

NOTA

PRIMEROS REGISTROS DE
ENDOPARÁSITOS EN CINCO
ESPECIES DE ANFIBIOS ANUROS
DEL LITORAL ARGENTINO

MARIANA C. CABAGNA ZENKLUSEN

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas -
FBCB-UNL, Paraje el Pozo s/n, (3000) Santa Fe,
Argentina.

mcabagna@fbc.unl.edu.ar

RAFAEL C. LAJMANOVICH

PAOLA M. PELTZER

ANDRÉS M. ATTADEMO

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas
y Técnicas (CONICET) - Facultad de Bioquímica
y Ciencias Biológicas - FBCB-UNL, Paraje el
Pozo s/n, (3000) Santa Fe, Argentina.

lajmanovich@hotmail.com

GABRIELA S. FIORENZA BIANCUCCI

AGUSTÍN BASSÓ

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas -
FBCB-UNL, Paraje el Pozo s/n,
(3000) Santa Fe, Argentina.

Los estudios de los parásitos en anfibios en la región batracológica Litoral Mesopotámica (Ceí, 1980) han sido considerados en sus aspectos de distribución, ecología y dinámica de poblaciones, estando la mayoría relacionados con helmintos (Lajmanovich y Martínez de Ferrato, 1995; Hamann y Kehr, 1997, 1998, 1999; Kehr *et al.*, 2000; Kehr y Hamann, 2003) y pocos con protozoarios (Cabagna *et al.*, 2006). En el presente trabajo se brindan los primeros registros de endoparásitos en cinco especies de anfibios anuros del litoral argentino, contribuyendo al conocimiento sobre la diversidad parasitaria relacionada a estos vertebrados.

taria relacionada a estos vertebrados.

Como parte de los muestreos exploratorios que se realizaron para determinar el impacto producido por los sistemas agrícolas sobre la fauna de anfibios en el litoral argentino (Lajmanovich y Peltzer, 2004; Peltzer *et al.*, 2005), se identificaron parásitos en *Odontophrynus americanus* Duméril y Bribron, 1841 (Cyclophoridae), *Leptodactylus chaquensis* Ceí, 1950, *L. ocellatus* Linnaeus, 1758 (Leptodactylidae), *Trachycephalus venulosus* Laurenti, 1768 (Hylidae) y *Rhinella fernandezae*, Gallardo, 1957 (Bufonidae). Las especies de anuros fueron muestreadas en las provincias de Entre Ríos (departamentos Paraná y Gualeguaychú) y Santa Fe (departamento San Javier), Argentina (Figura 1). Las áreas analizadas presentan una transición de las eco-regiones del Espinal y Delta-Islands del río Paraná (Burkhardt *et al.*, 1999), con precipitaciones distribuidas durante la primavera-verano y temperaturas anuales promedio de 18° C.

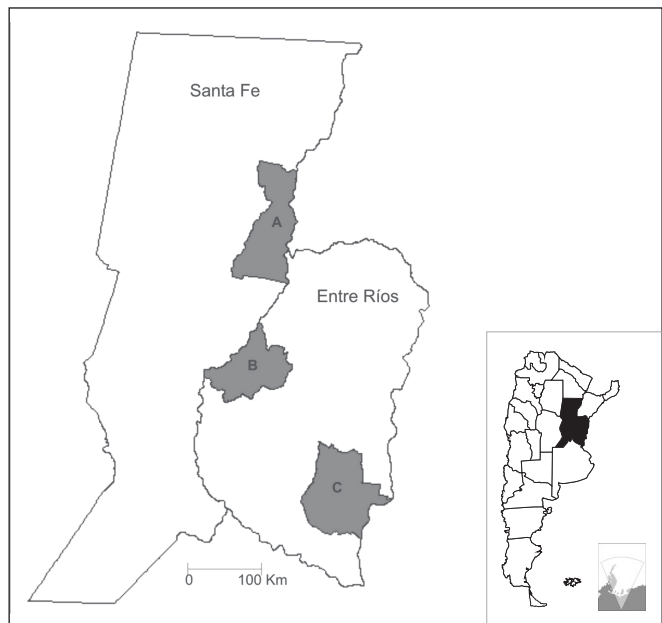


Figura 1. Áreas de estudio en las provincias de Santa Fe y Entre Ríos: Departamentos San Javier (A), Paraná (B) y Gualeguaychú (C)

