

UNIVERSIDAD DE BARCELONA  
FACULTAD DE BIOLOGIA



---

TESINA

CICLO EVOLUTIVO DE BRACHYLAEMUS NITELLAE  
DUJARDIN IN DOLLFUS, 1968 (TREMATODA:  
BRACHYLAEMIDAE) EN FORMENTERA (ISLAS  
PITIUSAS)

por

ISABEL MONTOLIU SANLLEHY

Director

RAMON MARGALEF LOPEZ

*Catedrático de Ecología*

*Facultad de Biología de Barcelona*

Barcelona, Febrero de 1978

## INDICE

<u>MATERIAS</u>	<u>PAG.</u>
PREFACIO.....	6
INTRODUCCION.....	9
CAPITULO PRIMERO: MATERIAL Y METODOS	
1.1.- METODOLOGIA.....	14
1.1.1.- BUSQUEDA DE FORMAS LARVARIAS Y ADULTAS.....	14
1.1.2.- TECNICAS MICROSCOPICAS.....	17
FIJACIONES.....	17
COLORACIONES.....	18
A) <i>Coloraciones vitales</i> .....	18
B) <i>Coloraciones de material fijado</i> .....	19
MONTAJES.....	21
IMPREGNACIONES.....	23
METODOS DE ESTUDIO AL MICROSCOPIO.....	25
A) <i>Estudio de los organismos <u>in vivo</u></i> .....	25
B) <i>Estudio de los organismos fijados y montados <u>in toto</u></i> ...	26
1.1.3.- TECNICAS DE AISLAMIENTO Y CONTAJE DE CERCARIAS.....	27
1.1.4.- TECNICAS DE INFESTACION.....	27
A) <i>INFESTACION DEL SEGUNDO HUESPED INTERMEDIARIO CON CERCARIAS</i> .....	27
B) <i>INFESTACION DEL HUESPED DEFINITIVO CON METACERCARIAS</i> .....	28
C) <i>INFESTACION DEL PRIMER HUESPED INTERMEDIARIO CON HUEVOS</i> .....	29
1.2.- MATERIAL.....	31
1.2.1.- GASTEROPODOS.....	31
1.2.2.- MICROMAMIFEROS.....	33
CAPITULO SEGUNDO: DETERMINACION SISTEMATICA DEL DIGENIDO	
2.1.- PLANTEAMIENTO DE LA PROBLEMÁTICA.....	36
2.2.- DESCRIPCION DEL ADULTO.....	37

CUERPO.....	37
VENTOSAS.....	38
APARATO EXCRETOR.....	38
APARATO DIGESTIVO.....	38
APARATO GENITAL MASCULINO.....	38
APARATO GENITAL FEMENINO.....	39
2.3.- CLASIFICACION.....	39

### CAPITULO TERCERO: BIOLOGIA DEL CICLO

3.1.- GENERALIDADES.....	47
3.2.- ESTUDIOS EXPERIMENTALES.....	51
3.2.1.- ESQUEMA GENERAL DEL CICLO.....	52
3.2.2.- EVOLUCION EN LOS HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS Y DEFINITIVO.....	52
3.2.2.1.- EVOLUCION EN EL PRIMER HUESPED INTERMEDIARIO.....	53
3.2.2.1.1.- ESPECIES DE GASTEROPODOS TERRESTRES ESTUDIADAS....	53
A) <i>POR INFESTACION NATURAL</i> .....	53
B) <i>POR INFESTACION EXPERIMENTAL</i> .....	54
3.2.2.1.2.- INGESTION DEL HUEVO Y MIRACIDIO.....	54
3.2.2.1.3.- ESPOROCISTOS.....	54
A) <i>LOCALIZACION</i> .....	55
B) <i>MORFOLOGIA</i> .....	55
3.2.2.1.4.- CERCARIAS.....	58
A) <i>MORFOLOGIA GENERAL</i> .....	58
B) <i>QUETOTAXIA</i> .....	62
C) <i>EMISION</i> .....	69
D) <i>COMPORTAMIENTO EN LIBERTAD</i> .....	70
3.2.2.2.- EVOLUCION EN EL SEGUNDO HUESPED INTERMEDIARIO.....	70
3.2.2.2.1.- ESPECIES DE GASTEROPODOS TERRESTRES ESTUDIADAS....	70
A) <i>POR INFESTACION NATURAL</i> .....	71
B) <i>POR INFESTACION EXPERIMENTAL</i> .....	71
3.2.2.2.2.- METACERCARIA.....	72
A) <i>VIA SEGUIDA Y LOCALIZACION</i> .....	73
B) <i>MORFOLOGIA Y ANATOMIA</i> .....	73

C) RECEPTIVIDAD DE LOS GASTEROPODOS.....	80
3.2.2.3.- EVOLUCION EN EL HUESPED DEFINITIVO.....	81
3.2.2.3.1.- ESPECIES DE MICROMAMIFEROS ESTUDIADAS.....	82
A) POR INFESTACION NATURAL.....	82
B) POR INFESTACION EXPERIMENTAL.....	83
3.2.2.3.2.- ADULTO.....	83
A) MIGRACION.....	84
B) EVOLUCION MORFO-ANATOMICA.....	84
C) RECEPTIVIDAD DE LOS HOSPEDADORES DEFINITIVOS...	89
3.3.- MODALIDADES DEL CICLO EN LA NATURALEZA.....	89

#### CAPITULO CUARTO: ECOLOGIA DEL CICLO

4.1.- GENERALIDADES .....	92
4.2.- CARACTERISTICAS DEL ECOSISTEMA.....	95
4.2.1.- NATURALEZA DE LA ISLA DE FORMENTERA.....	95
VEGETACION.....	99
FAUNA.....	100
4.2.2.- ENCLAVES INSULARES PROSPECTADOS.....	103
4.3.- CARACTERISTICAS DE LOS HOSPEDADORES.....	109
4.3.1.- PRIMER HOSPEDADOR INTERMEDIARIO.....	109
<u>RUMINA DECOLLATA LINNAEUS, 1758</u> .....	109
4.3.2.- SEGUNDOS HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS.....	111
<u>RUMINA DECOLLATA LINNAEUS, 1758</u> .....	112
<u>EOBANIA VERMICULATA MULLER, 1774</u> .....	112
<u>EUPARYPHA (THEBA) PISANA MULLER, 1774</u> .....	112
<u>OTALA PUNCTATA MULLER, 1774</u> .....	114
<u>HELICELLA (XEROPLEXA) SP. AFF. CAROLI DOHRN ET</u> <u>HEYNEMANN, 1862</u> .....	115
4.3.3.- HOSPEDADORES DEFINITIVOS.....	117
<u>RATTUS RATTUS LINNAEUS, 1758</u> .....	117
<u>MUS MUSCULUS LINNAEUS, 1758</u> .....	118
<u>ELIOMYS QUERCINUS OPHIUSAE THOMAS, 1925</u> .....	118
4.4.- ECOLOGIA DEL CICLO EN LA NATURALEZA.....	121
4.4.1.- COMPUTO DE DATOS.....	121

4.4.2.- EVOLUCION DEL CICLO EN FORMENTERA.....	123
A) <i>CONSIDERACIONES PARTICULARES</i> .....	123
B) <i>CONSIDERACIONES GENERALES</i> .....	129
 <i>CAPITULO QUINTO: DISCUSION Y CONCLUSIONES</i>	
5.1.- DISCUSION.....	132
5.2.- CONCLUSIONES .....	136
 RESUMEN.....	 140
 BIBLIOGRAFIA.....	 145

## PREFACIO

*Al término de la etapa experimental que ha precedido a la redacción del escrito que ha continuación se expone, es un grato deber el proceder a patentizar nuestro agradecimiento a todos aquellos que con su contribución y aportaciones han permitido la elaboración de la presente obra.*

*Nuestra gratitud se refiere en primer lugar al Prof. Adj. Dr. SANTIAGO MAS-COMA, no sólo por haber aceptado la dirección de esta Tesina, sino por ser quien un día nos introdujera en el inquietante mundo del parasitismo. Su entusiasmo científico y sus inestimables consejos han constituido un apoyo intelectual y moral del cual hemos tenido la suerte de no carecer durante la larga duración del trabajo en ningún momento. Por todo ello queremos expre-*

sarle aquí nuestro más sincero agradecimiento y nuestro deseo de poder continuar bajo su dirección científica.

Igual reconocimiento es extensible al Prof. Dr. JAIME GALLEGO BERENGUER, a quien debemos el haber aceptado acoger en el seno del Departamento que dirige una nueva línea de investigación sobre ciclos biológicos de helmintos y los consecuentes problemas tanto técnicos como económicos que ello plantea. Por su experiencia, apoyo incondicional e interés en procurarnos una plaza para investigación y espacio para nuestros experimentos le quedamos profundamente agradecidos.

El Prof. Dr. RAMON MARGALEF LOPEZ ha aceptado amablemente actuar como Ponente de la presente Tesina. Que la gratitud por este honor y la gran admiración que le profesamos encuentren aquí fiel reflejo escrito.

Es un orgullo asimismo el deber de expresar nuestro agradecimiento al Prof. Dr. HERMAN KAHMANN, de la Universidad de München. El fué quien en principio nos despertara el interés en la biología de los Digénidos parasitos del lirón careto en la isla de Formentera. En las largas conversaciones que con él tuvimos ocasión de tener en München surgió el proyecto de investigación que en su día habrá de constituir nuestra Tesis Doctoral, de la cual esta Tesina es el preludeo.

Tenemos la suerte también de poder exteriorizar nuestro reconocimiento al Prof. Dr. CLAUDE COMBES de Perpignan, quien amablemente ha querido poner a nuestra disposición el Departamento que dirige en las continuas visitas que le hemos efectuado. Queremos aprovechar esta ocasión para manifestarle nuestra profunda admiración por su gran obra parasitológica.

Debemos al Dr. JOSEPH JOURDANE de Perpignan la mayor parte de conocimientos experimentales sobre ciclos biológicos de Trematodos. La amabilidad con que ha aceptado enseñarnos y aconsejarnos en numerosas ocasiones es un honor que nunca vamos a olvidar y al que esperamos poder responder en un futuro.

Tampoco podemos olvidar al Prof. Dr. FRANTISEK TENORA de Brno, quien en su visita a nuestro Departamento había de aportarnos su gran experiencia en el campo de los helmintos de Roedores y concretamente en la compleja problemática en que actualmente se encuentra sumergida la sistemática de los Digénidos del género *Brachylaemus*.

Nos es muy grato poder agradecer aquí la colaboración del Prof. Agr. Dr. JOSE MARIA SELVA VALLESPINOSA de nuestro Departamento, de cuya experiencia en la infestación de roedores nos hemos beneficiado en diversas ocasiones.

Debemos agradecer sinceramente la amabilidad con que el Dr. C. ALTIMIRA del Museo de Zoología de Barcelona se prestó a determinar en calidad de especialista los distintos Gasterópodos terrestres que hemos recolectado en la isla de Formentera.

Capítulo aparte merecen los miembros del equipo de helmintología de nuestro Departamento, Srs. CARLOS FELIU, JOSE MARIA ROCAMORA y FRANCISCO ROSET, con quienes hemos compartido todo el tiempo transcurrido durante nuestra investigación y que han tenido la paciencia de soportar los continuos problemas de laboratorio que las experiencias efectuadas han planteado.

Y para finalizar debemos decir que carecemos de palabras suficientes como para agradecer en toda su extensión la colaboración de Dn. ANTONIO REGUEIRO, miembro de nuestro Departamento. Sin su aportación técnica completamente desinteresada hubiese sido imposible el desarrollo del gran número de experiencias realizadas. Que por el mucho tiempo perdido en la construcción de los necesarios habitáculos para los distintos hospedadores encuentre aquí mi más sincero reconocimiento.

A ellos, y a todos los que de una forma u otra hayan contribuido a la elaboración de la presente obra, deseamos manifestarles nuestro profundo agradecimiento.

## INTRODUCCION

Formando parte de un plan de investigación sobre la helmintofauna de micromamíferos (Insectívoros y Roedores) en España y que abarca tanto la Península Ibérica como las islas españolas del Mar Mediterráneo, se ha efectuado en estos últimos años el estudio de la isla de Formentera, la más meridional del Archipiélago Balear y la segunda en extensión del grupo de las Pitiusas. En estos estudios dicha isla ha mostrado ofrecer unas condiciones idóneas para el análisis de las influencias que el fenómeno del aislamiento geográfico puede ejercer sobre una parasitofauna insular (MAS-COMA, 1976).

Los efectos que un fenómeno de insularidad puede llegar a originar en los seres vivos isleños son de diversa índole, debiéndose enfocar su estudio desde un punto de vista ecológico (MARGALEF, 1974). En lo que se refiere a la fauna parasitaria se puede distinguir tres grupos de influencias generales (MAS-COMA, 1976):

- Influencias sobre la composición cualitativa de la parasitofauna.
- Influencias sobre la composición cuantitativa de la parasitofauna.
- Influencias sobre la biología de las especies parásitas.

El presente trabajo se inscribe en el marco de investigaciones destinadas a desentrañar las influencias del fenómeno de insularidad sobre la biología de las especies parásitas. Más concretamente constituye la primera etapa del estudio de los ciclos evolutivos de los Trematodos Digénidos parásitos de micromamíferos en la isla de Formentera, esto es, de la biología y ecología de estas especies de Platelminos.

La fauna parasitaria de los micromamíferos de Formentera ha sido estudiada exhaustivamente ya por MAS-COMA (1976 y en prensa). Aparte de estos trabajos generales de dicho autor, en otros escritos se ha hecho referencia ya a los Trematodos en cuestión (MAS-COMA & GALLEGO, 1975 y en prensa; MAS-COMA & KAHMANN, 1977; MAS-COMA & MONTOLIU, en prensa).

Tres especies de Digénidos parasitan micromamíferos en la isla de Formentera.

tera:

- Brachylaemus sp. aff. recurvus (Dujardin, 1845) (Brachylaemidae) en el estómago e intestino delgado de Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 (Rodentia: Gliridae), de Rattus rattus Linnaeus, 1758 y Mus musculus Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae).
- Dollfusinus frontalis Biocca et Ferretti, 1958 (Brachylaemidae) en los senos nasales de Eliomys quercinus ophiusae y Rattus rattus, así como de senos nasales y frontales de Erinaceus (Aethechinus) algirus Duvernoy et Lereboullet, 1842 (Insectivora: Erinaceidae).
- Corrigia vitta (Dujardin, 1845) (Dicrocoeliidae) en los canales interlobulares del páncreas de Eliomys quercinus ophiusae.

El escrito que se expone a continuación se limita exclusivamente al ciclo evolutivo del primero de estos Trematodos, especie que hasta el momento no había sido determinada sistemáticamente de un modo definitivo al conocerse únicamente el estadio adulto. En esta obra se opta por clasificarlo como Brachylaemus nitellae Dujardin in Dollfus, 1968 una vez conocidas su biología y ecología, sin olvidar el carácter no definitivo de esta adjudicación específica, dado el confusionismo sistemático reinante a nivel de especie dentro del género Brachylaemus Dujardin, 1843, al desconocerse el ciclo evolutivo de la mayor parte de sus representantes. He aquí el interés secundario de este trabajo: contribuir al esclarecimiento de la problemática taxonómica planteada por las especies del género Brachylaemus parásitas de Roedores.

El estudio del ciclo evolutivo de Brachylaemus nitellae en Formentera es abordado en este escrito en cinco capítulos principales.

En un primer capítulo se hace referencia a la metodología empleada tanto en el proceso experimental como en las investigaciones con muestras tomadas de la naturaleza. Los métodos y técnicas utilizados son aquellos que últimamente parecen demostrar en general una mayor resolución y garantías en estudios sobre ciclos biológicos terrestres de Trematodos. Dada la variedad de la metodología usada se procede a describir sucintamente cada una de las técnicas.

En el mismo capítulo inicial se efectúa un subapartado circunscrito al material base empleado, esto es, los hospedadores estudiados. En él se expone los métodos de recolección y captura, así como los de conservación del material, haciéndose especial hincapié en la manutención de los hospedadores vivos, hecho imprescindible en el experimento de reproducir el ciclo evolutivo en el laboratorio.

En el segundo de los capítulos se efectúa la determinación sistemática del Digénido cuyo ciclo biológico es analizado posteriormente. Tras plantear la problemática de orden sistemático, a la que ya se ha aludido, y describir detalladamente la morfología del estadio adulto de la especie, se procede a su clasificación.

El tercer apartado se refiere a la biología de la especie en cuestión. Tras la imprescindible exposición del cómputo de conocimientos sobre ciclos evolutivos en especies de la familia Brachylaemidae Joyeux et Foley, 1930 (géneros Brachylaemus y afines), se pasa a describir los estudios experimentales partiendo del esquema general del ciclo. Para ello se analiza la evolución en el primer y segundo hospedador intermediarios y finalmente en el definitivo, incluyendo también las fases libres del ciclo. Por último se esquematiza las modalidades del ciclo en la naturaleza.

El capítulo cuarto comprende el análisis ecológico del ciclo. Para ello se determina previamente el marco natural del ciclo, esto es, la isla de Formentera y los biotopos prospectados en ella. Luego se hace referencia a la bionomía de todos los hospedadores que intervienen en el ciclo y para terminar se proyecta una visión general de la ecología del mismo en la isla tras haber computado los resultados de las investigaciones efectuadas en la naturaleza.

El último de los apartados se reserva para la discusión del compendio, esto es, principalmente a la comparación de los resultados obtenidos con los datos conocidos sobre ciclos de especies próximas en el continente. Las conclusiones finales incluyen someramente el interés de los resultados obtenidos y la extensión de la aportación del estudio a la ciencia.

Antes de iniciar el tratado queremos insistir en el hecho de que a pesar

de estar en condiciones de exponer la naturaleza del ciclo evolutivo de Brachylaemus nitellae en Formentera en sus fases principales, quedan aún muchos aspectos en los que desgraciadamente sólo disponemos de conocimientos escasos. Incluso en algún que otro punto son nulos. El profundizar en la biología y ecología de esta especie de Digénido constituye nuestro proyecto inmediato, ensayos que indudablemente van a ser largos y problemáticos como lo suelen ser en todo ciclo de evolución terrestre. Sin embargo esperamos poder llevar esta pretensión a feliz término, sobre todo contando con la colaboración de todos aquellos que ya han aportado su contribución al presente trabajo y pudiendo seguir bajo la batuta científica de los mismos directores.

*CAPITULO PRIMERO*

MATERIAL Y METODOS

## 1.- MATERIAL Y METODOS

### 1.1.- METODOLOGIA

Se resume en este apartado las técnicas de laboratorio, tanto técnicas específicas de la Helmintología como técnicas de infestación experimental, empleadas para el estudio de helmintos parásitos.

#### 1.1.1.- BUSQUEDA DE FORMAS LARVARIAS Y ADULTAS

Para dicho propósito ha sido utilizada una lupa binocular NIKON (stereoscopic microscope model SMZ-6) provista de "zoom", lo cual facilita mucho la labor.

En la búsqueda de formas larvarias de Trematodos se procede a la disección de los posibles huéspedes intermediarios, que en el caso de los Brachylaémidos son Gasterópodos terrestres.

Hay que señalar que todas las disecciones de Gasterópodos han sido efectuadas con animales vivos, es decir, sin que hayan sido fijados previamente a la disección, hecho vital para una fácil obtención y separación de formas larvarias.

Para diseccionar el caracol se le quita previamente la concha y se le coloca en una cápsula de Petri con suero fisiológico. Bajo la lupa binocular y con el material de disección necesario se separa los órganos y se los aísla en otras cápsulas de Petri también con suero. Luego, cada parte del caracol es estudiada detenidamente por si pudiese estar parasitada. Según la forma larvaria que se quiera encontrar miraremos preferentemente uno u otro órgano. Las metacercarias habrá que buscarlas, en el caso de Brachylaémidos, en el riñón y cavidad pericárdica principalmente, si bien es preciso no desear ninguna parte del caracol puesto que se conoce casos en los que las metacercarias han sido encontradas en forma enquistada en el pie, por ejemplo (véase TIMON-DAVID, 1959).

Para buscar esporocistos se ha de mirar la glándula digestiva o hepatopáncreas, habitat normal en Brachylaémidos. Si los esporocistos son maduros se podrá observar en su interior cercarias bien formadas.

Las cercarias también se pueden buscar sin tener que abrir al Gasterópodo. Basta poner al caracol que se quiera estudiar en una cápsula de Petri con una fina película de agua natural. Bajo la lupa se observa si hay o no emisión de cercarias. Si el caracol se halla infestado con un esporocisto maduro, al encontrarse en un medio húmedo, las cercarias saldrán libremente. El Gasterópodo puede permanecer en la cápsula durante un tiempo y así poder ir observando las variaciones en la emisión.

La fase de miracidio no ha sido objeto de estudio en este trabajo; sin embargo, cabe añadir que para su obtención debe procurarse la eclosión de los huevos maduros, factible en general mediante un simple shock térmico.

En la búsqueda de formas adultas de helmintos se tiene que recurrir a la disección de los huéspedes definitivos que las pueden albergar. En el caso que nos ocupa, estos huéspedes definitivos son micromamíferos (Roedores e Insectívoros).

Una vez diseccionado el animal se procede a la extracción de todos sus órganos y vísceras. Hay que poner especial cuidado en conseguir el tracto digestivo entero, es decir, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y ciego, ya que es donde se encuentran los Trematodos del género Bra-  
chylaemus.

Con los diferentes órganos extraídos del micromamífero que ha sido diseccionado se puede seguir dos caminos:

- A) Efectuar el estudio parasitológico inmediato de los órganos extraídos.
- B) Efectuar la fijación de los órganos enteros mediante un líquido fijador adecuado, para su posterior estudio en el laboratorio.

A) Este camino seguido es el más óptimo, consiguiéndose resultados más idóneos. Presenta el problema de precisar de instrumental y condiciones adecuadas en el campo o un lugar próximo al habitat de cepeo. Si se dispone de medios para hacerlo, es preferible realizar la disección de órganos tras la captura.

Los órganos serán colocados en cápsulas de Petri cuadrículadas conte-



niendo suero fisiológico. Bajo la lupa se procede a la búsqueda de los helmintos que pueda haber. Se consigue de este modo una fácil extracción de los helmintos parásitos aún vivos, evitándose riesgos de rotura al salir los helmintos por sí solos al ir efectuando cortes en el órgano y también el riesgo de contracción que se presenta frecuentemente cuando la fijación de vermes y órgano es simultánea. Este método permite además la observación de las evoluciones del parásito en vivo, así como el lugar concreto en que se halla fijado. Quizás la ventaja más considerable sea el poder efectuar una fijación idónea según la clase de helmintos.

B) Este segundo camino presenta la ventaja de ser un método rápido en el campo, permitiendo su realización en cualquier lugar y proporcionando la posibilidad de tomar gran número de muestras en poco tiempo. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes. Así, por ejemplo, la disección de las vísceras resulta más dificultosa y a veces es casi imposible extraer enteros los helmintos intrahísticos. Otro inconveniente es la mala extensión con que se han fijado los helmintos. Esta fijación defectuosa es debida, entre otras cosas, a los obstáculos que encuentra el líquido fijador hasta llegar al parásito. Por esta razón debe realizarse siempre cortes externos en los órganos, para con ello facilitar la penetración y mejor fijación de órgano y parásito.

Siguiendo este camino se introducirá los órganos y vísceras recién extraídos del animal en frascos conteniendo bien formol al 4% en agua, bien alcohol de 70º, ambos calentados previamente a 60-80º C para evitar la contracción de los Platelminfos que puedan hallarse en dichos órganos. Ambos líquidos fijadores actúan al mismo tiempo de conservadores. Los frascos irán acompañados de la consiguiente etiqueta, con el número, género y especie de micromamífero y órgano guardado.

El estudio de los distintos órganos se efectúa en el laboratorio igualmente con lupa binocular, cápsulas de Petri cuadrículadas e instrumental adecuado. En este caso es fácil que pase desapercibido algún ejemplar, sobre todo de pequeño tamaño, debido a su inmovilidad. Los vermes extraídos y separados son conservados en alcohol de 70º en frascos con su etiqueta correspondiente.

### 1.1.2.- TECNICAS MICROSCOPICAS

Hablaremos aquí de las técnicas empleadas para el estudio microscópico de las formas larvarias y adultas de los helmintos que han sido obtenidos mediante los métodos explicados anteriormente.

#### FIJACIONES

Debe distinguirse aquí entre las fijaciones que se efectúa sobre formas parásitas obtenidas vivas y las formas parásitas que han sido fijadas simultáneamente con el órgano en que se encontraban.

El primer caso afecta a todas las formas parásitas, tanto larvarias como adultas. Como comentábamos antes, una ventaja considerable de obtener los helmintos vivos es la de poder efectuar una fijación idónea según la clase de helmintos. Así, los Trematodos deben ser fijados en BOUIN entre portaobjetos y cubreobjetos. Para ello se deposita el verme en vivo, mediante una pipeta o un pincel, en una pequeña gota de agua sobre el portaobjetos. Se coloca una gota de líquido de BOUIN en la cara inferior de un cubreobjetos y se deja caer éste encima del Trematodo, cuidando al binocular de efectuar la fijación en un momento en que el verme no se halle ladeado. Caso de que tenga lugar una fijación en posición ladeada del ejemplar, si se opera con rapidez puede enderezarse convenientemente mediante unos toques adecuados y certeros del cubreobjetos en la dirección necesaria por medio de una fina aguja enmanada. El Trematodo debe permanecer entre portaobjetos y cubreobjetos unos 20 minutos aproximadamente, luego se levanta el cubreobjetos y se traslada con un pincel el Platelmino a una capsulita de Petri con BOUIN, en la que permanecerá unos 30 minutos más o menos. Finalmente se le lleva a alcohol de 70%, en el cual conviene efectuar diversos pasos o lavados hasta que el verme pierda por completo la coloración amarilla proporcionada por el fijador. En el caso de cercarias, y debido a las dificultades que entraña el llevar a cabo la fijación anteriormente explicada, dado su pequeño tamaño, no cabe otro remedio que recurrir a veces a una simple fijación directa, a ser posible en caliente.

En el caso de los parásitos que hayan sido fijados in situ, es convenien-

te intentar una refijación de los vermes con formol o BOUIN, tras lavado en agua destilada, para así conseguir una mejor disposición del parásito en vistas a su ulterior tinción y montaje.

Los fijadores utilizados han sido pues:

- Formol al 4% en agua
- Alcohol de 70º
- BOUIN, cuya fórmula es:
 

solución acuosa saturada de ácido pícrico ....	75 p
formol del 40%.....	25 p
ácido acético glacial.....	5 p

En cuanto a la conservación de todo el material se ha utilizado como conservador siempre alcohol de 70º.

#### *COLORACIONES*

Se distinguirá en este apartado dos tipos de coloraciones:

- A) Coloraciones vitales
- B) Coloraciones de material fijado

A) *Coloraciones vitales*: el objeto de utilizar un colorante vital es el de demostrar la existencia real de diversos elementos morfológicos y poder desestimar así la posibilidad de que se trate de artefactos de fijación. En ciertos casos es recomendable la utilización de tinciones vitales para la observación de estructuras difícilmente apreciables en material fijado.

Se elegirá uno u otro colorante vital según las estructuras que se pretenda resaltar.

En el trabajo que nos ocupa se ha efectuado coloraciones vitales para el estudio in vivo de cercarias, siguiendo las indicaciones de LANGERON (1949). Los colorantes vitales recomendados por este autor para el estudio de las cercarias son los siguientes:

- Rojo Neutro: es el principal colorante del vacuoma celular

y es además el menos tóxico. Recomendado para el estudio de glándulas.

- Verde de Metileno: da una excelente coloración vital del aparato excretor.
- Fucsina Básica: muestra bien las células flamíferas del aparato excretor.
- Acido cresólico: diluido en suero.

Se empleará estos colorantes vitales en mayor o menor dilución según la naturaleza de las cercarias a estudiar.

Se ha utilizado en el presente trabajo sólo los dos primeros colorantes, Rojo Neutro y Verde de Metileno, ambos en soluciones diluidas al 0,005% en agua destilada, obteniéndose mejores resultados con el primero.

Con ambos colorantes se ha procedido del mismo modo: se vierte en una pequeña capsulita de Petri o pocillo el colorante donde, con la ayuda de una pipeta, se introduce las cercarias a estudiar. Con una pipeta succionamos un poco de este líquido colorante junto con algunas cercarias y lo depositamos sobre un portaobjetos; luego se coloca con cuidado el cubreobjetos y la preparación está lista para observación. Se deberá evitar que mientras se observa microscópicamente se deseque la preparación, añadiendo con la pipeta solución colorante por los bordes del cubreobjetos cuando sea necesario. Las cercarias en este estado tienen un tiempo limitado de vida, que debe ser aprovechado al máximo, dado que tras su muerte se pierde la visualización de las estructuras internas.

En el caso concreto de las cercarias estudiadas, la utilización del Rojo Neutro había de ser el método mejor para el estudio de las glándulas de penetración, si bien cabe añadir que dichas glándulas persistían ofreciendo dificultades de observación.

B) *Coloraciones de material fijado*: la ventaja principal que ofrecen estas tinciones es la obtención de preparaciones permanentes, imprescindibles en el estudio que se ha llevado a cabo.

El único colorante utilizado ha sido el Carmín Borácico Alcohólico de GRENACHER, propio para teñir Trematodos. Se ha empleado tanto para formas larvarias (esporocistos, cercarias y metacercarias) como para formas adultas.

La fórmula del colorante es la siguiente: se mezcla 100 cc de una solución acuosa de Borax al 4% con 2 o 3 g de Carmín nº 40; se hierve suavemente durante 30 minutos y luego se añade igual volumen de alcohol de 70º; se deja reposar 24 horas y finalmente se filtra.

El material a teñir debe permanecer en el colorante durante 24 horas. En el caso de hallarse los helmintos en alcohol de 70º, no es necesario efectuar lavado alguno; sí es aconsejable realizarlo en cambio si se encuentran en formol (unos 15 minutos en agua destilada).

Tras la tinción se efectúa la diferenciación en alcohol clorhídrico. Para ello se extrae los vermes del colorante y se traslada a éstos a alcohol de 70º, al cual se va añadiendo lenta y meticulosamente, gota a gota, ácido clorhídrico comercial. La operación debe seguirse bajo la lupa binocular, tanto con luz superior como con iluminación inferior, para obtener una buena diferenciación. Esta suele coincidir con la observación de la tonalidad rosada en el parásito con luz superior, a la vez de apreciarse una buena distinción por transparencia de las estructuras con luz inferior. Una diferenciación excesiva impide el buen resalte y obliga a una nueva tinción. La duración de esta operación varía, según el grosor y tamaño del verme. Así, también, para formas adultas de Trematodos se puede emplear ácido clorhídrico concentrado; en cambio para la metacercarias es suficiente utilizar ácido clorhídrico 1 N. En muchos casos de cercarias no hará ni falta efectuar una diferenciación, pues si han sido fijadas entre portaobjetos y cubreobjetos su cuerpo queda ya muy transparente.

Después de la diferenciación se introduce los vermes en una cápsula con alcohol de 70º, donde deberán permanecer 10 minutos. A continuación se procede a los pasos previos al montaje.

## MONTAJES

Se ha usado dos medios de montaje que son los siguientes:

- Bálsamo del Canadá: se vende ya preparado; esta resina ha sido siempre la más empleada por solidificarse muy rápidamente y proporcionar preparaciones de vida casi indefinida.
- Goma de Cloral de FAURE: su fórmula es:
 

Agua destilada.....	50 cc
Hidrato de cloral.....	50 g
Glicerina.....	20 cc
Goma arábica.....	30 g

Se disuelve el cloral en frío, se añade la glicerina y se mezcla bien; luego se introduce la goma arábica en una pequeña bolsa formada por gasas.

Según empleemos uno u otro, los pasos previos al montaje, tras la diferenciación, serán distintos.

Si se va a utilizar Bálsamo del Canadá como medio de montaje, se deberá proceder a una previa deshidratación del material, pues el Bálsamo no es soluble en agua. Tras la diferenciación debe permanecer el verme unos 10 minutos en alcohol de 70º; luego pasará sucesivamente 5 minutos en alcohol de 95º, 5 más en alcohol de 100º, 5 en alcohol butílico y finalmente 5 en xilol, terminándose con ello la serie de pasos de la cadena de deshidratación. Por último se procede al montaje entre portaobjetos y cubreobjetos con el menor contenido posible de Bálsamo del Canadá, para así evitar un grueso excesivo entre verme y cubreobjetos que pudiese impedir el uso de un objetivo de gran aumento.

En el caso de utilizarse goma de cloral de FAURE como medio de montaje, después de la diferenciación habrá que efectuar una hidratación ya que la goma de cloral es soluble en agua. Igual que antes, tras la diferenciación, el verme deberá permanecer unos 10 minutos en alcohol de 70º; luego pasará sucesivamente 5 minutos en alcohol de 50º, 5 en alcohol de 25º y finalmente 5 minutos en agua destilada. Seguidamente se procede al montaje entre portaobjetos y cubreobjetos del mismo modo y con iguales precauciones que en el caso

anterior. La preparación así obtenida requiere de un sellado con una laca cualquiera. Antes de sellar, se debe esperar a que la goma se haya secado ligeramente y entonces se procede al lacado. Como la preparación no estará todavía completamente seca, para que el cubreobjetos no se desplace al sellar, se pondrá cuatro gotas de laca en las correspondientes cuatro esquinas del cubreobjetos con antelación. Posteriormente, y una vez secas dichas gotas, se podrá lacar sin ningún temor. Al cabo de dos días conviene efectuar un resellado.

Es aconsejable utilizar para estas operaciones de deshidratación e hidratación comentadas anteriormente una serie de cápsulas pequeñas de Petri rotuladas indicando el líquido que contienen y un pincel, o una pipeta si el material es de reducidas dimensiones, para trasladar los helmintos de una a otra.

El Bálsamo del Canadá ha sido utilizado tanto para el montaje de formas adultas como larvarias. Para todas ellas se efectúa los mismos pasos necesarios para la deshidratación, variando solamente el tiempo de permanencia en cada paso, siendo éste menor para el material menor (cercarias y metacercarias).

La Goma de Cloral de FAURE sólo se ha empleado para montar cercarias, con la idea de poder comparar el resultado obtenido con el que se obtiene utilizando Bálsamo del Canadá. Es evidente que el contraste de las estructuras es más apreciable con el Bálsamo del Canadá, quedando más difuso con la Goma de Cloral. De todos modos, el interés de la Goma de Cloral reside en que cabe recurrir a ella en aquellos casos en que en el momento del montaje en Bálsamo del Canadá el material se ennegrezca debido a problemas de deshidratación; basta entonces con proceder a una rehidratación completa hasta poder llegar a montar en la Goma de Cloral.

Cabe añadir además, que si bien lo anteriormente expuesto se refiere a material teñido, en casos de impregnaciones el medio de montaje de elección es la Goma de Cloral, debido principalmente a la mayor simpleza del tratamiento previo.

### IMPREGNACIONES

Se ha procedido a efectuar impregnaciones con nitrato de plata para el estudio quetotáxico de cercarias.

La importancia de la quetotaxia de cercarias reside en su gran aportación de conocimientos sobre la sistemática y la filogenia de los Trematodos, como bien demuestra RICHARD (1971).

Tal y como resalta dicha autora, los Digénidos eran primitivamente parásitos de Moluscos que se han adaptado secundariamente a los Vertebrados; conviene pues dirigirse a las formas larvarias más que a los adultos para fundar su sistemática y su fiologenia. La morfología de las cercarias es en grado sumo adaptativa y sensible a convergencias. Conociendo la importancia sistemática del aparato sensorial en los Invertebrados, es interesante explotarla comparativamente para el estudio sistemático de Trematodos. El aparato sensorial está directamente relacionado al sistema nervioso, menos sensible a las convergencias y a los fenómenos adaptativos.

Para el estudio de las papilas sensoriales (órganos táctiles de las larvas de Monogénidos y Digénidos) hemos utilizado la técnica de impregnación con  $\text{NO}_3\text{Ag}$  según COMBES, BAYSSADE-DUFOUR & CASSONE (1976), de realización mucho más simple que la utilizada por RICHARD (1971).

