		
	Hipertrofia de células de cloro	1	C
	Hipertrofia de células pavimentosas	1	C
	Proliferación de células mucosas	2	C
	Proliferación de células de cloro	2	C
	Hiperplasia de células pavimentosas	2	B
Inflamación	Branquia		
	Infiltración leucocitaria	2	C

De las afecciones registradas en hígado, las más frecuentes fueron la degeneración hidrópica y la congestión vascular en hígado (Figura 4), y en menor proporción: necrosis, picnosis, fibrosis y metamorfosis grasa (éstas dos últimas únicamente en peces de LC) (Figuras 4B, C). Por otro lado, en branquias, el estiramiento y la hiperplasia de células pavimentosas, la proliferación de células mucosas y la hipertrofia de células de cloro y pavimentosas fueron las afecciones más frecuentes (Figura 5). La infiltración leucocitaria, el aneurisma lamelar (en IDP y DRS), la fusión y acortamiento de laminillas secundarias y la necrosis (esta última únicamente en IDP) fueron las alteraciones registradas menos frecuentemente en estos órganos.

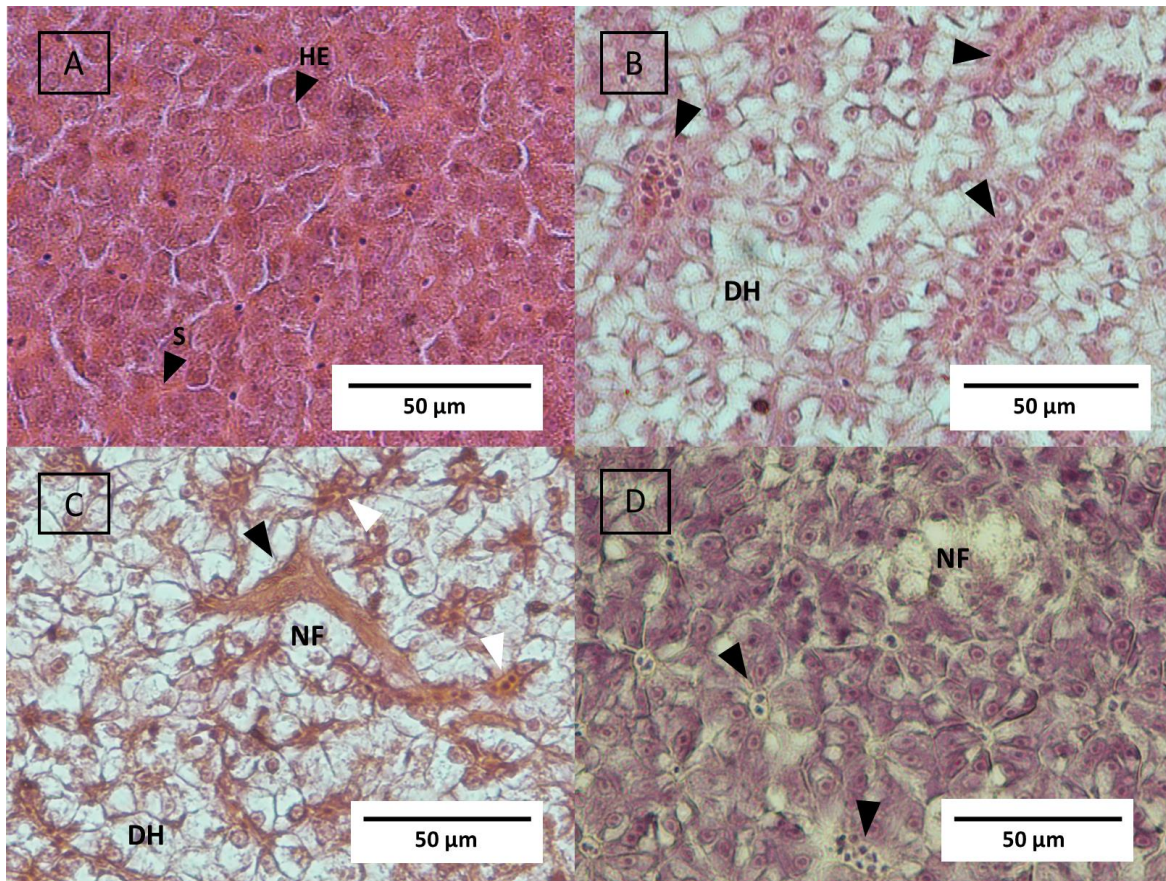


Figura 4. Alteraciones histológicas en hígado. A) Tejido hepático mostrando el parénquima normal, Yuspe (HE: hepatocito; S: sinusoide). B) Parénquima con degeneración hidrópica generalizada (DH) y congestión vascular (flechas negras), Isla de los Patos. C) Parénquima con degeneración hidrópica generalizada (DH), fibrosis (flecha negra), necrosis focal asociada (NF) y congestión vascular (flechas blancas), La Calera. D) Parénquima con degeneración hidrópica, necrosis focal (NF) y congestión vascular (flechas negras), Desembocadura del Río Suquía.

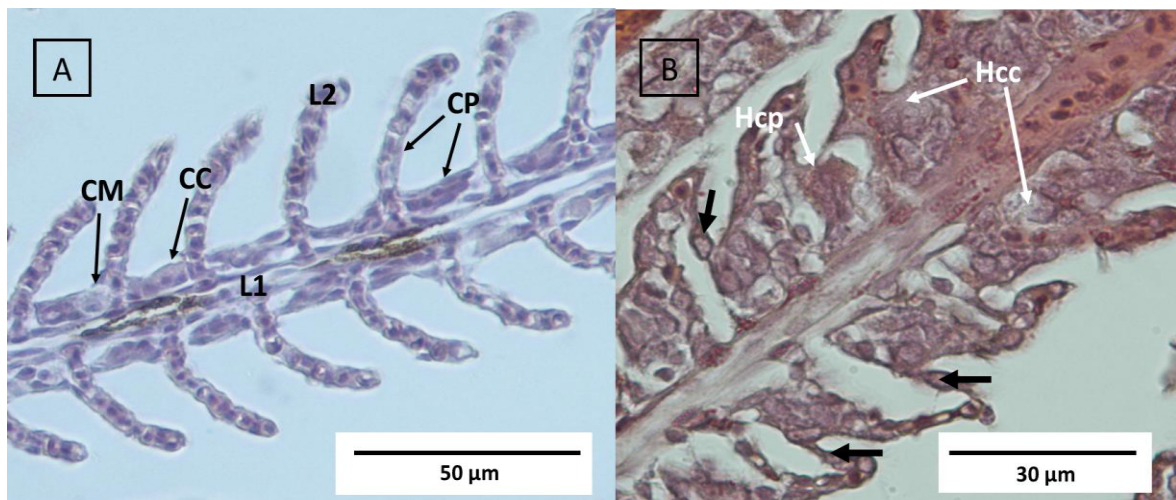


Figura 5. Alteraciones histológicas en branquias. A) Branquia normal, perteneciente a un individuo de Yuspe (CM: célula de moco; CC: célula de cloro; CP: células pavimentosas; L1: laminilla primaria; L2: laminilla secundaria). B) Branquia de un individuo de La Calera con múltiples alteraciones. Las flechas señalan hipertrofia de células pavimentosas y lifting (Hcc: hipertrofia de célula de cloro; Hcp: hiperplasia de células pavimentosas).

Aunque se detectaron alteraciones tisulares, los valores de los índices histopatológicos (IH_{Hig} y IH_{Br}) no presentaron diferencias significativas entre los sitios estudiados ($p = 0,2$ y $p = 0,9$ respectivamente). El mismo resultado se observó con el índice histopatológico total (IH_{Total}) ($p = 0,8$). Si bien no se registraron diferencias en los índices mencionados, los valores más altos del IH_{Br} se obtuvieron en los sitios IDP y LC y los menores en DRS y Y (Figura 6).

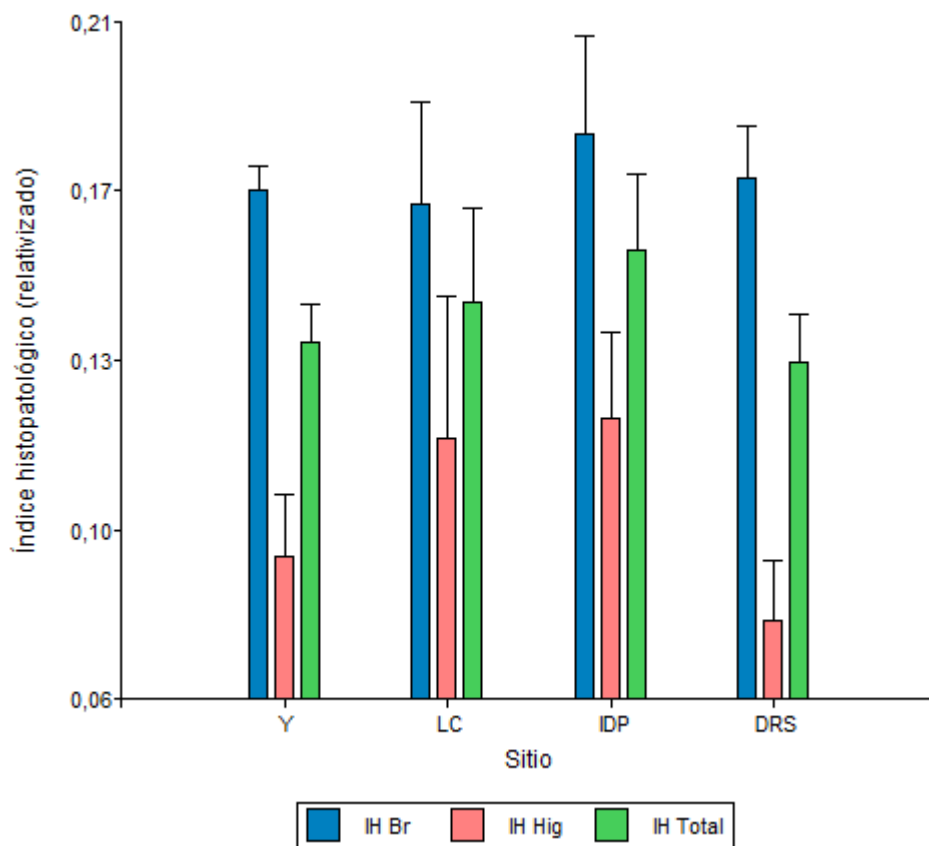


Figura 6. Valores relativizados y su desvío estándar de los índices histológicos de branquia (IH_{Br}), hígado (IH_{Hig}) y total (IH_{Total}), asociados a cada sitio de estudio. Y: Yuspe; LC: La Calera; IDP: Isla de los Patos; DRS: Desembocadura del Río Suquía.

IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE PARÁSITOS

En total se hallaron seis especies de parásitos en *C. decemmaculatus*. Cinco de ellas pertenecen al phylum Platyhelminthes: tres de la clase Trematoda (subclase Digenea, estadio metacercaria), una de la clase Monogenea (estadio adulto) y una de la clase Cestoda (estadio metacestode); y una especie del phylum Nematomorpha (clase Gordiida, estadio larval). Los

índices poblacionales de cada especie (prevalencia, abundancia media e intensidad media), correspondientes a cada sitio de estudio, se muestran en la Tabla 6. No se hallaron crustáceos en los peces examinados, ni tampoco protozoos parásitos en los preparados histológicos analizados.

Tabla 6. Índices parasitarios de las especies halladas en *Cnesterodon decemmaculatus* en cada sitio. Yuspe (Y); La Calera (LC); Isla de los Patos (IDP); Desembocadura del Río Suquíá (DRS); Prevalencia (P); Abundancia media (AM); Intensidad media (IM). Para AM e IM se indica: promedios \pm error estándar (rango). P se expresa en porcentaje (%).

		DIGENEA			MONOGENEA	CESTODA	GORDIIDA
		<i>Ascocotyle</i> sp.	<i>Posthodiplostomum</i> sp.	<i>Echinochasmus</i> sp.	<i>Gyrodactylus</i> sp.	Cyclophylidea	
Y	P	0	0	0	0	23,33	80
	AM	0	0	0	0	0,37 \pm 0,85 (0 - 4)	20,17 \pm 20,9 (0 - 90)
	IM	-	-	-	-	1,57 \pm 1,13 (1 - 4)	25,21 \pm 20,45 (2 - 90)
LC	P	70	20	26,67	0	0	40
	AM	13,4 \pm 14,55 (0 - 54)	0,2 \pm 0,41 (0 - 1)	1,87 \pm 4,22 (0 - 16)	0	0	3,5 \pm 7,65 (0 - 37)
	IM	19,14 \pm 13,83 (1 - 54)	1 \pm 0	7 \pm 5,71 (1 - 16)	-	-	8,75 \pm 10,20 (1 - 37)
IDP	P	0	0	0	0	10	0
	AM	0	0	0	0	0,13 \pm 0,43 (0 - 2)	0
	IM	-	-	-	-	1,33 \pm 0,58 (1 - 2)	-
DRS	P	7,69	15,38	0	23,08	23,07	0
	AM	0,08 \pm 0,28 (0 - 1)	0,15 \pm 0,38 (0 - 1)	0	0,54 \pm 1,20 (0 - 4)	0,23 \pm 0,44 (0 - 1)	0
	IM	1 \pm 0	1 \pm 0	-	2,33 \pm 1,53 (1 - 4)	1 \pm 0	-

Phylum Platyhelminthes

Clase Trematoda

Subclase Digenea

Familia Diplostomidae Poirier, 1886

Género *Posthodiplostomum* sp. Dubois, 1936

Posthodiplostomum sp.