Los renacuajos se recolectaron con copos de distinta abertura de malla, fueron eutanizados según protocolos estandarizados (Beaupre *et al.*, 2004), se midió la longitud total (LT), se precisó el estadio de desarrollo (Gosner, 1960) y se extrajo, bajo estéreo microscopio, branquias, contenidos intestinales y sangre por micropunción del corazón. Los

frotis fueron coloreados con Giemsa. Los individuos adultos fueron capturados manualmente, registrándose la longitud rostro-cloacal (LRC, cm), el peso (g) y se obtuvo sangre por punción cardiaca usando jeringas estériles heparinizadas (20 mm de longitud). Los extendidos sanguíneos fueron fijados y teñidos con May Grünwald-Giemsa. Los especímenes adultos fueron restituidos a los sitios en los que fueron capturados, luego de comprobar su estado de salud mediante inspección externa.

Todos los frotis fueron observados con el máximo objetivo seco (40x) y los preparados de sangre fueron examinados con objetivo de inmersión (100x) para el registro de parásitos intracelulares. Los parásitos fueron fotografiados usando un microscopio con cámara digital Olympus, medidos con el programa Image Pro Plus 3.0.01.00® (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) y para su caracterización se siguió la nomenclatura de NBT (2007). Se determinó la prevalencia (en porcentaje) como el número de huéspedes infectados, con uno o más parásitos, dividido por el total de huéspedes examinados (Kehr y Hamman, 2003). La intensidad de infección fue estimada calculando el número de parásitos por 100 campos de 40x (Žičkus, 2002). Los parásitos fueron depositados en la colección de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (ESS-FBCB-UNL, números de catálogo FBCBPA 2006-004, FBCBPA 2006-006, FBCBPA 2007-007, FBCBPA 2007-008, FBCBPA 2008-009, FBCBPA 2008-010, FBCBPA 2008-011).

En las larvas de *Odontophrynus americanus* (N= 127) (LT = 36,02 ± 8,76 mm, estadio de Gosner = 29-41), los cilios hallados en los contenidos intestinales fueron *Zelleriella* sp. (Slopalinida: Opalinidae) y *Nyctotherus* sp. (Ciliophora: Metopidae) mientras que *Trichodina* sp. (Ciliophora: Trichodinidae) fue encontrado en tejido branquial.

