

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

IDENTIFICACIÓN DE LA ESPECIE DEL GÉNERO *Henneguya* (MYXOZOA: MYXOBOLIDAE) EN BRANQUIAS DE SÁBALO *Prochilodus lineatus* (PISCES: PROCHILODONTIDAE) DEL RÍO DE LA PLATA Y RÍO URUGUAY, CON ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LA PARASITOSIS

“por”

CARNALES ZAPATA, Daniela

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal.

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2013**

PÁGINAS DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: .

Dr. José Manuel Venzal

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Daniel Carnevia

Tercer miembro:

Dra. Estela Delgado

Fecha:

Autor:

Daniela Carnales Zapata

AGRADECIMIENTOS

A la CIDEC (Comisión de Investigación y Desarrollo Científico) por la financiación del presente trabajo.

A mi tutor, Dr. Daniel Carnevia, porque desde un principio confió en mí y me abrió las puertas para ser parte del equipo de laboratorio del Área Acuicultura, capacitándome y brindándome siempre oportunidades de crecimiento.

A Carolina Chiavino y Elena Chiavino, por colaborar con la captura de los ejemplares del departamento de Colonia.

Al Dr. Venzal, por el envío de muestras de *P. lineatus* desde la Comisión Técnico Mixta de Salto Grande.

Al Dr. Alejandro Perreta, por ayudarme con el proceso de histología de las muestras y por todo el apoyo durante la tesis.

A la Dra. Maite Letamendía, a la Dra. Alicia Panuncio, al Dr. Álvaro Rosso y a Mario Garabello.

A Andrea Cristiani por ayudarme con la búsqueda de material bibliográfico.

A todo el personal y docentes del Instituto de Investigaciones Pesqueras.

A mi familia, en especial a mis padres, por ser un apoyo incondicional en mi vida y motivarme siempre a culminar la carrera.

A Gonzalo, mi novio y futuro colega, gracias por todo el apoyo incondicional durante la carrera y por seguir formando parte de mi vida.

A mis amigos, que siempre los sentí cerca aún estando muy lejos. A aquellos amigos y compañeros de carrera gracias por el apoyo y por compartir tantos lindos momentos en facultad.

A la Facultad de Veterinaria, por permitirme desarrollarme como profesional.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE FIGURAS.....	6
LISTA DE CUADROS.....	8
TABLA DE CONTENIDO.....	
1- RESUMEN.....	9
2- SUMMARY.....	10
3- INTRODUCCIÓN.....	11
3.1 <i>P. lineatus</i> (<i>Prochilodus lineatus</i>)	
3.1.1 Taxonomía.....	11
3.1.2 Biología.....	12
3.1.3 Importancia en la pesquería.....	14
3.1.4 Posibilidad de <i>P. lineatus</i> como especie de cultivo.....	14
3.1.5 Episodios de mortandades naturales de peces.....	14
3.2 Mixosporidios	
3.2.1 Definición y características taxonómicas.....	15
3.2.2 Ciclo de vida.....	17
3.2.3 Patología causada por mixosporidios.....	19
3.2.4. Posible utilización de los mixosporidios como indicadores de poblaciones naturales de peces.....	21
3.3 Género <i>Henneguya</i>	
3.3.1 Características taxonómicas.....	21
3.3.2 Antecedentes de diagnóstico del género <i>Henneguya</i> en Uruguay.....	22
3.3.3 Patología causada por <i>Henneguya</i>	22
3.4 Importancia de conocer los parásitos en los peces de cultivo.....	24
3.5 Prevención, Control y Tratamiento de las mixosporidiosis.....	24
4- OBJETIVOS	
4.1 Objetivos generales.....	25
4.2 Objetivos específicos.....	25
5- HIPÓTESIS.....	26
6- MATERIALES Y MÉTODOS	
6.1 Muestras.....	27
6.2 Determinación taxonómica de <i>Henneguya</i>	28

6.3 Estudio de la prevalencia.....	29
6.4 Histopatología.....	30
6.5 Análisis estadísticos.....	32
7- RESULTADOS	
7.1 Resultados de la necropsia.....	33
7.2 Morfometría de las mixosporas del género <i>Henneguya</i>	35
7.3 Estudio de la prevalencia.....	36
7.4 Histopatología de branquias.....	37
8- DISCUSIÓN	
8.1 Identificación de la especie de <i>Henneguya</i>	38
8.2 Prevalencia de la parasitosis.....	42
8.3 Descripción de lesiones histopatológicas.....	43
8.4 Posible utilización de <i>Henneguya</i> sp. encontrada en el presente trabajo como indicador biológico de poblaciones de <i>P. lineatus</i>	44
9- CONCLUSIONES.....	51
10- BIBLIOGRAFÍA.....	52
11-ANEXOS.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Juvenil de <i>P. lineatus</i> procedente del Río de La Plata.....	11
Figura 2	Distribución geográfica de <i>P. lineatus</i>	12
Figura 3	Tipos de mixosporas en diferentes órganos de peces marinos y dulce-acuícolas.....	16
Figura 4	Ciclo de vida de mixosporidios.....	18
Figura 5	Estructura y morfología de <i>H. caudalongula</i>	21
Figura 6	Vista aérea de las zonas del muestreo de <i>P. lineatus</i>	27
Figura 7	Lugares de muestreo de <i>P. lineatus</i> en Uruguay.....	27
Figura 8	Esquema de las variables morfométricas de esporas de <i>Henneguya</i> sp. en branquias de <i>P. lineatus</i> (400x).....	29
Figura 9	Necropsia branquial de <i>P. lineatus</i> con presencia de un pequeño quiste ovoideo blanquecino de 0,5 mm aprox. de diámetro presente en las laminillas de un arco branquial.....	33
Figura 10	Esporas en fresco de <i>Henneguya</i> sp. en branquias de <i>P. lineatus</i> (400x).....	34
Figura 11	Esporas teñidas con Giemsa de <i>Henneguya</i> sp. en branquias de <i>P. lineatus</i> . (1000x).....	34
Figura 12	Quiste ovoideo blanquecino de <i>Henneguya</i> sp presente en aleta dorsal de <i>P. lineatus</i>	35
Figura 13	Prevalencia de la parasitosis causada por <i>Henneguya</i> en branquias de <i>P. lineatus</i> en función de las estaciones del año.....	36
Figura 14	Prevalencia de la parasitosis causada por <i>Henneguya</i> en branquias de <i>P. lineatus</i> en función de la talla corporal.....	36

Figura 15	Alteraciones histopatológicas producidas por <i>Henneguya</i> en branquias de <i>P. lineatus</i>	37
Figura 16	Representación esquemática de esporas maduras de especies de <i>Henneguya</i> en branquias de <i>P. lineatus</i> , en comparación con la <i>Henneguya</i> encontrada en el presente trabajo. Bar. 10 μ m.....	39
Figura 17	Representación esquemática de esporas maduras de especies de <i>Henneguya</i> en branquias de peces dentro del orden Characiformes y Siluriformes con variables morfométricas similares a la <i>Henneguya</i> encontrada en el presente trabajo.....	41
Figura 18	Representación esquemática del desarrollo de plasmodios en branquias según Molnar (2002) a nivel interlaminillar dentro del epitelio.....	44

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1	Mixosporidios importantes en diferentes hospederos y en diferentes sitios de infección.....	20
Cuadro 2	Protocolo utilizado para el procesamiento de las muestras biológicas de branquias de <i>P. lineatus</i>	31
Cuadro 3	Variables morfométricas registradas (μm) de <i>Henneguya</i> sp. en branquias de <i>P. lineatus</i> del Río de la Plata y Río Uruguay.....	35
Cuadro 4	Medias y desvíos (μm) de las variables morfométricas de especies de <i>Henneguya</i> presentes en branquias de <i>P. lineatus</i> de la región Neotropical en comparación con las variables morfométricas de <i>Henneguya</i> registradas en el presente trabajo.....	38
Cuadro 5	Prevalencia de la parasitosis ocasionada por <i>Henneguya</i> sp. en branquias de <i>P. lineatus</i> del Río de La Plata y Río Uruguay, en comparación con prevalencias similares de otras especies de <i>Henneguya</i> en branquias de <i>P. lineatus</i> y otros peces Characiformes de la Región Neotropical.....	42
Cuadro 6	Variables morfométricas (expresadas en μm) de especies de <i>Henneguya</i> sp. descritas en branquias y otros órganos de peces dentro del orden Characiformes y Siluriformes, de la Región Neotropical.....	46

1- RESUMEN

Existen numerosos mixosporidios parásitos de peces, dentro de los cuales el género *Henneguya* ha sido descrito parasitando al *P. lineatus* (*Prochilodus lineatus*) en el Río Paraná por varios autores en Brasil y también en el Río de la Plata en Uruguay. En el presente trabajo el objetivo fue identificar la o las especies de *Henneguya* presentes en branquias de *P. lineatus* del Río Uruguay y Río de la Plata, estableciendo además la prevalencia y lesiones histopatológicas de la parasitosis. Se colectaron 81 *P. lineatus* de los cuales 40 resultaron parasitados lo que supone una prevalencia de 49,4%. Se observó la presencia de los parásitos en las branquias en forma de pequeños quistes ovoideos de 0,5-1 mm de diámetro. Dentro de estos quistes se reconoció la presencia de mixosporas de *Henneguya* caracterizadas por poseer una forma oval, dos cápsulas polares y un proceso caudal bifurcado. Las variables morfométricas registradas fueron: $34,80 \pm 4,23$ μm largo total; $14,04 \pm 1,96$ μm largo del cuerpo; $20,94 \pm 4,12$ μm largo de la cola; $5,53 \pm 0,81$ μm ancho del cuerpo; $7,25 \pm 1,03$ μm largo de la cápsula polar y $2,79 \pm 1,27$ μm ancho de la cápsula polar. A la histopatología se identificó que los plasmodios se localizan en la zona interlaminillar de las láminas secundarias produciendo escasa alteración y respuesta del huésped. Las especies de *Henneguya* descritas en *P. lineatus* del Río Paraná (*H. caudalongula*, *H. paranaensis* y *Henneguya* sp.) presentan características morfométricas diferentes de la encontrada por nosotros, por lo que postulamos que se trata de una nueva especie de *Henneguya* que parasita al *P. lineatus* del Río Uruguay y Río de La Plata. Estos parásitos podrían utilizarse como indicadores biológicos de poblaciones de *P. lineatus* en la cuenca del Plata.

2- SUMMARY

A large number of myxosporean fish parasite, in which the genus *Henneguya* has been reported parasitizing *P. lineatus* in Paraná River by many authors in Brazil and Río de la Plata (River Plate) in Uruguay too. The aim of this research was to identify the species of *Henneguya* in gills of *P. lineatus* of Uruguay River and Río de la Plata (River Plate). In addition, the prevalence and histological injuries of the parasitosis were established. 81 *P. lineatus* were collected, in which 40 were parasited, representing a prevalence of 49.4%. I were observed the presence of parasites in the gills like small ovoid cysts of 0,5-1 mm of diameter. Inside these cysts were recognized mixosporas of *Henneguya* characterized by an oval shape, two polar capsules and a bifurcate caudal process. Their measurements were recorded: $34,80 \pm 4,23 \mu\text{m}$ total length; $14,04 \pm 1,96 \mu\text{m}$ body length; $20,94 \pm 4,12 \mu\text{m}$ tail length; $5,53 \pm 0,81 \mu\text{m}$ body width; $7,25 \pm 1,03 \mu\text{m}$ polar capsule length and $2,79 \pm 1,27 \mu\text{m}$ polar capsule width. Histopathological findings, showed plasmodios in the interlamellar area of secondary gill lamellar, producing a scarce alteration and response of the host. The species of *Henneguya* reported in shads of Paraná River (*H. caudalongula*, *H. paranaensis* and *Henneguya* sp.) have different morphometric characteristics from that found by us, therefore we postulated that a different specie of *Henneguya* is paraziting the *P. lineatus* of Uruguay River and Río de la Plata. These parasites could be used as biological indicators of *P. lineatus* populations in the Río de Plata Basin.

3- INTRODUCCIÓN

3.1 *P. lineatus* (*Prochilodus lineatus*)

3.1.1 Taxonomía:

P. lineatus es un pez dulceacuícola estricto, es decir, no tolera el agua de mar, si bien puede hacer incursiones breves en agua ligeramente salobre (Cousseau y col., 2010). Pertenece al phylum Chordata, subphylum Vertebrata, clase Osteichthyes, superorden Teleostei, orden Characiformes, familia Curimatidae, subfamilia Prochilodontinae y género *Prochilodus* (Sverlij y col., 1993; Nion y col., 2002). Están descritas en Sudamérica 24 especies de *Prochilodus* (Sverlij y col., 1993). Según Nion y col. (2002), en Uruguay, existen dos especies de *Prochilodus*: *P. lineatus* y *P. scrofa*. Éste último se encuentra junto al *P. lineatus* en la porción media y superior del Río Uruguay así como en los Ríos Paraguay y alto Paraná. Ambas especies se diferencian por poseer características morfológicas distintas. *P. lineatus* tiene un hocico corto y romo y mandíbula superior de una longitud igual a la mandíbula inferior o apenas mas larga. En cambio, *P. scrofa* presenta un hocico largo y ligeramente en punta y la mandíbula superior sobrepasa a la inferior (Sverlij y col., 1993). Por otro lado, Reis y col. (2003) y Froese y Pauly (2013) concluyen que *P. lineatus* y *P. scrofa* son la misma especie. Por tanto, en el presente estudio consideraremos que todos los *P. lineatus* capturados en el Río Uruguay y Río de la Plata pertenecen a la especie *P. lineatus* (Fig.1).



Fig.1 Juvenil de *P. lineatus* procedente del Río de la Plata.

En Brasil es conocido como “curimbatá” o “carimbata” (Sverlij y col., 1993) y en dicho país es una de las especies más consumidas dentro de las especies de agua dulce. Puede llegar a medir 80 cm de largo total y pesar más de 7 kg. Tiene el cuerpo largo y comprimido, gris-verdoso (aclarado en el vientre), con escamas amarillentas. Su boca es circular, proyectada poco hacia adelante, bordeada por labios gruesos, en forma de V invertida, protráctiles, con numerosos dientes pequeños dispuestos en dos series. El estómago es bicameral, consta de una porción cardíaca y una porción pilórica. La porción cardíaca es una cámara de almacenamiento y aporta lubricación, mientras que la pilórica, está dotada de una poderosa musculatura que se ocupa de la digestión mecánica triturando al alimento. Presenta numerosos ciegos pilóricos y un intestino largo enrollado de doble espiral con pliegues circulares en la mucosa que aumentan la superficie de absorción (Sverlij y col., 1993; Ceccarrelli y col., 2007; Cousseau y col., 2010; Texeira de Mello y col., 2011). Tienen una cola bifurcada y una línea lateral completa (Ceccarelli y col., 2007).

Es de gran importancia ecológica y algunos peces depredadores, como el surubi (*Pseudoplatystoma* spp.) y el dorado (*Salminus brasiliensis*) dependen de los *P. lineatus* para su subsistencia. En cuanto a su régimen alimenticio, el *P. lineatus* es un iliófago estricto, es decir, principalmente se alimenta de sedimentos del fango, compuesto principalmente por detritos orgánicos de origen vegetal en el fondo del río y detritos inorgánicos como minerales y arcilla. Es uno de los transformadores de la materia orgánica de los ecosistemas acuáticos. Los componentes que determinan la calidad de la materia orgánica ingerida son nitrógeno, aminoácidos, proteínas y energía. Si se llegase a eliminar esta especie sería muy perjudicial para el sistema porque se acumularía gran cantidad de materia orgánica en el sedimento (Sverlij y col., 1993; Cousseau y col., 2010).

Es un pez migrador, que realiza grandes migraciones reproductivas y alimenticias. Presenta complejos comportamientos migratorios para su reproducción. Realizan una migración aguas arriba, de miles de kilómetros (1500 km en total y 43 km por día), utilizando como fuente de alimento sus reservas de grasa corporal, hasta llegar a las planicies de inundación (contactan el río con lagunas y humedales marginales) del Río Paraná y otros ríos de la cuenca (ej. Río Uruguay), a inicios del otoño. La cópula y el desove se realizan en el cauce del río (desovan en aguas abiertas) y las larvas derivan río abajo hacia las aguas superficiales de las lagunas de inundación (aguas lenticas), donde encuentran refugio y comida, siendo lugares claves de crianza para los peces de río abierto. Allí permanecen 2 años aproximadamente hasta que alcanzan un desarrollo adecuado (en épocas de creciente cuando ascienden los niveles hidrométricos los ejemplares de mayor tamaño abandonan las lagunas y entran peces mas pequeños). Luego vuelven al cauce principal del río (aguas lóxicas) donde se incorporan a los cardúmenes. Terminado el periodo reproductivo, los *P. lineatus* migran río abajo en una emigración trófica, retornando cuando aumenta la temperatura. Habitan ríos con fondo blando y fangoso y prefieren las zonas de poca corriente. En nuestro país aparecen larvas y juveniles en el verano temprano (Sverlij y col., 1993; Cousseau y col., 2010; Texeira de Mello y col., 2011).

