

# NUEVOS LINAJES DE CLINOSTOMUM SP. (DIGENEA: CLINOSTOMIDAE) EN ARGENTINA

Marcos Waldbillig<sup>2</sup>, Martín Miguel Montes<sup>1</sup>, Jorge Barneche<sup>1</sup>, Paula Marcotegui<sup>1</sup>, Walter Ferrari<sup>1</sup> y Sergio Martorelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores (CEPAVE), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de La Plata (CCT, CONICET-UNLP), Boulevard 120 s/n e/ 60 y 64

<sup>2</sup>Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet", CONICET, Boulevard 120 y 62, La Plata, Argentina



Fig. 1.- Sitios de colecta de peces con quistes de *Clinostomum* sp.

## INTRODUCCION

Las metacercarias de *Clinostomum* infectan mayormente peces y los adultos el tracto digestivo superior de aves, reptiles y mamíferos (incluido el hombre). Las diferencias morfológicas entre especies que comprende el género *Clinostomum* son difíciles de

evaluar porque hay pocos caracteres diagnósticos. Recientemente en el laboratorio hemos comenzado a investigar la fauna parasitaria de *Characidium rachovii* proveniente de Concordia, (Entre Ríos) y peces provenientes del Sistema Iberá, en Corrientes (Fig 1).

Se recolectaron de Concordia ejemplares de *C. rachovii* y de *Hyphessobrycon anisitsi* (Fig. 2) que presentaban los típicos quistes de metacercarias *Clinostomum*. En Iberá se pescaron individuos de *Crenicichla vittata* y *Gymnogeophagus balzanii* (Fig 2) y se encontraron metacercarias de *Clinostomum* en mesenterios y musculatura (Fig. 3), respectivamente. Se guardaron ejemplares de los

parásitos en alcohol 96%, se realizó la extracción de ADN y se secuenció el gen COI. Otros ejemplares se aplastaron ligeramente entre porta y cubreobjeto, se conservaron en formol al 10% y se tificaron con Carmin Clorhídrico. Las secuencias se editaron "a ojo" y se buscó la presencia de pseudogenes con el programa Geneious, se alinearon, y se eligió el mejor modelo de sustitución mediante el programa PartitionFinder (Trn+G, K81uf, TrN+I+G, para cada una de las tres particiones). Se calculó la distancia génica ( $p$ -distance) en el programa MEGA y la reconstrucción filogenética se realizó usando la Inferencia Bayesiana mediante el programa Mr.Bayes.

## MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron de Concordia ejemplares de *C. rachovii* y de *Hyphessobrycon anisitsi* (Fig. 2) que presentaban los típicos quistes de metacercarias *Clinostomum*. En Iberá se pescaron individuos

de *Crenicichla vittata* y *Gymnogeophagus balzanii* (Fig 2) y se encontraron metacercarias de *Clinostomum* en mesenterios y musculatura (Fig. 3), respectivamente. Se guardaron ejemplares de los

parásitos en alcohol 96%, se realizó la extracción de ADN y se secuenció el gen COI. Otros ejemplares se aplastaron ligeramente entre porta y cubreobjeto, se conservaron en formol al 10% y se tificaron con Carmin Clorhídrico. Las secuencias se editaron "a ojo" y se buscó la presencia de pseudogenes con el programa Geneious,

se alinearon, y se eligió el mejor modelo de sustitución mediante el programa PartitionFinder (Trn+G, K81uf, TrN+I+G, para cada una de las tres particiones). Se calculó la distancia génica ( $p$ -distance) en el programa MEGA y la reconstrucción filogenética se realizó usando la Inferencia Bayesiana mediante el programa Mr.Bayes.



Fig. 2.- Hospedadores de metacercarias de *Clinostomum*. A.- *Characidium rachovii*. B.- *Hyphessobrycon anisitsi*. C.- *Crenicichla vittata*. D.- *Gymnogeophagus balzanii*.