Los pasos a realizar en la técnica en cuestión son los que se expone a continuación. Con una pipeta fina se dispone varias cercarias vivas en un pequeño pocillo, de una bandeja de plástico conteniendo múltiples pocillos, y se llena de agua destilada. Antes de proceder a la impregnación se efectúa varios lavados con agua destilada para asegurarse de que no haya ninguna impureza. En tales lavados las cercarias no son trasladadas, sino que por medio de pipetas se va llenando y vaciando sucesivamente el pocillo de agua. Tras el último lavado se retira con una pipeta el agua del pocillo dejando el mínimo posible (sin que se llegue a secar). Luego se echa unas gotas de solución de nitrato de plata al 3-5%, con una pipeta exclusiva para el nitrato, y se expone el recipiente de 5 a 10 minutos a la luz solar o bajo una lámpara de rayos ultravioletas. Después, con la misma pipeta, se retira el nitrato de plata y con otra pipeta limpia se llena de nuevo el pocillo con agua destilada. A continuación se vuelve a efectuar lavados sucesivos con agua

destilada, en número suficiente, de igual forma a como se ha realizado previamente. Es conveniente en estos lavados ir cambiando de pipetas para así asegurarse bien de que el nitrato sea totalmente eliminado. A continuación se procede directamente al montaje de las cercarias en Goma de Cloral de FAURE. Se retire el agua del último lavado y con una pipeta se traslada las cercarias, en un mínimo de agua, sobre un portaobjetos y con la Goma de Cloral se rodea a las cercarias. Antes de colocar el cubreobjetos se debe esperar unos segundos para que se mezcle bien la goma con las cercarias. Como se ha indicado antes al hablar de montajes en Goma de Cloral, es necesario sellar cuidadosamente la preparación. Todos los pasos efectuados en esta técnica han de ser vigilados bajo la lupa binocular para no perder ninguna cercaria.

La solución de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  empleada con mayor frecuencia es al 5%, pero también es posible utilizar una solución al 3% y comparar los resultados. También es interesante ir probando diferentes tiempos en la exposición solar o rayos ultravioletas hasta obtener los mejores resultados.

Examinadas después del montaje, las cercarias aparecen claras, casi blancas, sobre fondo amarillo. Según la calidad de las impregnaciones, las papilas, teniendo la misma localización, pueden adquirir aspectos muy diferentes. Si la impregnación ha resultado buena, las papilas se presentan bajo una forma de un pequeño círculo marrón de 1,5 a 1,8  $\mu$  de diámetro, en cuyo centro se halla un punto igualmente marrón que es el corte óptico del cilio. Los contornos de los orificios de las glándulas de penetración se colorean igualmente, si bien en general no son circulares y están desprovistos de punto central. En cuanto a más información sobre el aspecto de las preparaciones y dificultades que se puede encontrar véase RICHARD (1971).

Para la nomenclatura de las papilas, RICHARD (1971) propone una cercaria hipotética en la que las papilas están dispuestas según unos seis ejes longitudinales (dos ventrales, dos laterales y dos dorsales) correspondientes a los ejes nerviosos y según unos paralelos transversales correspondientes a las comisuras. Desde la parte anterior hacia la posterior, RICHARD sitúa 4 círculos transversales para zona cefálica, 3 para la zona preacetabular, 1 para la zona media o acetabular, 3 la zona postacetabular, 11 para el tronco caudal y 11 para cada furca. Sobre el acetábulo las papilas se disponen

en círculos concéntricos. La cercaria hipotética se aproxima mucho a las cercarias del género Schistosoma.

#### MÉTODOS DE ESTUDIO AL MICROSCOPIO

Los microscopios empleados para el presente estudio han sido:

- Microscopio AMPLIVAL de Zeiss (Jena): utilizado exclusivamente para estudio directo en óptica normal y mediciones.
- Microscopio WILD M-20 provisto de dispositivo de dibujo para observación binocular: utilizado exclusivamente para dibujo.
- Microscopio ZETOPAN de Reichert, provisto de dispositivo de fotografía: utilizado en iluminación y contraste de fase, tanto para observación directa como para fotografía (película utilizada: Kodak high speed Ektachrome EHB 135-20 de 125 ASA y 22 DIN para diapositivas en color; y Kodak Plus-X pan PX 135-36 de 125 ASA y 22 DIN para fotografía en blanco y negro).
- Microscopio especial de pantalla Reichert: utilizado solamente para dibujo.

Los organismos han sido estudiados microscópicamente tanto in vivo como fijados y montados in toto.

A) *Estudio de los organismos in vivo*: el estudio de los Trematodos in vivo es imprescindible a nivel de cercaria y metacercaria para la observación de determinadas estructuras difícilmente visibles, y en algunos casos incluso completamente invisibles, en ejemplares previamente fijados.

Para la observación in vivo basta con colocar al verme entre portaobjetos y cubreobjetos, bien con suero fisiológico, bien con agua natural, cuidando siempre que la preparación no se seque durante el estudio. Para facilitar la observación de las estructuras internas resulta altamente efectiva la aplicación de una ligera presión sobre el cubreobjetos median-

te una aguja enmangada, con lo cual se puede conseguir un aplastamiento idóneo para el estudio de la morfología del aparato excretor. En estos casos la utilización de un dispositivo de contraste de fase facilita enormemente la observación en cuestión.

Como es lógico, la vida de estas preparaciones es muy limitada ya que el organismo resiste poco tiempo el aplastamiento. Cabe añadir aquí el interés en prolongar en lo posible los instantes previos a la muerte del Digénido, ya que en este corto periodo es en el que se visualiza de un modo más evidente la morfología del excretor.

En ciertos casos, si el organismo no ha sido muy maltratado y sigue manteniendo la vida, es posible todavía su recuperación con fines a fijación y ulterior montaje del mismo.

En determinadas ocasiones cabe recurrir a tinciones vitales para así resaltar las estructuras cuyo estudio se pretende. Así, por ejemplo, en nuestro caso concreto, se ha recurrido a la utilización del Rojo Neutro para el estudio de las células glandulares de penetración en las cercarias.

B) *Estudio de los organismos fijados y montados in toto*: las preparaciones de material fijado y montado in toto presentan la ventaja de ser permanentes. Así mismo permiten la realización de mediciones sin ningún tipo de dificultades, cosa que no sucede cuando se opera con material vivo. De todos modos no debe olvidarse el indudable efecto que sobre las dimensiones del material desarrolla toda fijación.

En el estudio microscópico de preparaciones permanentes podemos distinguir, en nuestro caso, dos tipos:

- ejemplares fijados, teñidos y montados, para cuyo estudio se ha aplicado iluminación normal;
- cercarias impregnadas con nitrato de plata cuyo estudio se ha efectuado preferentemente con dispositivo de contraste de fase.

### 1.1.3.- TECNICAS DE AISLAMIENTO Y CONTAJE DE CERCARIAS

Para la obtención de cercarias se debe proceder al aislamiento previo de los hospedadores intermediarios, en nuestro caso Gasterópodos terrestres. Cada caracol será colocado en una pequeña cápsula de Petri conteniendo una fina película de agua natural que cubra todo el fondo. De este modo, y por simple observación bajo la lupa binocular, es posible comprobar y determinar cuales son aquellos Pulmonados que emiten cercarias.

En consecuencia para el aislamiento de las cercarias basta con disponer de un caracol emisor en una pequeña cápsula de Petri, tal y como se ha dicho anteriormente. Las cercarias, esparcidas por el agua, pueden ser recogidas sin problemas por medio de una fina pipeta.

Esta simple operación permite además el conteo de las cercarias emitidas por unidad de tiempo, y, por tanto, la posibilidad del estudio de la cronobiología de la emisión. Ello permite asimismo, sin dificultades mayores, efectuar un análisis de las influencias de factores ambientales, tales como la temperatura y el fotoperíodo, sobre el proceso de emisión cercariana.

### 1.1.4.- TECNICAS DE INFESTACION

El estudio experimental de un ciclo evolutivo en el laboratorio requiere la infestación experimental de los diferentes hospedadores que intervienen en dicho ciclo mediante técnicas varias. En el caso concreto de un Digénido triheteroxeno, como el que nos ocupa, serán por lo tanto tres las infestaciones a realizar, según se trate de primer o segundo huésped intermediario o del huésped final.

A continuación se expone las distintas técnicas empleadas en cada uno de estos casos, siguiendo el orden según el cual se ha llevado a cabo el estudio experimental del ciclo.

#### A) *INFESTACION DEL SEGUNDO HUESPED INTERMEDIARIO CON CERCARIAS*

Para este fin debe posibilitarse el acceso de las cercarias emitidas por el caracol primer huésped a los caracoles que actuarán como segundo huésped. Para ello debe disponerse inicialmente por un lado del caracol emisor y por el

otro de aquellos caracoles cuyo posible cometido como segundos huéspedes se quiere comprobar. No debe olvidarse en este punto que en estos últimos debe haberse constatado previamente la no emisión de cercarias.

El proceso de infestación consiste en colocar juntos en un cristalizador de dimensiones adecuadas al caracol emisor y a los otros. El cristalizador irá dispuesto de un papel de filtro bien empapado de agua natural y que deberá cubrir todo el fondo del cristalizador. La finalidad de dicho papel de filtro es doble. Por un lado proporciona la humedad necesaria para la emisión de cercarias, humedad cuya manutención se consigue tapando el cristalizador; debe puntualizarse aquí la conveniencia de no cerrar herméticamente el cristalizador en aquellos casos en que se pretende dejar a los caracoles un tiempo más o menos prolongado (24 horas o más), ya que la mucosidad y excretas de los caracoles pueden llegar a originar la muerte de los caracoles. Por otro lado el papel de filtro proporciona la base necesaria para la reptación de las cercarias, imprescindible en su traslado hasta su contacto con el segundo huésped.

Esta operación se puede realizar con distintas especies de Gasterópodos con el fin de determinar el espectro de segundos huéspedes intermediarios posibles. También debe hacerse hincapié en la conveniencia de la utilización de caracoles nacidos en el laboratorio, esto es, ofreciendo la seguridad de no ir parasitados.

En nuestro caso no siempre ha sido posible disponer de caracoles nacidos en el laboratorio. De todos modos se ha intentado en lo posible infestar aquellas especies de la isla de Formentera que presumiblemente debían desempeñar la función de segundo huésped intermediario.

#### B) *INFESTACION DEL HUESPED DEFINITIVO CON METACERCARIAS*

En la naturaleza el huésped definitivo, en el caso de Trematodos de la familia Brachylaemidae, al ingerir un caracol parasitado por metacercarias infestantes adquiere el adulto correspondiente. Sin embargo en el laboratorio es preciso comprobar previamente que el caracol se halla infestado con metacercarias y, consecuentemente, al tener que recurrir a la disección de éste, resulta imposible la infestación por ingestión del caracol vivo. Por

ello debe procederse a técnicas experimentales de infestación que pueden ser de distintos tipos.

Diseccionado el caracol bajo la lupa y aisladas las metacercarias en una pequeña cápsula de Petri con suero fisiológico, se ha efectuado, en nuestro caso concreto, dos tipos de experiencias de infestación.

La técnica que ha ofrecido mejores resultados ha sido la de la infestación del huésped definitivo por medio de sonda gástrica. Este método permite además conocer concretamente el número de metacercarias con que se ha infestado al animal. La inyección de las metacercarias debe hacerse en medio líquido que puede ser suero fisiológico o bien agua natural. Tanto las dimensiones de la sonda gástrica a utilizar como la cantidad de líquido a inyectar dependen del huésped definitivo con que ensayar, en nuestro caso concreto rata, ratón y lirón careto.

La otra técnica probada consiste en la colocación de las metacercarias mediante una pipeta sobre una miga gruesa de pan suficientemente embebida de suero fisiológico o agua natural. Esta miga se proporciona a los animales a ensayar, tras haber permanecido éstos unas 24 horas sin probar alimento. Este método es mucho más incierto e inseguro que el anterior, ya que pueden quedar metacercarias sin que el animal las ingiera. En consecuencia, es imposible saber el número concreto de metacercarias que el animal ha ingerido. En nuestro caso el ensayo de esta técnica siempre resultó fallido.

### C) *INFESTACION DEL PRIMER HUESPED INTERMEDIARIO CON HUEVOS*

Tal y como es sabido, la infestación del primer hospedador en los Brachylaémidos tiene lugar en general por ingestión de huevos maduros por el caracol. En el laboratorio, para la obtención de los huevos debe disponerse de los consiguientes Trematodos adultos grávidos, que deberán ser extraídos previamente del huésped definitivo.

En el caso que nos ocupa, el Trematodo a estudio es parásito preferentemente duodenal, si bien puede hallarse también esporádicamente en estómago y partes posteriores del intestino delgado. En la disección del mamífero basta con buscar en estas partes del tracto digestivo y recoger los Trematodos que allí se encuentren. Estos son después separados en una cápsula de Petri con-

teniendo suero fisiológico. En dicha cápsula se procede, mediante la utilización de dos finas agujas emangadas, a la dilaceración de los Digénidos con el fin de liberar sus huevos. Estos huevos son posteriormente recogidos con una fina pipeta y depositados sobre un papel de filtro embebido de agua natural dispuesto en un cristalizador. En este cristalizador es donde se introducirá aquellos caracoles cuya función de primeros intermediarios se quiera comprobar. Habida cuenta que la ingestión de los huevos tiene lugar simultáneamente con la ingestión del papel de filtro por los Gasterópodos, resulta aconsejable que los Pulmonados en cuestión hayan permanecido previamente dos o más días sin probar alimento. Tampoco debe olvidarse la imprescindible comprobación previa de que estos caracoles no sean ya emisores de cercarias.

Mediante esta técnica resulta factible también la dilucidación de cuales especies de Pulmonados constituyen el espectro de primeros huéspedes intermediarios del Digénido en cuestión.

## 1.2.- MATERIAL

Habida cuenta que el estudio efectuado versa sobre el ciclo biológico de un Trematodo hallado en la isla de Formentera, todo el material de huéspedes, tanto intermediarios como definitivos, que se ha utilizado fué recolectado en dicha isla. Según la naturaleza de estos hospedadores distinguiremos por un lado los Gasterópodos terrestres y por otro lado los Micromamíferos.

En el caso de los Gasterópodos se procedió a recolecciones en distintas épocas y lugares de la isla. Todo el material de Gasterópodos terrestres fué recolectado in vivo, con fines de posterior disección y experimentación en el laboratorio. En lo que se refiere a los Micromamíferos, se tomó muestras de todas las especies habitantes en la isla de un modo más o menos silvestre. Estas muestras fueron tomadas tanto mediante trampas de muerte, con fines faunísticos, como con trampas de vivo con fines a disponer luego de Micromamíferos de la isla en el laboratorio para experimentación.

### 1.2.1.- GASTEROPODOS

Como se ha citado ya anteriormente, todo el material de Gasterópodos terrestres utilizado en el estudio experimental del ciclo biológico que nos ocupa procedía de la isla de Formentera. Dos finalidades iniciales han sido los destinos de dichos Gasterópodos. Unos de ellos fueron diseccionados en el laboratorio, con fines meramente faunísticos y ecológicos. Los otros fueron conservados con vistas a la obtención y manutención de cepas en el laboratorio, que habrían de permitir la dilucidación del ciclo experimentalmente.

Las especies de Gasterópodos terrestres recolectadas y sometidas a estudio son las siguientes:

#### Fam. Hellicidae:

Euparypha (Theba) pisana Müller, 1774

Eobania vermiculata Müller, 1774

Otala punctata Müller, 1774

Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli Dohrn et Heynemann, 1862

Cochlicella conoidea Draparnaud, 1801

Cochlicella acuta Müller, 1775

Fam. Stenogyridae:

Rumina decollata Linnaeus, 1758

Todas las especies anteriormente citadas han sido estudiadas en mayor o menor extensión, con fines faunísticos y ecológicos. Sin embargo, para fines de investigación experimental han sido utilizadas todas a excepción de Cochlicella conoidea y Cochlicella acuta.

La recolección de todos estos Gasterópodos terrestres se efectuó con ocasión de distintas expediciones llevadas a cabo a la isla. En su mayor parte el material en cuestión fué recolectado en los meses de octubre y diciembre. Para la recolección de caracoles se eligió aquellos enclaves de la isla cuyos Micromamíferos habían mostrado unos porcentajes de infestación por Trematodos más elevados, concretamente: Can Campanich, Can Mari y Can Carlos.

Para la conservación de los caracoles de Formentera en el laboratorio se dispuso de cajas de madera de distintos tamaños, adecuadamente colocadas en estanterías. Estas cajas de madera constaban únicamente de fondo y paredes, constituyendo el techo una malla de plástico apropiada que garantizaba la imprescindible ventilación.

Para la conservación de las distintas especies es preciso adecuar convenientemente un pequeño biotopo dentro de cada caja. Para ello se dispuso en el fondo tierra orgánica conteniendo carbonato cálcico mezclada con un poco de arena para conseguir un buen drenaje. Sobre esta base, de aproximadamente 3-4 cm se situó musgos que facilitarían el mantenimiento de una humedad. Con el mismo motivo, además de para proporcionar escondrijo y oscuridad a los caracoles se distribuyó piedras preferentemente cóncavas, de tamaño distinto según la caja, sobre la tierra. Tampoco debe olvidarse la necesidad de agua por estos Invertebrados, por lo que en cada una de las cajas se situaba un pequeño recipiente con agua natural.

Para su alimentación se les proporcionó diariamente hojas de lechuga, escarola o col frescas.

Diariamente al atardecer, cada una de las cajas era rociada con suficiente cantidad de agua natural de montaña para mantener la humedad y evitar en lo posible el aletargamiento de los caracoles. Para eludir el posible enchar-

camiento de los fondos de las cajas, todas ellas se hallaban situadas en una estantería metálica, dejando libre la parte inferior de cada una y permitiendo así que el agua pudiese escurrir sin problemas.

Los Gasterópodos fueron aislados en cajas distintas según especies y lugares de recolección. Para la realización del estudio experimental del ciclo se utilizó preferentemente cajas de pequeñas dimensiones que facilitaban el aislamiento de los caracoles infestados en distintos períodos.

Como es lógico cada una de las cajas iba provista en una de las paredes exteriores de la correspondiente etiqueta alusiva a los caracoles contenidos y, en su caso, a la experiencia que con ellos se había realizado.

#### 1.2.2.- MICROMAMIFEROS

En el presente trabajo se ha tenido ocasión de examinar ejemplares de todas las especies de Micromamíferos existentes en la isla de Formentera a excepción hecha de Rattus norvegicus Berkenhout, 1769 (Rodentia: Muridae); en otras palabras, se ha podido estudiar todos aquellos animales que ostentan una vida más o menos libre en la isla, encontrándose Rattus norvegicus confinado a núcleos poblacionales humanos en Formentera. Con fines faunísticos y ecológicos se ha procedido a analizar ejemplares de las siguientes especies:

##### 0. Insectivora

###### Fam. Erinaceidae

Erinaceus (Aethechinus) algius cf. vagans Thomas, 1901

##### 0. Rodentia

###### Fam. Gliridae

Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925

###### Fam. Muridae

Rattus rattus Linnaeus, 1758

Mus musculus Linnaeus, 1758

Apodemus sylvaticus frumentariae Sans-Coma et Kahmann, 1977

Para la captura de estos Micromamíferos se ha efectuado sondeos en toda

la isla. Los cepos utilizados han sido trampas rateras corrientes, con base de madera. El cebo empleado ha sido siempre queso. El procedimiento seguido en esta captura de animales mediante trampas de muerto es el corrientemente utilizado por todos los especialistas (véase MAS-COMA, 1976).

Para la realización experimental del ciclo evolutivo del Trematodo en el laboratorio resulta imprescindible el disponer de los huéspedes definitivos vivos, en cautividad. En nuestro caso concreto se capturó in vivo, en la isla de Formentera, únicamente al lirón careto mediante el uso de trampas de vivo apropiadas. Se pudo capturar 32 lirones en estas circunstancias, número que posteriormente había de aumentar en el laboratorio en 10 más como frutos del parto de dos hembras capturadas ya grávidas.

La manutención en cautividad de todos estos ejemplares se realizó en jaulas de dimensiones apropiadas (mínimo 80x40x40 cm), en las cuales se había adecuado una pequeña caja o habitáculo a modo de nido. Tanto jaula como nido iban recubiertos en su fondo por suficiente cantidad de viruta de madera.

Los lirones eran nutridos diariamente alternando frutos distintos (manzanas, peras, naranjas) con un producto sintético especial para aves insectívoras de la casa Nido (Vigornido) sin olvidar proporcionar diariamente la suficiente agua natural.

Para la infestación experimental del huésped definitivo se ha utilizado también una cepa de ratones de Mus musculus no albinos y también ratas albinas de laboratorio.

*CAPITULO SEGUNDO*

DETERMINACION  
SISTEMATICA  
DEL DIGENIDO



## 2.- DETERMINACION SISTEMATICA DEL DIGENIDO

### 2.1.- PLANTEAMIENTO DE LA PROBLEMÁTICA

La compleja problemática de índole taxonómica planteada por la familia Brachylaemidae es bien conocida dentro de los Digénidos. En efecto, resulta francamente difícil en muchas ocasiones el poder asignar unos ejemplares a una u otra especie, dada la gran similitud morfológica existente entre especies, sobre todo en las del género Brachylaemus. El problema se acentúa si se tiene en cuenta que gran número de especialistas abogan por la poca especificidad de estos Trematodos. Así es como, con el tiempo, se ha ido creando un elevado número de especies difícilmente diferenciables por las descripciones originales de los adultos, lo cual, a su vez, ha conducido a la enumeración de múltiples sinonimias, menospreciando incluso la biogeografía (SINITSIN, 1931; TOKOBAEV, 1962; TEIXEIRA DE FREITAS, KOHN & IBAÑEZ, 1967), hecho bien criticado ya por DOLLFUS (1935) y BAER (1971).

La confusión se ha visto incrementada últimamente, también a nivel genérico, como consecuencia de las posteriores revisiones de la superfamilia Brachylaemoidea Allison, 1943, efectuadas por TRAVASSOS & KOHN (1964, 1966) y YAMAGUTI (1971). BAER (1971) parece no estar conforme con la erección de nuevos géneros y subgéneros llevada a cabo por los autores brasileños, mientras que POJMANSKA (1972) insiste en la necesidad de establecer un sistema coherente, más biológico, de aceptación general, que evitara clasificaciones dispares resultantes de las diferencias de opinión sobre el valor de características particulares como indicadores de las relaciones filogenéticas entre los organismos en cuestión.

No existe momentáneamente, a nuestro entender, solución sistemática definitiva plausible mientras se desconozca detalladamente los ciclos evolutivos de las especies, así como la morfología de los estadios larvarios y los límites de variabilidad de los adultos. En este último sentido resalta BAER (1971) la necesidad de efectuar estudios de gran número de ejemplares de una misma especie procedentes de un mismo huésped y lugar.

En nuestro caso seguiremos, dentro de los Digenea, la clasificación sis-

temática de MAS-COMA & GALLEGO (1975), la cual, a nuestro entender, refleja de un modo más lógico los conocimientos de que se dispone actualmente dentro de los Brachylaémidos. Por lo que respecta a la variabilidad morfológica intraespecífica del estadio adulto de este Trematodo en Formentera, su análisis exhaustivo ha sido efectuado ya por MAS-COMA & GALLEGO (1975) bajo el nombre de Brachylaemus sp. aff. recurvus (Dujardin, 1845). En consecuencia no vamos a detallar esta variabilidad nuevamente, pero sin embargo sí procederemos a describir ampliamente la morfología del adulto de dicha especie con el fin de poder abordar posteriormente una clasificación más exacta, al mismo tiempo que describimos así la fase final del ciclo biológico que posteriormente se expone.

## 2.2.- DESCRIPCION DEL ADULTO

Hospedadores: Eliomys quercinus ophiusae, Rattus rattus, Mus musculus.

Habitat: intestino delgado, preferentemente duodeno (esporádicamente en estómago).

Localización geográfica: isla de Formentera (Islas Pitiusas, Baleares, España).

Material de descripción: 88 ejemplares fijados con Bouin entre portaobjetos y cubreobjetos a partir de material in vivo.

Tinción con Carmín borácico de Grenacher y montaje en Bálamo de Canadá.

### CUERPO

El cuerpo del verme es ovalado, alargado, y provisto de una gruesa cutícula. Presenta una espinulación, bien marcada en la parte anterior del Dígé- nido y que se extiende posteriormente, en general hasta un nivel acetabular. No obstante, el límite inferior de extensión de las espinas cuticulares es muy variable, pudiendo llegar a alcanzar hasta el nivel anterior del ovario. La ostensibilidad de dicha espinulación depende principalmente de la fijación, por cuanto la cutícula externa se pierde fácilmente en casos de fijación defectuosa entre portaobjetos y cubreobjetos.

### *VENTOSAS*

Ventosas ostensibles, subiguales en tamaño. Ventosa oral subterminal, ventral y musculosa. Acetábulo localizado al límite del primer tercio anterior del cuerpo, de similares características a las de la ventosa oral.

### *APARATO EXCRETOR*

El sistema excretor es de tipo "stenostoma", con dos canales colectores principales que se reúnen en una vesícula excretora posterior, corta, y que desemboca en la parte posterior del cuerpo en un poro excretor final.

### *APARATO DIGESTIVO*

El aparato digestivo se inicia con un espacio prefaríngeo variable, que va de casi imperceptible en algunos individuos hasta bien visible en otros. Luego sigue una faringe ovalada, relativamente grande.

Esta faringe da lugar al nacimiento, tras un trayecto esofágico casi inexistente, a dos ciegos intestinales más o menos anchos que se extienden paralelamente a las paredes laterales del cuerpo hasta alcanzar posteriormente el extremo final del cuerpo.

### *APARATO GENITAL MASCULINO*

Los dos testículos son subiguales, localizándose en el último tercio del cuerpo, intracecalmente. Su forma es ovalada, siendo uno anterior al ovario y el otro posterior al mismo.

Los dos conductos deferentes van a unirse para converger en una bolsa del cirro grande, larga y contorneada. Esta bolsa contiene un cirro inerte que emerge al evaginarse por un atrio genital ventral.

El poro genital se localiza en la línea central del cuerpo o próximo a la misma, a un nivel oscilante entre ligeramente anterior al primero de los testículos y a nivel del mismo testículo, nunca posterior al nivel medio de éste.

## APARATO GENITAL FEMENINO

El ovario es de tendencia redondeada, situándose en general entre los testículos, si bien en algunos casos puede hallarse al mismo nivel que el testículo posterior y en singulares excepciones localizarse posteriormente, esto es, tras los dos testículos y en línea recta con los mismos. Sus dimensiones son mucho menores que las de los testículos.

Las glándulas vitelógenas se disponen en los campos laterales, extracelmente. Su extensión va desde un nivel más o menos acetabular hasta el nivel posterior del primer testículo o bien un nivel más o menos ovárico.

Los viteloductos parten lateralmente, de la parte posterior de las glándulas vitelógenas, dirigiéndose hacia la parte central del cuerpo y convergiendo en un pequeño reservorio vitelógeno situado directamente tras el ovario.

El útero comienza en el ootipo, esto es, a nivel postovárico. Luego asciende por entre ovario y testículo anterior, describiendo después una serie de circunvalaciones y sobrepasando la ventosa ventral hasta llegar a alcanzar la bifurcación intestinal. Su trayecto descendente describe también un considerable número de asas uterinas, principalmente en la mitad izquierda del Digénido hasta llegar a la parte uterina final, en la cual se distingue un me-tratermo bien evidente que por último desemboca en el poro genital.

Huevos ovalados, sin embrionar, de color marrón fuerte en la última porción uterina.

En la Tabla I se especifica las dimensiones de los ejemplares de Formentera según los distintos hospedadores.

### 2.3.- CLASIFICACION

En cuanto a la determinación sistemática de la especie descrita, cabe limitar la discusión a las especies de Brachylaemus conocidas parasitando Roedores en Europa. Dos especies han sido las descritas más frecuentemente en Roedores europeos de las familias Gliridae y Muridae:

TABLA I

Huésped Lugar	<u>Eliomys quercinus ophiusae</u> Formentera n=72		<u>Rattus rattus</u> Formentera n=14		<u>Mus musculus</u> Formentera n=2	
	V.E.	$\bar{X}$	V.E.	$\bar{X}$	V.E.	$\bar{X}$
Longitud	1482-3125	2236	1488-2190	1927	2130-2639	2384
Anch. máx.	370-699	513	319-667	510	608-638	623
Vent. oral	167-259/151-245	208/190	114-214/119-194	185/170	223-259/216-234	241/225
Acetábulo	169-263/155-256	211/196	138-205/138-198	181/168	281-299/232-266	290/249
Rel. VO/VV	0,71-1,33	0,96	0,81-1,21	1,05	0,74-0,76	0,75
Faringe	115-173/90-148	138/115	83-122/68-108	106/85	151-166/133-144	158/138
Test. I	148-358/126-289	257/210	133-311/83-230	232/171	234-289/216-228	261/222
Test. II	187-365/115-319	258/206	140-312/115-241	240/194	282-288/220-228	285/224
Ovario	104-256/76-158	155/117	97-219/79-191	173/136	148-203/115-162	175/138
Huevos	21,5-32,5/14,4-18	26,5/16,5	23-32/14,5-19,5	27,5/16	25,2/14,4	25,2/14,4
Dist. VO-W	169-805	416	213-557	307	167-258	212
Dist. VV-T. I	304-1125	711	380-866	634	806-1157	981

Dimensiones en  $\mu$  de Brachylaemus nitellae según los distintos hospedadores en la isla de Formentera.

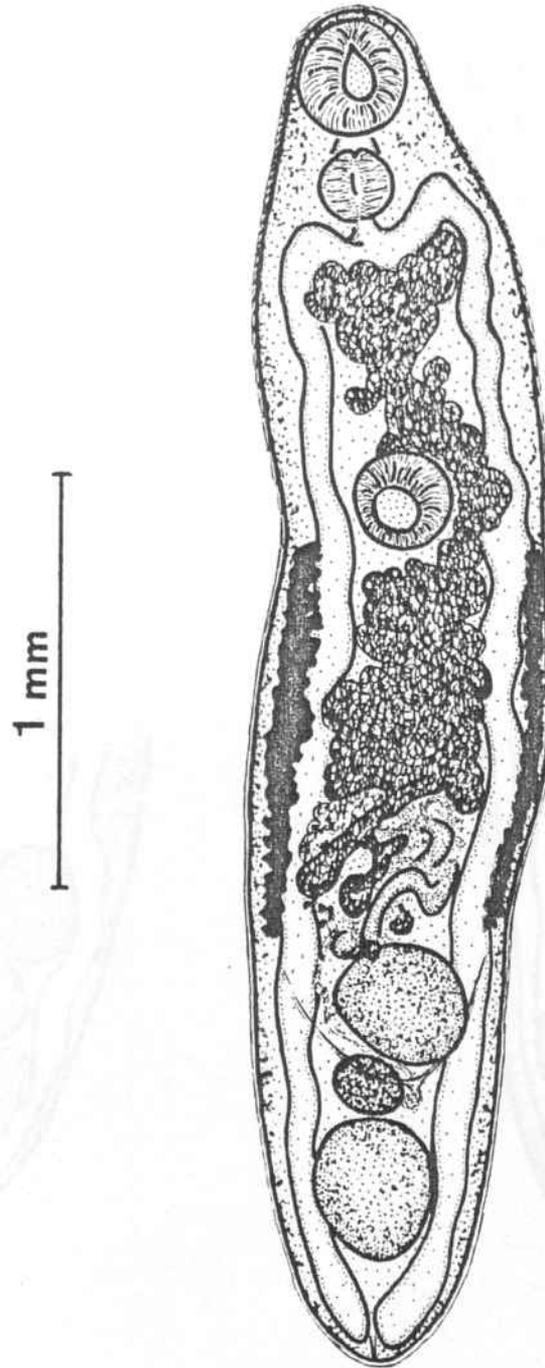


Fig. 1.- Ejemplar adulto de Brachylaemus nitellae procedente del duodeno de Eliomys quercinus ophiusae en Formentera (infestación natural).

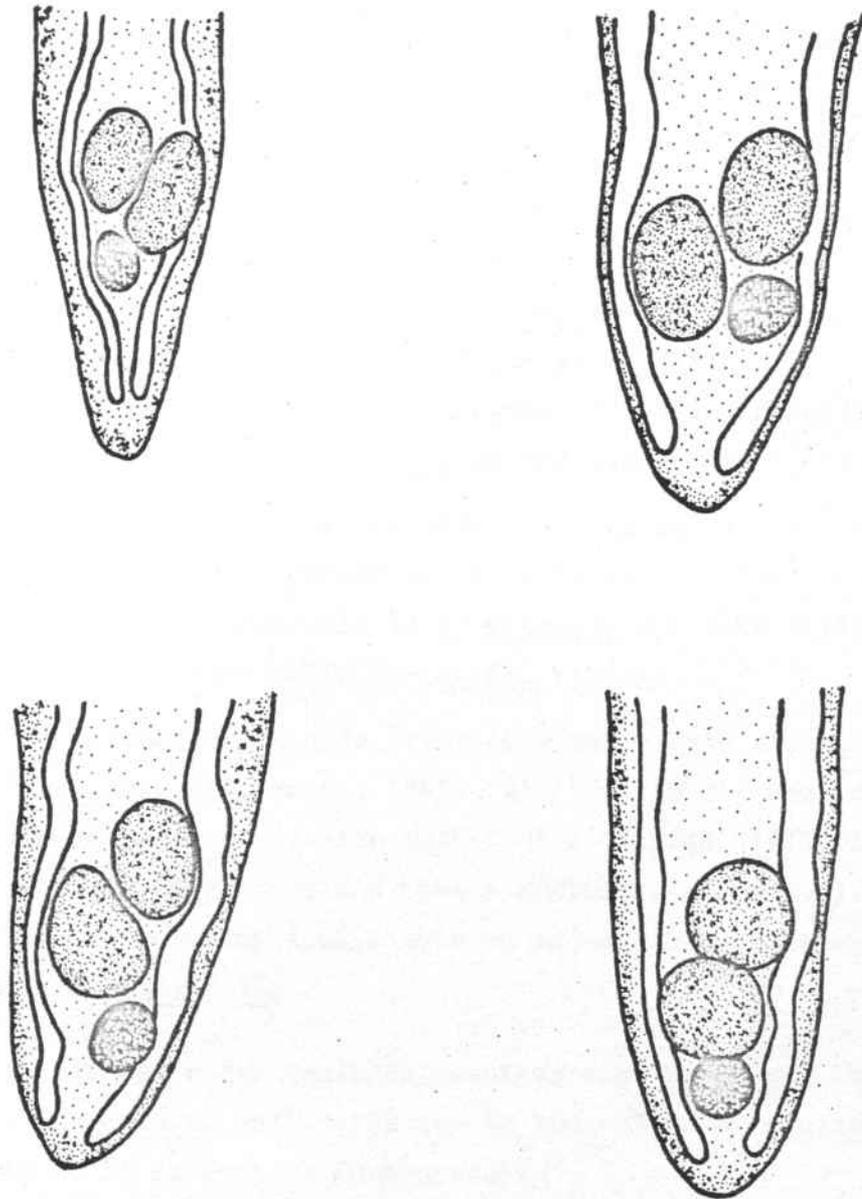


Fig. 2 .- Distribuciones atípicas de las gónadas en ejemplares adultos de Brachylaemus nitellae procedentes de Eliomys quercinus ophiusae en Formentera.

- Brachylaemus musculi (Rudolphi, 1819) descrito originalmente de Mus musculus en Viena (Austria).
- Brachylaemus recurvus (Dujardin, 1845) descrito originalmente de Apodemus sylvaticus Linnaeus, 1758 (Rodentis: Muridae) en Rennes (Francia).

La cuestión planteada por estas dos especies sigue actualmente sin resolverse de un modo definitivo. Así, si bien en general los Brachylaemus de Múridos europeos se ha venido adjudicando a Brachylaemus recurvus, sobre la validez de la especie Brachylaemus musculi hizo hincapie ya BAYLIS (1927) al exponer sus dudas sobre la sinonimia entre ambas especies. También TENORA (1963) adjudica a B. musculi sus Digénidos de Apodemus en Checoslovaquia.

Los Brachylaémidos parásitos de Glíridos han sido adjudicados en general a la especie de DUJARDIN. Concretamente en el lirón careto, Eliomys quercinus Linnaeus, 1766, es citada la presencia de B. recurvus por BAER (1932), BARUS & TENORA (1957), ERHARDOVA (1958) y DOLLFUS et al. (1961).