Diagnosis: Metacercarias del tipo “Neascus”. Enquistadas (n= 3; Figura 7A): quiste suelto en el mesenterio (sin encapsulamiento por parte del hospedador), de forma ovalada, 655 μm (615 – 678) de largo, 382 μm (375 – 389) de ancho, con una pared fina de 6 μm (3 – 8) de espesor. Desenquistadas (n= 6; Figura 7B): largo total del cuerpo 496 μm (338 – 582), visiblemente bipartito. Región anterior de forma foliácea, 332 μm (264 – 385) de largo y 318 μm (291 – 375) de ancho máximo; región posterior de forma cónica, 188 μm (170 – 217) de largo y 282 μm (213 – 359) de ancho máximo. Ventosa oral de 47 μm (27 – 64) de largo y 48 μm (34 – 63) de ancho. Ventosa ventral de 45 μm (28 – 68) de largo y 51 μm (39 – 64) de ancho. Faringe muscular, 33 μm (30 – 37) de largo y 25 μm (23 – 28) de ancho. Órgano de sujeción (“holdfast organ”), ubicado en la superficie ventral del cuerpo, posterior a la ventosa ventral, 58 μm (41 – 69) de largo y 71 μm (62 – 81) de ancho. Esófago ausente. Los ciegos surgen directamente de la faringe, de 394 μm (370 – 418) de largo. Órganos sexuales (n=3): testículo anterior de 51 μm (44 – 58) de largo y 76 μm (64 – 87) de ancho; testículo posterior de 54 μm (46 – 68) de largo y ancho máximo 81 μm (66 -96). Ovario con ubicación lateral izquierda (vista ventral) de 24 μm (18 – 28) de largo y 31 μm (27 – 34) de ancho. Vesícula seminal (n=1), longitud de 119 μm y 40 μm de ancho. Bursa copulatriz (n=1) evaginable, al final de la región posterior, de 77 μm de ancho y 54 μm de largo, con abertura terminal. Vitelario no visible.

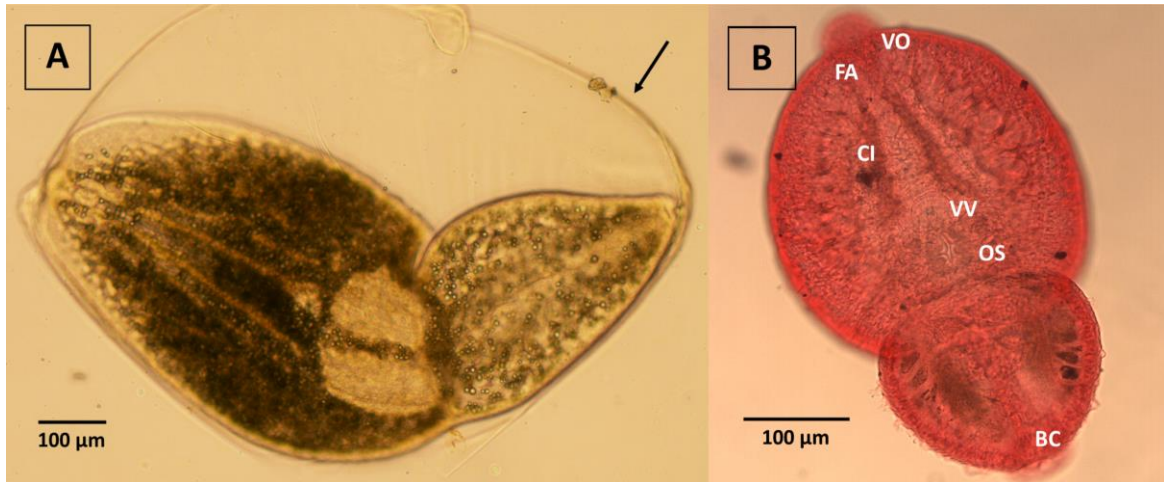


Figura 7. *Posthodiplostomum* sp. extraído de *Cnesterodon decemmaculatus* A) Ejemplar enquistado, observación en fresco. Se indica con flecha la pared del quiste. B) Individuo teñido y montado, carmín acético. VO: ventosa oral; VV: ventosa ventral; FA: faringe; OS: órgano de sujeción; CI: ciegos; BC: bursa copulatriz.

Análisis moleculares: En este estudio se obtuvieron dos secuencias correspondientes a la región 28S del ADNr: 936 pb (OR799967) y 910 pb (OR799969) y dos secuencias de la región ITS2: 495 pb (OR799970) y 508 pb (OR799966) que abarca parcialmente el 5.8S y 28S. Las secuencias 28S son idénticas entre sí y presentan un alto grado de similitud (898/901, 99%) con *Posthodiplostomum* sp. (MK604823) disponible en el Genbank y registrada en *Tilapia sparrmanii* (Perciformes: Cichlidae) en Sudáfrica (Hoogendoorn y col., 2019). Las secuencias ITS2 también son idénticas entre sí y tienen un alto grado de similitud (419/422, 99%) con *Posthodiplostomum* sp. (OK315765), obtenido de *Goodea atripinnis* en México (de León y col., 2022).

Comentarios: Las metacercarias encontradas pertenecen al género *Posthodiplostomum*, ya que presentan las características morfológicas de este género según Gibson y col. (2002), entre las cuales se destacan: metacercaria del tipo “Neascus”, encapsulada, con cuerpo visiblemente dividido en dos: región anterior de forma foliácea/espátulado, con las dos ventosas (oral y ventral) presentes y pseudoventosas ausentes. Órgano de sujeción (“holdfast organ”).

En América fueron descritas 11 especies de este género, a partir de adultos encontrados en aves que son los hospedadores definitivos (Ritossa y col., 2013). Particularmente, en Argentina se reportaron 4 especies: *P. nanum* (Doma y Ostrowski de Núñez, 1994; Digiani, 2000); *P. mignum* (Boero y col., 1972); *P. obesum* (Ostrowski de Núñez, 1970; Dubois 1977); y *P. macrocotyle* (Drago y col., 2014). De las especies anteriormente mencionadas,

se describen sólo 3 especies en estadio de metacercaria: *P. nanum* (Pinto y Melo, 2012; López-Hernandez y col., 2018), *P. minimum* (Kvach y col., 2017) y *P. macrocotyle* (Pernett y col., 2022) (ésta última se encuentra dentro de las descritas en América).

La estructura general de las metacercarias de las tres especies mencionadas (*P. nanum*, *P. minimum* y *P. macrocotyle*) y la ubicación de los órganos más distinguibles (ventosas, faringe, holdfast, etc.) es similar entre ellas, y no permiten realizar una diferenciación entre las especies comparadas. De acuerdo al largo total del cuerpo (496 µm), los individuos descritos, tienen mayor similitud con *P. macrocotyle* (470 µm) (Pernett y col., 2022); en cambio *P. nanum* y *P. minimum* son significativamente mayor: 820 µm (López-Hernandez y col., 2018) y 1.049 µm (Pinto y Melo, 2012) para *P. nanum* y 1253 - 1542 µm (Kvach y col., 2017) para *P. minimum*. En el Parque Nacional Arrayanes (Argentina), se reportó un nuevo ejemplar de *Posthodiplostomum* sp. en el mesenterio de *Galaxias maculatus* (Ritossa y col., 2013), pero su largo total es un poco superior (672 µm).

Cabe destacar que la única especie reportada hasta el momento en *C. decemmaculatus* en Argentina, fue *P. nanum*, en el Río de la Plata (Buenos Aires) (Lunaschi y col., 2007) y en Quebrada La Trapera, Mar del Plata (Buenos Aires) (Taglioretti y col., 2018). Sin embargo, los análisis moleculares indican que el porcentaje de similitud con otras especies del género, incluyendo *P. nanum*, *P. minimum* y *P. macrocotyle* varía entre el 95-98% (tanto en 28S como ITS2).

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: Mesenterio

Sitios donde fue encontrado: La Calera; Desembocadura del Río Suquía

Prevalencia total: 7,77 % (8/103)

Intensidad media total: 1 (8/8)

N° de colección: CNP-Par 203 (voucher)

N° de GenBank: OR799967, OR799969 (28S), OR799966, OR799970 (ITS2)

Familia Heterophyidae Leiper, 1909

Género *Ascocotyle* Looss, 1899

Ascocotyle sp.

Diagnosis: Metacercarias enquistadas de forma plegada (n= 6), encontradas dentro del bulbo arterioso (corazón), por lo general en grandes cantidades (10 - 60) (Figura 8A, B). Pared del quiste muy fina, de 4 μm (3 - 5) de espesor; forma ovalada, 165 μm (130 - 198) de largo y 128 μm (98 - 148) de ancho (Figura 8C). Desenquistadas (n=4; Figura 8D): cuerpo piriforme de 456 μm (401 - 511) de largo, ancho máximo 129 μm (76 - 163) y tegumento cubierto de espinas. Lóbulo preoral prominente, de 29 μm (18 - 34) de largo. Ventosa oral (n=3), 33 μm (28 - 38) de largo y 50 μm (48 - 53) de ancho, armada con dos hileras de 14 espinas en cada una (28 en total); longitud de las espinas de la fila anterior 13 (12 - 14) y 11 (9 - 13) en la fila posterior. Prolongación posterior de la ventosa oral de 75 μm (71 - 82) de largo; pre-faringe larga y esófago ausente. Faringe (n=3) de 38 μm (35 - 42) de largo y 31 μm (27 - 33) de ancho; dos ciegos cortos y grandes que alcanzan el margen anterior de la ventosa ventral. Ventosa ventral en la región media, posterior a la mitad del cuerpo (n=3), 38 μm (37 - 38) de largo y 43 μm (41 - 46) de ancho. Se observó solo un testículo, ubicado en el extremo posterior del cuerpo (n=4) de 43 μm (41 - 47) de largo y 33 μm (29 - 36) de ancho; el testículo izquierdo no llegó a ser visualizado para su medición. Longitud del ovario (n=1) de 38 μm de largo y 37 μm de ancho. Vesícula excretora presente, con forma de medialuna, amplia y notoriamente visible, ocupando $\frac{1}{3}$ del área del quiste (Figura 8A, C).