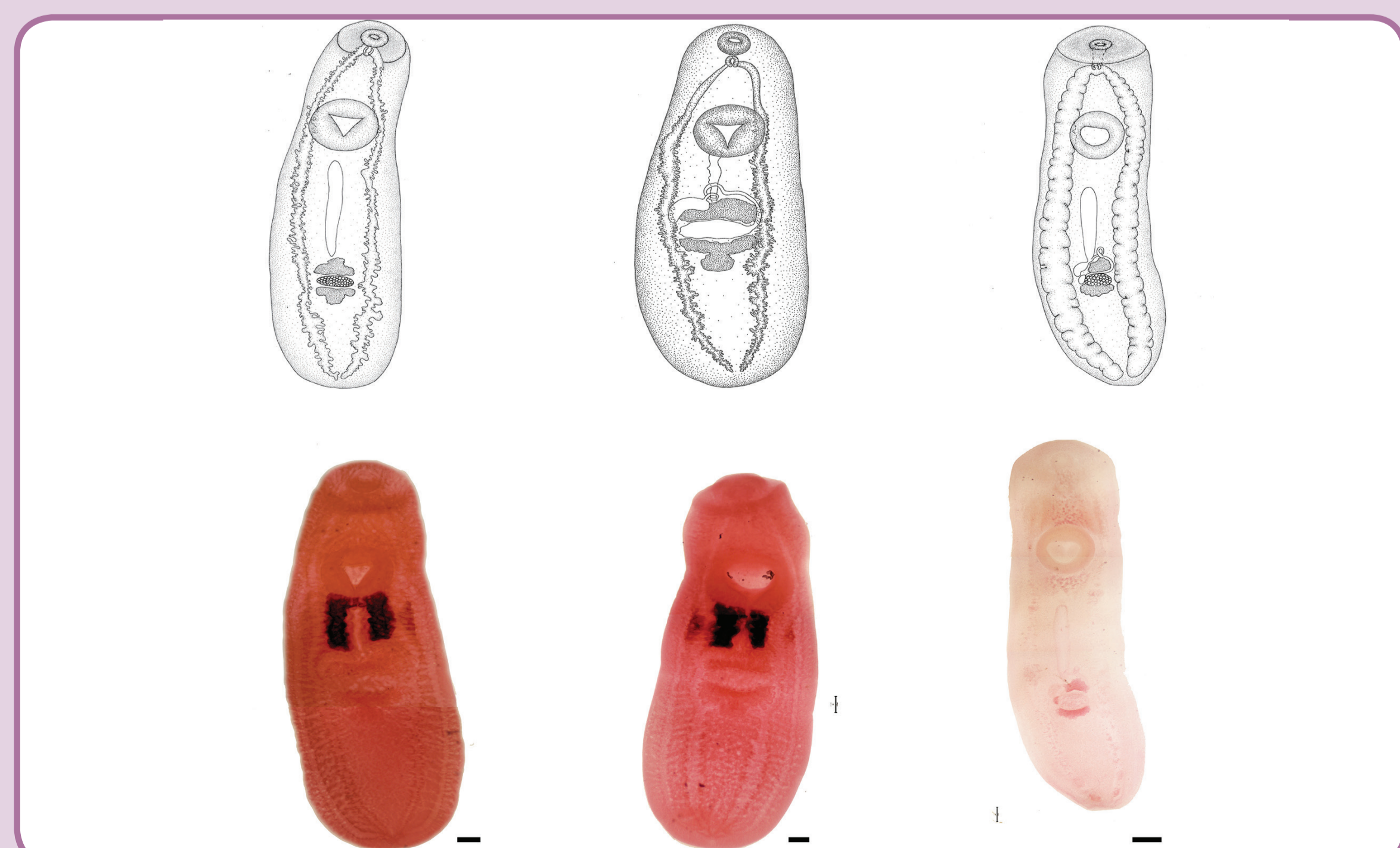


Fig. 3.- *Clinostomum* sp. parasitas de A.- *Crenicichla vittata*, B.- *Gymnogeophagus balzanii* y C.- *Characidium rachovii*.