El Digénido de Formentera ha sido descrito siempre bajo el nombre de Brachylaemus sp. aff. recurvus (Dujardin, 1845), aludiéndose con esta denominación a la duda existente en su determinación (MAS-COMA & GALLEGO, 1975, 1977 y en prensa; MAS-COMA, 1976 y en prensa; MAS-COMA & MONTOLIU, en prensa). Dos puntos principales son los que no hacen aconsejable su adjudicación a la especie B. recurvus ni tampoco a B. musculi:

- la relación entre ventosas: ventosa oral mayor que la ventral en B. musculi; oral menor que la ventral en B. recurvus; iguales en la especie de Formentera;
- el hospedador definitivo: a pesar de la reconocida inespecificidad a nivel de adulto, cabe adjudicar indudablemente una preferencia (especificidad ecológica) de B. recurvus por Apodemus, mientras que en Formentera el Digénido muestra una clara preferencia por Eliomys. Cabe añadir aquí un punto que al parecer ha pasado desapercibido: la presencia de Eliomys en Europa suele ir acompañada por un Brachylaemus que llega a infestar al lirón careto en porcentajes tan elevados que sugieren que se trata de un Trematodo que originariamente le sea propio.

En nuestro caso de Formentera, la especie muestra una relación entre ventosas evidentemente oscilante alrededor de la unidad y una asiduidad clara en el lirón careto, en el cual cabe encontrar a veces infestaciones muy numerosas (de hasta más de 60 ejemplares). La presencia de un Brachylaemus en el mismo Glírido mostrando idénticas características ha sido detectada también en el continente: Pirineos (JOURDANE, 1970; MAS-COMA, datos no publicados); Checoslovaquia (TENORA, com. pers.).

Curiosamente tales hechos fueron distinguidos ya por DUJARDIN en un manuscrito que no llegó a publicar, pero cuya revisión y reproducción completa habría de efectuar mucho más adelante DOLLFUS (1968). Se trata de un Trematodo al que DUJARDIN denominó Distoma nitellae (véase DOLLFUS, 1968: 141 y pl. XX).

En consecuencia, y mientras no se conozca con más detalle el ciclo evolutivo, la biología y la ecología, y la morfología de las distintas fases, larvarias y adultas, y su variabilidad en las otras especies próximas parásitas también de Roedores en Europa, resulta razonable adjudicar momentáneamente al Trematodo de Formentera la clasificación siguiente:

Phylum Plathelminthes

Superclase Trematoda Rudolphi, 1809

Clase Digenea Van Beneden, 1858

Orden Brachylaimida (La Rue, 1957)

Superfam. Brachylaemoidea Allison, 1943

Fam. Brachylaemidae Joyeux et Foley, 1930

Subfam. Brachylaeminae Joyeux et Foley, 1930

Gen. Brachylaemus Dujardin, 1843

Brachylaemus nitellae Dujardin in Dollfus, 1968

Sinónimos: Brachylaemus sp. aff. recurvus (Dujardin, 1845) sensu Mas-Coma et Gállego, 1975; sensu Mas-Coma, 1976 y en prensa; sensu Mas-Coma et Montoliu, en prensa.

No obstante, a pesar de que en todo este compendio vayamos a utilizar siempre el binomio Brachylaemus nitellae, no debe olvidarse las dificultades

clasificatorias que ofrecen los Brachylaemus a nivel de adulto, tal y como escribe ya DOLLFUS (1954): "L'identification spécifique d'un individu, comme d'un group d'individus, risque souvent d'être seulement une approximation".

*CAPITULO TERCERO*

B I O L O G I A   D E L   C I C L O

### 3.- BIOLOGIA DEL CICLO

#### 3.1.- GENERALIDADES

Numerosos estudios sobre la biología de determinadas especies de la familia Brachylaemidae indican que los Digénidos representantes de esta familia presentan un ciclo terrestre de evolución triheteroxena. Existe en su ciclo dos huéspedes intermediarios que son siempre Moluscos terrestres y un huésped definitivo final que puede ser Mamíferos o Aves (véase MAS-COMA & GALLEGO, 1975).

Dentro de la familia en cuestión cabe distinguir según MAS-COMA & GALLEGO (1975) tres subfamilias agrupando un total de seis géneros actualmente de validez aceptada:

Fam. Brachylaemidae Joyeux et Foley, 1930

Subfam. Brachylaeminae Joyeux et Foley, 1930

Gen. Brachylaemus Dujardin, 1843

Gen. Scaphiostomum Braun, 1901

Subfam. Ityogoniminae Yamaguti, 1958

Gen. Ityogonimus Lühe, 1899

Subfam. Panopistinae Yamaguti, 1958

Gen. Panopistus Sinitzin, 1931

Gen. Dollfusinus Biocca et Ferretti, 1958

Gen. Pseudoleucochloridium Pojmanska, 1959

Exceptuando los géneros Scaphiostomum e Ityogonimus, de los cuales no se dispone, en la actualidad y según nuestros conocimientos, de dato alguno sobre la biología de sus especies, en todos los otros géneros se ha efectuado estudios suficientes como para saber cuales son las líneas generales de su evolución.

Así, el ciclo biológico de especies de Panopistus ha sido estudiado por SINITSIN (1931), KRULL (1935) y REYNOLDS (1938).

La biología de la única especie conocida en el género Dollfusinus, D. frontalis Biocca et Ferretti, 1958, ha sido tratada por TIMON-DAVID (1964,

1965), y MAS-COMA & MONTOLIU (en prensa).

En el caso del género Pseudoleucochloridium sólo se dispone de datos sobre la evolución de una especie, P. soricis (Soltys, 1952) (POJMANSKA, 1959, 1961; JOURDANE, 1970, 1976).

El género Brachylaemus es el que ha sido objeto de un mayor número de estudios biológicos, hecho fácilmente comprensible si se tiene en cuenta el gran número de especies que encuadra. Sin olvidar que los géneros Ectosiphonus Sinitsin, 1931, Entosiphonus Sinitsin, 1931, Harmostomum Braun, 1899 y Postharmostomum Witenberg, 1923 deben ser considerados como sinónimos del género Brachylaemus (véase MAS-COMA & GALLEGO, 1975), nos encontramos con bastantes trabajos sobre la biología de sus especies. Así, en América se han ocupado de este tema SINITSIN (1931), KRULL (1933, 1935, 1936), REYNOLDS (1938), ALICATA (1940), ROBINSON (1949), ULMER (1949, 1950, 1951, 1952, 1955) y VILELLA (1953) entre otros; en Europa podemos citar principalmente a HOFFMANN (1899), JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID (1932, 1934), DOLLFUS, CALLOT & DESPORTES (1935), PAVLOV (1946), SIMON-VICENTE (1955), CRAGG, FOSTER & VINCENT (1957), FOSTER (1958), TIMON-DAVID (1959), POJMANSKA (1959, 1961), DEIANA & ARRU (1963), LEWIS (1969), JOURDANE (1970) y MAS-COMA & MONTOLIU (en prensa); en Africa a BALOZET (1936, 1937); y en Asia a BAUGH (1962) y PANIN & SUMENKOVA (1963).

Resultaría demasiado extenso especificar aquí el ciclo evolutivo de todas las especies estudiadas. Puede decirse, en líneas generales, que todas las especies del género Brachylaemus presentan un ciclo terrestre (únicamente en un caso -KRULL, 1936- se ha citado un Molusco acuático como segundo hospedador en un ciclo de Brachylaemus), siendo Gasterópodos Pulmonados terrestres tanto el primero como el segundo huésped intermediario, y Aves o Mamíferos los huéspedes definitivos. Generalmente el segundo hospedador intermediario es otro individuo de caracol de la misma o diferente especie que el primer huésped (ULMER, 1951), si bien en algunos casos se ha citado que un mismo ejemplar de Pulmonado pueda albergar esporocistos productores de cercarias y además metacercarias (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; ALICATA, 1940; ULMER, 1950). Incluso se ha observado esporádicamente el desarrollo precoz de metacercarias dentro de los mismos esporocistos (ULMER, 1950, 1955).

A nivel de primer caracol huésped se ha observado en general una especificidad marcada (ULMER, 1949). El Gasterópodo se infesta por ingestión de huevos maduros, eclosionándose y liberándose el miracidio en el intestino (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; ULMER, 1951). Posteriormente el miracidio penetra en la pared intestinal, dando lugar al esporocisto. En algunos casos se ha demostrado la existencia de dos generaciones de esporocistos, madre e hijo (ULMER, 1949, 1951; VILELLA, 1953), mientras que en otros casos sólo se ha observado una sola generación (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934). La localización más común de los esporocistos es a nivel de hepatopáncreas, si bien también pueden encontrarse en otros lugares. Así, KRULL (1935) describe que los esporocistos pueden llegar a ocupar todos los espacios libres rodeando los órganos, particularmente el intestino. ULMER (1949), por su parte, menciona que los esporocistos madre se localizan en el hepatopáncreas, extendiéndose ocasionalmente hasta el riñón, mientras que los esporocistos hijo situándose preferentemente en el hepatopáncreas, pueden hallarse también en porciones del manto y riñón.

Las cercarias producidas por los esporocistos salen de éstos por los poros de nacimiento terminales (ULMER, 1949). Una vez libres en el hepatopáncreas penetran en los tubos glandulares y a través de los canales hepáticos alcanzan el intestino y de ahí al exterior (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; BALOZET, 1937).

El caracol que actúa como segundo huésped intermediario puede ser el mismo emisor de cercarias (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; ALICATA, 1940; ULMER, 1950), si bien en general es otro individuo de la misma o diferente especie. En algún caso incluso se ha visto como siempre es un caracol distinto del emisor (ULMER, 1951). A nivel de segundo intermediario se ha observado como no se origina ninguna inmunidad, habida cuenta la presencia de metacercarias de distintas edades en un mismo caracol (ULMER, 1949). Mientras en general cabe observar una marcada especificidad de las especies de Brachylaemus en relación al primer huésped, a nivel del segundo cabe decir que sucede el caso inverso, presentándose las metacercarias en Pulmonados de distinta naturaleza sistemática (Helicidae, Stenogyridae, Limacidae, etc.).

La penetración de las cercarias en el segundo caracol se efectúa por

el orificio respiratorio, siguiendo posteriormente, en aquellos casos más comunes en que su destino final es el riñón o la cavidad pericárdica, la vía canal excretor (ureter), riñón (en donde se quedan si éste constituye su microhabitat definitivo - JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; ULMER, 1952), conexión renopericárdica y cavidad pericárdica (ULMER, 1949, 1951).

Los microhabitats de las metacercarias citados con mayor frecuencia son el riñón (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; ADAM & LELOUP, 1934; KRULL, 1935; ULMER, 1952; SIMON-VICENTE, 1955; LEWIS, 1969) y la cavidad pericárdica (ADAM & LELOUP, 1934; ALICATA, 1940; ULMER, 1949, 1951, 1952). En ciertos casos se ha descrito la presencia de metacercarias en la glándula supra-pédea como situación preferente pudiéndose hallar también en otras glándulas pédeas, riñón, pericardio, reborde del manto y cavidad visceral bajo el tegumento de la región dorsal (BALOZET, 1937). VILELLA (1953) observa metacercarias de una misma especie en el riñón, glándulas salivares y seno pédeo de un mismo caracol. TIMON-DAVID (1959) describe en otra especie las metacercarias únicamente en la glándula pédea.

En general las metacercarias de Brachylaemus son libres, pero se ha citado algunos casos de metacercarias enquistadas en el riñón (KRULL, 1935) y en la glándula pédea (TIMON-DAVID, 1959).

Los adultos de las especies del género Brachylaemus parasitan exclusivamente el tracto digestivo del huésped final, siendo la mayoría duodenales. No obstante existen también especies esofágicas y estomacales (LEWIS, 1969) y de otras partes intestinales, como el ciego (ULMER, 1951). A nivel de adulto los Brachylaemus manifiestan eurixenia bien evidente, pudiendo una misma especie llegar a infestar sin dificultades tanto Mamíferos como Aves (JOYEUX, BAER & TIMON-DAVID, 1934; BALOZET, 1937; SIMON-VICENTE, 1955; TIMON-DAVID, 1959).

Resumiendo, puede establecerse las distintas fases generales de la evolución de las especies del género Brachylaemus del siguiente modo:

- el huevo es evacuado al medio externo con las heces;
- el Gasterópodo terrestre primer huésped ingiere el huevo, eclosionando y liberándose el miracidio;

- los esporocistos originados en este primer caracol producen cercarias que son emitidas;
- las cercarias ganan activamente su microhabitat final en el segundo caracol terrestre intermediario, evolucionando hasta metacercarias infestantes;
- la infestación del huésped definitivo tiene lugar por ingestión del segundo caracol intermediario.

Todo el estudio experimental que se expone a continuación ha tomado como base las líneas evolutivas generales anteriormente comentadas.

### 3.2.- ESTUDIOS EXPERIMENTALES

En el presente trabajo se ha intentado la resolución del ciclo biológico de Brachylaemus nitellae en el laboratorio a partir del primer huésped intermediario obtenido naturalmente infestado.

De un modo general, se presenta el conjunto de estudios biológicos efectuados según el siguiente esquema:

- A) *Esquema general del ciclo*: resumen de los diferentes cambios de medio llevados a cabo por el parásito en el transcurso de su ciclo.
- B) *Evolución en el primer huésped intermediario*: caracterización morfológica y anatómica de las correspondientes fases larvianas relacionadas con el primer huésped y análisis de su comportamiento.
- C) *Evolución en el segundo huésped intermediario*: caracterización morfológica y anatómica de la metacercaria y determinación del espectro de segundos huéspedes intermediarios.
- D) *Evolución en el huésped definitivo*: caracterización morfológica y anatómica de los adultos obtenidos experimentalmente y determinación del espectro de huéspedes finales.

- E) *Modalidades del ciclo en la naturaleza*: comparación de los resultados experimentales con los datos obtenidos en la naturaleza y lista de huéspedes de los tres estadios parásitos del ciclo encontrados efectivamente contaminados en la naturaleza.

### 3.2.1.- ESQUEMA GENERAL DEL CICLO

De acuerdo con los estudios efectuados, el ciclo de Brachylaemus nite-llae se desarrolla según el esquema siguiente:

- el huevo es eliminado con las heces por el Micromamífero (Eliomys quercinus ophiusae, Rattus rattus, Mus musculus);
- este huevo es ingerido por el caracol terrestre primer huésped intermediario (Rumina decollata), liberándose el miracidio y originándose los esporocistos localizados en el hepatopáncreas;
- las cercarias emitidas, de cola rudimentaria (cercarias terrestres de tipo microcerco), reptan sobre un sustrato húmedo hasta tomar contacto con otro caracol terrestre que desempeñará la función de segundo huésped intermediario (Rumina decollata, Eobania vermiculata, Euparypha (Theba) pisana, Otala punctata, Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli), en el que penetran por el pneumostoma y vía canal excretor ascienden hasta el riñón en donde evolucionan hasta metacercaria infestante;
- el Micromamífero huésped definitivo se infesta por ingestión del caracol segundo huésped, instalándose el Digénido en el duodeno en donde madura hasta adulto grávido.

### 3.2.2.- EVOLUCION EN LOS HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS Y DEFINITIVO

Se procede a continuación a analizar la evolución del parásito en los hospedadores intermediarios y definitivo según los estudios experimentales efectuados en el laboratorio. Para una más fácil exposición se desmembrará el ciclo biológico completo en sus tres fases principales, correspondientes

a cada uno de los tres huéspedes que intervienen. Además de la consideración de los resultados experimentales, en cada una de estas fases se efectúa, cuando es posible, una breve comparación con los resultados faunísticos obtenidos del estudio de Gasterópodos y Micromamíferos de la isla.

### 3.2.2.1.- EVOLUCION EN EL PRIMER HUESPED INTERMEDIARIO

En esta primera fase se estimará desde la infestación del primer huésped intermediario, por ingestión del huevo, hasta la emisión de cercarias, incluyendo también aquí la breve fase de vida libre de las cercarias emitidas.

#### 3.2.2.1.1.- ESPECIES DE GASTEROPODOS TERRESTRES ESTUDIADAS

El estudio del parasitismo de los caracoles terrestres por los primeros estadios larvarios de Brachylaemus nitellae ha sido efectuado tanto experimentalmente como con material obtenido directamente de la naturaleza. Las especies de caracoles estudiadas son debidamente consideradas a continuación.

#### A) POR INFESTACION NATURAL

La comprobación de parasitación por esporocistos en Gasterópodos terrestres en Formentera se ha llevado a cabo tanto por disección como por comprobación de una posible emisión cercariana. Las especies estudiadas con sus respectivos porcentajes de infestación han sido las siguientes:

- Rumina decollata.- 43 ejemplares procedentes del enclave de Can Campanich: únicamente 2 infestados por esporocistos (4,6 %).  
Todo el ciclo experimental estudiado en este trabajo tuvo como punto de partida a uno de estos caracoles.
- Eobania vermiculata.- 60 ejemplares procedentes de Can Carlos: todos negativos (0%).
- Euparypha (Theba) pisana.- 34 ejemplares procedentes de Can Campanich: todos negativos (0%); 388 ejemplares procedentes de Can Mari: todos negativos (0%).

- Otala punctata.- 15 ejemplares procedentes de Can Carlos: todos negativos (0%).
- Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli.- 3 ejemplares procedentes de Can Campanich: todos negativos (0%).

#### B) POR INFESTACION EXPERIMENTAL

Se ha efectuado varios intentos de infestación experimental de ejemplares de Rumina decollata nacidos en el laboratorio mediante huevos obtenidos a partir de adultos grávidos procedentes de infestación experimental. Hasta la fecha no se ha obtenido ningún resultado positivo.

#### 3.2.2.1.2.- INGESTION DEL HUEVO Y MIRACIDIO

En el caso del ciclo experimental que nos ocupa, al haberse iniciado el estudio del ciclo a partir de un caracol emisor de cercarias, la fase de huevo y miracidio y la correspondiente infestación del primer huésped intermedio por éstos constituye la última etapa que cierra el ciclo. Desgraciadamente, y por los motivos aludidos en el punto anterior, no nos ha sido posible aún cerrar el ciclo experimentalmente. Por lo tanto, en esta fase no cabe más que presuponer los hechos que probablemente deben tener lugar en la naturaleza.

De acuerdo con los conocimientos de que se dispone hoy en día sobre ciclos biológicos terrestres de Digénidos del género Brachylaemus, es de suponer que el huevo es eliminado por el huésped definitivo con las heces, alcanzando así el medio externo, donde será ingerido (infestación pasiva) por el caracol primer huésped intermedio. En el intestino de éste tendrá lugar la liberación del miracidio que posteriormente se dirigirá al lugar específico donde habrá de originar los esporocistos.

#### 3.2.2.1.3.- ESPOROCISTOS

En este estudio experimental se ha partido de un caracol emisor de cercarias. En consecuencia no nos es posible saber si en el ciclo de Brachylae-

mus nitellae tienen lugar una o dos generaciones de esporocistos (esporocistos madre e hijos). Todo cuanto podemos aportar se refiere exclusivamente, por tanto, a esporocistos ya maduros y emisores de cercarias, sin que pueda concretarse si se trata de esporocistos engendrados directamente por los miracidios (una única generación de esporocistos) o de esporocistos hijos originados a partir de un esporocisto madre (dos generaciones de esporocistos).

#### A) LOCALIZACION

La situación básica de los esporocistos se encuentra en el hepatopáncreas o glándula digestiva del Pulmonado.

La disección del ejemplar de Rumina decollata, emisor de cercarias que ha constituido el punto de partida de nuestro ciclo experimental, nos permitió observar una presencia masiva de esporocistos ocupando todo el hepatopáncreas, extendiéndose hasta las paredes externas del riñón e incluso más allá, ocupando espacios libres alrededor del intestino, también hasta las proximidades del ano. La glándula digestiva aparecía totalmente degenerada, habiendo perdido su tonalidad castaña normal. La invasión del caracol por los esporocistos había provocado la desaparición de la gónada o glándula sexual y, por tanto, este parasitismo había conducido a la castración del Pulmonado.

Los esporocistos se encontraban distribuidos de un modo apretado, imbricándose ostensiblemente sus ramificaciones. Este hecho, conjuntamente con la fijación de los esporocistos a los distintos órganos del caracol, imposibilitaba una extracción completa de la masa parasitaria, de manera que sólo pudo obtenerse separadamente fragmentos de esporocistos de mayor o menor extensión.

#### B) MORFOLOGIA

Los esporocistos muestran una forma de divertículos muy ramificados, siendo las ramificaciones de mayor o menor longitud y de diámetros muy variables (45 - 334  $\mu$ ). La pared de estos esporocistos es extremadamente fina, delicada y fácilmente desgarrable.

Las ramificaciones de los esporocistos contienen un elevado número de

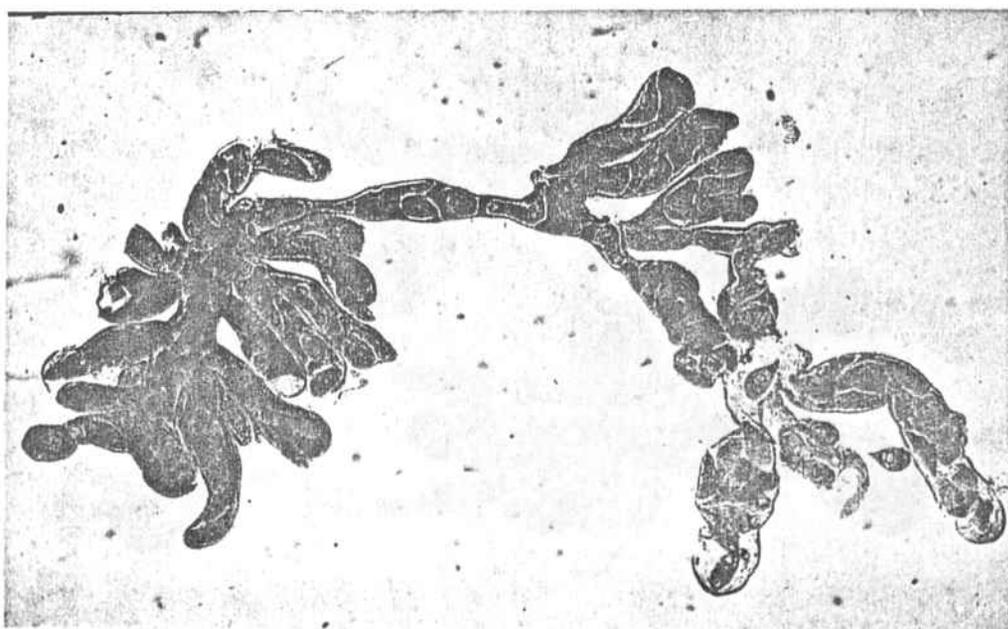


Fig. 3.- Esporocisto de Brachylaemus nitellae procedente del hepatopáncreas de Rumina decollata de Formentera (infestación natural). x 37.

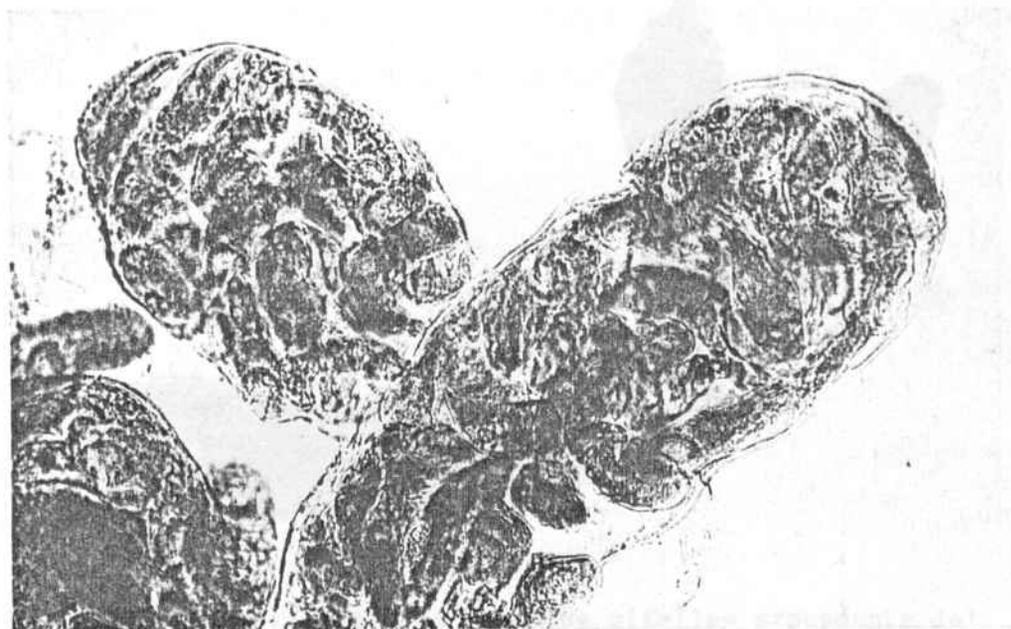


Fig. 4.- Ramificaciones terminales de un esporocisto de Brachylaemus nitellae procedente del hepatopáncreas de Rumina decollata de Formentera (infestación natural). x 137.



Fig. 5.- Esporocisto de Brachylaemus nitellae procedente del hepatopáncreas de Rumina decollata de Formentera (infestación natural). x 75.

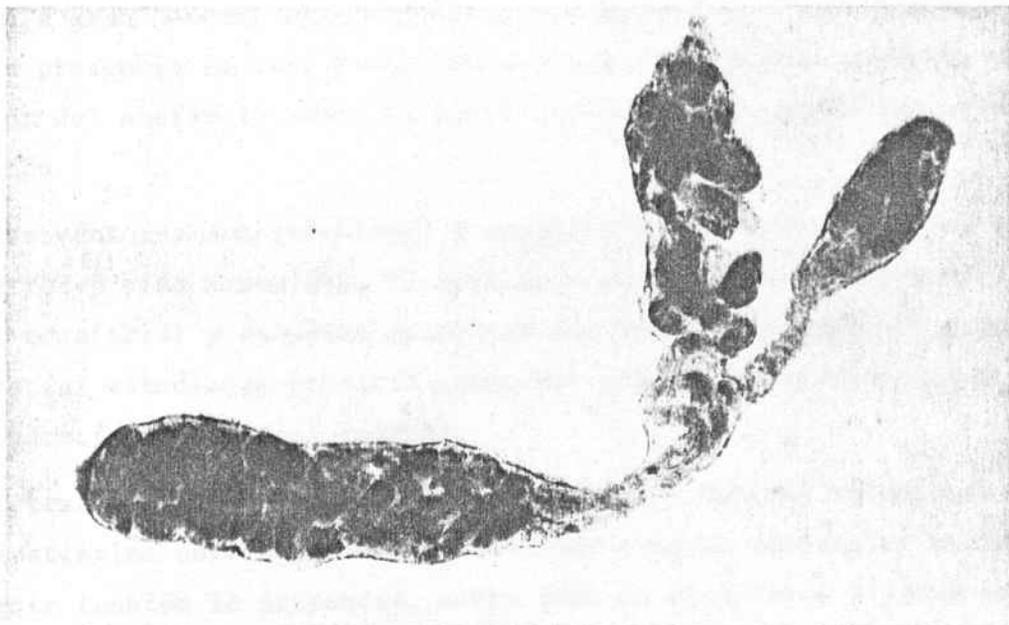


Fig. 6.- Esporocisto de Brachylaemus nitellae procedente del hepatopáncreas de Rumina decollata de Formentera (infestación natural). x 75.

cercarias, observándose todo tipo de estados evolutivos, desde verdaderos primordios germinales hasta cercarias completamente desarrolladas.

#### 3.2.2.1.4.- CERCARIAS

Vamos a considerar en este apartado la morfología de cercarias maduras, esto es, de cercarias recién emitidas, en todos sus aspectos. Asimismo añadiremos aquí cuantos datos podamos aportar sobre la naturaleza de la emisión de dichas cercarias y su comportamiento en libertad.

##### A) MORFOLOGIA GENERAL

La cercaria estudiada pertenece al grupo de las cercarias de tipo microcerco (pero no acuática, sino terrestre) caracterizada por la presencia de una cola rudimentaria reducida a un muñón caudal apenas separado del cuerpo por un ligero estrangulamiento.

El cuerpo de la cercaria es lanceolado y su cutícula es aparentemente lisa, si bien a gran aumento es posible discernir, en los bordes laterales corporales, la presencia de unas finísimas espinas distribuidas a partir del nivel anterior del acetábulo hacia la parte posterior del cuerpo incluyendo también el muñón.

Las dos ventosas son circulares y subiguales. La ventosa oral es subterminal, ventral y bien musculosa. El acetábulo se localiza en una zona ligeramente post-ecuatorial y es menos musculosa que la ventosa oral. El gran número de cercarias estudiadas permitió encontrar algunos pocos ejemplares anormales que carecían de ventosa ventral.

El sistema digestivo está representado por una faringe voluminosa y dos ciegos intestinales cortos que suelen terminar a nivel acetabular medio. Cabe distinguir también la presencia, sobre todo en ejemplares fijados entre portaobjetos y cubreobjetos, de una rudimentaria prefaringe y de un corto esófago.

La cercaria presenta en la región post-acetabular dos agrupaciones de células glandulares laterales. En nuestro caso hemos podido distinguir la pre-

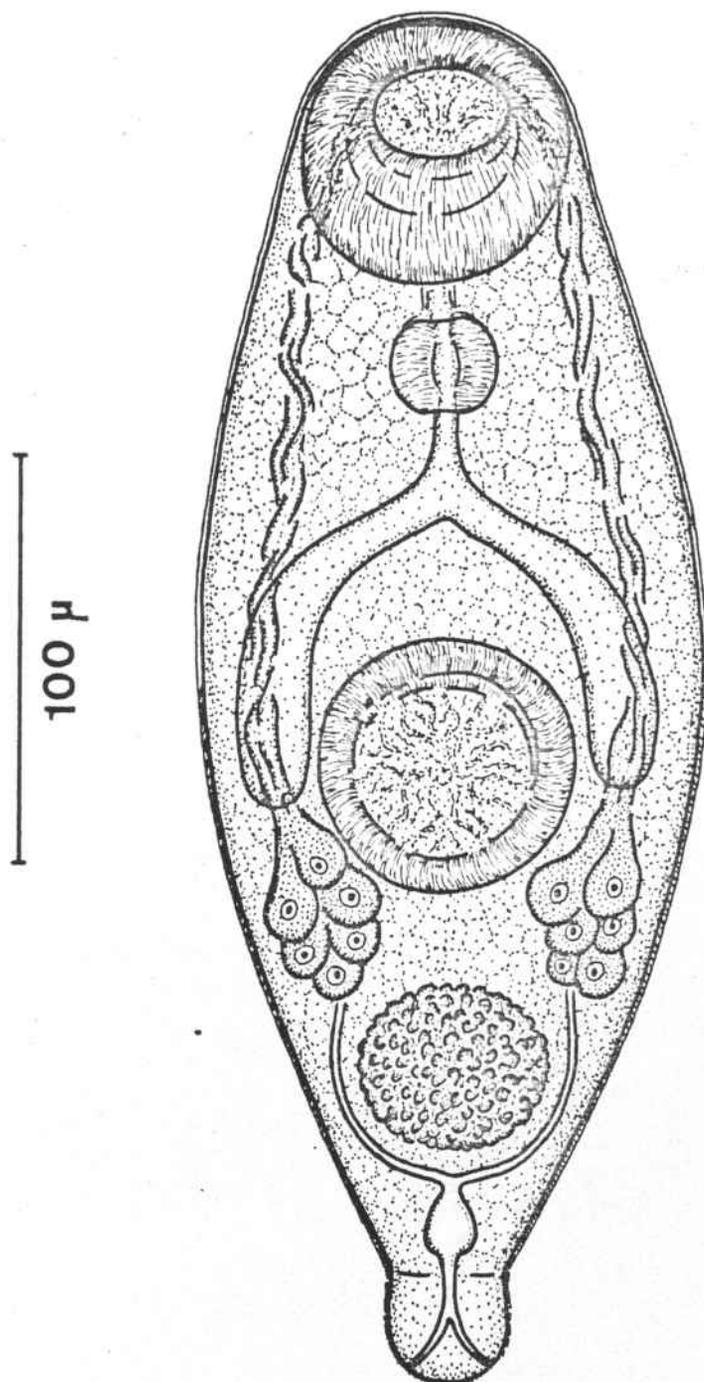


Fig. 7.- Morfología general de la cercaria de Brachylaemus nitellae.

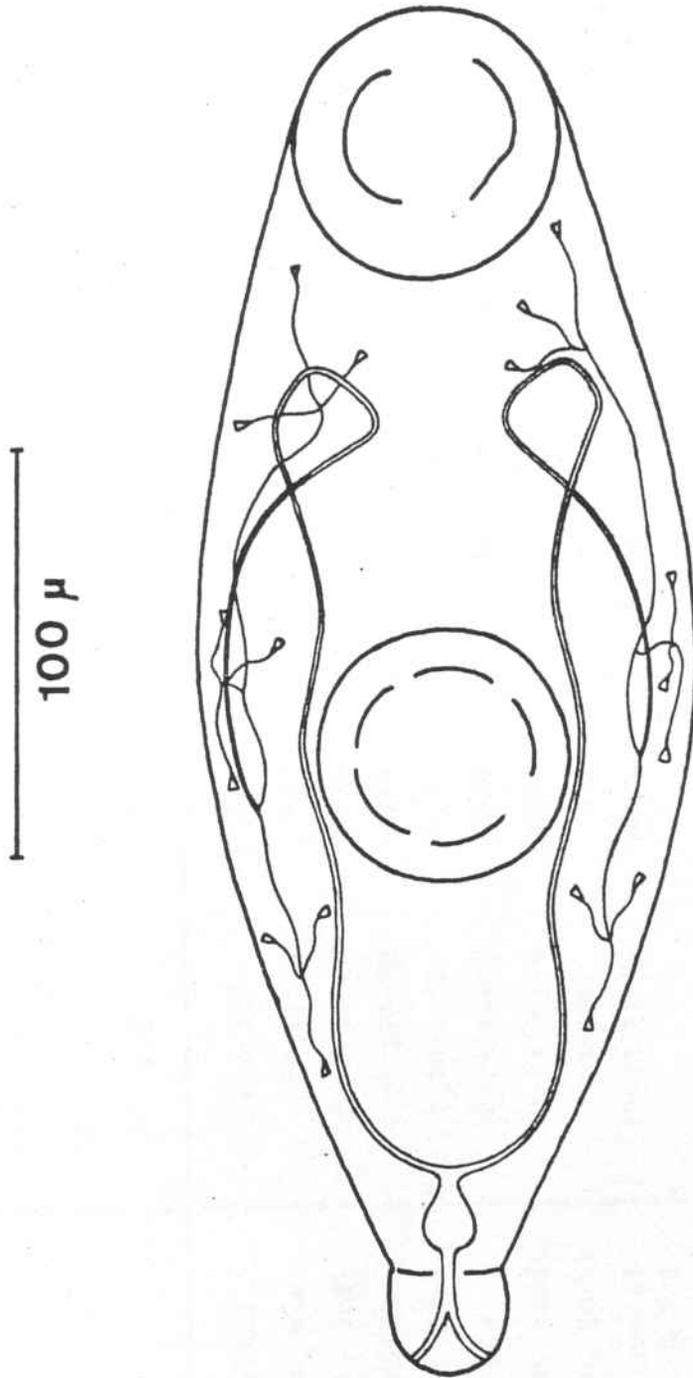


Fig. 8.- Morfología del aparato excretor de la cercaria de Brachylaemus nitellae.

TABLA II

Huésped Lugar	Rumina decollata Formentera (Can Campanich)		in vivo n=6	
	Fijadas entre portaobjetos y cubreobjetos n=12	$\bar{X}$	V.E.	$\bar{X}$
Longitud	232-335	304	410-547	486
Anch. máx.	73-116	93	155-198	178
Vent. oral	55-65/48-62	60/55	75-93/72-90	86/78
Acetábulo	47-61/39-52	54/47	75-93/70-90	84/82
Rel. VO/VV	1,10-1,58	1,3	0,91-1,04	0,97
Faringe	18-29/14-21	22/18	32-47/25-39	41/32
Prim. genit.	29-49/16-29	36/22	-	-
Dist. VO-VV	54-109	80	90-173	144
Ap. caudal (l. x b.)	12-23/11-25	18/18,5	32-43/47-54	37/49

Dimensiones en  $\mu$  de cercarias de Brachylaemus nitellae emitidas por un ejemplar de Rumina decollata recolectado en Can Campanich (Formentera).  
Apéndice caudal: l. x b. = longitud x anchura base.

sencia de 6 células glandulares en cada uno de estos grupos. Los canales glandulares correspondientes se dirigen hacia la parte apical, lateralmente y de un modo más o menos paralelo a las paredes corporales, desembocando en la región anterior de la abertura oral.