Zelleriella sp. (Figura 2A) (prevalencia del 58 %) es un protozoo aplanado

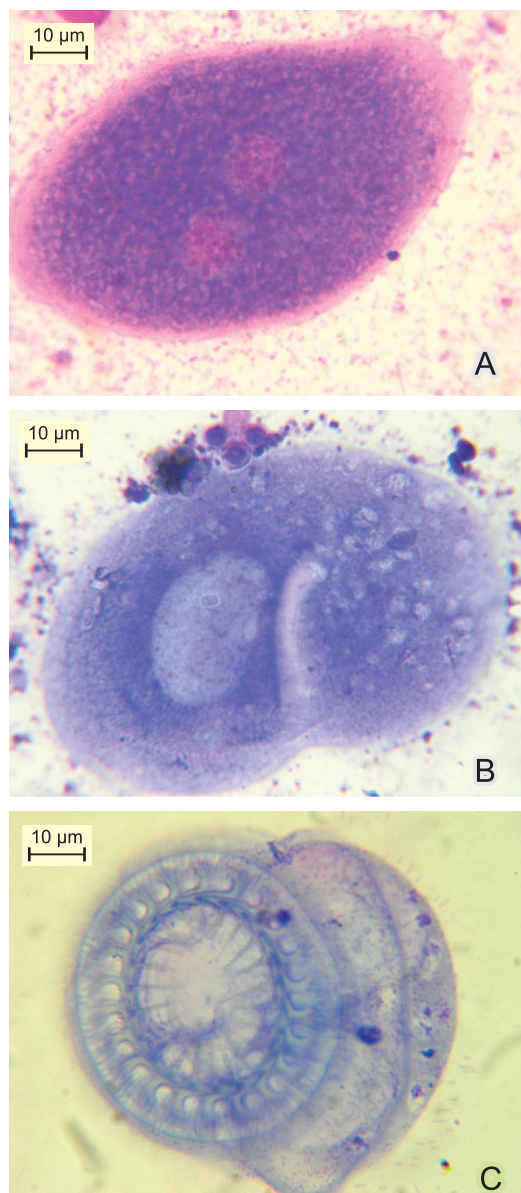


Figura 2. Endoparásitos comensales en larvas de *Odontophrynus americanus*. A) *Zelleriella* sp., B) *Nyctotherus* sp., C) *Trichodina* sp., Giemsa, 100x.

binucleado de medidas variables (36-90 μm en el eje mayor y 25-50 μm en el eje menor) y es el género de opalina más frecuentemente observado en anfibios sudamericanos (Delvinquier y Marinkelle, 1997). *Nyctotherus* sp. (Figura 2B) (89-105 μm en el eje mayor y 57-64 μm en el eje menor) (prevalencia del 10 %) es un protozoo completamente

ciliado con peristoma, citostoma y citofaringe bien definidos que presenta un núcleo arriñonado, micronúcleo pequeño, una vacuola posterior y un poro excretor. Ambos protozoos habitan el colon o cloaca de anfibios (Delvinquier y Marinkelle, 1996; 1997) y reptiles (Tomova y Golemansky, 2001; Muzzall, 2005) actuando como comensales (Olsen, 1986;