3.1.3 Importancia en la pesquería:

P. lineatus, es un importante recurso alimenticio y económico, dentro los peces dulce-acuícolas. Existe una captura comercial en toda la zona de distribución de la especie, siendo un recurso pesquero de agua dulce muy importante en Sudamérica, en particular, en el Río de la Plata, Río Uruguay y Río Paraná (Eiras y col., 2004; Eiras y col., 2009; Texeira de Mello y col., 2011). Es la especie de mayor valor pesquero en el Río Uruguay y la más abundante de la cuenca del Plata, representando más del 60% de la biomasa de peces de la misma. Los ejemplares capturados son destinados al consumo local, a la exportación y a la producción de derivados (harinas y aceite) (Sverlij y col., 1993; Cousseau y col., 2010). En nuestro país es de gran importancia comercial tanto a nivel de pesca artesanal como a nivel de exportaciones. Los desembarques totales de pescado en nuestro país en el 2010 representaron 74.129 toneladas y dentro de esta cifra el *P. lineatus* representó 0,79% (593 toneladas), seguido por la castañeta, lisa, brótola, gatuzo, entre otros. Con respecto a los desembarques de *P. lineatus* por pesca artesanal (capacidad menor a 10 toneladas de registro bruto-TRB) fueron de 466 toneladas en el año 2009 y 593 toneladas en el año 2010. Representa un 18,31% del desembarque artesanal total del país (3239 ton), quedando en segundo lugar, después de la corvina. En cuanto a las exportaciones por especie, según el valor en miles de USD se registraron para el *P. lineatus* 3944 y 3648 , en el año 2009 y 2010, respectivamente. Según el volumen en toneladas, se registraron en el 2009, 4241 toneladas exportadas de *P. lineatus*, mientras que en el 2010, se registraron 3296 toneladas exportadas de *P. lineatus*. En ambos casos (valor y volumen de exportaciones) hubo una disminución en el 2010. Sin embargo, el precio medio (USD/kg) de las exportaciones de *P. lineatus* aumentó en el 2010 siendo de 1,11, en comparación al precio medio de 0,93 registrado en el 2009. El *P. lineatus* se ubica en el primer lugar de las exportaciones de peces de agua dulce, seguido por la boga, bagre, dorado y tararira (DINARA, 2012).

3.1.4 Posibilidad del *P. lineatus* como especie de cultivo

Varias características hacen al *P. lineatus* como un pez interesante para la piscicultura. Entre estas podemos destacar el bajo nivel trófico que le permite aprovechar prácticas de cultivo extensivo o semiintensivo, la existencia de un mercado en la mayoría de los países de Latinoamérica, la prolificidad, el rápido crecimiento y la rusticidad (Britski, 1972; Croux, 1992). El cultivo del *P. lineatus* se realiza tanto en forma comercial como experimental en Colombia, Perú y Brasil (Ramos y Corredor, 1982; Cortéz, 2003; Eiras y col., 2004) obteniéndose rendimientos de hasta 4,7 toneladas/há/año en cultivos en estanques.

En Uruguay fue señalado como una de las especies potencialmente cultivables en agua dulce (Carnevia, 2008). Actualmente existe un emprendimiento privado en el departamento de Salto que ha producido semilla y está en la fase de engorde (Azanza J, 2012 com.per.).

3.1.5 Episodios de Mortandades naturales de peces

Existen fenómenos de mortandad natural que afectan periódicamente las poblaciones de peces y otros animales acuáticos existentes en el Río Uruguay y el Río de la Plata, las cuales son de difícil interpretación pero de gran impacto en la

pesca artesanal y en la opinión pública. El *P. lineatus* es una de las especies que habitualmente resultan afectadas en los eventos de mortandad natural.

Si bien la mayoría de las veces estos eventos se deben a alteración de los parámetros del agua (oxígeno disuelto, pH, etc.) o a la presencia de tóxicos (naturales o de origen humano), las parasitosis pueden ser concausas preexistentes que debiliten los peces y aumenten la susceptibilidad. Por tanto mediante el conocimiento de los parásitos que afectan al *P. lineatus*, se puede contar con información de base que permite valorar el impacto de las parasitosis en las mortandades naturales.

El *P. lineatus* en su ambiente natural puede ser afectado por numerosos parásitos. En Uruguay están citados *Chilodonella* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Henneguya* sp., *Heterophyidae* (metacercaria), *Saccocoelioides* spp., *Colocladorchis* sp., *Spinitectus asperus* (Carnevia y col., 2010; Perretta y col., 2010; Meléndez y col., 2011; Carnales y col., 2012).

3.2 Mixosporidios

3.2.1. Definición y características taxonómicas

Son organismos multicelulares, formadores de esporas y muy especializados que pertenecen al Phylum Myxozoa y Clase Myxosporea (Alvarez y col., 1988; Eiras 1994; Kent y col., 2001; Yokohama, 2003; Feist y Longshaw, 2006). Ésta clase comprende dos órdenes llamados Bivalvulida y Multivalvulida. El primero está compuesto por tres subordenes (Platysporina, Sphaeromyxina y Variisporina) y doce familias (Myxobolidae, Sphaeromyxidae, Alatosporidae, Auerbachiiidae, Ceratomyxidae, Chloromyxidae, Fabesporidae, Myxidiidae, Ortholineidae, Parvicapsulidae, Sinuolineidae y Sphaerosporidae). El orden Multivalvulida está formado por dos familias: Kudoidae y Trilosporidae (Feist y Longshaw, 2006).

Por otro lado, basados en análisis del ADN, se los ha relacionado con los cnidarios por lo que su ubicación sistemática está actualmente en revisión (Monteiro y col., 2002; Morris, 2012).

Estos parásitos poseen esporas multicelulares con cápsulas polares (de una hasta quince dependiendo del género), y a su vez dentro de éstas cápsulas se encuentran filamentos extensibles enrollados en espiral con función de anclaje (Alvarez y col., 1998; Feist y Longshaw, 2006; Lom y Dyková, 2006). Las esporas son de tamaños diversos, con uno o mas esporoplasmas (cuerpo central infeccioso), binucleados en la mayoría de las especies y de forma ameboide, y su pared consta de una a siete valvas. Poseen una línea de sutura perpendicular a la circunferencia de la espora, en el plano de unión de las valvas, siendo importante como carácter taxonómico. Las cápsulas polares, son prominentes, de forma piriforme y localización diversa (muchas veces en el ápex de la espora) (Alvarez y col., 1998; Lom y Dyková, 2006). Estas esporas, son consideradas como el estado infeccioso de los Myxosporea. En la actualidad existen alrededor de 2180 especies de Myxosporea descritas en los peces, clasificadas en 60 géneros entre los que son comunes: *Henneguya*, *Myxobilatus*, *Myxobolus*, *Sphaerospora*, *Kudoa*, *Chloromyxum*, *Sphaeromyxa*, *Myxidium*, *Theloanellus*, *Unicapsula*, etc. (Eiras, 1994; Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006; Carriero y col., 2013).

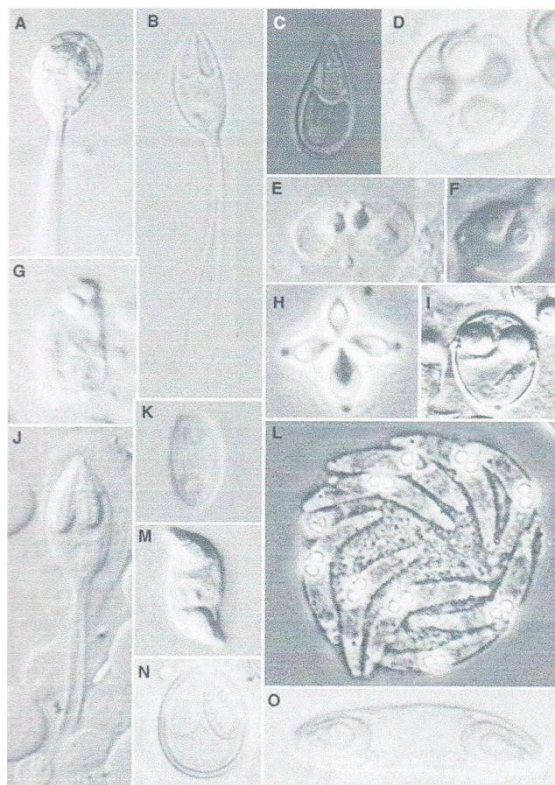


Fig.3. Tipos de mixosporas en diferentes órganos de peces marinos y dulceacuícolas. (Tomado de Feist y Longshaw, 2006).

- A- *Henneguya zschokkei*, en salmón (*Oncorhynchus kisutch*)
- B- *Henneguya psorospermica* en branquias de lucio (*Esox lucius*)
- C- *Thelohanellus pyriformis* en branquia de Tenca (*Tinca tinca*)
- D- *Chloromyxum* sp. en vesícula biliar de *P. phoxinus*
- E- *Leptotheca* sp. en vesicular biliar de *Raniceps raninus*
- F- *Sphaerospora elegans* en riñón de *Gasterosteus aculeatus*
- G- *Parvicapsula assymetrica* en vejiga urinaria de *Cyclopterus lumpus*
- H- *Kudoa thyrusites* en músculo de *Lepidopus caudatus*
- I- *Myxoproteus ambiguus* en vejiga urinaria de *Lophius piscatorius*
- J- *Myxobilatus gasterostei* en riñón de *Gasterosteus aculeatus*
- K- *Myxidium* sp. en vesícula biliar de *Scardinius erythrophthalmus*
- L- *Ceratomyxa* sp. en *Pomatoschistus microps*
- M- *Myxidium gadi* en vesícula biliar de *Merlangius merlangus*
- N- *Myxobolus* sp. en cavidad bucal de *Leuciscus leuciscus*
- O- *Sphaeromyxa* sp. en vesícula biliar de *Gobiosculus flavescens*

En la región de Sudamérica existe una gran diversidad de peces, y muchos de ellos son infectados por mixosporidios (Feijó y col., 2008). Los mixosporidios representan el grupo más numeroso de parásitos en peces y fueron descubiertos en el año 1825 (Alvarez y col., 1988; Lom y Dyková., 2006). Se caracterizan por ser ubicuos y varios de ellos causan serias patologías con impacto negativo en la economía sobre todo en peces teleósteos (Zhang y col., 2010).

Los mixosporidios se caracterizan por ser metazoarios parásitos obligatorios, parasitando tanto peces de agua dulce como marinos. También en estudios recientes se los ha encontrado parasitando moluscos, anfibios, reptiles, pájaros y mamíferos (Carriero y col., 2013). En humanos se ha reportado la presencia de

esporas de mixosporidios en las heces, acompañado con cuadros de dolor abdominal y diarrea causado por patógenos entéricos, la infección podría deberse a la ingestión de pescado infectado (Feist y Longshaw, 2006).

3.2.2. Ciclo de vida

Los mixosporidios se caracterizan por tener un ciclo de vida que comprende a dos hospedadores los cuales son vertebrados (peces) e invertebrados (anélidos). Los peces actúan como hospedadores intermediarios en los cuales se cumple la reproducción asexual con producción de mixosporas maduras. Los anélidos actúan como hospederos definitivos ya que en ellos ocurre la reproducción sexual con formación de actinoesporas maduras (Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006; Morris, 2012).

El ciclo de vida de los mixosporidios puede comenzar de dos maneras: cuando el pez ingiere la actinoespora llamada para el caso de *Henneguya: aurantiactinomyxon* o cuando la actinoespora se libera del anélido al agua (Yokohama, 2003; Lom y Diková, 2006). En ambos casos ocurre la extrusión de los filamentos polares en el intestino (si el pez ingiere la actinoespora) o en piel y branquias (si la actinoespora en el agua toma contacto con el pez) favoreciendo la fijación de las actinoesporas al pez. A continuación ocurre la abertura de las valvas de la actinospora, liberándose el esporoplasma que penetra en la mucosa intestinal, piel (células mucosas de la epidermis) o branquias (células epiteliales respiratorias). Luego desde el intestino el esporoplasma es transportado por linfa y sangre a distintas zonas del cuerpo del pez (fase pre-esporogénica) transformándose luego en un plasmodio (fase esporogénica) (Kent y col., 2001; Lom y Dyková, 2006; Noga, 2010). El plasmodio contiene células germinativas así como muchos núcleos vegetativos. Las células germinativas son las responsables de la formación de células esporogénicas, las cuales se dividen formando varias de las estructuras de la mixospora madura. La primera estructura que se forma es el pansporoblasto que consiste en la unión de una célula esporogénica con una célula pericítica. Luego esta unión celular continúa dividiéndose hasta formar la mixospora. A medida que el plasmodio crece y madura, el pez va desarrollando los signos clínicos de la infección según el órgano blanco afectado. Los mixosporidios se pueden localizar en diversos tejidos (forma histozoica) o en cavidades tanto corporales como de órganos (forma celozoica). La forma histozoica se encuentra en los espacios inter o intra celulares (comúnmente aparece el plasmodio en forma de quiste) y en los vasos sanguíneos. En los tejidos, los plasmodios varían en tamaño, pueden ser pequeños y con pocas o incluso una sola célula vegetativa o pueden ser grandes y con muchas células germinativas y vegetativas. El plasmodio crece en forma sincrónica, es decir, a medida que van madurando las esporas. La forma celozoica se encuentra en la vejiga natatoria, vesícula biliar y vejiga urinaria. El plasmodio recubre las paredes de la luz o epitelio de dichas cavidades, y se caracteriza por producir mixosporas en forma continua (Noga, 2010).

Excepto durante la autogamia (reproducción sexual), todos los estadios son formas multinucleadas las cuales contienen células primarias y dentro de éstas células secundarias. Las mixosporas se pueden liberar al medio de varias maneras: a) con la materia fecal, b) por rotura del plasmodio si está en la superficie corporal o

branquial, y c) cuando ocurre la muerte del pez. Las mixosporas son muy resistentes al medio ambiente (Iregui y col., 1999; Lom y Dyková, 2006, Feist y Longshaw, 2006; Noga, 2010).

Luego las mixosporas son ingeridas por invertebrados, los cuales la mayoría son anélidos como el *Tubifex tubifex* (Zhang y col., 2010). Se han descrito además de los anélidos otros invertebrados como oligoquetos, poliquetos y cefalópodos que pueden oficiar como huéspedes en el ciclo. Algunos oligoquetos tienen la habilidad de formar quistes donde pueden sobrevivir los mixosporidios hasta cinco meses (Gardiner y col., 1988; Stoskopf, 1993; Eiras, 1994; Yokohama, 2003). Cuando el pez ingiere a los invertebrados o cuándo éstos liberan actinoesporas en el agua y toman contacto con el pez se cierra el ciclo. Se ha descrito la transmisión directa (entre peces) pero en muy pocas especies de mixosporidios (ej: *Enteromyxum*) (Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006).

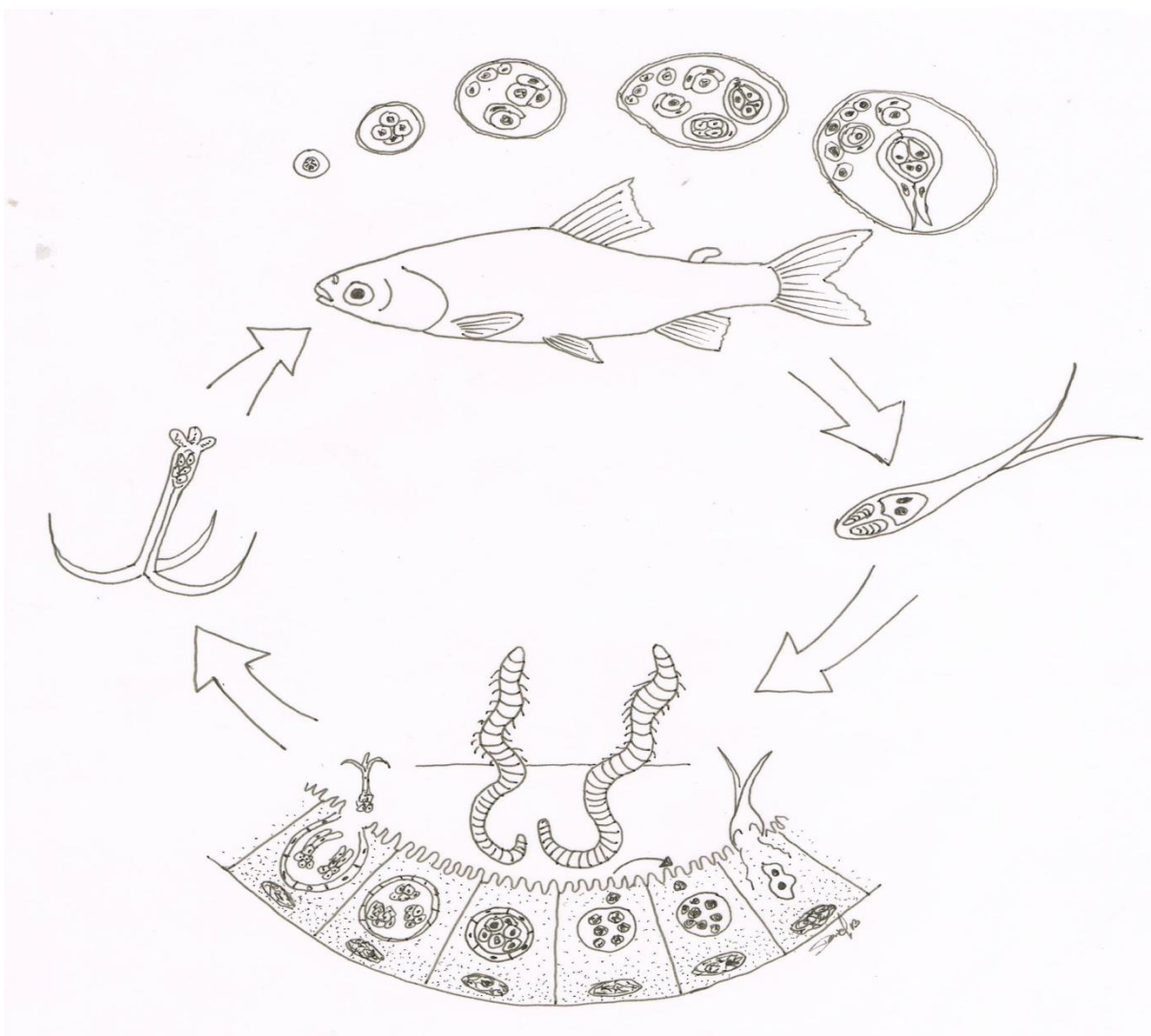


Fig.4. Ciclo de vida de mixosporidios (modificado de Noga, 2010).