El aparato excretor es de tipo "stenostoma". Consta de una vesícula excretora de forma más o menos piriforme en la que desembocan los dos canales colectores principales, en los cuales puede verse batir a los cilios vibrátiles sin dificultades. El excretor se proyecta al exterior mediante un corto canal posterior que se bifurca a nivel medio del muñón caudal, desembocando ambas bifurcaciones simétricamente cerca de su extremo final. El resto del aparato excretor es de difícil observación en la cercaria debido a la opacidad de su parénquima. Puede distinguirse sin dificultades el camino ascendente y descendente de los canales colectores principales, pero su continuación es difícil de reconstruir. Hemos podido contar hasta 18 células flamíferas distribuyéndose según la siguiente fórmula:

$$2((3 + 3) + (3))$$

No cabe desechar, sin embargo, la posibilidad de que alguna que otra célula flamígera haya podido pasar desapercibida. De todos modos, la fórmula anterior se corresponde perfectamente a las conocidas en cercarias de otras especies de Brachylaemidae.

En la parte posterior del cuerpo, a nivel medio entre acetábulo y muñón y localizándose antes de la bifurcación de los canales excretores principales, se encuentra un primordio genital granuloso.

Las dimensiones de estas cercarias tanto in vivo como fijadas y montadas in toto son debidamente expuestas en la tabla II.

#### B) *QUETOTAXIA*

La quetotaxia de la cercaria de Brachylaemus nitellae se caracteriza inicialmente por su sencillez. Cabe remarcar una apreciable concentración de pa-

pilas o sensores sobre la ventosa oral y sobre el acetábulo, un escaso número de papilas somáticas laterales, así como una pérdida general de papilas somáticas ventrales y dorsales.

La quetotaxia puede establecerse concretamente del siguiente modo:

a) *Región cefálica*

Papilas de la boca

$$C_I = 1C_{I,L} + 1C_{I,D}$$

$C_{II}$  = 10 papilas dispuestas regularmente alrededor de la boca

$$C_{III} = 4C_{III,V} + 3C_{III,L} + 10C_{III,D}$$

Papilas del estilete

St = alrededor de 8 papilas

b) *Cuerpo*

$$A_I = 1A_{I,L}$$

$$A_{II} = 2A_{II,L}$$

$$A_{III} = 1A_{III,L}$$

$$M_I = 3M_{I,L}$$

$$P_I = (\text{a veces } 1P_{I,L})$$

$$P_{II} = 1P_{II,L}$$

$$P_{III} = 2P_{III,L}$$

c) *Acetábulo*

$$S_I = 6S_I$$

$$S_{II} = 6S_{II}$$

$$S_{III} = 4S_{III} \text{ (pero en general sólo están las dos anteriores, luego } 2S_{III})$$

d) *Cola*

$$U = 4U_L$$

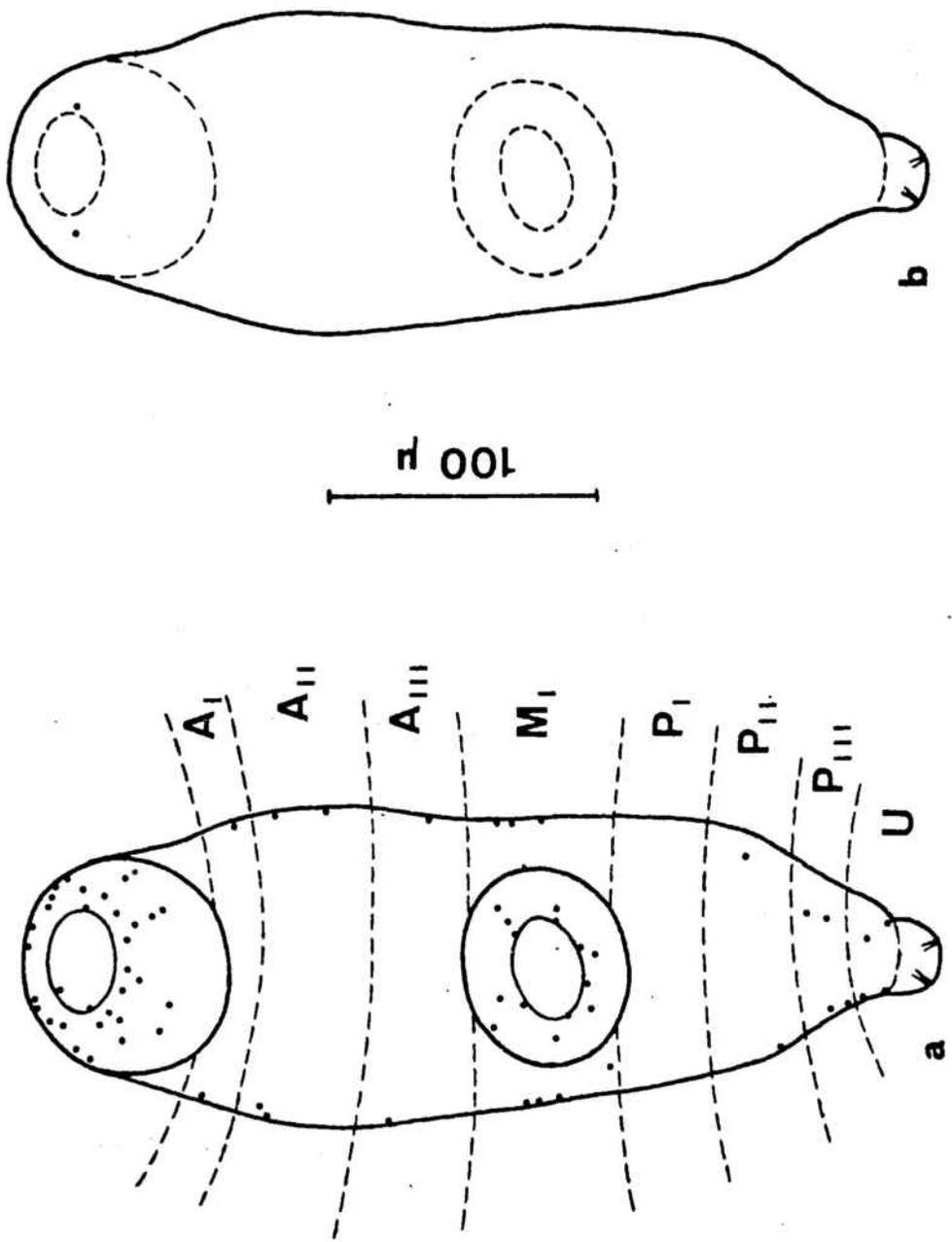


Fig. 9.- Quetotaxia de la cercaria de Brachylaemus nitellae: a) visión ventral; b) visión dorsal.

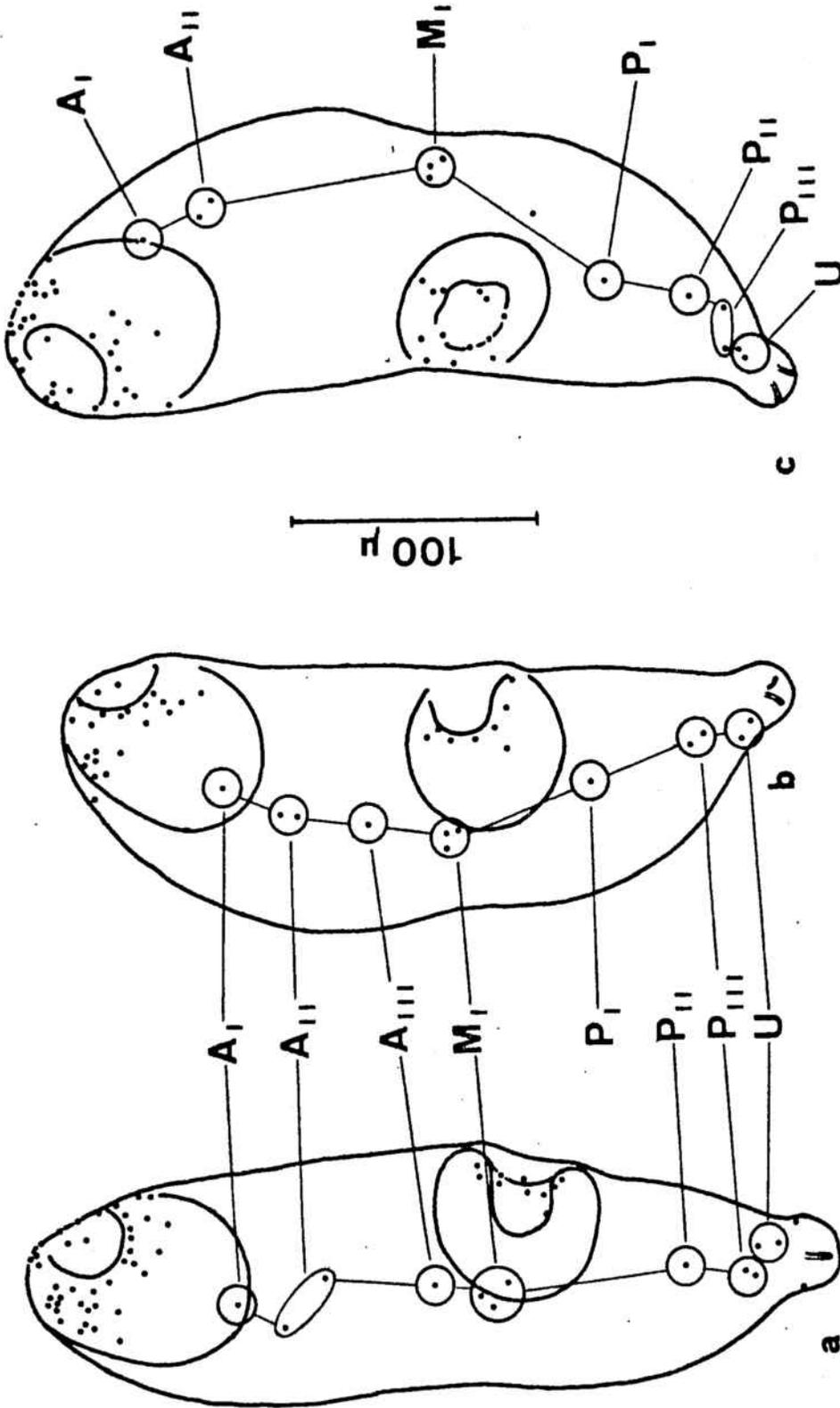


Fig. 10.- Quetotaxia de la cercaria de *Brachylaemus nitellae*; a, b) visiones laterales; c) vision latero-ventral.

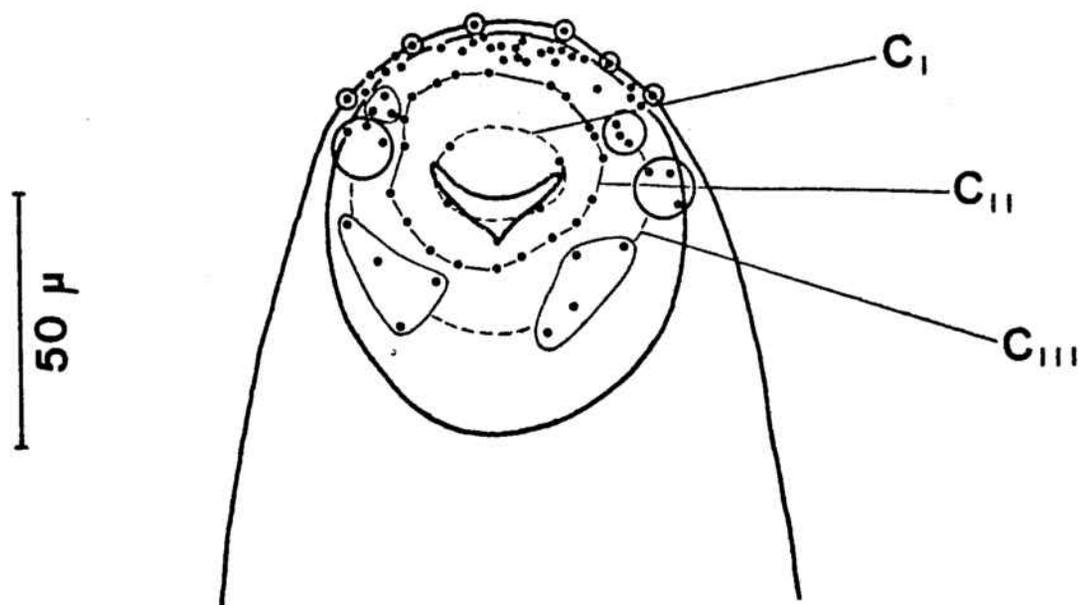


Fig. 11.- Quetotaxia de la región cefálica de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión ventral).

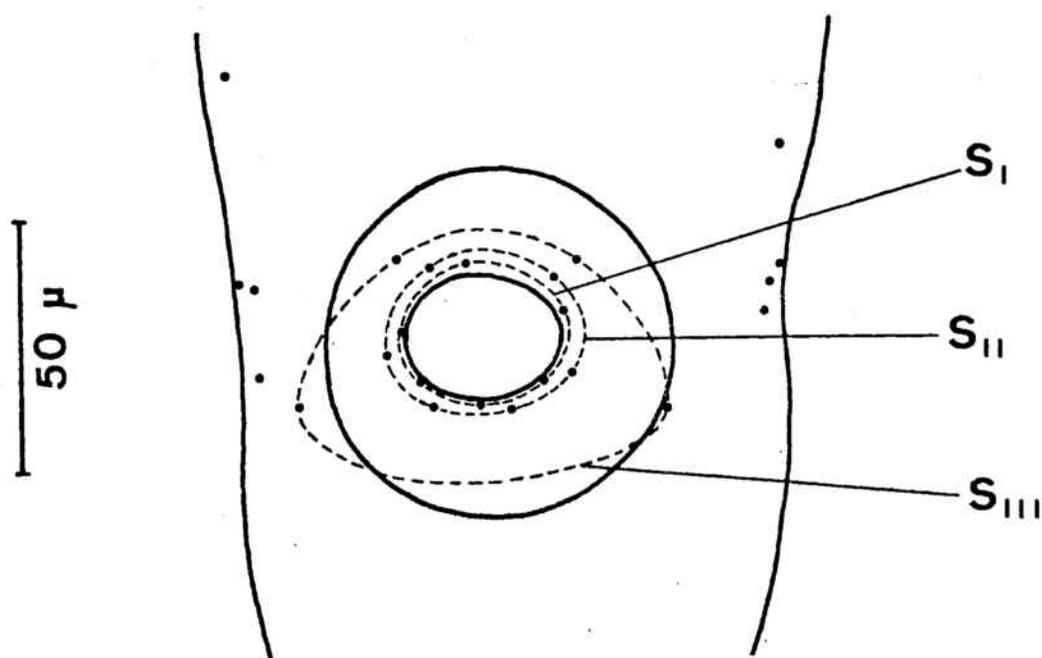


Fig. 12.- Quetotaxia de la región acetabular de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión ventral).

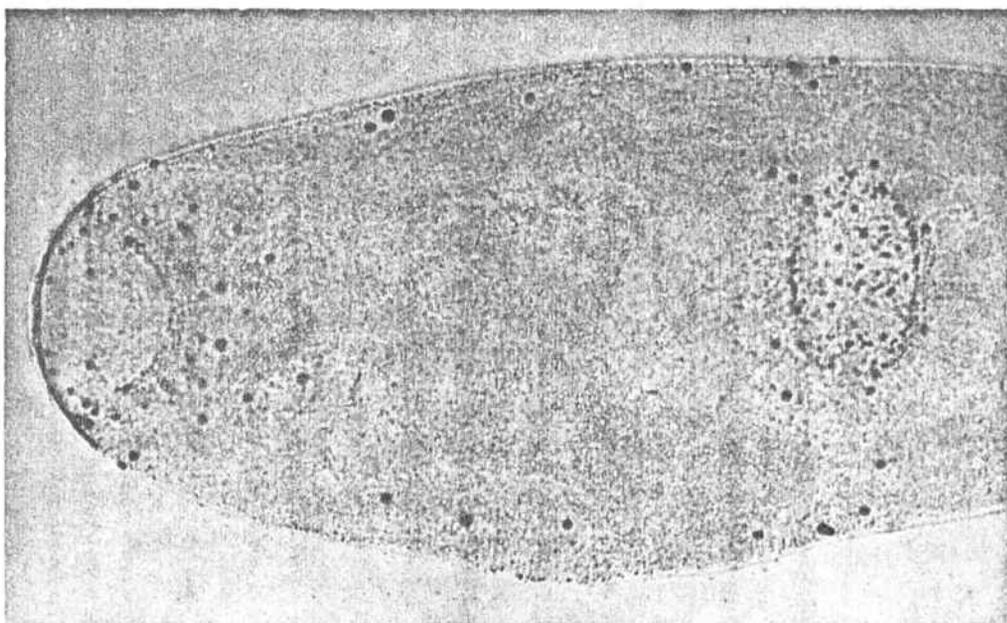


Fig. 13.- Quetotaxia de la región corporal anterior de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión ventral). x 480.

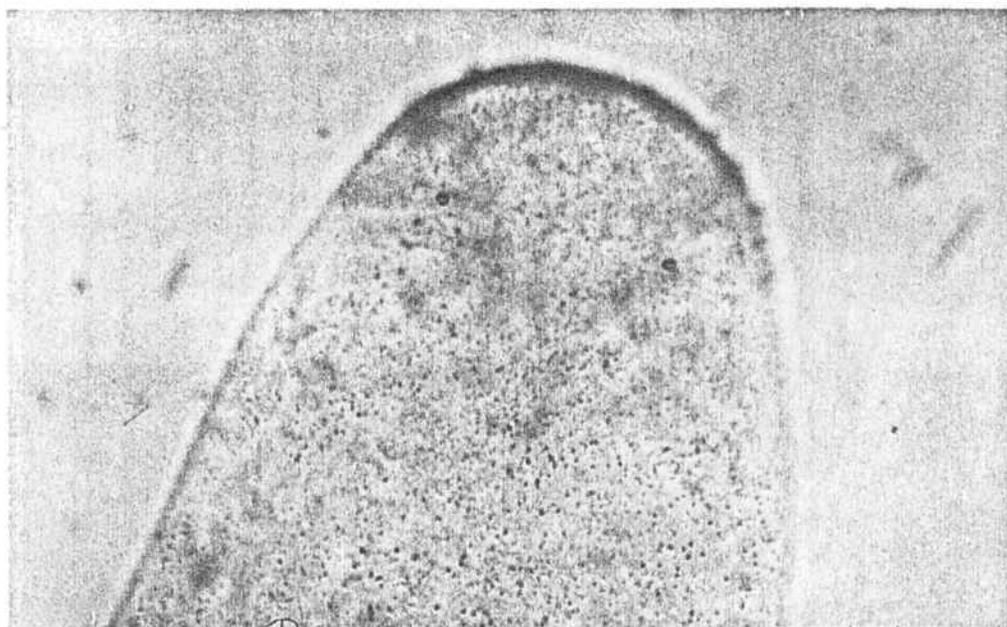


Fig. 14.- Quetotaxia de la región cefálica de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión dorsal). x 690.

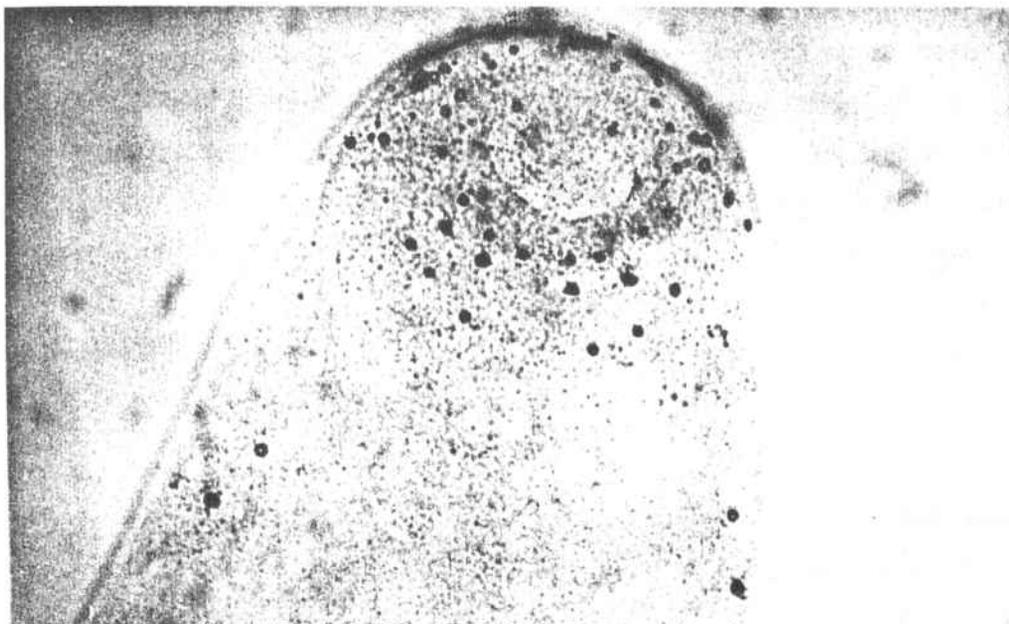


Fig. 15.- Quetotaxia de la región cefálica de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión ventral). x 690.

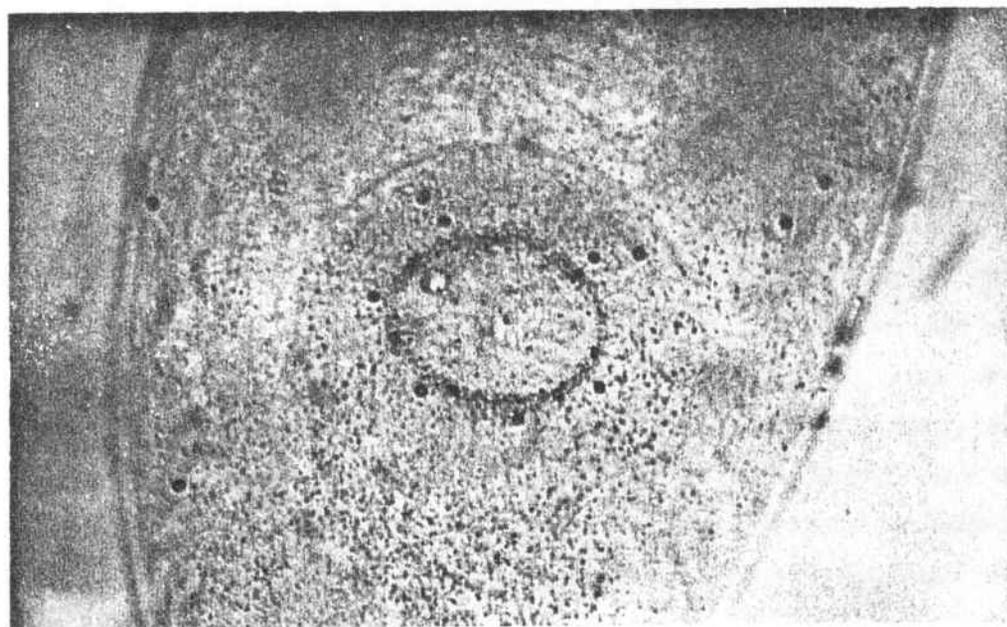


Fig. 16.- Quetotaxia de la región acetabular de la cercaria de Brachylaemus nitellae (visión ventral). x 642.

## C) EMISION

La distinción del lugar concreto de emisión de cercarias al exterior es difícil de efectuar por simple observación bajo la lupa binocular. En nuestro caso la presencia de un elevado número de cercarias en el pneumostoma hace suponer casi sin lugar a dudas que éste debe ser el lugar por el que las cercarias alcanzan el exterior. Cabe suponer que las cercarias, una vez libres en el hepatopáncreas, penetren en los tubos glandulares y a través de los canales hepáticos lleguen al intestino y por él al ano, proyectándose así al exterior por el pneumostoma, tal y como es conocido en alguna especie de Brachylaemus.

Sobre la capacidad de producción de cercarias por parte de los esporocistos no puede momentaneamente decirse nada en concreto. No obstante, dos hechos sugieren que la duración de la capacidad emisora por parte de un caracol puede durar varios meses: por una parte el hecho de que el caracol emisor de que se dispuso en el laboratorio estuviese emitiendo cercarias de modo interrumpido durante siete meses, y por otro lado, el hecho de que en la disección de este mismo caracol emisor se detectara la presencia de un elevadísimo número de esporocistos conteniendo innumerables cercarias en todos los posibles niveles de formación, esto es, desde verdaderas pequeñas masas germinales hasta cercarias aparentemente ya maduras.

No mucho podemos aportar sobre la cronobiología de la emisión de cercarias de Brachylaemus nitellae por Rumina decollata. Sin embargo, puede adelantarse un hecho interesante cual es la indudable influencia de la luz sobre la emisión. Así, dispuesto el caracol emisor en una cápsula de Petri con una fina película de agua natural y a la temperatura del laboratorio, este caracol emitió 130 cercarias tras exposición a la luz solar durante una hora, mientras que en la exposición, durante un idéntico período de tiempo, en completa oscuridad sólo se detectó la emisión de 9 cercarias. Esta considerable diferencia sugiere indudablemente una influencia evidente del fotoperíodo en la emisión cercariana de la especie que nos ocupa.

#### D) *COMPORTAMIENTO EN LIBERTAD*

En condiciones experimentales puede observarse el movimiento de las cercarias recién emitidas, tanto sobre un papel enbebido de agua como sobre el fondo de una cápsula de Petri con una fina película de agua natural. Sobre el sustrato las cercarias se desplazan por movimientos de reptación. Esquemáticamente puede describirse este movimiento del siguiente modo: fijado el actábulo a un sustrato, extiende la parte anterior de su cuerpo hasta fijar la ventosa oral; luego libera el acetábulo y se contrae, fijándolo de nuevo junto a la ventosa oral, a la cual liberará y proyectará hacia adelante con una nueva extensión corporal.

Estos movimientos más o menos rítmicos los efectúa la cercaria tanto en un líquido fluido, como es el agua natural, como en un medio denso como la segregación mucosa de los caracoles.

Las cercarias de esta especie son bastante resistentes en el medio ambiente, superando la mayoría las 24 horas de vida en libertad sin mayores dificultades, y superando muchas incluso las 48 horas de vida libre. Esta capacidad de supervivencia les confiere un mayor número de probabilidades de poder alcanzar a un caracol que vaya a actuar como segundo hospedador intermedio.

Una vez efectuada la toma de contacto de las cercarias con otro caracol, cabe observar experimentalmente como las cercarias comienzan a desplazarse sobre el Gasterópodo en todas direcciones, alcanzando algunas el pneumostoma por el que penetran.

#### 3.2.2.2.- EVOLUCION EN EL SEGUNDO HUESPED INTERMEDIARIO

En esta segunda fase se procede a analizar la evolución seguida por el Digénido desde el momento de la entrada de la cercaria en el caracol hasta la consecución en el mismo del estadio metacercaria infestante.

##### 3.2.2.2.1.- ESPECIES DE GASTEROPODOS TERRESTRES ESTUDIADAS

El estudio del parasitismo de los caracoles terrestres por los segundos

estadios larvarios de Brachylaemus nitellae ha sido efectuado tanto experimentalmente como con material obtenido directamente de la naturaleza. Las especies de caracoles estudiadas son debidamente consideradas a continuación.

#### A) POR INFESTACION NATURAL

La comprobación de parasitación por metacercarias en Gasterópodos terrestres de Formentera se ha llevado a cabo por disección. Las especies estudiadas con sus respectivos porcentajes de infestación han sido las siguientes:

- Rumina decollata.- 7 ejemplares procedentes de Can Campanich: 5 infestados por metacercarias (71,5 %), oscilando el número de metacercarias por caracol entre 3 y 12 (media = 7,6).
- Eobania vermiculata.- 60 ejemplares procedentes de Can Carlos: 12 infestados por metacercarias (20 %), oscilando el número de metacercarias por caracol entre 1 y 4.
- Euparypha (Theba) pisana.- 34 ejemplares procedentes de Can Campanich: todos negativos (0 %); 388 ejemplares procedentes de Can Mari: 2 infestados por metacercarias (0,5 %), oscilando el número de metacercarias por caracol entre 1 y 2. Del total de 422 caracoles 2 con metacercarias (0,47 %).
- Otala punctata.- 15 ejemplares procedentes de Can Carlos: 1 infestado (6,6 %) por una metacercaria.
- Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli.- 3 ejemplares procedentes de Can Campanich: 2 infestados por metacercarias (66,6 %), presentándose una sola metacercaria por caracol.

#### B) POR INFESTACION EXPERIMENTAL

Se ha ensayado la infestación experimental mediante cercarias emitidas por el ejemplar de Rumina decollata primer huésped intermediario en diferentes especies de Gasterópodos terrestres presentes en la isla de Formentera.

En concreto se procedió a experimentos de infestación con los siguientes

materiales:

- Rumina decollata.- Ensayo de infestación de 8 ejemplares, posteriormente examinados entre los 10 meses y 13 meses y medio a partir de la infestación: todos parasitados con metacercarias maduras (100 %), oscilando el número de metacercarias por caracol entre 12 y 28 (media = 19).
- Eobania vermiculata.- Ensayo de infestación de 57 ejemplares, posteriormente examinados entre 1 mes y 7 meses a partir de la infestación: 4 individuos parasitados con metacercarias inmaduras (7,0 %), siendo el número de metacercarias de 15 en un caracol sacrificado al mes y medio, 5 en otro sacrificado a los 4 meses, 1 en otro a los 6 meses y 1 en otro a los 7 meses.
- Euparypha (Theba) pisana.- Ensayo de infestación de 260 ejemplares, posteriormente examinados entre las 24 horas y 9 meses a partir de la infestación: 7 individuos parasitados con metacercarias (2,7 %), siendo el número de metacercarias oscilante entre 2 y 31 en 6 caracoles sacrificados entre las 24 y 48 horas, y de 2 metacercarias en el restante caracol sacrificado al mes.
- Otala punctata.- Ensayo de infestación de 4 ejemplares, posteriormente examinados a los 8 meses a partir de la infestación: 1 individuo parasitado (25 %) con 1 metacercaria aparentemente casi en estado infestante.
- Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli.- Ensayo de infestación de 3 ejemplares, posteriormente examinados a los 18 días a partir de la infestación: 1 individuo parasitado (33,3 %) con 10 metacercarias inmaduras.

3.2.2.2.2.- METACERCARIA

Se pasa a considerar en este apartado la vía o camino seguido por la cercaria tras su penetración en el segundo huésped intermediario hasta su

localización en el microhabitat definitivo dentro del mismo caracol, así como el proceso morfoevolutivo que sufre el Digénido en el microhabitat final hasta alcanzar el estadio de metacercaria infestante.

#### A) VIA SEGUIDA Y LOCALIZACION

Tal y como se dijo al finalizar el análisis del comportamiento de la cercaria en libertad, ésta penetra en el segundo caracol intermediario por su pneumostoma, hecho observado directamente bajo la lupa binocular. Para discernir el camino seguido desde el pneumostoma hasta su localización final y el tiempo invertido en esta migración, se procedió a la disección de caracoles en períodos de tiempo consecutivos dentro de las 48 horas siguientes a partir del momento en que se los puso en contacto con el Gasterópodo emisor de cercarias. Estos ensayos fueron efectuados únicamente con ejemplares de Euparypha (Theba) pisana. El examen de los caracoles mostró la presencia de cercarias recién penetradas a nivel de pneumostoma, de conducto excretor, de riñón y de cavidad pericárdica. Con el tiempo se observa como el número de cercarias va aumentando en el riñón, órgano que constituye su microhabitat definitivo. En consecuencia, cabe suponer casi sin lugar a dudas que el camino seguido por las cercarias tras su penetración por el pneumostoma es vía poro excretor - canal excretor o uréter - riñón, si bien según parece las cercarias trasiegan a veces perdidas tal y como nos lo demuestra el hallazgo de unas pocas cercarias en la cavidad pericárdica a la que habian accedido indudablemente vía conexión reno-pericárdica.

El destino final de las cercarias es indudablemente el riñón, microhabitat en el que se encontró metacercarias en estado maduro tanto en caracoles infestados naturalmente como en aquellos infestados experimentalmente.

#### B) MORFOLOGIA Y ANATOMIA

Las transformaciones que sufre la larva en el interior del segundo hospedador intermediario pudieron ser detectadas merced a disponer de ejemplares obtenidos a partir de la disección de Gasterópodos en períodos de tiempo correlativos respecto del momento de su infestación. Esta evolución está

marcada principalmente por un aumento de tamaño y unas modificaciones de la organización interna.

A las 24 horas de su penetración en el segundo huésped intermediario, no cabe detectar ninguna modificación en la morfología y anatomía de la larva, presentando aún todas las características de las cercarias; 24 horas más tarde, esto es, a las 48 horas de su penetración, cabe observar un crecimiento corporal inapreciable y el comienzo de la funcionabilidad de los ciegos intestinales cuya extensión terminal se ha prolongado hasta el nivel posterior del acetábulo, pudiéndose observar en su interior la presencia de restos alimenticios.

A las dos semanas el digestivo sigue siendo lo único cuya modificación es detectable, habiéndose prolongado los ciegos hasta un nivel post-acetabular, sin alcanzar todavía el nivel anterior del primordio genital.

En los meses siguientes el digestivo irá transformándose lentamente, aumentando paulativamente las dimensiones de la faringe y alargándose los ciegos intestinales, mientras que el cuerpo crece escasamente.

A los 6 - 7 meses cabe observar ya el comienzo de la división del primordio genital, alcanzando los ciegos intestinales las proximidades del extremo posterior de la larva. En esta fase tiene lugar el desprendimiento del muñón caudal. En el primordio genital cabe distinguir una primera subdivisión originándose dos partes que aparentemente habrán de dar con el tiempo la bolsa del cirro y primer testículo la fracción anterior, y ovario y segundo testículo la fracción posterior. En los ejemplares de siete meses puede observarse asimismo la abertura ventral del poro genital.

A los ocho meses puede discernirse ya la diferenciación de las gónadas a partir de las fracciones del primordio genital, pudiendo observarse la configuración de los dos testículos y el ovario. El muñón está ya ausente.

En los dos meses que seguirán la larva adquirirá ya las características del estadio metacercaria infestante. Esta metacercaria madura se caracteriza por su considerable tamaño, pudiéndose observar ya la espinulación cuticular que caracteriza al adulto. El aparato genital está completamente desarrollado, con dos testículos y un ovario bien visibles. La configuración

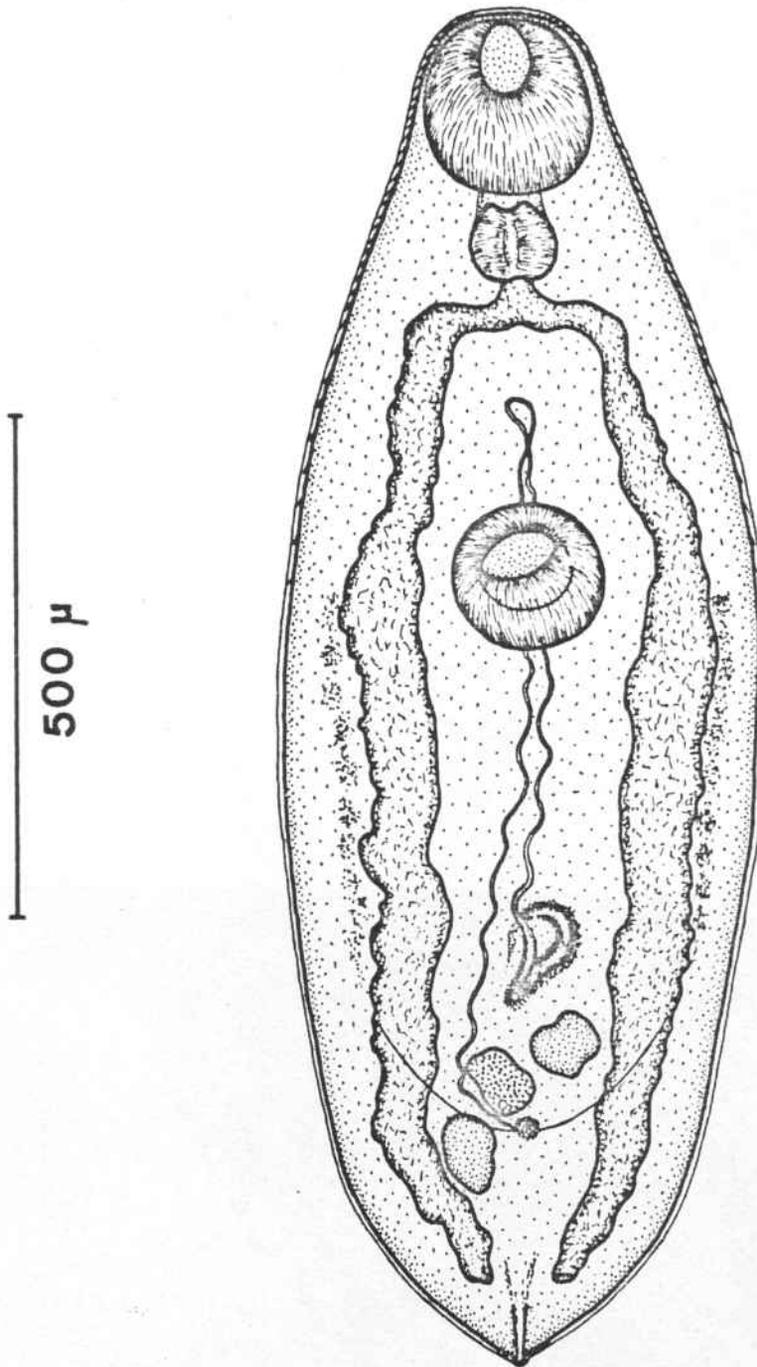


Fig. 17.- Metacercaria infestante de Brachylaemus nitellae procedente del riñón de Rumina decollata (experimental).