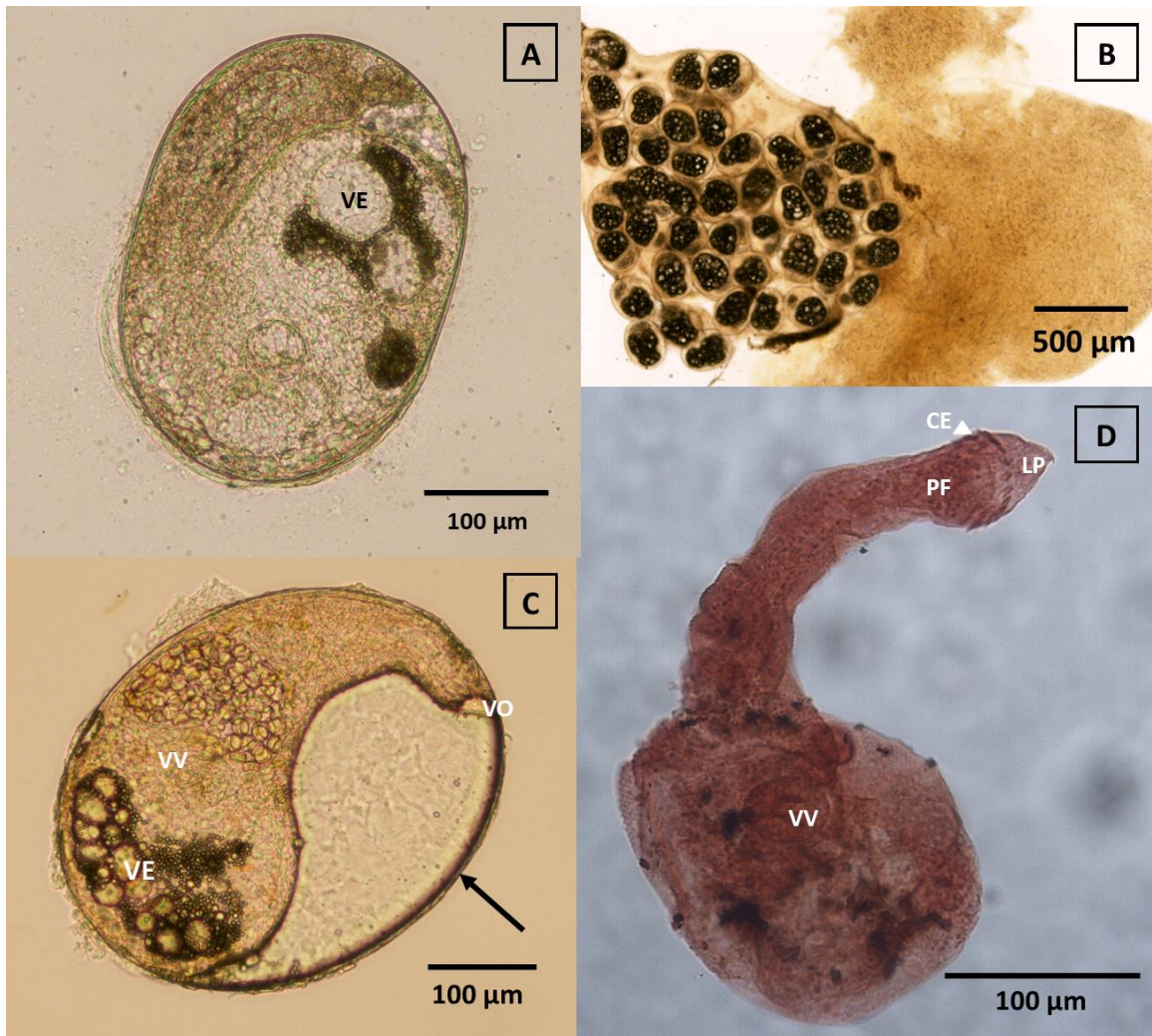


Figura 8. *Ascocotyle* sp. A) Metacercaria enquistada, de manera típicamente plegada. B) Corazón de *Cnesterodon decemmaculatus* con el bulbo arterioso (izquierda) repleto de metacercarias. C) Metacercaria enquistada desplegada. Se indica con flecha la pared del quiste. D) Metacercaria desenquistada teñida y montada, carmín acético. VE: vesícula excretora; VO: ventosa oral; VV: vesícula central; CE: corona de espinas; LP: lóbulo preoral; PF: pre-faringe.

Análisis molecular: Se obtuvo una secuencia de 875 pb correspondiente a la región 28S del ADNr (OR799968), con porcentaje de similitud del 100% *A patagoniensis* (MK359081), registrada en el pingüino de magallanes *Spheniscus magellanicus* (adulto), en el pejerrey *Odonthestes argentinensis* y *O. smitti* del Golfo San Matias, Río Negro (Hernández-Orts y col., 2019) y en *O. argentinensis* en Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina (Guagliardo y col., 2022).

Comentarios: Las metacercarias encontradas pertenecen al género *Ascocotyle*, según Bray y col. (2008), destacándose las siguientes características morfológicas: cuerpo piriforme, y tegumento cubierto de espinas. Ventosa oral con un lóbulo preoral prominente y un ciego

posterior alargado que se extiende hacia atrás, en el lado dorsal de la pre-faringe. Boca rodeada por una doble corona de espinas (ambas completas).

En América del Sur, fueron reportadas 13 especies de este género (Santos y Borges, 2020). Particularmente en Argentina, se reportaron las siguientes especies: *A. angeloi* (Ostrowski de Núñez, 1998); *A. angrense* (Boero y col., 1972); *A. cameliae* (Hernández-Orts y col., 2019); *A. felippei* (= *tenuicollis*) (Alda y col., 2011); *A. hadra* (Ostrowski de Núñez, 2001); *A. longa* (Alda y col., 2015); *A. patagoniensis* (Hernández-Orts y col., 2019); *A. diminuta* (Drago y Lunaschi, 2011); por último, *A. secunda* y *A. tertia* fueron reportadas únicamente en hospedadores experimentales (Ostrowski de Núñez, 2001).

Particularmente, en *C. decemmaculatus* en Argentina fueron halladas las siguientes especies: *A. tertia*, *A. secunda*, *A. felippei* (Ostrowski de Nuñez, 1976; 2001), *A. hadra* (Ostrowski de Núñez, 1992), *A. angrense*, *A. angeloi* (Ostrowski de Núñez, 1998) (experimental) y *A. diminuta* (Ostrowski de Núñez, 1993). Sólo cuatro se localizan en el bulbo arterioso (*A. felippei*, *A. secunda*, *A. tertia* y *A. patagoniensis*), con gran variabilidad morfológica entre ellas (Tabla 7). Solo *A. felippei* y *A. patagoniensis* tienen descripción de metacercarias. *A. felippei* y *A. tertia* presentan el mismo número de espinas que la especie aquí descrita (28) (Ostrowski de Nuñez y col., 2001; Santos y col., 2007). Sin embargo, *A. felippei* posee un cuerpo más grande (564 de largo y 193 de ancho), mientras que *A. tertia* es más similar (431 x 171). Cabe aclarar que las medidas de *A. tertia* corresponden a adultos, por lo cual podría tener metacercarias más pequeñas que las aquí descritas; aunque el carácter número de espinas se mantendría en todos los estadios, por ende, puede ser una característica confiable a la hora de comparar. Lo mismo sucede con *A. secunda*, cuyas medidas del cuerpo y el número de espinas (de la mayoría de los ejemplares), se asemejan con la especie aquí descrita, pero también se tratan de ejemplares adultos.

Si bien los resultados moleculares indican que la secuencia 28S del ADNr es idéntica a *A. patagoniensis*, no se puede afirmar sobre la pertenencia a esta especie por la gran variabilidad morfológica, principalmente teniendo en cuenta el mayor número de espinas observado en nuestro estudio. Además, se conocen pocas secuencias de este género y es probable que esta región muy conservada, no refleje la variabilidad genética de las especies. Por último, *A. patagoniensis* fue hallado en ambientes marinos y mixohalinos y la especie aquí descrita es de agua dulce.

Tabla 7. Medidas del tamaño del cuerpo (largo promedio x ancho promedio en μm) y/o rangos y número de espinas promedio (en cada hilera) de las especies del género *Ascocotyle* que infectan el bulbo arterioso.

Especie	<i>A. felippei</i> (metacercaria)	<i>A. patagoniensis</i> (metacercaria)	<i>A. tertia</i> (adulto)	<i>A. secunda</i> (adulto)	<i>Ascocotyle</i> sp. (metacercaria)	
Referencia	Santos y col. 2007 (Brasil)	Guagliardo y col. 2022 (Argentina)	Hernández-Orts y col. 2019 (Argentina)	Ostrowski de Nuñez y col. 2001 (Argentina)	Presente estudio	
Cuerpo	564 x 193	780 x 210	402–482 x 111–156*	431 x 171	512 x 184	456 x 129
Espinas	28 (15 y 13)	40 (20 y 20)	36/41 (18/21)	28 (16 y 16)	28 (16 y 16)	28 (16 y 16)

* Se muestra rango debido a que Hernández-Orts y col. (2019) no reportan medias.

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: Bulbo arterioso (corazón)

Sitios donde fue encontrado: La Calera; Desembocadura del Río Suquía

Prevalencia total: 21,36 % (22/103)

Intensidad media total: 18,32 (403/22)

N° de colección: CNP-Par 202 (voucher)

N° de GenBank: OR799968 (28S)

Familia Echinostomatidae Looss, 1899

Género *Echinochasmus* Dietz, 1909

Echinochasmus sp.

Diagnóstico: metacercarias enquistadas, halladas en los filamentos branquiales. Quistes circulares u ovalados. Conductos del sistema excretor anchos, llenos de cuerpos discoides, transparentes y refringentes (Figuras 9A, B).

Comentarios: en la inspección y observación de los peces bajo lupa, estos organismos fueron confundidos con posibles algas. Sin embargo, se tuvo la precaución de cuantificarlas y reportarlas al momento de la disección de los órganos. Gracias a los estudios histológicos, pudimos descifrar que no se trataba de formaciones algales. Posteriormente, a partir de la observación de fotos obtenidas durante su extracción y gracias a bibliografía consultada,

podimos dilucidar que estos quistes hallados eran iguales a metacercarias del género *Echinochasmus*, previamente registradas en *Gambusia affinis* en el estado de Luisiana, Estados Unidos (Brock y Font, 2009). Debido a esto no se realizó una descripción detallada, reportando únicamente lo que se observó en vivo durante el procesamiento de los peces y posteriormente a través de los cortes histológicos.

Los sitios de infección de estos organismos fueron las branquias. Durante la inspección de los cortes histológicos, se hallaron enquistados, específicamente, en las laminillas secundarias (Figura 9C). Se pudo observar que, además del quiste propio del parásito, hubo una proliferación de células indiferenciadas alrededor del mismo y, consecuentemente, la pérdida de la estructura funcional de las laminillas secundarias (Figura 9D).

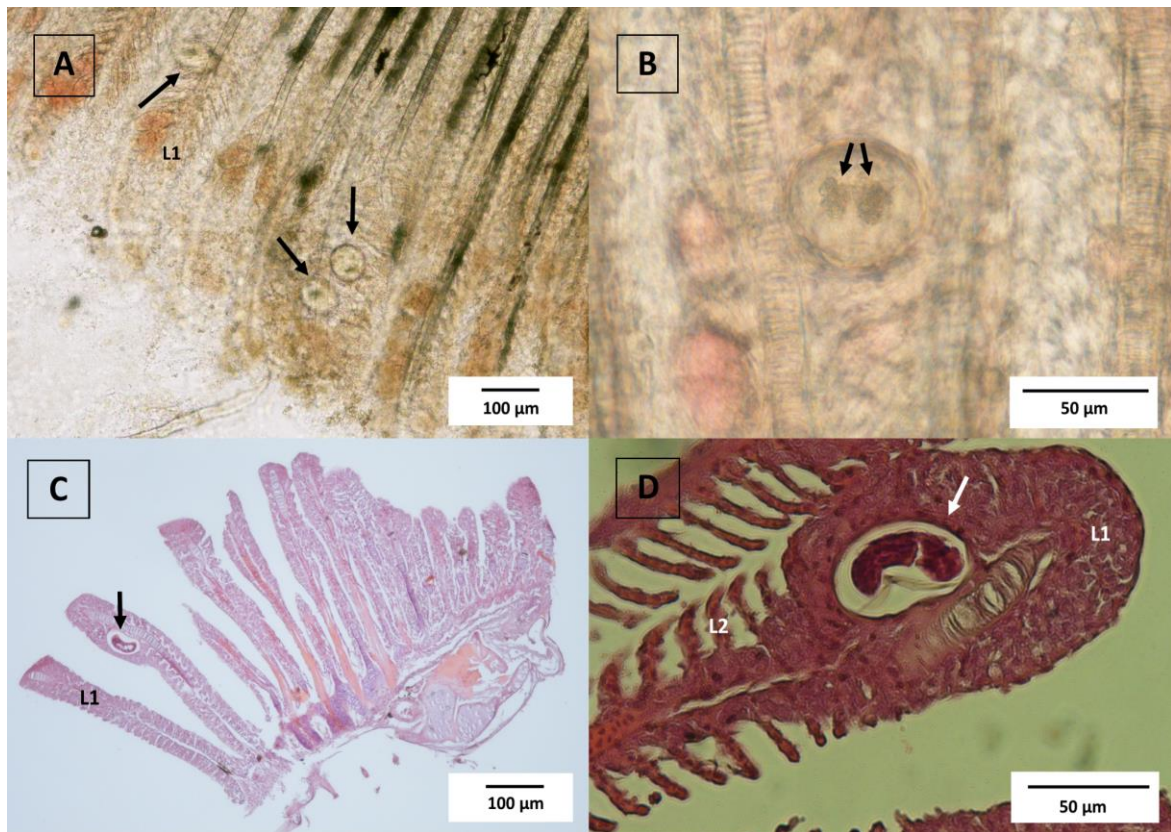


Figura 9. *Echinochasmus* sp. en *Cnesterodon decemmaculatus*. A) Metacercarias enquistadas en laminillas primarias (L1), preparado en fresco. Las mismas se indican con flechas. B) Metacercaria en branquia, pueden verse los conductos del sistema excretor con cuerpos discoides refringentes. C) Corte histológico de branquia, en donde se puede observar una metacercaria enquistada (flecha). D) Metacercaria enquistada (flecha) en branquia, donde se puede observar la proliferación indiferenciada de células alrededor de la misma. L1: laminilla primaria; L2: laminilla secundaria.

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: filamentos branquiales

Sitio donde fue encontrado: La Calera

Prevalencia total: 7,77% (8/103)

Intensidad media total: 7 (56/8)

Clase Monogenea

Familia Gyrodactylidae Cobbold, 1864

Subfamilia Gyrodactylinae Monticelli, 1892

Gyrodactylus sp.

Diagnosis: ejemplares adultos hallados en superficie corporal de los peces, principalmente anclados a las aletas a partir del complejo haptor en zona posterior, con ganchos centrales y marginales visibles. Glándulas cefálicas en región anterior y embrión en desarrollo en zona central del cuerpo (Figura 10A, B).

