

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



TESIS DE GRADO

**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE METACERCARIAS
DE *Diplostomum* spp. EN PECES NATIVOS (*Orestias agassizii*; *Orestias luteus*)
EN EL LAGO TITICACA.**

Gerardo Gustavo Gutierrez Gandarillas
La Paz – Bolivia

2023

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE METACERCARIAS
DE *Diplostomum* spp. EN PECES NATIVOS (*Orestias agassizii*; *Orestias luteus*)
EN EL LAGO TITICACA.**

*Tesis de grado presentado como requisito parcial para optar al título de licenciad en
Medicina Veterinaria y Zootecnia*

Gerardo Gustavo Gutierrez Gandarillas

ASESORES:

M.V.Z. Ph. D. Celso Ayala Vargas

Blga. Ph. D. Carla Ibáñez Luna

M.V.Z. MSc. José Luis Mollericona Quispe

TRIBUNAL EXAMINADOR:

M.V.Z. MSc. Martha Gutiérrez Vásquez

M.V.Z. MSc. Carla Rosario Ruiz Hurtado

Ing. MSc. Rubén Tallacagua Terrazas

APROBADO

Presidente tribunal examinador

La Paz – Bolivia

2023

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes	1
1.1 Justificación.....	3
1.2 Planteamiento del problema.....	4
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo general	4
2.2 Objetivos específicos	4
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 El género <i>Orestias</i>	5
3.2 Complejos <i>agassizii</i> y <i>luteus</i> dentro del género <i>Orestias</i>	6
3.3 Parásitos en peces en el lago Titicaca.....	7
3.4 Clasificación y fases larvarias de tremátodos de la familia Diplostomidae.....	9
3.5 Factores determinantes para la presencia de metacercarias de la familia Diplostomidae	10
3.6 Signos que ocasionan las metacercarias en sus huéspedes.....	12
3.7 Descripción morfológica de metacercarias de la familia Diplostomidae y su registro en Sud América	13
3.1.7 <i>Tylodelphys</i>	13

3.2.7	<i>Austrodiplostomum</i>	13
3.8	Ciclo biológico de <i>Diplostomum</i> spp.	15
3.9	Incidencia sobre los peces	18
3.1.9	Sobre la talla.....	18
3.2.9	Sobre el sexo.....	19
4.	LOCALIZACIÓN	20
4.1	Ubicación geográfica.....	20
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1	Materiales.....	21
5.2	Métodos	21
5.1.2	Obtención de muestras.....	22
5.2.2	Pasos de la tinción.	23
5.3.2	Análisis estadístico.	24
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6.1	Caracterización morfológica de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i>	25
6.2	Caracterización morfológica de metacercarias de <i>Tylodelphys</i>	30
6.3	Identificación de metacercarias de <i>Orestias agassizii</i> y <i>Orestias luteus</i> según claves taxonómicas.....	33
6.4	Determinación de niveles de parasitismo.....	35
6.1.4	Prevalencia.....	35
6.2.4	Intensidad media.	35
6.3.4	Abundancia media.....	36
6.4.4	Índice de agregación.	36
6.5	Relación de la presencia de metacercarias con variables del hospedador	37
6.1.5	Relación entre la infestación por metacercarias y el sexo de <i>Orestias</i>	37

6.2.5	Relación entre la infestación por metacercarias y el tamaño de <i>Orestias</i> .	38
6.3.5	Relación entre la infestación por metacercarias y la especie de <i>Orestias</i> .	39
6.6	Relación de la presencia de metacercarias con comunidades muestreadas ...	40
6.1.6	Metacercarias según la procedencia del lago.....	41
7.	CONCLUSIONES	43
8.	RECOMENDACIONES.....	43
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	44
	ANEXOS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases larvarias de <i>Diplostomum compataceum</i>	9
Figura 2. Fases larvarias continuación.....	10
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Diplostomum spathaceum</i> (Rudolphi, 1819)	16
Figura 4. Ubicación geográfica de las zonas de muestreo.....	20
Figura 5. Relación del número de metacercarias y la longitud de los peces.....	38
Figura 6. Relación entre el número de metacercarias y la especie.....	39
Figura 7. Análisis de varianza de la presencia de metacercarias con comunidades muestreadas	40
Figura 8. Prueba t- student número de metacercarias y procedencia del lago	42
Figura 9. Medidas morfométricas de metacercarias de <i>Tyldelphys</i> spp. en μm	56
Figura 11. Medidas morfométricas de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> spp. en μm	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de los tremátodos.....	9
Tabla 2. Registro de descripción de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> y <i>Tylodelphys</i> en América	15
Tabla 3. Fórmulas para los niveles de parasitismo en <i>Orestias</i>	25
Tabla 4. Características morfométricas de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> spp. en μm	26
Tabla 5. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> spp. con especies descritas en América.....	27
Tabla 6. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> spp. con especies descritas en Sudamérica.....	28
Tabla 7. Medidas morfométricas de metacercarias de <i>Tylodelphys</i> spp. en μm	31
Tabla 8. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de <i>Tylodelphys</i> spp. con especies descritas en Norteamérica.....	32
Tabla 9. Características morfológicas de metacercarias de <i>Austrodiplostomum</i> y <i>Tylodelphys</i> en <i>Orestias agassizii</i> y <i>Orestias luteus</i> en el lago Titicaca.....	33
Tabla 10. Prevalencia de metacercarias en <i>Orestias</i>	35
Tabla 11. Intensidad media de metacercarias en <i>Orestias</i>	35
Tabla 13. Abundancia media de metacercarias en <i>Orestias</i>	36
Tabla 14. Índice de agregación de metacercarias en <i>Orestias</i>	36

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón esta investigación a mis padres y a mi familia, su apoyo y bendición fueron esenciales en este proceso.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por otorgarme la dicha de contar con una familia unida, quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándome a valorar todo lo que tengo.

A la Universidad Mayor de San Andrés (U.M.S.A.) por las bases académicas necesarias para lograr culminar este trabajo.

A la Universidad de Gante – Bélgica por permitirme ser parte del proyecto “Por una acuicultura más saludable en el Lago Titicaca” - VLIR - UOS y así poder trabajar con las muestras del género *Orestias*, para el análisis de parásitos.

A Wildlife Conservation Society – Bolivia, que coadyuvo con la dotación de tinciones y ocular micrométrico con los cuales se caracterizó a las metacercarias.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivos caracterizar morfológicamente a tremátodos de *Diplostomum* spp. en su fase de metacercaria según claves taxonómicas en cavidad craneana de carachis (*Orestias agassizii* y *Orestias luteus*) que habitan el lago Titicaca, así como determinar los niveles de parasitismo y su relación con las variables del segundo hospedador intermediario. Para tal efecto se dio inicio con un muestreo realizado entre agosto 2019 (primera entrada) y octubre de 2020 (segunda entrada). Para la caracterización de metacercarias se utilizó una técnica de tinción con Hematoxilina de Delafield, la cual permitió identificar una ventosa ventral, logrando diferenciar a dos géneros parasitarios: *Austrodiplostomum* spp. y *Tylodelphys* spp. En cuanto a la interacción con sus hospederos y el medio ambiente se obtuvo que la prevalencia es de 72,7% para *O. agassizii* y 100% en *O. luteus*, la intensidad media muestra 34,1 y 153, 2 metacercarias para *O. agassizii* y *O. luteus* respectivamente, datos influenciados por el número de ejemplares para cada especie y posiblemente debido a la alimentación de estos peces. Por último según el índice de agregación los resultados muestran que la distribución de las metacercarias en *Orestias* es agregada. Las metacercarias y las variables del hospedador no muestran relación con el tamaño o sexo de los peces. El descubrimiento permite conocer más de la ecología de los peces y del ciclo biológico de los parásitos que afectan a este género nativo de los lagos Mayor y Menor del Titicaca (Tiquina – Huatajata – Escoma – Desaguadero).

Palabras clave: *Diplostomum*, *Orestias agassizii*, *Orestias luteus*.

SUMMARY

The objectives of this study were to morphologically characterize *Diplostomum* spp. trematodes in their metacercariae stage according to taxonomic keys in the cranial cavity of carachis (*Orestias agassizii* and *Orestias luteus*) that inhabit Lake Titicaca, as well as to determine the levels of parasitism and its relationship with the variables of the second intermediate host. For this purpose, we started with a sampling carried out between August 2019 (first entry) and October 2020 (second entry). For the characterization of metacercariae, a Delafield Hematoxylin staining technique was used, which allowed the identification of a ventral sucker, differentiating two parasitic genera: *Austrodiplostomum* spp. and *Tylodelphys* spp. Regarding the interaction with their hosts and the environment, the prevalence was 72.7% for *O. agassizii* and 100% in *O. luteus*, the average intensity shows 34.1 and 153, 2 metacercariae for *O. agassizii* and *O. luteus* respectively, data influenced by the number of specimens for each species and possibly due to the feeding of these fish. Finally, according to the aggregation index, the results show that the distribution of metacercariae in *Orestias* is aggregated. Metacercariae and host variables show no relationship with the size or sex of the fish. The discovery allows us to learn more about the ecology of the fish and the biological cycle of the parasites that affect this genus native to the Major and Minor lakes of Titicaca (Tiquina - Huatajata - Escoma - Desaguadero).

Key words: *Diplostomum*, *Orestias agassizii*, *Orestias luteus*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En el altiplano sud americano destacan los lagos Titicaca y Poopó que son parte importante del sistema Titicaca – Desaguadero – Poopó – Salar de Coipasa (T.D.P.S.) (Abarca Del Rio *et al.*, 2012). Se trata de las dos cuencas lacustres más grandes de esta meseta y cuentan con superficies de 8.400 y 3.000 km² a nivel de vertido respectivamente (Molina *et al.*, 2014).

El primer cuerpo de agua constituye una frontera natural entre los territorios de Perú y Bolivia. Su extensión total es de 57.500 km². De ese total, un cuarto de superficie pertenece al territorio boliviano y tres cuartos a su vecino del norte (Roche *et al.*, 1991). El Titicaca es el lago navegable más alto del mundo y está dividido en dos cuencas lacustres: Lago Mayor o Chucuito y Lago Menor o Huiñaimarca denominadas así por sus diferencias en longitud y profundidad (Dejoux e Iltis, 1991).

Desde 1939 presenta dos familias introducidas: Salmonidae con el género *Oncorhynchus* (*Oncorhynchus mykiss*) y Atherinopsidae con el género *Odontesthes* (*Odontesthes bonariensis*) (Flores, 2003; Sostoa *et al.*, 2010; Ibáñez *et al.*, 2014).

La cuenca endorreica del Titicaca posee una biodiversidad íctica nativa propia del altiplano andino de dos familias: Cyprinodontidae con el género *Orestias* como únicos representantes en Sudamérica (Lauzanne, 1981) y Trichomictoridae con el género *Trychomicterus*.

El género *Orestias* originalmente propuesto por Valenciennes en 1839 comprende el territorio altoandino de Perú, Bolivia y Chile (Sarmiento *et al.*, 2014) y habita en diferentes cuerpos de agua como ser ríos, lagos, lagunas y bofedales por encima de los 4000 msnm de ambientes lénticos y lóticos (Villwock, 1994; De la Barra *et al.*, 2009; De la Barra, 2010; Guerrero *et al.*, 2015).

Desde su primera descripción diferentes autores indican que hay varias especies de este género debido a la diversidad morfológica de estos peces (Parenti, 1984; De la Barra 2009) que inicialmente contó con 45 reportes que identificaron 69 especies (Sostoa *et al.*, 2010; Ibáñez *et al.*, 2014).

Sin embargo, y pese a la incertidumbre por la alta variabilidad interespecífica (Lauzanne, 1984) (citado en Ibáñez *et al.*, 2014) respecto al total de especies dentro

de este género, de las 43 reportadas por Parenti (1984) y 42 documentadas por Costa (2012), únicamente 23 se encuentran en el Titicaca (Cruz y Méndez, 2013) y 19 son exclusivas de la cuenca endorreica (Sarmiento *et al.*, 2014).

Si bien hay mayor evidencia en cuanto a reportes y estudios sobre la distribución, alimentación, reproducción y el parasitismo en *O. agassizii*, *O. luteus*, *O. pentlandi* y *O. ispi* debido a que son las especies más comerciales y abundantes de la zona litoral (Bocángel y Larrea, 1999; Ibáñez *et al.*, 2014), aún existe la incertidumbre en cuanto a los géneros que parasitan la cavidad craneana de *O. agassizii* y *O. luteus*.

La intervención del hombre en la acuicultura influye como solvente al problema de alimentación de la población que va en aumento cada año, contempla también el uso de recursos para generar productos alimenticios libres de contaminantes potencialmente patógenos como virus, bacterias, hongos y parásitos (Sanmartín *et al.*, 1994).

La pesca de *Orestias* spp. en el lago Titicaca tiene como fin la alimentación de cerca de un millón de personas de comunidades asentadas en las riberas del lago, además de la comercialización en mercados, ferias y calles de las ciudades de La Paz y El Alto (Wurstbaugh y Tapia, 1988; Autoridad Binacional del Lago Titicaca, 2005).

La producción piscícola es frenada por enfermedades parasitarias que merman las poblaciones de peces creando un impacto negativo sobre la economía y la conservación de una especie (Flores y Flores, 2003). La introducción de especies foráneas trajo consigo la proliferación de parásitos (Mueller, 1972; Wurstbaugh y Tapia, 1988; Villwock, 1994; Ibáñez *et al.*, 2014).

En diciembre de 1981 *Ichthyophthirius multifiliis* (parásito introducido por especies exóticas entre 1940 y 1950), enfermó y mató a 18 millones de *Orestias* con una enfermedad conocida como “Ich” (Wurstbaugh y Tapia, 1988; Villwock, 1994).

Existen estudios relacionados con la infestación de *Diplostomum* spp. en cerebros de peces de agua dulce como el pejerrey chileno (*Basilichthys australis*); trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*); y carachi (*Orestias agassizii*, *O. olivaceous*, *O. luteus*, y *O. bonariensis*) (Siegmund *et al.*, 1997).

Mueller (1972) trabajó con *Orestias* en 1924, estos peces con notables protuberancias craneales, podrían haber sido infestados por larvas de *Displostomum* de especies diferentes (*Diplostomum mordax* y *Tylodelphys destructor*).

La penetración, migración y agregación de cercarías en el cerebro y ojos de los peces, ocasiona: hemorragias, inflamación, ceguera, deformación de la columna, tumores cerebrales, compromete la interacción social y bienestar del pez al obstaculizar su capacidad de evasión de predadores, alimentación inadecuada y haciéndolo vulnerable a la pesca al afectar la vejiga natatoria y ocasionando la muerte de sus hospedadores (Heckmann, 1992; Bakal *et al.*, 2005; Vásquez *et al.*, 2011; Murrieta, 2018; Palacios *et al.*, 2018; Vital *et al.*, 2018).

En este sentido, el presente trabajo genera información sobre la caracterización de metacercarias de *Diplostomum* en dos especies (*O. luteus* y *O. agassizii*) que son de importancia en la actividad de pesca en el lago Titicaca del departamento de La Paz.

1.1 Justificación

Gómez (2013) menciona que el parasitismo logra interferir con las cadenas tróficas, la demografía y la variabilidad genética de las poblaciones de hospederos, apoyando así estudios donde se evalúa la variabilidad de sexo y talla de peces infestados. Por otra parte, estudiar a los parásitos de los peces permite conocer el funcionamiento y estado de conservación de los ecosistemas acuáticos, la historia evolutiva y biogeográfica de sus hospedadores (Navarrete *et al.*, 2007), son además utilizados como bioindicadores en la evaluación de la calidad del agua (Monks *et al.*, 2013).

Los reportes de Heckmann (1992) y Bakal *et al.*, (2005), hacen referencia al efecto patológico que causa la invasión de las metacercarias en los peces afectados, pero en *Orestias* no se ha considerado tomar en cuenta la prevalencia y abundancia de estos parásitos. De tal manera, es necesario caracterizar morfológica y taxonómicamente a metacercarias del *Diplostomum* spp. de los peces nativos que habitan nuestro ecosistema acuático (lago Titicaca- Bolivia), y aportar al conocimiento del estado actual de la helmintofauna para fundamentar y entender el cambio en el comportamiento de *Orestias*, justificar su riesgo potencial de presa en la supervivencia a la pesca y caza, conservación y perpetuación de especies endémicas, tener

información complementaria en cuanto al ciclo de vida de este parásito (Tanzola *et al.*, 2009).

Entre las dos especies de *Orestias* más abundantes y reconocidas morfológicamente se encuentran *O. luteus* (rasgos morfométricos de la cabeza) y *O. agassizii* (rasgos morfométricos del cuerpo) (Sostoa *et al.*, 2010).

En esa línea, los objetivos del proyecto “Por una acuicultura más saludable en el Lago Titicaca” - VLIR - UOS en convenio entre la Universidad de Gante – Bélgica y la Universidad Mayor de San Andrés (U.M.S.A.), y este estudio están enfocados en el repoblamiento de especies nativas del lago Titicaca, así como conocer los parámetros necesarios para la acuicultura sostenible y el desarrollo de conocimiento sobre la ecología trófica y nutricional de *Orestias*.

1.2 Planteamiento del problema

El presente trabajo de investigación pretende aportar con la descripción y caracterización taxonómica de metacercarias y contribuir con información sobre el estatus sanitario de las comunidades de *Orestias*. Es importante considerar la relación de la presencia de las metacercarias en cavidad craneana de *O. agassizii* y *O. luteus* con la salud pública; bienestar animal y conservación de fauna en peligro de extinción siendo vulnerable por la pérdida y contaminación de su hábitat; por la presencia de especies exóticas invasoras; por enfermedades emergentes y por su explotación (Aguirre *et al.*, 2009).