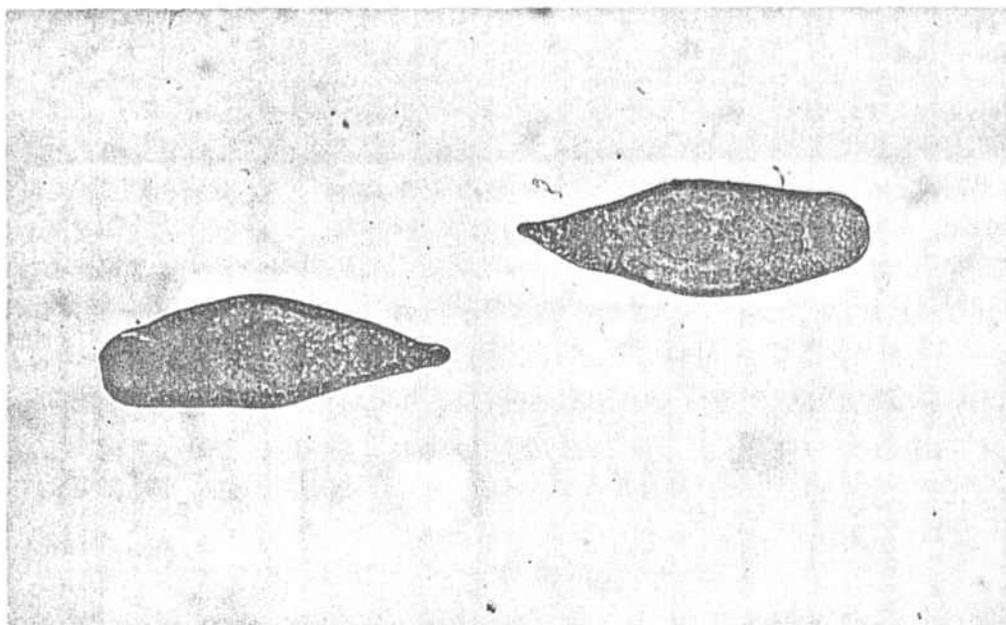


Fig. 18.- Metacercarias de un mes y medio de Brachylaemus nitellae procedentes del riñón de Eobania vermiculata (infestación experimental). x 125.

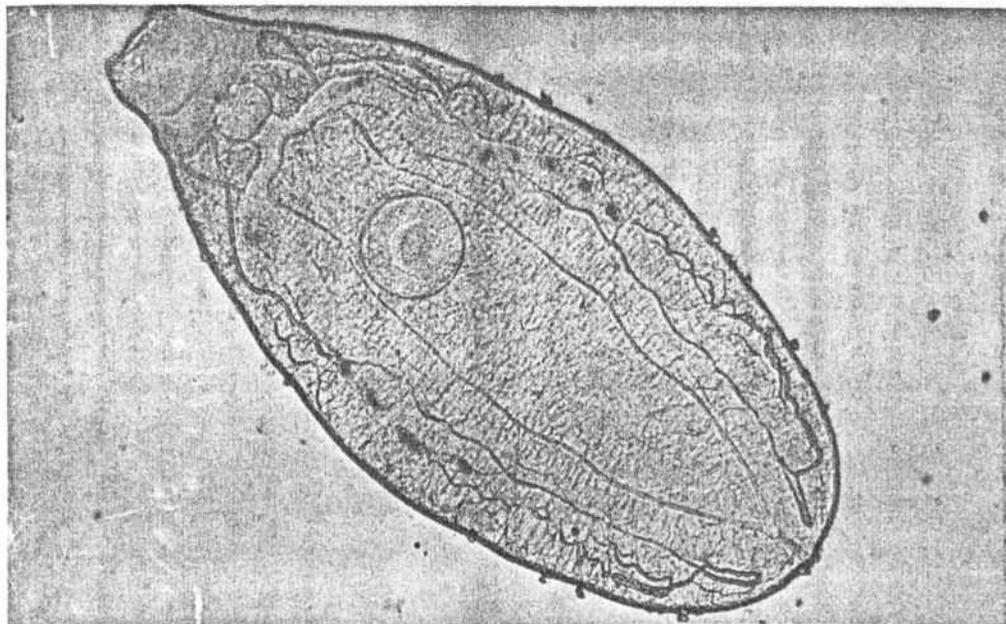


Fig. 19.- Metacercaria de Brachylaemus procedente del riñón de Rumina decollata de Formentera in vivo mostrando su aparato excretor (infestación natural). x 75.

TABLA III

Huésped	<u>Helicella sp.</u> <u>aff. caroli</u> Riñón 2 semanas n=7 V.E. $\bar{X}$	<u>Euparypha</u> <u>pisana</u> Riñón 1 mes n=1	<u>Eobania vermiculata</u> Riñón 1 mes y medio n=14 V.E. $\bar{X}$	<u>Eobania vermiculata</u> Riñón 4 meses n=4 V.E. $\bar{X}$	<u>Eobania vermiculata</u> Riñón 6 meses n=2 V.E. $\bar{X}$	<u>Eobania vermiculata</u> Riñón 7 meses n=1	<u>Otala punctata</u> Riñón 8 meses n=1
Longitud	239-501 307	760	324-570 412	395-440 417	441-517 479	1041	834
Anch. máx.	97-155 116	203	94-169 122	97-178 139	187-188 187	237	319
Vent. oral	57-75/37-59 65/53	115/75	61-90/57-80 75/70	66-84/61-77 75/67	75-90/57-88 82/72	115/108	155/120
Acetábulo	50-68/39-59 58/49	101/97	57-88/52-86 69/64	61-77/59-76 66/64	65-73/61-72 69/66	97/90	133/124
Rel. VO/VV	1-1,45 1,22	0,89	0,89-1,41 1,18	1,09-1,39 1,19	1,09-1,5 1,3	1,42	1,13
Faringe	26-36/21-29 30/24	62/47	23-52/18-41 36/31	36-52/26-39 40/32	43-54/29-41 48/35	75/57	100/54
Primordio genital	29-50/18-29 37/22	(-)	30-83/21-61 55/37	47-83/29-59 59/40	dividiéndose	divid.	68/43 (T I) 65/43 (T II)
Dist. VO-VV	21-120 57	198	70-170 110	72-93 83	79-101 90	266	50/36 (Ov) 235
Ap. caudal (l. x a.b.)	12-18/18-23 16/21	25/23	12-25/16-43 20/28	16-21/25-30 18/28	19-21/21-32 20/27	-	-

Dimensiones en  $\mu$  de metacercarias de Brachylaemus nitellae obtenidas experimentalmente en distintas especies de Helicidos según los periodos de tiempo transcurridos a partir de la infestación (edad). Apéndice caudal: l. x a.b. = longitud x anchura base.

TABLA IV

Huésped	<u>Rumina decollata</u> Riñón 10 meses n=8 V.E. $\bar{X}$	<u>Rumina decollata</u> Riñón 11 meses n=4 V.E. $\bar{X}$	<u>Rumina decollata</u> Riñón 11 meses y medio n=5 V.E. $\bar{X}$
Longitud	1307-1535      1375	1277-1474      1362	1147-1489      1325
Anch. máx.	463-525      489	501-562      528	441-548      520
Vent. oral	162-176/158-173      171/165	165-183/158-173      175/165	158-198/133-162      177/149
Acetábulo	147-158/144-155      154/147	151-162/147-158      158/154	140-173/140-173      164/156
Rel. VO/VV	1,19-1,34      1,24	1,15-1,24      1,19	0,84-1,21      1,03
Faringe	83-93/72-80      89/75	86-98/72-79      93/75	90-98/65-80      96/75
Test. I	75-90/43-57      80/52	72-97/54-66      84/61	72-95/29-62      78/51
Test. II	68-88/39-65      79/54	75-90/50-77      83/61	72-93/54-61      81/52
Ovario	65-90/43-57      73/51	65-83/57-65      76/62	66-88/47-65      76/56
Dist. VO-VV	243-364      300	289-334      305	213-365      296

Dimensiones en  $\mu$  de metacercarias de Brachylaemus nitellae obtenidas experimentalmente en Rumina decollata según los periodos de tiempo transcurridos a partir de la infestación (edad).

TABLA V

Huésped	<u>Rumina decollata</u> Can Campanich Riñón n=11 V.E. $\bar{X}$	<u>Eobania vermiculata</u> Can Carlos Riñón n=18 V.E. $\bar{X}$	<u>Euparypha pisana</u> Can Mari Riñón n=2 V.E. $\bar{X}$	<u>Helicella sp. aff. caroli</u> Can Campanich Riñón n=2 V.E. $\bar{X}$
Longitud	851-1505 1162	2430-3310 2752	1102-1325 1117	-
Anch. máx.	388-562 465	433-880 715	349-425 387	433-509 471
Vent. oral	140-189/97-180 168/152	237-372/231-334 324/303	162-181/155-165 171/160	191-194/155-165 192/160
Acetábulo	126-173/113-151 147/139	219-311/198-311 273/260	140-147/133-140 144/136	140-151/133-147 145/140
Rel. VO/VV	0,96-1,3 1,18	1,2-1,88 1,4	1,34-1,45 1,4	1,33-1,72 1,53
Faringe	70-106/59-79 92/68	142-198/111-169 167/143	93/65-75 93/70	126-129/86 127/86
Test. I	39-61/26-45 51/36	83-162/61-126 128/88	61-68/47-50 64/48	101-133/72-90 117/81
Test. II	44-62/25-52 53/38	86-176/50-144 140/103	57-68/57-61 63/59	119-129/61-68 124/64
Ovario	39-50/26-36 44/31	70-133/43-109 98/78	39-43/32-39 41/36	75-93/72-73 84/72
Dist. VO-VV	160-323 245	365-790 572	243 243	-

Dimensiones en  $\mu$  de metacercarias de Brachylaemus nitellae halladas en distintas especies de Gas-terópodos terrestres de Formentera infestados naturalmente.

de la bolsa del cirro es asimismo bien evidente, y el tubo uterino es discernible alcanzando anteriormente casi hasta la bifurcación intestinal. Cabe añadir aquí algunas anormalidades detectadas en cuanto a la localización de las tres gónadas; así, el ovario puede encontrarse detrás de los dos testículos, hallándose éstos a un mismo nivel, anormalidad que había sido detectada ya a nivel de adulto en ejemplares procedentes de infestación natural.

Debe hacerse hincapié en el hecho de que las metacercarias en cuestión se encuentran siempre libres en el riñón, no originando nunca formas quísticas.

En las tablas III y IV se expone las medidas de metacercarias de distintas edades obtenidas experimentalmente en las distintas especies de Pulmonados. En la tabla V se expone la morfometría de metacercarias halladas en caracoles infestados naturalmente en Formentera, en la cual cabe resaltar las dimensiones generales mucho mayores de las metacercarias procedentes de Eobania vermiculata en relación a las procedentes de las otras especies de caracoles infestadas tanto natural como experimentalmente.

### C) RECEPTIVIDAD DE LOS GASTEROPODOS

Cabe remarcar que esta evolución que sufren las larvas en el segundo huésped intermediario es de una duración que difiere según las distintas especies de caracoles. Desgraciadamente no se ha podido seguir mediante caracoles pertenecientes a una sola especie de Gasterópodos todo este proceso evolutivo hasta metacercaria infestante. En consecuencia, los razonamientos generales no pueden ser admitidos más que a nivel intuitivo. De los experimentos de infestación efectuados cabe deducir que la especie idónea como segundo huésped intermediario la constituye Rumina decollata; en ella se consigue aparentemente el estadio maduro infestante sin mayor problema, incluso con porcentajes de infestación individuales notables. Nuestros estudios demuestran que el estadio de metacercaria infestante se encuentra ya completamente desarrollado, en Rumina decollata, a los 10 meses. Sin embargo, es muy posible que la capacidad infestante se adquiriera en este huésped con antelación.

En cuanto a las otras especies de Gasterópodos con que se ensayó la infestación experimental (Helícidos), los resultados obtenidos ofrecen serias dificultades de interpretación. Nos encontramos con que inicialmente no parece existir diferencias de receptividad entre las distintas especies; en otras palabras, las cercarias son capaces de penetrar indistintamente en todas las especies de Helícidos ensayados. Así, distintos ejemplares de Euparypha (Theba) pisana examinados a las 24-48 horas tras su infestación experimental mostraban siempre un gran número de cercarias a nivel renal (hasta 31 cercarias). No obstante, disecciones efectuadas algunos meses más adelante parecían demostrar la incapacidad de esta especie de caracol para actuar como segundo hospedador intermediario (253 ejemplares negativos). Paralelamente, tampoco debe olvidarse que Euparypha (Theba) pisana puede actuar como segundo hospedador en la naturaleza, tal y como se ha detectado en los estudio con material infestado naturalmente. Debe buscarse, por tanto, la causa de este contrasentido en las condiciones de laboratorio en que se ha procedido ha efectuar el ensayo experimental. Quizás el comportamiento general de los Helícidos en cautividad podría explicarnos este hecho. Estos caracoles suelen dormirse en el laboratorio; ascienden por las paredes de las cajas de madera en que se encuentran y se adhieren a dichas paredes entrando en un aletargamiento tras la formación del epifragma a semejanza de su estivación natural. Este proceso fisiológico podría actuar sobre la fisiología de las larvas del Digénido induciendo un aletargamiento paralelo que llegase a provocar la degeneración ulterior de las mismas. En este sentido habla el hallazgo de larvas "muertas" o "aparentemente inactivas" en la disección de algunos caracoles.

Todos los hechos apuntados en este apartado pueden ser deducidos de los datos expuestos en las tablas III, IV y V.

### 3.2.2.3.- EVOLUCION EN EL HUESPED DEFINITIVO

En esta última fase se considerará la evolución seguida por el Trematodo desde el momento de la infestación del huésped definitivo con la metacercaria por ingestión de un Gasterópodo segundo huésped intermediario hasta la consecución del estadio adulto grávido en el microhabitat final dentro del

huésped definitivo.

### 3.2.2.3.1.- ESPECIES DE MICROMAMIFEROS ESTUDIADAS

El estudio del parasitismo de los Micromamíferos por adultos de Brachylaemus nitellae ha sido efectuado tanto experimentalmente como con material obtenido directamente de la naturaleza. Las especies de Micromamíferos estudiadas, así como los resultados obtenidos en su examen, son debidamente consideradas a continuación.

#### A) POR INFESTACION NATURAL

La comprobación de parasitación por adultos en Micromamíferos de la isla de formentera se ha llevado a cabo por disección de los animales. Las especies estudiadas con sus respectivos porcentajes de infestación han sido las siguientes:

- Erinaceus (Aethechinus) algirus cf. vagans.- 9 ejemplares procedentes de los alrededores de San Fernando: todos negativos (0 %); 1 ejemplar procedente de La Mola: negativo (0 %).
- Eliomys quercinus ophiusae.- 38 ejemplares procedentes de toda la isla: 25 infestados con adultos (65,8 %), oscilando el número de adultos por lirón entre 1 y 69.
- Rattus rattus.- 10 ejemplares procedentes de toda la isla: 6 infestados por adultos (60 %), oscilando el número de adultos por rata entre 1 y 15.
- Mus musculus.- 4 ejemplares procedentes de Can Campanich: 1 infestado (25 %) por 2 adultos; 1 ejemplar procedente de Can Carlos: negativo. Del total de 5 ratones sólo 1 con adultos (20 %).
- Apodemus sylvaticus frumentariae.- 14 ejemplares procedentes de Playa Mitjorn: todos negativos (0 %); 3 ejemplares procedentes de Es Caló: todos negativos (0 %); 3 ejemplares procedentes de Can Carlos: todos negativos (0 %); 3 ejemplares procedentes de Can Campanich: todos negativos (0 %).

## B) POR INFESTACION EXPERIMENTAL

Se ha ensayado la infestación experimental mediante metacercarias infestantes obtenidas experimentalmente en Rumina decollata de tres especies de Micromamíferos: ejemplar de Eliomys quercinus ophiusae procedente de la isla de Formentera tras dos años de cautividad, ejemplar de rata albina de laboratorio y ejemplares de una cepa de ratones Mus musculus domesticus (no albinos).

En concreto se efectuó los siguientes experimentos de infestación:

- Lirón careto.- Infestación de 1 ejemplar macho con 9 metacercarias: hallazgo de 5 adultos grávidos a los 15 días después de la infestación.
- Rata albina de laboratorio.- Infestación de 1 ejemplar macho con 13 metacercarias: hallazgo de 8 adultos grávidos a los 10 días después de la infestación.
- Ratón casero.- a) Infestación de 1 ejemplar macho con 7 metacercarias: hallazgo de 2 adultos inmaduros a los 2 días después de la infestación; b) infestación de 2 ejemplares macho con 14 y 18 metacercarias: hallazgo de 2 y 7 adultos inmaduros respectivamente (escasos huevos inmaduros en el útero) a los 4 días después de la infestación; c) infestación de 2 ejemplares macho y 1 ejemplar hembra con 10, 5 y 5 metacercarias respectivamente: hallazgo de 6, 0 y 1 adultos grávidos respectivamente a los 15 días después de la infestación; d) infestación de 1 ejemplar hembra con 10 metacercarias: hallazgo de 1 adulto grávido a los 21 días después de la infestación.

### 3.2.2.3.2.- ADULTO

Se pasa a considerar en este apartado la vía de entrada y la migración del Digénido hasta alcanzar el microhabitat final dentro del hospedador definitivo, así como la evolución morfo-anatómica que sufren los Trematodos en dicho microhabitat hasta alcanzar el estadio de gravidez.

### A) *MIGRACION*

La penetración de las metacercarias en el huésped definitivo se efectúa de modo pasivo por vía oral. En la naturaleza ello tiene lugar por ingestión de los caracoles segundos hospedadores intermediarios albergantes de metacercarias maduras. En el laboratorio se ha suministrado las metacercarias directamente mediante sonda gástrica. Si bien en animales infestados naturalmente se ha detectado esporádicamente la presencia de adultos grávidos a nivel estomacal, en realidad el microhabitat definitivo por excelencia lo constituye la primera fracción intestinal, concretamente el duodeno. En raras ocasiones también es posible localizar esta especie en la parte posterior del intestino delgado y comienzo del intestino grueso cuando el huésped es el lirón ca-reto (recuérdese que los Glíridos no presentan intestino ciego).

El acceso al microhabitat final por excelencia, esto es, al duodeno, debe tener lugar indudablemente poco después de la infestación.

### B) *EVOLUCION MORFO-ANATOMICA*

Una vez en el microhabitat final la metacercaria inicia rápidamente un proceso de transformación morfo-anatómico que le habrá de conducir hasta el estadio de madurez o adulto grávido. Esta evolución está marcada principalmente por un aumento de las dimensiones del cuerpo, ventosas y estructuras internas, y finalmente por la producción de huevos como resultado de la fecundación.

A los dos días de la infestación el Digénido ha aumentado ya notablemente sus dimensiones corporales, incremento de tamaño que aparentemente no se ve seguido de un modo paralelo por el aumento de las dimensiones de las dos ventosas. Los gónadas, en cambio, demuestran haber experimentado un incremento muy notable de su tamaño, remarcándose la diferenciación entre gónadas masculinas y gónada femenina que a nivel de metacercaria eran casi indiferenciables. Así, mientras los testículos han duplicado ya sus diámetros, el ovario queda más reducido. Este hecho puede ilustrar una primera fase de la evolución caracterizada por una entrada en actividad anterior del aparato sexual masculino que del femenino, en otras palabras, el reflejo esperado de la pro-

tandria, hecho general en los Digénidos (véase BAER & JOYEUX, 1961). Tras estas 48 horas cabe detectar ya la presencia de las glándulas vitelógenas extendiéndose anterior y posteriormente entre los límites normales a nivel de adulto. Sus folículos no muestran, empero, todavía su configuración definitiva.

En los dos días siguientes (cuatro días a partir de la infestación) el cuerpo apenas si experimenta aumento de tamaño, si bien las ventosas han seguido su lento crecimiento. Son las gónadas las estructuras que más marcadamente han proseguido la evolución, habiéndose incrementado aún más la diferencia entre testículos y ovario, lo que viene a sugerir la continuación del proceso protándrico. Las glándulas vitelógenas muestran una configuración prácticamente definitiva.

Estos ejemplares adultos de cuatro días muestran ya la presencia de algunos huevos recién formados en las primeras partes del tubo uterino, pudiéndose contar un número de huevos oscilante entre 10 y 60 según los individuos. Este hecho sugiere que el fenómeno de la fecundación debe tener lugar en el límite entre el tercer y cuarto día a partir de la infestación. Cabe añadir que las dimensiones de estos primeros huevos resultan significativamente mayores que las observables en Digénidos maduros.

En los días siguientes el Digénido proseguirá con un crecimiento lento que afecta en general a todas las estructuras. Al mismo tiempo continuará su función reproductora originando gran número de huevos que se irán acumulando en el útero. A los diez días cabe observar el tubo uterino ya repleto de estos huevos, sin que, no obstante, quepa detectar la presencia de huevos maduros en las porciones finales del útero.

El proceso reproductor continuará en los días siguientes, en los que cuerpo, ventosas y demás estructuras apenas si sufriran modificación alguna. A los quince días de la infestación los Digénidos muestran gran cantidad de huevos marrones, oscuros, maduros en la porción uterina final. En esta última fase es en la que el Digénido procede a la eliminación de huevos maduros al microhabitat intestinal, huevos que posteriormente alcanzarán el medio ambiente externo mediante las defecaciones del huésped definitivo.

En la tabla VI se expone todas las medidas morfométricas de los adultos

TABLA VI

Huésped	<u>Mus musculus domesticus</u> Duodeno 2 días n=2 V.E.	<u>Mus musculus domesticus</u> Duodeno 4 días n=8 V.E.	<u>Rattus rattus albino</u> Duodeno 10 días n=5 V.E.	<u>Mus musculus domesticus</u> Duodeno 15 días n=6 V.E.	<u>Eliomys quercinus ophiusae</u> Duodeno 15 días n=5 V.E.
Habitat	$\bar{X}$	$\bar{X}$	$\bar{X}$	$\bar{X}$	$\bar{X}$
Longitud	2015-2060	1899-2294	2407-2662	2315-3056	2870-3194
Anch. máx.	593-643	608-706	517-557	486-554	547-593
Vent. oral	173-180/169	180-198/176-187	211-223/180-209	196-217/191-201	223-230/210-219
Acetábulo	163-175/160-169	167-187/144-180	194-201/181-194	173-191/162-187	206-219/198-212
Rel. VO/VV	1,03-1,12	1,08-1,45	1-1,27	1,15-1,33	1,08-1,22
Faringe	83/83-79	86-104/79-90	104-111/86-93	104-124/91-101	108-122/97-109
Test. I	162/137	187-266/151-223	259-296/187-252	245-281/205-241	255-296/201-237
Test. II	144-173/129-140	205-266/155-227	266-304/209-263	246-304/209-248	252-304/227-252
Ovario	119-137/93-99	137-176/97-155	187-205/137-170	162-183/137-169	180-198/137-160
Huevos	-	30,5-37,5/16-21,5	26,5-32,5/14,5-16	26,5-32,5/14,5-18	25-30,5/14,5-16
Dist. VO-VV	426-433	395-501	365-456	281-456	532-653
Dist. VV-T.I	669-684	547-760	836-957	912-1109	1041-1201
	676	673	901	1054	1131

Dimensiones en  $\mu$  de adultos de Brachylaemus nitellae obtenidos experimentalmente en distintas especies de Micromamíferos según los periodos de tiempo transcurridos a partir de la infestación (edad).

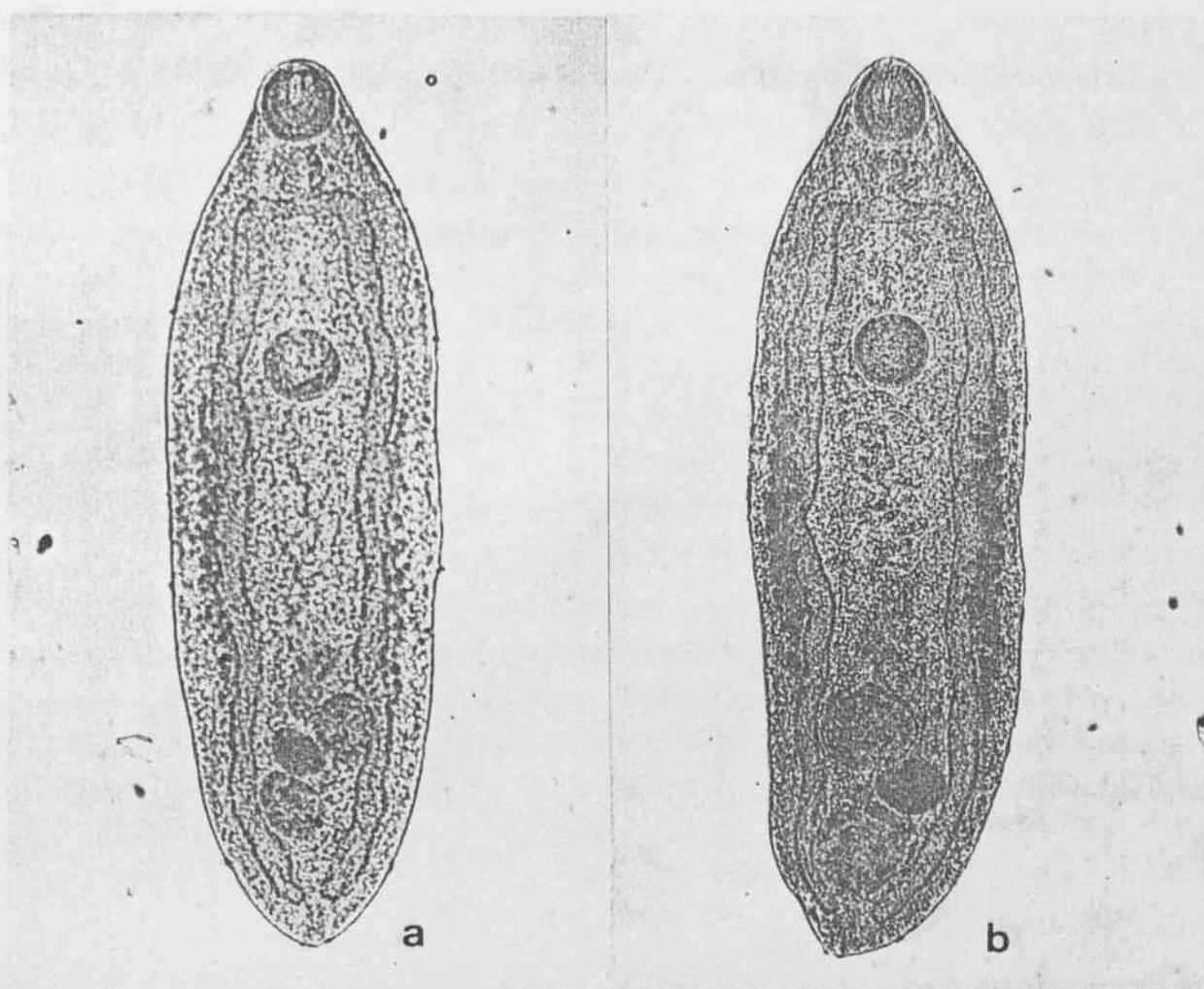


Fig. 20.- Adultos de *Brachylaemus nitellae* procedentes del duodeno de *Mus musculus*: a) experimental de 2 días (nótese la ausencia de huevos) (x 58); b) experimental de 4 días (nótese la presencia de los primeros huevos en el útero) (x 53).

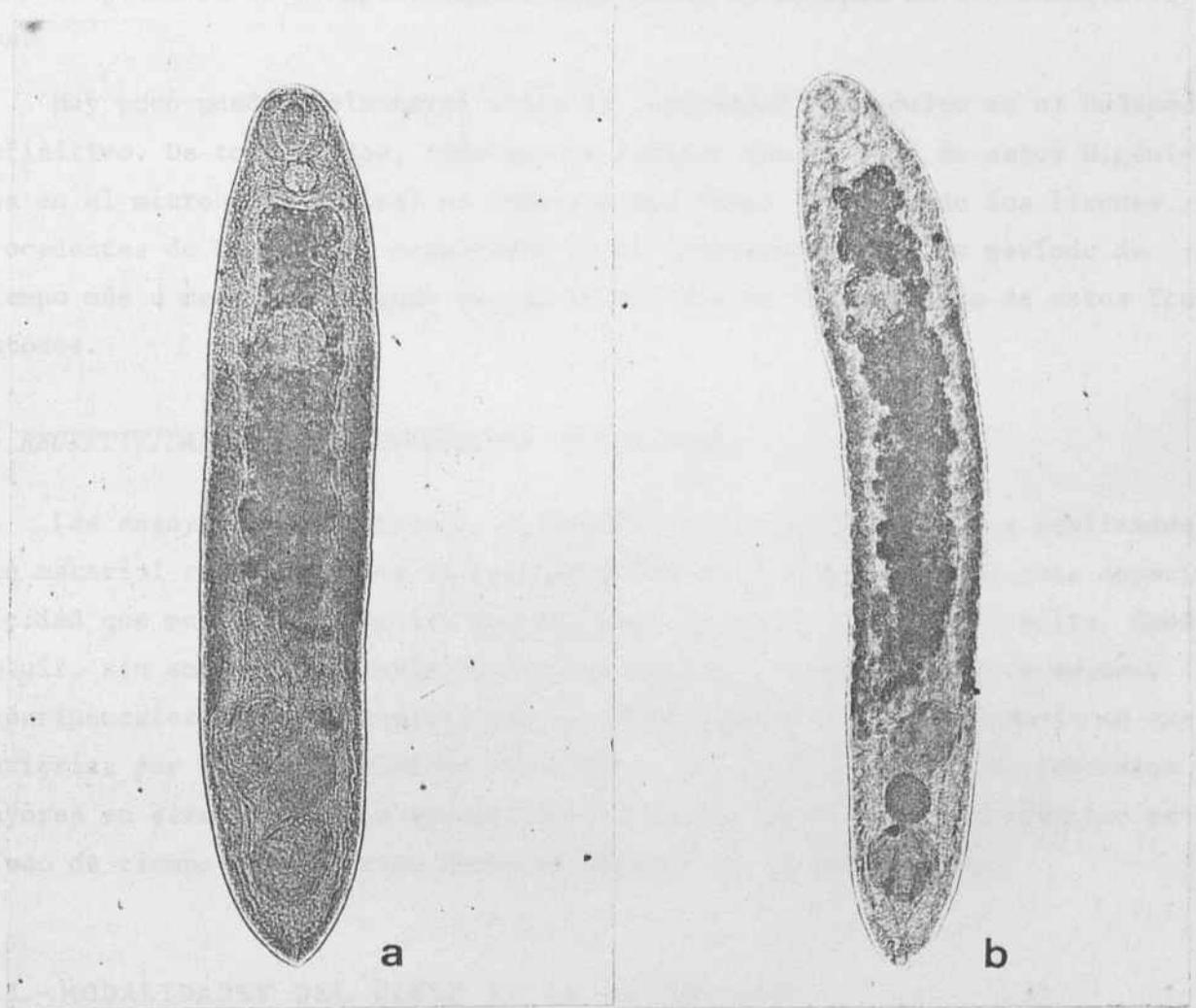


Fig. 21.- Adultos duodenales de Brachylaemus nitellae: a) experimental de 10 días obtenido en Rattus rattus (x 45); b) experimental de 15 días obtenido en Mus musculus (x 40).

experimentales obtenidos en los distintos huéspedes definitivos ensayados según los períodos de tiempo transcurridos desde el momento de las infestaciones.

Muy poco puede adelantarse sobre la longevidad del adulto en el huésped definitivo. De todos modos, todo parece indicar que la vida de estos Digéneos en el microhabitat final no debe ser muy larga. Ninguno de los lirones procedentes de Formentera examinados en el laboratorio tras un período de tiempo más o menos prolongado de cautividad mostró la presencia de estos Trematodos.

### C) RECEPTIVIDAD DE LOS HOSPEDADORES DEFINITIVOS

Los ensayos experimentales efectuados, así como los estudios realizados con material recolectado en la isla de Formentera, demuestran la poca especificidad que muestra la especie Brachylaemus nitellae a nivel de adulto. Cabe intuir, sin embargo, a través de los resultados obtenidos en infestaciones experimentales, una preferencia por el lirón careto. Esta preferencia se exterioriza por la consecución de individuos adultos de dimensiones generales mayores en este animal que en los otros pequeños Mamíferos tras idéntico período de tiempo transcurrido desde el momento de la infestación.

### 3.3.-MODALIDADES DEL CICLO EN LA NATURALEZA

Según los estudios experimentales efectuados y los datos obtenidos de la naturaleza, la especie Brachylaemus nitellae evoluciona en la isla de Formentera en los siguientes huéspedes:

Primer huésped intermediario: Rumina decollata

Segundo huésped intermediario: Rumina decollata

Eobania vermiculata

Euparypha (Theba) pisana

Otala punctata

Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli

Huésped definitivo: Eliomys quercinus ophiusae

Rattus rattus

Mus musculus

Observando esta lista se aprecia que Brachylaemus nitellae parece mostrar una marcada especificidad únicamente a nivel de primer huésped intermedio, siendo claramente eurixeno a nivel de segundo intermediario y de huésped definitivo, todo lo cual está de acuerdo con los conocimientos generales que actualmente se posee sobre la biología de otras especies del mismo género.

En consecuencia, es muy probable que como segundo intermediario y huésped definitivo puedan actuar otras especies de Gasterópodos y Micromamíferos respectivamente, incluso también en Formentera, si bien de un modo esporádico.

*CAPITULO CUARTO*

ECOLOGIA DEL CICLO

#### 4.- ECOLOGIA DEL CICLO

##### 4.1.- GENERALIDADES

Tal y como escribe COMBES (1968) refiriéndose a los Trematodos Digénidos, hablar de la "ecología de un ciclo" es proceder al estudio de los factores ecológicos que intervienen en el curso de las etapas sucesivas de dicho ciclo. Estos factores actúan no sólo sobre el parásito, sino también sobre los huéspedes, es decir, sobre el conjunto de organismos vivientes directa y necesariamente implicados en el ciclo.

El autor francés hace hincapié en diferenciar la Mesología, la Etología y la Corología. La Mesología estudiará los factores extrínsecos, abióticos y bióticos, que influyen favorable o desfavorablemente sobre los organismos del ciclo (características macro y microclimáticas, físico-químicas, de la vegetación, de las presas, de los depredadores, de los agentes patógenos, etc., sin olvidar que el huésped representa los factores extrínsecos del parásito y viceversa). La Etología estudiará las particularidades presentadas por el comportamiento de los organismos del ciclo y que condicionan determinados procesos de este último, debiéndose distinguir entre comportamiento del parásito y el de cada uno de los huéspedes. La Corología estudiará ciertos factores más especialmente responsables de la repartición y dispersión del parásito (poder de expansión de una especie, existencia de barreras ecológicas, bióticas y abióticas, etc.).