3.2.3 Patología causada por mixosporidios

Los mixosporidios se caracterizan por causar afecciones nodulares (mixosporidiosis o nodulosis), las que pueden estar localizadas en piel, músculo, branquias, cartílago y órganos internos como cerebro, médula espinal, gónadas, riñón, corazón, tracto digestivo, vesícula biliar, hígado y vejiga gaseosa (González, 2002; Carvalho-Varela, 2002; Feist y Longshaw, 2006). La mayoría de las especies descritas no producen una patología grave en el hospedero. Sin embargo, se han descrito pérdidas importantes de peces cuando estos parásitos atacan a las branquias y a gran parte de la superficie corporal (González, 2002).

La infección en las branquias puede comprometer la capacidad respiratoria en el caso que el número de mixosporidios parasitando al pez sea alto. A su vez, pueden predisponer a una invasión patógena secundaria porque se produce un daño en el epitelio branquial. Los cambios patológicos en branquias se caracterizan por hiperplasia, inflamación, fusión de laminillas y necrosis celular (Feist y Longshaw, 2006).

Por otro lado, a nivel mundial, se han descrito especies muy patógenas causando serios daños en la acuicultura y en la industria pesquera (Alvarez y col., 1988; González, 2002; Carvalho-Varela, 2002; Yokohama, 2003; Eiras y col., 2009; Barassa y col., 2012). Algunos ejemplos de estos mixosporidios causantes de severas patologías particularmente en salmones son *Kudoa thyrsites* que produce una licuefacción muscular post-mortem y una marcada miositis en varios peces marinos de cultivo como el Salmon salar, *Myxobolus cerebralis* que causa la enfermedad conocida como whirling disease (“enfermedad por torneo”) afectando al sistema nervioso central (SNC) y tejido cartilaginoso, *Tetracapsuloides bryosalmonae* que produce enfermedad proliferativa del riñón (PKD) y *Ceratomyxa shasta* que produce hemorragia e inflamación fibrinosa del intestino posterior en salmones del Pacífico (Moran y col., 1999; Yokohama, 2003; Ferguson, 2006; Kahn, 2007)

El género *Kudoa* afecta también a otros peces marinos como *Lepidopus caudatus* y *Merluccius productus* provocando importantes pérdidas económicas en los centros de cultivo de peces y en la industria pesquera ya que se disminuye el valor de mercado por la licuefacción muscular post-mortem producida y la formación de quistes macroscópicos a nivel muscular (Moran y col., 1999; Feist y Longshaw, 2006).

Con respecto a los peces de acuario, *Hofereilus carasii* parasita el riñón de goldfish produciendo la enfermedad conocida como “Kidney Enlargement Disease” (KED). Ésta enfermedad se caracteriza por causar una infección renal crónica con hiperplasia renal manifestada por una distensión abdominal. Ha sido reportada esta infección en Asia, Europa y Norteamérica (Noga, 2010)

Por regla general, cada mixosporidio puede parasitar una sola especie de hospedero o un grupo de hospederos filogenéticamente próximos. Además la mayoría de los mixosporidios parasitan solo uno o unos pocos órganos blanco dentro del hospedero (Barroso, 2007; Noga, 2010; Adriano y col., 2012). Por otro lado este concepto está cuestionado por otros autores que sostienen que no está muy clara la especificidad de hospedero que poseen los mixosporidios, ya que algunas especies son

altamente específicas de cierto hospedero mientras que otras son específicas según la familia de hospedero y otras incluso afectan un amplio rango de hospederos de distintas familias y con una amplia distribución geográfica. La localización dentro del hospedero por parte de los mixosporidios también es objeto de discusión ya que es muy variable, porque algunas especies afectan a una variada cantidad de órganos y otras son específicas de ciertos órganos blancos (Eiras, 1994; Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Mixosporidios importantes en diferentes hospederos y en diferentes sitios de infección (tomado de Feist y Longshaw, 2006; Noga, 2010)

Mixosporidio causal	Hospedero	Sitio de infección
<i>Spaerosphora molnari</i>	<i>Cyprinus carpio</i> y <i>Carassius carassius</i>	Branquia
<i>S. chinensis</i>	<i>Carassius auratus</i>	Branquia
<i>S. testicularis</i>	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Túbulos seminíferos
<i>S. ovophila</i>	<i>Lepomis gibbosus</i>	Ovario
<i>S. renicola</i>	Carpa	Riñón
<i>Myxobolus koi</i>	<i>C. carpio</i>	Branquia
<i>M. cerebralis</i>	Salmon del Pacífico	SNC y tejido cartilaginoso
<i>M. pavlovskii</i>	<i>Aristichthys nobilis</i> y <i>Hypophthalmichthys</i>	Branquia
<i>M. diversus</i>	Goldfish	Aleta
<i>M. rotundus</i>	<i>C. auratus auratus</i>	Piel
<i>M. artus</i>	<i>C. carpio</i>	Músculo esquelético
<i>Thelohanellus wuhanensis</i>	<i>C. aureatus gibelio</i>	Piel
<i>Kudoa ovivora</i>	<i>Thalassoma bifasciatum</i>	Ovario
<i>K. thyrsites</i>	Salmón salar	Músculo
<i>Kudoa</i> sp.	Peces marinos	Cerebro
	<i>Lepidopus caudatus</i> y <i>Merluccius productus</i>	Músculo
<i>Parvicapsula minibicornis</i>	Salmon del Pacífico	Riñón
<i>Hoferellus carasii</i>	Goldfish	Riñón
<i>Myxidium gadi</i>	<i>Pollachius virens</i> y <i>Pollachius pollachius</i>	Vesícula biliar
<i>Ceratomyxa shasta</i>	Salmón del Pacífico	Intestino posterior
<i>Tetracapsuloides bryosalmonae</i>	Salmón del Pacífico	Riñón

3.2.4. Posible utilización de los mixosporidios como indicadores de poblaciones naturales de peces

Desde hace tiempo se postula la coexistencia de varias poblaciones de *P. lineatus* que comparten las mismas zonas tróficas pero no las zonas de reproducción a causa del hábito migrador del *P. lineatus* y a la fidelidad para con los sitios de desove, así como a una variabilidad morfológica. Sverlij y col.,(1993) señalan la dificultad para distinguir estas poblaciones en base a caracteres morfológicos.

Diversos autores sugieren el uso de parásitos como indicadores biológicos de poblaciones naturales de peces (McKenzie 1987, 2002; Williams y col., 1992; Sardella y Timi, 2004; Whiterman y Parker, 2005; Feist y Longshaw, 2006).

Según Williams y col., (1992) y McKenzie y col., (2005) las características que deben reunir los parásitos para ser buenos indicadores son las siguientes: que la parasitosis tenga diferente prevalencia e intensidad media entre las poblaciones, ser fáciles de detectar con un mínimo de disección, que el ambiente de ambas poblaciones de peces sea bueno para el parásito, poseer un alto grado de especificidad de sitio de infección y de hospedero, poseer una prevalencia estable todo el año.y no ser causantes de patología severa en el hospedero.

Si bien se suelen utilizar platelmintos, nemátodos o crustáceos parásitos en el caso de los peces, existen también antecedentes de utilización de mixosporidios como indicadores de población (Karasev, 1988).

3.3. Género *Henneguya*

3.3.1. Características taxonómicas

Dentro del Phylum Myxozoa, se encuentra el género *Henneguya* perteneciente a la Clase Myxosporidia y Familia Myxobolidae. Éste género se caracteriza por poseer esporas de forma oval, con una pared formada por dos valvas, un esporoplasma (cuerpo central infeccioso de la espora) binucleado y frecuentemente posee una vacuola iodófila, dos cápsulas polares en el extremo anterior (elongadas y con filamentos polares enrollados en su interior) y apéndices longitudinales proyectados desde el extremo posterior de las valvas (Alvarez y col., 1988; González, 2002; Eiras, 2002; Lom y Dyková, 2006; Kahn, 2007). Estos apéndices prolongados son relativamente largos, de aspecto bifurcado y son del mismo material que las valvas (Eiras, 1994) (Fig.5).

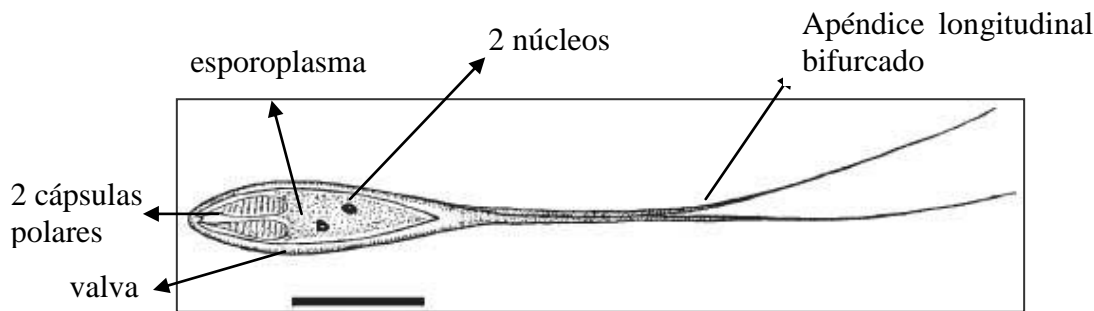


Fig.5. Estructura y morfología de *H. caudalongula* (tomado de Adriano, 2005a).

Según Eiras (2002), a nivel mundial existen 146 especies de *Henneguya* pero luego de diez años, Eiras y Adriano (2012) describieron 43 especies más, basados en la morfología y morfometría de cada especie, así como en el hospedero infectado. A nivel de Sudamérica, en Brasil, existen 44 especies válidas de *Henneguya*, (Eiras y col., 2008a; Adriano y col., 2012;; Azevedo y col., 2013) dentro de las cuales tres especies (*Henneguya* sp., *H. paranaensis* y *Henneguya caudalongula*) afectan las branquias del *P. lineatus* (Pavanelli, 1998, Eiras y col., 2004 y Adriano y col., 2005a, respectivamente). Este número de especies es bajo comparado con el alto número de especies de peces que hay en los ríos de Brasil (cerca de 8000 especies, representando el 24% del total de las especies de peces) por lo que se supone que quedan aún muchas especies por descubrir (Eiras y col., 2004).

3.3.2. Antecedentes de diagnóstico del género *Henneguya* en Uruguay

Existe una cita de *Henneguya shackletorri* en peces notopteridos de la especie *Eleginus macrovinus* (Brickle y MacKenzie, 2007). Si bien esta especie alcanza en su distribución hasta Uruguay, los parásitos fueron citados en peces capturados en las islas Malvinas.

En el Río Uruguay durante el período julio-agosto 2010 se registraron fenómenos de mortandad natural en peces. Al analizarse ejemplares de la especie *P. lineatus* se observaron numerosos quistes en las laminillas branquiales con una prevalencia del 45,4%. Dentro de los quistes habían abundantes esporas de mixosporidios con dos prolongaciones delgadas y de forma fusiforme. Las variables morfométricas fueron: largo total 35.28 ± 4.43 micras y ancho 4.9 ± 0.55 micras. Estos mixosporidios fueron clasificados dentro del género *Henneguya*, siendo este el primer registro de este género para peces en Uruguay (Perretta y col., 2010).

En muestreos de *P. lineatus* provenientes del Departamento de Colonia se han encontrado también mixosporidios del género *Henneguya* (Carnevia, com. pers.).

3.3.3. Patología causada por *Henneguya*

Según González y Carvalho-Varela (2002) la Henneguyosis se encuentra dentro de las mixosporidiosis más importantes desde el punto de vista económico, debido a que pueden provocar no solamente mortalidad sino pérdida de la calidad de la carne de los peces. Son inadecuados para el consumo los peces fuertemente infectados en la musculatura ya que la parasitosis produce una alteración denominada

“músculos lechosos”. Esto se evidencia en la infección en salmones del Pacífico de Norteamérica y las costas de Asia y en peces del género *Coregonus* en Europa. Ésta parasitosis es causada por *H. zschokkei* que provoca la enfermedad “boil”. Dicha *Henneguya* se desarrolla profundamente en el músculo en general cerca de la columna vertebral (Iregui y col., 1999; Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006).

En Japón, se han descrito infecciones cardíacas, con cuadros crónicos causando mortalidad en peces cultivados del género *Lateolabracis* sp (infección causada por *H. lateolabracis*) y *Pagrus major* (infección en el bulbo aórtico que conlleva a una cardiopatía degenerativa causada por *H. pagri*) (Lom y Dyková, 2006).

Sin embargo, la mayoría de las especies son consideradas poco patógenas sin capacidad de matar a sus hospedadores, aunque pueden afectar su crecimiento. (Carvalho-Varela, 2002).

La patología que causa *Henneguya* infectando las branquias en los peces es variable. En la mayoría de los casos no hay daños patológicos importantes, o son limitados a una porción pequeña de las branquias no representando una amenaza para la vida de los hospedadores (Adriano y col., 2005a; Eiras y col., 2009). Sin embargo en otros casos donde la infestación es masiva, se reconocieron daños patológicos severos causando enfermedad y eventualmente la muerte (Eiras y col., 2009), como por ejemplo la infección en branquias causada por *H. travassosi* caracterizada por causar siempre la muerte del hospedero. Ésta *Henneguya* produce una alteración particular en las branquias de *Hoplosternum littorale* (Orden Siluriformes) proveniente del Río Paraná (Santa Fe, Argentina) caracterizada por una deformación branquial con aspecto de una mazorca de maíz (presencia de grandes quistes macroscópicas en las branquias), con hiperplasia y espongirosis de las laminillas branquiales, afectándose la capacidad respiratoria del pez (Eiras y col., 2008b). Otra enfermedad seria, conocida como enfermedad proliferativa de las branquias (PGD) es causada por *H. ictaluri* en *Ictalurus punctatus* (bagre de canal) de Norteamérica. Ésta enfermedad es de tipo crónico y se caracteriza por causar hiperplasia epitelial branquial con fusión de laminillas adyacentes, inflamación dentro de los sinusoides venosos centrales y obliteración del espacio interlaminillar debido al alto número de quistes presentes. Produce altas mortalidades en los ejemplares juveniles de cultivo (Kent y col., 2001; Ferguson, 2006; Lom y Dyková, 2006; Feist y Longshaw, 2006). Otra *Henneguya* que afecta al bagre de canal es *H. exilis* la cual produce una proliferación severa de tejido en la base de la laminilla secundaria y también alta mortalidad en los alevinos (Feist y Longshaw, 2006).

Según Feist y Longshaw (2006) en las branquias de varios peces como *Stizostedion lucioperca* del lago Balaton, Hungría, se evidenció la presencia de *H. creplini* ocasionando proliferación epitelial y necrosis celular branquial. En *E. lucius* y *Perca fluviatilis* se evidenció la presencia de *H. psorospermica* produciendo muchos plasmodios largos en el epitelio branquial. En *Piaractus mesopotamicus* se evidenció la presencia de *H. piaractus* causando hemorragia y severa inflamación branquial. Los signos clínicos que manifiesta el pez son letargia, disminución de la alimentación, nado errático y pérdida de equilibrio.

3.4 Importancia de conocer los parásitos en los peces de cultivo

A nivel mundial, el pescado representa una fuente muy importante de proteína y de aportes nutritivos esenciales, y ocupa los primeros lugares en la comercialización de alimentos. En el mundo, dentro de 10 años la acuicultura y la producción por pesca por captura superará a la producción de pollo, carne vacuna y porcina (FAO, 2012).

Aproximadamente a nivel mundial la pesca por captura representa 90 millones de toneladas y la acuicultura en los últimos 30 años ha aumentado significativamente, alcanzando en el año 2010 los 60 millones de toneladas. Dentro de éste número 33,7 millones corresponden a la acuicultura de agua dulce. La acuicultura representa una fuente de ingresos y de subsistencia para la población (FAO, 2012).

El estudio de las parasitosis en los peces posibilita evaluar los riesgos sanitarios durante el cultivo particularmente en la piscicultura intensiva en estanques al aire libre, ya que en las granjas de cultivo los mixosporidios pueden ocasionar graves pérdidas económicas y alteraciones del bienestar en los peces, provocando mortandad directa o haciéndolos susceptibles a otras afecciones como hongos y bacterias (Iregui y col., 1999; Martins y col., 1999; Kahn, 2007).

3.5 Prevención, control y tratamiento de las mixosporidiosis

No está claro la respuesta inmunológica con producción de anticuerpos frente a los mixosporidios, por lo tanto la vacunación es un tema discutido. Sin embargo, se ha descrito la resistencia genética de algunas especies de salmones frente al *Myxobolus cerebralis*. Entonces la manipulación de estos genes de resistencia podría ser importante para el control de esta enfermedad (Feist y Longshaw, 2006).