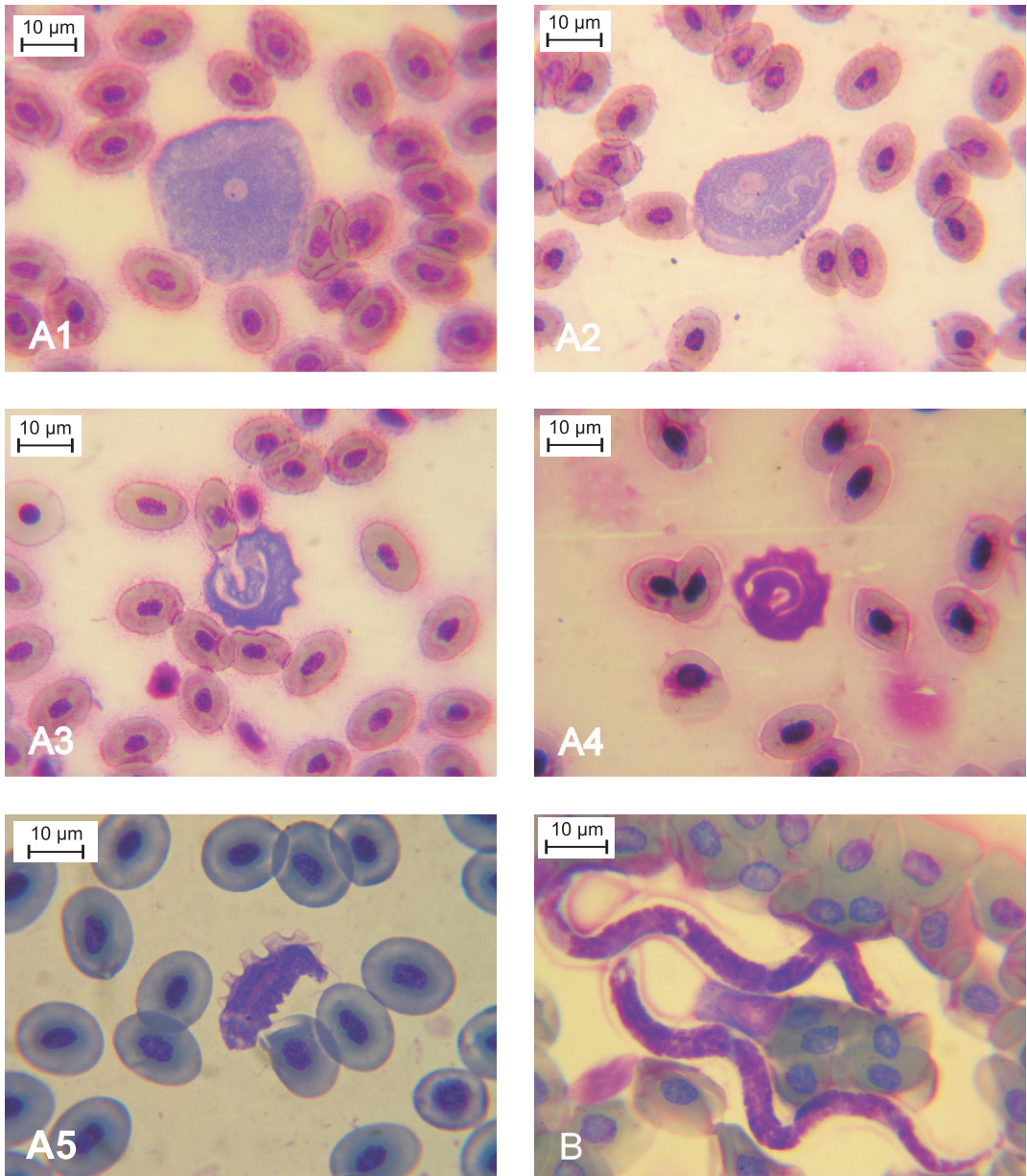


Figura 3. Hemoparásitos en adultos. A) *Trypanosoma* sp. morfoespecies 1, 2, 3, 4 y 5; B) Microfilarias. May Gründwald-Giemsa, 100x.

Bettaso, 2004; Warburton *et al.*, 2004). Finalmente, *Trichodina* sp. (Figura 2C) (prevalencia 3,37 %), se observó como un disco aplanado de 70 μm en promedio, con su característico anillo de denticulos formando un círculo central. Este parásito fue identificado como patógeno en peces (Avault, 1996; Kahn *et al.*, 1999) y si bien ha sido observado en piel y branquias de anfibios, no se ha asociado a enfermedad o mortandad en especímenes de este grupo (Dood y Gunzburger, 2004). En los tres parásitos previamente descritos, la intensidad de infección fue menor a 1 ejemplar por campo de 40x.

En los extendidos de sangre de especímenes adultos de *Leptodactylus chaquensis* (N= 18) (LRC: 69,60 \pm 8,34 cm; peso 26,70 \pm 11,17 g), *L. ocellatus* (N= 11) (LRC: 84,5 \pm 10,5 cm; peso 35,5 \pm 7,5 g), y *Trachycephalus venulosus* (N= 6) (LRC: 7,35 \pm 2,88 cm; peso 35,94 \pm 0,41 g) se encontraron tripomastigotas de *Trypanosoma* sp. (Protozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Las características morfológicas y prevalencia de las distintas morfoespecies observadas se señalan en la Tabla 1. Debido a que la mayoría de los tripanosomas de diferentes regiones geográficas son polimórficos (Bardsley y Harmsen, 1973; Dessler, 2001), se sugiere denominar a estos parásitos como *Trypanosoma* sp. (Morfoespecie 1, 2, 3, 4 y 5, Figura 3A) ya que solo se contó con extendidos sanguíneos para su identificación. En todos los casos, la intensidad de infección fue menor a 1 ejemplar por campo de 40x.

Distintos tripanosomas han sido hallados en anuros de diferentes partes del mundo. En Argentina fueron observados y caracterizados en *L. ocellatus* (Mazza *et al.*, 1927; Vucetich y Giacobbe, 1949), *Hypsiboas pulchellus* y *L. gracilis* (Jörg, 1933, 1936; Vucetich y Giacobbe, 1949), *Ceratophrys ornata*, *Leptodactylus bufonius*, *Phyllomedusa sauvagii*, *Rhinella arenarum* y *Lepidobatrachus asper* (Vucetich y Giacobbe, 1949). En cuanto a la patogenicidad de estos

parásitos en los anfibios, es variable, siendo desde no patogénicos a letales, según la especie de tripanosoma y el hospedador estudiados (Bardsley y Harmsen, 1973). En lo que respecta a los datos de Argentina, todos los autores, (Mazza *et al.*, 1927; Jörg, 1933, 1936; Vucetich y Giacobbe, 1949), coinciden que las distintas morfoespecies de tripanosomas observadas en nuestro país son no patogénicas.