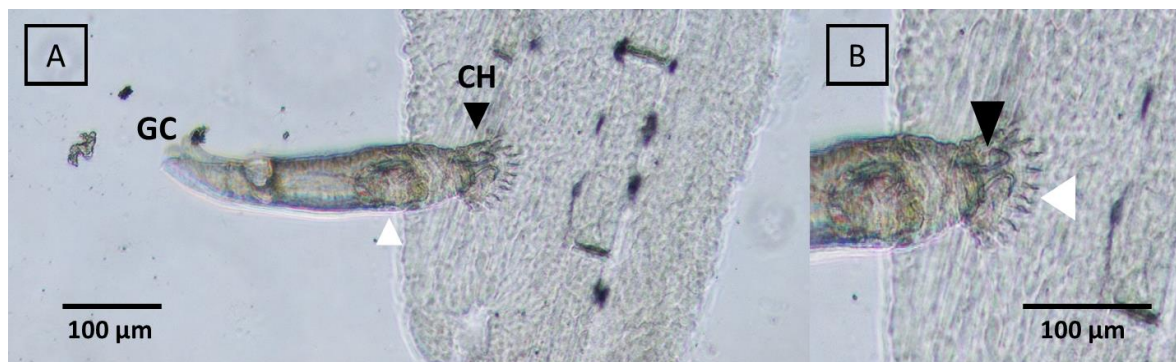


Figura 10. *Gyrodactylus* sp. en *Cnesterodon decemmaculatus*. A) Ejemplar anclado a la aleta del hospedador, se observan las glándulas cefálicas (GC), el embrión (flecha blanca) y el complejo haptor (CH). B) Detalle del complejo haptor, se observan los ganchos centrales (flecha negra) y ganchos marginales (flecha blanca).

Comentarios: la especie aquí descrita pertenece al género *Gyrodactylus* ya que presenta cabeza o región anterior bilobada, opistohaptor sin ventosas, con un par de anclas y barras de soporte dorsal y ventral. Son parásitos de peces, anfibios y, ocasionalmente, crustáceos (Yamaguti, 1963).

Estos organismos son ectoparásitos (se alojan fuera del hospedador), y presentan un ciclo de vida monoxénico, es decir que incluye a un solo hospedador. Del huevo eclosiona la larva oncomiracidio (único estadio larval), ciliada y de vida libre que, al encontrar a su hospedador, se adhiere y se transforma gradualmente en adulto (Cheng, 1986).

En Argentina se han reportado varias especies de este género en Buenos Aires, Neuquén y Río Negro (Ortubay y col., 1994; Popazoglo y Boeger, 2000; Viozzi y col., 2009; Rauque y col., 2018). Particularmente, en *C. decemmaculatus* se registraron y describieron 4 especies: *G. decemmaculati*, *G. brevradix* en Neuquén y Río Negro (Rauque y col., 2018; Vega y col., 2019) y *G. marplatensis* y *G. pampeanus* en Mar del Plata, Buenos Aires (Taglioretti y col., 2020). Futuros estudios morfológicos más detallados y moleculares contribuirán a la identificación de esta especie.

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: superficie corporal, aletas.

Sitio donde fue encontrado: Desembocadura del Río Suquía

Prevalencia total: 2,91% (3/103)

Intensidad media total: 2,33 (7/3)

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Cyclophyllidea van Beneden in Braun, 1900

Diagnosis: larvas (metacestode) (n= 4), siempre enquistadas en el mesenterio alrededor del sistema digestivo. Quistes de 292 µm (309 - 262) de largo por 257 µm (278 - 216) de ancho, con una pared de 21 µm de espesor. Corpúsculos calcáreos muy visibles (Figura 11A), escólex con 4 ventosas, 85 µm (81 - 92) de largo y 77 µm (75 - 79) de ancho; rostelo sin ganchos de 45 µm (41 - 49) de largo y 40 µm (38 - 42) de ancho (Figura 11B).

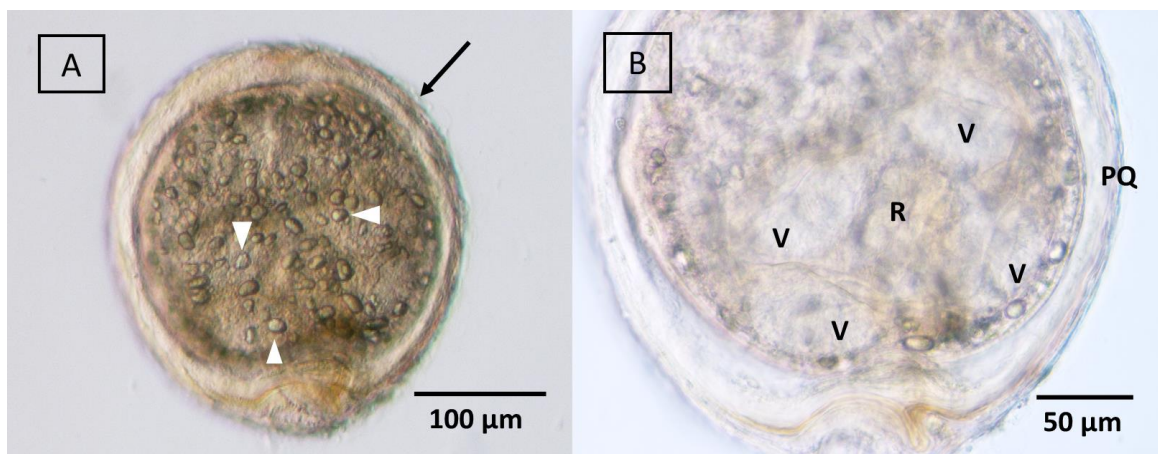


Figura 11. Cyclophyllidea en *Cnesterodon decemmaculatus*. A) Metacestode enquistado. La flecha larga muestra la pared del quiste y las flechas pequeñas muestran los corpúsculos calcáreos. B) Detalle del metacestode. V: ventosa; R: rostelo; PQ: pared del quiste.

Comentarios: las larvas aquí encontradas pertenecen al orden Cyclophyllidea, caracterizadas por presentar un escólex con cuatro ventosas y un rostelo, con o sin ganchos (Khalil y col., 1994). Los caracteres de este estadio son insuficientes para una determinación taxonómica más detallada hasta familia y/o género. Futuros análisis moleculares y descripción de adultos contribuirán a su identificación y elucidación del ciclo de vida.

En múltiples investigaciones se ha señalado la presencia de metacestodes del orden Cyclophyllidea en peces de agua dulce (por ej., Takemoto y col., 2009; Monteiro y col., 2009; Pinto y Melo, 2011; Bellay y col., 2012; Scholz y col., 2018). En Argentina, los reportes son escasos: en *Percichthys trucha* (Ortubay y col., 1994; Viozzi y col., 2023) y, particularmente, en *C. decemmaculatus*, la única cita hasta el momento es el trabajo de Taglioretti y col. (2018) (Mar del Plata, Buenos Aires).

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: Mesenterio

Sitios donde fue encontrado: Yuspe; Isla de los Patos; Desembocadura del Río Suquía

Prevalencia total: 12,62 % (13/103)

Intensidad media total: 1,38 (18/13)

N° de colección: CNP-Par 204 (voucher)

Phylum Nematomorpha

Clase Gordiida

Diagnosis: larvas enquistadas dentro del intestino y en la pared del mismo (Figuras 12A y B). Quistes de 55 μm (42 - 67) de largo por 46 μm (39 - 50) de ancho. En algunos casos se observó encapsulamiento por parte del hospedador (Figura 12C). Cuerpo de 63 μm (56 - 73) de largo total, dividido por un septo, con anillamiento superficial. Región anterior (o preseptal) de 27 μm (22 - 33) de largo y 13 μm (12 - 14) de ancho; región posterior (o postseptal) de 36 μm (33 - 40) de largo y 11 μm (9 - 12) de ancho (Figura 12C). En el preseptum es posible distinguir los estiletes, de 12 μm (11 - 15) de largo y, en algunos casos, la probóscide retráctil (invaginada) y ganchos.

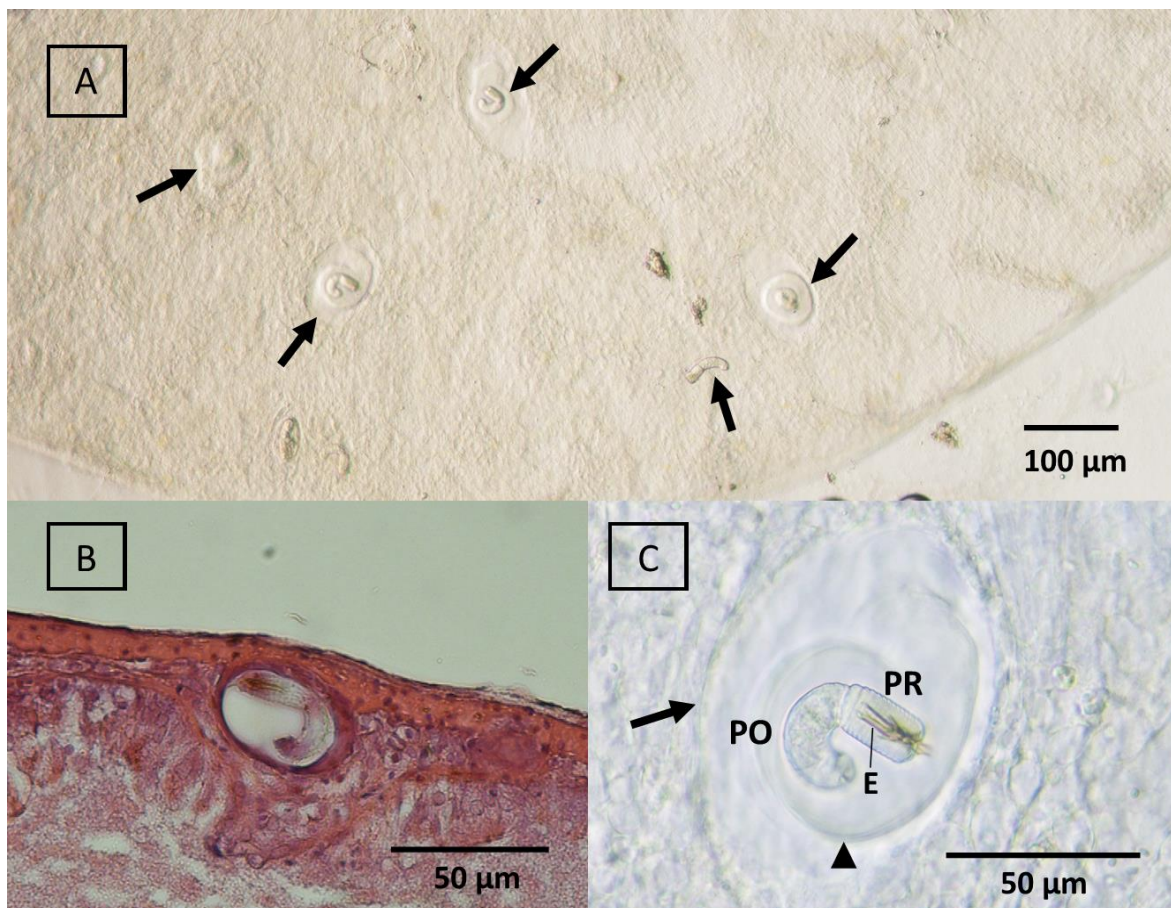


Figura 12. Clase Gordiida en *Cnesterodon decemmaculatus*. A) Larvas enquistadas en el intestino (flechas largas), preparado en fresco. B) Larva enquistada, corte histológico. C) Larva dentro del quiste propio del parásito (flecha corta) y encapsulamiento por parte del hospedador (flecha larga). Se distinguen poseptum (PO) y proseptum (PR) con los estiletes (E) y los anillamientos, preparado en fresco.

Comentarios: las larvas halladas fueron clasificadas en el grupo taxonómico Gordiida. Son parásitos de artrópodos terrestres y habitan ambientes de agua dulce en su estadio adulto (Hanelt y col., 2005). El estadio juvenil parasita principalmente coleópteros y ortópteros. Los adultos son de vida libre y emergen del invertebrado para reproducirse en el agua, donde dejan sus huevos. Las larvas pueden penetrar activamente en sus hospedadores paraténicos, o ser ingeridas por los mismos; entre ellos se encuentran insectos acuáticos (Coleoptera, Diptera, Trichoptera y Ephemeroptera), caracoles, anélidos, crustáceos (anfípodos y copépodos), anfibios y peces (Hanelt y col., 2005). Los registros naturales de larvas de gordiidos en peces son escasos y se remiten principalmente a sitios de Europa, Nueva Zelanda y, recientemente, en Chile (Torres-Hevia, 2021). En Argentina se han reportado especies en estado adulto en Catamarca, San Luis, Buenos Aires, Salta y Córdoba (de Miralles y de Villalobos, 1996; 2000; de Villalobos y col., 2004; 2010). Achiorno (2011) registró a *Chordodes nobilii* como indicadora de contaminación ambiental.