En cuanto al tratamiento, la eficacia de los fármacos depende del género y especie de mixosporidio. Desde la mitad de la década del 80 se han utilizado varios compuestos químicos como fumagalina y toltrazuril, pero en la actualidad su uso está limitado debido al desarrollo de toxicidad en peces de cultivo y a que generalmente el tratamiento farmacológico es desfavorable (Yokohama, 2003; Feist y Longshaw, 2006; Kahn, 2007).

Martins y col., (1999) sugieren el uso de formalina como una alternativa de tratamiento en caso de infección por *Henneguya leporinicola* en branquias.

En países como China, para prevenir la difusión de mixosporidiosis en los peces de cultivo como las carpas, los productores sacrifican a los peces infectados o los separan de los sanos, pero esto no termina de solucionar el problema ya que hay varios peces con manifestación subclínica (Zhang y col., 2010). Otra forma de prevención es el manejo adecuado de los estanques, es conveniente primero secarlos y tratarlos con cal para disminuir la presencia de los hospedadores definitivos y de ésta forma se corta el ciclo de vida de los mixosporidios (Kahn, 2007).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivos generales

- Identificar la/s especie del género *Henneguya* presente en branquias de *P. lineatus* (*Prochilodus lineatus*) capturados en el Río de la Plata y Río Uruguay
- Determinar aspectos de la prevalencia de la parasitosis y patogenicidad de la especie/s del género *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* capturados en el Río de la Plata y Río Uruguay.

4.2 Objetivos específicos

- Identificar la/s especie del género *Henneguya* presente en branquias de *P. lineatus* capturados en el Río de la Plata y Río Uruguay.
- Determinar si existen diferencias significativas en la prevalencia de la parasitosis según las distintas estaciones del año y según los diferentes tamaños de los peces.
- Evaluar mediante histopatología el daño branquial de los peces producido por la parasitosis.
- Discutir la posibilidad de que estos parásitos puedan ser usados como indicadores (marcadores) biológicos de poblaciones de *P. lineatus* de la Cuenca del Plata.
- Poner a punto la identificación de mixozoarios en la Facultad de Veterinaria.

5. HIPÓTESIS

Se han descrito tres especies de *Henneguya* en branquias de *P. lineatus*, las cuales son *H. paranaensis*, *Henneguya* sp. y *H. caudalongula*. Las dos primeras afectan a *P. lineatus* provenientes del Río Paraná, mientras que *H. caudalongula* afecta *P. lineatus* cultivados en estanques en un Centro de Cultivo en Brasil. En los *P. lineatus* afectados por *H. caudalongula* no se encontraron diferencias significativas en la prevalencia de la parasitosis asociada con las estaciones del año ni con el tamaño de los peces.

Se postula que la especie de *Henneguya* encontrada en *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay es una de las especies ya descritas para *P. lineatus* del Río Paraná y para *P. lineatus* cultivados en Brasil.

Se postula que la prevalencia de la parasitosis provocada por *Henneguya* encontrada en branquias de *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay, no está afectada por las estaciones del año ni por el tamaño de los peces.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Muestras

Se colectaron 81 *P. lineatus* (68 juveniles y 13 adultos) procedentes del Río de la Plata (Departamentos de Colonia, San José, Montevideo) y del Río Uruguay (Dpto. Salto) entre los meses noviembre 2010- marzo 2012 (Fig.6 y Fig.7)



Fig.6 Vista aérea de las zonas del muestreo de *P. lineatus*.

A: Dpto. de Colonia. Río de la Plata (W 57° 54'; S 34° 30')

B: Dpto. de Salto. Represa de Salto Grande. Río Uruguay (W 57° 55'; S31° 10')

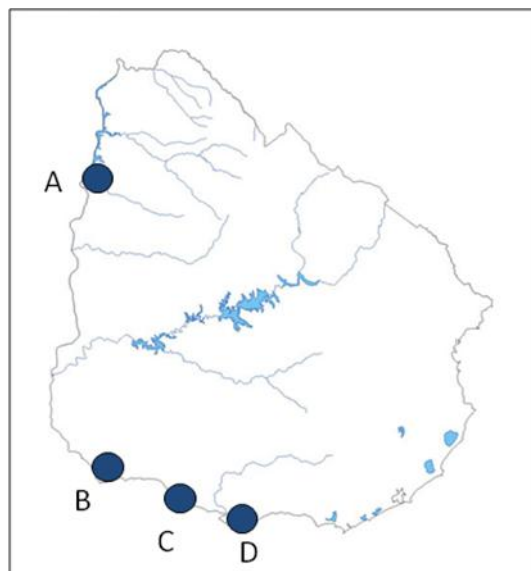


Fig.7 Lugares de muestreo de *P. lineatus* en Uruguay.

A- Río Uruguay. Dpto. Salto.

B- Río de la Plata. Dpto. Colonia.

C- Río de la Plata. Dpto. San José.

D- Río de la Plata. Dpto. Montevideo.

Se tomaron muestras de *P. lineatus* a partir de capturas realizadas por pescadores artesanales, a partir de capturas propias y de cabezas congeladas enviadas desde la Comisión Técnico Mixta de Salto Grande.

Los muestreos fueron realizados en los meses noviembre, diciembre, febrero, marzo, junio y agosto, y el número de ejemplares de cada muestreo fue entre diez y treinta. Los ejemplares se trasladaron dentro de una conservadora a temperatura de refrigeración de 0 a 5°C con refrigerante, al laboratorio del Área Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos, Instituto de Investigaciones Pesqueras Prof. Dr. Victor H. Bertullo (UDELAR. Facultad de Veterinaria). Las muestras se procesaron inmediatamente luego del arribo al laboratorio.

Todos los ejemplares fueron medidos con un ictiómetro utilizándose la medida del largo total (en escala en cm) y pesados con una balanza digital en gramos. En el caso de las cabezas congeladas para saber el largo total del pez, se tomó la medida del largo total de la cabeza (cm) y mediante ecuaciones según Reidel y col., (2004) se obtuvo la medida del largo total del pez. Las ecuaciones utilizadas fueron las siguientes:

$$\frac{CC}{CP} = 0,23 \quad CP = \frac{CC}{0,23}$$

0,23 : valor medio de índice morfométrico entre machos y hembras de *P. lineatus*.

CC: largo de la cabeza (cm)

CP: largo estándar del pez (cm)

$$\frac{CP}{CT} = 0,80 \quad CT = \frac{CP}{0,80}$$

0,80= valor medio de índice morfométrico entre machos y hembras de *P. lineatus*.

CT= Largo total del pez (cm).

6.2 Determinación taxonómica de *Henneguya*

En la realización de las necropsias se llenaron fichas ictiopatólogicas diseñadas al efecto. Se incluyeron en estas los datos de hospedero: largo total (cm), peso (g) y procedencia de los ejemplares. También se registraron las variables morfométricas de esporas de *Henneguya*, así como presencia de otros parásitos y alteraciones (Martins y Onaka, 2006).

En cada pez se efectuó una necropsia de la zona branquial, con observación de filamentos en fresco al microscopio. Cuando se observó la presencia de esporas se realizaron frotis secados al aire a temperatura ambiente, fijados bajo una inmersión de alcohol metílico y teñidos posteriormente con una solución de Giemsa preparada al momento de realizar la tinción (4 mL de Giemsa y 100 mL de agua destilada) durante 2 min. Ésta tinción otorga una mejor observación y medición de las cápsulas polares (Bruno y col., 2006; Martins y Onaka, 2006).

Se midieron 128 esporas de *Henneguya* sp. a través de un Microscopio Olympus BX 50 con cámara digital. Para la determinación taxonómica se utilizó la metodología descrita por Lom y Arthur (1989). Las variables morfométricas registradas (expresadas en μm) fueron: Largo total (LT), Largo del cuerpo de la espora (LC), Largo de la cola (LCO), Ancho del cuerpo de la espora (AC), Largo de la cápsula polar (LCP) y Ancho de la cápsula polar (ACP). La forma de tomar éstas variables morfométricas se esquematiza en la fig. 8.

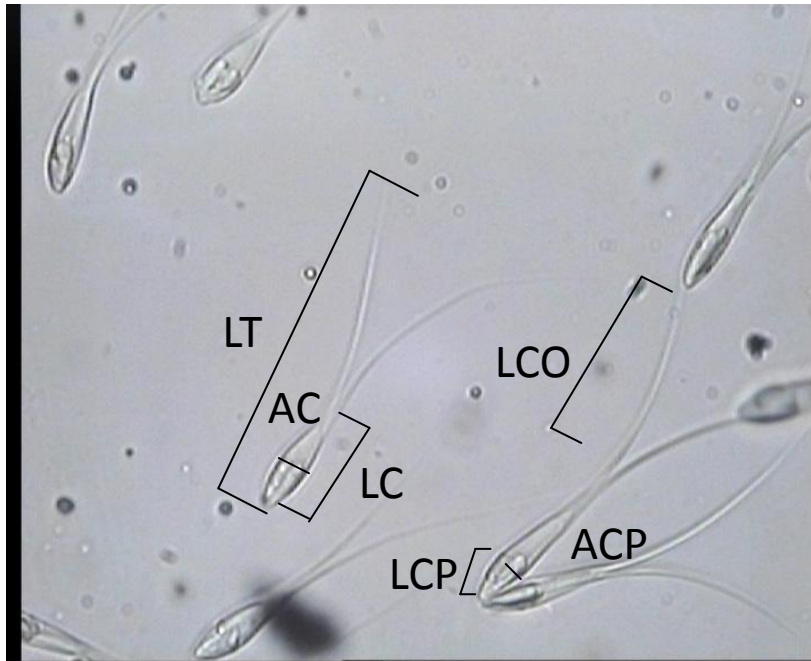


Fig.8. Esquema de las variables morfométricas de esporas de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* (400x).

Las variables morfométricas fueron comparadas con las de otras mixosporas del género *Henneguya* en branquias de *P. lineatus*, así como mixosporas del género *Henneguya* en branquias y otros órganos (riñón, vejiga gaseosa, tracto digestivo, etc.) de otros peces pertenecientes al orden Characiformes y Siluriformes de la región Neotropical, según la metodología propuesta por Lom y Arthur (1989) empleada por Eiras y col., (2004) y Adriano y col., (2005 a y b).

6.3 Estudio de la prevalencia

Según Tarabla (2000), la prevalencia se estimó como:

$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{\text{Total de individuos parasitados}}{\text{Total de individuos muestreados}} \times 100$$

Para el estudio de la prevalencia de la parasitosis, se dividieron a los peces muestreados según la talla corporal y según las estaciones del año.

Para comparar la prevalencia según la talla corporal (largo total), los peces se agruparon en dos grupos: juveniles y adultos.

Por otro lado, para comparar la prevalencia según las estaciones del año se tomaron solo dos estaciones para ecosistemas acuáticos, según Guerrero y col (1997): fría (junio-setiembre) y cálida (noviembre-marzo).

6.4 Histopatología

En una única oportunidad se obtuvieron 3 ejemplares de *P. lineatus* vivos mediante captura con red de arrastre, procediéndose a sacrificarlos en el lugar. Inmediatamente luego del sacrificio se fijaron los arcos branquiales en AFA (alcohol-formol-ácido acético). Como método de sacrificio se utilizó el recomendado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República Uruguay (CHEA). Dicho método consistió en una sobredosis de Eugenol en solución al 10 % en alcohol etílico, en forma de baño en el que se colocó a una concentración de 1 mL por litro. Luego de 24 horas en AFA, las muestras fueron conservadas en alcohol 70°.

Previo al procesamiento histológico, las muestras fijadas fueron descalcificadas por inmersión en ácido fórmico al 8 % durante dos horas con el objetivo de remover los iones de calcio de las branquias y de ésta forma facilitar el corte de las mismas. Después de mantener a las branquias dos horas en ácido fórmico, éstas fueron colocadas en alcohol 70° nuevamente. Luego se cortaron las branquias en forma longitudinal para obtener un grosor de 2 mm. Posteriormente fueron colocadas las muestras en los cassettes de histología.

El procesamiento de las muestras se realizó mediante la técnica estándar de histología (Cuadro 2): deshidratación, inclusión en parafina, corte en micrótopo (5-7 μ m), deparafinación, rehidratación, tinción (Hematoxilina y Eosina) y montado.

Para la deshidratación, las muestras fueron sometidas a varios pasajes con alcoholes de graduación creciente.

Luego, previo a la inclusión en parafina las muestras fueron sumergidas en Xilol o alcohol isopropílico para permitir la posterior impregnación con parafina. A continuación, las muestras fueron depositadas en parafina líquida caliente (56-58°C) por 30 min.

Para el armado de los bloques histológicos, se retiraron las branquias de los cassettes de histología y se colocaron en moldes de metal o en una cubetera impregnadas en parafina líquida a una temperatura de 56-58°C. Se usó una pinza caliente para la transferencia y orientación de las branquias en los moldes. Después de la solidificación de la parafina a temperatura ambiente, se retira el bloque del molde.

Para el corte del bloque se utilizó un micrótopo y se realizaron cortes de 5-7 μ m de espesor. En esta etapa es importante que la cuchilla esté limpia y afilada, y que la temperatura de los bloques sea baja para aumentar la dureza de los mismos. Para ello se llevaron al freezer los bloques por un corto período de tiempo (algunos minutos).

Luego los cortes fueron colocados en baño maría a una temperatura de 37°C. A continuación, se colocó cada corte en porta-objetos impregnados en albúmina (sustancia adhesiva).

Después se secaron en estufa con una gota de formol durante 12 hrs. Previo a la coloración se deparafinaron y rehidrataron las muestras. Para el deparafinado se utilizó Xilol y para la rehidratación se realizaron pasajes en alcoholes con graduación decreciente y agua destilada.

A continuación se colorearon las muestras con Hematoxilina-Eosina y luego se deshidrataron nuevamente las muestras en pasajes de alcoholes con graduación creciente. Se realizó un último pasaje en Xilol para quitar los restos de parafina.

Finalmente, se montaron los preparados con unas gotas de Entellan y fueron recubiertos con cubreobjetos para la posterior visualización al microscopio (Keim, 1982).

Cuadro 2. Protocolo utilizado para el procesamiento de las muestras biológicas de branquias de *P. lineatus*.

Etapa	Tiempo
1- DESHIDRATACIÓN	
Alcohol 95%	5 min
Alcohol absoluto I (100%)	15 min
Alcohol absoluto II (100%)	20 min
Alcohol absoluto III (100%)	5 min
Alcohol Isopropílico o Xilol I	10 min
Alcohol Isopropílico o Xilol II	10 min
2- INCLUSIÓN EN PARAFINA	
Parafina 56-58°C (punto de fusión)	30 min
3- ARMADO DE LOS BLOQUES	
4- MOLDEO DE LOS BLOQUES	
5- CORTE DE LOS BLOQUES	
6- BAÑO MARÍA	
7- SECADO EN ESTUFA	12 hrs
8- COLORACIÓN	
Deparafinado	
Xilol I	5 min
Xilol II	5 min
Rehidratación	
Etanol 95°	5 min
Etanol 70°	5 min
Agua destilada	5 min
Coloración del núcleo con Hematoxilina	3 min
Agua destilada (1 enjuague)	
Virado de color (a violeta oscuro) en agua corriente	
Agua destilada (enjuagues)	

Coloración citoplasmática con Eosina	1,5 min
9- DESHIDRATACIÓN	
Etanol 95%	10 min
Etanol 100%	5 min
10- MONTAJE	

Nota: Para visualizar bien los núcleos se aumentó el tiempo de coloración con H-E a 3 min. Se observaron los núcleos más violetas y un mejor contraste que favoreció la visualización de células y tejidos.

6.5 Análisis estadísticos

Con respecto a las variables morfométricas registradas de las esporas se calcularon las medias y desvíos estándares de cada uno de ellos.

Para comprobar si existe una variación en la prevalencia de la parasitosis entre peces capturados en la estación cálida y fría, así como entre peces juveniles y adultos, se realizó un contraste de hipótesis para proporciones binomiales, testando la hipótesis nula de diferencia de proporciones igual 0. En todos los test se consideró un nivel de significación $p < 0,05$.

7. RESULTADOS

7.1 Resultados de la necropsia

Los *P. lineatus* midieron en promedio 26.83 ± 11.46 cm de largo total (18.3-58.15) y pesaron en promedio $225.92 \pm 395,83$ g (56.6-2810).

La necropsia de los peces reveló en algunos ejemplares la presencia de quistes blanquecinos ovoideos de pequeño tamaño (0.5 a 1 mm de diámetro mayor) localizados en branquias a nivel de las laminillas secundarias (Fig.9). En la mayoría de los *P. lineatus* no se observaron quistes, pero a la observación microscópica de frotis branquiales en fresco se identificaron mixosporas del género *Henneguya*.

Al examen microscópico en fresco de las laminillas branquiales, se identificaron plasmodios repletos de mixosporas de forma oval, con dos cápsulas polares, y un apéndice longitudinal bifurcado, lo que permitió identificarlos como pertenecientes al género *Henneguya* dentro del phylum Myxozoa (Alvarez y col., 1988; González y Carvalho-Varela, 2002; Eiras, 2002; Lom y Dyková, 2006; Kahn, 2007) (Fig. 10). En los frotis branquiales teñidos con Giemsa se visualizaron mejor las cápsulas polares de *Henneguya* sp. (Fig. 11).

A su vez, en un ejemplar se observaron pequeños quistes en la aleta caudal y en la aleta dorsal (Fig.12). A la observación microscópica también se identificaron mixosporidios del género *Henneguya*.