El presente trabajo de investigación plantea responder la siguiente pregunta de investigación: ¿Cómo se caracterizan y cuál es el nivel de parasitismo de metacercarias que habitan la cavidad craneana de los peces endémicos *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* en el lago Titicaca?

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar y evaluar la presencia de metacercarias de *Diplostomum* spp. en peces nativos *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* en el lago Titicaca.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar metacercarias en *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* según las claves taxonómicas.

- Determinar los niveles de parasitismo (prevalencia, abundancia media, intensidad media) y el coeficiente de agregación de las metacercarias en *O. agassizii* y *O. luteus*.
- Relacionar la presencia de metacercarias con las variables del hospedador intermediario (especie, sexo, tamaño) y las comunidades muestreadas, así como su procedencia en el lago.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 El género *Orestias*

La población de peces endémicos del Titicaca comprende géneros como *Trichomycterus* y *Orestias*, este último grupo del orden Cyprinodontiformes, que según Costa (2012) y Esquer - Garrigos (2013) comprende cien especies con alrededor de nueve familias.

A su vez, siete de las familias del suborden Cyprinodontoidei habitan en la parte norte, central y sud americana (Costa, 2012). En nuestra región están distribuidas en el territorio altoandino correspondiente a Perú, Bolivia y Chile (Sostoa, *et al.*, 2010).

En cuanto a la distribución de *Orestias* en el lago Titicaca, Lauzanne (1992), indica que se encuentran en las tres zonas del lago: litoral, béntica y pelágica pero cada especie del pez se halla a diferentes profundidades, entre uno y sesenta metros.

Dicho lugar cuenta con 20 especies de *Orestias* descritas como exclusivas representantes de los Cyprinodontides en el sistema Titicaca – Desaguadero – Poopó – Salar de Coipasa (T.D.P.S.) y más de la mitad de estas se encuentran en el lago Titicaca (Molina *et al.*, 2014).

Su primera descripción aparece con Valenciennes en el año 1839, luego son clasificadas en cuatro grupos por Tchernavin (1944), y en la actualidad se han denominado como complejos: *agassizii*, *luteus*, *cuvieri* y *gilsoni* (Tchernavin, 1944; Esquer - Garrigos, 2013; Ibáñez *et al.*, 2014; Loayza, 2016; Chuctaya *et al.*, 2017).

Los autores indican que hay varias especies del género *Orestias*, y que existe alta variabilidad interespecífica (Lauzanne, 1984) (citado en Ibáñez *et al.*, 2014) respecto al total de variedades dentro de este género.

De las 43 especies reportadas por Parenti (1984) y de las 42 documentadas por Costa (2012), únicamente 23 se encuentran en el Titicaca y 19 son exclusivas de la cuenca endorreica del Titicaca (Sarmiento *et al.*, 2014).

No obstante, Ibáñez *et al.* (2014) demostraron que pocas especies son comunes entre las descritas hasta el 2010, debido a la baja incidencia en el número de peces usados en los reportes de estas especies o en algunos casos a causa de la extinción de algunos ejemplares como *O. cuvieri*.

Al ser ejemplares representativos de la familia Cyprinodontidae en el Titicaca, los *Orestias* son peculiarmente distinguidos de otros géneros de peces por su tipo de comportamiento, ciclo de vida y hermafroditismo (Costa, 2012; Amaru *et al.*, 2016).

Además, según Costa (2012) y De la Barra (2010), las características morfológicas que distinguen a este género endémico alto - andino, son ausencia de aleta pélvica, simetría de la aleta caudal, proceso maxilar redondeado, proceso ascendente pre maxilar corto, proceso auto palatino dorso medial elongado y punta dorsal posterior curva del proceso urojal.

Los autores también resaltan que los machos son más grandes en relación a las hembras y se diferencian de ellas por llevar colores más llamativos, y presentar escamación corporal reducida. La clasificación taxonómica de *Orestias* se detalla a continuación.

Reino Animal

Phylum Chordata

Orden Cyprinodontiformes Berg, 1940

Sub orden Cyprinodontoidei Jordan, 1923

Familia Cyprinodontidae Agassiz, 1834

Género *Orestias* Valenciennes, 1839

Especie *Orestias agassizii* Valenciennes, 1846

Orestias luteus Valenciennes, 1839

Fuente: Paca *et al.* (2002).

3.2 Complejos *agassizii* y *luteus* dentro del género *Orestias*

Desde la clasificación asignada al género por Parenti (1984), la descripción morfológica cambió con el tiempo (Cuvier y Valenciennes, 1846; Sostoa, *et al.*, 2010; Ibáñez *et al.*, 2014) influenciada por las características de las diferentes zonas del lago llevando a diferentes interpretaciones morfológicas de los mismos.

El complejo *agassizii* cuenta con el mayor número de especies dentro del complejo (*O. agassizii*, *O. ututo*, *O. hardini*, *O. mundus*, *O. gymnotus*, *O. elegans*, *O. ascotanensis*, *O. parinacotensis*, *O. laucaensis*, *O. luteus*, *O. puni*, *O. silustani*, *O. jussiei*, *O. multiporis*, *O. ctnolepis*, *O. frontosus*, *O. tschudii*, *O. richersoni*, *O. polonorum*, *O. empyraeus*, *O. rotundipinnis*, *O. farfani*, *O. albus*, y *O. olivaceus*) (Esquer- Garrigos, 2013).

Las especies mencionadas difícilmente superan los cinco centímetros de largo, tienen en común un patrón de escamas laterales grandes que van del opérculo hasta la región posterior de la aleta pectoral y escamas peri orbitales ausentes (De la Barra, 2010).

También se distinguen por habitar zonas lenticas y loticas son ovíparos y en su alimentación predominan crustáceos del subgénero Cladocera, caracoles y algas (Parenti, 1984; Ibáñez *et al.*, 2014; Loayza, 2016, Díaz *et al.*, 2021).

Sobre la base de la primera documentación referente a la gran variabilidad del complejo *agassizii* mencionada por Tchernavin (1944), algunos autores indican la existencia de una alta variabilidad interespecífica dentro del género *Orestias*, atribuidas particularmente a su adaptación al medio ambiente y a la escasa cantidad de especímenes para su descripción o por la mala conservación de los peces (Esquer - Garrigos, 2013; Ibáñez *et al.*, 2014; Esquer - Garrigos *et al.*, 2015).

Entre las dos especies de *Orestias* más abundantes y reconocidas morfológicamente se encuentran *O. luteus* (rasgos morfométricos de la cabeza) y *O. agassizii* (rasgos morfométricos del cuerpo) (Sostoa *et al.*, 2010), también Bertrand *et al* (2018) describieron que la distribución geográfica de estas especies está influenciada por variables ambientales como la temperatura y oxígeno disuelto en el agua, la profundidad de las aguas y la disponibilidad de nutrientes.

3.3 Parásitos en peces en el lago Titicaca

La población de especies endémicas del género *Orestias* dentro del Titicaca ha sido mermada por distintas causas, dentro de las cuales resaltan: i) la contaminación de su hábitat por basura y aguas servidas (Quintanilla y Quino, 2014); ii) metales pesados y eutrofización del agua (Lazarro y Gamarra, 2014; Molina *et al.*, 2012); iii) sobrepesca

(Lino y Padilla, 2014); y iv) parasitismo (Wurtsbaugh y Tapia, 1988; Loubens, 1989; Villwock, 1994; Ibáñez *et al.*, 2014).

Lo cual indica que existe una emergencia en cuanto a la conservación de estas especies ya que como afirman Aguirre *et al.* (2009) *Orestias* se encuentra en estado vulnerable, lo que hace urgente un adecuado plan de recursos pesqueros.

El reporte de parásitos en el Titicaca inicia con Loubens (1989) citando a Hanek (1982), que menciona la existencia de algunas especies de parásitos en *Orestias agassizii*, *O. ispi*, *O. olivaceus* y *O. forgeti* presentes en cavidad celómica como *Lígula intestinalis*, parásito responsable de la infertilidad de estos peces al tener un efecto inhibitorio sobre las gónadas (Lauzanne, 1992).

También se reportó la presencia de metacercarias de *Diplostomum* spp. en cavidad craneana de *Orestias*, *Trichodina* sp. en las branquias y parásitos del género *Hidurris basylictensis* reportado en el tubo digestivo de la mucosa gastrointestinal de *Basilichthys bonariensis* (Pérez, 2018).

Un primer reporte de abundante mortandad de *Orestias* spp. se dio al evidenciar gran cantidad de peces muertos durante una expedición en el Titicaca en 1968, atribuido a esporozoos por las lesiones forunculosis en los peces (Cousteau y Diolé, 1973) (citado en Wurtsbaugh y Tapia, 1988).

Posteriormente Wurtsbaugh y Tapia (1988) arrojaron un segundo reporte sobre otra masiva mortalidad en el mismo sitio por el parásito *Ichthyophthirius multifiliis* a causa de la introducción de especies foráneas como: i) la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) introducida en 1941, ii) trucha común (*Salmo trutta*) en 1939, iii) trucha de lago (*Salvelinus namaycush*) llegada al Titicaca entre los años 1939 y 1941 y iv) el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*).

Esta última especie fue introducida en el lago Poopó desde Argentina llegado al Titicaca en 1955 por migración a través del río Desaguadero, su introducción al igual que la de otras especies extranjeras tenía como fin la mejora de la pesca comercial (Villwock, 1994; Ibáñez *et al.*, 2014).

En el mismo sentido, estudios como el de Villwock (1994), dan cuenta que sin lugar a dudas existe una relación causal entre la muerte de *Orestias* y la llegada de especies introducidas que son portadoras de varios géneros parasitarios.

Mueller (1972) refiere que durante su trabajo como laboratorista desarrolló actividades tales como la búsqueda de parásitos y conservación de *Orestias* en el Titicaca, los mismos que presentaron notables protuberancias craneales debido a larvas de *Diplostomum* spp. de especies diferentes (*Diplostomum mordax* y *Tylodelphys destructor*), asimismo, la presencia de metacercarias en peces endémicos e introducidos han sido reportados en Venezuela, Chile, Perú, Argentina y Bolivia (Flores y Baccalá, 1998).

3.4 Clasificación y fases larvianas de tremátodos de la familia Diplostomidae

La tabla 1 muestra la clasificación sistemática de los tremátodos que parasitan la cavidad craneana de *O. agassizii* y *O. luteus*.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de los tremátodos

Phylum	Platyhelminthes	Gagenbau (1859)
Clase	Trematoda	Rudolphi (1808)
Superorden	Anepitheliocystidia	La Rue (1957)
Orden	Strigeatoidea	La Rue (1957)
Familia	Diplostomidae	Poirier (1888)
Subfamilia	Diplostomatinae	Monticella (1888)

Fuente: Hernández (2008); Zhokhov y Pugacheva (2018); Pelegrini *et al.* (2019).

A continuación, se muestran las fases larvianas de *Diplostomum compataceum* con una aclaración de las imágenes observadas.

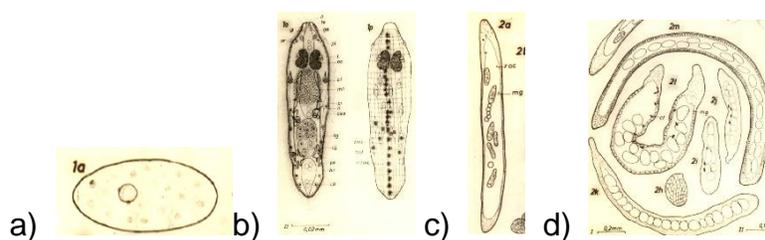


Figura 1. Fases larvianas de *Diplostomum compataceum*

Fuente: Ostrowski (1973).

a) Huevo: mide: 81-105/46-56 μ de grosor uniforme 0.7 μ en escala I. b) Miracidios: ligeramente aplastados en escala II. Miden 108-121/27 μ . c) Esporoquiste madre: miden 710-1300/53-137 μ . d) Esporoquiste hijo: cuya longitud dentro de la madre de 650 μ (sin producir metacercarias). Contienen entre 13 a 18 masas germinales que

dan origen a las cercarias. Cuando forman metacercarias miden 1405-3410/ 62-155 μ (Ostrowski, 1973).

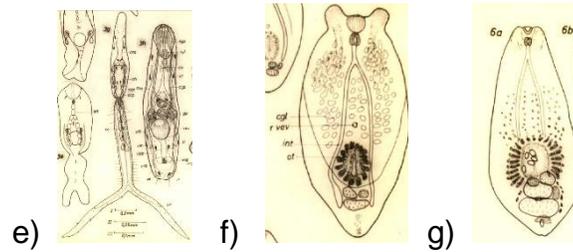


Figura 2. Fases larvarias continuación
Fuente: Ostrowski (1973).

e) Cercarias: el cuerpo mide 250/52 μ el tronco caudal 246 μ y las furcas 245 μ de largo. f) Metacercaria: en general conservan similitudes de las cercarias en cuanto a tamaño y la forma. El tracto digestivo, la ventosa ventral y los esbozos genitales no sufren modificaciones. g) Adulto: miden hasta 2.5 mm de largo (Ostrowski, 1973).

Se describe que los causantes de las diplostomiasis en globo ocular y cavidad craneana de los peces de agua dulce como el carachi, pertenecen a la familia Diplostomidae con los géneros y subgéneros *Diplostomum*, *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys*. (Rosser *et al.* 2016).

3.5 Factores determinantes para la presencia de metacercarias de la familia Diplostomidae

En los últimos años el estudio de la ecología de las relaciones hospedero - parásito permitió mejorar la interrelación y dependencia de las poblaciones parasitarias con los organismos involucrados en el desarrollo de las fases de maduración y diferenciación del parásito (Hamann, 1999).

La clasificación para ordenar a estos factores en dos grupos, son la macroepidemiología y microepidemiología. La primera comprende todos los estudios matemáticos utilizados en la estimación de abundancia de poblaciones parasitarias (Kleiman, 2004).

Como ejemplos de esto tenemos la prevalencia, abundancia media e intensidad media, y en la microepidemiología abarca componentes relacionados a la genética, respuesta inmune de los hospedadores y el medio ambiente donde se desarrolla la infestación (Kleiman, 2004).

Las poblaciones parasitarias fluctúan en cantidad e incrementan principalmente por la disponibilidad de nuevos individuos dentro del ciclo o disminuyen por la muerte del parásito ya sea dentro de alguno de sus hospederos o por mecanismos de defensa del sistema inmune, el cual se encarga de neutralizar diferentes noxas (Kleiman, 2004).

Existen algunos elementos que coadyuvan con la presencia de metacercarias en determinados nichos ecológicos y que pueden estar relacionados con el parásito o con las condiciones del medio ambiente.

Como escenarios relacionados al éxito de supervivencia del parásito se puede mencionar el tiempo en el que se completa el ciclo biológico, que en el caso de subgéneros como *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* varía de 4 a 12 semanas en condiciones ambientales óptimas (Chappel, 1995).

Otros factores intrínsecos son los mecanismos de resistencia utilizados por los huevos al ser liberados a temperaturas de 5°C en invierno junto a la cantidad de huevos que son expulsados por las aves, además de las diversas especies animales que utiliza para completar su ciclo, la genética, edad y el nivel de nutrición en los hospederos también intervienen (Mallea, 2010).

Las condiciones ambientales que predisponen a *Orestias* para una mayor presentación de parásitos son: la abundancia de hospedadores intermedios, aumento de la temperatura y disminución de la concentración de oxígeno en los cuerpos de agua, y la acumulación de metales pesados, nitratos y fosfatos provenientes de aguas residuales y fertilizantes, que serían partícipes activos de la cantidad y diversidad parasitaria que contribuyentes a la colonización de algas y eutrofización del medio (Maturana *et al.*, 2015; Calsina *et al.*, 2019; Vilca *et al.*, 2019). La contaminación del agua debe abordarse desde varios puntos, ya que, al tratarse de un problema multifactorial, la actividad humana, gestión del agua, y calidad de los suelos contribuyen a dicho estado (García *et al.*, 2019).

Se evidenció que la presencia de metacercarias en el Titicaca guarda relación con las especies introducidas, como ya se mencionó. Estas serían las responsables de importar parásitos (Chappel, 1995; Flores y Flores, 2003; Kleiman, 2004; Mallea, 2010).

La colonización de metacercarias en cavidad craneana de *Orestias* no es una simple coincidencia ya que su presencia está relacionada a la débil actividad inmunológica de esta cavidad en animales vertebrados debido a una barrera biológica formada por tejidos y sangre que impide la migración de leucocitos (Stein y Streilein, 2002; Locke *et al.*, 2010).

Los animales más jóvenes son parasitados por cientos de metacercarias, mientras que los más viejos podrían estar con miles en su interior. Estos argumentos por sí solos no explican si existe o no una especificidad de hospedador (Locke *et al.*, 2010).

3.6 Signos que ocasionan las metacercarias en sus huéspedes

Para muchas poblaciones cercanas al lago Titicaca la pesca es una actividad que les permite alimentarse. Sin embargo, los peces parasitados disminuyen sus cualidades nutritivas y causan una gran mortalidad cuando las infestaciones son masivas (Murrieta, 2018; Vital *et al.*, 2018).

Para identificar las parasitosis en los peces la población de parásitos debe ser abundante, puesto que las concentraciones bajas no provocan signos clínicos fáciles de identificar (Flores y Flores, 2003; Bakal *et al.*, 2005).

Por otro lado, una infestación elevada es capaz de generar un decremento en la tasa fértil del pez e incide en cuanto al peso y talla, dejándolos por debajo de los índices promedios. Esto se debe al tipo de alimentación del parásito: mucus, detritos celulares e incluso la sangre del hospedador (Flores y Flores, 2003).

Las metacercarias de *Diplostomum* spp. ocasionan diversas patologías que dependerán de la especificidad de hospedador, así como la elección de órganos en los cuales se asientan.