En los extendidos de sangre de adultos de *Rhinella fernandezae* (N= 17) (LRC: 5,60 \pm 0,34 cm; peso 15,33 \pm 2,56 g) se observaron microfilarias (Nematoda: Filarioidea) (Figura 3B). Los hemoparásitos midieron 85,20-93,40 μm de largo y 3,60-5,40 μm de ancho. La prevalencia e intensidad de infección fueron bajas (5,88 %, 0-1 por campo de 40x). Las microfilarias de anuros son cosmopolitas (Walton, 1964a y b; Levine y Nye, 1977; Barta y Dessler, 1984; Chutmongkonkul *et al.*, 2006) y en Argentina se han observado en el género *Leptodactylus* sp. (Schurmans Stekhovek, 1951). A pesar de que varias especies de filarias pueden infectar a anfibios, reptiles y aves, solo las filarias que son parásitos naturales de mamíferos han sido señaladas como causantes de enfermedades zoonóticas (Orhel y Eberhard, 1998).

Teniendo en cuenta que gran parte del material estudiado proviene de sitios con intenso uso de agroquímicos (Lajmanovich *et al.*, 2005) donde la respuesta inmune de los anfibios a los parásitos estaría condicionada, en parte, por el estrés producido por plaguicidas (Kiesecker, 2002; Knopf *et al.*, 2005), son necesarios otros estudios para clarificar la ecología y los ciclos de vida de los parásitos en anfibios regionales, en asociación con la influencia de factores ambientales contaminantes.

<i>Trypanosoma</i> sp.					
	Morfoespecie 1	Morfoespecie 2	Morfoespecie 3	Morfoespecie 4	Morfoespecie 5
Huésped	<i>L. chaquensis</i>	<i>L. chaquensis</i>	<i>L. chaquensis</i>	<i>L. chaquensis</i>	<i>L. chaquensis</i>
Departamento	San Javier	San Javier	San Javier	San Javier	Paraná
Largo total (μ)	-	-	45 - 62	60 - 75	34,55 - 41,40
Cuerpo (μ)					
Largo	30 - 35	23,61 - 26,46	45 - 62	48 - 60	22,35 - 27,50
Ancho	25,50 - 28	10,40 - 14,57	2,4 - 4	2 - 3,6	4,75 - 9
Flagelo (μ)	No se observa	No se observa	No se observa	12 - 14	12,20 - 14
Núcleo (μ)					
Diam. Máx.	4,91	8,80	4,60	3,60	No se observa
Diam. Mín.	4,36	2,28	3,35	1,89	No se observa
Ancho de la membrana ondulante (μ)	No se observa	1,50 - 2	1,50 - 2	1,50 - 2	1,56 - 3,50
Prevalencia (%)	11,11	16,67	22,22	5,55	16,66

Tabla 1. Características morfométricas de las distintas formas (morfoespecies) de *Trypanosoma* sp. observados.