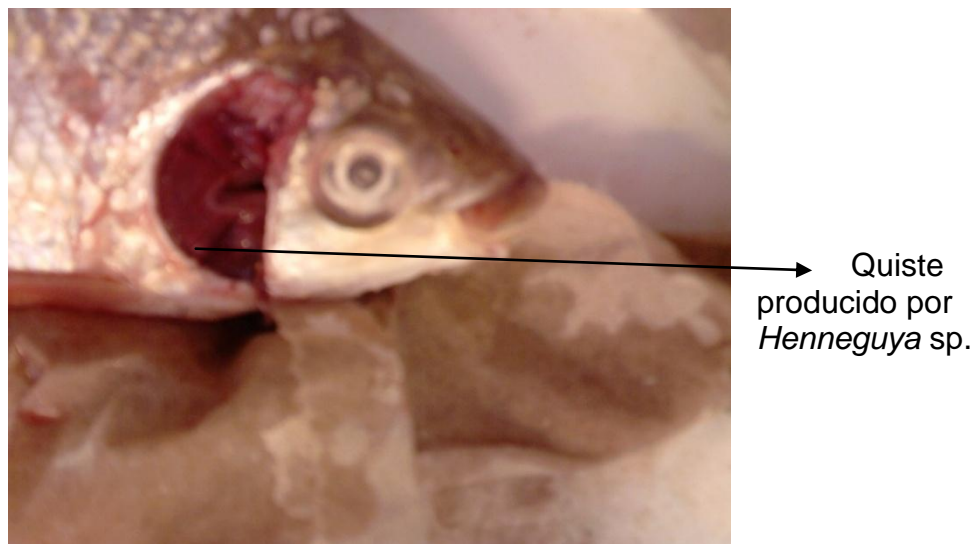


Fig.9 Necropsia branquial de *P. lineatus* con presencia de un pequeño quiste ovoideo blanquecino de 0,5 mm aprox. de diámetro. presente en las laminillas de un arco branquial.



Fig.10 Esporas en fresco de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* (400x)

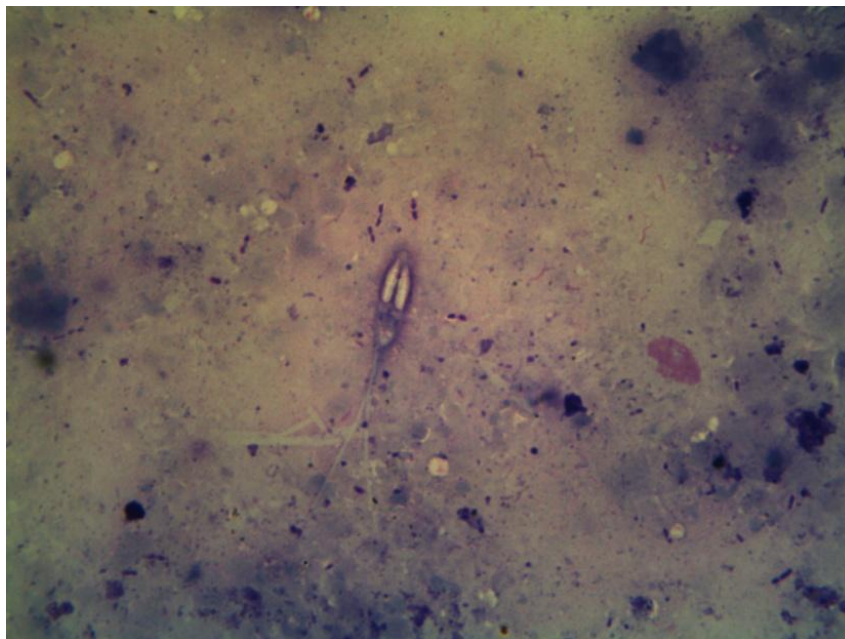


Fig. 11 Esporas teñidas con Giemsa de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* (1000x)



Fig.12 Quiste ovoideo blanquecino de *Henneguya* sp. presente en aleta dorsal de *P. lineatus*.

7.2 Morfometría de las mixosporas del género *Henneguya*

Con respecto al estudio morfométrico de los parásitos, se midieron 128 esporas (n=128).

Los datos obtenidos de las variables morfométricas registradas de las esporas de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay, se muestran en el cuadro 3. Se observó el cuerpo de las esporas de forma fusiforme y cápsulas polares idénticas en tamaño.

Cuadro 3. Variables morfométricas registradas (μm) de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay.

	LT	LC	LCo	AC	LCP	ACP
Medias	34,80	14,04	20,94	5,53	7,25	2,79
y desvíos	$\pm 4,23$	$\pm 1,96$	$\pm 4,12$	$\pm 0,81$	$\pm 1,03$	$\pm 1,27$
Mínimos y máximos	(30- 40,78)	(11,44- 17,03)	(16,34 - 26,41)	(4,84 - 6,47)	(5,86- 9,13)	(2,5 -3,33)

LT: Largo total; LC: Largo del Cuerpo; LCo: Largo de la cola; AC: Ancho del cuerpo; LCP: Largo de la cápsula polar; ACP: Ancho de la cápsula polar

7.3 Estudio de la prevalencia

La prevalencia de la parasitosis fue de 49,4% (40/81).

En la estación cálida se registró una prevalencia de la parasitosis de 51% (38/74) y en las estaciones frías se registró una prevalencia de la parasitosis de 43% (3/7). Al análisis estadístico no hubo diferencias significativas entre las dos prevalencias ($Z=0,404$ con $p=0,68$) (Figura 13).

Los peces parasitados cuya talla fue 18.3-27 cm (juveniles) tuvieron una prevalencia de 51,4% (35/68), mientras que los peces parasitados cuya talla fue 40.5-58.2 cm (adultos) tuvieron una prevalencia de 38,4% (5/13). Al análisis estadístico tampoco hubieron diferencias significativas entre las dos prevalencias ($Z=0,959$ con $p=0,39$) (Fig.14)

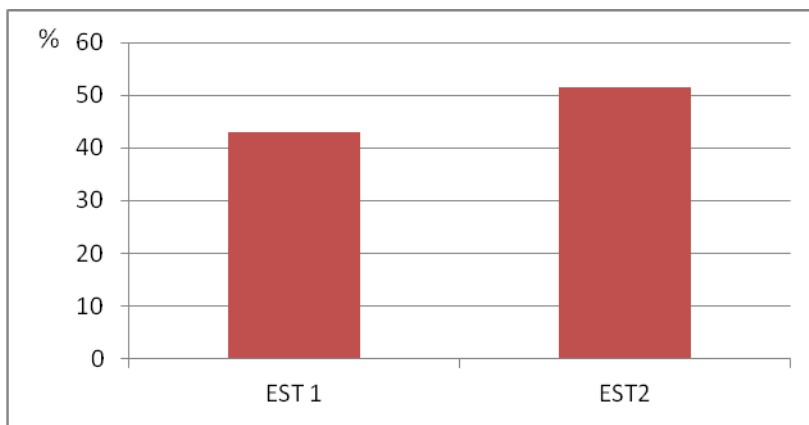


Figura 13: Prevalencia de la parasitosis causada por *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* en función de las estaciones del año.

EST1: Fria (Junio-Setiembre) EST2: Cálida (Noviembre-Marzo)

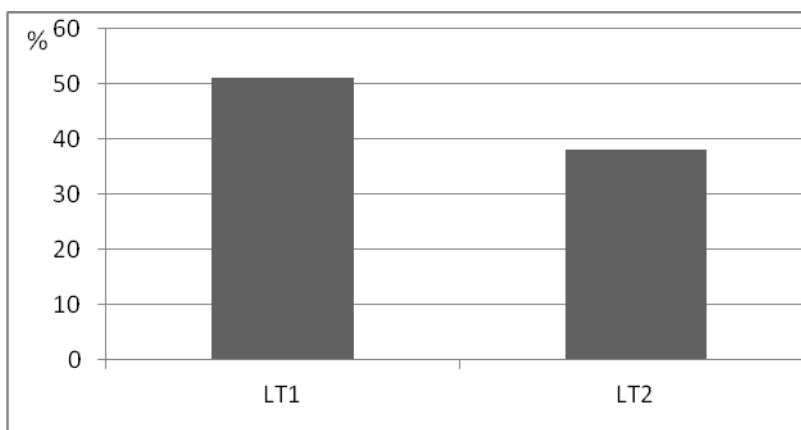


Figura 14: Prevalencia de la parasitosis causada por *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* en función de la talla corporal.

LT1: 18,3-27 cm (juveniles) LT2: 40,5-58,2 cm (adultos)

7.4 Histopatología de branquias

Al estudio histopatológico de branquias se observó hipertrofia e hiperplasia del epitelio de las laminillas secundarias (Fig.15-A). A su vez se identificó la presencia de plasmodios entre las laminillas secundarias branquiales (desarrollo interlaminillar) (Figura 15 -B). Estos plasmodios están rodeados de células epiteliales y debido a su pequeño tamaño producen poco desplazamiento de las laminillas branquiales. Dentro del plasmodio se observaron diferentes estadios esporogénicos correspondientes a las diferentes etapas de desarrollo del mixosporidio (Fig. 15- C y D).

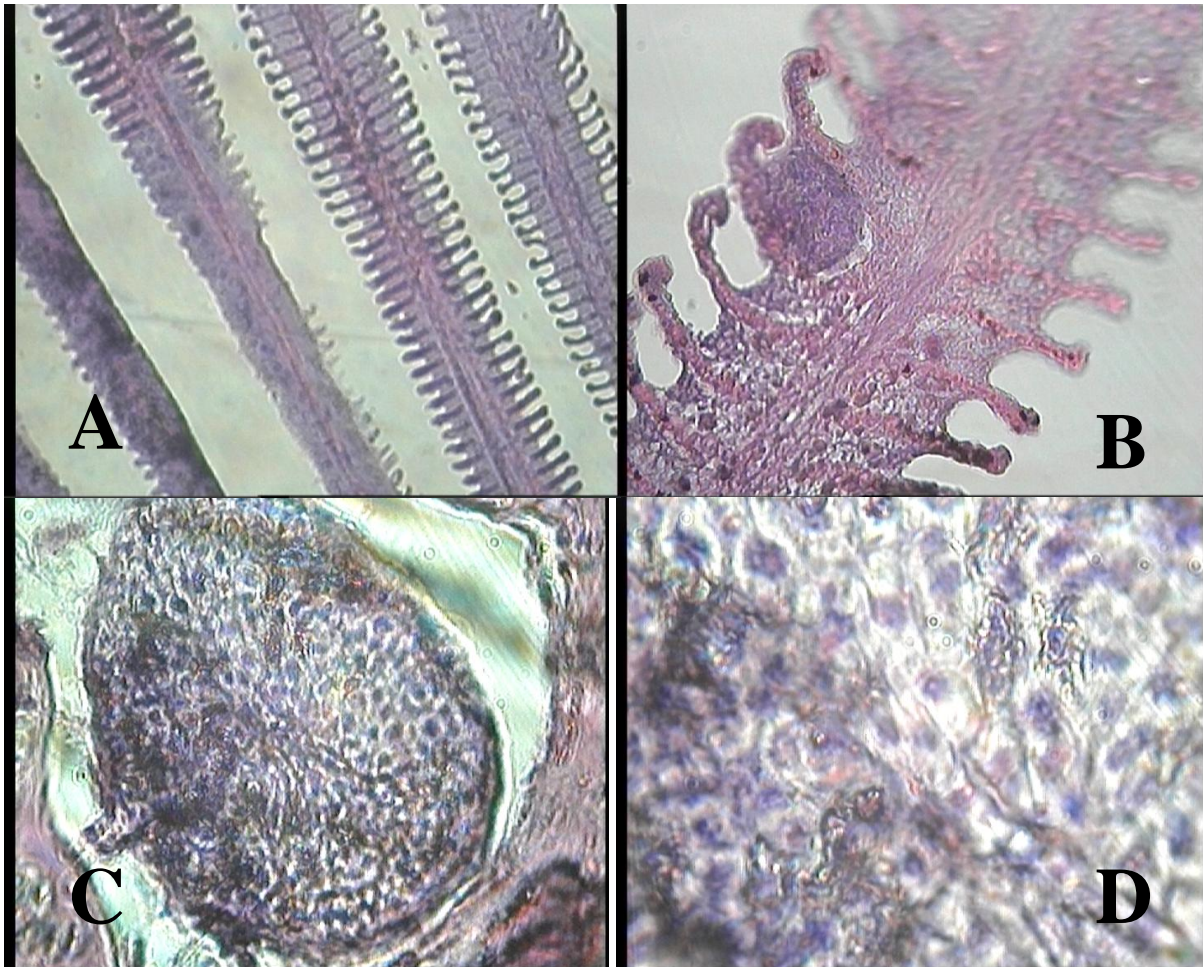


Fig. 15. Alteraciones histopatológicas producidas por *Henneguya* en branquias de *P. lineatus*. A: Hiperplasia e Hipertrofia de branquias de *P. lineatus* (200x). B: Plasmodio de *Henneguya* sp. en branquia de *P. lineatus* a nivel interlaminillar (400x). C: Plasmodio de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* (400x). D: Detalle de plasmodio de *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* (1000x).

8. DISCUSIÓN

8.1 Identificación de la especie de *Henneguya*

En cuanto a las especies de *Henneguya* que parasitan branquias de *P. lineatus* en la región de Sudamérica se han descrito tres especies: *H. caudalongula* (Adriano y col., 2005a), *H. paranaensis* (Eiras y col., 2004) y *Henneguya* sp. (Pavanelli, 1998). Éstas tres especies poseen un largo total de la espora (LT) y largo de la cola (LCo) mayor al de la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo (Cuadro 4 y Fig. 16). Esto, sumado a diferencias en otras variables morfométricas y en la morfología de las mixosporas, sugiere que podría tratarse de una nueva especie de *Henneguya* afectando *P. lineatus* del Río de La Plata y el Río Uruguay.

Cuadro 4. Medias y desvíos (μm) de las variables morfométricas de especies de *Henneguya* presentes en branquias de *P. lineatus* de la región Neotropical en comparación con las variables morfométricas de *Henneguya* registradas en el presente trabajo (datos entre paréntesis corresponden a variables morfométricas mínimas y máximas). LT: largo total, LC: largo cuerpo de la espora, LCo: largo de la cola, AC: ancho del cuerpo de la espora, LCP: largo de la cápsula polar, ACP: ancho de la cápsula polar.

Especie	LT	LC	LCo	AC	LCP	ACP	n	Referencia
<i>H. caudalongula</i>	71 \pm 1,4	16,6 \pm 0,54	52,6	4,6 \pm 0,2	6,1 \pm 0,19	1,6 \pm 0,15	40	Adriano y col, 2005a.
<i>H. paranaensis</i>	60,4 (56-63)	16,1 (14-17)	43,1 (41-46)	6,5 (6-7)	8,4 (8-9) 6,7 (6- 7)	2	30	Eiras y col, 2004
<i>Henneguya</i> sp.	51,1 (51-60,1)	12,5 (11,2-15,3)	37,1 (32-45,9)	4,8 (4-5,1)	5,8 (5,1-7,1)	2 (1,5-2)	-	Pavanelli, 1998
<i>Henneguya</i> sp.	34,8 \pm 4,23 (30-40,78)	14,04 \pm 1,96 (11,44-17,03)	20,94 \pm 4,12 (16,34-26,41)	5,53 \pm 0,81 (4,84-6,47)	7,25 \pm 1,03 (5,86-9,13)	2,79 \pm 1,27 (2,5-3,33)	128	Presente trabajo

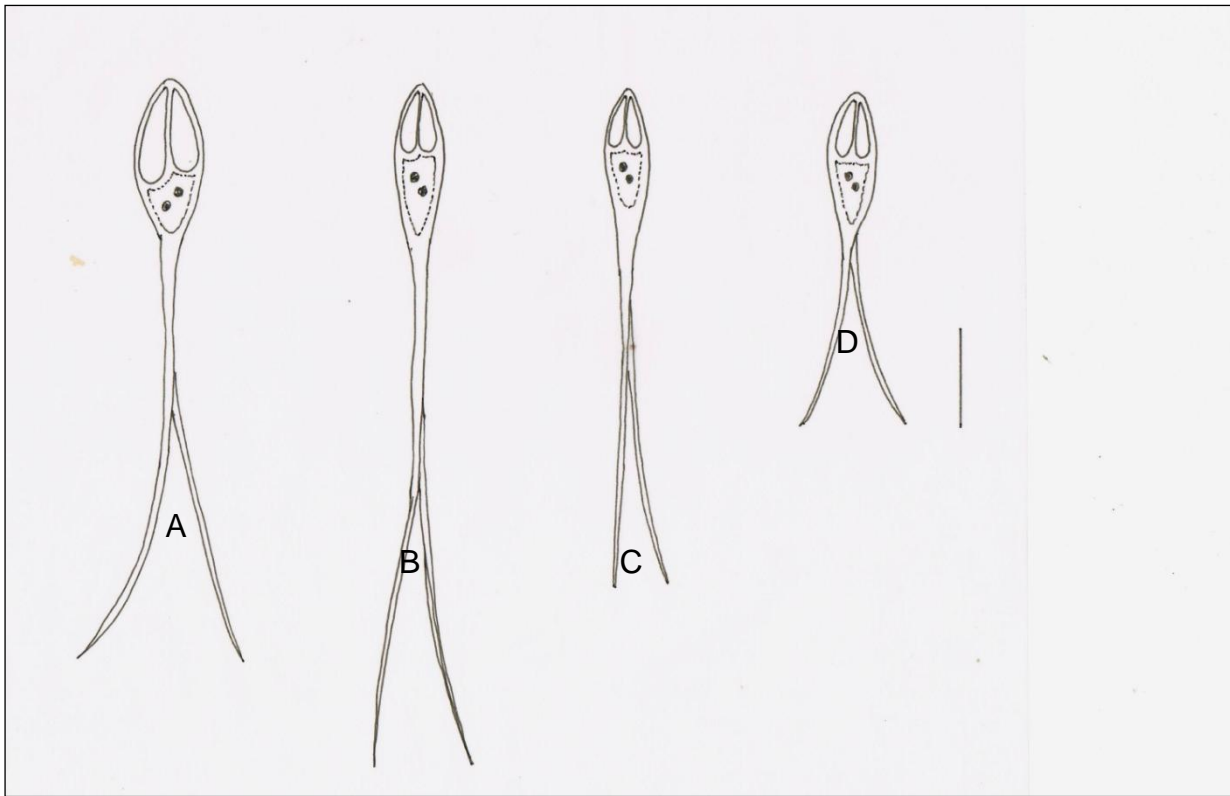


Fig.16 Representación esquemática de esporas maduras de especies de *Henneguya* en branquias de *P. lineatus*, en comparación con la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo. Bar. 10 μm . (A: *H. paranaensis*, B: *H. caudalongula*, C: *Henneguya* sp y D: *Henneguya* presente trabajo)

Según Adriano y col., (2012) existe una tendencia de especificidad de hospedero dentro de la misma familia y/o orden, demostrada en la especie *Henneguya*. Entonces, primero se realizó una comparación con todas las especies de *Henneguya* descritas en branquias de peces dentro del Orden Characiformes de la Región Neotropical (Eiras 2002; Eiras y col., 2008a; Eiras y Adriano, 2012; Azevedo y col., 2013). Se encontraron algunas similitudes en las variables morfométricas de dichas esporas de *Henneguya* con respecto a las variables morfométricas registradas en el presente trabajo.