Las enzimas que poseen son utilizadas durante la penetración del tegumento y en el proceso de migración de las cercarias hacia el cerebro u ojos de los peces. Durante su recorrido ocasionan hemorragias, inflamación, ceguera, deformación de la columna, y tumores cerebrales (Heckmann, 1992).

Todo esto pone en serio peligro al género *Orestias* ya que compromete la interacción social de los peces al obstaculizar su capacidad de evasión de predadores, genera una alimentación inadecuada y por supuesto, los hace vulnerables a la pesca por

afectar la vejiga natatoria, ocasionando la muerte de sus hospedadores (Heckmann, 1992; Bakal *et al.*, 2005; Vásquez *et al.*, 2011; Murrieta, 2018; Vital *et al.*, 2018).

3.7 Descripción morfológica de metacercarias de la familia Diplostomidae y su registro en Sud América

3.1.7 *Tylodelphys*.

Existen 29 especies de *Tylodelphys* descritas en todos los continentes, de las cuales solamente siete han sido descritas en el continente americano: *T. destructor* (Szidat y Nani, 1951); *T. barilochensis* (Quaggiotto y Valverde, 1992); *T. crubensis* (Quaggiotto y Valverde, 1992); *T. argentinus* (Quaggiotto y Valverde, 1992); *T. jenynsiae* (Szidat, 1969); *T. scheuringi* (Hughes, 1929); y *T. cardiophilus* (Szidat, 1969) (Flores y Baccalá, 1998; Blasco *et al.*, 2016; Vital *et al.*, 2018).

Las metacercarias de *T. barilochensis* presentan una faringe alargada, la gónada primordial es poco visible y el órgano tribocítico presenta una hendidura media, el sistema paranefridial consta de una rama media y dos laterales unidos en la zona de la ventosa ventral (Flores y Baccalá, 1998).

Se considera importante observar los conductos laterales y las ramificaciones que rodean la ventosa ventral y la faringe cuyos corpúsculos medidos podrían establecer la diferencia entre *T. barilochensis* y *T. crubensis* que tienen menor medida (Flores, 1997).

Este género puede ser encontrado en la cavidad craneana y corporal, globo ocular, saco pericárdico, incluso en la vejiga natatoria de los peces parasitados (Blasco *et al.*, 2016; Vital *et al.*, 2018).

Las metacercarias miden hasta 1118 µm de largo; poseen un segmento anterior con final redondeado el órgano tribocítico ovalado en la región distal del segmento anterior (característica de este género).

Igualmente se puede distinguir una ventosa oral terminal y faringe corta y la parte anterior de la metacercaria tiene una ventosa ventral bien definida (Vital *et al.*, 2018).

3.2.7 *Austrodiplostomum*.

Uno de los primeros estudios en cuanto a la descripción morfológica de metacercarias de *Austrodiplostomum* fue hecha por Szidat y Nani en 1951, en el género

Austrodiplostomum compactum provenientes del intestino de aves como el cormorán neotropical (*Nannopterum brasilianus*) en Venezuela (Ostrowski, 2017).

Las características físicas de esas metacercarias fueron relacionadas con las metacercarias de *Diplostomum mordax* halladas en *Odontesthes bonariensis*, las mismas fueron nuevamente clasificadas como *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* por Lutz (1928), quien categorizó a *Austrodiplostomum* como un subgénero de *Diplostomum* y validó la sinonimia entre ambas especies siendo *A. compactum* el nombre válido por la escasa información secuencial de *Austrodiplostomum mordax* (Ostrowski, 2017).

Este subgénero fue reportado en algunas oportunidades como *A. mordax*, *A. compactum* y *A. ostrowskiae*, tanto en el humor vítreo como en cavidad craneana (Ostrowski, 2017).

El cuerpo de las metacercarias de *Austrodiplostomum* es bi-segmentado, de forma espatulada y ligeramente cóncavo ventralmente, algunas especies como *A. compactum* presentan el tegumento espinoso y con numerosas papilas, la ceca simple alcanza la gónada primordial, el órgano tribocítico es elíptico y bilobulado, en cuanto a las gónadas primordiales (dos testículos y un ovario poco visible) ocupan el 6% del largo total (García *et al.* 2015; Ostrowsky, 2017).

La tabla 2 muestra información sobre el registro de metacercarias de *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* en Sud América.

Tabla 2. Registro de descripción de metacercarias de *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* en América

Especie	País	Autor
<i>T. brevis</i>	Argentina	García <i>et al.</i> , 2015; Murrieta, 2018.
<i>T. adulta</i>	Argentina	García <i>et al.</i> , 2015; Murrieta, 2018.
<i>T. elongata</i>	Cuba, Venezuela, Brasil	García <i>et al.</i> , 2015; Murrieta, 2018.
<i>T. americana</i>	Brasil, Venezuela, México	García <i>et al.</i> , 2015
<i>T. aztecaae</i> n. sp.	México	García <i>et al.</i> , 2015
<i>A. compactum</i>	Perú, Brasil, México, Venezuela	Kohn <i>et al.</i> , 1995; Ostrowsky, 2017
<i>A. mordax</i>	Argentina, Venezuela	Szidat y Nani, 1951; Ostrowsky, 2017

Fuente: El autor.

3.8 Ciclo biológico de *Diplostomum* spp.

La información generada sobre el ciclo de vida de los parásitos permite gestionar tratamientos eficaces sobre enfermedades parasitarias; ayuda a conocer la biología de los organismos involucrados; y a establecer mecanismos de prevención y disminución de la propagación.

Las metacercarias de *Tylodelphys* spp. y *Austrodiplostomum* spp. cumplen un ciclo de vida que utiliza tres hospedadores, uno definitivo y dos intermediarios. Los hospederos definitivos aún no han sido claramente identificados ya que se describen varias familias de aves involucradas, dentro de las que resaltan: Podicipedidae, Laridae, Anatidae, Phasianidae, Ciconiidae y Anhingidae, (Höglund y Thulin, 1992; Lunaschi y Drago 2004; Grobbelaar *et al.*, 2014; García *et al.*, 2015).

El primer hospedero intermediario es un caracol pulmonado de agua dulce de la familia Lymnaeidae y Planorbidae. Se sabe hasta el momento que no hay gran variedad de moluscos que intervengan en el ciclo (Grobbelaar *et al.*, 2014).

Acorde con Choque (2020) esas son las dos familias de moluscos que más abundan en bofedales del Titicaca, siendo Lymnaeidae numerosa frente a Planorbidae (Niewiadowska y Niewiadowska-Bugaj, 1995; Grobbelaar *et al.*, 2014; García *et al.*, 2015).

El segundo hospedero intermediario donde se encuentran las metacercarias son peces de distintos géneros como i) *Potamorhina altamazonica*; ii) *P. latior*, iii) *P. pristigaster*; iv) *Chalceus erythrurus*; v) *Giomorphus cotidianus*; vi) *Goodea atripinis*; vii) *Rhamdia guatemalensis*; viii) *Dorosoma cepedianum*; ix) *Geophagus* sp.; x) *Salvelinus alpinus*; xi) *Gasterosteus aculeatus*; xii) *Odontesthes bonariensis*; xiii) *Oncorhynchus mykiss*; xiv) *Salmo trutta*; xv) *Orestias agassizii*; xvi) *O. olivaceus*; xvii) *O. luteus*; xviii) *O. bonariensis*; y xix) raramente anfibios (Siegmond *et al.*, 1997; Faltýnková *et al.*, 2014; Grobbelaar *et al.*, 2014; García *et al.*, 2015; Blasco *et al.*, 2016; Ostrowsky, 2017; Vital *et al.*, 2018).

Los peces mencionados pueden albergar varias especies de metacercarias (Niewiadowska y Laskowski, 2002) y su ubicación es variada. Pueden hallarse en los lentes del ojo, humor vítreo, retina, globo ocular, cavidad craneana y corporal, saco pericárdico o incluso en la vejiga natatoria de los peces afectados.

La figura 3 representa el ciclo biológico de *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819), cuya reproducción sexual tiene lugar en el intestino delgado de aves ictiófagas como las gaviotas.

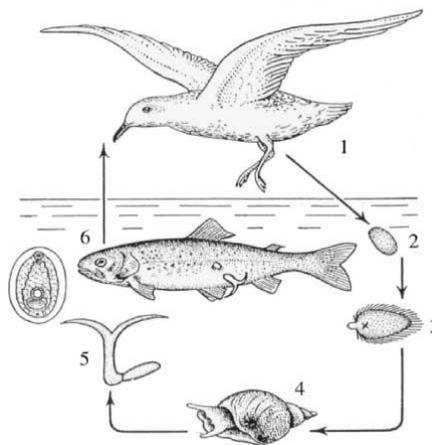


Figura 3. Ciclo biológico de *Diplostomum spathaceum* (Rudolphi, 1819)
Fuente: Hakalahti et al. (2006).

(1) Los hospedadores definitivos son aves ictiófagas que liberan huevos a través de las heces. (2) Eclosión de los huevos aproximadamente a los 22 días en el agua que liberan miracidios y nadan libremente. (3) Miracidios cuyos cuerpos flagelados y por la estimulación físico - química les permite penetrar caracoles de agua dulce (primeros hospedadores intermediarios). (4) La reproducción asexual comienza dentro de las glándulas digestivas e hígado de los caracoles dando origen a miles de cercarias. (5) Las cercarias con ayuda de secreciones glandulares penetran a los peces (segundos hospedadores intermediarios), ubicándose en la porción de los lentes de los ojos o cavidad craneana. Este proceso dura aproximadamente 24 horas y se genera el desarrollo de metacercarias (6) El ciclo es completado después de que un ave come a un pez infestado (Kohn, *et al.*, 1995; Niewiadomska y Niewiadomska-Bugaj, 1995; Vásquez *et al.*, 2011; Hakalahti *et al.*, 2006; Locke *et al.*, 2010; Grobbelaar *et al.*, 2014). El miracidio penetra en los caracoles donde se desarrollan los esporoquistes madre y los esporoquistes hijas. Luego forman cercarias con colas bifurcadas, faringe y dos o más pares de glándulas salivales cefálicas (Ostrowsky, 2017).

Posteriormente las cercarias penetran en el pez, perforan la superficie y pierden la cola. Finalmente proceden a enquistarse y sufren una metamorfosis que conduce a su fase de larva (metacercaria) (La Rue, 1926).

La infestación de metacercarias hacia los *Orestias* está influenciada por la presencia de aves ictiófagas que cumplen como hospedadores definitivos en el ciclo del *Diplostomum* sp, las poblaciones de parásitos que están presentes en los cuerpos de agua pueden verse afectadas por la interacción de los mismos con factores ambientales como mencionaron Palacios *et al.* (2019).

Entonces la existencia de aves como *Rollandia microptera*, indica la disponibilidad de alimento (peces del género *Orestias* y *Trichomycterus*) y así indirectamente supone que las condiciones para la subsistencia son favorables (Blanco y García, 2018). Green y Figuerola (2003) mencionan que las poblaciones de aves no son afectadas sólo por una variable ambiental, si no por un conjunto de ellas donde intervienen: la disponibilidad de alimento; comportamiento de cada ave; y época del año.

Villwock (1994), Sáez y Blázquez (1999) destacan la presencia del zambullidor endémico *Centropelma microptera*, *Rollandia microptera*, patos (*Anas cyanoptera*) y

gaviotas (*Larus serranus*) en lugares con presencia de plantas acuáticas (macrófitas) y espejos de agua.

También indican que entre las familias de aves en el lago Titicaca se pueden mencionar a: Rallidae, Podicepedidae, Laridae, Charadriidae, Recurvirostridae, Phalaropodidae, Cicnclidae, Tyrannidae, Hirundinidae, Motacillidae, Fringillidae y Furnaridae, en las cuales se desarrollan los parásitos adultos del orden Strigeatoidea con el inicio de la partenogénesis y hermafroditismo característico de estos parásitos (La Rue, 1926).

3.9 Incidencia sobre los peces

3.1.9 Sobre la talla.

La efectividad de la penetración de las cercarias en el tegumento del pez está directamente relacionada con la resistencia de las escamas del pez. Estas marcan una gran diferencia en los niveles de parasitismo entre peces del mismo género con tonalidades variadas como es el caso de las truchas marrón y arcoíris.

En el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) se describió una extrema flacura, deficiencia en su desarrollo y mortandades masivas por la presencia de larvas de *Austrodiplostomum mordax* y *Tylodelphys destructor* en cavidad craneana de estos peces Ringulet (1942) (citado en Ostrowski, 1973).

Dentro de las características que tienen los peces parasitados se encuentra una respuesta del sistema inmune innato y adaptativo con la producción de macrófagos, neutrófilos, linfocitos y eosinófilos frente a las parasitosis, la emaciación y disminución del tamaño de los peces se hacen evidentes.

Algunos estudios sobre intensidad parasitaria demostraron que hay una relación inversa entre la cantidad de alimento consumido por los peces y la intensidad parasitaria, la investigación de Latorre y Castro (2002) demostró que, dependiendo del tipo de parásito, tamaño del pez, y edad del huésped este parámetro sufrirá modificaciones tal es el caso de *Anacanthorus* sp. cuya intensidad es mayor en peces pequeños.

De esta manera, los peces infestados invierten mayor energía en su desarrollo y búsqueda de alimento, respecto de los ejemplares sanos. Asimismo, los primeros

tienden a nadar cerca de la superficie del agua haciéndose vulnerables a la depredación por aves Chappell (1995).

Loubens (1989), sostiene que de acuerdo al tamaño de red y método de pesca de *O. forgeti* el número de parásitos (*Lígula intestinalis*) varía y que uno de cada siete peces tiene al parásito, aumentando la relación en tres cuartos en peces más grandes.

Aunque los estudios en *Orestias* sobre la relación de prevalencia y abundancia de parásitos respecto de la talla de los peces es escasa, Gómez (2013) infiere que la medida que alcanzan los mismos influye en el éxito reproductivo de un genotipo, sin embargo, Díaz *et al.* (2021) refieren que la prevalencia de parásitos en los peces es distinta para cada especie y cuyos valores van desde el 6, 7% al 100%, algunos autores como Rojas *et al.* (2012) y Gonzáles *et al.* (2013) mencionan que los peces del género *Orestias* de mayor tamaño presentaron un aumento en la cantidad de parásitos del género *Polymorphus* sp.

El mismo autor menciona estudios donde las infestaciones en peces espinos por *Diplostomum* spp. incrementaban con su edad y talla, concluye que los *Girardinichthys multiradiatus* machos de una de las localidades estudiadas con tallas más grandes, experimentaban mayor intensidad parasitaria.

La población de parásitos varía acorde a múltiples factores asociados al medio ambiente; método de pesca; estado fisiológico del hospedador; y tamaño del pez. En este marco se toma como referencia que el número de parásitos por huésped es de 2,73 para peces de 60 a 65 mm; de 4,2 para peces de 90 mm (Gómez, 2013).

Murrieta (2018) menciona que la infestación masiva por *Tylodelphys* spp. repercute en la salud de los animales afectados ya que minimiza su capacidad visual cuando las metacercarias parasitan los ojos, causan la reducción y emaciación de los peces por competencia de nutrientes.

3.2.9 Sobre el sexo.

Las parasitosis afectan tres importantes parámetros en los hospedadores: i) habilidad de perseguir o vencer a oponentes del mismo sexo; ii) la capacidad de atraer al sexo opuesto; y iii) la elección respecto a sus parejas sexuales.

Gómez (2013), indica que la función hormonal en los machos se ve directamente afectada ante una infestación parasitaria porque la testosterona actúa como

inmunosupresor, sin embargo, el autor refiere no encontrar diferencias significativas en la intensidad parasitaria entre sexos o localidades.

Bertrand *et al.* (2000), reportaron que la población de hembras y machos para *O. agassizii* es dinámica en su presentación ya que varía de acuerdo a su población, dicha proporción es de 1:1 en lagos del altiplano chileno, asimismo Bernal *et al.* (2012) encontraron la misma similitud para la cuenca endorreica del Salar de Ascotán, en el norte de Chile, en cuanto al parasitismo, Ríos *et al.* (2016) mencionan que las hembras presentaban una prevalencia parasitaria superior a la de los machos pero sin una diferencia estadística significativa.

4. LOCALIZACIÓN

4.1 Ubicación geográfica



Figura 4. Ubicación geográfica de las zonas de muestreo
Fuente: Google Earth (2019).

La localización de las áreas de estudio en el Lago Mayor: Escoma (lat.: -15, 674; long.: -69, 1967) y Lago Menor: Tiquina (lat.: -16, 2241; long.: -68, 8327), Desaguadero (lat.: -16, 5216; long.: -68, 9652) y Huatajata (lat.: -16, 2148; long.: -68, 692). El clima en el Lago es templado por el día y frío por la noche con una temperatura ambiente que oscila entre 5°C en julio y 10°C en diciembre, la temperatura anual media del agua es de 13°C, la salinidad es de 0.5 g/L y el pH es de 8.5 (Zepita *et al.*, 2013). La época lluviosa comprende los meses desde diciembre hasta marzo y la época seca desde mayo hasta agosto (Dejoux, e Iltis, 1991; Vila *et al.*, 2007).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

- Peces nativos de acuerdo al evento de pesca: *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* provenientes del lago Titicaca.
- Solución salina al 0.7%,
- Caja Petri
- Pipeta Pasteur
- Estuche de disección
- Bisturí
- Lupa.
- Tinción Hematoxilina de Delafield
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico
- Alcohol medicinal
- Silicato de metilo
- Portaobjetos
- Microscopio
- Binocular de luz con ocular micrométrico.
- Gabinete
- Cuaderno de anotaciones, bolígrafos, marcador de CD, cámara fotográfica.

5.2 Métodos

Dos especies de *Orestias* pertenecientes a los géneros *O. luteus* y *O. agassizii* fueron evaluadas con un total de 69 individuos. De este total, un individuo de la especie *O. luteus* del municipio de Tiquina, fue categorizado como indeterminado (I.N.D.) ya que no pudo ser reconocido el sexo debido al nivel de madurez relacionado al tamaño que ese pez presentaba (Parenti, 1984), por lo que número de peces tomados en cuenta en este estudio es de 68.

