

Efecto de la salinidad sobre la supervivencia de las cercarias de *Maritrema bonaerense* Etchegoin & Martorelli, 1997 (Digenea: Microphallidae)

Effect of salinity on the cercarial survival of *Maritrema bonaerense* Etchegoin & Martorelli, 1997 (Digenea: Microphallidae)

Martinez Lorena¹, Gilardoni Carmen^{2*}, Klaich Javier³, Etchegoin Jorge A.¹

RESUMEN: En ambientes mixohalinos, el digeneo *Maritrema bonaerense* comparte hospedadores intermediarios (crustáceos) y una especie de hospedador definitivo (ave) con otro miembro de la familia Microphallidae: *Microphallus szidati*. Sin embargo, sólo *M. szidati* ha sido registrado parasitando a hospedadores intermediarios en ambientes dulceacuícolas. Dado que ambas especies de microfálidos tendrían afinidad por las mismas especies de hospedadores en ambientes marinos o mixohalinos, es posible que la ausencia de *M. bonaerense* en ambientes dulceacuícolas se deba principalmente a una barrera ambiental que pueda afectar la transmisión de los estadios libres nadadores del digeneo (cercarias). En base a estas consideraciones se planteó como objetivo del presente trabajo analizar el efecto de la salinidad sobre la supervivencia de las cercarias de *M. bonaerense*. Para ello, cercarias emitidas por *Heleobia australis* de ambientes mixohalinos, fueron expuestas a salinidades de 16 ppm y de 1 ppm en placas de cultivo con 48 compartimentos individuales de 16 ml de capacidad. Cada experimento se repitió tres veces. Durante 10 horas las placas fueron observadas cada hora bajo microscopio estereoscópico, registrándose el número de cercarias vivas en cada compartimento. A las 24 horas de comenzado el experimento se observaron las placas, registrándose el número total de cercarias vivas, las cuales fueron clasificadas como cercarias activas, cercarias letárgicas y cercarias letárgicas que perdieron la cola. El efecto de la salinidad sobre la supervivencia de las cercarias se evaluó mediante la aplicación de Modelos Lineales Generalizados (MLG). Los resultados del estudio revelaron una marcada influencia de los niveles de salinidad sobre la supervivencia y movilidad de las cercarias y permiten suponer que *M. bonaerense* es una especie mejor adaptada a ambientes marinos y mixohalinos.

Palabras clave: digeneos, transmisión, factores ambientales, aves, moluscos.

ABSTRACT: In myxohaline environments, the digenean *Maritrema bonaerense* shares intermediate host species (crustaceans) and a definitive host species (bird) with another member of the family Microphallidae: *Microphallus szidati*. However, only *M. szidati* has been recorded parasitizing intermediate hosts in freshwater environments. Given that both species of microphallids would have affinity for the same host species in marine or mixohaline environments, it is possible that the absence of *M. bonaerense* in freshwater environments is mainly due to an environmental barrier that may affect the transmission of the free-swimming stages of the digenean (cercariae). Based on these considerations, the objective of this study was to analyze the effect of salinity on the survival of cercariae of *M. bonaerense*. For this, cercariae emitted by *Heleobia australis* from myxohaline environments were exposed to salinities of 16 ppm and 1 ppm in culture plates with 48 wells of 16 ml capacity. For 10 hours plates were observed every hour under a stereomicroscope and the number of live cercariae in each compartment was recorded. 24 hours after the experiment began, plates were observed, recording the total number of live cercariae, which were classified as active cercariae, lethargic cercariae, and lethargic cercariae that lost their tails. The effect of salinity on the survival of cercariae was analyzed by applying Generalized Linear Models (GLM). The results of the study revealed a marked influence of salinity levels on the survival and mobility of cercariae, and allow us to assume that *M. bonaerense* is a species better adapted to marine and mixohaline environments.