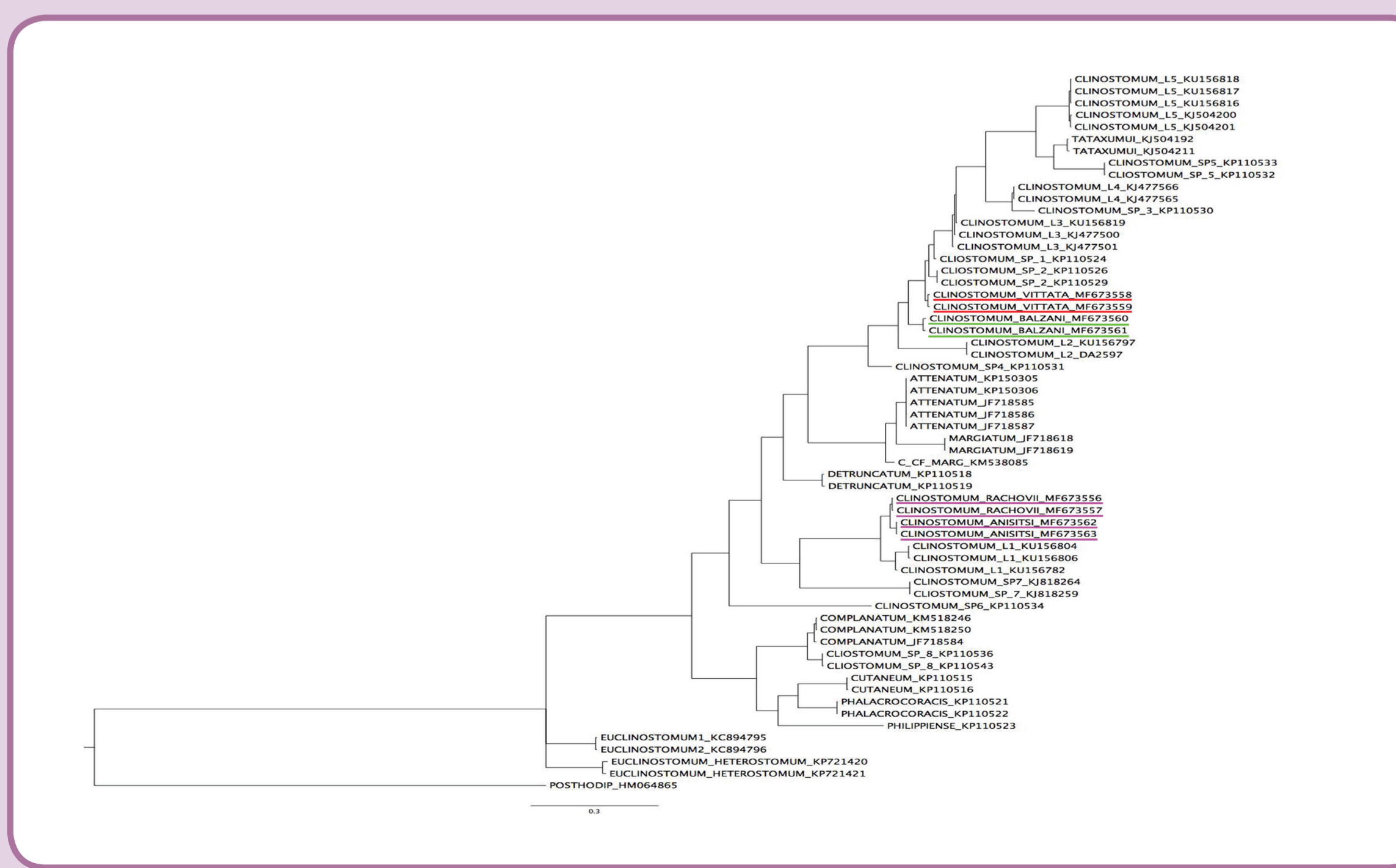


Fig. 4.- Filograma de secuencias de *Clinostomum* sp. registradas en el Genbank.

## RESULTADOS

Los *Clinostomum* representan nuevos linajes como se puede observar en el filograma (Fig. 4). La distancia génica entre los ejemplares recuperados de *C. rachovii* e *H. anisitsi* de Concordia mostraron una diferencia del 1%. Las metacercarias de *Clinostomum* en *C. vittata*

y *G. balzanii* mostraron una distancia génica del 5%. Los *Clinostomum* de los dos sitios de muestreo analizados arrojan una distancia genica de 14-16%.

## CONCLUSIONES

Se confirma la existencia de 3 linajes no registrados anteriormente para Argentina y que posiblemente constituyan nuevas especies. Los ejemplares de Concordia son similares molecularmente y constituirían un linaje, mientras que los de Iberá serían dos especies diferentes. Resta hacer un análisis molecular de los adultos colectados en aves y realizar una descripción formal de las especies de *Clinostomum*.