LITERATURA CITADA

- ASIH, H. L. & SSAR. 2001. Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field research. URL: <http://www.utexas.edu/depts/asih/herpcoll.html>. Acceso: 13 de mayo de 2005.
- AVAULT, J. W. Jr. 1996. Understanding protozoans and disease caused by protozoans. *Aquaculture Magazine* 22: 65.
- BARDSLEY, J. E. & R. HARMSSEN. 1973. The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology* 11: 1-73.
- BARTA, J. R. & S. S. DESSER. 1984. Blood parasites of Amphibians from Algonquin Park, Ontario. *Journal of Wildlife Diseases* 20 (3): 180-189.
- BEAUPRE, S. B.; E. R. JACOBSON; H. B. LILLYWHITE & K. ZAMUDIO. 2004. Guidelines for use of live amphibians and reptiles in field and laboratory research. Second revised edition. Herpetological Animal Care and Use Committee (HACC), American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Lawrence, Kansas, USA.
- BETTASO, J. 2004. Humboldt Bay National Wildlife Refuge 2004 Northern red-legged frog malformation report. Arcata Fisheries Technical Report AFWO-TR08-04, 23 pp.
- BURKART, R.; N. BÁRBARO; R. O. SÁNCHEZ & D. A. GÓMEZ. 1999. Eco-Regiones de la Argentina. APN-Prodia. Bs. As., Argentina. 43 pp.
- CABAGNA, M.; P. PELTZER; A. M. ATTADAMO; & R. C. LAJMANOVICH. 2006. Hallazgo de *Giardia agilis* (Protozoa: Diplomonadida), parásito de larvas de *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae) en agroecosistemas de la provincia de Entre Ríos, Argentina. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española* 17 (2): 106-108.
- CEI, J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano Monografia* 1-2: 1-609.
- CHUTMONGKONKUL, M.; W. KHONSUE & P. PARIYANONTH. 2006. Blood parasites of six species of wild amphibians from Khun Mae Kuang forest area, Thailly. *Proceedings of AZWMP 2006*, 48.
- DELVINQUIER, B. L. J. & C. J. MARINKELLE. 1996. Opalinidae (Slopalinida) in South American Amphibia. Genus *Opalina* Purkinje & Valentin, 1835 in Colombia. *Systematic Parasitology* 34 (1): 27-35.
- DELVINQUIER, B. L. J. & C. J. MARINKELLE. 1997. Opalinidae (Slopalinida) in South American Amphibia. Genus *Zelleriella* Metcalf, 1920 in Colombia. *Systematic Parasitology* 38 (2), 93-110.
- DESSER, S. S. 2001. The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. *Journal of Parasitology* 87 (1), 152-160.
- DODD, K. & M. GUNZBURGER. 2004. Southeast Amphibian Research and Monitoring Initiative National Wildlife Refuges Summary Report for 2004. 103 pp.
- GOSNER, K. L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- HAMANN, M. I. & A. I. KEHR. 1997. *Lysapsus limellus*: Parasitism. *Herpetological Review* 28: 85.
- HAMANN, M. I. & A. I. KEHR. 1998. Variación espacio temporal en infrapoblaciones de Helminthos y su relación con las fluctuaciones poblacionales de *Hyla nana* (Anura, Hylidae). *Cuadernos de Herpetología* 12: 23-33.
- HAMANN, M. I. & A. I. KEHR. 1999. Population dynamics and ecological relationships between *Glypthelminis vitellinophilum* Dobbin, 1958 (Trematoda, Macroderoididae) and the host *Lysapsus limellus* Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in a semipermanent pond of Corrientes, Argentina. *Physis* 57: 17-24.