Varias de las especies de *Henneguya* poseen un largo total similar a la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo, como *H.adherens* (Azevedo y Matos, 1995) 30,7-35,1 μm , *H. leporinicola* (Martins y col., 1999) 18,4- 40,9 μm , *H. friderici* (Casal y col., 2003) 28,7-39,3 μm , *Henneguya* sp. descritas por Pavanelli (1998) en *Leporinus obtusidens* 36,2 μm , en *Shizodon borelli* 30,2 (28,4-34,6) μm y en *Leporinus friderici* 31,2 (27,5-35,7) μm , *H. cypocharax* (Abdallah y col., 2007) 29,6-44,4 μm y *H. nagelli* (Azevedo y col., 2013) 34,5 \pm 4,2 (26,4 – 39,9) μm (Fig. 17 y Cuadro 5).

En cuanto al largo del cuerpo de la espora son similares al largo de la espora de la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo *H. adherens* 10,5-13,8 μm , *H. cypocharax* 7,7-13,4 μm , *H.garavelli* (Martins y Onaka, 2006) 13,6 \pm 1,0 μm , *H.*

malabarica (Azevedo y Matos, 1996) 11,8-13,1 μm , *H.piaractus* (Martins y Souza, 1997) 11,8-13,6 μm , *H.astyanax* (Vita y col., 2003) $15,2 \pm 0,8 \mu\text{m}$, *H.curvata* (Barassa y col, 2003a) $16,4 \pm 0,8 \mu\text{m}$, *Henneguya* sp. descrita por Pavanelli (1998) en *Shizodon borreli* 12,2 (11,2-13,2) μm y *H. nagelli* $12 \pm 0,5$ (11,2-11,9) μm .

En referencia al largo de la cola, existen varias *Henneguya* con largo de cola similar al encontrado en la *Henneguya* del presente trabajo las cuales son: *H.adherens* 20,5 (18,5 – 21,7) μm ; *H.leporinicola* 21,8 (12,9 – 32,2); *H.friderici* 19,1- 28,7 μm ; *H. cypocharax* 23,7 (20,8 – 31,5) μm ; *H.curvata* $25,3 \pm 2,3$, *Henneguya* sp. descrita por Pavanelli (1998) en *Shizodon borreli* 24,1 (22,4 – 25,5) μm y *H.nagelli* $22,4 \pm 4,0$ (14,7-27,3) μm .

Con respecto al ancho de la espora *H.adherens* 5,1-6,5 μm , *H.leporinicola* 3,6-4,9 μm , *H.friderici* 4,8-6,6 μm , *H.cypocharax* 2,9-6,3 μm , *H.wenyoni* (Pinto, 1928 por Eiras, 2002) 5,2 μm , *H.santae* (Guimaraes y Bergamin, 1934 por Eiras, 2002) $5,3 \pm 0,4 \mu\text{m}$, *H.astyanax* $5,7 \pm 0,7 \mu\text{m}$, *H.chydadea* (Barassa y col., 2003b) 3,2-5,6 μm , *H.pilosa* (Azevedo y Matos, 2003) 5,9 μm , *Henneguya* sp. descrita por Pavanelli (1998) en *Shizodon borelli* 5,6 (5,1- 6,1) μm , y *H.nagelli* $4,9 \pm 0,3$ (4,4-5,5) μm , presentan ancho de espora similar al ancho de espora registrado en las esporas de *Henneguya* del presente trabajo.

En cuanto al largo de la cápsula polar difiere la gran mayoría de las especies de *Henneguya* a excepción de *H.piaractus* 6,3-7,1 μm , *H.curvata* $7,8 \pm 0,3 \mu\text{m}$ y *H. pilosa* 7,4 μm en comparación a las variables morfométricas registradas en el presente trabajo.

El ancho de las cápsulas polares de la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo difiere de todas las variables morfométricas de las especies de *Henneguya* que parasitan branquias de peces Characiformes de la región Neotropical.

En referencia a otros órganos parasitados por *Henneguya* encontramos a *H. curimata* (Azevedo y Matos, 2002) que parasita el riñón de *Curimata inornata* (Orden Characiformes). Algunas variables morfométricas de dicha *Henneguya*, como el largo total (34,2-36,1 μm), el largo del cuerpo de la espora (16,0-17,4 μm) y el ancho de la espora (5,8-6,6 μm) son similares a las variables morfométricas de *Henneguya* registradas en el presente trabajo.

También está descrita *H. pellucida* (Adriano y col., 2005b) que parasita la membrana serosa de la cavidad visceral y la túnica externa de la vejiga gaseosa del *Piaractus mesopotamicus* (Orden Characiformes). Esta *Henneguya* posee un largo total ($33,3 \pm 1,5 \mu\text{m}$) similar a la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo.

H.leporini (Nemeczeck, 1926 por Eiras, 2002) presente en *Leporinus mormyrops* localizada en ductos urinarios posee variables morfométricas similares: 28-33 μm largo total, 13-15 μm largo del cuerpo, 5,0 μm ancho de la espora y 5-8 μm largo capsula polar (Cuadro 5).

En cuanto a otros hospederos de otros ordenes (Orden Siluriformes), el *Pseudoplatystoma corruscans* es parasitado en las branquias por *H. multiplasmodialis* (Adriano y col., 2012), *H. corruscans* (Eiras y col., 2009) y *H. eirasi* (Naldoni y col., 2011). La primera presenta todas las variables morfométricas similares a la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo (LT: $30,8 \pm 1,3 \mu\text{m}$; LC

14,7 ± 0,5 µm; LCo 15,4 ± 1,3 µm; AC 5,2 ± 0,3 µm; LCP 6,1 ± 0,1 µm y ACP 1,4 ± 0,1 µm). Se diferencia en que el proceso caudal solo es bifurcado al final y que el largo total es un poco menor al de la *Henneguya* del presente trabajo (Fig. 17). Además los plasmodios desarrollados en las branquias son de mayores dimensiones, de localización interlamelar pero alterando varias laminillas en su crecimiento y septados. Otras especies de *Henneguya*, como *H. corruscans* posee algunas variables morfométricas similares como LC 14,3 (13-15) µm, AC 5 µm, LCP 6,8 (6-7) µm, pero se diferencia en que posee un menor largo total 27,6 (25-29) µm. *H. eirasi* posee dos variables morfométricas similares LT 37,1 ± 1,8 µm y LC 12,9 ± 0,8 µm.

El *Hoplosternum littorale* es parasitado en branquias por *H. guanduensis* (Abdallah y col., 2007) la cual posee varias variables morfométricas similares a la *Henneguya* descrita en el presente trabajo LT: 33,6 (27,3 – 38,1) µm; LC: 14,6 (11,4-16,7) µm; AC 6,5 (4,9-7,9) µm y LCo 19,0 (15,6-22,5) µm.

En *Rhamdia quelen* se ha descrito *H. rhamdia* (Matos y col., 2005) parasitando branquias, y solo dos variables morfométricas son similares a la *Henneguya* del presente trabajo LC: 13,1 ± 1,1 µm y AC: 5,2 ± 0,5 µm.

Un híbrido (*Pseudoplatystoma corruscans* x *P. fasciatum*) es parasitado en branquias por *H. pseudoplatystoma* (Naldoni y col., 2009) Ésta mide de largo total 33,2 ± 1,9 µm (similar al encontrado en nuestro trabajo), pero no coincide en las demás variables morfométricas (Cuadro 5).

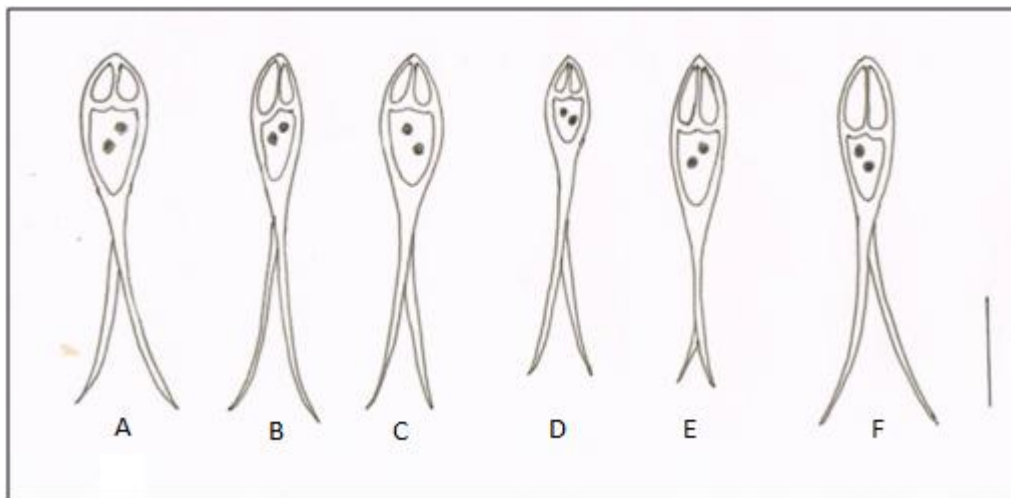


Fig.17. Representación esquemática de esporas maduras de especies de *Henneguya* en branquias de peces dentro del orden Characiformes y Siluriformes con variables morfométricas similares a la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo.

(A. *H. guanduensis*, B. *H. nagelli*, C. *H. adherens*, D. *H. leporinicola*, E. *H. multiplasmodialis* y F. *Henneguya* presente trabajo). Bar 10 µm.

En resumen esta *Henneguya*:

- se diferencia de las descritas en *P. lineatus* del Río Paraná (*H. paranaensis*, *H. caudalongula* y *Henneguya* sp.) por el largo mucho menor de la cola y el tamaño mayor de las cápsulas polares.
- Se diferencia de *H. guanduensis* y de *H. nagelli* por la simetría de las cápsulas polares, el largo mayor de las cápsulas polares, y el huésped diferente.
- Se diferencia de *H. leporinicola* y *H. adherens* por el diferente tamaño (longitud y ancho) de las cápsulas polares y el huésped diferente. Además, *H. leporinicola* posee un largo de cuerpo de la espora menor.
- Se diferencia de *H. multiplasmoidal* por la forma de la cola, el huésped diferente y por la morfología muy diferente del plasmodio.

Por lo tanto la morfometría de la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo no coincide con la de ninguna de las descritas hasta el momento en la especie de pez estudiada, en otros peces de la misma familia o en peces de otras familias de la región Neotropical, lo que nos permite suponer que puede tratarse de una nueva especie. Para confirmar esto se necesitarían realizar estudios moleculares.

8.2 Prevalencia de la parasitosis

Con respecto a la prevalencia ocasionada por *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* en Uruguay (49,4%), fue similar a la encontrada por otros autores (cuadro 5).

Cuadro 5. Prevalencia de la parasitosis ocasionada por *Henneguya* sp. en branquias de *P. lineatus* del Río de La Plata y Río Uruguay, en comparación con prevalencias similares de otras especies de *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* y otros peces Characiformes de la Región Neotropical.

	Prev. (%)	Hospedero	Órgano	Referencia
<i>Henneguya</i> sp.	49,4	<i>P. lineatus</i>	Branquias	Presente trabajo
<i>H. caudalongula</i>	48,3	<i>P. lineatus</i>	Branquias	Adriano y col., 2005a
<i>H. adherens</i>	55,5	<i>Acestrorhynchus falcatus</i>	Branquias	Azevedo y Matos, 1995
<i>H. piaractus</i>	45,4	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Branquias	Azevedo y col., 2010

Según Feist y Longshaw (2006), en las regiones templadas como nuestro país, los oligoquetos liberan mayor cantidad de actinosporas en primavera y verano. Entonces podemos pensar que la prevalencia de la parasitosis debería ser más alta en la estación cálida debido al mayor número de elementos infestantes presentes en el agua,

Sin embargo, igual que en los trabajos de Adriano y col., (2005a), Naldoni y col., (2011) y Barassa y col., (2003b), no se encontraron diferencias significativas en la prevalencia en las diferentes épocas del año ni entre individuos.

Esto podría indicar que el ciclo de vida de esta *Henneguya* sp. no está influenciado por factores medioambientales y que el desarrollo de éste metazoario no está afectado por el hospedero.

8.3 Descripción de lesiones histopatológicas

Con respecto a la histopatología, Molnár (2002) estudió la localización de los plasmodios de mixozoarios en las branquias de los peces, describiendo cuatro posibles localizaciones: en los vasos sanguíneos, en el epitelio, dentro del tejido conjuntivo y en el cartílago. Una misma especie de pez puede tener mixozoarios de diferentes especies localizados en distintos lugares de la branquia, pero la misma especie de mixozoario parece localizarse siempre en el mismo sitio branquial (Fig. 18). Por lo tanto Eiras y col., (2008a) postulan que la localización del plasmodio debe considerarse una característica con valor taxonómico. En nuestro trabajo encontramos plasmodios repletos de mixosporas a nivel interlaminillar de branquias, similar a los encontrados por Rocha (1992), Martins y col., (1999), Vita y col., (2003), Barassa y col., (2003 a), Adriano y col., (2005 a) y Eiras y col., (2009) en branquias parasitadas con *Henneguya amazonica*, *H. leporinicola*, *H. astyanax*, *H. curvata*, *H. caudalongula* y *H. corruscans*, respectivamente. Rodeando al plasmodio se evidenció una capa de células epiteliales, al igual que en branquias parasitadas por *H. curvata* y *H. corruscans*. Los cambios patológicos observados como hiperplasia branquial también fueron descritos por Martins y Souza (1997), Martins y col., (1999), Vita y col., (2003) y Adriano y col., (2005 a) en branquias infectadas por *H. piaractus*, *H. leporinicola*, *H. astyanax* y *H. caudalongula*, respectivamente. Según Meldau de Campos y col., (2011) la hiperplasia es la respuesta común de la branquia frente a las infecciones por parásitos. Los quistes en los filamentos branquiales comprimen y dilatan el epitelio, y ejercen presión sobre las laminillas adyacentes al aumentar el espesor laminillar causando deformación. Esto altera la función branquial afectándose la eficiencia del intercambio gaseoso y el intercambio iónico, y causa discapacidad excretoria de las branquias (Ferguson, 2006).

Estas alteraciones branquiales pueden estar jugando un papel como concausa de algunas mortandades de *P. lineatus* observadas en el Río Uruguay y Río de la Plata.

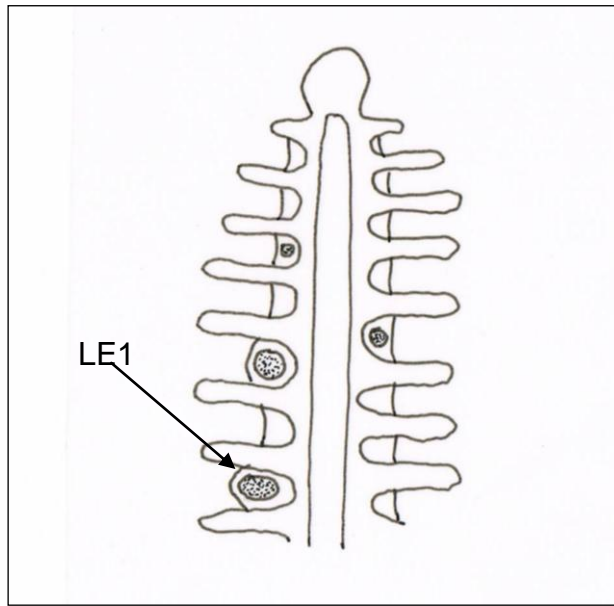


Fig.18 Representación esquemática del desarrollo de plasmodios en branquias según Molnar (2002) a nivel interlamelillar dentro del epitelio (LE1= pequeños plasmodios)

8.4 Posible utilización de *Henneguya* sp. encontrada en el presente trabajo como indicador biológico de poblaciones de *P. lineatus*

En el Río de la Plata se mezclan dos poblaciones de *P. lineatus*, una proveniente del Río Paraná y la otra proveniente del Río Uruguay. Según Ramella y col., (2006) los *P. lineatus* capturados en el Río Uruguay Alto poseen una alta variabilidad genética, lo que sugiere la existencia de diferentes poblaciones de *P. lineatus* movilizándose en la misma región. También se encontró una alta variabilidad genética en *P. lineatus* del Río Paraná Alto, pero con una poca división en subpoblaciones (Sivasundar y col., 2001). Esto podría sugerir la existencia de dos poblaciones de *P. lineatus* en la Cuenca del Plata, una proveniente del Río Paraná y otra proveniente del Río Uruguay.