Si bien estos quistes fueron hallados principalmente en intestino, también se observaron encapsulados en mesenterio e hígado (Figura 13).

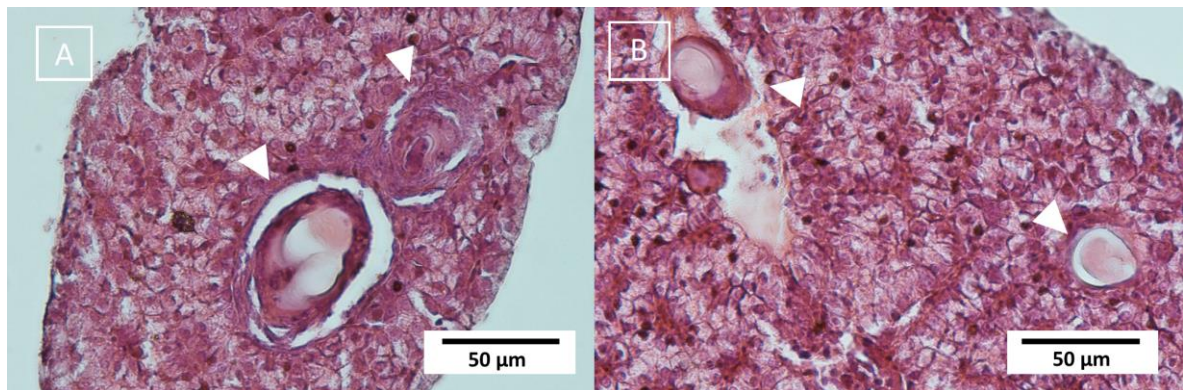


Figura 13. Clase Gordiida en *Cnesterodon decemmaculatus*. A-B) Quistes de diferentes tamaños (flechas) encapsulados en tejido parenquimatoso de hígado (cortes histológicos).

Resumen taxonómico:

Sitio de infección: intestino, pared e interior; hígado, mesenterio

Sitios donde fue encontrado: Yuspe; La Calera

Prevalencia total: 34,95 % (36/103)

Intensidad media total: 19,72 (710/36)

N° de colección: CNP-Par 205 (voucher)

ANÁLISIS CUANTITATIVOS

Índices de diversidad y similitud

Los índices de riqueza (S), diversidad de Shannon-Wiener (H) y dominancia de Simpson (D) obtenidos a partir de las aves y parásitos registrados, se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Índices de diversidad de parásitos y aves por sitio (Y: Yuspe; LC: La Calera; IDP: Isla de los Patos; DRS: Desembocadura del Río Suquía; S: riqueza de especies; H: Diversidad de Shannon-Wiener; D: Dominancia de Simpson). a) Índices asociados al total de parásitos hallados. b) Índices de parásitos que presentan a aves como hospedadores definitivos. c) Índices asociados a aves acuáticas y terrestres, pero que frecuentan cuerpos de agua. Medias de H con una letra en común no son estadísticamente diferentes ($p > 0,05$).

	Y	LC	IDP	DRS
a) Índices de parásitos totales				
S	2	4	1	4
H	0,09 ^A	0,83 ^B	0 ^C	1,16 ^B
D	0,96	0,54	1	0,32
b) Índices de parásitos que usan aves como hospedadores definitivos				
S	1	3	1	3
H	0 ^A	0,44 ^B	0 ^A	1,01 ^C
D	1	0,76	1	0,27
c) Índices de aves asociadas a cuerpos de agua				
S	7	6	3	17
H	1,62 ^A	1,4 ^{AB}	1,01 ^B	2,45 ^C
D	0,21	0,27	0,36	0,11

Los resultados obtenidos para los índices parasitarios totales, mostraron que los sitios con valores más altos de riqueza y diversidad fueron LC y DRS, mientras que los más bajos correspondieron a Y e IDP, registrándose un valor de $H = 0$ en este último sitio. Por otra parte, Y presentó sólo dos especies y un alto valor de dominancia debido a la alta prevalencia e intensidad de las larvas de la clase Gordiida. Por su parte, en IDP, solo se registraron metacestodes que también estuvieron presentes en Y y DRS. Teniendo en cuenta los índices parasitarios de especies que finalizan su ciclo de vida en las aves, se observó el mismo

patrón, pero la riqueza y diversidad fue bastante mayor en DRS, siendo el valor de H significativamente superior al del resto de los sitios, seguido por LC.

Con respecto a los índices estimados para las aves asociadas a cuerpos de agua, se observó una mayor riqueza y diversidad en DRS. Los sitios Y y LC presentaron una riqueza y diversidad similar, con valores intermedios. El sitio IDP tuvo los menores valores, aunque la diversidad no resultó estadísticamente diferente a LC.

En la Tabla 9 se muestran los valores de los índices de similitud de Jaccard y de Sorensen para las especies parásitas de los sitios comparados de a pares. En general, se observaron índices medios-bajos, lo cual indica que los sitios son diferentes en cuanto a la composición de las especies, pero comparten algunas de ellas. Solo se obtuvo un índice alto entre Y e IDP, debido a que ambos sitios tuvieron 2 y 1 especie, respectivamente, y compartieron 1.

Tabla 9. Índices de similitud de Jaccard y de Sorensen por sitios.

Sitios	Jaccard (%)	Sorensen
Y – LC	20	0,33
Y – IDP	50	0,67
Y – DRS	20	0,33
LC – IDP	0	0
LC – DRS	33,3	0,5
IDP – DRS	25	0,4

Modelos lineales generalizados

Los modelos seleccionados para la CP, H y S en función de las variables predictoras seleccionadas: sitio, sexo y largo total de los hospedadores (LT), se muestran en la Tabla 10.

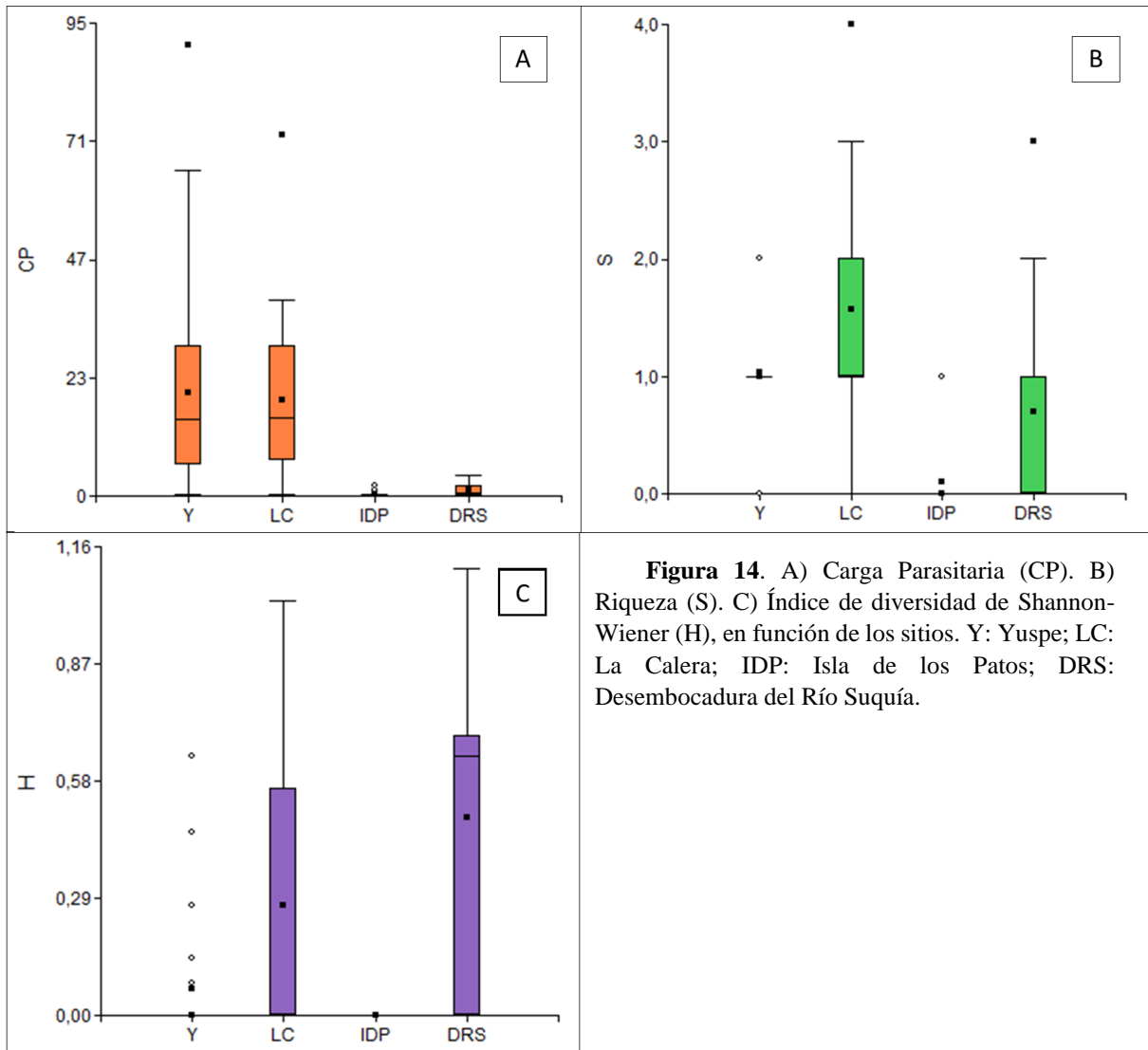
Para la CP, el modelo seleccionado incluyó los efectos aditivos de los sitios y del sexo. La CP fue significativamente menor en IDP y DRS con respecto a Y y LC, que presentaron valores cercanos a 20 parásitos por pez (Figura 14). En lo que respecta a H, el modelo seleccionado fue el que incluyó las variables sitio, sexo, LT y las interacciones entre sitio y LT y LT y sexo. Las interacciones no resultaron significativas, a excepción de sitio y LT

para DRS. Sin embargo, la significancia fue muy baja, por lo que no se consideró un efecto verdadero. Se evidenció un mayor H en DRP con respecto al resto de los sitios. Finalmente, el modelo seleccionado para S fue el que incluyó los efectos aditivos de las variables sitio y sexo. Solo se encontraron diferencias significativas en IDP, sitio con menor S. No se hallaron diferencias entre machos y hembras para ninguno de los índices.

Tabla 10. Resultados de los modelos seleccionados para la carga parasitaria, Índice de diversidad de Shannon-Wiener, riqueza de especies y las variables predictoras Sitio, Sexo y Largo Total de los peces (LT). Para cada variable respuesta se especifica la distribución de los datos. Se muestran los valores de los estimadores, desvíos estándar y probabilidades de cada parámetro considerado en el modelo. Nivel de significancia ($p < 0,05$).

Variable respuesta y distribución	VariabLes predictoras	Mejor modelo	Estimadores	Error estándar	Valores estadísticos	Valores p
Carga parasitaria (binomial negativa)	Sitio + Sexo	Intercepto	3,13	0,21	15,2	<0,001 *
		Sitio _{LC-Y}	-0,09	0,27	-0,32	0,75
		Sitio _{IDP-Y}	-4,92	0,56	-8,71	<0,001 *
		Sitio _{DRS-Y}	-3,05	0,44	-6,91	<0,001 *
		Sexo _{M-H}	-0,44	0,27	-1,63	0,1
Índice de Shannon-Wiener (normal)	Sexo + Sitio + LT + Sitio * LT + LT * Sexo	Intercepto	0,24	0,46	0,52	0,6
		Sexo _{M-H}	-1,51	0,83	-1,81	0,08
		Sitio _{LC-Y}	-0,49	0,67	-0,73	0,47
		Sitio _{IDP-Y}	1,38	1,91	0,72	0,47
		Sitio _{DRS-Y}	2,52	1,03	2,44	0,01 *
		LT	-0,01	0,02	-0,42	0,68
		Sitio _{LC-LT}	0,03	0,02	1,15	0,26
		Sitio _{IDP-LT}	0,06	0,08	-0,7	0,49
		Sitio _{DRS-LT}	-0,08	0,04	-2,05	0,04 *
		Sexo _{M-LT}	0,06	0,03	1,8	0,08
Riqueza (binomial negativa)	Sitio + Sexo	Intercepto	0,07	0,19	0,38	0,7
		Sitio _{LC-Y}	0,42	0,23	1,82	0,69
		Sitio _{IDP-Y}	-2,3	0,61	-3,79	<0,001 *

Sitio _{DRS-Y}	-0,41	0,38	-1,08	0,28
Sexo _{M-H}	-0,14	0,23	-0,06	0,55



DISCUSIÓN

Este trabajo representa el primer relevamiento de la parasitofauna del pez nativo *C. decemmaculatus* a lo largo de la cuenca del Río Suquía; además, es la primera aproximación al estudio de la relación entre los ensambles parasitarios y el gradiente de calidad del agua en dicha cuenca. La investigación se llevó a cabo en uno de los ríos más importantes de la provincia de Córdoba, el cual transcurre en dirección Oeste-Este atravesando la ciudad de Córdoba, el mayor centro urbano de la provincia. A lo largo de la cuenca se registraron un total de 1.202 parásitos, pertenecientes a cuatro grupos: Digenea, Monogenea, Cestoda y Nematomorpha. Entre ellos, el más representado fue Digenea, con tres especies y los restantes con una sola especie. El grupo Digenea estuvo presente en dos sitios: LC y DRS, el grupo Monogenea únicamente en DRS, mientras que el grupo Cestoda se presentó en los sitios Y, IDP y DRS. Por último, el grupo Nematomorpha, estuvo presente en Y y LC.