Keywords: digeneans, transmission, environmental factors, birds, molluscs.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), CONICET-UNMdP, Centro de Asociación Simple CIC-PBA, Juan B. Justo 2550 (7600), Mar del Plata, Argentina. ²Instituto de Biología de Organismos Marinos (IBIOMAR-CONICET), Boulevard Brown 2915, (9120), Puerto Madryn, Chubut, Argentina. ³Cátedra de Estadística II, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

INTRODUCCIÓN

Los ciclos de vida de los digeneos usualmente incluyen a tres hospedadores: un hospedador definitivo vertebrado, en donde se aloja el adulto que producirá huevos del cual emergen larvas miracidio que infectarán al primer hospedador intermediario (generalmente un molusco). En el molusco se desarrollan los estadios infectivos libres nadadores o cercarias, las cuales infectan al segundo hospedador intermediario (invertebrado o vertebrado), dando origen a otro estadio de desarrollo, la metacercaria. El segundo hospedador intermediario es ingerido por el hospedador definitivo, dentro del cual la metacercaria alcanza el estadio adulto (Yamaguti, 1975; Ginetsinskaya, 1988; Galaktionov y Dobrovolskij, 2003; Deblock, 2008).

Al presentar ciclos de vida complejos que requieren de más de una especie hospedadora, el éxito de la colonización y permanencia de una especie de digeneo en un nuevo ambiente no sólo depende de la coincidencia en el espacio de todas las especies hospedadoras (Combes, 2001) sino también de la interacción con los factores ambientales. Los estadios de vida libre de los digeneos (miracidios y cercarias) se hallan expuestos directamente a las variaciones de factores tales como temperatura, salinidad, pH, luz (Pietrock y Marcogliese, 2003). La influencia de dichos factores puede favorecer o limitar la presencia de una especie de digeneo en un ecosistema ya que afectan directamente la movilidad y supervivencia de los estadios de vida libre, indispensables para el proceso de búsqueda y contacto con los hospedadores. Estos estadios presentan, además, un período de vida muy corto, razón por la cual necesitan infectar rápidamente al próximo hospedador dentro del ciclo de vida (Galaktionov y Dobrovolskij, 2003; Sukhdeo y Sukhdeo, 2004).

Los digeneos de la familia Microphallidae parasitan a todas las clases de vertebrados y son considerados un grupo abundante de parásitos entre las aves y los mamíferos en todo el mundo (Deblock, 2008; Kudlai et al., 2016). Dentro de dicha familia, las especies del género *Maritrema* Nicoll, 1907 son componentes comunes en las comunidades de parásitos de aves en ambientes marinos, mixohalinos y de agua dulce (e.g. Cremonte y Martorelli, 1998; Martorelli et al., 2004; Diaz et al., 2011; Rauque et al., 2013; Capasso et al., 2019).

Entre las especies de microfálidos registradas en Argentina, *Maritrema bonaerense* Etchegoin & Martorelli, 1997 presenta un ciclo de vida que incluye a los moluscos *Heleobia australis* (d'Orbigny) y *Heleobia conexa* (Gaillard) (Cochliopidae) como primeros hospedadores intermediarios, a los cangrejos *Cyrtograpsus angulatus* Dana y *Neohelice granulata* (Dana) (Varunidae) como segundos hospedadores intermediarios y a las gaviotas capucho café *Chroicocephalus maculipennis*

(Lichtenstein), cangrejera *Larus atlanticus* Olog y cocinera *Larus dominicanus* Lichtenstein (Laridae) como hospedadores definitivos (Etchegoin y Martorelli, 1997; Cremonte et al., 1999; Merlo et al., 2022). En la laguna Mar Chiquita, en la provincia de Buenos Aires, *M. bonaerense* comparte segundos hospedadores intermediarios (*C. angulatus* y *N. granulata*) y una especie de hospedador definitivo (*C. maculipennis*) con otro miembro de la familia Microphallidae: *Microphallus szidati* Martorelli, 1986 (Etchegoin et al., 1996; Etchegoin, 1997, 2001). Sin embargo, sólo *M. szidati* ha sido registrada parasitando a hospedadores intermediarios en ambientes dulceacuícolas, utilizando a *Heleobia parchappii* (d'Orbigny) (Mollusca: Cochliopidae) y a *Palaemon argentinus* (Nobili) (Crustacea: Palaemonidae) como primer y segundo hospedador intermediario respectivamente (Martorelli, 1986).