La especie de *Henneguya* encontrada en *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay, reúne varios de los requisitos para ser utilizada como indicador biológico de poblaciones de peces. Dichos requisitos que posee son: alta especificidad por el hospedero y órgano blanco, facilidad de detección con un mínimo de disección y que el ambiente de los *P. lineatus* es favorable para el desarrollo de este mixosporidio.

Ésta especie de *Henneguya* encontrada en branquias de *P. lineatus* del Río Uruguay y Río de la Plata parece ser diferente a la descrita en branquias de *P. lineatus* del Río Paraná.

En base a todo esto, podría utilizarse la especie de *Henneguya* encontrada en branquias de *P. lineatus* del Río Uruguay y Río de la Plata como indicador biológico de poblaciones de *P. lineatus* de la Cuenca del Plata, diferenciándose de las poblaciones de *P. lineatus* del Río Paraná, las cuales son parasitadas por una diferente especie de *Henneguya*.

Cuadro 6. Variables morfométricas (expresadas en μm) de especies de *Henneguya* descritas en branquias y otros órganos de peces dentro del orden Characiformes y Siluriformes, de la Región Neotropical (LT largo total de la espora; LC largo del cuerpo de la espora; AC ancho del cuerpo de la espora; LCo: largo de la cola; LCP largo de cápsula polar y ACP ancho de cápsula polar)

Especie	LT	LC	AC	LCo	LCP	ACP	Hospedero	Ref.
<i>H. adherens</i>	32,3 (30,7- 35,1)	12,4 (10, 5- 13,8)	5,8 (5,1 - 6,5)	20,5 (18, 5- 21,7)	3,1 (2,8 - 3,5)	1,2 (1,0- 1,6)	<i>Acestrorhynchus falcatus</i> *	Azevedo y Matos, 1995
<i>H. leporinícola</i>	18,4- 40,9	7,6 (5,5 - 8,7)	4,2 (3,6 - 4,9)	21,8 (12, 9- 32,2)	3,0 (2,0 - 3,6)	1,6 (1,2- 2,0)	<i>Leporinus macrocephalus</i> *	Martins y col., 1999
<i>H. friderici</i>	28,7- 39,3	9,6- 11,8	4,8- 6,6	19,1 - 28,7	4,2- 5,9	1,5- 2,6	<i>Leporinus friderici</i> *	Casal y col., 2003
<i>Henneguya</i> <i>sp.</i>	36,2 (33,6- 39,7)	8,7 (8,1 - 9,1)	4,6 (4,0 - 5,1)	27,7 (26, 5- 28,5)	3,8 (3,5 - 4,0)	1,5	<i>Leporinus obtusidens</i> *	Pavanelli y col., 1998
<i>H. cypocharax</i>	35,1 (29,6- 44,4)	11,3 (7,7 - 13,4)	4,4 (2,9 - 6,3)	23,7 (20, 8- 31,5)	5,2 (4,2 - 6,3) 4,5 (3,4 - 5,2)	1,9 (1,5- 2,3) 1,7 (1,3- 2,2)	<i>Cyphocharax gilbert</i> *	Abdallaha y col., 2007
<i>H. guanduensis</i>	33,6 (27,3- 38,1)	14,6 (11, 4- 16,7)	6,5 (4,9 - 7,9)	19,0 (15, 6- 22,5)	4,4 (3,3 - 5,6) 4,1 (3,3 - 5,3)	2,0 (1,6- 2,3) 2,2 (1,8- 2,8)	<i>Hoplosternum littorale</i> **	Abdallah y col., 2007
<i>H. nagelli</i>	34,5 \pm 4,2 (26,4-	12 \pm 0,5	4,9 \pm 0,3	22,4 \pm 4,0 (14,	4,9 \pm 0,4 (4-	1,8 \pm 0,2 (1,5-	<i>Cyphocharax nagelii</i> *	Azevedo y col., 2013

	39,9)	(11, 2-11,9)	(4,4 - 5,5)	7- 27,3)	5,9) 5,2 ±0,4 (4,6 - 6,0)	2,2)		
<i>H. garavelli</i>	46,6 ± 2,4 (41,2-51,5)	13,6 ± 1,0 (12,0-14,4)	4,0 ± 0,1 (3,9 - 4,1)	33,0 (29,2-37,5)	5,4 ± 0,4 (4,8 - 6,0)	1,2 ± 0,1 (1,0-1,5)	<i>Cyphocharax nagelli</i> *	Martins y Onaka, 2006
<i>H. rhamdia</i>	50,0 ± 1,8	13,1 ± 1,1	5,2 ± 0,5	36,9 ± 1,6	4,7 ± 0,4	1,1 ± 0,2	<i>Rhamdia quelen</i> **	Matos y col., 2005
<i>H. malabarica</i>	28,3 (26,6-29,8)	12,6 (11,8-13,1)	3,6- 4,8	17,1 (16,2-18,9)	3,7 (3,0 - 4,3)	1,8 (1,6-2,2)	<i>Hoplias malabaricus</i> *	Azevedo y Matos, 1996
<i>H. astyanax</i>	47,8 ± 0,7	15,2 ± 0,7	5,7 ± 0,7	32,6 ± 1,1	5,0 ± 0,12	1,5 ± 0,07	<i>Astyanax keithi</i> *	Vita y col., 2003
<i>H. curvata</i>	41,7 ± 2,7	16,4 ± 0,8	4,7 ± 0,2	25,3 ± 2,3	7,8 ± 0,3	1,4 ± 0,2	<i>Serrasalmus spilopleura</i> *	Barassa y col., 2003a
<i>Henneguya</i> sp.	30.2 (28.4-34.6)	12.2 (11.2-13.2)	5.6 (5.1-6.1)	24,1 (22,4-25,5)	5.3 (4.0 - 6.1)	2,0	<i>Shizodon borrellii</i> *	Pavanelli y col., 1998

<i>H. wenyoni</i>	21.0	10.2	5.2	8-12	3.7	1.5	<i>Tetragonopterus sp.*</i>	Pinto, 1928 (por Eiras, 2002)
<i>H. santae</i>	21,0 ± 1,1	9,6 ± 0,5	5,3 ± 0,4	8,7-12,7	3,0 ± 0,3	-	<i>Tetragonopterus santae*</i>	Guimaraes y Bergamin, 1934 (por Eiras, 2002)
<i>H. chydadea</i>	17,6-20,0	8,8-11,2	3,2-5,6	8 - 9,6	3,2-4,4	1,2-1,6	<i>Astianax altiparanae*</i>	Barassa y col., 2003b
<i>H. pilosa</i>	54.2 (52,3-56,0)	21.1 (20,0-23,1)	5.9 (5,5-6,3)	30,5 - 34,9	7.4 (7,1 - 7,6)	1.2 (1,0 - 1,3)	<i>Serrasalmus altuvei*</i>	Azevedo y Matos, 2003
<i>H. piaractus</i>	52,5 (47,6-56,3)	12,7 (11,8-13,6)	3,6 (3,2-3,9)	41,2 (39,7-43,6)	6,7 (6,3-7,1)	1,2 (0,9-1,6)	<i>Piaractus mesopotamicus*</i>	Martins y Souza, 1997
<i>H. curimata</i>	34,2-36,1	16,0 - 17,4	5,8-6,6	18,3 - 19,9	6,5 ± 0,3	1,2 ± 0,2	<i>Curimata inornata*</i>	Azevedo y Matos, 2002
<i>H. pellucida</i>	33,3 ± 1,5	11,4 ± 0,3	4,1 ± 0,4	24,1 ± 1,5	4,0 ± 0,4	1,6 ± 0,2	<i>Piaractus mesopotamicus*</i>	Adriano y col., 2005b
<i>H. leporini</i>	28 - 33	13 - 15	5,0	15-18	5 - 8	-	<i>Leporinus mormyrops*</i>	Nemeczek, 1926 por Eiras, 2002
<i>H. multiplasmoidalis</i>	30,8 ± 1,3	14,7 ± 0,5	5,2 ± 0,3	15,4 ± 1,3	6,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1	<i>Pseudoplatystoma corruscans**</i>	Adriano y col., 2012

H. corruscans	27,6 (25- 29)	14,3 (13- 15)	5	13,7 (12- 15)	6,8 (6 - 7)	2	<i>Pseudoplaty stoma corruscans</i>	Eiras y col., 2009
H. eirasi	37,1 ± 1,8	± 12,9 ± 0,8	3,4 ± 0,3	24,6 ± 2,2	5,4 ± 0,5	0,7 ± 0,1	<i>Pseudoplaty stoma corruscans</i>	Naldoni y col., 2011
H. pseudoplatys toma	33,2 ± 1,9	± 10,4 ± 0,6	3,4 ± 0,4	22,7 ± 1,7	3,3 ± 0,4	1,0 ± 0,1	<i>Pseudoplaty stoma corruscans x P. fasciatum</i>	Naldoni y col., 2009

* Orden Characiformes, ** Orden Siluriformes

H. curimata descrita en riñón, *H. pellucida* descrita en cav. visceral y vejiga gaseosa y *H. leporini* descrita en ductos urinarios (todas las demás especies de *Henneguya* fueron descritas en branquias)

A partir de todos estos estudios comparativos (en base a las variables morfométricas y morfología de las especies) entre la *Henneguya* encontrada en el presente trabajo y las demás especies de *Henneguya* (localizadas en branquias y otros órganos) descritas en *P. lineatus* y otros peces del orden Characiformes y Siluriformes, dentro de la región Neotropical, podríamos suponer que estamos en presencia de una nueva especie de *Henneguya*, parasitando branquias de *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay. Para un diagnóstico definitivo se realizarán en un futuro estudios moleculares por la técnica PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa). En la actualidad ésta técnica ha favorecido mucho en el conocimiento de la taxonomía de los mixosporidios. En cuanto a la prevalencia de la parasitosis y la patogenicidad, se observó la presencia de *Henneguya* en branquias, en casi la mitad (49,2 %) de los *P. lineatus* muestreados y los daños patológicos a la histopatología de branquias, revelaron la presencia de plasmodios a nivel interlamillar capaces de afectar la salud del pez. Por otro lado, ésta *Henneguya* sp. podría utilizarse como indicador biológico de poblaciones de *P. lineatus* de la Cuenca del Plata.

9. CONCLUSIONES

- La especie de *Henneguya* encontrada en branquias de *P. lineatus* del Río de la Plata y Río Uruguay, no corresponde a *H. paranaensis*, *Henneguya* sp ni *H. caudalongula*, descritas en branquias de *P. lineatus* en Brasil.
- Las variables morfométricas de *Henneguya* en branquias de *P. lineatus* registradas en el presente trabajo no concuerdan con las demás variables morfométricas de *Henneguya* en branquias y otros órganos de *P. lineatus* ni en otros peces del orden Characiformes y Siluriformes de la Región Neotropical, por lo que se sugiere que es una nueva especie de *Henneguya*.
- No se registraron diferencias significativas de la prevalencia de la parasitosis según las estaciones del año ni el tamaño de los peces.
- Se observaron alteraciones histopatológicas como hiperplasia e hipertrofia de las laminillas secundarias branquiales y la presencia de un plasmodio a nivel interlaminillar.
- La especie de *Henneguya* del presente trabajo podría indicar que las poblaciones de *P. lineatus* del Río Uruguay son diferentes a las poblaciones de *P. lineatus* del Río Paraná de la Cuenca del Plata.
- Puesta a punto de la técnica de identificación de mixosporidios en la Facultad de Veterinaria, a través de la medición de las variables morfométricas de las mixosporas.

10. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Abdallah V.; Azevedo R.; Luque J.; Bomfim T. (2007) Two new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa, Myxobolidae), parasitic on the gills of *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) and *Cyphocharax gilbert* (Curimatidae) from the Guandu River, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol Latinoam*; 62: 35-41.
- 2- Adriano E.; Carriero M.; Maia A.; Silva M.; Naldoni J.; Ceccarelli P.; Arana S. (2012) Phylogenetic and host-parasite relationship analysis of *Henneguya multiplasmodialis* n.sp. infecting *Pseudoplatystoma* spp. in Brazilian Pantanal wetland. *Vet Parasitol*; 185: 110-120.
- 3- Adriano E.; Arana S.; Cordeiro N. (2005a) Histopathology and ultrastructure of *Henneguya caudalongula* sp.n. infecting *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) cultivated in the state of Sao Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, (Rio de Janeiro) 100:177-181.
- 4- Adriano E.; Arana S.; Cordeiro N. (2005b) An ultrastructural and histopathological study of *Henneguya pellucida* n.sp. (Myxosporea:Myxobolidae) infecting *Piaractus mesopotamicus* (Characidae) cultivated in Brazil. *Parasite*; 12: 221-227.
- 5- Alvarez P.; Barja J.; Blanch A.; Estévez A.; Figueras A.; Giorgetti G.; Jofre J, Mcallister E.; Sarti M.; Villalba A. (1988) Patología en Acuicultura. Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura. Madrid. Comisión Investigación Científica y Técnica; 218: 235-236.
- 6- Azevedo R.; Abdallah V.; Paes J.; Silva R.; Matos P.; Velasco M.; Matos E. (2013) *Henneguya nagelii* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in *Cyphocharax nagelii* (Steindachner, 1881) (Teleostei: Characiformes: Curimatidae) from the Peixe's River, São Paulo State, Brazil. *Parasitol Res*; 112 : 3601- 3605.
- 7- Azevedo C.; Marques D.; Casal C.; Amaral C.; Silva E.; Matos P.; Matos P. (2010) Ultrastructural Re-description of *Henneguya piaractus* (Myxozoa), a Parasite of the Freshwater Fish *Piaractus mesopotamicus* (Teleostei, Characidae) from the Paraguay River, Brazil. *Acta Protozool*; 49: 115-120.
- 8- Azevedo C.; Matos E. (2003). Fine structure of *Henneguya pilosa* sp. N. (Myxozoa: Myxosporea), parasite of *Serrasalmus altuveii* (Characidae), in Brazil. *Folia Parasitol*; 50: 37-42.
- 9- Azevedo C.; Matos E. (2002) Fine structure of the myxosporean *Henneguya curimata* n.sp., parasite of the Amazonian fish, *Curimata inornata* (Teleostei, Curimatidae). *J Eukaryot Microbiol*; 49: 197-200.
- 10- Azevedo C.; Matos E. (1996) *Henneguya malabarica* sp. nov. (Myxozoa, Myxobolidae) in the Amazonian fish *Hoplias malabaricus*. *Parasitol Res*; 82: 222-224.