COMBES remarca la conveniencia de agrupar los problemas ecológicos que conciernen a un ciclo según sus afinidades, distinguiendo la ecología de los organismos y la ecología de la transmisión.

La *ecología de los organismos* depende principalmente de la Mesología y comprende en esencia el estudio de los biotopos (biotopos de los estadios libres, de los estadios parásitos y de los huéspedes). Dentro de este apartado se incluye la ecología del parásito, por un lado, debiéndose analizar la sucesión de medios (biotopos de cada uno de los estadios del ciclo: medio externo en las fases libres, medio huésped en las fases parásitas) y las exigencias respecto de los medios (requerimientos ambientales mínimos

para las fases libres, especificidad en los estadios parásitos). Por otro lado incluye el análisis de la ecología de los huéspedes, intermediarios y definitivo, estimándose en este punto igualmente la sucesión de medios (medios acuático, terrestre, aéreo) y las exigencias respecto de los medios (características necesarias de los habitats, como naturaleza de la vegetación, por ejemplo).

La *ecología de la transmisión* depende principalmente de la Etología y es de algún modo el estudio de los cambios de medio. Dentro de este punto cabe considerar, por una parte, las relaciones entre los medios, debiéndose distinguir entre los casos de ciclos desarrollándose en su totalidad en un mismo ecosistema (acuático; terrestre) y aquellos ciclos que evolucionan en dos o más ecosistemas. Por otra parte se considerará el paso del parásito de un medio a otro, comprendiendo el paso o acceso a un medio-huésped (infestación de cada uno de los huéspedes) y el acceso al medio externo (evacuación de huevos; emisión de cercarias).

COMBES (1968), al aludir a la importancia de los factores ecológicos, distingue entre factores mesológicos y factores etológicos.

En cuanto a los factores mesológicos distingue entre las influencias que desarrollan sobre los estadios libres y sus influencias sobre los estadios parásitos. En el caso de los estadios parásitos, los factores mesológicos intervienen tanto sobre el parásito mismo como sobre los huéspedes. Las influencias sobre los huéspedes son mucho más importantes, puesto que el medio ambiente interviene para proporcionar el medio-huésped conveniente, medio-huésped para el cual el ciclo manifiesta unas exigencias cualitativas (posibilitación de la existencia de un huésped necesario en un medio en lo que respecta a la especificidad; acción del medio sobre la alimentación del huésped y por tanto sobre la modificación del microhabitat intestinal) y cuantitativas (abundancia de cada uno de los huéspedes; influencias sobre la reproducción de éstos).

Por lo que respecta a la importancia de los factores etológicos, dicho autor añade que es mucho más decisivo para el ciclo el comportamiento de los huéspedes que el del parásito. En efecto, puesto que mientras el comportamiento del parásito es siempre necesariamente favorable al ciclo,

el de los huéspedes puede ser favorable, indistinto o desfavorable para su infestación. Lo más frecuente es que este comportamiento de los huéspedes "posibles" sea el que seleccione de entre ellos a los huéspedes "efectivos", lo cual se halla en el origen de la especificidad etológica. Incluso tampoco debe olvidarse que el comportamiento de los huéspedes no juega solamente un papel decisivo en su infestación, sino también en la diseminación del parásito (eliminación de huevos en un medio apropiado; dispersión de las metacercarias; emisión de cercarias; etc.), comportamiento quizás fundamental en materia de estudio corológico.

COMBES concluye que la presencia de un parásito, esto es, la viabilidad de su ciclo en un lugar dado está particularmente influenciada por:

- la abundancia de los huéspedes y sobre todo de aquellos para los cuales manifiesta la especificidad sistemática más estricta;
- los factores bióticos y abióticos que entrañan una reducción de la población parasitaria, principalmente a nivel de los estadios parásitos, accesoriamente a nivel de los estadios libres;
- el comportamiento de los huéspedes y muy especialmente el del huésped definitivo.

Añade finalmente el mismo autor que el ciclo de un parásito, como el de todo ser viviente, sufre una sucesión de procesos favorables o desfavorables desencadenantes de incrementos o descensos poblacionales, respectivamente. La diferencia que presenta respecto del ciclo biológico de un organismo libre reside en la complejidad de factores que intervienen. El equilibrio de la población parasitaria está sujeto a resultas de las influencias de toda esta compleja gama de factores a fluctuaciones, con variaciones estacionales y accidentales. El mantenimiento a un nivel regular durante varios años de una población parasitaria puede ser el índice de condiciones mesológicas estables, al igual que la fluctuación de esta población puede ser el índice de la modificación de uno o varios factores ecológicos.

El conjunto de consideraciones anteriormente expuesto (para mayor información véase COMBES, 1968) muestra hasta que punto es delicada la tarea del ecólogo en el estudio de un ciclo. En nuestro caso, todo ello debe superponerse además al fenómeno de insularidad y, consecuentemente, a las influencias que este aislamiento geográfico implica sobre todos los organismos del ciclo, parásito y huéspedes (véase MARGALEF, 1974 y MAS-COMA, 1976).

Resulta evidentemente prematuro intentar efectuar en la actualidad, un análisis profundo y completo de todos y cada uno de los puntos en cuestión. Ello no puede ser fruto más que del estudio de más años. Sin embargo, sí que es posible adelantar muchos datos al respecto e incluso proporcionar una visión general aproximada de como debe evolucionar el ciclo de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera.

Con este fin se procede a continuación a la exposición previa de los conocimientos básicos imprescindibles sobre el ecosistema natural en el que tiene lugar el ciclo, la isla de Formentera, y sobre la bionomía de todas y cada una de las especies de huéspedes que intervienen en el ciclo en dicha isla, para finalmente, tras analizar los resultados de las investigaciones efectuadas en la naturaleza comparativamente con los datos experimentales obtenidos en el laboratorio, acometer la presumible ecología del ciclo en la isla de Formentera.

#### 4.2.- CARACTERISTICAS DEL ECOSISTEMA

##### 4.2.1.- NATURALEZA DE LA ISLA DE FORMENTERA

Formentera es la más meridional de las islas del Archipiélago Balear, y con sus 115 km<sup>2</sup> es, tras Ibiza, la segunda en extensión de las denominadas Islas Pitiusas. Emplazada únicamente a 15 km de Ibiza, dista tan sólo 220 km del Norte de Africa.

La isla de Formentera tiene una forma que recuerda un hacha de guerra con la hoja dirigida hacia el Sur (Cap Berbería) y con el mango en el istmo insular. Su mayor altitud, 192 m sobre el nivel del mar, se dá en La Mola, en lo que sería la empuñadura del hacha, en su extremo más oriental. Es



en estos dos extremos citados de La Mola y Cap Berbería donde se encuentran los acantilados más altos y pronunciados de la isla, exteriorizando claramente el proceso geológico que actualmente sufre la isla. Parece ser que cada año la isla experimenta un hundimiento de unos 2 cm por su istmo, evolución que habrá de originar en un futuro dos islas separadas.

El suelo insular es pobre, predominantemente arenoso en los lugares de escasa o ninguna altitud y muy pegregoso en las partes más altas. Esta pobreza obliga a los agricultores a dejar descansar sus campos con frecuencia.

Formentera se distingue por su clima excepcionalmente salubre y templado, con una ligera brisa permanente, con la que ni siquiera en pleno verano hace un calor tan excesivo, como, a veces, en la costa peninsular. En el cuadro 1, expuesto por MAS-COMA (1976), se esquematiza los datos climáticos generales que permiten formarse una idea suficiente y que ahorra todo comentario sobre las condiciones de la isla a lo largo de todo el año.

CUADRO 1

	A	B	C	D
Enero	5,0	10,2	13,3	8,4
Febrero	5,8	10,5	13,3	7,1
Marzo	6,5	12,2	13,3	7,6
Abril	7,6	14,3	14,4	5,9
Mayo	9,5	16,4	16,7	4,8
Junio	10,3	21,3	19,4	3,2
Julio	11,4	24,1	22,2	1,1
Agosto	10,5	24,4	24,4	2,7
Septiembre	7,6	22,5	23,3	5,8
Octubre	6,0	18,3	20,6	9,9
Noviembre	5,2	14,3	17,8	9,0
Diciembre	4,4	11,6	15,0	10,7
Anual	7,5	16,6	17,8	76,1

Cuadro 1.- Datos climatológicos de la isla de Formentera. A) Media diaria de horas de sol; B) Temperatura media atmosférica; C) Temperatura media del agua de mar; D) Días de lluvia (según MAS-COMA, 1976).

En una de las expediciones efectuadas a la isla se procedió a tomar las características ambientales de temperatura y humedad relativa en el enclave de Can Campanich, en uno de los biotopos indudablemente más húmedos de la isla, obteniéndose los siguientes datos:

- Temperatura:

Sábado 23 octubre 1976: máxima = 27° C

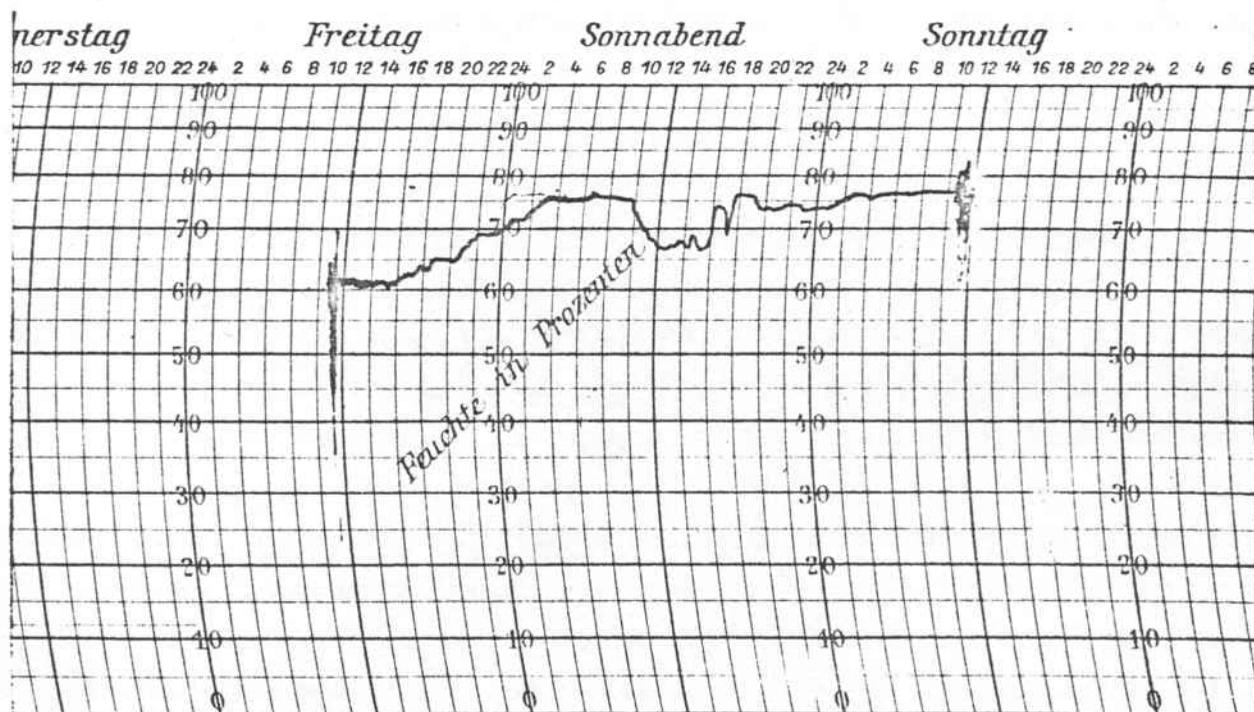
mínima = 15,5 ° C

Domingo 24 octubre 1976: máxima = 21,5° C

mínima = 15° C

- Humedad relativa:

Las oscilaciones de esta variable ambiental en los mismos días fueron registradas obteniéndose la siguiente gráfica (debe tenerse en cuenta que ambos días fueron lluviosos):



Para esta isla, con escasez de lluvias y ausencia de agua dulce superficial, aguas subterráneas o manantiales, el rocío, escaso también en los meses de verano, debe ser indudablemente de gran valor para todos los animales de la isla.

Además del turismo, fenómeno humano que puede asegurarse está destruyendo a pasos agigantados no sólo el equilibrio ecológico de la isla, sino incluso la belleza natural de la misma, con preponderancia en las playas, el sector económico más importante es la obtención de sal marina en el norte de la isla.

Finalmente, puede destacarse, como característica especial del paisaje insular, a los innumerables muros de piedra natural levantados por doquier rodeando campos y jardines como protección contra el viento.

#### VEGETACION

El bosque de pinos mediterráneos, Pinus halepensis L., se extiende por el istmo abarcando hacia el oeste la colina de La Mola. Otro bosque similar se levanta más o menos limitado en la parte occidental de la isla, al sur de la población de San Francisco Javier, extendiéndose casi hasta el Cap Berbería.

Entre la flora inferior de tipo matorral destaca principalmente Juniperus phoenicea L., frecuentemente de tronco grueso y alcanzando la altura de un pino. Se trata de un vegetal muy abundante en frutos. A su lado, pero raramente, se encuentra Juniperus oxycedrus L. y con frecuencia los arbustos de Pistacia lentiscus L. En lugares abiertos del bosque, en descubiertos y sus márgenes, crece, como matorral característico, a veces de altura considerable, Rosmarinus officinalis L., existencias las cuales, a semejanza de los pinos jóvenes, van desapareciendo más y más como consecuencia de la invasión por líquenes. Claros del bosque, aprovechados en su tiempo como cultivos, se hallan poblados de toda clase de plantas de la garriga, matojos aromáticos y gramíneas, generalmente en distribución muy abierta.

En aquellos lugares donde los claros son aprovechados todavía (el turismo masivo está llevando a sucumbir incluso ésto), se cultiva cereales, habas y demás, pero también viñedos y cultivos de árboles, principalmente higueras

(Ficus) y almendros (Amygdalus), y en su círculo algunos árboles fruteros aún aprovechados, como granados (Punica), nísperos (Mespilus) y olivos (Olea), pero sin embargo nada ya realmente como se debiera. El nopal o chumbera (Opuntia) tampoco falta, sobre todo en las proximidades de granjas y corrales.

#### FAUNA

Como característica principal de la fauna general de la isla cabe decir que es muy pobre en especies. De todos modos, esta escasez, resaltada ya por ESPAÑOL (1954) en el caso de los Insectos, por GASULL (1963, 1964, 1965) en el de los Gasterópodos terrestres, por MAS-COMA (1976 y en prensa) en el de los Helmintos y evidente en lo que concierne a los Vertebrados a la luz de los trabajos de VERICAD & BALCELLS (1965), COMPTE-SART (1966), KAHMANN (1970), KAHMANN & LAU (1972), KAHMANN & THOMS (1974) y SANS-COMA & KAHMANN (1977), no resulta muy sorprendente dada la fisiografía insular ya comentada. Parece ser que la adversidad ambiental de la isla es la causante, entre otras cosas, del escaso número de especies zoológicas, habiendo subsistido aquellas formas con mayor capacidad de adaptación.

En el caso de los Invertebrados, la fauna entomológica proporciona una impresión de pobreza apreciable en las Baleares en general. Si en lo que concierne a los Coleópteros Tenebriónidos este hecho es destacado ya por ESPAÑOL (1954), en el caso de los restantes grupos de Insectos la escasez de formas todavía se ve más incrementada. Según el mismo autor, el Archipiélago Balear presenta, como caracter notable, una elevada proporción de endemismos (24 especies de Tenebriónidos de un total de 78 especies conocidas en 1954), de cuya consideración se deduce lo que parece indicar un aislamiento reciente de estas islas, suficiente, no obstante, para originar un número muy elevado de especies auctóctonas.

Concretando sobre las Pitiusas (Baleares occidentales), señala ESPAÑOL el hecho contrario al observado en el conjunto de las Baleares orientales, dando la impresión de poseer una historia reciente, sin las aportaciones orientales tan típicas del conjunto anterior. Añade, sin embargo,

que algún que otro caso muestra de modo bien elocuente que las influencias corso-sardas han alcanzado asimismo el Archipiélago de las Pitiusas. ESPAÑOL estima que, excluyendo este caso y los pocos endemismos que comparte con el resto de las Baleares, el conjunto de las Pitiusas podría considerarse como un típico enclave ibérico o bético-rifeño, habida cuenta la influencia ibérica que presenta, tanto en sus formas endémicas como en las demás. Finalmente escribe dicho autor que la fragmentación relativamente reciente de las Pitiusas ha conducido al aislamiento de diferentes poblaciones en cada una de las islas e islotes resultantes de dicha fragmentación; ello ha motivado la iniciación de un proceso de diferenciación racial en aquellas especies dotadas de cierta plasticidad y aptitud para la evolución.

La Malacología de las Islas Pitiusas ha sido motivo de numerosos trabajos y monografías. Una primera revisión fué efectuada por BOFILL I POCH & AGUILAR-AMAT (1924), tras la cual se puede contar otros escritos, como los de JAECKEL (1952, 1954, 1964), hasta la aparición de las obras posteriores de GASULL (1963, 1964, 1965, 1969) y GASULL & VAN REGTEREN ALTENA (1969). En el conjunto final de los trabajos de este último autor se cita únicamente 20 especies de Gasterópodos terrestres en la isla de Formentera, de las cuales tres son endemismos baleáricos. En su conjunto, se trata evidentemente de una fauna malacológica muy pobre, típicamente mediterránea con los matices propios del Archipiélago Balear.

En cuanto a los Vertebrados, excluyendo a las aves y limitándonos a los terrestres, cabe destacar en primera instancia a Lacerta pityusensis spp., reptil de hábitos diurnos extendido en la isla por doquier en densidades poblacionales francamente considerables.

Bien pocas son también las especies de Mamíferos existentes en la isla. Entre los de vida libre se cuenta al conejo, Oryctolagus cuniculus Linnaeus, 1758, y entre los Quirópteros a Rhinolophus ferrum-equinum Schreber, 1774, Rh. hipposideros Bechstein, 1800, Eptesicus serotinus Schreber, 1774, Pipistrellus pipistrellus Schreber, 1774, cuyas citas se hallan todavía por confirmar (VERICAD & BALCELLS, 1965). La fauna de Insectívoros se reduce a una sola especie, el erizo moruno, Erinaceus (Aethechinus) algirus cf. va-

gans Thomas, 1901, cuya sistemática está aún por decidir (KAHMANN, com. pers.). Los Roedores se encuentran representados exclusivamente por cinco especies, de las cuales cuatro Múridos, Rattus rattus Linnaeus, 1758, Rattus norvegicus Berkenhout, 1769, Mus musculus Linnaeus, 1758 y Apodemus sylvaticus frumentariae Sans-Coma et Kahmann, 1977, y un Glírido, el lirón careto, Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925.

Tampoco debe olvidarse a los animales domésticos y cimarrones, entre los que se puede contar a perros (Canis familiaris Linnaeus, 1758) y gatos (Felis catus Linnaeus, 1758), el ganado cabrío (Capra hircus Linnaeus, 1758) y lanar (Ovis aries Linnaeus, 1758), los cerdos (Sus suis Linnaeus, 1758), los caballos (Equus caballus Linnaeus, 1758) y asnos (Equus asinus Linnaeus, 1758) y entre las aves de corral principalmente las gallinas.

La helmintofauna de Formentera es conocida únicamente en cuanto a Micromamíferos (MAS-COMA, 1976, 1977 y en prensa; MAS-COMA & FELIU, 1977; MAS-COMA & GALLEGO, 1975, 1977 y en prensa; MAS-COMA & KAHMANN, en prensa; MAS-COMA & MONTOLIU, en prensa). MAS-COMA (en prensa) distingue, en un total de 21 especies de Helmintos hallados en la isla, tres grupos bien delimitados: un primer grupo de especies que constituyen muestras indudables de la influencia del continente africano sobre Formentera; un segundo grupo de especies en que cabe encuadrar a las de distribución europea-mediterránea, a las circummediterráneas y a las europeas en general (entre las que el autor cuenta a Brachylaemus sp. aff. recurvus = B. nitellae); y un tercer grupo de especies típicamente cosmopolitas.

Tal y como remarca ya MAS-COMA (en prensa), la parasitofauna de Formentera (helmintofauna a la que debe añadirse los datos sobre Siphonápteros de Micromamíferos aportados por GALLEGO & PORTUS, 1976) muestra un paralelismo evidente con respecto a los conocimientos de que se dispone sobre el resto de la fauna de la isla, tanto a nivel de Invertebrados como de Vertebrados, hecho lógico si se considera que unos y otros constituyen los hospedadores intermediarios y definitivos respectivamente.

Posteriormente, MAS-COMA, en otro trabajo (en prensa) habría de profundizar más en la biogeografía de los Helmintos de Formentera, aportando nuevos argumentos con que sostener una migración de Roedores de la familia de

los Gerbillidae del Africa a España en el cuaternario y nuevos argumentos en favor de la unión de las Baleares al arco bético-rifeño-maghrebino.

#### 4.2.2.- ENCLAVES INSULARES PROSPECTADOS

En el mapa de Formentera de la figura 23 se ilustra la situación concreta de aquellos lugares, estaciones o biotopos en los cuales se efectuó prospecciones.

Los lugares señalados en el mapa se corresponden numéricamente a los siguientes enclaves y biotopos:

- 1 y 2.- La Mola: campos de cultivo con muros de piedra; altitud de 192 m sobre el nivel del mar.
- 3.- Can Campanich: casa en ruinas, a mitad de trayecto ascendente camino a La Mola; altitud de 100 m.
- 4.- Can Carlos: campos de cultivo rodeados de muros de piedra lindantes con garriga y bosque; a nivel del mar.
- 5.- Playa Mitjorn: dunas de arena próximas a la playa, con vegetación arbustiva de Juniperus phoenicea y Rosmarinus officinalis principalmente; a nivel del mar.
- 6.- Es Caló: zona lindante entre campos de cultivo y bosque, cerca de un pequeño establo; a nivel del mar.
- 7.- Can Mari: paraje no cultivado, de forma rectangular, con vegetación predominantemente arbustiva, rodeado de campos de cultivo; altitud de unos 20 m.
- 8.- Playa Mitjorn: lugar arenoso y pedregoso, con matorrales, próximo a la playa; este lugar no proporcionó animal alguno.
- 9.- San Fernando: campos de cultivo bordeados por numerosos muros de piedra; altitud de unos 30 m.
- 10.- San Francisco: paraje semejante al anterior y a la misma altitud.
- 11.- Es Pujols: dunas de arena próximas a la playa con vegetación arbustiva semejante al biotopo ya descrito de Playa Mitjorn; a nivel del mar.

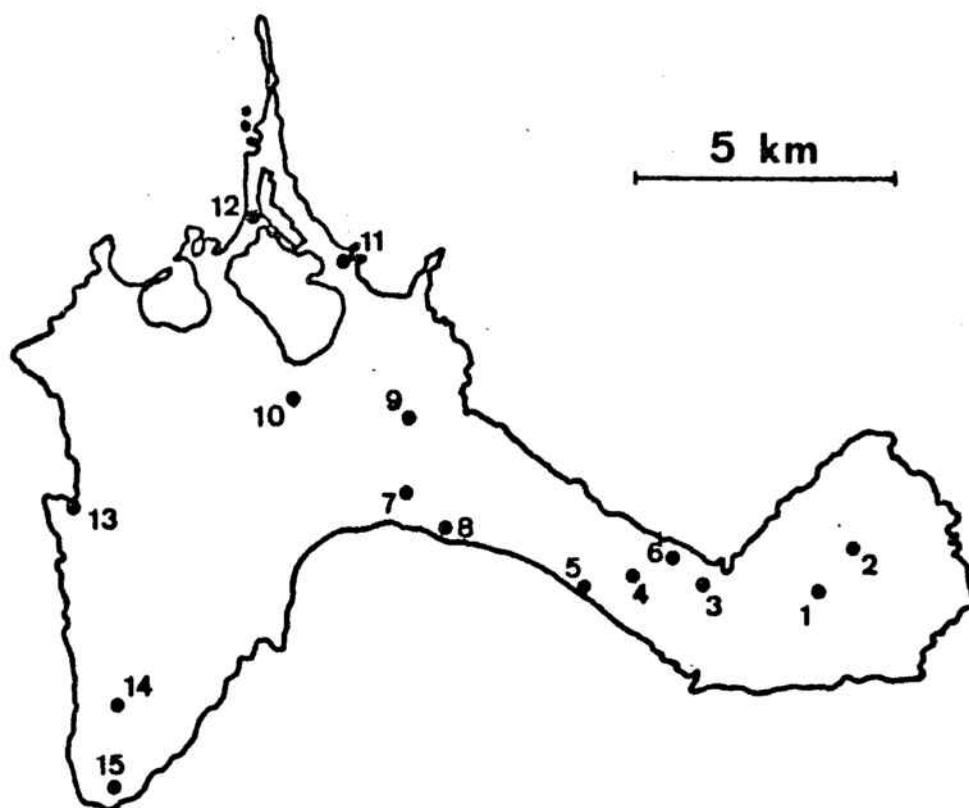


Fig. 23.- Distribución geográfica de los enclaves prospectados en Formentera: 1 y 2.- La Mola; 3.- Can Campanich; 4.- Can Carlos; 5.- Playa Mitjorn; 6.- Es Caló; 7.- Can Mari; 8.- Playa Mitjorn; 9.- San Fernando; 10.- San Francisco; 11.- Es Pujols; 12.- Las Salinas; 13.- Cala Sakhona; 14.- Pla del Rey; 15.- Cap Berbería.

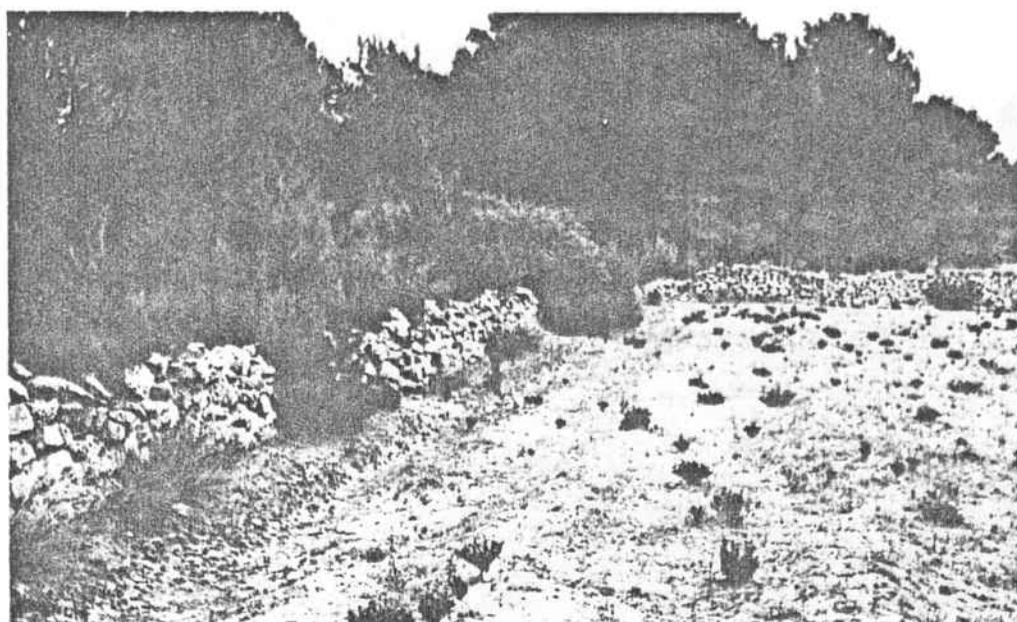


Fig. 24.- Muros de piedra bordeando un campo de cultivo en un paraje de Can Carlos (Formentera). Habitat típico de Eliomys quercinus ophiusae.

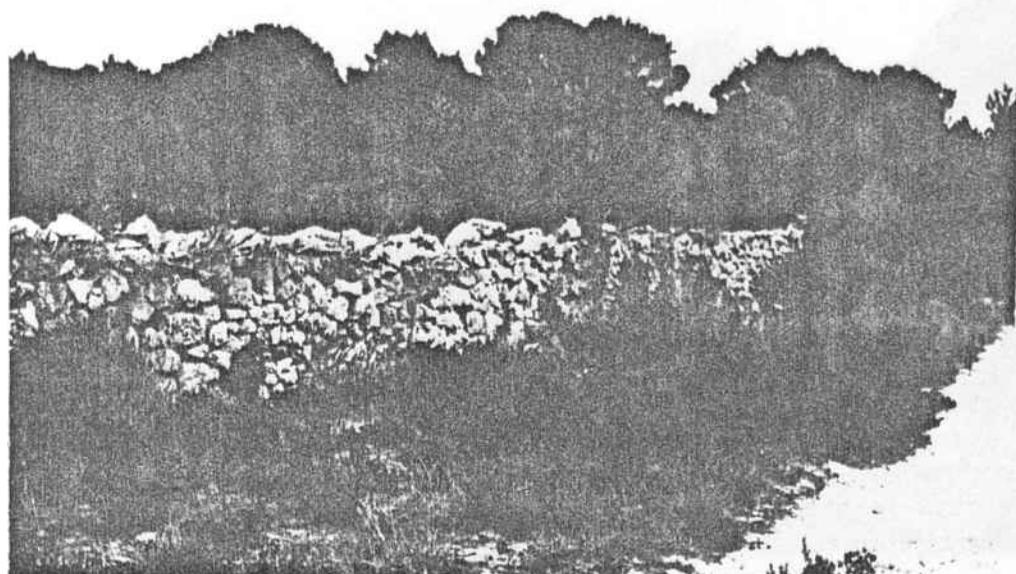


Fig. 25.- Muro de piedra en un enclave prospectado en Can Carlos (Formentera). Habitat típico de Eliomys quercinus ophiusae.



Fig. 26.- Paraje de Can Carlos (Formentera) mostrando la presencia de higueras (Ficus) y granados (Punica), árboles cuyos frutos son muy apreciados por el lirón careto.



Fig. 27.- Garriga y principio del bosque en un paraje de Can Carlos (Formentera). Enclave ocupado por Eliomys quercinus ophiusae y Rattus rattus.

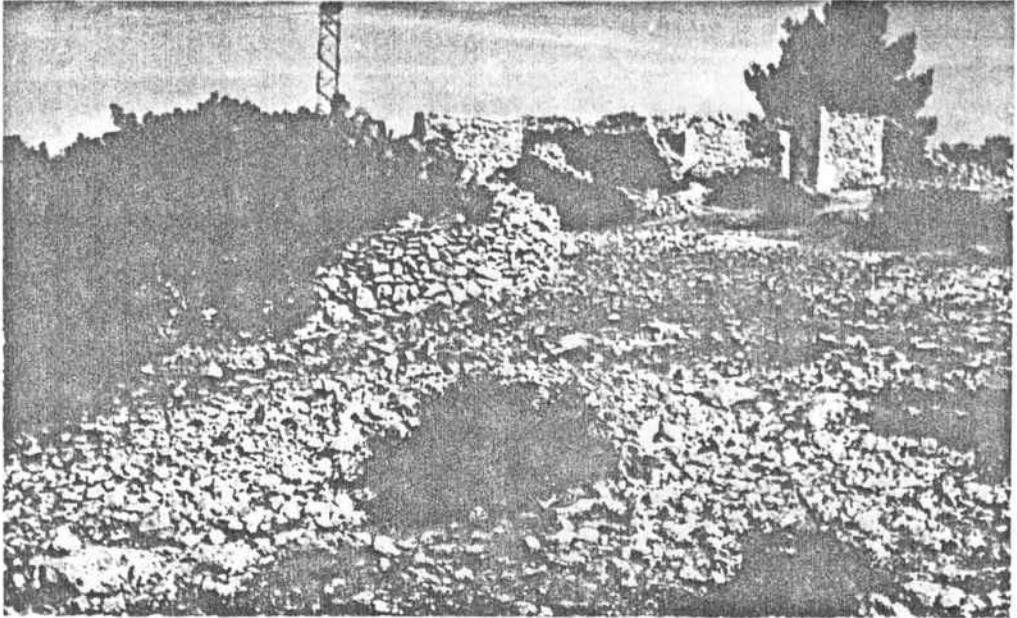


Fig. 28.- Biotopo prospectado en el enclave de Can Campanich (Formentera) mostrando los alrededores de una casa en ruinas.

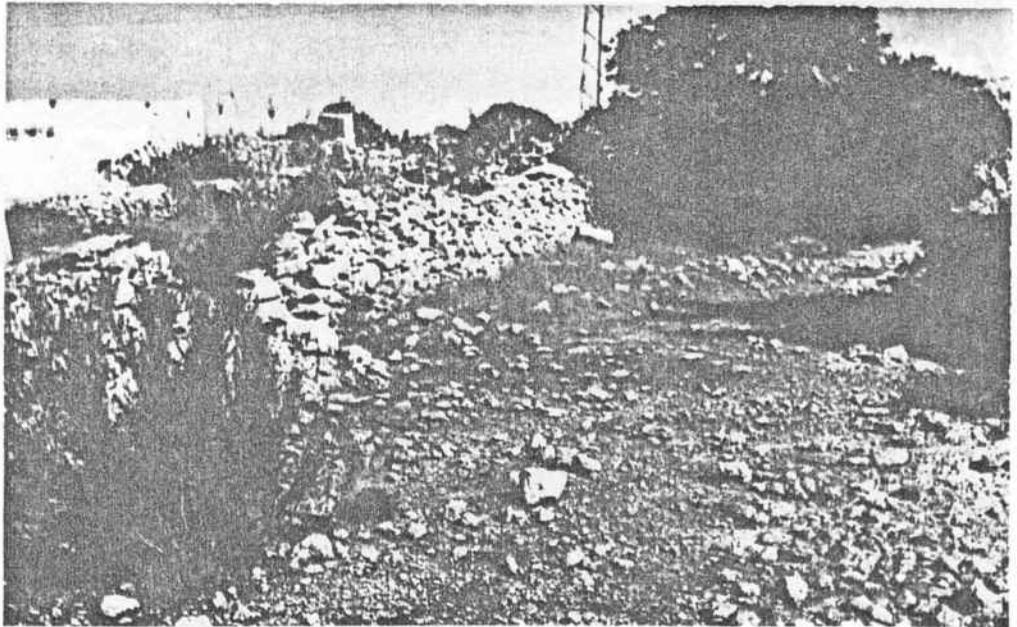


Fig. 29.- Muro de piedra en un paraje de Can Campanich (Formentera). Habitat ocupado por Eliomys quercinus ophiusae.



Fig. 30.- Vista de un paraje en el enclave prospectado en Can Campanich (Formentera).

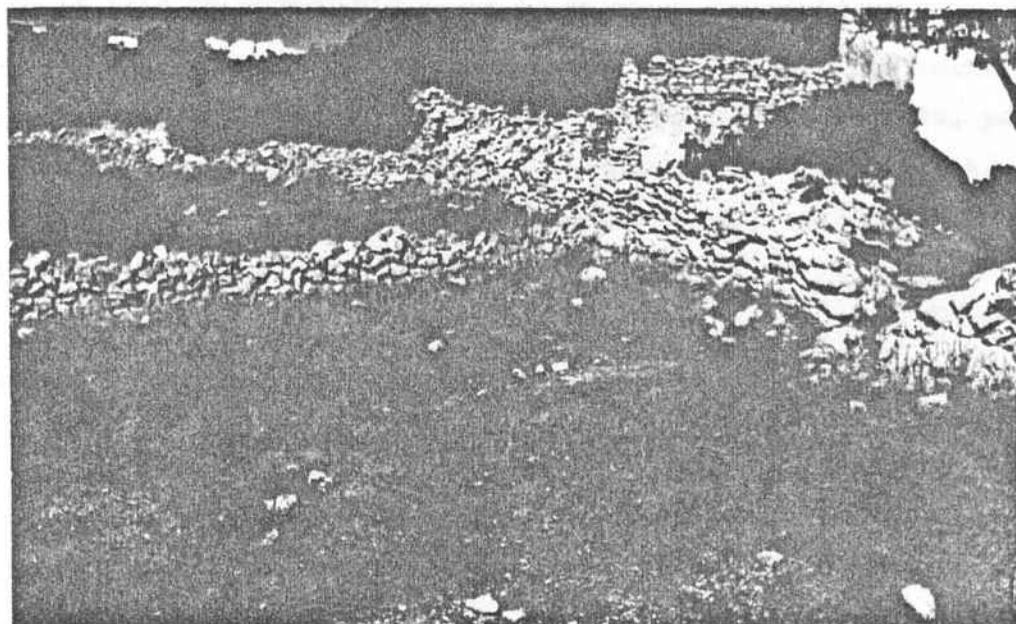


Fig. 31.- Muros de piedra de los alrededores de Can Campanich (Formentera). Habitat de recolección principal de Rumina decollata.