Al incluir a gaviotas como hospedadores definitivos, *M. bonaerense* también podría potencialmente estar presente en ambientes dulceacuícolas, teniendo en cuenta que estas aves son generalistas y que los digeneos microfálidos exhiben una baja especificidad a nivel de hospedadores definitivos (Deblock, 2008; Kudlai et al., 2016). Por ejemplo, *C. maculipennis* y *L. dominicanus* pueden encontrarse en la franja costera marina y también en aguas continentales (Favero et al., 2001). Sin embargo, la presencia de *M. bonaerense* sólo ha sido registrada en ambientes marinos o mixohalinos (Merlo et al., 2022). Dado que ambas especies de microfálidos tendrían afinidad por los mismos segundos hospedadores intermediarios en ambientes marinos o mixohalinos, es posible que la ausencia de *M. bonaerense* en ambientes dulceacuícolas se deba principalmente a una barrera ambiental asociada con la diferencia de salinidad entre ambos tipos de ecosistemas, lo cual puede afectar la supervivencia y la transmisión de las cercarias. En base a estas consideraciones se planteó como objetivo del presente trabajo analizar el efecto de la salinidad sobre la supervivencia de las cercarias de *M. bonaerense*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *Heleobia australis* fueron colectados durante el mes de febrero de 2019 en el Arroyo Cangrejo (37° 40'S - 57° 20'O). Este cuerpo de agua corre paralelo a la desembocadura de la laguna Mar Chiquita y se conecta con la misma en el extremo sur. Como resultado de esa comunicación con la desembocadura de la laguna Mar Chiquita en el mar, el arroyo recibe aportes de agua salada, principalmente durante las mareas altas, que inducen fluctuaciones en los niveles de salinidad del cuerpo de agua.

Los moluscos fueron colectados sobre y dentro del sustrato con la ayuda de tamices (0,5 mm de abertura de malla) y pinzas, y colocados en recipientes de cinco

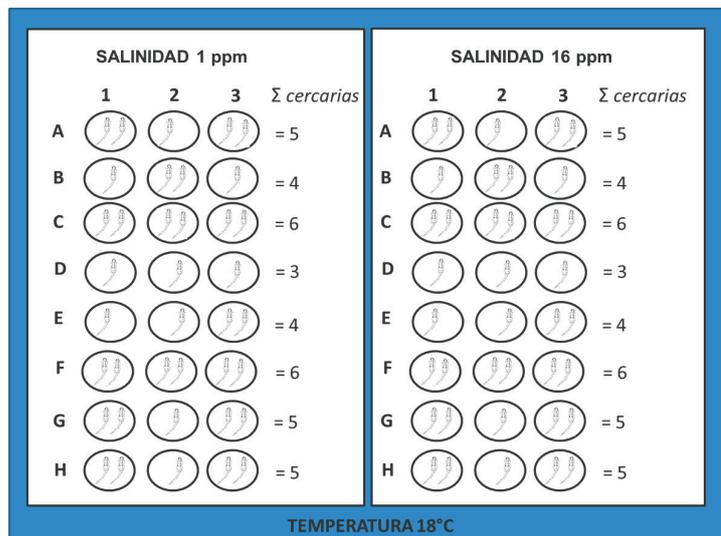


Figura 1. Representación gráfica de los experimentos realizados con las cercarias en las placas de cultivo, expuestas a dos niveles de salinidad (1 ppm y 16 ppm).

litros de capacidad con agua del lugar de colecta para su traslado. En el laboratorio, los moluscos se colocaron individualmente en recipientes con 45 ml de agua filtrada y se expusieron a una lámpara incandescente durante 48 horas, para favorecer la emisión de cercarias. Los moluscos infectados con *M. bonaerense* (5 ejemplares) se mantuvieron en recipientes individuales hasta el comienzo de las tareas experimentales.

Para evaluar el efecto de la salinidad sobre la supervivencia de las cercarias de *M. bonaerense*, se seleccionaron aquellas cercarias que emergieron el mismo día del experimento y que evidenciaron una actividad natatoria. Las cercarias fueron transferidas a las placas de cultivo al azar, mezclando cercarias emitidas por los distintos caracoles infestados para reducir las variaciones debidas al genotipo. Se utilizaron dos placas de cultivo con 48 compartimentos individuales (WELL de 16 ml de capacidad). En cada compartimento (WELL) se colocaron entre una y dos cercarias utilizándose un total de 24 compartimentos (Fig. 1). En una placa las cercarias fueron expuestas a una salinidad de 16 ppm (valor promedio en base a datos previos de salinidad estacional en el Arroyo Cangrejo) y en la otra a una salinidad de 1 ppm (agua dulce). Dicho experimento, que se replicó 3 veces, se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente (en promedio 18 °C) y con iluminación constante. Durante 10 horas las placas fueron observadas cada hora bajo