5.1.2 Obtención de muestras.

Se tomaron 68 especímenes de *O. agassizii* y *O. luteus* que fueron obtenidos por compra directa proveniente de los pescadores de cuatro comunidades del lago Titicaca, Bolivia. Escoma (lat.: -15, 674; long.: -69, 1967), Desaguadero (lat.: -16, 5216; long.: -68, 9652), Tiquina (lat.: -16, 2241; long.: -68, 8327) y Huatajata (lat.: -16, 2148; long.: -68, 692) durante el periodo agosto 2019 (primera entrada) y octubre de 2020 (segunda entrada).

Se encontraron 19 hembras y 3 machos para la especie *O. agassizii*, mientras que para la especie *O. luteus* se encontraron 27 hembras y 19 machos.

Los peces fueron transportados en baldes con agua del lago hasta el laboratorio de la Institución Pública Desconcentrada de Pesca y Acuicultura (I.P.D.-PACU) para ser identificados, medidos y sexados.

Para obtener las metacercarias y posteriormente caracterizarlas por su morfología, se examinaron todas las cabezas mediante necropsia de los peces, la porción media del cerebro fue expuesta retirando piel y cráneo mediante incisiones en los músculos epaxiales a nivel del cráneo para luego fracturar el hueso supraetmoides (Muzzall y Kilroy, 2007).

Con una pipeta Pasteur se procedió a la succión del contenido de la bóveda craneana vertiendo el contenido a placas Petri con agua destilada y solución salina al 0.9% para liberar la muestra de elementos que no fueron de interés en el estudio (Amato *et al.*, 2001).

Con ayuda de una lupa se hizo el recuento de las metacercarias. Para su fijación y conservación, las metacercarias fueron introducidas en alcohol al 70% (fijador) y algunas de ellas fueron sumergidas en la solución previa compresión y ligero aplanamiento entre portaobjetos (Amato *et al.*, 2001).

Las metacercarias fijadas en alcohol fueron hidratadas y coloreadas con Hematoxilina de Delafied y finalmente decoloradas en agua acidulada y deshidratadas en series de alcohol etílico de diferentes porcentajes (30, 50, 70, 90 y 100%) (Maldonado, 2009).

Luego se montó las muestras en portaobjetos para su medición y descripción utilizando el microscopio en el laboratorio de parasitología de la facultad de agronomía U.M.S.A siguiendo el protocolo de tinción de Maldonado (2009) (Conroy y Armas, 1987;

Monks *et al.*, 2013; Mamani, 2015; Zhokhov y Pugacheva, 2018; Pelegrini *et al.*, 2019). Según Shigin (1986), solo formas maduras de metacercarias sobreviven este tratamiento, como se citó en Höglund y Thulin (1992).

5.2.2 Pasos de la tinción.

- a) Los especímenes conservados en alcohol etílico al 70% lavados del fijador.
- b) Hidratación en alcoholes graduales 50%, 30% (15 minutos en cada uno) hasta agua destilada.
- c) Tinción en hematoxilina de Delafield de 15 a 30 segundos.
- d) Lavado con agua destilada para eliminar el exceso de colorante.
- e) Diferenciación con agua acidulada al 2% con ácido clorhídrico.
- f) Lavado en agua destilada por uno a dos minutos.
- g) Virado del ejemplar a color azul pálido o violeta en agua de la llave (tres a cinco minutos).
- h) Deshidratado lento desde agua destilada en alcoholes graduales de 30%, 50%, 70%, 96% (15 minutos en cada cambio).
- i) Completar la deshidratación en alcohol etílico absoluto (100%) dos cambios cada 20 minutos.
- j) Aclarar en terpineol, aceite de clavos o silicato de Metilo.
- k) Observación al microscopio.

Las muestras siguen los protocolos estándares establecidos de no dejar al aire y permanecer en cadena de frío y nunca dejarlas secar (Maldonado, 2009).

Las fotografías fueron tomadas montando los especímenes en un microscopio Olympus CX31 adicionando un ocular micrométrico que permitió medir las estructuras más representativas en micras según Blasco *et al.*, (2016) utilizando objetivos de 10X para tomar el largo y ancho total del cuerpo, y 40X para ventosas orales y ventrales, gónadas primordiales, esófagos y procesos caudados.

Posteriormente, para caracterizar a las metacercarias se utilizaron las claves taxonómicas dadas por Ostrowski (1973), Muzzall y Kilroy (2007), Blasco *et al.* (2016), Murrieta (2018), Vital *et al.*, (2018).

5.3.2 Análisis estadístico.

El registro del número de digeneos fue almacenado en una base de datos en Excel (Microsoft) con la procedencia de las muestras, especie, sexo y tamaño del pez.

La base de datos se utilizó para determinar la relación del sexo, localidad y tamaño de los peces con el número de metacercarias y la especie de *Orestias*. En ese marco, el estudio contiene variables cuantitativas y se semicuantitativas.

Se aplicó la estadística descriptiva para la presentación y descripción de los datos primarios, y como los mismos no cumplen con una distribución normal, se trabajó con estadística no paramétrica. Los niveles de parasitismo como prevalencia; intensidad media; abundancia media; coeficiente de agregación y su la relación con el segundo hospedero intermediario (sexo, talla, especie) y las localidades muestreadas fueron calculadas con el software estadístico IBM - SPSS versión 26 (Hair *et al.*, 1999; Iannacone *et al.*, 2008; Alvarado, 2019).

En el análisis inferencial, las pruebas estadísticas para las variables categóricas fueron: Chi 2; pero cuando la frecuencia esperada sea menor a 5, se utilizó la prueba exacta de Fisher para saber si existe relación entre variables. Para esto, se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de P sea menor al nivel de significancia α 0.05.

Para el caso de variables continuas se utilizó la prueba T- student para comparar dos grupos, y para la comparación de más de dos grupos se utilizó el ANOVA.

Finalmente, se hizo un análisis de correlación para las dos variables numéricas: longitud del pez y número de metacercarias.

Tabla 3. Fórmulas para los niveles de parasitismo en Orestias

PARÁMETRO	FÓRMULA
Prevalencia	$\frac{\text{Número de peces parasitados}}{\text{Total de peces examinados}} * 100$
Intensidad media	$\frac{\text{Total de parásitos de una especie particular de una muestra}}{\text{Número de peces infestados con el parásito}}$
Abundancia media	$\frac{\text{Número de parásitos de una especie particular en una especie de}}{\text{Total de peces examinados con y sin infestación}}$
Índice de agregación	$\frac{\text{Varianza (S}^2\text{)}}{\text{Abundancia media}}$

Fuente: Bush *et al.* (1997).

Los parámetros epidemiológicos de infestación por metacercarias como prevalencia, intensidad media, abundancia media y coeficiente de agregación, fueron calculados de acuerdo a Bush *et al.* (1997).

Las especies parásitas alogénicas completan su ciclo de vida fuera de los límites del ambiente acuático, y utilizan organismos de agua como hospedadores intermediarios. Alcanzan la madurez sexual en aves o mamíferos, y poseen potencial de colonización elevado, dado que pueden ser transferidos fácilmente de una localidad a otra por sus hospederos definitivos (Esch *et al.*, 1990) (citado en Drago, 2004).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización morfológica de metacercarias de *Austrodiplostomum*

Para identificar a las metacercarias de *Austrodiplostomum* se usaron las claves dadas por Ostrowsky (1973).

Las metacercarias de *Austrodiplostomum* se caracterizan por presentar cuerpo lingüiforme, indistintamente bipartito, órgano tribocítico con hendidura longitudinal y ventosa ventral rudimentaria o ausente.

Tabla 4. Características morfométricas de metacercarias de Austrodiplostomum spp. en μm

	\bar{x}	DE	RANGO MINIMO	RANGO MÁXIMO
LT	1341	127	1100	1700
AT	460	38	360	550
VO-L	68	14	38	88
VO-A	51	9	30	63
F-L	54	20	25	100
F-A	42	62	15	308
OT-L	207	21	175	250
OT-A	121	19	88	163
GL	41	13	23	63
GA	33	11	20	68
CO-L	109	20	75	160
CO-A	166	30	125	225

Nota: \bar{x} = promedio; DE= desviación estándar; LT= largo total; AT= ancho total; VO-L= largo ventosa oral; VO- A= Ancho ventosa oral; F- L= largo faringe; F- A= ancho faringe; OT- L= largo órgano tribocítico; OT- A= ancho órgano tribocítico; GL= largo gónada; GA= ancho gónada; CO- L= largo cola; CO- A= ancho cola.

Fuente: El autor.

Se obtuvieron las siguientes características morfológicas, cuyas medidas son expresadas como promedios del largo y ancho: cuerpo (1340, 9 x 460, 45 μm) alargado y aplanado dorso ventralmente (tipo lanza), ventosa oral (67, 5 x 51,14 μm) en la región anterior. Ausencia de ventosa ventral y gónadas en la región caudal (40, 57 x 32,61 μm).

Tabla 5. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de *Austrodiplostomum* spp. con especies descritas en América

	<i>Austrodiplostomum</i> spp.	<i>A. compactum</i>		
Hospedero	<i>Orestias agassizii/ Orestias luteus</i>	<i>Rhamdia guatemalensis</i>	<i>Dorosoma cepedianum</i>	<i>Geophagus</i> sp
Localización en el hospedero	Cavidad craneana	Ojos	Ojos	Ojos
País	Bolivia	México	Estados Unidos	Venezuela
Fuente	Presente estudio	García <i>et al.</i> (2015)	Ostrowsky (2017)	Ostrowsky (2017)
Longitud total	1100- 1700 (1340,91)	1300- 1500 (1400)	985- 1537 (1285)	1280- 1536 (1429)
Ancho total	360- 550 (460,45)	480- 610(540)	542- 684 (616)	512- 720 (619)
Largo ventosa oral	37.5- 87.5 (67,50)	62-82 (72)	65- 78 (72)	64- 77 (71)
Ancho ventosa oral	30- 62.5 (51,14)	50- 75 (66)	55- 69 (59)	61- 74 (67)
Largo faringe	25- 100 (54,09)	52- 75 (64)	70- 102 (86)	48- 64 (57)
Ancho faringe	15- 307.5 (42,14)	42- 60 (53)	34- 46 (42)	42- 48 (47)
Largo órgano tribocítico	175- 250 (207,39)	200- 300 (270)	246- 309 (270)	288- 384 (336)
Ancho órgano tribocítico	87.5- 162.5 (121,02)	100- 130 (115)	119- 172 (141)	144- 224 (170)
Largo gónada	22.5- 62.5 (40,57)	***	***	***
Ancho gónada	20- 67.5 (32,61)	***	***	***
Largo cola	75- 160 (109,02)	***	***	***
Ancho cola	125- 225 (166,25)	***	***	***

Fuente: Ostrowsky (2017); García *et al.* (2015); El autor.

La tabla 5 muestra una comparación que ayuda a inferir en una aproximación de especie de metacercarias, a pesar de ello, se debe tomar en cuenta que las medidas

entre especies de metacercarias tendrán una variabilidad de acuerdo al sitio de infestación como es el caso de *A. compactum* que habita el globo ocular del segundo hospedero intermediario y parasita otra familia de peces. Este hallazgo corresponde a un primer registro para *Orestias* (Ostrowsky, 2017).

Tabla 6. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de *Austrodiplostomum* spp. con especies descritas en Sudamérica

	<i>Austrodiplostomum</i> spp.	<i>A. mordax</i>	
Hospedero	<i>Orestias agassizii</i> / <i>Orestias luteus</i>	<i>Odontesthes</i> <i>bonariensis</i>	<i>Odontesthes</i> <i>bonariensis</i>
Localización en el hospedero	Cavidad craneana	Cavidad craneana	Cavidad craneana
País	Bolivia	Argentina	Venezuela
Fuente	Presente estudio	Ostrowsky (2017)	Ostrowsky (2017)
Longitud total	1100- 1700 (1340,91)	736- 976 (822)	864- 1216 (1056)
Ancho total	360- 550 (460,45)	288- 368 (317)	304- 432 (339)
Largo de ventosa oral	37,5- 87,5 (67,5)	51- 64 (57)	48- 67 (58)
Ancho de ventosa oral	30- 62,5 (51,14)	64- 80 (68)	58- 67 (62)
Largo faringe	25- 100 (54,09)	51- 64 (59)	38- 64 (49)
Ancho faringe	15- 307,5 (42,14)	29- 38 (33)	35- 48 (41)
Largo órgano tribocítico	175- 250 (207,39)	144- 176 (159)	192- 224 (208)
Ancho órgano tribocítico	87,5- 62,5 (121,02)	109- 147 (124)	96- 144 (117)
Largo gónada	22,5- 62,5 (40,57)	***	***
Ancho gónada	20- 67,5 (32,61)	***	***
Largo cola	75- 160 (109,12)	***	***
Ancho cola	125- 225 (166,25)	***	***

Nota: Las medidas de metacercarias de *Orestias* incluyen las del órgano tribocítico que como indicó La Rue (1926), se trata de un órgano característico, el cual se desarrolla en la fase de metamorfosis de cercaria a metacercaria.

Fuente: Osrowsky (2017); El autor.

Este estudio describe metacercarias encontradas debajo de la dura madre y no en el globo ocular como las referidas por García *et al.* (2015) y Ostrowsky (2017) en *Rhamdia guatemalensis*, *Dorosoma cepedianum* respectivamente.

La aproximación a una especie tendrá éxito una vez que sean comparadas con otras metacercarias de peces de similares características. La caracterización de metacercarias de los subgéneros *Tylodelphys* y *Austrodiplostomum* en el cerebro de *O. agassizii* y *O. luteus* son parecidas a las reportadas por Muzzall y Kilroy (2007) que son a su vez similares a las descritas por Hughes (1929) (citado en Muzzall y Kilroy, 2007), a excepción de las medidas, ya que las registradas en *Orestias* son de mayor tamaño que las descritas en cavidad craneana y ojos de *Odonthestes bonariensis* (Argentina), *Rhamdia guatemalensis* y *Dorosoma cepedianum*, con excepción de *A. mordax* en *Odonthestes bonariensis* (Venezuela) ya que las medidas son similares. Kohn *et al.* (1995) nos proporcionan medidas de metacercarias de *A. compactum* aplanadas, describiendo un cuerpo foliáceo ventralmente cóncavo, segmento posterior cónico pequeño largo corporal 2170 x 970 µm de ancho, largo de la ventosa oral 77 x 79 µm de ancho, largo de la faringe oval 83 x 60 µm de ancho, largo del órgano tribocítico oval 507 x 370 µm de ancho, gónadas pequeñas situadas en la parte posterior.

Las metacercarias de *Austrodiplostomum mordax* Szidat y Nani (1951) se caracterizan por estar presentes exclusivamente en el cerebro y por tener un cuerpo segmentado en dos partes con un ancho máximo al nivel medio del cuerpo, ligeramente cóncavo ventralmente, ventosa oral sub terminal y sin presencia de la ventosa ventral, ceca simple que alcanza la gónada primordial, órgano tribocítico elíptico bilobulado. Las gónadas primordiales (dos testículos y un ovario poco visibles) ocupan el 12,8% del largo total (Ostrowski, 1973).

Otras medias registradas para *A. mordax* del estudio de Szidat y Nani (1951) mencionado en Zhokhov y Pugacheva (2016), fueron: largo total 680 – 880 µm, ancho corporal de 330 µm, ancho de la ventosa oral 50 – 80 µm, largo de la faringe 50 µm, ancho de faringe de 30 µm, mucho más pequeñas que las reportadas en este estudio. Hay evidencia de reportes de medidas de metacercarias de *A. ostrowskiae* colectadas del humor acuoso de los hospedadores intermediarios cuyas medidas no tienen gran

variabilidad con respecto a *A. compactum* (Rosser *et al.* 2016; Zhokhov y Pugacheva, 2016).

Como conclusión tenemos que, de acuerdo a las descripciones de estos géneros, como indican Kohn *et al.* (1995) y Ostrowski (2017) y en concordancia con la nomenclatura internacional del código de zoología de 1999, el nombre válido corresponde a *A. compactum* con sinónimos válidos como *A. mordax* y *A. ostrowskiae*. Niawiadomska y Laskowski (2002) determinaron que las diferencias que se deben tomar en cuenta para las metacercarias son la relación del largo entre el acetábulo y la ventosa oral con la forma del órgano tribocítico y que todas las demás características son irrelevantes ya que la mayoría de especies comparten similares rasgos.

Ostrowski (2017), señala que en metacercarias de *A. compactum* y *A. mordax* la gónada primordial oscila entre 7.3% y 13,8% respecto del largo corporal. La autora también indica que *A. mordax* difiere de *A. compactum* en cuanto a un menor tamaño corporal con una ventosa oral más larga que la faringe. Este estudio encontró una relación de 3,02% entre la gónada y el largo corporal, porcentaje por debajo de lo descrito por la autora, debido a que el cuerpo de las metacercarias en *Orestias* es más grande en relación a las gónadas.

6.2 Caracterización morfológica de metacercarias de *Tylodelphys*

Para identificar las estructuras de las metacercarias de *Tylodelphys* se usaron las claves taxonómicas dadas por Muzzall y Kilroy (2007), Blasco *et al.*, (2016), Murrieta (2018), Vital *et al.*, (2018).

Las metacercarias del género *Tylodelphys* spp. han sido más estudiadas durante su fase de metacercaria en relación a las lesiones patológicas que causan dentro de los peces (Murrieta, 2018).

La tabla 7 muestra las medidas registradas de las partes más representativas para metacercarias de *Tylodelphys*.