- 12.- Las Salinas: biotopo bastante abierto, con pinos y matorrales, cerca de un pequeño campo de cultivo; altitud escasa.
- 13.- Cala Sahona: dos pequeños valles confluyentes en la playa; altitud desde 0 hasta unos 20 m.
- 14.- Pla del Rey: muro de piedra en medio de una gran planicie; altitud de unos 100 m.
- 15.- Cap Berbería: habitat muy pedregoso, con vegetación arbustiva escasa; altitud de unos 80 m.

#### 4.3.- CARACTERISTICAS DE LOS HOSPEDADORES

A continuación pasamos a exponer las características principales de los distintos hospedadores que intervienen en el ciclo de Brachylaemus nitellae con el fin de proporcionar unos conocimientos imprescindibles para poder asimilar los condicionantes que ellos representan en la evolución del Digénido en la isla de Formentera.

En el presente estudio los hospedadores experimentales han coincidido por completo con los detectados con infestación natural en la isla, por lo que los hospedadores que a continuación se considera son todos los hospedadores efectivos de Brachylaemus nitellae en Formentera, según los conocimientos de que disponemos hasta la fecha.

##### 4.3.1.- PRIMER HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

Una sola especie de caracol terrestre de la isla de Formentera se ha mostrado por el momento como primer hospedador intermediario efectivo. Se trata de Rumina decollata, un representante de la familia Stenogyridae.

##### RUMINA DECOLLATA LINNAEUS, 1758

Esta especie presenta una concha cónica-cilíndrica o con tendencia a fusiforme, truncada por el ápice en los adultos, quedándose con sólo cuatro a cinco vueltas, poco hinchadas, de crecimiento regular con sutura distinta pero no profunda; en los jóvenes el ápice es redondo y liso. La concha es

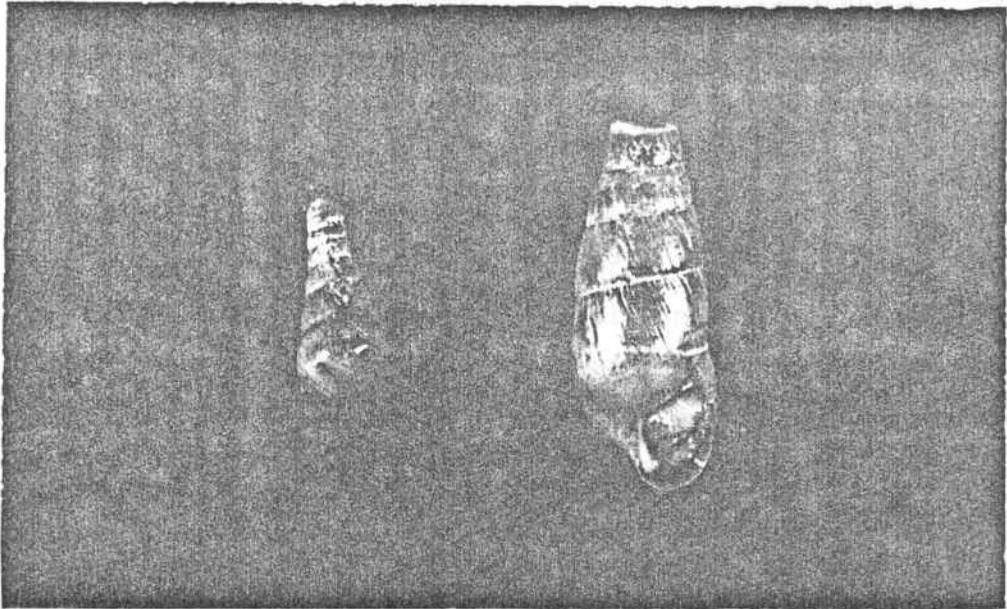


Fig. 32.- Ejemplares, joven y adulto, de Rumina decollata procedentes de la isla de Formentera mostrando la concha entera y típicamente truncada respectivamente. x 1,9.

generalmente sólida, algunas veces córneo-transparente, de color amarillo sucio a castaño. Ombligo en forma de rendija, con la boca ligeramente inclinada, ovalada, y peristoma liso cortante, en algunos ejemplares con reborde interior. Los especímenes presentan escultura en general poco visible y a veces casi lisa.

Se trata de una especie circummediterránea, muy frecuente y de amplia ecología. En las Baleares se presenta abundantemente en todas las islas e incluso en islotes, faltando sólo en regiones de bosque a bastante altura sobre el nivel del mar.

Este Pulmonado presenta frecuentemente unos casos de gigantismo observables según GASULL (1963) en todas las Baleares, preferentemente en Ibiza. Mezclados en las colonias de ejemplares de talla normal se encuentran los de talla gigante en una misma comunidad, debajo de una misma piedra. Estos ejemplares gigantes tienen la concha muy sólida, no cilíndrocónica sino marcadamente fusiforme, con fuerte escultura y peristoma con labios reforzados y reborde interior que se cierra sobre el lado columelar redondeando toda la boca. En algunos de estos ejemplares gigantes el interior de la boca es blanco brillante anacarado.

En cuanto a los biotopos ocupados por esta especie, R. decollata se presenta preferentemente en garriga (matorrales; bosque bajo, seco; a poca altura sobre el nivel del mar; en grandes extensiones uniformes de flora) confinándose en el habitat secundario, el constituido por la protección de grandes piedras contra el calor solar. También se localiza en cultivos de regadío y por tanto en zonas de humedad regularmente regadas.

En el caso concreto de Formentera, esta especie se encuentra extendida por toda la isla, presentándose sobre todo en habitats húmedos, bajo grandes piedras rodeadas de vegetación tipo gramíneas y en muros de piedra, conviviendo con otras especies de Helícidos.

#### 4.3.2.- SEGUNDOS HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS

Cinco especies han demostrado poder actuar como segundos hospedadores intermediarios efectivos: Rumina decollata (Stenogyridae), Eobania vermi-

culata, Euparypha (Theba) pisana, Otala punctata y Helicella (Xeroplexa)  
sp. aff. caroli (Helicidae).

RUMINA DECOLLATA LINNAEUS, 1758

Esta especie ha sido ya debidamente tratada en el subapartado anterior.

EOBANIA VERMICULATA MULLER, 1774

Esta especie presenta una concha sólida, globulosa, de espira deprimida, hinchada por debajo. Presenta cinco a seis vueltas bastante convexas, de crecimiento regular y sutura mediana. La concha está finamente estriada, especialmente en la parte superior. La boca es muy oblicua, ovalada transversalmente, con peristoma discontinuo, con labio blanco fuerte y un refuerzo en el lado columelar y con ombligo cubierto. Su coloración es variable, de leonado a castaño oscuro, en cinco bandas, tres superiores y dos inferiores. Las bandas superiores están frecuentemente todas unidas, aunque a veces lo están sólo algunas. Las bandas inferiores desaparecen en ocasiones.

Se trata de una especie circummediterránea, muy común y abundante en todas las Baleares, especialmente en campos y huertos.

Esta especie, de un tamaño relativamente grande dentro del grupo de los Helícidos (diámetro de 32 - 50 mm y altura de 24 - 47 mm), se encuentra en Formentera distribuida por toda la isla. Se la puede hallar preferentemente bajo grandes piedras, generalmente en número escaso debajo de cada piedra, sobre todo junto a muros de piedra rodeando a campos de cultivo.

EUPARYPHA (THEBA) PISANA MULLER, 1774

Este Helícido presenta concha ventruda, semisólida, con seis vueltas de crecimiento regular, hinchadas, con marcada sutura, siendo la última redondeada. La apertura es casi recta, redondeada-ovalada, con peristoma sencillo, un poco reflejo junto al ombligo y con reborde interior rosado. El ombligo es muy pequeño. Las vueltas apicales son lisas, con fina estriación irregular cubriendo toda la concha. La concha es brillante y de coloración variable, de blanca a marfil amarillenta, y con gran variedad de dibujo en

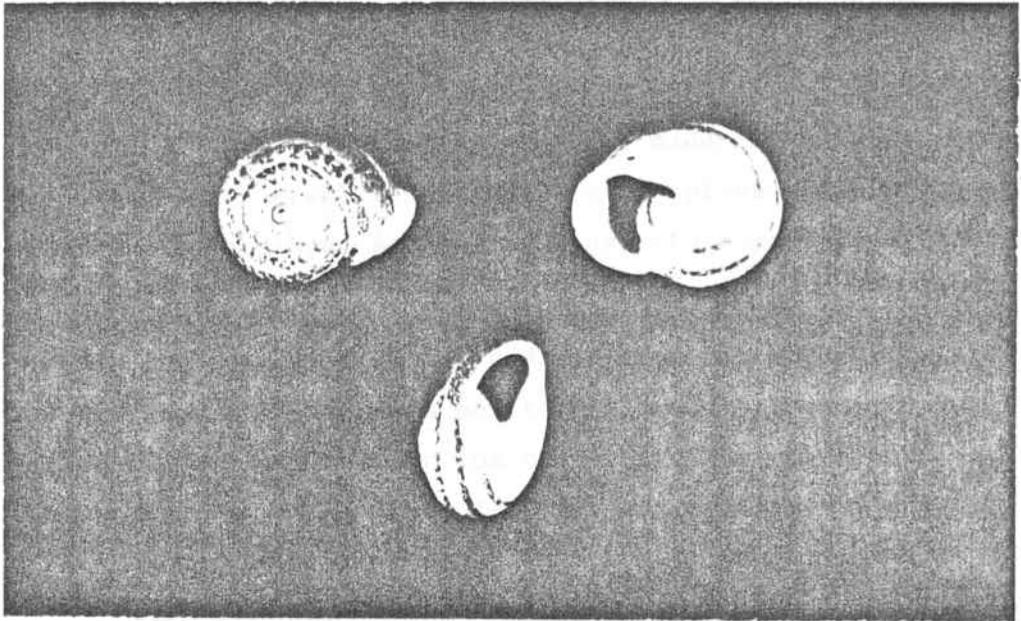


Fig. 33.- Ejemplares de Eobania vermiculata procedentes de la isla de Formentera. x 1.

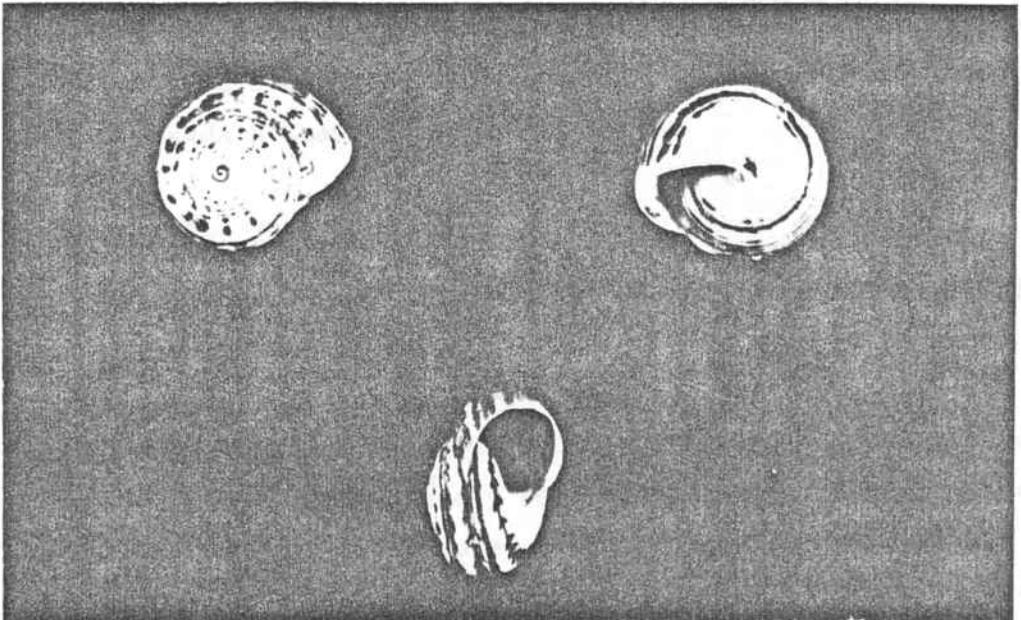


Fig. 34.- Ejemplares de Euparypha (Theba) pisana procedentes de la isla de Formentera. x 1,5.

forma de rayas espirales o fajas, sustituidas éstas a veces por flamulaciones y otras veces interrumpidas.

Esta especie alcanza su desarrollo total y madurez sexual al segundo año. Las conchas jóvenes presentan sólo la parte aplanada de la espira y la última vuelta muy angulosa, es decir, un aspecto bastante distinto del que muestran en estado adulto.

Se trata de una especie común en toda la costa ibérico-atlántica hasta las Islas Británicas y extendida por todo el Mediterráneo. Es muy frecuente en las Baleares, viviendo en los cultivos y ambientes rurales, sobre los árboles y muros, colonizando también las regiones dunícolas y las playas. En estas zonas arenosas presenta una superficie maleada irregular con las conchas desprovistas de conquiolina por la corrosión de la misma arena. Son formas muy resistentes.

Es una especie que si bien es bastante constante en su forma, es variable en color y tamaño. En las Baleares sus dimensiones oscilan entre 16 - 23 mm de diámetro y 12 - 17,5 mm de altura.

En la isla de Formentera cabe encontrarla por todas partes, tanto en biotopos húmedos, debajo de grandes piedras o en la vegetación, como en playas y dunas adosada a Gramíneas.

OTALA PUNCTATA MULLER, 1774

Se trata de un Helícido de gran tamaño, con concha dura, deprimida y globulosa, algo convexa por la parte superior y abombada por la parte inferior, de 5 a 6 vueltas poco convexas de crecimiento bastante regular, la última hinchada y descendiente. La boca es muy oblicua, oblonga transversalmente, con labio reforzado blanco y boca de castaño a castaño muy oscuro en su interior. El peristoma no es continuo, con bordes reunidos por un callo. El ombligo es nulo y la sutura poco marcada. Es un caracol de concha de color grisáceo o castaño, con pequeñas pintas blancas y generalmente con cuatro bandas o más, dos por la parte superior y dos por la parte inferior de color castaño oscuro, generalmente incipientes subiendo hasta la mitad de la última vuelta.

Es una especie propia del Levante español, llegando hasta el Rosellón,

y del Norte de Africa, prefiriendo la costa y los lugares secos. Vive sobre el tronco de árboles, parras o sobre los muros en seco. Es un Gasterópodo muy común en todas las Baleares. En estas islas sus dimensiones son de 52 - 32 mm de diámetro y 19 - 35 mm de altura.

En Formentera está extendida por toda la isla, si bien no es una especie muy frecuente.

HELICELLA (XEROPLEXA) SP. AFF. CAROLI DOHRN ET HEYNEMANN, 1862

Los ejemplares de que se ha dispuesto en este estudio presentaban una concha como la descrita por GASULL (1964) en el caso de Helicella (Xeroplexa) caroli. De todos modos, y en ausencia de una comprobación anatómica, preferimos denominar a nuestros especímenes momentáneamente como H. (X.) sp. aff. caroli en tanto no dispongamos de una determinación definitiva.

Según GASULL (1964), esta especie es un endemismo de las Pitiusas presente en Ibiza y Formentera, en las que es muy abundante.

Su concha es pequeña, globulosa, deprimida la espira, y muy obtusa, con sutura poco marcada y cinco vueltas y media que crecen lentamente. El peristoma es recto, abierto y con el lado externo cubriendo un poco el ombligo que es muy pequeño.

Su coloración es variable, flamulada de castaño y presentando a menudo de una a cuatro bandas en su parte externo inferior, generalmente muy pigmentada. Su tamaño es también variable, pero bastante constante dentro de una misma colonia. El diámetro oscila entre 7 - 11 mm y la altura entre 4,5 - 8 mm.

Esta especie se presenta en biotopos tipo garriga, en zonas de pinos y encinares, e incluso de un modo estepario, generalmente a la orilla del mar, en lugares pobres en vegetación herbórea y muy secos, sobre las rocas y totalmente expuesta al sol. De todos modos es interesante remarcar que esta forma resistente es posible encontrarla algunas veces también debajo de las piedras.

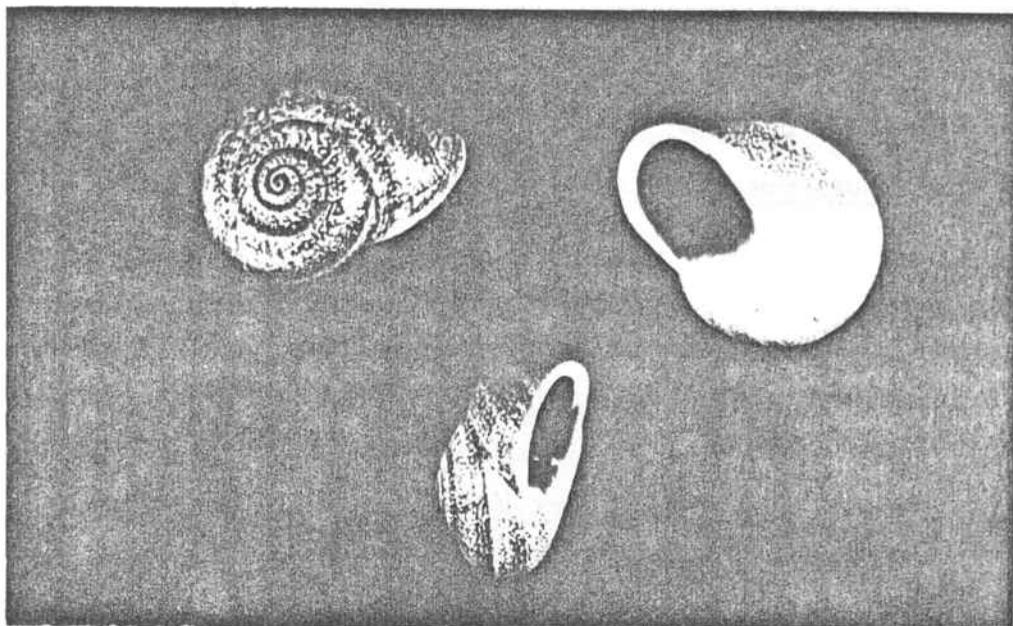


Fig. 35.- Ejemplares de *Otala punctata* procedentes de la isla de Formentera. x 1.

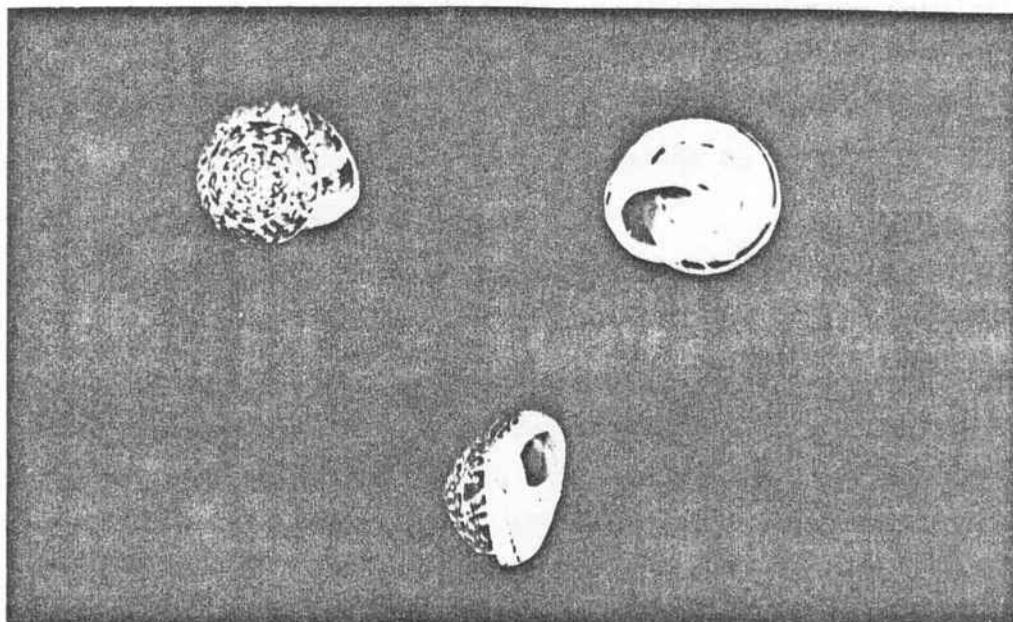


Fig. 36.- Ejemplares de *Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli* procedentes de la isla de Formentera. x 2,3.

#### 4.3.3.- HOSPEDADORES DEFINITIVOS

Los hospedadores definitivos de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera son Roedores, dos de la familia de los Múridos (Rattus rattus, Mus musculus) y uno de la familia de los Glíridos (Eliomys quercinus ophiu-sae).

#### RATTUS RATTUS LINNAEUS, 1758

Al contrario de lo que sucede con Rattus norvegicus Berkenhout, 1769 que parece encontrarse confinado a reducidos enclaves humanos (puertos), la rata gris, Rattus rattus, se halla en Formentera extendida por toda la isla de forma completamente libre, llegando a poblar hasta los lugares más inhóspitos, como, por ejemplo, la planicie pedregosa y pobre del Cap Berbería.

Son pocos los trabajos publicados en que se hace referencia a este animal en Formentera. VERICAD & BALCELLS (1965) enumeran un solo cráneo hallado en las salinas de la isla. KAHMANN (1970) lo cita en Can Carlos, Can Campanich, en las cercanías de Es Caló, en el mismo istmo insular. Posteriormente, este autor conjuntamente con LAU-THOMS se ha referido en dos escritos (1972, 1974) nuevamente al mundo en cuestión, si bien limitándose a la problemática planteada en la cohabitación de la rata y el lirón careto en los mismos biotopos.

Los estudios de MAS-COMA (1976) mostrarían más adelante que se trata de un animal extendido por toda la isla, si bien en ningún paraje o biotopo determinado parece presentar núcleos poblacionales considerables. Añade MAS-COMA que los hechos sugieren que dicha especie debe hallarse "mantenida a raya" de algún modo, sobre todo si se tiene en cuenta que constituye la especie de Roedor colonizador de islas por excelencia adquiriendo censos muy notables. En el caso de Formentera la rata se encuentra indudablemente controlada por la población del lirón, tal y como puntualizan KAHMANN & LAU (1972) y KAHMANN & THOMS (1974).

El regimen alimenticio de la rata es, como es bien sabido, evidentemente omnívoro. Este animal debe ser seguramente, según MAS-COMA (1976), el causante de muchos de los estragos que, en cultivos y corrales, son

atribuidos al lirón por los habitantes de la isla.

MUS MUSCULUS LINNAEUS, 1758

El ratón casero, Mus musculus, fué citado por primera vez en Formentera por VERICAD & BALCELLS (1965) al capturar un joven ejemplar en el faro de La Mola. Estos autores lo incluyen en la subespecie brevirostris Waterhouse, 1837. Más tarde sólo MAS-COMA (1976) vuelve a hacer referencia a la presencia del ratón en la isla al encontrarlo en Can Campanich y Can Carlos.

Tal y como remarca MAS-COMA (1976), muy poco puede escribirse sobre la presencia de este Roedor en la isla. Al parecer, y teniendo en cuenta las prospecciones de este último autor, esta especie debe hallarse confinada principalmente a reductos y despojos humanos (establo y casas de Es Caló; casa en ruinas de Can Campanich; cultivos de Can Carlos; etc.), sin extenderse de un modo propiamente libre.

No resulta necesario extenderse en las costumbres y regimen alimenticio de este conocido animal, pero si cabe remarcar un hecho interesante, cual es el referido por MAS-COMA (1976) en cuanto a la posibilidad de que este animal se vea obligado a efectuar sus incursiones en busca de alimento principalmente durante el día, quizás debido al predominio de lirón y rata, dos especies preferentemente crepusculares o nocturnas.

ELIOMYS QUERCINUS OPHIUSAE THOMAS, 1925

El lirón careto ha sido el animal que más ha acaparado la atención de los especialistas hasta la fecha. THOMAS (1925) dispone de tres ejemplares, con los que describe la subespecie ophiusae, VERICAD & BALCELLS (1965) de seis y COMPTE-SART (1966) de uno solo. El primer estudio crítico con material considerable es el de KAHMANN (1970) con 26 ejemplares. Más adelante, KAHMANN & LAU (1972), al disponer de 55 ejemplares, efectúan ya un primer sondeo sobre la etología y el "status" ecológico de este animal en la isla, trabajo al cual añaden ciertas consideraciones poco más tarde (KAHMANN & THOMS, 1974). Por último, KAHMANN & THOMS (1977) estudian el crecimiento y edad de dicho animal en comparación con las demás formas o subespecies de lirón careto conocidas.

La forma insular del lirón de Formentera es descrita por THOMAS (1925) como Eliomys ophiusae y ratificada por PETER (1961) como especie afín a Eliomys lusitanicus Reuven, 1890. VERICAD & BALCELLS (1965) parecen sumarse a la opinión de considerar esta forma insular a nivel específico. Sin embargo, KAHMANN (1970) prefiere describirla a nivel subespecífico, añadiendo que sus características morfométricas se salen del cuadro general de las subespecies de lirón careto conocidas de Centro y Sud-Europa. Este último criterio es el que viene prevaleciendo y que resulta indudablemente acertado al haberse conseguido recientemente en Francia cruzar la subespecie ophiusae con la subespecie nominal del continente en cautividad (PETER, com. pers. a MAS-COMA).

Resulta absurdo referirse aquí a la morfología, biología, etología y ecología de este animal en la isla a la vista de los completos trabajos de KAHMANN (1970), KAHMANN & LAU (1972) y KAHMANN & THOMS (1974, 1977). Cabe remarcar que su talla es muy superior a la del lirón continental (longitud cabeza-cuerpo de hasta 180 mm; peso de hasta 200 g), así como también lo es su prolicidad (hasta cuatro gamadas anuales, pudiendo ser de hasta 8 crías por gamada).

Este Glírido se halla extendido por toda la isla, poblando toda clase de habitats (véase MAS-COMA, 1976). En ciertos parajes alcanza densidades poblacionales muy notables (Can Carlos, Cala Sahona, La Mola y Playa Mitjorn; de esta última parece que se va retirando debido a la invasión turística), mostrando preferencia por los muros de piedra lindantes con campos de cultivo y vegetación arbustiva incluso en las playas, lugares en donde construye sus nidos. En ciertos biotopos, como los muros de piedra de La Mola, convive estrechamente con Rattus rattus, hecho único al parecer en el continente. Sobre la interacción de estas dos especies en un mismo habitat han hablado suficientemente KAHMANN & LAU (1972) y KAHMANN & THOMS (1974), con un sondeo sobre el número de colas rotas como reflejo de los enfrentamientos entre ambas especies, entre otras observaciones.

Tal y como resalta MAS-COMA (1976), el dominio ecológico del lirón es evidente en toda la isla, convirtiéndose incluso en ciertas zonas en peridoméstico. Incluso se había hablado en 1970 de una plaga en Formentera

por este animal y a la conveniencia de emprender una campaña contra el mismo. Sobre estos hechos se pronunciaron KAHMANN & THOMS (1974) de un modo definitivo al hacer hincapié en los siguientes cuatro puntos: 1.- Hasta el momento no cabe hablar de una "invasión" por este animal en Formentera; 2.- Un incremento de la densidad poblacional del lirón sólo es apreciable donde ha habido un aumento considerable de las instalaciones turísticas, con la consiguiente facilitación de la vida del animal (alimentación, etc.); 3.- Los daños en los cultivos de la isla son inapreciables (excepto en La Mola); 4.- Una exterminación con resultados positivos podría tener como consecuencia inmediata un incremento de la densidad poblacional de Rattus rattus, lo cual constituiría una nueva plaga.

En cuanto al régimen alimenticio de este animal en la isla, los únicos datos que se posee al respecto corresponden a los resultados obtenidos por KAHMANN & LAU (1972) del análisis de 40 contenidos estomacales de lirones capturados en un mes de abril. Estos autores detectan un 100% de Gasterópodos Pulmonados, un 7,5% de Isópodos, 60% de arañas, 17,5% de milpies, 27,5% de cienpies, 90% de escarabajos, 52,5% de hormigas, 32,5% de larvas, 92,5% de lagartijas, 5% de murciélagos, 67,5% de Roedores (Mus, Apodemus) y un 22,5% de restos vegetales. No hace falta añadir cuan numerosas son las posibles vías de entrada para las especies parásitas habida cuenta la variedad de su dieta.

#### 4.4.- ECOLOGIA DEL CICLO EN LA NATURALEZA

Vamos a intentar exponer en este apartado la evolución del ciclo de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera con todo detalle posible, particularizando en cada parte del mismo aquellos factores ecológicos, tanto mesológicos como etológicos, que pueden influir sobre los organismos del ciclo y sobre la transmisión del parásito.

Sin embargo, para la exposición de la aludida visión general del ciclo y de su ecología es necesario proceder previamente a analizar, punto por punto, todos aquellos datos de que disponemos y comparar los resultados obtenidos en las investigaciones efectuadas en la naturaleza con los resultados experimentales llevados a cabo en el laboratorio.

##### 4.4.1.- COMPUTO DE DATOS

A nivel de adulto los estudios experimentales han mostrado la capacidad de este Trematodo de infestar diferentes hospedadores definitivos sin problema alguno. En realidad, y teniendo en cuenta que se trata de una especie de un género cuyos representantes muestran una inespecificidad bien conocida, es muy probable que la capacidad en cuestión sea mucho más amplia de la detectada.

En las investigaciones llevadas a cabo en la isla, han aparecido Trematodos adjudicables a Brachylaemus nitellae en el 65,8 % de los Eliomys analizados, en el 60 % de Rattus y en el 20 % de Mus. Ni el ratón campestre, Apodemus sylvaticus frumentariae ni el erizo moruno Erinaceus (Aethechinus) algirus cf. vagans han mostrado la infestación por este Digénido hasta la fecha. Cabe añadir que hasta el momento no se ha podido estudiar helmintológicamente ningún ave ni animal no Micromamífero de la isla. No obstante, las prospecciones efectuadas en los pequeños Mamíferos son suficientes para indicar claramente que esta especie de Trematodo se halla distribuida por toda la isla y en todo tipo de biotopos.

En cuanto a la infestación del lirón careto por Brachylaemus nitellae en Formentera, MAS-COMA & GALLEGO (1975) detectan la presencia de este Trematodo

en 8 de 13 animales juveniles (juv. según la nomenclatura de KAHMANN & THOMS, 1977 = aún en cambio dentario), lo cual indica la posibilidad de infestaciones precoces, en animales recién salidos del nido (con restos de leche materna aún en el estomago).

No mucho hay por comentar a nivel de primer hospedador intermediario. En cuanto a infestaciones experimentales nada puede adelantarse sobre esta fase del ciclo. Los únicos datos que poseemos son los de la naturaleza que, sin embargo, no dejan de ser bastante significativos. Así, de todos los caracoles de Formentera examinados, pertenecientes a 7 especies diferentes, únicamente dos Rumina decollata mostraron ser emisores de cercarias. Esta sugerida especificidad a nivel del primer huésped se corresponde además a los conocimientos que se dispone sobre otras especies de Brachylaemus. El número escaso de caracoles naturalmente infestados también resulta normal, teniendo en cuenta los ciclos terrestres de especies afines.

A nivel de segundo hospedador intermediario, los estudios experimentales demuestran que las cercarias son capaces de penetrar en Rumina decollata, Eobania vermiculata, Euparypha (Theba) pisana, Otala punctata y Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli, pero luego la evolución hasta estadio de metacercaria infestante sólo se consigue en Rumina decollata. En la naturaleza se detectó en cambio la presencia de metacercarias infestantes no sólo en Rumina decollata (71,4 %), sino también en Eobania vermiculata (20,0 %), Euparypha (Theba) pisana (0,47 %), Otala punctata (6,7 %) y Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli (66,6 %). No debe olvidarse aquí, además, que la inespecificidad de los Brachylaémidos a nivel de segundo Gasterópodo es un hecho bien conocido y demostrado. A nuestro entender, el aletargamiento en que entran las especies de Helicidos en el laboratorio al ascender por las paredes de las cajas (cosa que no sucede con el Stenogyrido) puede ser el factor determinante de este aparente aletargamiento paralelo que sufren las metacercarias en estos hospedadores hasta degenerar. Desgraciadamente, y según nuestros conocimientos, no existe en la actualidad ningún estudio sobre la posible influencia del aletargamiento de los caracoles sobre los estadios larvarios de Trematodos.

#### 4.4.2.- EVOLUCION DEL CICLO EN FORMENTERA

El ciclo biológico de Brachylaemus nitellae evoluciona en la isla de Formentera siguiendo las características generales típicas de un ciclo triheteroxeno que se desarrolla en un sólo ecosistema, el terrestre. En la exposición de la ecología de este ciclo en dicha isla distinguiremos, dentro del notable número de factores mesológicos, etológicos y corológicos implicados, dos grupos de condicionantes según afecten de un modo particular sobre alguna fase determinada del ciclo o de un modo general sobre todo el mismo.

##### A) CONSIDERACIONES PARTICULARES

En la fase libre de *huevo* dos hechos deben influir de manera más marcada. Por un lado resultan determinantes las condiciones del medio externo en que el huevo es evacuado, ya que estas condiciones habrán de ser decisivas en la mayor o menor viabilidad del huevo. Cabe tener en cuenta aquí las características generales, tanto geológicas (suelo arenoso y pedregoso) como climáticas (escasas lluvias), de la isla de Formentera y que indudablemente jugarán en este punto como factores desfavorables, influyendo la aridez de modo general en detrimento de la viabilidad de las fases libres. Por otro lado resulta vital el que los huevos sean evacuados por los Micromamíferos huéspedes definitivos en biotopos en los que se presente el primer huésped intermediario, Rumina decollata, dada la especificidad que Brachylaemus nitellae parece mostrar a nivel de primer hospedador. Teniendo en cuenta la escasa variedad de biotopos en la isla de Formentera y las características etológicas del primer huésped y huéspedes definitivos resulta lógico suponer que los biotopos de Formentera que deben ofrecer un mayor número de probabilidades de éxito a la fase de huevo son aquellos constituidos por muros de piedra, muros en cuyo interior y proximidades se dan unas condiciones más o menos estables de humedad y en los que Rumina y Micromamíferos coexisten en densidades poblacionales considerables.

A nivel de *primer hospedador intermediario* el hecho principal reside en la aparente especificidad que el Digénido muestra para con la especie Rumina

decollata. Consecuentemente la ecología de este Gasterópodo terrestre juega un papel decisivo en esta primera fase del ciclo. Como ya se ha dicho anteriormente, esta especie de Pulmonado es muy abundante en Formentera, mostrando una relativamente amplia ecología pero con marcada preferencia para con los habitats más húmedos (garriga, cultivos de regadío, etc.) en los que se encuentra bajo las piedras; a pesar de la gran capacidad de adaptación que ostenta en la isla no se la puede catalogar de especie resistente. Estas características de Rumina decollata juegan evidentemente en sentido favorable en Formentera, sobre todo teniendo en cuenta que debido a la especificidad, la presencia de este caracol determina de hecho los límites del "endemiotopo". No obstante, en el caso concreto que nos ocupa, al tratarse de una isla de reducidas dimensiones, la capacidad de desplazamiento de los huéspedes definitivos es suficiente para concluir en una distribución isleña general, detectándose la presencia de los adultos en Micromamíferos capturados en todo tipo de biotopos.

Existen otros dos factores que también deben influir de modo indudable en la evolución de esta primera fase del ciclo. Así, la infestación de Rumina decollata se efectúa de manera pasiva por ingestión de huevos, por lo que el comportamiento coprofágico de este Gasterópodo ha de jugar un papel decisivo en su infestación. Además, en este Pulmonado pueden originarse infestaciones masivas por esporocistos que, dado a su gran capacidad generadora y a su larga vida, hacen que un único caracol llegue a emitir un inmenso número de cercarias, hecho destinado evidentemente a paliar las enormes pérdidas que el ciclo sufre en todas sus otras fases y por tanto factor primordial en la aseguración de la supervivencia de la especie.