microscopio estereoscópico, registrándose el número de cercarias vivas en cada compartimento. Finalmente, a las 24 horas de comenzado el experimento se observaron las placas, registrándose el número total de cercarias vivas. Las cercarias vivas se clasificaron como cercarias activas, cercarias letárgicas y cercarias letárgicas que perdieron la cola.

Para los análisis estadísticos se sumaron las cercarias colocadas en los tres compartimentos de cada línea de wells (A, B, C, etc.) resultando en un total de 8 wells por experimento (Fig. 1). La supervivencia al tiempo t (Sup_t) para cada well se calculó como la proporción de cercarias que sobrevivieron desde $t = 0$ al $t = t$. Los efectos de los factores y covariables utilizadas se evaluaron mediante la aplicación de Modelos Lineales Generalizados (MLG) con distribución binomial y función link “probit”. Debido a que los valores de Sup podrían presentar una dependencia a lo largo del tiempo, se incluyó como covariable a la supervivencia de cercarias en $t-1$ (Sup_{t-1}) durante las 10 hs del experimento. Para evaluar la homogeneidad de las 3 réplicas, se incluyó el factor experimento al mejor modelo y se analizó su significancia.

La selección del mejor modelo se llevó a cabo mediante el criterio de información de Akaike (AIC) (Burham y Anderson, 2002). Para cada modelo se calculó un valor de AIC según Akaike (1973) y se determinó su $\Delta AIC_{(i)}$ tal que:

$$\Delta AIC_{(i)} = AIC_{(i)} - AIC_{(min)}$$

donde $AIC_{(i)}$ es el valor para el modelo i mientras que $AIC_{(min)}$ es el menor valor observado entre todos los modelos. El mejor modelo fue aquel con $\Delta AIC_{(i)} = 0$. Los parámetros del mejor modelo fueron evaluados con un nivel de significancia de 0,05. Posteriormente se calcularon y graficaron las supervivencias estimadas por el mejor modelo. Todos los análisis estadísticos fueron realizados en R (R Core Team, 2022).

Tabla 1. Modelos considerados en la selección mediante el criterio de información de Akaike (AIC).

Modelos	AIC	ΔAIC
$Sup \sim salinidad + tiempo + Supt-1$	85,63	0
$Sup \sim tiempo + Supt-1$	88,35	2,72
$Sup \sim salinidad + Supt-1$	92,74	7,11
$Sup \sim salinidad + tiempo$	101,21	15,58
$Sup \sim Supt-1$	94,19	8,56
$Sup \sim salinidad$	173,55	87,92
$Sup \sim tiempo$	151,33	65,70

RESULTADOS

El modelo seleccionado incluyó los efectos de la salinidad, el tiempo y la supervivencia en t-1 (Tabla 1). En la Ecuación 1 (Eq. 1) se presenta la función logit inversa, la cual permitió estimar los valores de la supervivencia de cercarias incluyendo todos los efectos seleccionados en el mejor modelo

$$\text{Supervivencia} = \frac{e^{(7,53+3,18*\text{Salinidad} - 0,51*\text{tiempo} - 4,29*\text{Sup}_{t-1})}}{(1+e^{(7,53+3,18*\text{Salinidad} - 0,51*\text{tiempo} - 4,29*\text{Sup}_{t-1})})} \text{ Eq. (1)}$$

El efecto significativo de la supervivencia en t-1 demuestra la interdependencia de la variable respuesta en función del tiempo. Las cercarias expuestas a la salinidad más alta (16 ppm) presentaron una probabilidad de supervivencia constante de 1, sin cambios en el tiempo. Sin embargo, a la salinidad más baja (1 ppm) la probabilidad de supervivencia fue disminuyendo a partir de las 4 horas hasta alcanzar valores menores a 0,5 al finalizar las 10 horas del experimento (Fig. 2 y Tabla 2).