A partir de la estimación del ICA, se confirmó el gradiente de variación en la calidad del río. Dicho gradiente ha sido registrado en trabajos previos (Pesce y Wunderlin, 2000; Hued y Bistoni, 2005; Merlo y col., 2011), donde en sitios posteriores a la ciudad de Córdoba, se informaron valores por debajo de 50, considerados incompatibles con la vida (Hued y col., 2010) o de muy mala calidad (Ott, 1978). Sin embargo, es importante destacar que en el presente estudio no se observó una degradación tan marcada a lo largo del río. Los últimos dos sitios del gradiente (IDP y DRS), presentaron los valores más bajos, sin llegar a las condiciones extremas mencionadas por los trabajos citados anteriormente. Por otra parte, es necesario destacar que, en los relevamientos previos al inicio del este estudio, se llevaron a cabo colectas en Villa Corazón de María (VCM) y Río Primero (RP). Dado que sólo se capturaron dos individuos de *C. decemmaculatus* en RP y ninguno en VCM, sumado a la alta degradación del agua en ambos sitios, se decidió no incluirlos porque comprometían la obtención de muestras biológicas para realizar la presente investigación. De esta manera, habiendo excluido a las áreas más alteradas de la cuenca, el valor más bajo de calidad del agua correspondió a DRS, próximo a la laguna Mar Chiquita; este tramo del río no había sido incluido en evaluaciones previas de la calidad de la cuenca. Es por esto que el presente estudio contribuye con información novedosa que cobra relevancia al considerar que la desembocadura del Río Suquía, junto con la desembocadura del Río Xanaes, la Laguna Mar Chiquita y los bañados del Río Dulce, conforman un sitio Ramsar, caracterizado por la alta biodiversidad que alberga y protegido a nivel mundial (Ramsar Convention Bureau, 2002). Los valores bajos de ICA registrados en DRS, no llegaron a ser tan alarmantes como en

VCM y RP (57 y 51, respectivamente) (Rautenberg y col., 2015; Zambrano, 2023) debido a la gran distancia entre este sitio y la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de Bajo Grande (aprox. 160 km), ubicada una vez que el río abandona la ciudad de Córdoba, cuyos efluentes constituyen la principal fuente de contaminación de la cuenca. A esto se suman otros factores con impacto negativo de la ciudad, como la gran urbanización y las industrias presentes en esos tramos.

Diversas investigaciones han reportado la presencia de pesticidas a lo largo de la cuenca. A partir de los trabajos recientes de Rautenberg y col. (2022), Zambrano (2023) y Bertrand y col. (2023), se destaca notablemente la cantidad de pesticidas de distinta naturaleza química, a los cuales se suman otros componentes, tales como metales pesados y productos farmacéuticos (Rautenberg y col., 2015; Bertrand y col., 2023). Además, es necesario destacar que los pesticidas han sido registrados incluso en sitios considerados de referencia, como el tramo localizado sobre el Río Yuspe.

La evaluación de la condición de los peces a través de la estimación Factor de Condición de Fulton (K), mostró que los machos presentaron valores semejantes entre los diferentes sitios. Si bien las hembras evidenciaron diferencias, el patrón de variación, no se relacionó con el gradiente de calidad del agua. Las variaciones observadas se podrían deber a diferencias relacionadas a cambios reproductivos de la especie. Se ha evidenciado que el desarrollo gonadal de las hembras de *C. decemmaculatus* contribuyen de manera diferencial al peso total del individuo a lo largo del ciclo reproductivo de las mismas, lo que repercute en el estado general del pez y que, finalmente, se ve reflejado en los valores de estimación de K (Brito, 2021). Por otra parte, la condición de los organismos puede verse afectada por diversos factores, tales como la estacionalidad, la disponibilidad de alimento, la densidad poblacional, el ambiente natural, entre otros (Olurin y Aderibigbe, 2006; Zambrano y col., 2023), lo que puede conducir a variaciones en los valores de K.

De acuerdo a los análisis histológicos realizados en branquias e hígado y a los valores de los índices histopatológicos (IH), no se observaron variaciones significativas en los ejemplares provenientes de los diferentes sitios. Las afecciones registradas en los individuos se corresponden a respuestas generales que pueden ocurrir bajo condiciones ambientales naturales y no porque estén asociadas necesariamente a la presencia de sustancias químicas particulares. Por otra parte, es necesario destacar que las alteraciones observadas, ya sea de acuerdo a la frecuencia y extensión que presentaron, como así también a la relevancia

patológica de cada una, sugieren que los organismos no están sujetos a condiciones que pongan en riesgo su supervivencia a través de la funcionalidad de los órganos y que la proporción de los daños fue baja a pesar del gradiente de calidad del agua registrado en la cuenca.

A partir de los relevamientos de las especies parásitas en *C. decemmaculatus*, se observaron diferencias en la composición de la fauna parasitaria entre los sitios estudiados, siendo algunos más diversos que otros. Desde el punto de vista de la interacción parásito-ambiente, esta relación se ha podido abordar desde diversos enfoques. Por un lado, considerando las respuestas individuales por taxón (por ej., Pietrock y Marcogliese, 2003; Hua y col., 2016), y por otro, contemplando los ensamblajes parasitológicos y sus diferencias en ambientes con distintos grados de disturbio (ya sea antrópico o natural) (por ej., Halmetoja y col., 2000; Bertora y col., 2021). En términos generales, los sitios con mayor diversidad parasitaria fueron LC y DRS, mientras que Y e IDP presentaron los menores valores. Particularmente, el río en IDP no sólo se caracterizó por su diversidad nula, sino también porque la abundancia de la única especie presente (cestodes), fue muy baja.

Al analizar el patrón de variación de cada taxón hallado, resulta interesante destacar la distribución de las especies del grupo Digenea. Esta distribución no estaría asociada de manera directa a la calidad del agua, ya que la presencia de este grupo se evidenció en uno de los sitios con mayor valor de ICA (LC) y en el último tramo con el menor valor (DRS). Los digeneos poseen ciclos de vida complejos, alternando en estadios de vida libre y parásitos. Entre sus hospedadores encontramos a vertebrados como hospedadores definitivos (usualmente aves, mamíferos o anfibios), que alojan al estadio adulto, moluscos, como primeros hospedadores intermediarios e invertebrados o vertebrados (peces en general) como segundos hospedadores intermediarios (Galaktionov y Dobrovolskij, 2003). Es posible que la presencia de digeneos esté asociada a la diversidad y abundancia de hospedadores involucrados en su ciclo de vida. En otras investigaciones se han hallado correlaciones positivas entre la diversidad y abundancia de comunidades de trematodos en caracoles y de aves (Smith, 2001; Hechinger y Lafferty, 2005; Fredensborg y col., 2006). La gran diversidad de aves en el sitio DRS sería un factor determinante para explicar la mayor diversidad de parásitos que pueden presentar a estos animales como hospedadores definitivos (digeneos y cestodes). Es evidente que la riqueza y diversidad de aves en este sitio, está determinada por el ambiente circundante a la laguna Mar Chiquita. Esta laguna es utilizada como parada o destino final de unas 60 especies de aves migratorias (42 de ellas

acuáticas) provenientes de Norteamérica y otros países (Osinaga-Acosta y col., 2006). A su vez, la lejanía de sitios urbanos y, por ende, mayor cobertura y estructura vegetal, podría estar favoreciendo la presencia de otros hospedadores del ciclo de los digeneos. El segundo sitio con alta diversidad de estos organismos fue LC. Si bien los índices de diversidad de aves fueron significativamente menores respecto a los de DRS, es posible hipotetizar que en este sitio la abundancia y diversidad de invertebrados, que son sus hospedadores intermediarios, sea alta. Esta hipótesis se basa en que las condiciones ambientales en LC son consideradas de calidad intermedia, dado que no es un sitio prístino ni tampoco presenta calidad muy baja como la que se describe para los sitios más contaminados. Una mayor diversidad y riqueza de especies ha sido señalada en trabajos que postulan la hipótesis de disturbios intermedios, la cual ha sido confirmada en ríos a través de distintos grupos de organismos (Kozak y Didukh, 2014; Tian y Yin, 2022). Asimismo, Hued (2003), registró para LC, una mayor diversidad y riqueza de especies de peces con respecto al sitio de referencia Y, lo cual sugiere que la zona de LC, es propicia para el establecimiento de una mayor riqueza específica a través de su calidad intermedia.

Por otro lado, *Gyrodactylus* sp. perteneciente al grupo Monogenea, estuvo presente sólo en el sitio con menor calidad del agua. Esta fue la única especie de las encontradas en *C. decemmaculatus* que presenta ciclo de vida directo, y que, además, es ectoparásito. Estudios previos han demostrado que estos parásitos con ciclos directos se adaptan mejor a las condiciones impuestas por la contaminación (Mackenzie, 1999). Por ejemplo, Marcogliese y col. (1998) hallaron una mayor abundancia de una especie de *Gyrodactylus* en peces expuestos a sedimentos contaminados, respecto a condiciones no contaminadas (control); este incremento en la abundancia también se registró otro monogeneo del mismo género en el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) expuesto durante 4 meses a extractos de petróleo crudo (Khan y Kiceniuk, 1988). Por otra parte, a partir de la investigación realizada a campo por Skinner (1982), se hallaron respuestas similares de monogeneos, ante condiciones de contaminación, en aguas conteniendo metales, nutrientes y pesticidas. Marcogliese y col. (1998) sostienen que los peces expuestos a contaminantes presentan estados notables de estrés y que se encuentran inmunológicamente comprometidos, lo que finalmente impacta en la supervivencia y reproducción de los monogeneos.

El grupo Cestoda, representado en nuestro trabajo por el orden Cyclophyllidea, fue el más ampliamente distribuido, presentándose en 3 de los 4 sitios estudiados, no evidenciando grandes variaciones en su número. Por ende, podría considerarse que el efecto de la calidad

del agua en sí, no es el que está modelando su distribución. Estos parásitos presentan un quiste grueso y se localizan en la cavidad y en el mesenterio. Su ciclo de vida incluye invertebrados (oligoquetos, moluscos, artrópodos) como primeros hospedadores intermediarios y aves como hospedadores definitivos (Scholz y col., 2001). Su distribución estaría vinculada a la presencia y abundancia de sus hospedadores y no a la contaminación del ambiente. Otros trabajos han encontrado la presencia de estadios larvales de cestodes en peces y su distribución no ha estado vinculada a la contaminación acuática. Por ejemplo, Bertora y col. (2021), hallaron larvas de cestodes en peces, tanto en el sitio de referencia como en el sitio mayormente contaminado, encontrando diferencias en las prevalencias que fueron atribuidas a la presencia de hospedadores intermediarios (macroinvertebrados), definida por una mayor cobertura vegetal acuática (en el sitio de referencia), la cual favorecería la presencia de refugios para los mismos. En el trabajo de Taglioretti y col. (2018), en el cual se evaluaron los ensamblajes parasitarios de helmintos en *C. decemmaculatus*, las larvas de cestodes, si bien no fueron incluidas en los análisis estadísticos por sus bajas abundancias, estuvieron presentes en 4 de los 7 sitios estudiados, sin mostrar relación alguna con el gradiente de urbanización.