- JÖRG, M. E. 1933. La presencia de un *Tripanosoma* sp. probablemente *rotatorium* en *Hyla raddiana*. *Physis* 11, 345-346.
- JÖRG, M. E. 1936. Hallazgo de dos *Trypanosomas* spec. Hemoparásitos de batracios leptodactílicos. *Sociedad Argentina de Patología Región Norte* 8, 1036-1041.
- KAHN, S. A., D. W. WILSON; R. P. PÉRRERA; H. HAYDER & S. E. GERRITY. 1999. *Import Risk Analysis on Live Ornamental Finfish*. Biotext Pty Ltd, Canberra. 187 pp.
- KEHR, A. I.; B. F. J. MANLY & M. I. HAMANN. 2000. Coexistence of helminth species in *Lysapsus limeillus* (Anura: Pseudidae) from an Argentinean subtropical area: influence of biotic and abiotic factors. *Oecologia* 125: 549-558.
- KEHR, A. I. & M. I. HAMANN. 2003. Ecological aspects of parasitism in the tadpole of *Pseudis paradoxa* from Argentina. *Herpetological Review* 34: 336-341.
- KIESECKER, J. M. 2002. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: A link to amphibian limb deformities in nature? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 9900-9904.
- KNOPF, K.; A. KRIEGER & F. HÖLKER. 2005. Parasite community and parasite-induced mortality of overwintering young-of-the-year roach (*Rutilus rutilus*). *Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (IGB) - Annual Report 2004*, 154-163.
- LAJMANOVICH, R. C. & A. MARTÍNEZ DE FERRATO. 1995. *Acantocephalus lutzi* (Acantocephala: Echinorhynchidae) parásito de *Bufo arenarum* en ambientes del río Paraná. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral* 26: 19-23.
- LAJMANOVICH, R. C. & P. M. PELTZER. 2004. Aportes al conocimiento de los anfibios Anuros con distribución en las provincias de Santa Fe y Entre Ríos (Biología, Diversidad, Ecotoxicología y Conservación: 291-302. *En: Aceñolaza F. (ed.), Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino*. INSUGEO, Miscelánea 12. Tucumán.
- LAJMANOVICH R.; P. DE LA SIERRA; F. MARINO; P. PELTZER; A. LENARDÓN & E. LORENZATTI. 2005. Determinación de residuos de organoclorados en vertebrados silvestres del litoral fluvial de Argentina: 255-262. *En: Aceñolaza F. (ed.), Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino II*. INSUGEO, Miscelánea, 14. Tucumán.
- LEVINE, N. D. & R. R. NYE. 1977. A Survey of blood and other tissue parasites of leopard frogs *Rana pipiens* in the United States. *Journal of Wildlife Diseases* 13: 17-23.
- MAZZA, S.; C. GONZÁLEZ; I. FRANKE & S. ALVARADO. 1927. *Tripanosomas* observados en ranas (*Leptodactylus ocellatus* L.) del país. *Revista de la Universidad de Buenos Aires* 5, 902-905.
- MUZZALL, P. M. 2005. Parasites of amphibians and reptiles from Michigan: A review of the literature 1916-2003. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Research Report 2077, *Annals Arbor*. 30 pp.
- NWT. NEWT Taxonomy Browser. URL: <http://www.ebi.ac.uk/newt/display?from=&search=>. Acceso: 23 de abril de 2007.
- OLSEN, O. W. 1986. *Animal Parasites: Their life cycles and ecology*. Science. Courier Dover Publications. 564 pp.
- ORIHIEL, T. C. & M. L. EBERHARD. 1998. Zoonotic filariasis. *Clinical Microbiology Reviews* 11 (2): 366-381.
- PELTZER, P. M.; R. C. LAJMANOVICH; A. M. ATTADEMO & W. CEJAS. 2005. Diversidad y conservación de anu-

- ros en ecosistemas agrícolas de Argentina: implicancias en el control biológico de plagas. 263- 280. *En*: Aceñolaza F. (ed.), Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino II., INSUGEO, Miscelánea 14. Tucumán.
- SCHURMANS STEKHOVEK, J. H. 1951. Nematodos parásitos de anfibios, pájaros y mamíferos de la República Argentina. *Acta Zoológica Lilloana* 32: 315-400.
- TOMOVA, C. & V. GOLEMANSKY. 2001. Protozoan Parasites of Amphibians (Amphibia: Anura) and Reptiles (Reptilia: Squamata) from Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica*, 53 (1): 41-46.
- VUCETICH, M. & O. GIACOBBE. 1949. Polimorfismo del *Trypanosoma rotatorium*. Nuevos batracios argentinos parasitados. *Universidad Nacional de Tucumán, Anales del Instituto Médico Regional* 2, 225-244.
- WALTON, A. C. 1964a. The parasites of the Amphibia. *Wildlife Diseases* 39: 1-28.
- WALTON, A. C. 1964b. The parasites of the Amphibia. *Wildlife Diseases* 40: 1-39.
- WARBURTON, M.; R. FISHER & S. HATHAWAY. 2004. 2000-2002 Anza-Borrego Desert State Park® Amphibian Survey. URL: http://www.werc.usgs.gov/syiego/pdfs/2002%20ABDSPAS%20final%2004_08_04.pdf. Acceso: 24 de abril de 2007.
- IČKUS T. The first data on the fauna and distribution of blood parasites of amphibians in Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica* 2: 197-202.