A las 24 horas de iniciado el experimento, las cercarias que fueron expuestas a una salinidad de 16 ppm evidenciaron una supervivencia notoriamente mayor que las cercarias expuestas a una salinidad de 1 ppm (Fig. 3). Además, el 87,9% de cercarias expuestas a una salinidad de 16 ppm retuvieron su capacidad de nadar activamente, contra un 27,6% de las cercarias expuestas a una salinidad de 1 ppm. A menor salinidad se registró también un 37,9% de cercarias letárgicas que habían perdido la cola. Característica que no fue observada en la salinidad de 16 ppm (Fig. 4).

DISCUSSION

Como se mencionó anteriormente, las variaciones de los factores ambientales pueden afectar la movilidad y la supervivencia de los estadios de vida libre de los digeneos, limitando la presencia de una especie en un ecosistema.

En el caso de *M. bonaerense*, los resultados del presente estudio revelaron una marcada influencia

Tabla 2. Resultados del modelo seleccionado. Se muestran los valores de los estimadores, desvíos estándar y probabilidades de cada parámetro considerado en el modelo. Nivel de significancia (p<0.05).

Parámetro (efecto)	Valor estimado	Error estándar	Pr (>Z)
β_0 (ordenanda al origen)	7,53	3,02	0,012
β_1 (Salinidad baja)	3,18	1,29	0,013
β_2 (tiempo)	-0,51	0,16	0,001
β_3 (Supervivencia t-1)	-4,29	1,78	0,02

de los niveles de salinidad sobre la supervivencia de las cercarias. En coincidencia con dichos resultados, varios autores han resaltado el efecto de la salinidad sobre la emergencia, movilidad y supervivencia de las cercarias en distintas especies de digeneos (e.g. Mohandas y Syed Ismail Koya, 1983; Koprivnikar et al., 2010; Studer y Poulin, 2012; Koprivnikar et al., 2014). El porcentaje de supervivencia total notablemente menor de las cercarias de *M. bonaerense* expuestas a los niveles de salinidad más bajos podría indicar una escasa adaptación a la dilución en los niveles de salinidad, proceso que afectaría no sólo a la supervivencia sino también a la movilidad y, por ende, a la capacidad de contactar a los segundos hospedadores intermediarios para continuar el ciclo de vida de esta especie.

Por otra parte, un 37,9% del total de las cercarias expuestas a salinidad de 1 ppm perdieron su cola. Según Galaktionov y Dobrovolskij (2003) el desprendimiento de la cola marca la transición al estadio de metacercaria. Si bien no hemos encontrado en la literatura referencias al enquistamiento de cercarias de microfálidos fuera del segundo hospedador intermediario, la pérdida de la cola podría indicar un intento por parte del parásito de iniciar el proceso de enquistamiento frente a las condiciones adversas del ambiente. De hecho, ninguna de las cercarias expuestas a una salinidad de 16 ppm mostró este comportamiento.

Otro de los estadios de vida libre de los digeneos,

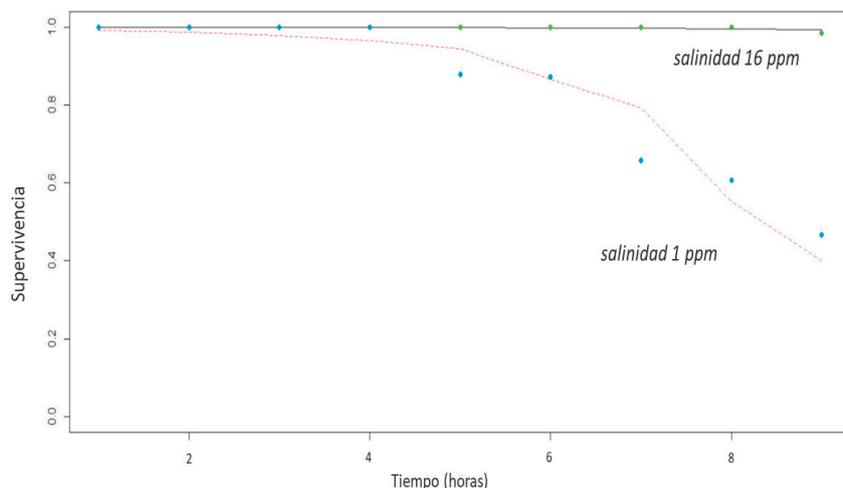


Figura 2. Variación en la supervivencia de las cercarias de *M. bonaerense* en función del tiempo (10 horas) y considerando los dos niveles de salinidad (1 ppm y 16 ppm).