Tabla 7. Medidas morfométricas de metacercarias de *Tylodelphys* spp. en μm

	\bar{X}	DE	RANGO MINIMO	RANGO MÁXIMO
LT	1531	279	1240	2450
AT	562	76	420	860
VO-L	71	27	25	219
VO-A	61	15	45	131
F-L	50	20	15	100
F-A	29	9	13	50
OT-L	244	55	150	531
OT-A	155	51	63	375
VV-L	71	35	30	263
VV-A	87	36	50	280
GL	42	16	13	65
GA	28	9	13	55
CO-L	120	21	100	163
CO-A	183	36	138	250

Nota: \bar{X} = promedio; DE= desviación estándar; LT= largo total; AT= ancho total; VO-L= largo ventosa oral; VO- A= Ancho ventosa oral; F- L= largo faringe; F- A= ancho faringe; OT- L= largo órgano tribocítico; OT- A= ancho órgano tribocítico; VV- L= largo ventosa ventral; VV- A= ancho ventosa ventral; GL= largo gónada; GA= ancho gónada; CO- L= largo cola; CO- A= ancho cola.

Fuente: El autor.

En este estudio se identificaron las siguientes características morfológicas, cuyas medias son expresadas como promedios del largo y ancho: cuerpo lingüiforme – cóncavo o fusiforme (1531, 3 μm), pseudo ventosas no apreciables, órgano tribocítico ovalado ubicado en el segmento anterior (244, 25 μm x 154, 89 μm), ventosa oral subterminal redondeada (71,19 μm x 60,69 μm) que continúa con una faringe corta (49,6 μm), en la parte media anterior del cuerpo se encuentra la ventosa ventral en forma circular (70, 7 μm x 154, 89 μm) y las gónadas se ubican cercanas a la parte ventral del cuerpo (41,8 μm x 28,4 μm).

Durante el procesamiento de las muestras de parásitos se pudo evidenciar que las medias más largas y anchas fueron de las metacercarias puestas entre porta objetos

comprobando así que el largo total de las metacercarias que fueron aplanadas incrementó en un 36% respecto de otras que no fueron sometidas a ese tratamiento. Flores y Baccalá (1998) mencionan que el largo total no debería ser utilizado para la identificación de la especie de *Tylodelphys* y en cuanto mayor es el grado de madurez de las metacercarias es posible observar a más detalle sus estructuras, siendo aun así dificultosa su aproximación a una especie (Kohn *et al.*,1995).

Tabla 8. Comparación de medidas morfométricas (en μm) de metacercarias de *Tylodelphys* spp. con especies descritas en Norteamérica

	<i>Tyodephys</i> spp.	<i>T. scheuringi</i> (Hughes, 1929)
Hospedero	<i>Orestias agassizii</i> / <i>Orestias luteus</i>	Umbra limi
Localización en el hospedero	Cavidad craneana	Ojos
País	Bolivia	Estados Unidos
Fuente	Presente estudio	Blasco <i>et al.</i> ,2016
Longitud total	1240- 2450 (1531.3)	885- 1155 (1026)
Ancho total	420- 860 (562,05)	210- 270 (249)
Largo de ventosa oral	25- 218, 75 (71.19)	36- 45 (41)
Ancho de ventosa oral	45- 131, 25 (60,69)	30- 39 (33)
Largo faringe	15- 100 (49,66)	25
Ancho faringe	12,5- 50 (28,81)	16
Largo de ventosa ventral	30- 262,5 (70,7)	***
Ancho de ventosa ventral	50- 280 (86,56)	36- 45 (40)d
Largo órgano tribocítico	150- 531,25 (244,25)	96- 150 (117)
Ancho órgano tribocítico	62,5- 375 (154,89)	42- 75(56)
Largo gónada	12,5- 65 (41,8)	***
Ancho gónada	12,5- 55 (28,43)	***
Largo cola	100- 162,5 (119,55)	***
Ancho cola	137,5- 250 (182,73)	***

Fuente: Blasco *et al.* (2016); El autor.

De acuerdo con Blasco *et al.* (2016) las medidas tendrán una variabilidad de acuerdo al sitio de infestación (cerebro, ojos) del segundo hospedero intermediario y a la familia de peces.

Por la localización y la variación en las medidas entre especies, es posible que se trate de una descripción nueva para este subgénero. Además, Flores y Baccalá (1998),

concluyen que *T. crubensis* y *T. barilonchensis* coexisten en cavidad craneana de *G. maculatus* lo que podría indicar que más de una especie habite en cavidad craneana de *Orestias*.

6.3 Identificación de metacercarias de *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* según claves taxonómicas

El presente estudio representa la primera descripción de metacercarias de *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* parasitando la cavidad craneana del segundo hospedero intermediario (*Orestias agassizii* y *Orestias luteus*) en el lago Titicaca.

Las siguientes descripciones ilustran de forma general las partes que más destacan de la anatomía de metacercarias halladas en la cavidad craneana de *O. agassizii* y *O. luteus*. Dichas descripciones se ajustan a los rasgos del género *Diplostomum*, y comprende características métricas y no métricas (Niewiadomska y Laskowski, 2002).

Tabla 9. Características morfológicas de metacercarias de *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* en *Orestias agassizii* y *Orestias luteus* en el lago Titicaca

Estructura	Descripción
Cuerpo.	Delgados y varían en forma y tamaño, existen dos formas “largos y aplanados dorso ventralmente” y “curvos o cóncavos”.
Extremo anterior de cuerpo.	Las metacercarias de la familia Diplostomatidae se distinguen por su cuerpo cóncavo ventralmente, zona anterior foliácea y la posterior con prominencia cónica. Trilobulado con pequeñas protuberancias a ambos lados de la ventosa oral.
Ventosa oral.	Ubicada en la zona sub terminal de las metacercarias en forma redondeada que da lugar a la faringe .
Ventosa ventral (sólo en el subgénero <i>Tylodelphys</i>).	De forma ovalada a redonda, se encuentra en posición pos ecuatorial de tamaño similar o ligeramente más larga que la venosa oral.

Tracto digestivo.	Comprende una faringe ancha y corta, un par de intestinos cecales ciegos que terminan cerca del extremo posterior del cuerpo.
Gónadas.	Visibles a lo largo, irregulares estructuralmente, localizadas alrededor o posteriormente al órgano resistente.

Fuente: El autor.

Aunque existe menor cantidad de estudios relacionados a las claves morfológicas para la diferenciación entre especies de metacercarias, pues las descripciones están más centradas en la fase adulta de los parásitos, (Chappell, 1995; Niewiadomska y Niewiadomska – Bugaj, 1995; Murrieta, 2018) existen diferencias notables entre ambos géneros de metacercarias. Entra estas se encuentran el tamaño, la forma del cuerpo, y la disposición de las ventosas, no obstante, para determinar las especies el sólo hecho de caracterizarlas no sería suficiente ya que muchas de ellas comparten gran cantidad de patrones morfológicos como se muestra en las tablas 4, 7 y 9 (Ostrowsky 2017).

Como algunos autores mencionan, la especificidad por hospedador varía de acuerdo al sitio de infestación (Viozzi y Flores, 2002). Sin embargo, se encontraron metacercarias de ambos géneros coexistiendo en cavidad craneana, lo contrario a géneros que se encontraron sólo en cabeza o sólo en ojos de peces estudiados en Venezuela, México, Argentina, Chile y Estados Unidos (Muzzall y Kilroy, 2007; García *et al.*, 2015; Ostrowsky, 2017).

Seppala *et al.* (2005), indican que hay una gama amplia de hospedadores definitivos para estos géneros. Esto a la vez está relacionado con la motilidad de las cercarias que invaden a peces de agua dulce. El éxito de completar el ciclo biológico se da cuando los huevos que eclosionan en el agua encuentran una población de caracoles pulmonados adecuada (Seppala *et al.*, 2005).

Una vez cumplido este requisito, la migración de las cercarias dentro del segundo hospedero depende de la estructura anatómica del pez, su ecología y comportamiento. La presencia de peces y moluscos dentro de la zona litoral no es una coincidencia, esto se debe al tipo de vegetación de la zona que provee alimento al pez y aguas con

corriente lenta para el caracol que induce a mayor concentración de cercarias en el lugar (Grobbelaar *et al.*, 2014).

Se ha demostrado que los peces solitarios son más afectados por la invasión de cercarias que los que nadan en cardumen, ya que el grupo de peces podría reconocer áreas infestadas y así evitar el contacto con las mismas (Grobbelaar *et al.*, 2014).

Niawiadomska y Laskowski (2002), indican que la especificidad de hospedador de estas metacercarias es realmente rara, reforzando el concepto de que varias especies de *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys* podrían ser encontradas en cavidad craneana.

6.4 Determinación de niveles de parasitismo

6.1.4 Prevalencia.

La tabla 10 muestra una mayor prevalencia en la especie *O. luteus* a diferencia de *O. agassizii* posiblemente este dato se ve influenciado por el régimen alimenticio, siendo el carachi amarillo quien se alimenta de caracoles y crustáceos infestados de cercarias (Díaz *et al.*, 2021). Independientemente del lugar de procedencia, *O. luteus* reporta las prevalencias más altas, así como indica el estudio de Díaz *et al.* (2021), estos peces muestran una prevalencia de tremátodos del 100%, datos relacionados al comportamiento nutricional de los peces.

Tabla 10. Prevalencia de metacercarias en *Orestias*

<i>O. agassizii</i>	<i>O. luteus</i>	Total
P%= 16/ 22 * 100	P%= 46/ 46 * 100	P%= 62/ 68 * 100
P%= 72.7%	P%= 100%	P%= 91.17%

Fuente: El autor.

6.2.4 Intensidad media.

Tabla 11. Intensidad media de metacercarias en *Orestias*

<i>O. agassizii</i>	<i>O. luteus</i>
545 met. / 16	7047 met. / 46
Se tiene como resultado: 34,1 metacercarias por pez.	Se tiene como resultado: 153,2 metacercarias por pez.

Fuente: El autor.

En el estudio de Latorre y Castro (2002), se obtuvo una intensidad media para *O. agassizii* de 8, 6 digeneos por pez, este dato difiere con los resultados de la tabla 11,

presumiblemente porque los periodos de muestreo fueron distintos y la población de peces muestreados fue mayor. Se podría deducir que el aumento notorio en este indicador se debe al aumento de la población de aves y otros vertebrados acuáticos que están involucrados en el ciclo biológico de estos parásitos, la insuficiente existencia de depredadores y la escasa movilización de los peces también son factores relacionados a lo anunciado (Latorre y Castro, 2002).

6.3.4 Abundancia media.

Tabla 12. Abundancia media de metacercarias en Orestias

<i>O. agassizii</i>	<i>O. luteus</i>	Total
545 metacercarias/ 22	7047 metacercarias/ 46	7592 metacercarias/ 68
Se tiene como resultado: 24, 77 metacercarias por pez.	Se tiene como resultado: 153,2 metacercarias por pez.	Se tiene como resultado: 111, 64 metacercarias por pez.

Fuente: El autor.

Los índices parasitarios muestran mayores valores para la especie *O. luteus* influenciado por el número de especies capturados que fue mayor.

Los resultados difieren de los reportados por González *et al.* (2013), quienes encontraron alrededor de 16, 6 digéneos por pez, esta diferencia estaría explicada porque los autores estudiaron a las poblaciones de parásitos en *Orestias* en un periodo distinto y en comunidades diferentes lo que supone que en distintas épocas del año la disponibilidad de caracoles infestados también varía.

6.4.4 Índice de agregación.

Tabla 13. Índice de agregación de metacercarias en Orestias

<i>O. agassizii</i>	<i>O. luteus</i>	Total
=varianza/abundancia media	=varianza/abundancia	Varianza general:
=1765,517/24,77	media	13894, 799 / Abundancia
=71,2764	=14409,539/153,2	media general =111, 64
	=94,0570	Índice de agregación=
		124.46

Fuente: El autor.

Con el fin de entender la dinámica y los patrones de infestación por parásitos, la tabla 13 muestra el índice de agregación por especie de *Orestias*.

Los resultados de la tabla 13 muestran que la distribución total de las metacercarias en *Orestias* es positiva, con mayor agregación para *O. luteus* que podría estar relacionado al número de individuos para cada especie. Lo que contradice a lo descrito por Palacios *et al.* (2018) que reportan mayor agregación para *O. agassizii* ya que estos autores estudiaron una población de parásitos más diversa, en la que los parásitos de las branquias influenciaron en el resultado de este índice.

Como mencionan Lauzanne (1992) y Bertrand *et al.* (2018), la profundidad de pesca pudo haber sido un factor de influencia para la presentación de mayor cantidad de peces del género *O. luteus*, ya que estos peces pueden estar a mayor profundidad con respecto a *O. agassizii*. Los autores también señalan que la cantidad de machos y hembras es pareja, Bertrand *et al.* (2000) y Bernal *et al.* (2012) indican también que la relación entre hembras y machos en los lagos Chungará y la región de Antofagasta, en el norte de Chile es de 1:1 lo cual también fue comprobado en esta investigación para el lago Titicaca.

6.5 Relación de la presencia de metacercarias con variables del hospedador

6.1.5 Relación entre la infestación por metacercarias y el sexo de *Orestias*.

De acuerdo a la naturaleza de los datos, para verificar la posible relación entre sexo y la presencia de metacercarias se utilizó la prueba exacta de Fisher con lo que el resultado de P (0.188) fue indicativo para concluir que no existe diferencia estadísticamente significativa para que un sexo sea más propenso a la infestación por metacercarias. Posiblemente este resultado se encuentra influenciado por las épocas de muestreo con la baja reproducción y los lugares de pesca, por otro lado, estudios como el de Ríos *et al.* (2016) reportaron que las hembras son más propensas a ser parasitadas, debido a su tamaño y a su papel en la reproducción, mientras que los machos están expuestos a ser infestados sólo al competir por las hembras.

6.2.5 Relación entre la infestación por metacercarias y el tamaño de *Orestias*.

Con un análisis de correlación bivariada de Spearman entre el número de metacercarias y la longitud del pez, se determinó que la correlación negativa es débil $\rho = -0.454$.

La figura 5 muestra estadísticamente que la relación es inversa entre las variables. Es decir, mientras más longitud tenga el pez se encontró un menor número de metacercarias. Resultado contrario a lo reportado por Rojas *et al.* (2012), en el que se indica que las muestras de los peces de mayor tamaño de *Orestias agassizii* eran los más parasitados por *Polymorphus* sp. y a lo encontrado por Gonzáles *et al.* (2013) que indican que los peces más grandes y de mayor edad han sido más expuestos a parásitos durante toda su vida.

Esta diferencia puede estar relacionada con la cantidad de peces muestreados, ya que los autores utilizaron más de 200 ejemplares para sus estudios.

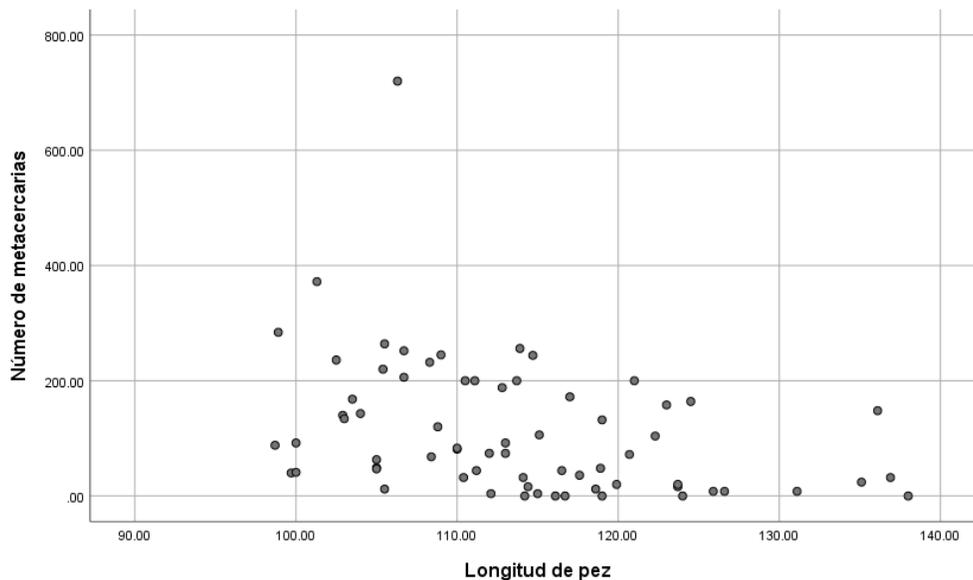


Figura 5. Relación del número de metacercarias y la longitud de los peces
Fuente: El autor.

Los animales más jóvenes son parasitados por cientos de metacercarias, mientras que los más viejos podrían estar con miles en su interior. Estos argumentos por sí solos no explican si existe o no una especificidad de hospedador (Locke *et al.*, 2010).

6.3.5 Relación entre la infestación por metacercarias y la especie de *Orestias*.

La media de metacercarias para *O. agassizii* es de 24, 77 y 153,19 para *O. luteus*. Con lo que una prueba t – student permitió comprar a las dos especies de *Orestias* con la variable numérica (número de metacercarias). El valor obtenido fue de $P= 0$ lo que significa que estadísticamente si existen diferencia entre el número de metacercarias entre las dos especies.