- 11- Azevedo C.; Matos E. (1995) *Henneguya adherens* sp. n. (Myxozoa, Myxosporea) parasite of the Amazonian fish, *Acestrorhynchus falcatus*. J Eukariot Microbiol; 42: 515-518.
- 12- Barassa B.; Adriano E.; Cordeiro N.; Arana S.; Ceccarelli P. (2012) Morphology and host-parasite interaction of *Henneguya azevedoi* n. sp., parasite of gills of *Leporinus obtusidens* from Mogi-Guacu River, Brazil. Parasitol Res; 110: 887-894.
- 13- Barassa B.; Adriano E.; Arana S.; Cordeiro N. (2003a) *Henneguya curvata* sp.n. (Myxosporea, Myxobolidae) parasitizing the gills of *Serrasalmus spilopleura* (Characidae: Serrasalminae) a south american freshwater fish. Folia Parasitol; 50: 151-153.
- 14- Barassa B.; Cordeiro N.; Arana S. (2003b) A new species of *Henneguya*, a gill parasite of *Astyanax altiparanae* (Pisces: Characidae) from Brazil, with comments on histopathology and seasonality. Mem Inst Oswaldo Cruz; 98: 761-765.
- 15- Barroso M. (2007) Pesquisas Patológicas e Genéticas em Recursos Pesqueiros da Bacia do Alto Paraguai. Brasilia, Ibama. 42 p.
- 16- Brickle P.; Mackenzie K. (2007) Parasites as biological tags for *Eleginops maclovinus* (Teleostei:Eleginopidae) around the Falkland Islands. J. Helminthol; 81: 147-153.
- 17- Britski, H. (1972) Peixes de Água Doce de Estado de São Paulo em Poluição e Piscicultura. Inst. Pesca São Paulo: 79-108.
- 18- Bruno D.W.; Nowak B.; Elliott D.G. (2006) Guide to identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. Dis Aquat Org; 70:1-36.
- 19- Carnales, D.; Carnevia, D.; Chiavino, C.; Chiavino, D. (2012) Morfología y taxonomía de mixosporídios del género *Henneguya* en branquias y piel de *P. lineatus Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) del Rio de la Plata y Uruguay. II Congr. Uruguayo Zool. Montevideo, Uruguay, 139 p.
- 20- Carnevia, D.; Letamendía, M. y Perretta, A. (2010). Primer registro del género *Chilodonella* Strand, 1926 (Ciliophora: Chilodontidae) parasitando *P. lineatus Prochilodus lineatus* (Pisces: Characiformes) procedentes del Rio Santa Lucía. I Congr. Uruguayo Zool. Montevideo, Uruguay, 80 p.
- 21- Carnevia D. (2008) Análisis de las oportunidades de cultivo de especies acuáticas en Uruguay. Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura. Montevideo. DINARA-FAO. 40 p.
- 22- Carriero MM.; Adriano EA.; Silva MRM.; Ceccarelli PS.; Maia AAM. (2013) Molecular Phylogeny of the *Myxobolus* and *Henneguya* Genera with Several New South American Species. Plos One 8(9): e73713. doi:10.1371/journal.pone.0073713

- 23- Carvalho-Varela M. (2002) Parasitosis de los peces. Parasitosis internas. En: Cordero del Campillo, M; Rojo F. Parasitología Veterinaria. Madrid. McGraw- Hill- Interamericana. p 865-901.
- 24- Casal G.; Matos E.; Azevedo C. (2003) Light and electron microscopic study of myxosporean, *Henneguya friderici* n.sp. from the Amazonian teleostean fish. *Leporinus friderici*. Parasitol; 126: 313-319.
- 25- Ceccarelli P.; Adriano E.; Cursino S.; Figueiredo R.; Lacerda L. (2007) Levantamento Quali-Quantitativo da Fauna Parasitológica de Peixes do Pantanal Mato-Grossense. En: Pesquisas Patológicas e Genéticas em Recursos Pesqueiros da Bacia do Alto Paraguai. Centro de Pesquisa e Gestao de Recursos Pesqueiros Continentais Pesquisas Patológicas y Genéticas em Recursos Pesqueiros da Bacia do Alto Paraguai. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renovaveis. Brasilia. Ibama. 169 p. 21-123 p.
- 26- Cortéz, G. (2003) Guía para el manejo, cría y conservación del bocachico *Prochilodus magdaleana* (Steindachner, 1878). Bogotá. Convenio Andrés Bello. 49 p.
- 27- Cousseau M.; Díaz J.; Ehrlich M.; Fabrè N.; Figueroa D. (2010). Ictiología. Aspectos fundamentales. La vida de los peces sudamericanos. FAO. Universidad Nacional de Mar del Plata. Argentina. 665 p.
- 28- Croux, M. (1992) Comportamiento y crecimiento de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Curimatidae) en condiciones controladas. Rev. Assoc. Ciencias Nat. Litoral; 23: 9-20.
- 29- Eiras J.; Adriano E. (2012) A checklist of new species of *Henneguya* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea, Myxobolidae) described between 2002 and 2012. Syst Parasitol; 83:95-104.
- 30- Eiras J.; Takemoto R.; Pavanelli G. (2009) *Henneguya corruscans* n. sp (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae), a parasite of *Pseudoplatystoma corruscans* (Osteichthyes, Pimelodidae) from the Paraná River, Brazil: A morphological and morphometric study. Vet Parasitol; 159: 154-158.
- 31- Eiras J.; Takemoto R.; Pavanelli C. (2008a) *Henneguya caudicula* n.sp. (Myxozoa, Myxobolidae) a parasite of *Leporinus lacustris* (Osteichthyes, Anostomidae) from the High Parana River, Brazil, with a revision of *Henneguya* spp. Infecting South American fish. Acta Protozool; 47:149-154.
- 32- Eiras J.; Chemes S.; Casabianca O.; Takemoto R.; Rosii L.; Pavanelli G. (2008b) An unusual infection of *Henneguya* sp. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae) in the gills of *Hoplosternum littorale*, Hancock, 1928 (Osteichthyes, Callichthyidae) from Middle Paraná River, Santa Fe, Argentina. Bull Eur Ass. Fish Pathol; 28: 22-26.

- 33- Eiras J.; Pavanelli C.; Takemoto R. (2004) *Henneguya paranaensis* sp. n. (Myxozoa, Myxobolidae), a parasite of the teleost fish *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) from the Paraná River, Brazil. Bull. Eur. Ass Fish Pathol; 24:308-311.
- 34- Eiras J. (2002) "Synopsis of the species of the genus *Henneguya* Thélohon, 1892 (Myxozoa: Myxosporea: Myxobolidae)". System Parasitol; 52: 43-54.
- 35- Eiras J. (1994) Elementos de Ictioparasitología. Porto, Fundación Eng. Antonio de Almeida. 339 p.
- 36- FAO (2012) El estado mundial de la Pesca y Acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma. 251 p. Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/sofia/es>. Fecha de consulta: 20/7/13.
- 37- Feijó, M.; Arana S.; Ceccarelli P.; Adriano A. (2008) Light and scanning electron microscopy of *Henneguya arapaima* n. sp.(Myxozoa:Myxobolidae) and histology of infected sites in piracucu *Arapaima gigas* (Pisces: Arapaimidae) from the Araguaia River, Brazil. Vet Parasitol; 157: 59-64.
- 38- Feist SW.; Longshaw M. (2006) Phylum Myxozoa en Woo P.T.K Fish Diseases and Disorders, Volume 1:Protozoan and Metazoan Infections. 2° ed. Wallingford, CABI, 230-296.
- 39- Ferguson H. (2006) Systemic Pathology of fish. A text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and their Responses in Disease. Iowa. Scotian Press. 367 p.
- 40- Froese, R.; Pauly D. (2013) FishBase World Wide Web electronic publication. Disponible en: <http://www.fishbase.org>. Fecha de consulta: 8/7/13.
- 41- Gardiner C., Fayer R., Dubey J. (1988) An atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues. United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook. N° 651. 83 p.
- 42- González M. (2002) Parasitosis de los peces. Parasitosis externas. En: Cordero del Campillo, M; Rojo F. Parasitología Veterinaria. Madrid. McGraw- Hill- Interamericana. 847-864 p.
- 43- Guerrero RA.; Acha ME.; Framiñan MB.; Lasta CA (1997) Physical Oceanography of the Rio de la Plata Estuary. Con Shelf Res; 17: 727-742.
- 44- Iregui C.; Eslava P.; Martinez E.; Figueroa J. (1999) Descripción de un caso de Mixosporidiasis Clínica en Cachama Blanca *Pyaractus Brachypomus*. Asoc. Colom. Ictiol; 3: 17-29.
- 45- Kahn C. (2007) Manual Merk de Veterinaria. 6ª edición. Barcelona. Océano. V.2. 2682 p.

- 46- Karasev, A. (1988) Myxosporidian *Myxobolus aeglefini* (Cnidospora: Myxosporea) blue whiting biological tag from the Celtic Sea and adjacent waters. ICES C.M. H: 27. 16 p.
- 47- Keim A. (1982). Manual de Métodos Parasitológicos e Histopatológicos en Piscicultura. Instituto Nacional de Pesca. Montevideo, Uruguay. Informe Técnico N°31. 49 p.
- 48- Kent. M.; Andree K.; Bartholomew J.; El-Matbouli M.; Desser S.; Devlin R.; Feist S.; Hedrick R.; Hoffmann R.; Khattra J.; Hallett S.; Lester R.; Longshaw M.; Palenzeula O.; Sidall M.; Chiao C. (2001) Recent Advances in Ower Knowledge of the Myxozoa. J Eukaryot Microbiol; 48: 1-19.
- 49- Lom J.; Dyková I. (2006) Myxozoan genera: Definition and notes on taxonomy, life cycle terminology and pathogenic species. Folia Parasitol; 53:1-36.
- 50- Lom J.; Arthur J. (1989). A guideline for the preparation of species description in Myxosporea. J. Fish Dis; 12: 151-156.
- 51- Martins M.; Onaka E. (2006) *Henneguya garavelli* n. sp. and *Myxobolus peculiaris* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae) in the gills of *Cyphocharax nagelli* (Osteichthyes: Curimatidae) from Rio do Peixe Reservoir, Sao José do Pardo, Sao Paulo, Brazil. Vet Parasitol; 137:253-261.
- 52- Martins M.; Souza V.; Moraes J.; Moraes F. (1999) Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello y Britsky , 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n.sp. (Myxozoa:Myxobolidae). Description, Histopathology and Treatment. Brasil Biol; 59: 527-534.
- 53- Martins M.; Souza V. (1997) *Henneguya piaractus* n. sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a gill parasite of *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae), in Brazil. Brasil Biol; 57: 239-245.
- 54- Matos E.; Tajdari J.; Azevedo C. (2005) Ultrastructural Studies of *Henneguya rhamdia* n. sp. (Myxozoa) a Parasite from the Amazon Teleost Fish, *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). J Eukariot Microbiol; 52: 532-537.
- 55- McKenzie K.; Abaunza P.; Campbell N (2005) The use of parasites as biological tags in multidisciplinary stock identification studies of small pelagic fish. ICES; 17:1-11.
- 56- McKenzie, K. (2002) Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update. Parasitol; 124:153-163.
- 57- McKenzie, K. (1987) Parasites as indicators of host populations. In J Parasitol; 17:345-352.
- 58- Meldau de Campos C.; Rondini J.; Ruas F. (2011) Histopathology of gills of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Prochilodus lineatus*

- (Valenciennes,1836) infested by monogenean and myxosporea, caught in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Brasil. Parasitol*; 20 (01):67-70.
- 59- Meléndez, A.; Venzal, J.; Félix, M.; Castro, O.; Leites, V. (2011) Parasitosis de potencial zoonótico en peces de la región de Salto Grande. VII Jornadas Técnicas Veterinarias. Montevideo, Uruguay, 41 p.
- 60- MGAP-DINARA. Dirección Nacional de Recursos Acuáticos. Boletín Estadístico Pesquero 2010. Montevideo, 63p.
- 61- Molnár, K. (2002) Site preference of myxosporeans in the gills. *Dis Aquat Org*; 48: 197-207.
- 62- Monteiro A.; Okamura B.; Holland P. (2002) Orphan Worms finds a home: *Buddenbrockia* is a Myxozoan. *Mol Biol Evol*; 19: 968:971.
- 63- Moran J.; Whithaker D.; Kent M. (1999) A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries. *Aquaculture*. 172 (1 y 2): 163-196.
- 64- Morris D.J. (2012) A new model for myxosporean (Myxozoa) development explains the endogenous budding phenomenon, the nature of cell within cell life stages and evolution of parasitism from a cnidarians ancestor. *Int J Parasitol*; 42: 829-840.
- 65- Naldoni J.; Arana S.; Maia A.; Silva A.; Carriero M. (2011) Host- parasite-environmental relationship, morphology and molecular analysis of *Henneguya eirasi* n.sp. parasite of two wild *Pseudoplatystoma* spp. in Pantanal Wetland. Brazil. *Vet Parasitol*; 177: 247-255.
- 66- Naldoni J.; Arana S.; Maia A.; Ceccarelli P.; Tavares L.; Borgues F.; Pozo C.; Adriano E. (2009) *Henneguya Pseudoplatystoma* n.sp. causing reduction in epithelial area of gills in the farmed pintado, a South American catfish: histopathology and ultrastructure. *Vet Parasitol*; 166: 52-59.
- 67- Nion H.; Ríos C.; Meneses P. (2002) Peces del Uruguay Lista Sistemática y Nombres comunes. Dinara. Infopesca. Montevideo, Uruguay. 104 p.
- 68- Noga E. (2010) Fish Disease Diagnosis and Treatment. 2° ed. Raleigh, North Carolina. Wiley. BlackWell. 229-246 p.
- 69- Pavanelli G. (1998) *Henneguya* spp. (Myxozoa, Myxosporea, Myxobolidae) parasitizing fishes from Paraná River, Brazil. *Acta Scient* 20:161-163.

- 70- Perretta, A.; Carnevia, D.; Letamendía, M. (2010) Myxozoarios del género *Henneguya* Thélohan, 1892; parasitando *P. lineatus Prochilodus lineatus* (Characiformes: Curimatidae) en el Río Uruguay. Primera Cita. Actas Primer Congreso Uruguayo de Zoología. Montevideo, Uruguay, 116 p.
- 71- Ramella M.; Kroth M.; Meurer S.; de Oliveira A.; Zaniboni E.; Maisonnave A (2006) Genetic Variability in Four Fish Species (*Pimelodus maculatus*, *Prochilodus lineatus*, *Salminus brasiliensis* and *Steindachneridion scripta*) from Uruguay River Basin. Bra. Arch. Biol. Technol; 49: 589-598.
- 72- Ramos, A.; Corredor G. (1982) Dos nuevos ensayos sobre el cultivo de bocachico (*Prochilodus reticulatus*) en estanques fertilizados con estiércol de cerdo. Centro Píscicola Experimental. Univ. de Caldas. Colombia. Inf. Téc.(3). 27-30 p.
- 73- Reidel A.; De Oliveira L.; Piana P; Lemainski D.; Bombardelli R.; Boscolo W. (2004). Avaliacao de Rendimiento e características morfométricas do curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) e do Piavucu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988) Machos e femeas. Varia Scientia; 4:71-78.
- 74- Reis R.; Kullander S.; Ferraris C. (2003) Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America. Edipucrs. Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 729 p.
- 75- Rocha E. (1992) *Henneguya amazonica* n.sp. (Myxozoa, Myxobolidae), parasitizing the gills of *Crenicichla lepidota* Heckel, 1840 (Teleostei, Cichlidae) from Amazon River. European J Protistol; 28:273-278.
- 76- Sardella N.; Timi J. (2004) Parasites of Argentine hake in the Argentine Sea: population and infracommunity structure as evidence for host stock discrimination. J of Fish Biol; 65:1472-1488.
- 77- Sivasundar A.; Bermingham E.; Ortí G (2001) Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (*Prochilodus*: Characiformes) in major South American rivers. Molec. Ecol; 10: 407-417.
- 78- Stoskopf M. (1993) Fish Medicine. Raleigh. Carolina del Norte. v.1. 882 p.
- 79- Sverlij S.; E Spinach A.; Ortí G. (1993). Sinopsis de los datos biológicos del *P. lineatus*, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847). Roma. FAO. 154: 64 p.
- 80- Tarabla H (2000) Epidemiología Diagnóstica. Centro de Publicaciones, Secretaría de Extensión, UNL. Santa Fé. 120 p.

- 81- Texeira de Mello F.; González- Bergonzoni I.; Loureiro M. (2011) Peces de agua dulce de Uruguay. Montevideo. PPR-MGAP. 188 pp.
- 82- Vita P.; Corral L.; Matos E.; Azevedo C. (2003) Ultrastructural aspects of the myxosporean *Henneguya astyanax* n.sp. (Myxozoa: Myxobolidae), a parasite of the Amazonian teleost *Astyanax keithi* (Characidae). Dis Aquat Organ; 53:55-60.
- 83- Whiterman NK.; Parker PG. (2005) Using parasites to infer host populations history: a new rationale for parasite conservation. Anim Cons; 8:175-181.
- 84- Williams HH.; McKenzie K.; McCarthey AM. (1992) Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet and phylogenetic of fish. Fish Biol Fisheries 2:144-176.
- 85- Yokohama H. (2003) A Review: Gaps in our knowledge on Myxozoan Parasites of fishes. Tokyo, Japon. Fish Pathol; 38:125-136.
- 86- Zhang JY.; Wang JG.; Li HA.; Gong XN. (2010) Infection of *Myxobolus turpisrotundus* sp. n. in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch), with revision of *Myxobolus rotundus* (s. l.) Nemeček reported from *C. auratus auratus* (L.). J Fish Dis; 33: 625-638.

11. ANEXOS

Cabe resaltar que algunos aspectos del presente trabajo fueron presentados en diferentes instancias académicas las cuales se detallan a continuación:

- 7º Jornadas Técnicas Veterinarias en el marco del “Año Mundial de la Veterinaria”. II Jornadas de Investigaciones Acuáticas y Pesqueras. Exposición oral.
Carnales, D.; Chiavino, C.; Chiavino, E.; Carnevia, D.; Perretta, A. (2011) “Mixosporidiosis causada por *Henneguya sp.* y *Mixobolus sp.* en *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) de Uruguay”. VII Jornadas Técnicas Facultad de Veterinaria. Montevideo, Uruguay: 43-44.
- Jornadas CIDEA. Presentación oral.
Identificación de la especie de *Henneguya sp.* (Myxozoa, Myxobolidae) presente en branquias de *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) de Uruguay. Facultad de Veterinaria. Montevideo, Uruguay. Agosto 2011.
- II Congreso Uruguayo de Zoología. Sociedad Zoológica del Uruguay. Carácter de Participante. Presentación Poster.
Carnales, D.; Carnevia, D.; Chiavino, C.; Chiavino, E. (2012) “Morfología y taxonomía de Mixosporidios del género *Henneguya sp.* en branquias y piel de *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) del Río de la Plata y Uruguay”. II Congreso Uruguayo Zoología. Facultad de Ciencias. Montevideo, Uruguay. p139.
- Carnales, D; Carnevia, D; Perreta, A; Venzal JM (2013) Mixosporidiosis branquial por *Henneguya sp.* (Myxozoa: Myxobolidae) en *Prochilodus lineatus* (Pisces: Prochilodontidae) del Río Uruguay y Río de la Plata.
Publicado en Revista SMVU. Artículo científico. 49: 4-14 p.