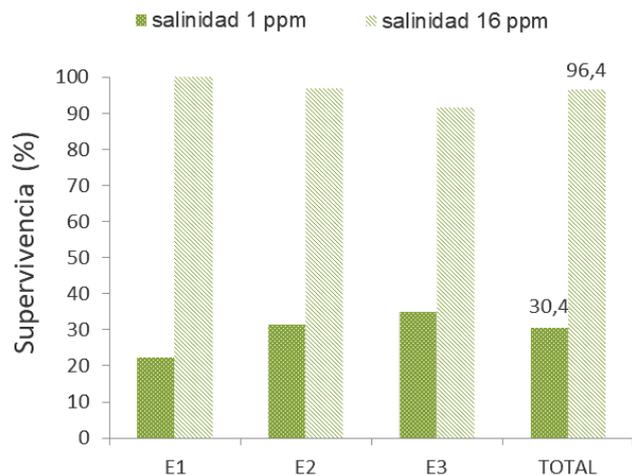


Figura 3. Porcentajes totales de supervivencia de las cercarias de *M. bonaerense* a salinidades de 1 ppm y 16 ppm, calculados a las 24 horas de iniciado cada experimento. E1: experimento 1; E2: experimento 2; E3: experimento 3.

expuestos a la variación de los factores ambientales, es el miracidio. Sin embargo, en el caso de los micrófalidos, el miracidio se libera sólo luego de que el huevo ingresa al sistema digestivo del hospedador molusco (Galaktionov y Blasco-Costa, 2018). Por lo tanto, la permanencia del miracidio dentro del huevo podría brindarle protección frente a condiciones ambientales cambiantes. Aun así, no se han encontrado infecciones de *M. bonaerense* en moluscos que habitan cuerpos de agua dulce, particularmente en *H. parchappii* (Merlo et al., 2022). Tal vez, el molusco esté en contacto con los huevos de *M. bonaerense* transportados por las gaviotas desde zonas costeras e incluso los ingiera, pero el miracidio probablemente no pueda sobrevivir dentro de un hospedador de agua dulce, luego de liberarse del huevo.

Dentro de los digeneos de origen marino, existen especies que son capaces de tolerar niveles bajos de salinidad y de colonizar ambientes dulceacuícolas (Stunkard y Shaw, 1931; Mohandas y Syed Ismail Koya, 1983). Estas especies mostrarían adaptaciones fisiológicas que les permitirían no sólo adaptarse

a nuevas condiciones ambientales sino también a nuevos hospedadores. Tal es el caso de *M. szidati* que es capaz de desarrollar su ciclo de vida en ambientes mixohalinos y dulceacuícolas (Martorelli, 1986).

Los resultados obtenidos permitirían afirmar que *M. bonaerense* es una especie mejor adaptada a ambientes marinos o mixohalinos. El porcentaje comparativamente bajo de supervivencia en condiciones de 1 ppm podría explicar la ausencia de registro de esta especie en ambientes dulceacuícolas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Matías J. Merlo por su colaboración en las tareas experimentales.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

El presente trabajo fue financiado por ANPCyT (PICT 2017- 1819) y la Universidad Nacional de Mar del Plata (Subsidio 15/E935 EXA997/20).

LITERATURA CITADA

Akaike, H. (1973). Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. En: Petrov B. N., y Csaki F. (Eds.) Second International Symposium on Information Theory. Akademiai Kiado, Budapest: 267-281.

Burnham, K. P. y Anderson, D. (2002). Model selection and multi-model inference. A Practical Information-Theoretic Approach. New York: Springer-Verlag, Inc.

Capasso, S., D’Amico, V. L. y Diaz, J. I. (2019). A new species of *Maritrema* (Trematoda: Microphallidae) parasitizing the Baird’s sandpiper *Calidris bairdii*, and comments about diversity of Microphallidae in two Nearctic shorebirds at Patagonian sites in Argentina. *Acta Tropica*, 189, 10-14.