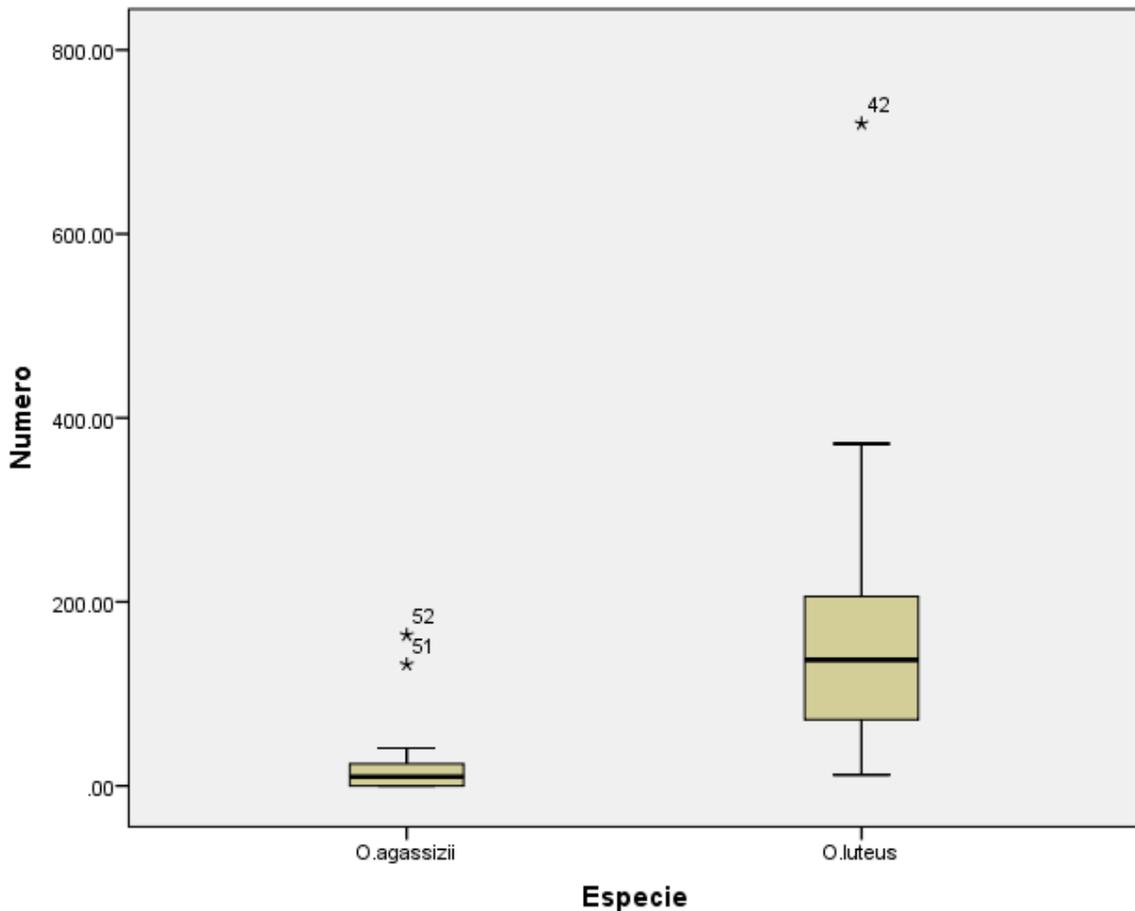


Figura 6. Relación entre el número de metacercarias y la especie
Fuente: El autor.

La mayor presencia de metacercarias fue para la especie *O. luteus*, resultado respaldado por la prevalencia en esta especie una vez más atribuida al régimen alimenticio de esta especie (Díaz *et al.*, 2021).

6.6 Relación de la presencia de metacercarias con comunidades muestreadas

La comparación de medias del número de metacercarias entre los cuatro municipios es posible con un análisis de varianza (ANOVA), el cual dio como resultado un valor de $P= 0,008$ lo que indicaría que al menos un municipio en promedio presentó un número diferente en número de metacercarias respecto al resto. La prueba post hoc (prueba de Tukey) permitió hacer una comparación entre todos los municipios, que, con una significancia de $P= 0, 017$ se asume que hay diferencias estadísticamente significativas del número medio de metacercarias entre los municipios de Escoma y Tiquina. Mientras que el resto de comunidades presentan un número de metacercarias promedio estadísticamente iguales.

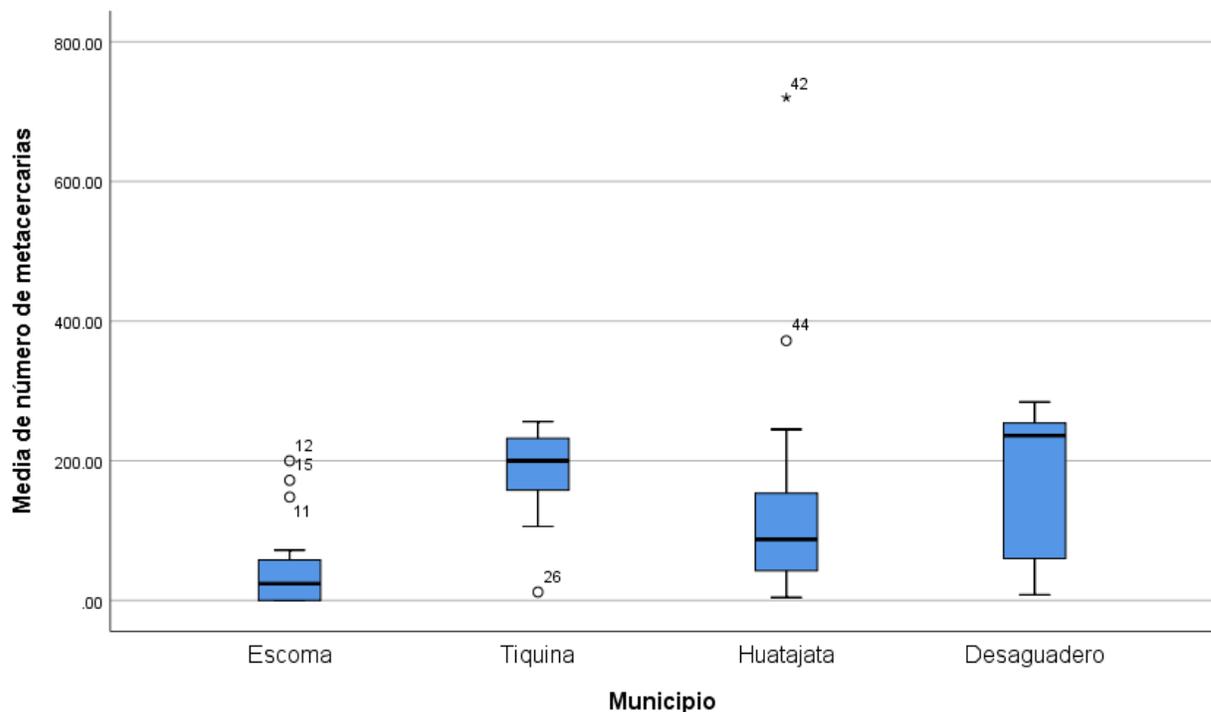


Figura 7. Análisis de varianza de la presencia de metacercarias con comunidades muestreadas
Fuente: El autor.

Gráficamente en la figura 7 se observa que el número promedio de metacercarias entre Escoma y Tiquina es diferente.

En promedio Escoma presenta el menor número de metacercarias encontradas, mientras que Tiquina presenta el mayor.

De esta manera Maturana *et al.* (2015), señalan que la abundancia de parásitos se asocia a condiciones ambientales del sitio de muestreo como la cantidad de oxígeno disuelto en el agua, conclusión relacionada a la calidad de la misma en las comunidades de Tiquina y Escoma. Vilca *et al.* (2019) indican que la contaminación superficial en Tiquina es mayor a otras comunidades debido a las descargas de aguas residuales, y a las concentraciones significativas de nitratos y fosfatos, lo que concuerda con los resultados en este trabajo, mientras que Escoma presentó un menor promedio de metacercarias, lo que no implica que este municipio no se encuentre contaminado ya que según García *et al.* (2019) sus aguas presentan un deterioro por actividades tales como la agricultura, ganadería, contaminación microbiológica y química que incluye la presencia de metales pesados como plomo y cadmio sin embargo no se mencionan las aguas residuales como en Tiquina.

6.1.6 Metacercarias según la procedencia del lago.

Una prueba exacta de Fisher muestra una significancia menor a 0,05 ($P=0,000$), demostrando que la procedencia del lago y la presencia o ausencia de metacercarias no son independientes. A continuación, las medias del número de metacercarias y la procedencia del lago fueron analizadas con una prueba t- student.

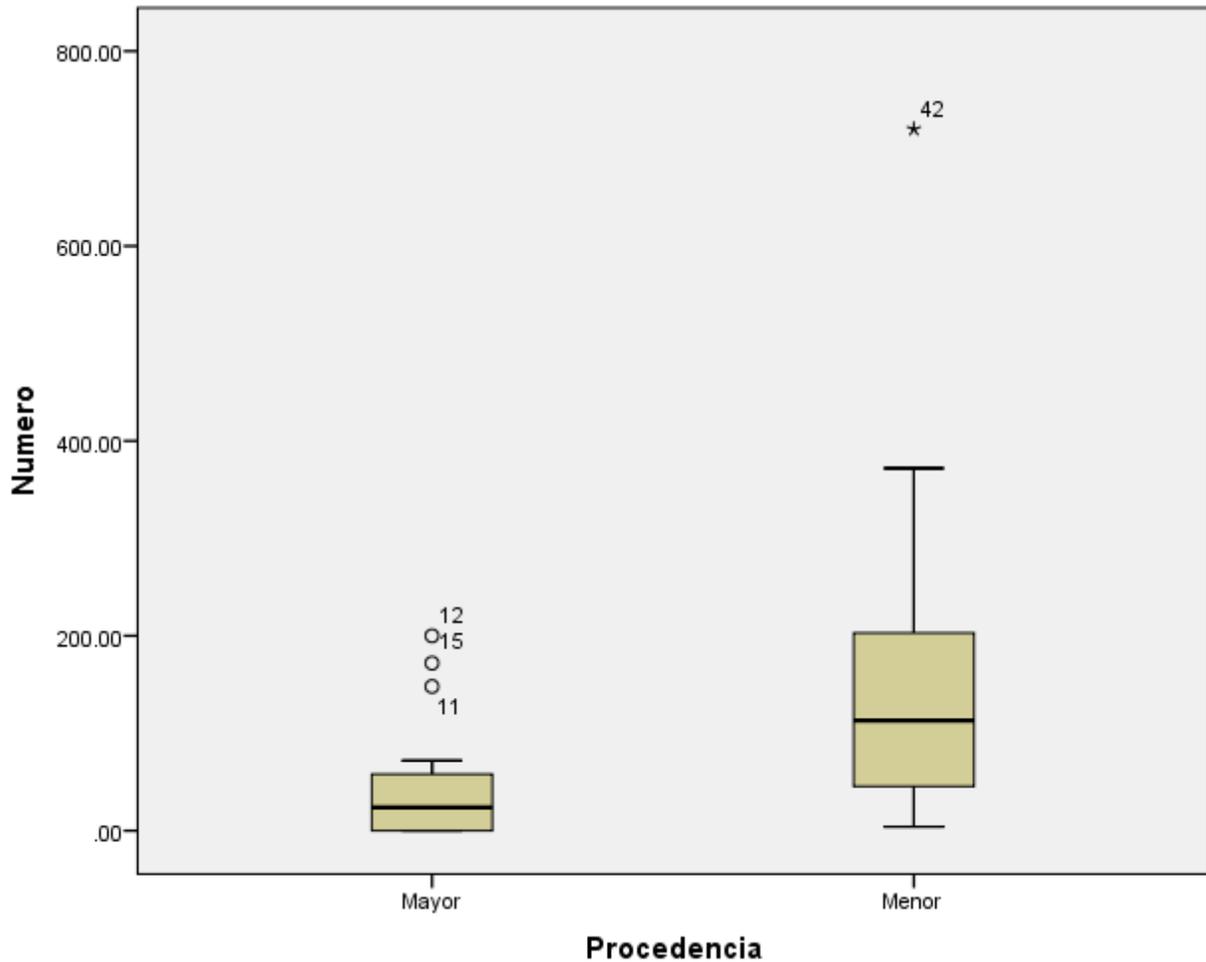


Figura 8. Prueba t- student número de metacercarias y procedencia del lago
Fuente: El autor.

El valor obtenido fue de $P=0,000$; con lo que las medias entre el número de metacercarias encontradas en el lago Mayor y lago Menor son diferentes. Este resultado se ve influenciado más hacia el lago Menor (Tiquina, Desaguadero, Huatajata) ya que este estudio tuvo tres comunidades en este lugar del lago y sólo una para el lago Mayor (Escoma).

En ambas partes del lago Titicaca (Mayor y Menor), se hallan *Orestias* infestados con metacercarias, lo que coincide con reportes de contaminación del lago, en donde las causas que más resaltan son: la descarga de aguas residuales sin tratamiento, erosión del suelo y minería como mencionan Calsina *et al.* (2019).

7. CONCLUSIONES

Siendo este trabajo el primer reporte sobre la descripción y caracterización de metacercarias que parasitan la cavidad craneana de *O. luteus* y *O. agassizii* en el Titicaca, se logró identificar dos géneros parasitarios *Austrodiplostomum* y *Tylodelphys*.

La variación de medidas morfométricas entre metacercarias, la escasa información sobre sus características anatómicas y la baja o nula especificidad de localización en sus hospedadores no hace posible una aproximación precisa de la especie.

No obstante, se necesitan más estudios para comprender mejor las diferencias en el parasitismo entre sexos en *Orestias*.

Respecto a la población de metacercarias, la abundancia y otros parámetros epidemiológicos dependerán de factores ambientales y de la cantidad de hospederos involucrados en el ciclo biológico de estos parásitos. Entre las dos especies de *Orestias*, *O. luteus* fue más parasitado frente a *O. agassizii* debido al régimen alimenticio de esta especie por el mayor consumo de caracoles.

En cuanto al tamaño y al sexo de los peces, no se observó evidencia suficiente estadísticamente entre estas variables y la infestación por metacercarias.

De las comunidades muestreadas todas tuvieron presencia de metacercarias, ya que las aguas se hallan contaminadas en diferente medida con diferentes sustancias provenientes de la actividad humana, como la minería y las aguas residuales sin tratamiento vertidas al lago.

Debido a efecto negativo del parasitismo en la salud de la comunidad de *Orestias* del Titicaca, así como ir en desmedro de la actividad económica de las localidades aledañas, se requieren de planes y estrategias gubernamentales para mitigar el deterioro de estas poblaciones endémicas.

8. RECOMENDACIONES

Si se desea distinguir entre especies mediante medidas morfométricas de las metacercarias, se debe usar un análisis de componentes principales (P.C.A.) y un análisis Cluster (C.A.) un P.C.A. de las medidas y así lograr una imagen multidimensional de las metacercarias.

Si se desea conocer más sobre la interacción entre el sexo y el tamaño de los peces con la cantidad de metacercarias, se debe considerar tomar mayor cantidad de muestras y en diferentes épocas del año.

Ahora bien, si lo que se busca es conocer qué relación hay entre las especies de metacercarias encontradas en este trabajo, se deben separar las muestras de cada pez en recipientes diferentes con alcohol al 96%.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abarca Del Rio, R., Crétaux, J., F., Berge, M., y Maisongrande, P. (2012). Does Lake Titicaca still control the Lake Poopó system water levels? An investigation using satellite altimetry and MODIS data (2000–2009). *Remote Sensing Letters*, 3(8), 707-714. doi: 10.1080/01431161.2012.667884
- Aguirre, L., Pérez, E., y Rocha, O. (2009). Generalidades y metodología de evaluación. En L. Aguirre, R. Aguayo, J. Balderrama, C. Claudia, y T. Tarifa. (Eds.), *Libro rojo de la fauna silvestre de vertebrados de Bolivia* (pp. 1-23). La Paz, Bolivia: Ministerio de Medio Ambiente y Agua.
- Alvarado, J. (2019). Monitoreo de parásitos helmintos en peces del Embalse Cerrón Grande. *Minerva*, 2(1), 79-94.
- Amaru, G., Yujra, E., y Gamarra, C. (2016). Hermafroditismo en *Orestias agassii* (carachi gris) del lago Titicaca en Puno, Perú: reporte de caso. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 18 (4), 467-474.
- Amato, S., Ribeiro, J., y Albrecht, M. (2001). Free diplostomid metacercariae (Digenea, Diplostomidae) in *Loricariichthys anus* (Val., 1840) (Siluriformes, Loricariidae) in the state of Rio do Sul, Brazil. *Parasitol. Day.*, 25(1-2).
- Autoridad Binacional del Lago Titicaca. (2005). *Características socio- económicas del lago Titicaca y su cuenca*. La Paz, Bolivia. Recuperado de http://alt-perubolivia.org/web_lago/
- Bakal, R., Hickson, B., Gilger, B., Levy, M., Flowers, J., y Khoo, L. (2005). Surgical removal of cataracts due to *Diplostomum* species in gulf sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(3), 504-508.

- Bernal, P., Oyarzún, S., y Méndez, M. (2012). Life-history traits and reproductive biology of *Orestias ascotanensis*, a killifish from the Altiplano of northern Chile. *Journal of Fish Biology*, 81(5), 1645- 1660.
- Bertrand, M., Lhorente, J., Oporto, N., y Pouilly, M. (2018). Ecological niche modeling of the Lake Titicaca *Orestias* species flock: habitat suitability as a predictor of geographic distribution. *Hydrobiologia*, 807(1), 51- 67. doi: 10.1007/s10750-017-3376-8.
- Bertrand, M., Martínez, M., y De Mérona, B. (2000). Mating system of *Orestias agassii* Valenciennes, 1846 (Teleostei: Cyprinodontidae) in the Andean Altiplano. *Behaviour*, 137(5), 647- 667.
- Blanco, D., y García, J. (2018). Breeding season diet and prey selection of the Titicaca Grebe *Rollandia microptera* (Aves: Podicipedidae). *Ararajuba*, 26 (1), 40-47.
- Blasco, I., Poulin, R., y Presswell, B. (2016). Morphological description and molecular analyses of *Tylodelphys* sp. (Trematoda: Diplostomidae) newly recorded from the freshwater fish *Gobiomorphus cotidianus* (common bully) in New Zealand. *Journal of Helminthology*, 91 (03), 332–345. doi: 10.1017/s0022149x16000298
- Bocángel, D., y Larrea, D. (1999). *Ligula intestinalis* en *Orestias ispi* del lago Titicaca. *Ecología en Bolivia*, 32, 23- 27.
- Bush, A., Lafferty, K., Lotz, J., y Shostak, A. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms. *The Journal of Parasitology*, 83 (4), 575. doi: 10.2307/3284227
- Calsina, L., Ochoa, V., De la Barra, P., Quiroz, R., y Balabarca, J. (2019). Water quality in the Bolivian part of Lake Titicaca: A review. *Science of The Total Environment*. 685, 913-926.
- Conroy, D., y Armas, G. (1987). Manual de métodos de diagnóstico en ictiopatología, con especial referencia a los salmónidos. Brasilia, Brasil: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Costa, W. (2012). The caudal skeleton of extant and fossil cyprinodontiform fishes (Teleostei: Atherinomorpha): comparative morphology and delimitation of phylogenetic characters. *Vertebrate Zoology*, 62 (2), 161- 180.