Los parásitos pertenecientes al phylum Nematomorpha, representados por la clase Gordiida, estuvieron asociados únicamente a los dos sitios con valores de ICA más altos y ausentes en los de calidades más bajas. Hasta el momento, solo *Chordodes nobilii* fue estudiada en cuanto a su relación con contaminantes (Achiorno, 2011). En ese trabajo, se demostró que, bajo condiciones controladas de laboratorio, los diferentes estadios de dicha especie presentaron sensibilidad frente a varios contaminantes comúnmente encontrados en el agua, particularmente pesticidas de uso frecuente, como Glifosato, Carbendazim y Malatión, otros tóxicos referentes como Dodecil Sulfato de Sodio y los metales Cadmio y Cromo. Teniendo en cuenta que, para la cuenca del Río Suquía, se ha reportado la presencia de algunos de los contaminantes recién mencionados (Glifosato y Carbendazim), aguas abajo de la ciudad de Córdoba (Bonansea y col., 2017; Corcoran y col., 2020), podemos sugerir que estos parásitos están siendo afectados por la contaminación, en concordancia con los resultados de Achiorno (2011). Sin embargo, sería necesario continuar con la búsqueda de estos individuos en los sitios donde no han sido hallados aún, para poder confirmar la sensibilidad de estos parásitos frente a ambientes contaminados. A su vez, la distribución de este grupo registrada en el presente estudio, como fue mencionado anteriormente para parásitos con ciclos de vida indirectos, puede estar afectada por la presencia o abundancia

del resto de sus hospedadores. Particularmente, los hospedadores definitivos de los nematomorfos son los artrópodos, abundantes en los ecosistemas asociados a la cuenca, respecto a otros grupos de macroinvertebrados (Annelida y Mollusca) (Bistoni y col., 2016). A su vez, a partir de trabajos previos, en los sitios contaminados de la cuenca se observó una mayor proporción de Annelida y una menor proporción de Arthropoda (Bistoni y col., 2016), siendo el primer grupo más tolerante a la contaminación. Este factor también podría estar contribuyendo en la distribución de los gordiidos en la cuenca del Suquía.

CONCLUSIÓN

Desde una perspectiva general e integrativa, se puede concluir que varios factores, ambientales y biológicos, afectan en conjunto a los ensamblajes de parásitos, tanto en su distribución, como abundancia y prevalencia. Es importante destacar que cada taxón presenta un patrón diferente con respecto a los sitios estudiados. En términos generales, los monogeneos estuvieron asociados al sitio más impactado, los nematomorfos a los de mejor calidad de agua, los digeneos a los de mayor diversidad de hospedadores y los cestodos no mostraron un patrón específico. Esto muestra la versatilidad de estos parásitos y su potencial para ser evaluados en forma conjunta o individual.

En conclusión, este trabajo reporta por primera vez la parasitofauna del pez nativo *C. decemmaculatus* a lo largo de la cuenca del río Suquía y constituye una primera aproximación para ser considerada como parte de la evaluación y monitoreo de la calidad ambiental, utilizando a los parásitos como bioindicadores. Resulta interesante resaltar el potencial de estos organismos como bioindicadores ya que pueden brindar información no solo del ambiente (en este caso de la calidad del agua), sino también de la diversidad biológica de organismos involucrados en sus ciclos de vida. Sin embargo, es importante continuar avanzando en esta línea de investigación, para conocer con mayor profundidad a las especies presentes, hallar nuevas y determinar sus ciclos de vida, así como establecer variaciones temporales, si hubiera, y sumar nuevas localidades a lo largo de la cuenca para determinar su distribución en otros sectores, en torno a complementar y fortalecer los hallazgos del presente estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achiorno, C. L., de Villalobos, C., & Ferrari, L. (2008). Toxicity of the herbicide glyphosate to *Chordodes nobilii* (Gordiida, Nematomorpha). *Chemosphere*, 71(10), 1816-1822.
- Achiorno, C. L. (2011). Influencia de perturbaciones ambientales de origen antrópico sobre el ciclo de vida de *Chordodes nobilii* (Gordiida, Nematomorpha). Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata.
- Alda, P., Martorelli, S. R., & Sarria, R. (2011). Digenean parasites in the white-backed stilt *Himantopus melanurus* Vieillot, 1817 (Recurvirostridae) from the Argentine Coast. *Comparative Parasitology*, 78(1), 217-219.
- Alda, P., Bonel, N., Panei, C. J., Cazzaniga, N. J., & Martorelli, S. R. (2015). First molecular identification of *Ascocotyle (Phagicola) longa* in its first intermediate host the mud snail *Heleobia australis*. *Acta Parasitológica*, 60, 791-795.
- APHA (American Public Health Association) (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 20th Ed. Washington: American Public Health Association.
- Bellay, S., Ueda, B. H., Takemoto, R. M., Lizama, M. D. L. A. P., & Pavanelli, G. C. (2012). Fauna parasitária de *Geophagus brasiliensis* (Perciformes: Cichlidae) em reservatórios do estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 10(1), 74-78.
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25-34.
- Bertora, A., Rossin, M. A., Grosman, F., Sanzano, P., & Rosso, J. J. (2021). Ensamblajes parasitarios de *Corydoras paleatus* en un arroyo pampeano con condiciones contrastantes de calidad de agua y hábitat. *Biología Acuática*, 37.
- Bertrand, L., Iturburu, F. G., Valdés, M. E., Menone, M. L., & Amé, M. V. (2023). Risk evaluation and prioritization of contaminants of emerging concern and other organic micropollutants in two river basins of central Argentina. *Science of The Total Environment*, 878, 163029.
- Bibby, C. J., Burgess, N. D., Hill, D. A., & Mustoe, S. (2000). *Bird census techniques*, 2nd ed. Academic, San Diego.
- Bistoni, M. A., Hued, A., Videla, M., & Sagretti, L. (1999). Efectos de la calidad del agua sobre las comunidades ícticas de la región central de Argentina. *Revista Chilena de Historia Natural*, 72, 325-335.
- Bistoni, M. A., Chiarini, F., Mangeaud, A., Tatián, M., Torres, R., Visintín, A. (2016). Biota Along the Suquía River Basin. In: Wunderlin, D.A. (ed.) The Suquía River Basin (Córdoba, Argentina). *The Handbook of Environmental Chemistry*, vol 62. Springer, Cham.
- Boero, J. J., Led, J. E. & Brandetti, E. (1972). El parasitismo de la fauna autóctona. *Revista de la Facultad de Agronomía y Veterinaria*, Buenos Aires, 1, 17-29.
- Bonanse, R. I., Filippi, I., Wunderlin, D. A., Marino, D. J. G., & Amé, M. V. (2017). The fate of glyphosate and AMPA in a freshwater endorheic basin: An ecotoxicological risk assessment. *Toxics*, 6(1), 3.
- Bonifacio, A. F., Cazenave, J., Bacchetta, C., Ballesteros, M. L., de los Ángeles Bistoni, M., Amé, M. V., Bertrand L., & Hued, A. C. (2016). Alterations in the general condition, biochemical parameters and locomotor activity in *Cnesterodon decemmaculatus* exposed to commercial formulations of chlorpyrifos, glyphosate and their mixtures. *Ecological Indicators*, 67, 88-97.
- Bray, R. A., Gibson, D. I., & Jones, A. (2008). *Keys to the Trematoda*, 3(5), 113-141

- Brito, J. (2021). Utilización de aspectos reproductivos y metabólicos en hembras de *Cnesterodon decemmaculatus* como posibles herramientas en la evaluación de calidad ambiental. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Córdoba. 41 p.
- Brock, S., & Font, W. F. (2009). Helminths of the western mosquitofish (*Gambusia affinis*) in Bayou Traverse, Louisiana, USA. *Comparative parasitology*, 76(2), 210-221.
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2004). Model selection and multimodel inference. *A practical information-theoretic approach*, 2.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83, 575-583.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment) (2014). Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Canadian Environmental Quality Guidelines. Accessed 23 May 2021 URL <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/>. Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg, Canada.
- Cheng, T. C. (1986). Parasitism and symbiosis. *General Parasitology. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA*.
- Corcoran, S., Metcalfe, C. D., Sultana, T., Amé, M. V., & Menone, M. L. (2020). Pesticides in surface waters in Argentina monitored using polar organic chemical integrative samplers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 21-26.
- Corpet, F. (1988). Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic Acids Research*, 16(22), 10881-10890.
- De León, G. P. P., Sereno-Uribe, A. L., Pinacho-Pinacho, C. D., & García-Varela, M. (2022). Assessing the genetic diversity of the metacercariae of *Posthodiplostomum minimum* (Trematoda: Diplostomidae) in Middle American freshwater fishes: one species or more? *Parasitology*, 149(2), 239-252.
- De Miralles, D. B., & de Villalobos, C. (1996). Nuevos *Gordius* para la Argentina (Gordiacea, Nematomorpha). *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 68, 67-73.
- De Miralles, D. B., & de Villalobos, C. (2000). *Noteochordodes*, un nuevo género para la República Argentina (Nematomorpha, Gordiaceo). *Revista del Museo de La Plata*, 14(163/164/16), 279-283.
- De Villalobos, C., Zanca, F., & Schmidt-Rhaesa, A. (2004). New data on South American species of *Chordodes* (Nematomorpha). *Revista do Museu Nacional*, 62(4), 375-386.
- De Villalobos, C., Salas, L., Zanca, F., & Atencio, A. (2010). The occurrence of epibionts of Gordiida (Nematomorpha) in Catamarca, Argentina. *Acta Parasitologica*, 55(3), 281-285.
- 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* (Jenyns) y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns) (Pisces, Atheriniformes), de la laguna Chis-Chis, provincia de Buenos Aires. *Revista Brasileira de Biología*, 54, 669-679.
- Drago, F. B., & Lunaschi, L. I. (2011). Digeneos parásitos de aves Ciconiiformes de Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(1), 77-83.
- Drago, F. B., Lunaschi, L. I., & Draghi, R. (2014). Digenean fauna in raptors from northeastern Argentina, with the description of a new species of *Strigea* (Digenea: Strigeidae). *Zootaxa*, 3785(2), 258-270.
- Dubois, G. (1977). Du statui de quelques *Strigeata* La Rue, 1926 (Trematoda). V. *Bulletin de la Société Neuchateloise des Sciences Naturelles*, 100, 34-44.
- Fausch, K., Lyons, J., Karr, J., & Angermeier, P. (1990). Fish communities as indicators of environmental degradation. *American Fisheries Society Symposium*, 8, 123-144.

- Fredensborg, B. L., Mouritsen, K. N., & Poulin, R. (2006). Relating bird host distribution and spatial heterogeneity in trematode infections in an intertidal snail from small to large scale. *Marine Biology*, 149, 275-283.
- Galaktionov, K. V., & Dobrovolskij, A. A. (2003). The biology and evolution of trematodes. Fried B, Graczyk TK (eds) Springer Netherlands, Dordrecht.
- Gibson, D. I., Jones, A., & Bray, R. A. (2002). Keys to the Trematoda. Vol. 1. London: CAB International and Natural History Museum, 521.
- Guagliardo, S. E., Frontalini, N. M., Streitenberger, E., Tittarelli, E., Schwerdt, C. B., Gigola, G., & Tanzola, R. D. (2022). *Ascocotyle patagoniensis* (Digenea: Heterophyidae) from the silverside *Odontesthes argentinensis* (Atherinopsidae). *Revista Argentina de Parasitología*, 11, 13-20.
- Halmetoja, A., Valtonen, E. T., & Koskenniemi, E. (2000). Perch (*Perca fluviatilis* L.) parasites reflect ecosystem conditions: a comparison of a natural lake and two acidic reservoirs in Finland. *International Journal for Parasitology*, 30(14), 1437-1444.
- Hanelt, B., Thomas, F., & Schmidt-Rhaesa, A. (2005). Biology of the phylum Nematomorpha. *Advances in Parasitology*, 59, 243-305.
- Hechinger, R. F., & Lafferty, K. D. (2005). Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1567), 1059-1066.
- Hernández-Orts, J. S., Georgieva, S., Landete, D. N., & Scholz, T. (2019). Heterophyid trematodes (Digenea) from penguins: A new species of *Ascocotyle* Looss, 1899, first description of metacercaria of *Ascocotyle* (*A.*) *patagoniensis* Hernández-Orts, Montero, Crespo, García, Raga and Aznar, 2012, and first molecular data. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 8, 94-105.
- Hoogendoorn, C., Smit, N. J., & Kudlai, O. (2019). Molecular and morphological characterisation of four diplostomid metacercariae infecting *Tilapia sparrmanii* (Perciformes: Cichlidae) in the North West Province, South Africa. *Parasitology Research*, 118, 1403-1416.
- Hua, J., Buss, N., Kim, J., Orlofske, S. A., & Hoverman, J. T. (2016). Population-specific toxicity of six insecticides to the trematode *Echinoparyphium* sp. *Parasitology*, 143(5), 542-550.
- Hued, A. C. 2003. Efecto de las variaciones en la calidad del agua sobre las comunidades ícticas en ríos serranos (Córdoba, Argentina). Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. 105 p.
- Hued, A. C., & Bistoni, M. A. (2005). Development and validation of a Biotic Index for evaluation of environmental quality in the central region of Argentina. *Hydrobiologia*, 543, 279-298.
- Hued, A.C., Dardanelli, S., & Bistoni, M.A. (2010). Temporal and spatial variability of fish assemblages in a river basin with an environmental degradation gradient. *Community Ecology*, 11, 41-50.
- Hued, A. C., Nostro, F. L. L., Wunderlin, D. A., & Bistoni, M. A. (2012). Reproductive impairment of a viviparous fish species inhabiting a freshwater system with anthropogenic impact. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64, 281-290.
- Khalil, L. F., Jones, A., & Bray, R. A. (1994). Keys to the cestode parasites of vertebrates. CAB International.
- Khan, R. A., & Kiceniuk, J. W. (1988). Effect of petroleum aromatic hydrocarbons on monogeneids parasitizing Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 41(1), 94-100.