Combes, C. (2001). Parasitism. The ecology and evolution of intimate interactions. Chicago: The University of Chicago Press.

Cremonte, F. y Martorelli, S. R. (1998). Description of a new species of *Maritrema* (Digenea: Microphallidae) from *Larus dominicanus* (Aves: Laridae) in Buenos Aires coast, Argentina. *Folia Parasitologica*, 45, 230-232.

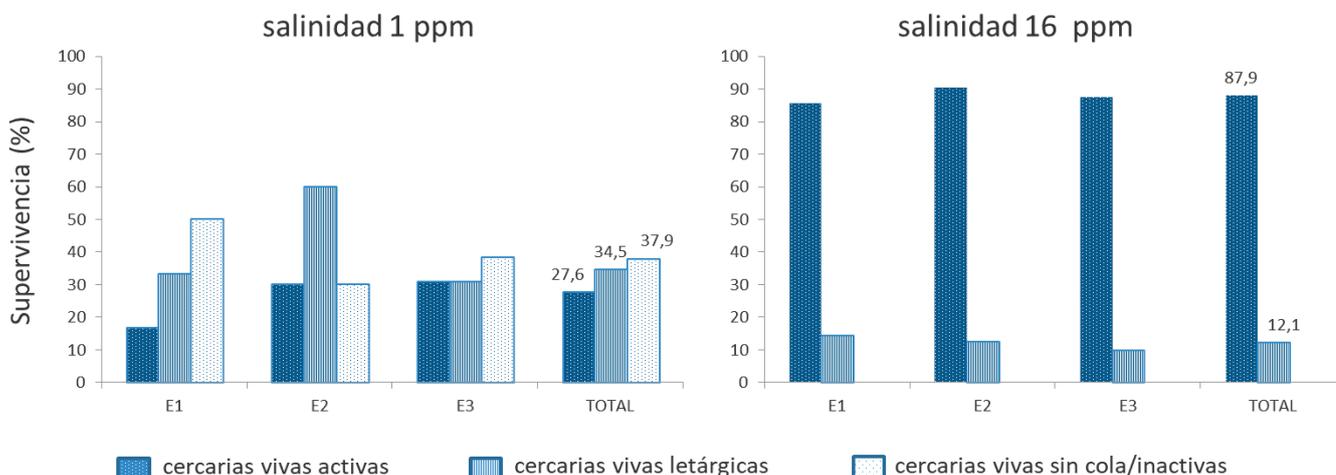


Figura 4. Porcentajes totales de cercarias de *M. bonaerense* vivas, letárgicas o sin cola, registrados a salinidades de 1 ppm y 16 ppm y calculados a las 24 horas de iniciado cada experimento.