- Cruz, F., y Méndez, M. (2013). The genus *Orestias* (Teleostei: Cyprinodontidae): nomenclatural errors in the assignation of species names. *Zootaxa*, 3746 (4), 597–599. doi:10.11646/zootaxa.3746.4.7
- Cuvier, G. y Valenciennes, A. (1846). Des *Orestias*. En Cuvier G.L. y Valenciennes A. (Eds.), *Historie naturelle des poissons* (pp. 221- 244). Paris, Francia.
- Chappell, L. (1995). The biology of diplostomatid eyeflukes of fishes. *Journal of Helminthology*, 69 (02), 97. doi: 10.1017/s0022149x00013961
- Choque, S. (2020). Calidad ecológica en humedales con caracoles portadores de *Fasciola hepática* en el municipio de Huarina. *Apthapi*, 6 (3), 2057- 2069.
- Chuctaya, J., Donin, L., Valenzuela, S., e Hidalgo, M. (2017). Peixe da vez *Orestias alba* Valenciennes 1846. *Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia*, (124), 41.
- Dejoux, D. e Iltis, A. (Eds.). (1991). El lago Titicaca síntesis del conocimiento limnológico actual. La Paz, Bolivia: ORSTOM.
- De La Barra, E., Maldonado, M., Carvajal, F., y Coronel, J. (2009). Los peces del género *Orestias* (Cyprinodontiformes, Cyprinodontiae) en la puna meridional de Bolivia. *Revista boliviana de ecología y conservación ambiental*, 26, 15- 21.
- De la Barra, E. (2010). Distribución y caracterización morfológica de *Orestias agassii* (Teleostei: Cyprinodontidae) en el altiplano central y sur de Bolivia (tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia.
- Díaz, D., Cárdenas, M., y Galli, P. (2021). Endoparasites of fish from Lake Titicaca: a review. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 30 (2). doi: 10.1590/s1984-29612021008
- Drago, F. (2004). *Dinámica estacional y ecología de las poblaciones de parásitos del pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Cuvier & Valenciennes, 1835), en lagunas de la provincia de Buenos Aires* (tesis de doctorado). Universidad Nacional de la Plata.
- Esquer- Garrigos. (2013). Multi- scale evolutionary análisis of a high altitude freshwater species flock: diversification of the *agassii* complex (*Orestias*, Cyprinodontidae, *Teleostei*) across the Andean Altiplano (tesis doctoral). Museum National d' Historie Naturelle.

- Esquer- Garrigos, Y., Hugueny, B., Ibáñez, C., Zepita, C., Koerner, K., Lambourdière, J., Couloux, A., Gaubert, P. (2015). Detecting natural hybridization between two vulnerable Andean pupfishes (*Orestias agassizii* and *O. luteus*) representative of the Altiplano endemic fisheries. *Journal Conservation Genetics*, 16, 717-727.
- Faltýnková, A., Georgieva, S., Kostadinova, A., Blasco, I., Scholz, T., y Skírnisson, K. (2014). *Diplostomum* von Nordmann, 1832 (Digenea: Diplostomidae) in the sub-Arctic: descriptions of the larval stages of six species discovered recently in Iceland. *Systematic Parasitology*, 89 (3), 195– 213. doi: 10.1007/s11230-014-9517-0
- Flores, E. (2003). Lago Titicaca y la convención de Ramsar. *Society for Conservation Biology*.
- Flores, J., y Flores, R. (2003). Monogeneos, parásitos de peces en México: estudio recapitulativo. *Revista Mexicana de ciencias Pecuarias*, 41(2), 175- 192.
- Flores, V. (1997). Aportes a la descripción morfológica de *Tylodelphys barilochensis* y *Tylodelphys crubensis* (Trematoda, Diplostomidae) parásitos del encéfalo de *Galaxias maculatus* Teleostei, Galziidae. *Boletín chileno de parasitología*, 84-8.
- Flores, V., y Baccalá, N. (1998). Multivariate analyses in the taxonomy of two species of *Tylodelphys Diesing*, 1850 (Trematoda: Diplostomidae) from *Galaxias maculatus* (Teleostei: Galaxiidae). *Systematic Parasitology*, 40(3), 221–227. doi:10.1023/a:1006070008280
- García, L., Mamani, M., Gómez, V., y Huallpa, J. (2019). Assessment of the Water Quality of Lake Titicaca: A Review. *Journal of Environmental Protection*, 10(10), 1117-1144. <https://doi.org/10.4236/jep.2019.1010077>
- García, M., Sereno, A., Pinacho, C., Domínguez, O., y León, G. (2015). Molecular and morphological characterization of *Austrodiplostomum ostrowskiae* Dronen, 2009 (Digenea: Diplostomatidae), a parasite of cormorants in the Americas. *Journal of Helminthology*, 90 (2), 174- 185.
- Gómez, R. (2013). Carga parasitaria y su posible efecto en algunos parámetros morfométricos de *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae)

- (tesis de maestría). Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
- González, M., Ticona, D., y Latorre, M. (2013). Metazoan parasites of *Orestias agassizii* (Teleostei: Cyprinodontidae) from Lake Titicaca (Peru): environment and host influence. *Journal of Parasitology*, 99 (5), 846-854. <https://doi.org/10.1645/12-123.1>
- Google Earth. (2019). Ubicación geográfica de las zonas de muestreo. [Captura]. Google Earth.
- Green, A., y Figuerola, J. (2003). Aves acuáticas como bioindicadores en los humedales. *Ecología, manejo y conservación de los humedales* (pp. 47-60). Instituto de Estudios Almerienses.
- Grobbelaar, A., Van As, L., Butler, H., y Van As, J. (2014). Ecology of diplostomid (Trematoda: Digenea) infection in freshwater fish in southern Africa. *African Zoology*, 49(2), 222–232. doi: 10.1080/15627020.2014.1140763
- Guerrero, C., Poulin, E., Méndez, M., y Vila, I. (2015). Caracterización trófica de *Orestias* (Teleostei: Cyprinodontidae) en el Parque Nacional Lauca. *Gayana (Concepción)*, 79(1), 18– 25. doi:10.4067/s0717-65382015000100004
- Hair, J., Anderson, R., Tatham, R., y Black, W. (1999). *Análisis multivariante*. Madrid, España: Prentice Hall Iberia.
- Hakalahti, T., Karvonen, A., y Valtonen, E. (2006). Climate warming and disease risks in temperate regions – *Argulus coregoni* and *Diplostomum spathaceum* as case studies. *Journal of Helminthology*, 80 (2), 93–98. doi: 10.1079/joh2006351
- Hamann, M. (1999). Aspectos ecológicos de la relación parasitaria entre larvas de *Contraecaecum* sp. (Nematoda, Anisakidae) y *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1860 (Pisces, Characidae) en poblaciones naturales del nordeste argentino. *Boletín chileno de parasitología*, 54 (3-4), 74- 82. doi: 10.4067/S0365-94021999000300007
- Heckmann, R. (1992). Host records and tissue locations for *Diplostomum mordax* (metacercarie) inhabiting the cranial cavity of fishes from Lake Titicaca, Perú. *The Journal of Parasitology*, 78(3), 541- 543. doi: 10.2307/3283665

- Hernández, D. (2008). Helmintofauna de *Chirostoma jordani* Wooman, 1984 del lago de Tecocomulco, Hidalgo, México (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Hidalgo, México.
- Höglund, J., y Thulin, J. (1992). Identification of *Diplostomum* spp. in the retina of perch *Perca fluviatilis* and the lens of roach *Rutilus rutilus* from the Baltic Sea- an experimental study. *Systematic Parasitology*, 21 (1), 1- 19.
- Iannacone, J., Alvarino, L., y Aloyo, M. (2008). Aspectos ecológicos de los metazoos parásitos de *Callichirus seilacheri* (Bott 1995) (Decapoda, Ccallianassidae) en Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, 2(1), 9-17.
- Ibáñez, C., Hungueny, B., Esquer- Garrigos, Y., Zepita, C., y Gutiérrez, R. (2014). Biodiversidad íctica en el lago Titicaca. En M. Pouilly, X. Lázaro, D. Point, y M. Aguirre. (Eds.), *Línea base de los conocimientos sobre los recursos hidrológicos e hidrobiológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del lago Titicaca* (pp. 134-153). Quito, Ecuador: IRD-UICN.
- Kleiman, F. (2004). *Fasciola hepática (Trematoda: Digenea) en ganado bovino de los valles cordilleranos patagónicos: factores involucrados en su transmisión* (Tesis de doctorado). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Kohn, A., Fernandes, B., y Baptista, M. (1995). Metacercariae of *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* (Trematoda, Diplostomidae) in the eyes of *Plagioscion squamosissimus* (Teleostei, Sciaenidae) from the reservoir of the Hydroelectric Power Station of Itaipu, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90, 341-344.
- La Rue, G. (1926). Studies on the Trematode Family Strigeidae (Holostomidae) No. II. Taxonomy. *Transactions of the American Microscopical Society*, 45 (1), 11. doi: 10.2307/3221860
- Latorre, M., y Castro, B. (2002). The influence of the physical environment and biotic factors on the parasitological patterns of *Orestias agassizii* (Pisces: Cyprinodontidae) from the Chiguana Salt Flat (Bolivia). *Parasitology Research*, 88 (8), 731-738. doi: 10.1007/s00436-002-0622-2

- Lauzanne, L. (1981). Description de trois *Orestias* nouveaux du lac Titicaca, *O. ispi* n. sp., *O. forgeti* n. sp., et *O. tchernavini* n.sp., (Pisces, Cyprinodontidae). *Cybium*. 5(3), 71-91.
- Lauzanne, L. (1992). Especies nativas los *Orestias*. En D. Dejoux y A. Ittis. (Eds.), *El lago Titicaca síntesis del conocimiento limnológico actual* (pp.409- 423). La Paz, Bolivia: ORSTOM.
- Lazarro, X. y Gamarra, C. (2014). Funcionamiento limnológico y fotobiología del lago Titicaca. En M. Pouilly, X. Lazarro, D. Point, y M. Aguirre. (Eds.), *Línea base de los conocimientos sobre los recursos hidrológicos e hidrobiológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del lago Titicaca* (pp. 154-217). Quito, Ecuador: IRD-UICN.
- Lino, F. y Padilla, V. (2014). Uso actual de recursos acuáticos y servicios ecosistémicos en el sistema TDP. En M. Pouilly, X. Lazarro, D. Point, y M. Aguirre. (Eds.), *Línea base de los conocimientos sobre los recursos hidrológicos e hidrobiológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del lago Titicaca* (pp. 219-249). Quito, Ecuador: IRD-UICN.
- Loayza, E. (2016). Dieta y ecomorfología del aparato mandibular del género *Orestias* en grupos del Lago Titicaca (tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Locke, S., McLaughlin, J., Dayanandan, S., y Marcogliese, D. (2010). Diversity and specificity in *Diplostomum* spp. metacercariae in freshwater fishes revealed by cytochrome c oxidase I and internal transcribed spacer sequences. *International Journal for Parasitology*, 40 (3), 333– 343. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.08.012
- Loubens, G. (1989). Observations sur les poissons de la partie bolivienne du lac Titicaca. IV. *Orestias* spp., *Salmo gairdneri* et problèmes d'aménagement. *Hydrobiol. Trop.* 22(2), 157-177.
- Lunaschi, L., y Drago, F. (2004). Descripción de una especie nueva de *Tylodelphys* (Digenea: Diplostomidae) parásita de *Podiceps major* (Aves: Podicipedidae) de Argentina. *Anales del Instituto de Biología. Serie Zoología*, 75, 245 – 252.

- Maldonado, G. (2009). Manual de prácticas de parasitología con énfasis en helmintos de peces de agua dulce y otros animales silvestres de México. México: Instituto de Biología, UNAM.
- Mallea, J. (2010). *Incidencia de distomatosis hepática en bovinos sacrificados a nivel del matadero municipal de la ciudad de El alto* (Trabajo dirigido). Universidad Mayor de San Andrés.
- Mamani, C. (2015). Determinación de diplostomiasis en peces "*Orestias agassii* y *Orestias luteus*" en el lago Titicaca, La Paz- Bolivia (tesis de pregrado). Universidad Pública de El Alto, El Alto, Bolivia.
- Molina, J., Satgé, F., y Pillco, L. (2014). Los recursos hídricos del sistema TDPS. En M. Pouilly, X. Lazarro, D. Point, y M. Aguirre. (Eds.), *Línea base de los conocimientos sobre los recursos hidrológicos e hidrobiológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del lago Titicaca* (pp. 14-39). Quito, Ecuador: IRD-UICN.
- Molina, I., Ibañez, C., y Gibon, F. (2012). Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología en Bolivia*, 47 (2), 99- 118.
- Monks, E., Pulido, G., Bautista, C., Alemán, B., Falcón, J., y Gaytán, J. (2013). El uso de helmintos parásitos como bioindicadores en la evaluación de la calidad del agua: Lago Tecocomulco vs. Laguna de Metztlán, Hidalgo, México. *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*, 2, 25-34.
- Mueller, J. (1972). Cranial deformation in a fish resulting from intracranial parasitism by strigeid metacercarie. *Journal of Parasitology*, 58(1), 183- 184. doi: 10.2307/3278273
- Murrieta, G. (2018). Metacercariae of *Tylodelphys* sp. (Trematoda: Diplostomidae) parasite of *Brochis multiradiatus* and *Corydoras splendens* (Siluriformes: Callichthyidae) from the peruvian amazon. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 40, 1- 5. doi: 10.4025/actascibiols.v40i1.
- Maturana, C., Valdivia, I., y Poulin, R. (2015). Temporal variation in parasite communities in two sympatric species of *Orestias* (Teleostei: Cyprinodontidae)

- from northern Chile. *Parasitology Research*, 114(2), 473-481.
<https://doi.org/10.1007/s00436-014-4253-x>
- Muzzall, P., y Kilroy, A. (2007). *Tylodelphys scheuringi* (Diplostomidae) Infecting the Brain of the *Central Mudminnow, Umbra limi*, in Silver Creek, Michigan, U.S.A. *Comparative Parasitology*, 74 (1), 164– 166. doi: 10.1654/4278.1
- Navarrete, N., Aguilar, J., Gonzáles, J., y Fernández, G. (2007). Espectro trófico y trama trófica de la ictiofauna del Embalse San Miguel Arco, Soyaniquilpan, Estado de México. *Revista de Zoología*, (18), 1-12.
- Niewiadomska, K., y Laskowski, Z. (2002). Systematic relationships among six species of *Diplostomum* Nordmann, 1832 (Digenea) based on morphological and molecular data. *Acta Parasitologica*, 47 (1), 20- 28.
- Niewiadomska, K., y Niewiadomska-Bugaj, M. (1995). Optimal identification procedure for *Diplostomum paracaudum* (Iles, 1959) and *D. pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 metacercariae (Digenea) based on morphological characters. *Systematic Parasitology*, 30 (3), 165– 171. doi: 10.1007/bf00010467
- Ostrowski, M. (1973). El ciclo biológico de *Diplostomum (Austrodiplostomum) compactum* (Lutz 1928) Dubois 1970 (*Austrodiplostomum mordax* Szidat y Nani 1951) (Trematoda, Diplostomatidae) (tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Ostrowski, M. (2017). Redescription of *Austrodiplostomum compactum* (Trematoda: Diplostomidae) from its type host and locality in Venezuela, and of *Austrodiplostomum mordax* from Argentina. *Journal of Parasitology*, 103 (5), 497- 505. doi: 10.1645/16-128
- Paca, F., Antencio, S., Paca, R., Alfaro, R., Roncal, M., Paca, B., Chambilla, R. (Eds.). (2002). Compendio: manual y guías técnicas para especies ícticas nativas del lago Titicaca. Puno, Perú: Autoridad Binacional Autónoma de Sistema Hídrico T.D.P.S.
- Palacios, E., Fuentes, J., y González, N. (2018). Parasite aggregation in *Orestias* fish as a response to environmental gradients in the Andes of northern Chile. *Journal of Parasitology*, 104 (6), 643-651.