- Kozak, O., & Didukh, Y. (2014). Assessment of mountain ecosystems changes under anthropogenic pressure in Latorica river basin (Transcarpathian region, Ukraine). *Ekológia (Bratislava)*, 33(4), 365-379.
- Kvach, Y., Jurajda, P., Bryjová, A., Trichkova, T., Ribeiro, F., Přikrylová, I., & Ondračková, M. (2017). European distribution for metacercariae of the North American digenean *Posthodiplostomum cf. minimum centrarchi* (Strigeiformes: Diplostomidae). *Parasitology International*, 66(5), 635-642.
- Lafferty, K. D. (1997) Environmental parasitology, what can parasites tell us about human impacts on the environment? *Parasitology Today*, 13, 251-255.
- 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, 211-232.
- Liotta, J. R. (2005). Distribución geográfica de los peces de aguas continentales de la República Argentina. *ProBiota: Serie Documentos*.
- López-Hernández, D., Locke, S. A., de Melo, A. L., Rabelo, É. M. L., & Pinto, H. A. (2018). Molecular, morphological and experimental assessment of the life cycle of *Posthodiplostomum nanum* Dubois, 1937 (Trematoda: Diplostomidae) from Brazil, with phylogenetic evidence of the paraphyly of the genus *Posthodiplostomum* Dubois, 1936. *Infection, Genetics and Evolution*, 63, 95-103.
- Lucinda, P. H. (2005). Systematics of the genus *Cnesterodon* Garman, 1895 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: Poeciliinae). *Neotropical Ichthyology*, 3, 259-270.
- Lunaschi, L. I., Cremonese, F., & Drago, F. B. (2007). Checklist of digenean parasites of birds from Argentina. *Zootaxa*, 1403, 1-36.
- Mackenzie, K. (1999). Parasites as pollution indicators in marine ecosystems: a proposed early warning system. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 955-959.
- Maggioni, T., Hued, A. C., Monferrán, M. V., Bonansea, R. I., Galanti, L. N., & Amé, M. V. (2012). Bioindicators and biomarkers of environmental pollution in the middle-lower basin of the Suquia River (Córdoba, Argentina). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 337-353.
- Magurran, A. E. (2004) *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing, Oxford, 256 p.
- Marcogliese, D. J., Nagler, J. J., & Cyr, D. G. (1998). Effects of exposure to contaminated sediments on the parasite fauna of American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 88-95.
- Merlo, C., Abril, A., Amé, M. V., Argüello, G. A., Carreras, H. A., Chiappero, M. S., Hued, A. C., Wannas E., Galanti, L. N., Monferrán M. V., González C. M., & Solis, V. M. (2011). Integral assessment of pollution in the Suquia River (Córdoba, Argentina) as a contribution to lotic ecosystem restoration programs. *Science of the Total Environment*, 409(23), 5034-5045.
- 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.
- Olurin, K. B., & Aderibigbe, O. A. (2006). Length-weight relationship and condition factor of pond reared juvenile *Oreochromis niloticus*. *World Journal of Zoology*, 1(2), 82-85.
- Ortubay, S. G., Semenas, L., Ubeda, C. A., Quaggiotto, A. E., & Viozzi, G. (1994). Catálogo de peces dulceacuícolas de la Patagonia Argentina y sus parásitos metazoos. Dirección de Pesca, Subsecretaría de Recursos Naturales, San Carlos de Bariloche, 110 pp.
- Osinaga-Acosta O., Torres Dowdall J., Martín E., & Lascano E. (2006). Aves Playeras. En: Bucher EH, editor. Bañados del río Dulce y Laguna Mar Chiquita (Córdoba, Argentina). Córdoba: *Academia Nacional de Ciencias*, 263-75.

- Ostrowski de Núñez, M. (1970). Estudios sobre la fauna parasitaria del biguá. II. Trematodes pertenecientes a la familia Diplostomatidae. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, Zoología, 10, 199-214.
- Ostrowski de Núñez, M. (1976). Fauna de agua dulce en la República Argentina, IV. Las cercarias de *Ascocotyle (A.) tenuicollis* Price, 1935 y de *Pygidiopsis pindoramensis* Travassos, 1929. (Trematoda, Heterophyidae). *Physis*, 35, 51-57.
- Ostrowski de Núñez, M. (1992). Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical Region: *Ascocotyle (Leighia) hadra* n. sp. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, 539-543.
- Ostrowski de Núñez, M. (1993). Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical Region: *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* (Stunkard & Haviland, 1924) and *A. (P.) angrense* Travassos, 1916. *Systematic Parasitology*, 24, 191-199.
- Ostrowski de Núñez, M. (1998). Life cycle of *Ascocotyle (Phagicola) angeloi* (Travassos, 1928) (Trematoda, Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Folia Parasitologica*, 45, 199-204.
- Ostrowski de Núñez, M. (2001). Life cycles of two new sibling species of *Ascocotyle (Ascocotyle)* (Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Acta Parasitologica*, 46, 119-129.
- Ott, W. R. (1978). *Water quality indices: a survey of indices used in the United States*. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Office of Monitoring and Technical Support.
- Pernett, S. C. D., Brant, S. V., & Locke, S. A. (2022). First integrative study of the diversity and specificity of metacercariae of *Posthodiplostomum* Dubois, 1936 from native and introduced fishes in the Caribbean. *Parasitology*, 149(14), 1894-1909.
- Pesce, S. F., & Wunderlin, D. A. (2000). Use of water quality indices to verify the impact of Córdoba City (Argentina) on Suquia River. *Water Research*, 34, 2915-2926.
- Pietroock, M., & Marcogliese, D. J. (2003). Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. *Trends in Parasitology*, 19(7), 293-299.
- Pina, S. (2011) An integrative approach in the study of digenean parasites life cycles: the use of morphological and molecular characteristics. Tesis doctoral. Universidad de Porto.
- Pinto, H. A., & Melo, A. L. D. (2011). Metacestodes of *Glossocercus auritus* (Cyclophyllidea, Gryporhynchidae) in *Poecilia reticulata* (Pisces, Poeciliidae) from Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20, 161-164.
- Pinto, H. A., & Melo, A. L. D. (2012). Infecção natural de *Poecilia reticulata* (Actinopterygii: Poeciliidae) por metacercárias na represa da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 38, 257-264.
- Popazoglo, F., & Boeger, W. A. (2000). Neotropical Monogenoidea 37. Redescription of *Gyrodactylus superbus* (Szidat, 1973) comb. n. and description of two new species of *Gyrodactylus* (Gyrodactylidea: Gyrodactylidae) from *Corydoras paleatus* and *C. ehrhardti* (Teleostei: Siluriformes: Callichthyidae) of southern Brazil. *Folia Parasitologica*, 47(2), 105-110.
- Poulin, R. (1999). The functional importance of parasites in animal communities: ¿many roles at many levels? *International Journal of Parasitology*, 29, 903-914.
- Ramsar Convention Bureau (2002). Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar, Argentina, Bañados del Río Dulce y Laguna de Mar Chiquita. http://www.ramsar.org/ris_argentina_chiquita_s.htm.
- Rauque, C., Viozzi, G., Flores, V., Vega, R., Waicheim, A., & Salgado-Maldonado, G. (2018). Helminth parasites of alien freshwater fishes in Patagonia (Argentina). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 7(3), 369-379.

- Rautenberg, G. E., Amé, M. V., Monferrán, M. V., Bonansea, R. I., & Hued, A. C. (2015). A multi-level approach using *Gambusia affinis* as a bioindicator of environmental pollution in the middlelower basin of Suquía River. *Ecological Indicators*, *48*, 706-720.
- Rautenberg, G. E., Bonifacio, A. F., Chiappero, M. B., Amé, M. V., & Hued, A. C. (2022). Genetic structure of a native Neotropical fish species: new insights about a South American bioindicator. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *83*(2), 168-179.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reventa, J. E., Torres, P. F., & Baiz, M. (2005). Impact of a caged-trout farm on parasites of *Galaxias maculatus* in Lake Moreno, Southern Argentina. *Journal of Parasitology*, *91*, 707-709.
- 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.
- Santos, C. P., Simões, S. B. E., Barbosa, H. S., & Scholz, T. (2007). Redescription of *Ascocotyle* (*Ascocotyle*) *felippei* Travassos, 1928 (Digenea: Heterophyidae) with new synonymies. *Journal of Parasitology*, *93*(6), 1468-1475.
- Santos, C. P., & Borges, J. N. (2020). Current knowledge of small flukes (Digenea: Heterophyidae) from South America. *The Korean Journal of Parasitology*, *58*(4), 373.
- Scholz, T., & Salgado-Maldonado, G. (2001). Metacestodes of the family Dilepididae (Cestoda: Cyclophyllidae) parasitising fishes in Mexico. *Systematic Parasitology*, *49*, 23-39.
- Scholz, T., Tavakol, S., Uhrová, L., Brabec, J., Přikrylová, I., Mašová, Š., Šimková, A., Halajian A. & Luus-Powell, W. J. (2018). An annotated list and molecular data on larvae of gyporhynchid tapeworms (Cestoda: Cyclophyllidae) from freshwater fishes in Africa. *Systematic Parasitology*, *95*, 567-590.
- Siegel, S., & Castellan, N.J. (1988). Nonparametric statistics for the behavioural sciences, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company. New York, 144-151.
- Skinner, R. H. (1982). The interrelation of water quality, gill parasites, and gill pathology of some fishes from South Biscayne Bay. *Florida Fisheries Bulletin*, *80*, 269-280.
- Smith, N. F. (2001). Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. *Oecologia*, *127*, 115-122.
- SRHN (Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación) (2004). Niveles Guía Nacionales de Calidad de Agua Ambiente. Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, República Argentina.
- Sueiro, M. C., Bagnato, E., & Palacios, M. G. (2017). Parasite infection and immune and health-state in wild fish exposed to marine pollution. *Marine Pollution Bulletin*, *119*, 320-324.
- Sures, B., Nachev, M., Selbach, C., & Marcogliese, D. J. (2017). Parasite responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. *Parasites & Vectors*, *10*, 1-19.
- Taglioretti, V., Rossin, M. A., & Timi, J.T. (2018). Fish-trematode systems as indicators of anthropogenic disturbance: Effects of urbanization on a small stream. *Ecological Indicators*, *93*, 759-770.
- 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*, 1713-1728.
- Takemoto, R. M., Pavanelli, G. C., Lizama, M. D. L. A., Lacerda, A. C. F., Yamada, F. H., Moreira, L. H. A., Ceschini, T. L., & Bellay, S. (2009). Diversity of parasites of fish from the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, *69*, 691-705.

- Tammone, S. A., Schwerdt, C., Tanzola, R., & Guagliardo, S. (2019). Heavy metal bioaccumulation by cestode parasites of *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes: Carcharhiniformes), from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Dairy & Veterinary sciences*, *13*, 1-3.
- Tian, S., & Yin, X. (2022). Intermediate disturbance hypothesis explains eutrophication and biodiversity pattern in a boreal river basin, China. *Hydrobiologia*, *849*(15), 3389-3399.
- Torres-Hevia, P. (2021). New freshwater fish hosts of gordiids (Nematomorpha) larvae in the south of Chile. *Neotropical Helminthology*, *15*(1), 79-84.
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *13*, 57-149.
- 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.
- Viozzi, G., Semenas, L., Brugni, N., & Flores, V. R. (2009). Metazoan parasites of *Galaxias maculatus* (Osmeriformes: Galaxiidae) from argentinean Patagonia. *Comparative Parasitology*, *76*(2), 229-239.
- Viozzi, G., Rauque, C., Flores, V., Vega, R., & Waicheim, A. (2023). A regional scale study of parasites in *Percichthys trucha*, an endemic fish of southern South America: insights on diversity and distribution from two decades of field surveys. *Parasitology Research*, 1-23.
- Yamaguti S. (1963). *Systema Helminthum*. Vol 4. Monogenea and Aspidocotylea. New York: John Wiley & Sons.
- Zambrano, M. J., Rautenberg, G. E., Bonifacio, A. F., Filippi, I., Amé, M. V., Bonansea, R. I., & Hued, A. C. (2018). Effects of water quality on aspects of reproductive biology of *Cnesterodon decemmaculatus*. *Science of the Total Environment*, *645*, 10-21.
- Zambrano, M. J. (2023). Análisis de la longitud telomérica en el pez *Cnesterodon decemmaculatus* como indicador del grado de contaminación de cuerpos de agua naturales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. 136 p.
- Zambrano, M. J., Bonifacio, A. F., Brito, J. M., Rautenberg, G. E., & Hued, A. C. (2023). Length–weight relationships and body condition indices of a South American bioindicator, the native Neotropical fish species, *Cnesterodon decemmaculatus* (Poeciliidae). *Journal of Ichthyology*, *63*(5), 930-936.
- Zhang, Z., & Wang, L. (2017). *Advance Statistics Using R*. Granger IN: ISDSA Press.