- Cremonte, F., Etchegoin, J. A. y Martorelli, S. R. (1999). Nuevos hospedadores de los digeneos *Maritrema bonaerensis* (Microphallidae) y de *Stephanoprora podicippei* (Echinostomatidae) en Argentina. *Stephanoprora manei* Holcman-Spector & Olagüe, 1986 como un *nomen nudum*. *Neotrópica*, 45, 105-107.
- Deblock, S. (2008). Family Microphallidae Ward, 1901. In *Keys to the Trematoda*, Volume 3 (pp. 451-492). Wallingford UK: CABI.
- Diaz, J. I., Cremonte, F. y Navone, G. T. (2011). Helminths of the kelp gull, *Larus dominicanus*, from the northern Patagonian coast. *Parasitology Research*, 109, 1555-1562.
- Etchegoin, J. A. (1997). Sistemas parasitarios presentes en la albufera Mar Chiquita. (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Etchegoin, J. A. (2001). Dinámica de los sistemas parasitarios. En: Iribarne, O. (Ed.). *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: características físicas, biológicas y ecológicas* (171-185). Mar del Plata: Editorial Martín.
- Etchegoin, J. A. y Martorelli, S. R. (1997). Description of a new species of *Maritrema* (Digenea: Microphallidae) from Mar Chiquita coastal lagoon (Buenos Aires, Argentina) with notes on its life cycle. *Journal of Parasitology*, 83, 709-713.
- Etchegoin, J. A., Martorelli, S. R. y Sardella, N. H. (1996). Nuevo registro de *Microphallus szidati* Martorelli, 1986 (Digenea: Microphallidae) en Mar Chiquita (Buenos Aires, Argentina). *Neotrópica*, 42, 117-118.
- Favero, M., Bachman, S., Copello, S., Mariano-Jelicich, R., Silva, M. P., Ghys, M., Khatchikian, C., y Mauco, L. (2001). Aves marinas del sudeste bonaerense. En: Iribarne, O. (Ed.). *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: características físicas, biológicas y ecológicas* (251-267). Mar del Plata: Editorial Martín.
- Galaktionov, K. V. y Blasco-Costa, I. (2018). *Microphallus ochotensis* sp. nov. (Digenea, Microphallidae) and relative merits of two-host microphallid life cycles. *Parasitology Research*, 117, 1051-1068.
- Galaktionov, K. V. y Dobrovolskij, A. A. (2003). The biology and evolution of trematodes: an essay on the biology, morphology, life cycles, transmission, and evolution of digenetic trematodes. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Ginetsinskaya, T. A. (1988). Trematodes, their life cycles, biology and evolution. New Delhi: Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd.
- Koprivnikar, J., Lim D., Fu C. y Brack S. H. M. (2010). Effects of temperature, salinity, and pH on the survival and activity of marine cercariae. *Parasitology Research*, 106, 1167-1177.
- Koprivnikar, J., Ellis, D., Shim, K. C. y Forbes, M. R. (2014). Effects of temperature and salinity on emergence of *Gynaecotyla adunca* Cercariae from the intertidal gastropod *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Parasitology*, 100, 242-245.
- Kudlai, O., Cribb, T. H. y Cutmore, S. C. (2016). A new species of microphallid (Trematoda: Digenea) infecting a novel host family, the Muraenidae, on the northern Great Barrier Reef, Australia. *Systematic Parasitology*, 93, 863-876.
- Martorelli, S. R. (1986). Estudio sistemático y biológico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920.II: Desarrollo del ciclo biológico de *Microphallus szidati* en dos ambientes de condiciones ecológicas diferentes. *Revista Ibérica de Parasitología*, 46, 379-385.
- Martorelli, S. R., Fredensborg, B. L., Mouritsen, K. Ny Poulin, R. (2004). Description and proposed life cycle of *Maritrema novaezealandensis* n. sp. (Microphallidae) parasitic in red-billed gulls, *Larus novaehollandiae scopulinus*, from Otago Harbor, South Island, New Zealand. *Journal of Parasitology*, 90, 272-277.
- Merlo, M. J., Parietti, M., Fernández, M. V., Flores, V. y Davies, D. (2022). A checklist of larval Digenea (Platyhelminthes: Trematoda) in molluscs from inland waters of Argentina: one hundred years of research. *Journal of Helminthology*, 96, e32, 1-28.
- Mohandas, A. y Syed Ismail Koya, S. M. (1983). Survival characteristics of *Cercaria chackai* (Digenea: Transversotrematidae). *Journal of Helminthology*, 57, 21-26.
- Pietroock, M. y Marcogliese, D. J. (2003). Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. *Trends in Parasitology* 19:293-299.
- R Core Team. (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rauque, C. A., Flores, V. R. y Brugni, N. L. (2013). *Maritrema patagonica* n. sp. (Digenea: Microphallidae) cultured from metacercariae from freshwater anomuran, *Aegla* spp. (Decapoda: aegliidae), in Patagonia. *Comparative Parasitology*, 80, 196-202.
- Studer, A. y Poulin, R. (2012). Effects of salinity on an intertidal host-parasites system: Is the parasite more sensitive than its host? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 412, 110-116.
- Stunkard, H. W. y Shaw, R. C. (1931). The effect of dilution of seawater on the activity and longevity of certain marine cercariae, with descriptions of two new species. *Biological Bulletin*, 61, 242-271.
- Sukhdeo, M. V. K. y Sukhdeo, S. C. (2004). Trematode behaviors and the perceptual worlds of parasites. *Canadian Journal of Zoology*, 82, 292-315.
- Yamaguti, S. (1975). A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates: With special reference to the morphology of their larval forms. Tokyo: Keigaku Publishing Co.

Recibido: 2 de septiembre de 2022

Accepted: 24 de octubre de 2022