- Palacios, E., Moya, W., y Fuentes, J. (2019). Variations in parasite communities of *Orestias* spp. (Teleostei: Cyprinodontidae) in response to habitat characteristics in the Altiplano of Chile. *Parasitology Research*, 118 (5), 1535-1542. doi: 10.1007/s00436-019-06275-1
- Parenti, L. (1984). A taxonomic revision of the Andean killifish genus *Orestias* (Cyprinodontiformes, Cyprinodontidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 178(2), 107-2014.
- Pelegri, L., Gião, T., Vieira, D., Müller, M., da Silva, R., León, G., Kozłowski, R., y Abdallah, V. (2019). Molecular and morphological characterization of the metacercariae of two species of diplostomid trematodes (Platyhelminthes, Digenea) in freshwater fishes of the Batalha River, Brazil. *Parasitology Research*, 118, 2169 – 2182. doi:10.1007/s00436-019-06362-2
- Quintanilla, J. y Quino, I. (2014). Hidroquímica de la cueca endorreica del altiplano (sistema TDPS). En M. Pouilly, X. Lázaro, D. Point, y M. Aguirre. (Eds.), *Línea base de los conocimientos sobre los recursos hidrológicos e hidrobiológicos en el sistema TDPS con enfoque en la cuenca del lago Titicaca* (pp. 40-80). Quito, Ecuador: IRD-UICN.
- Ríos, N., Véliz, D., Méndez, M., y Mercado, L. (2016). Reproductive behavior and sexual dimorphism in five species of *Orestias* (Teleostei: Cyprinodontidae) in the Andes of northern Chile. *Journal of Ethology*, 34 (1), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10164-015-0431-x>
- Roche, M. A., Bourges, J., Cortes, J., y Mattos, R. (1991). Climatología e hidrología de la cuenca del lago Titicaca. En D. Dejoux y A. Iltis. (Eds.), *El Lago Titicaca síntesis del conocimiento limnológico actual* (pp. 83-104). La Paz, Bolivia: ORSTOM.
- Rojas, G., Ticona, P., Flores, V., y Chambi, F. (2012). Prevalence of the acanthocephalan *Polymorphus* sp. in *Orestias agassizii* (Teleostei: Cyprinodontidae) in Lake Titicaca. *Journal of parasitology*, 98 (5), 1041-1043.
- Rosser, T., Alberson, N., Khoo, L., Woodyard, E., Pote, L., y Griffin, M. (2016). Characterization of the life cycle of a fish eye fluke, *Austrodiplostomum ostrowskiae* (Digenea: Diplostomidae), with notes on two other diplostomids

- infecting *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae) from catfish aquaculture ponds in Mississippi, USA. *Journal of Parasitology*, 102 (2), 260–274. doi: 10.1645/15-850
- Sáez, J., y Blázquez, L. (1999). Estudio de las actividades y mejoras de las condiciones de producción acuícola en el lago Titicaca (Perú). Madrid, España: Estudios Biológicos.
- Sanmartín, M., Quintero, P., Iglesias, R., Santamaría, M., Leiro, J. y Ubeira, F. (1994). *Nematodos parásitos en peces de las costas gallegas*. Ediciones Díaz de Santos.
- Sarmiento, J., Bigorne, R., Carvajal-Vallejos, F., Maldonado, M., Leciak, E., Oberdorff, T. (Eds.). (2014). *Peces de Bolivia*. La Paz, Bolivia: Plural.
- Seppala, O., Karvonen, A., y Valtonen, T. (2005). Manipulation of fish host by eye flukes in relation to cataract formation and parasite infectivity. *Animal Behaviour*, 70, 889- 894.
- Siegmund, I., Franjola, I., y Torres, P. (1997). Diplostomatid metacercarie in the brain of Silversides from Lake Riñihue, Chile. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(2), 362-364.
- Sostoa, A., Doadrio, I., Ornelas, P., Caiola, N., Pedraza, C., Flores, O., Monroy, M., Maceda, A. (2010). *Estudio genético de las especies ícticas nativas del lago Titicaca. Caracterización y estructura poblacional*.
- Stein, J., y Streilein, J. (2002). Anterior chamber associated immune deviation (acaidd): regulation, biological relevance, and implications for therapy. *International reviews of immunology*, 21 (2-3), 123–152. doi:10.1080/08830180212066
- Tanzola, R., Semenas, L., y Viozzi, G. (2009). Manejo y estado actual del conocimiento de los parásitos de peces cultivados en Argentina. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Embrapa Amapá, Macapá*, 438-468.
- Tchernavin, V. (1944). A revision of the subfamily Orestiinae. *Department of Zoology. British Museum, Natural History* (pp.114). Londres, Inglaterra.
- Vásquez, G., Penagos, L., e Iregui, C. (2011). Técnica de necropsia y toma de muestras para histopatología y microbiología en peces. *Memorias de la*

- conferencia interna en medicina y aprovechamiento de fauna silvestre, exótica y no convencional*, 7 (2), 5- 10.
- Vila, I., Pardo, R., y Scott, S. (2007). Freshwater fishes of the Altiplano. *Aquatic Ecosystem Health and Management Society*, 10(2), 201-2011. doi: 10.1080/14634980701351395
- Villwock, W. (1994). Consecuencias de la introducción de peces exóticos sobre las especies nativas del lago Titicaca. *Ecología en Bolivia*, (23), 49- 56.
- Vilca, W., Fernández, L., Ticona, N., Palacios, C., y Aruquipa, J. (2019). Calidad del agua superficial y subterránea en la cuenca del Lago Titicaca, Perú. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 22(44), 9-18.
- Vital, J., Gomes, E., Morey, G., y Malta, J. (2018). Metacercariae of *Tylodelphys* sp. (Diplostomidae) parasitizing fish from Brazilian Amazon floodplain lakes. *Neotropical Helminthology*, 12 (1), 33- 40.
- Viozzi, G., y Flores, V. (2002). Population dynamics of *Tylodelphys destructor* and *Diplostomum mordax* (Digenea: Diplostomidae) co- occurring in the brain of patagonian silversides from lake Pellegrini, Patagonia, Argentina. *Journal of Wildlife Diseases*, 38 (4), 784- 788.
- Wurstbaugh, W., y Tapia, R. (1988). Mass mortality of fishes in Lake Titicaca (Peru-Bolivia) Associated with the protozoan parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 117(2), 213- 217.
- Zepita, C., Hugueny, B., Esquer- Garrigos, Y., Pinto, J., e Ibáñez, C. (2013). Variación en la ecología de las poblaciones de *Orestias agassii* y *Orestias luteus* (Pisces- Cyprinodontidae) en los lagos Titicaca, Uru Uru y Poopó. En J. Peña, X. Lazarro, J. Quintanilla, E. Maydana, H. Treviño. (Eds.), *II Simposio internacional del lago Titicaca- TDPS... una responsabilidad compartida* (pp. 16-17). La Paz, Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés.
- Zhokhov, A., y Pugacheva, M. (2018). Two new metacercariae of genus *Austrodiplostomum* (Trematoda: Diplostomidae) from *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) and *Varicorhinus beso* (Cyprinidae) in Tana Lake, Ethiopia. *Journal*

ANEXOS

Nº	Forma	LT	AT	VO-L	VO-A	F-L	F-A	OT-L	OT-A	W-L	VV-A	GL	GA	CO-L	CO-A
1	Linguiforme- cóncavo	1300	600	218.75	131.25	N.S.O.	N.S.O.	531.25	375	N.S.O.	156.25	N.S.O.	N.S.O.	N.S.O.	N.S.O.
2	Linguiforme- cóncavo	1480	600	80	67.5	27.5	25	287.5	175	55	75	12.5	15	N.S.O.	N.S.O.
3	Linguiforme- cóncavo	1270	420	75	55	37.5	12.5	150	62.5	75	62.5	30	37.5	N.S.O.	N.S.O.
4	Linguiforme- cóncavo	1380	600	87.5	45	87.5	27.5	225	150	55	87.5	30	25	N.S.O.	N.S.O.
5	Linguiforme- cóncavo	1590	600	75	50	37.5	25	225	125	37.5	77.5	65	25	N.S.O.	N.S.O.
6	Linguiforme- cóncavo	1550	580	85	75	62.5	30	210	175	62.5	87.5	55	55	N.S.O.	N.S.O.
7	Linguiforme- cóncavo	1390	500	62.5	55	37.5	30	200	130	50	75	42.5	25	N.S.O.	N.S.O.
8	Linguiforme- cóncavo	1240	550	75	50	62.5	25	212.5	112.5	45	90	40	27.5	N.S.O.	N.S.O.
9	Linguiforme- cóncavo	1420	600	62.5	62.5	62.5	30	250	150	40	67.5	50	37.5	N.S.O.	N.S.O.
10	Linguiforme- cóncavo	1400	530	60	62.5	62.5	37.5	225	150	52.5	72.5	50	25	N.S.O.	N.S.O.
11	Linguiforme- cóncavo	1270	510	60	50	50	30	215	125	62.5	75	55	30	N.S.O.	N.S.O.
12	Linguiforme- cóncavo	1500	520	72.5	55	50	37.5	225	150	80	75	37.5	30	N.S.O.	N.S.O.
13	Linguiforme- cóncavo	1280	510	80	62.5	50	30	212.5	125	60	105	25	25	N.S.O.	N.S.O.
14	Linguiforme- cóncavo	1520	530	72.5	62.5	25	25	262.5	150	62.5	65	50	25	N.S.O.	N.S.O.
15	Linguiforme- cóncavo	1410	640	87.5	57.5	50	17.5	237.5	155	62.5	87.5	55	37.5	N.S.O.	N.S.O.
16	Linguiforme- cóncavo	1340	500	65	55	50	30	212.5	150	30	50	30	25	N.S.O.	N.S.O.
17	Linguiforme- cóncavo	1430	540	75	52.5	37.5	50	212.5	137.5	50	55	55	37.5	N.S.O.	N.S.O.
18	Linguiforme- cóncavo	1440	570	85	45	75	25	257.5	125	80	87.5	50	25	N.S.O.	N.S.O.
19	Linguiforme- cóncavo	1330	500	67.5	50	40	27.5	237.5	137.5	75	65	62.5	27.5	N.S.O.	N.S.O.
20	Linguiforme- cóncavo	1520	510	62.5	62.5	75	40	200	150	45	92.5	37.5	22.5	N.S.O.	N.S.O.
21	Linguiforme- cóncavo	1360	510	60	62.5	55	50	175	145	50	75	50	30	N.S.O.	N.S.O.
22	Linguiforme- cóncavo	1550	510	67.5	87.5	75	50	247.5	150	57.5	75	35	30	N.S.O.	N.S.O.
23	Linguiforme- cóncavo	1240	500	62.5	50	62.5	30	225	175	52.5	67.5	55	22.5	112.5	137.5
24	Linguiforme- cóncavo	1260	500	55	52.5	62.5	25	175	100	60	52.5	37.5	25	N.S.O.	N.S.O.
25	Linguiforme- cóncavo	1470	500	75	67.5	100	30	225	125	55	67.5	62.5	25	105	150
26	Linguiforme- cóncavo	1520	530	75	57.5	87.5	30	237.5	137.5	N.S.O.	N.S.O.	62.5	25	100	200
27	Linguiforme- cóncavo	1360	550	60	55	55	37.5	237.5	137.5	70	75	32.5	37.5	100	150
28	Linguiforme- cóncavo	1420	550	82.5	50	65	30	275	150	55	80	55	37.5	112.5	162.5
29	Linguiforme- cóncavo	1360	510	62.5	62.5	62.5	37.5	250	145	72.5	87.5	62.5	42.5	110	162.5
30	Linguiforme- cóncavo	1500	580	75	55	50	25	255	132.5	62.5	82.5	55	25	162.5	225
31	Linguiforme- cóncavo	1460	590	65	55	62.5	27.5	217.5	137.5	67.5	95	37.5	27.5	137.5	250
32	Linguiforme- cóncavo	1370	510	62.5	50	37.5	30	212.5	125	67.5	77.5	57.5	32.5	112.5	187.5
33	Linguiforme- cóncavo	1490	600	52.5	50	50	37.5	225	162.5	75	100	50	52.5	150	212.5
34	Linguiforme- cóncavo	1410	600	75	62.5	62.5	27.5	250	140	52.5	80	50	45	112.5	172.5
35	Linguiforme- cóncavo	2330	770	42.5	75	15	20	300	175	262.5	280	25	30	N.S.O.	N.S.O.
36	Linguiforme- cóncavo	1700	520	37.5	55	22.5	30	300	225	65	70	20	25	N.S.O.	N.S.O.
37	Linguiforme- cóncavo	1870	N.S.O.	37.5	50	25	22.5	225	130	92.5	117.5	15	32.5	N.S.O.	N.S.O.
38	Linguiforme- cóncavo	1350	500	50	45	25	27.5	245	105	62.5	50	12.5	12.5	N.S.O.	N.S.O.
39	Linguiforme- cóncavo	1950	650	62.5	50	25	25	262.5	75	100	100	15	17.5	N.S.O.	N.S.O.
40	Linguiforme- cóncavo	2050	860	25	52.5	25	12.5	250	200	112.5	107.5	N.S.O.	N.S.O.	N.S.O.	N.S.O.
41	Linguiforme- cóncavo	2450	670	80	77.5	30	25	275	230	102.5	102.5	32.5	20	N.S.O.	N.S.O.
42	Linguiforme- cóncavo	2100	640	92.5	77.5	50	20	325	250	95	92.5	50	12.5	N.S.O.	N.S.O.
43	Linguiforme- cóncavo	1820	580	87.5	82.5	37.5	25	275	262.5	85	82.5	25	20	N.S.O.	N.S.O.
44	Linguiforme- cóncavo	1700	560	75	75	37.5	12.5	262.5	157.5	87.5	80	12.5	17.5	N.S.O.	N.S.O.
45	Linguiforme- cóncavo	1760	530	75	67.5	25	25	275	187.5	97.5	102.5	55	20	N.S.O.	N.S.O.
PROMEDIO		1531.3	562.0	71.2	60.7	49.7	28.8	244.3	154.9	70.7	86.6	41.8	28.4	119.5	182.7
DESVIACIÓN ESTÁNDAR		279.2	76.3	26.7	15.0	19.7	8.6	55.5	51.3	35.2	35.5	15.8	9.3	20.9	35.5
RANGO MIN		1240.0	420.0	25.0	45.0	15.0	12.5	150.0	62.5	30.0	50.0	12.5	12.5	100.0	137.5
RANGO MAX		2450.0	860.0	218.8	131.3	100.0	50.0	531.3	375.0	262.5	280.0	65.0	55.0	162.5	250.0

Figura 9. Medidas morfométricas de metacercarias de *Tyldelphys* spp. en μm
Fuente: El autor.

Nº= número; LT= largo total; AT= ancho total; VO-L= largo ventosa oral; VO- A= Ancho ventosa oral; F- L= largo faringe; F- A= ancho faringe; OT- L= largo órgano tribocítico; OT- A= ancho órgano tribocítico; VV- L= largo ventosa ventral; VV- A= ancho ventosa ventral; GL= largo gónada; GA= ancho gónada; CO- L= largo cola; CO- A= ancho cola; N.S.O.= no se observó.

Número	Forma	LT	AT	VO-L	VO-A	F-L	F-A	OT-L	OT-A	GL	GA	CO-L	CO-A
1	Alargada	1300	360	52.5	50	25	50	225	125	22.5	25	N.S.O.	N.S.O.
2	Alargada	1330	500	50	50	50	25	200	100	50	25	N.S.O.	N.S.O.
3	Alargada	1220	400	37.5	52.5	25	15	175	87.5	27.5	25	N.S.O.	N.S.O.
4	Alargada	1460	490	87.5	62.5	62.5	25	200	137.5	55	67.5	N.S.O.	N.S.O.
5	Alargada	1700	500	87.5	62.5	100	N.S.O.	237.5	137.5	45	42.5	100	N.S.O.
6	Alargada	1400	430	87.5	50	50	20	250	162.5	22.5	25	112.5	175
7	Alargada	1410	430	62.5	45	50	22.5	202.5	105	27.5	30	110	152.5
8	Alargada	1390	470	75	62.5	37.5	17.5	200	112.5	27.5	37.5	105	125
9	Alargada	1280	450	67.5	52.5	30	20	187.5	120	30	25	N.S.O.	N.S.O.
10	Alargada	1470	440	70	62.5	42.5	22.5	225	150	50	42.5	100	175
11	Alargada	1340	460	75	50	37.5	25	200	112.5	52.5	32.5	90	175
12	Alargada	1320	450	62.5	47.5	37.5	25	212.5	100	50	30	75	137.5
13	Alargada	1420	470	67.5	62.5	55	27.5	187.5	140	30	25	160	225
14	Alargada	1290	460	82.5	52.5	37.5	307.5	215	112.5	37.5	25	125	200
15	Alargada	1310	550	80	50	62.5	37.5	225	145	62.5	37.5	110	187.5
16	Alargada	1350	450	75	55	62.5	25	212.5	115	62.5	30	100	162.5
17	Alargada	1450	450	50	55	50	22.5	200	137.5	32.5	37.5	87.5	137.5
18	Alargada	1290	480	67.5	52.5	80	30	245	125	37.5	25	112.5	137.5
19	Alargada	1210	460	67.5	32.5	87.5	55	175	100	50	50	105	212.5
20	Alargada	1340	450	62.5	30	70	37.5	200	112.5	30	20	137.5	137.5
21	Alargada	1120	500	67.5	50	75	37.5	212.5	125	40	30	130	137.5
22	Alargada	1100	480	50	37.5	62.5	37.5	175	100	50	30	95	182.5
PROMEDIO		1340.91	460.45	67.50	51.14	54.09	42.14	207.39	121.02	40.57	32.61	109.12	166.25
DESVIACIÓN		127.13	38.48	13.58	9.05	20.05	61.66	21.26	19.31	12.65	10.79	20.29	30.24
RANGO MIN		1100	360	37.5	30	25	15	175	87.5	22.5	20	75	125
RANGO MAX		1700	550	87.5	62.5	100	307.5	250	162.5	62.5	67.5	160	225

Figura 10. Medidas morfométricas de metacercarias de *Austrodiplostomum spp.* en μm

Fuente: El autor.

Nº= número; LT= largo total; AT= ancho total; VO-L= largo ventosa oral; VO- A= Ancho ventosa oral; F- L= largo faringe; F- A= ancho faringe; OT- L= largo órgano tribocítico; OT- A= ancho órgano tribocítico; GL= largo gónada; GA= ancho gónada; CO- L= largo cola; CO- A= ancho cola; N.S.O.= no se observó.