El caracol emisor no puede actuar simultáneamente como segundo huésped intermediario, con lo que resulta imprescindible la emisión de cercarias que por sus propios medios habrán de conseguirse el huésped siguiente. En esta *fase libre de cercaria* influyen determinados factores mesológicos abióticos y características etológicas del caracol emisor. Entre los primeros podemos citar la necesidad de un mínimo de humedad para que tenga lugar la emisión y para que sea factible el desplazamiento de las cercarias, lo que nos recuerda la importancia que debe tener el rocío en este ciclo en una isla con

pocas lluvias como es Formentera. Otro condicionante ambiental parece poder constituirlo la luz solar, dada su influencia positiva en la estimulación de la emisión cercariana. En consecuencia cabe suponer que en ausencia de lluvias la emisión de cercarias debe tener lugar preferentemente a primeras horas de la mañana, cuando rocío y luz solar coexisten.

El comportamiento del caracol emisor juega igualmente un importante papel, habida cuenta la limitada autonomía de desplazamiento de las cercarias sobre el sustrato exterior dentro de su escasa longevidad en fase libre. La convivencia del caracol emisor con otros individuos de Gasterópodos de la misma o diferentes especies en proximidad resulta pues un factor muy importante para el éxito de las cercarias. En este sentido la convivencia en Formentera de colonias de caracoles bajo grandes piedras que les protegen del calor solar, manteniéndose un microclima húmedo debajo de las mismas, es un hecho que debe intervenir probablemente de modo favorable. Cabe añadir aquí que en la isla en cuestión se encuentra con frecuencia la coexistencia próxima bajo una misma piedra de varios individuos de Rumina decollata y distintas especies de Helícidos y también Limácidos, todos los cuales pueden actuar como segundos hospedadores intermediarios en el ciclo.

La infestación del Gasterópodo *segundo huésped intermediario* se efectúa de modo activo, sin que no obstante las cercarias demuestren un comportamiento selectivo o tropismo, sino que aparentemente penetran en todo caracol que encuentran. En esta infestación debe darse también cuantiosas pérdidas de cercarias, sumándose, a aquellos que nunca llegan a alcanzar otro caracol, otras que acceden a nuevos individuos por vía equivocada (ano). Dada la inespecificidad a nivel de segundo intermediario, nos encontramos con que el principal factor incidente en la infestación de los caracoles es su comportamiento, habida cuenta que la infestación sólo será posible en aquellos Pulmonados que se encuentren en las proximidades de la Rumina emisora de cercarias. Recordemos nuevamente la convivencia de Gasterópodos en Formentera bajo grandes piedras. Esta particularidad debe influir asimismo en el hecho de que Rumina decollata constituya en la naturaleza el segundo hospedador preferente, ya que los ejemplares de esta especie suelen convivir en pequeñas colonias bajo las piedras. Por idénticas razones es por lo que otras es-

pecies de Helícidos, a pesar de ser segundos hospedadores potenciales, pasan a actuar como tales con mucha menor frecuencia. En efecto, los Helícidos de Formentera son en general especies resistentes que si bien cabe encontrarlos también bajo piedras conviviendo con Rumina, ello se da más esporádicamente

Hemos comentado ya anteriormente que al tratarse de una isla de pequeñas dimensiones, el primer huésped, a pesar de ser específico, no determina el "endemiotope" a nivel de adulto. Sin embargo, ésto sí debe suceder a nivel de segundo hospedador, dada la limitada autonomía de desplazamiento de los caracoles. En consecuencia, en los "endemiotos" determinados por ejemplares de Rumina emisores de cercarias es en donde cabrá y cabe detectar unos porcentajes de infestación más elevados, tanto a nivel de segundo huésped como de huésped definitivo.

Cabe preguntarse si el papel del Helícido Otala punctata, cuando adulto, como segundo hospedador es efectivo. La solidez y dimensiones de su concha en la fase final de su desarrollo quizás sean suficientes como para impedir que puedan constituir parte de la dieta alimenticia de los animales huéspedes definitivos. Por lo tanto, mientras su actuación cuando joven puede ser perfectamente viable, cuando adulto podría llegar a representar un cajón sin salida.

La maduración de las metacercarias hasta estadio infestante necesita varios meses. En el caso de los Helícidos su estivación podría influir quizás negativamente en la no maduración y degeneración de las metacercarias al incidir en la fisiología de estas larvas provocando una "especie de aletargamiento paralelo", cosa que no sucede con Stenogyridos y Limácidos. Sea como sea, es indudable que el aletargamiento estival, y en menor grado el invernal, de los Helícidos debe implicar el origen de fluctuaciones poblacionales del parásito más o menos pronunciadas.

A nivel de *huésped definitivo* tampoco cabe observar ningún tipo de especificidad, en el sentido estricto de la palabra. Por lo tanto, todas las especies de Micromamíferos de Formentera, a las que probablemente quepa añadir a diversas Aves de la isla, constituyen hospedadores definitivos poten-

ciales. En consecuencia, las características de la dieta de estos animales en la isla habrán de ser aquellos factores que determinen cuales son los huéspedes efectivos. Limitándonos a Los Micromamíferos, puede decirse que es bien sabido que los caracoles constituyen en general un elemento de la dieta alimenticia de todas las especies presentes en la isla. Sin embargo, cabe remarcar que de modo concreto en la isla de Formentera sólo se dispone de datos sobre alimentación en el caso del lirón careto, y que si bien las otras especies son depredadoras de caracoles por doquier, el fenómeno de aislamiento geográfico y la consiguiente adaptación a la insularidad podrían haber originado modificaciones en la composición general de su dieta. De todos modos el Digénido parece mostrar a nivel de adulto una marcada preferencia por Eliomys quercinus ophiusae, afinidad que se halla de acuerdo con la composición de su dieta, en la que los caracoles entran a formar parte en un 100% de los casos (véase KAHMANN & LAU, 1972). Asimismo, habla también en este sentido la aparente mayor adaptación del Trematodo adulto al lirón, en el cual los individuos alcanzan un mayor grado desarrollo que el alcanzado en los otros Micromamíferos en un mismo período de tiempo tras la infestación.

La rata constituye el otro huésped definitivo de preferencia, inmediatamente tras el lirón. La cohabitación de este animal con el lirón en los mismos biotopos insulares y la naturaleza omnívora de su dieta, en la cual entran a formar parte los Gasterópodos, son los factores que indudablemente seleccionan a este Múrido como otro huésped efectivo más en Formentera. No obstante, la escasa especificidad del Brachylaémido se opone al hecho de que no haya sido encontrado más que una vez en Mus musculus y nunca hasta la fecha en Apodemus o Erinaceus. La explicación de estos resultados debe buscarse momentáneamente en la ecología y etología de estos huéspedes definitivos en la isla. Así, mientras el lirón y la rata muestran su presencia en todos los parajes insulares, las poblaciones de los Múridos menores (Mus; Apodemus) parecen hallarse más restringidas. El ratón casero no es nada frecuente en el medio completamente silvestre, habitando en las proximidades humanas (hoteles, casas en ruinas, pueblos, establos, etc.). El ratón campestre muestra unas densidades poblacionales muy desiguales, siendo escaso o inexis-

tente (= no detectado) en aquellos lugares en que predominan el lirón y la rata; los biotopos insulares preferentes en este animal resultan ser habitats pobres, arenosos y secos, próximos a la playa (Playa Mitjorn) y poblados de garriga a base de Juniperus phoenicea, Pinus halepensis, Rosmarinus officinalis y gramíneas. El caso del erizo debe considerarse independientemente por su naturaleza, pero añadamos que parece presentar sus densidades poblacionales más notables en la planicie de La Mola y en los alrededores de San Fernando, detectándose fácilmente su presencia al anochecer en los innumerables campos de cultivo bordeados de muros de piedra de Formentera.

Como consecuencia de que lirón y rata sean en Formentera los huéspedes definitivos por excelencia, el Digénido presenta una distribución isleña general, detectándose por doquier en la isla de un modo paralelo a la presencia de lirón y rata.

En el caso del lirón se ha visto como la infestación puede darse incluso en animales recién salidos del nido. Este hecho es extensiblemente probablemente también a la rata, siendo el único requerimiento la ingestión de caracoles de manera precoz cuando son aún muy jóvenes.

La maduración del adulto en el microhabitat intestinal tiene lugar en un relativamente corto espacio de tiempo, generándose los primeros huevos al tercer-cuarto día de la infestación, hallándose el útero lleno a los 10 días y presentándose huevos maduros a partir de entonces. Este factor favorable para el ciclo encuentra sin embargo otros dos factores que juegan un papel contradictorio. Así, por un lado parece ser que la longevidad del adulto no es muy prolongada, y por otro lado se trata evidentemente de una especie con una capacidad de producción de huevos no muy remarcable. Consecuentemente, nos encontramos con que la única fase claramente destinada a suplir las enormes pérdidas que tienen lugar a lo largo de todo el ciclo es la fase de esporocisto con su gran capacidad de producción de cercarias.

A nivel de la fase de adulto las pérdidas del ciclo deben ser insignificantes, habida cuenta de que en Formentera casi no existen otras especies de Vertebrados (quizás carnívoros domésticos, pero usualmente no depredadores de caracoles) en las cuales podría no desarrollarse el Digénido hasta

la madurez. En conclusión, pues, cabe decir que la interposición de depredadores no adecuados en la última fase del ciclo carece de interés.

## B) CONSIDERACIONES GENERALES

Muy pocos datos concretos puede adelantarse sobre la dinámica de la población de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera, pero sí cabe intuir la existencia de ciertas fluctuaciones, tanto periódicas o estacionales como accidentales.

Las escasas lluvias que se dan en la isla deben provocar la emisión de cercarias y la salida de los caracoles, motivando una ola de infestación de segundos huéspedes intermediarios. Observando el cuadro I (datos climatológicos de Formentera) cabe deducir que estas olas de infestación serán más frecuentes en los meses de octubre, noviembre, diciembre y enero, para ir descendiendo paulatinamente hasta mediados de verano.

La época estival, caracterizada por las pocas lluvias, motiva en Formentera la estivación de los Helicidos, factor estacional que habrá de influir desfavorablemente, si bien únicamente de modo secundario habida cuenta la ausencia de este fenómeno de aletargamiento en Rumina decollata, segundo huésped por excelencia.

En la época invernal se puede dar también otro estancamiento de naturaleza periódica que incidiría en la fase final de adulto. La causa de esta fluctuación es el sueño invernal de los lirones, que incidiría negativamente durante un período determinado en su infestación y en la evacuación de huevos. De todos modos, este factor invernal tampoco debe ser de una influencia marcada, puesto que el sueño de los lirones en Formentera es de corta duración y es muy posible incluso que en años benignos no tenga lugar. Además, ni la rata ni los otros pequeños Mamíferos de la isla duermen en invierno, por lo que la incidencia de este fenómeno siempre habrá de ser secundaria.

Las influencias del fenómeno de aislamiento geográfico también se dejan sentir sobre el ciclo. En general las influencias de la insularidad parecen actuar de un modo favorable para la evolución del ciclo. Así, como

consecuencia de la insularidad, los huéspedes presentan generalmente unas densidades poblacionales superiores a las normalmente ostentadas en el continente. Ello acentúa el contacto entre todos los animales de la isla, lo cual ha de facilitar enormemente todos los pasos del Digénido de un huésped a otro. Este mayor contacto da lugar a un mayor número de probabilidades de infestación y por tanto actúa facilitando la evolución del ciclo. En consecuencia, cabe suponer que el ciclo evolutivo medio, en igualdad de condiciones, sería de una menor duración en la isla que en el continente.

El fenómeno de insularidad deja sentir su huella principalmente a nivel de la última fase del ciclo, esto es, a nivel de huésped definitivo. En efecto, pues es a nivel de Micromamíferos en donde se originan grandes densidades poblacionales ante la ausencia de depredadores, cosa que no sucede con los caracoles que son presa de los anteriores. Tampoco podemos olvidar que las características fisiográficas de la isla de Formentera no son ni mucho menos propicias a la existencia de Gasterópodos terrestres. Téngase en cuenta, además, que, como ya se ha dicho, las pérdidas en la última fase del ciclo por interposición de depredadores no adecuados es mínima, dado el hecho de la no existencia de otros animales de vida libre en la isla.

De todos estos determinantes favorables, el que indudablemente lo es en mayor grado es la notable densidad poblacional que ostenta el lirón careto, huésped final preferente, en la mayoría de enclaves insulares.

Sin embargo, la insularidad no implica exclusivamente factores favorables, sino que también los motiva desfavorables. En el caso concreto de Formentera su fisiografía supone un verdadero problema para la consecución del ciclo. La pobreza de biotopos, la aridez general, la escasez de biotopos húmedos y de agua superficial son suficientes para contrarrestar los efectos positivos anteriormente expuestos, resultando unos índices de infestación a todos los niveles, esto es, a nivel de los tres huéspedes del ciclo, casi parangonables y escasamente diferenciables de los que cabe detectar en un ciclo similar en el continente.

*CAPITULO QUINTO*

DISCUSION  
Y  
CONCLUSIONES

## 5.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

### 5.1.- DISCUSION

La naturaleza del ciclo de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera se inscribe perfectamente en la biología general de los representantes de la familia Brachylaemidae.

Se sale de las pretensiones de este tratado el extenderse aquí en la comparación de la evolución de Brachylaemus nitellae respecto a la de especies pertenecientes a géneros de la subfamilia Panopistinae. Digamos si acaso que tanto las líneas generales del ciclo como la morfología de los distintos estadios, larvarios y adulto, muestran unas afinidades indiscutibles con los ciclos y respectivos estadios en especies de los géneros Panopistus (véase SINITSIN, 1931; KRULL, 1935; REYNOLDS, 1938), Pseudoleucochloridium (POJMANSKA, 1959, 1961; JOURDANE, 1970, 1976) y Dollfusinus (TIMON-DAVID, 1964, 1965). Todo ello resulta evidentemente del parentesco existente entre todos estos Digénidos.

En el caso que nos atañe vamos a concretar la discusión a la subfamilia Brachylaeminae, limitándonos a las especies del género Brachylaemus cuyos ciclos se hallan completa o parcialmente descifrados. En consecuencia, la discusión queda reducida exclusivamente a unas pocas especies, de las que consideraremos únicamente aquellas que son parásitas de Roedores y en las que su biología ha sido estudiada más o menos experimentalmente, de modo concreto:

- Brachylaemus recurvus (Dujardin, 1847) en Francia según los estudios de TIMON-DAVID (1959);
- Brachylaemus erinacei (Blanchard, 1847) en Alemania según HOFFMANN (1899) y España según SIMON-VICENTE (1955);
- Brachylaemus helicis (Leidy, 1847) en Estados Unidos según ULMER (1951);
- Brachylaemus aequans (Looss, 1899) en la Rusia asiática según PANIN & SUMENKOVA (1963);

- Brachylaemus virginiana (Dickerson, 1930) en Estados Unidos según KRULL (1935) y ULMER (1952);
- Brachylaemus laruei (Mc Intosh, 1934) en Estados Unidos según ULMER (1949);
- Brachylaemus sp. en Francia según JOURDANE (1970).

Antes de pasar a comentar los ciclos de cada una de estas especies comparativamente con el de Brachylaemus nitellae en Formentera, cabe recordar que algunas de las adjudicaciones sistemáticas de los autores anteriores pueden ser erróneas. Así, por ejemplo, nos encontramos con que B. aequans es considerado sinónimo de B. recurvus por ADAM & LELOUP (1934), B. laruei es considerado sinónimo de B. helicis por ROBINSON (1949), ULMER (1951), BAER (1971) y YAMAGUTI (1975), y la especie identificada por SIMON-VICENTE (1955) como B. erinacei es muy posible que no fuera tal según YAMAGUTI (1975).

Para una mejor exposición pasamos inicialmente a efectuar el análisis comparativo según las distintas fases del ciclo en vez de proceder a la comparación especie por especie.

*Esporocisto:* la morfología general que presentan los esporocistos de Brachylaemus nitellae no es en modo alguno diferenciable de la de los esporocistos conocidos en las otras especies. Desgraciadamente no nos ha sido posible averiguar si existen en Brachylaemus nitellae una o dos generaciones de esporocistos, por lo que este hecho no puede sernos de utilidad en la comparación. Tampoco la localización de los esporocistos permite diferenciación alguna, constituyendo aparentemente el hepatopáncreas el microhabitat de esporocistos de Brachylaemus por excelencia.

*Cercaria:* la morfología general de las cercarias maduras, recién emitidas, muestra unas semejanzas indudables respecto de las cercarias conocidas en otras especies, concretamente en Brachylaemus erinacei, Brachylaemus helicis y Brachylaemus virginiana. Es evidente que resulta absurdo tratar de discernir diferencias morfológicas válidas a nivel de cercaria. Únicamente la quetotaxia podría aportar datos irrefutables y por desgracia és-

ta es desconocida en estas especies. No obstante, y tal como remarcan BAYSSADE-DUFOUR & MAILLARD (1975), en los casos de B. virginiana y B. helicis, KRULL (1935) y ULMER (1951), respectivamente, describen e ilustran la posición de algunas papilas sensoriales. Estos datos quetotáxicos, aunque incompletos, son suficientes para diferenciar ambas especies de B. nitellae. En efecto, a nivel de acetábulo B. virginiana presenta 9S<sub>II</sub>, mientras que B. nitellae ostenta sólo 6S<sub>II</sub>; a nivel corporal B. virginiana y B. helicis presentan 1A<sub>I</sub>L, 1A<sub>II</sub>L, 1A<sub>III</sub>L, 1M<sub>I</sub>L y 1P<sub>III</sub>L, mientras que B. nitellae muestra 1A<sub>I</sub>L, 2A<sub>II</sub>L, 1A<sub>III</sub>L, 3M<sub>I</sub>L, a veces 1P<sub>I</sub>L, 1P<sub>II</sub>L y 2P<sub>III</sub>L. B. virginiana presenta además 1A<sub>I</sub>V y 1A<sub>II</sub>V, ambas ausentes en B. nitellae, la cual es a su vez la única en tener 4UL. La quetotaxia de B. nitellae es también perfectamente diferenciable de la de Cercaria sp. Bayssade-Dufour, 1974 (Brachylaemoidea) a todos los niveles (región cefálica, cuerpo, acetábulo y cola).

*Metacercaria*: la localización de las metacercarias en el segundo huésped intermediario nos permite realizar ya una diferenciación inicial. Así, nuestro material se aleja indiscutiblemente del descrito por TIMON-DAVID (1959) (metacercarias de B. recurvus en la glándula pédea) y por ULMER (1951) (metacercarias de B. helicis en la cavidad pericárdica). La naturaleza libre de las metacercarias de B. nitellae permite distinguirlas también de las enquistadas en B. recurvus (TIMON-DAVID, 1959) y B. virginiana (KRULL, 1935; ULMER, 1952). Únicamente las metacercarias de B. erinacei (HOFFMANN, 1899; SIMON-VICENTE, 1955) y Brachylaemus sp. (JOURDANE, 1970) son renales y libres. Desgraciadamente las dimensiones y la anatomía interna no permiten argumentar conclusión válida alguna. Sólo la naturaleza lisa de la cutícula (= sin espinas aparentes) en el caso de B. erinacei permite diferenciar esta especie de B. nitellae; de todos modos tanto HOFFMANN (1899) como SIMON-VICENTE (1955) describen luego la presencia de espinas en los adultos obtenidos experimentalmente.

Analizados ya todos los estadios larvarios cabe observar como es posible diferenciar, basándose exclusivamente en argumentos de validez incuestionable, a Brachylaemus nitellae de Brachylaemus recurvus (= B. aequans), B. helicis (= B. laruei) y B. virginiana. Únicamente Brachylaemus erinacei

y Brachylaemus sp. sensu Jourdane, 1970 parece mostrar características no diferenciables de B. nitellae.

Evidentemente resulta imposible distinguir las fases larvarias del ciclo de B. erinacei del de B. nitellae de una manera irrefutable. Sin embargo, ciertas diferencias se nos antojan significativas. Así, el primer hospedador intermediario de B. erinacei, tanto en los estudios de HOFFMANN (1899) como en los de SIMON-VICENTE (1955), puede ser tanto una especie de Helicidae como de Limacidae, mientras que en el caso de B. nitellae en Formentera parece existir una especificidad estricta para con un Stenogyriidae, Rumina decollata. Igualmente a nivel de huésped definitivo nos es posible apreciar algunas divergencias. En el trabajo de HOFFMANN (1899) el huésped final es Erinaceus europaeus Linnaeus, 1758 (Insectivora: Erinaceidae), mientras que SIMON-VICENTE (1955) sólo encuentra adultos naturales en gorriones, hecho que hace suponer a YAMAGUTI (1975) que en realidad es probable que se tratase de otra especie (quizás de Aves). En Formentera, no obstante, el erizo no parece ser huésped definitivo usual (en realidad nunca se ha detectado la presencia de Brachylaemus en este animal, sin que de todos modos pueda descartarse la posibilidad de que constituya un hospedador potencial). Es más que probable que la única solución definitiva se encuentre en la quetotaxia de las cercarias, pero desgraciadamente no existe dato quetotácico alguno sobre B. erinacei.

Por el momento se desconoce la naturaleza de las primeras fases del ciclo de Brachylaemus sp. (esporocistos, cercarias), por lo que resulta prematuro adelantar conclusiones. Añadamos, sin embargo, que muchos aspectos de uno y otro Digénido hacen pensar en la posibilidad de que en realidad pertenezcan a una misma especie: por un lado la proximidad geográfica (Formentera en el caso de B. nitellae; Pirineos orientales en Brachylaemus sp.) y por otro el huésped definitivo preferente (en ambas el lirón careto). Cabe apuntar aquí que en ensayos de infestación experimental publicados, JOURDANE (com. pers.) ha detectado una aparente especificidad del Brachylaémido pirenaico para con Eliomys. Un sólo carácter plantea una duda en la cuestión antedicha: las dimensiones de las metacercarias. En el caso de Brachylaemus sp. las medidas corporales medias in vivo son de 2400  $\mu$  de longi-

tud por 970  $\mu$  de anchura, con ventosa oral y acetábulo de 320  $\mu$  y 290  $\mu$  de diámetro respectivamente. Estas dimensiones resultan indudablemente superiores a las halladas en metacercarias de B. nitellae de infestación experimental en el laboratorio (tablas III y IV) y de infestación natural en Formentera (tabla V). No obstante, también en la isla de Formentera hemos podido encontrar metacercarias renales libres de dimensiones semejantes a las del Brachylaemido pirenaico, concretamente en Eobania vermiculata (véase tabla V).

Habida cuenta que los comentarios anteriores sobre las distintas fases del ciclo resultan suficientes para individualizar de modo indiscutible en lo que cabe el ciclo evolutivo de Brachylaemus nitellae, no vamos a extendernos más aquí en el análisis comparativo de las biología de las especies en cuestión. Puntualicemos, no obstante, que las diferencias aludidas no son las únicas, sino que también cabe detectar a veces otras de distinta naturaleza, como sucede en la posibilidad de que un mismo caracol puede actuar simultáneamente de primer y segundo huésped o no, como en el tiempo requerido por las metacercarias hasta alcanzar el estadio maduro infestante, como en la rapidez de maduración dentro del huésped definitivo, etc.

En cuanto a la ecología del ciclo de Brachylaemus nitellae en Formentera y su comparación con las características ecológicas presentes en ciclos de especies de Brachylaemus de Roedores en el continente, por el momento todo intento carecería de significado. Por una parte es necesario disponer de más datos faunísticos de la isla de Formentera, y por otra nos encontramos con que la mayoría de autores aportan escasos e incluso a veces ningún dato sobre la ecología del ciclo en la naturaleza.

## 5.2.- CONCLUSIONES

Tal y como se especificó en la introducción de este trabajo, dos finalidades primordiales eran las perseguidas en la consecución del estudio llevado a cabo. Por una parte un interés sistemático, contribuyendo al esclarecimiento de la problemática taxonómica planteada por las especies del género Brachylaemus parásitas de Roedores. Por otra parte un interés bioló-

gico, aportando nuevos conocimientos destinados a desentrañar las posibles influencias del fenómeno de insularidad sobre el ciclo evolutivo y la ecología de las especies parásitas.

En cuanto a la primera de estas dos pretensiones puede decirse que el presente estudio demuestra de un modo contundente que la dilucidación completa de los ciclos biológicos es el único camino posible para esclarecer la problemática planteada por muchas especies del género Brachylaemus a nivel de adulto. En efecto, adultos que resultan indeferenciabiles pueden ser distinguidos sin mayores problemas al conocerse su evolución y morfología de los distintos estadios larvarios de su ciclo. Como distintivos que a primera vista resultan ser de mayor utilidad en este cometido puede señalarse principalmente la especificidad a nivel de primer hospedador intermediario, la quetotaxia de las cercarias, y la naturaleza (libre o enquistada) y localización en el segundo hospedador intermediario de las metacercarias. Todo ello no hace sino aconsejar la continuidad de estudios de esta índole. Sólo cuando dispongamos de conocimientos suficientes sobre los ciclos biológicos de las especies de Brachylaemus, resultará factible intentar buscar unos criterios, probablemente estadísticos (límites de variabilidad intraespecífica), que nos permitan diferenciar las distintas especies a nivel de adulto y, consecuentemente, poder proceder a la necesaria revisión y puesta al día de la sistemática del género Brachylaemus.

Por lo que respecta el segundo de los motivos de este trabajo, cabe concluir que si bien en el estudio llevado a cabo es posible discernir algunas de las influencias que el fenómeno del aislamiento geográfico puede desarrollar, los datos aportados son a todas luces aún insuficientes como para extraer conclusiones generalizables. En cuanto al ciclo biológico de Brachylaemus nitellae en la isla de Formentera puede detectarse la huella de la insularidad principalmente a nivel de huésped definitivo. Las elevadas densidades poblacionales de los hospedadores finales, y sobre todo del huésped preferente, el lirón careto, consecuencia de la escasa presión de selección y de la ausencia de depredadores mayores en la isla, constituyen el factor de mayor incidencia en la evolución del Digénido en Formentera. Generalizando respecto del ciclo completo, cabe decir que el fenómeno de

aislamiento viene a representar un conjunto de factores favorables para el mismo, que inciden en la facilitación en los procesos de infestación al verse acrecentado el contacto entre todos los organismos integrantes del ciclo. En el caso concreto de la isla de Formentera, estos hechos vienen a contrarrestar con creces las enormes dificultades y problemas determinados por la pobre fisiografía insular.

# RESUMEN

## RESUMEN

En el presente trabajo se efectúa el estudio del ciclo evolutivo de Brachylaemus nitellae Dujardin in Dollfus, 1968 (Trematoda: Brachylaemidae) en la isla de Formentera (Islas Pitiusas, Baleares). La elucidación del ciclo se ha realizado experimentalmente en el laboratorio, con el fin de interpretar a posteriori los resultados faunísticos obtenidos en la isla. Estas investigaciones tenían dos pretensiones primordiales: por una parte un interés sistemático, contribuyendo al esclarecimiento de la problemática taxonómica planteada por las especies del género Brachylaemus Dujardin, 1843 parásitas de Roedores; por otra parte un interés biológico, aportando nuevos conocimientos destinados a desentrañar las posibles influencias del fenómeno de insularidad sobre el ciclo evolutivo y la ecología de las especies parásitas.

Los estudios llevados a cabo tanto con material obtenido experimentalmente como con material obtenido en la naturaleza demuestran que la evolución Brachylaemus nitellae en Formentera sigue un ciclo terrestre triheteroxeno que tiene lugar del siguiente modo:

- los huevos, eliminados al medio externo con las heces de los hospedadores definitivos, son ingeridos (infestación pasiva) por un caracol terrestre específico: Rumina decollata Linnaeus, 1758 (Gasteropoda: Stenogyridae);
- en este primer hospedador intermediario se da el desarrollo de los esporocistos localizados con base en el hepatopáncreas; estos esporocistos son de una notable longevidad y de una enorme capacidad de generación cercariana;
- las cercarias, emitidas al medio externo en condiciones favorables (humedad), reptan por el sustrato hasta alcanzar por sus propios medios a los segundos huéspedes intermediarios, otros individuos de Pulmonados terrestres en los que penetran vía poro excretor y ureter hasta el riñón que constituye su microhabitat final;

- en esta infestación activa, las cercarias no demuestran ningún tipo de comportamiento selectivo o tropismo, resultando una inespecificidad a nivel de segundo hospedador intermedio y pudiendo actuar como tales en Formentera en primer lugar Rumina decollata y secundariamente Eobania vermiculata Müller, 1774, Euparypha (Theba) pisana Müller, 1774, Otala punctata Müller, 1774 y Helicella (Xeroplexa) sp. aff. caroli Dohrn et Heynemann, 1862 (Gasteropoda: Helicidae);
- la maduración del Digénido en el segundo hospedador hasta estadio de metacercaria infestante es larga, del orden de aproximadamente 8 o más meses;
- el huésped definitivo se infesta pasivamente por ingestión de caracoles conteniendo metacercarias infestantes, actuando como hospedadores finales en Formentera los Micromamíferos Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 (Rodentia: Gliridae) de un modo preferente, y Rattus rattus Linnaeus, 1758 y Mus musculus Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae) de modo secundario;
- las metacercarias ingeridas acceden rápidamente a su microhabitat definitivo, las porciones anteriores del intestino (duodeno), donde empezarán a producir huevos al tercer-cuarto día de la infestación, siendo completamente grávidos y con huevos maduros a partir del décimo día, en que comienzan a eliminar huevos a la luz intestinal, los cuales posteriormente alcanzarán el medio externo con las deposiciones.

Los hechos comentados son debidamente ilustrados en el esquema de la figura 37.

Cada fase del ciclo es analizada en toda su extensión, aportándose todo tipo de datos sobre la morfología y evolución de los respectivos estadios del Trematodo y concretándose los factores ecológicos (mesológicos, etológicos y corológicos) que intervienen sobre todos los organismos (parásito y huéspedes) en cada etapa del ciclo.

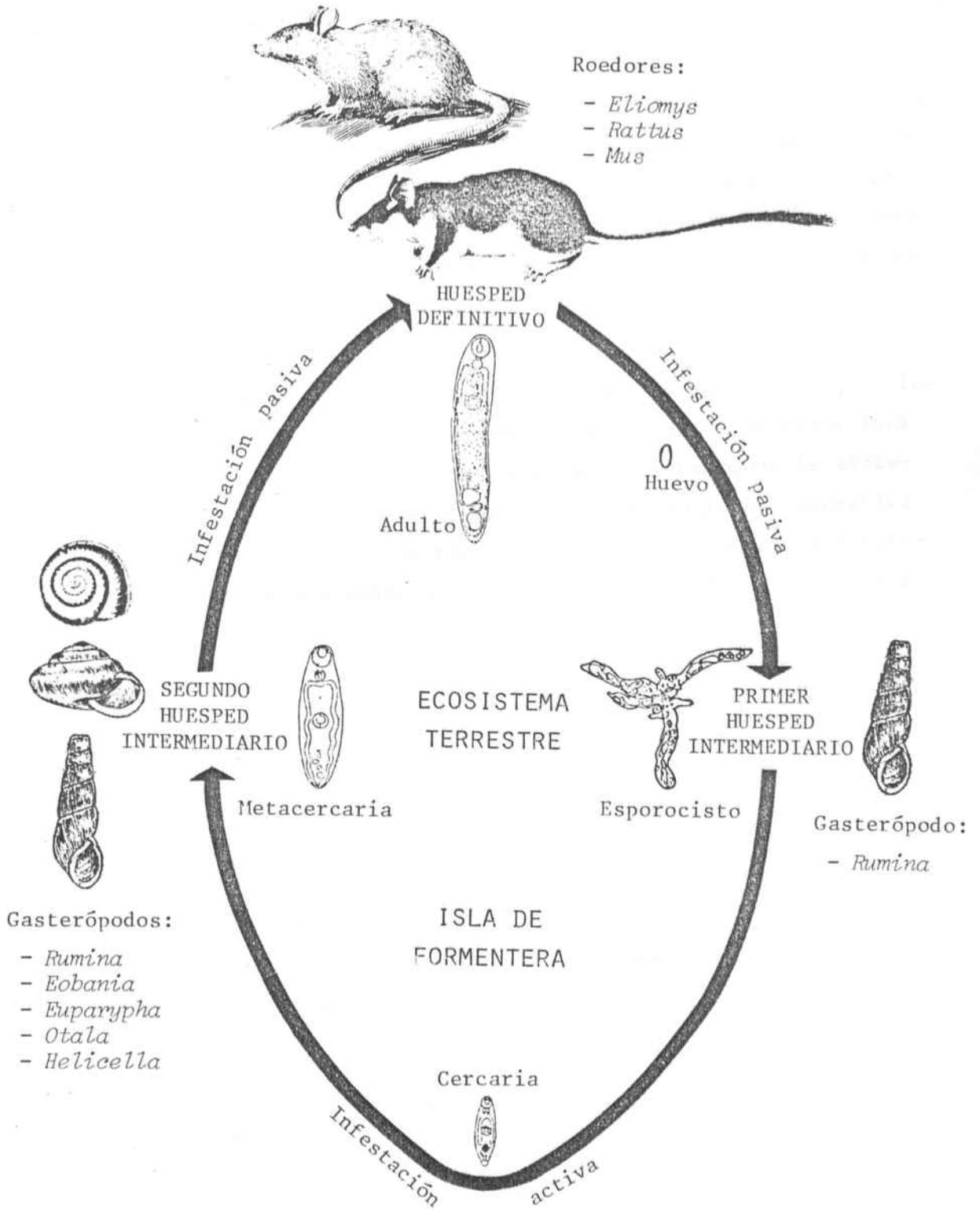


Fig. 37.- Esquema general del ciclo evolutivo de *Brachylaemus nitellae* en la isla de Formentera.

El presente estudio demuestra que la dilucidación completa de los ciclos biológicos es el único camino posible para esclarecer la problemática planteada por las especies del género Brachylaemus a nivel de adulto. Como distintivos de mayor utilidad en este cometido puede señalarse principalmente la especificidad a nivel de primer hospedador intermediario, la que-totaxia de las cercarias, y la naturaleza (libre o enquistada) y localización en el segundo hospedador intermediario de las metacercarias.

Ecológicamente cabe detectar la huella de la insularidad principalmente a nivel de huésped definitivo. Las elevadas densidades poblacionales de los huéspedes finales preferentes constituyen el factor de mayor incidencia en la evolución del Digénido en Formentera. El fenómeno de aislamiento geográfico viene a representar un conjunto de factores favorables para el ciclo, influencias que contrarrestan con creces las enormes dificultades y problemas determinados por la pobreza fisiográfica de la isla.

# BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADAM (W.) & LELOUP (E.), 1934.- Recherches sur les parasites de mollusques terrestres de Belgique. Trématodes larvaires. Mém. Mus. Roy. Hist. Nat. Belg., 62, 40 pp.
- 2.- ALICATA (J.E.), 1940.- The life cycle of Postharmostomum gallinum, the ceccal fluke of poultry. J. Parasit., 26 (2): 135-143.
- 3.- BAER (J.-G.), 1932.- Contribution à la Faune helminthologique de Suisse. Rev. Suisse Zool., 39 (1): 1-56.
- 4.- BAER (J.-G.), 1971.- Trématodes de Rongeurs récoltés en Côte d'Ivoire. Z. Parasitenk., 37: 226-254.
- 5.- BAER (J.-G.) & JOYEUX (Ch.), 1961.- Classe de Trématodes. En: Grassé Plathelminthes, 4 (1): 561-692.
- 6.- BALOZET (L.), 1936.- Cercaires et métacercaires d'un Brachylaemus. Bull. Soc. Path. Exot., 29: 504-508.
- 7.- BALOZET (L.), 1937.- Cycle évolutif de Brachylaemus suis L. B. 1936. C.R. Acad. Sc. Paris, 204:622-624.
- 8.- BALOZET (L.), 1937.- Brachylaemus suis, Trématode de l'intestin du porc. Rôle pathogène et cycle évolutif. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 26: 36-67.
- 9.- BARUS (V.) & TENORA (F.), 1957.- (Zur Kenntniss der Helminthofauna der Siebenschläfer (Myoxidae) in Südslovakei). Cesk. Parasit., 4: 53-56.
- 10.- BAUGH (S.C.), 1962.- Contributions to our knowledge of digenetic trematodes. IV. Z. Parasitenk., 21 (6): 502-512.
- 11.- BAYLIS (H.A.), 1927.- Notes on three little-known Trematodes. Ann. Mag. Nat. Hist., ser 9, 19: 426-433.
- 12.- BAYSSADE-DUFOUR (C.), 1974.- Chétotaxie d'une cercaire de Brachylaimoidea (Trematoda). Bull. Mus. natn. Hist. nat., Zool.134, sér 3, 204:67-71.
- 13.- BAYSSADE-DUFOUR (C.) & MAILLARD (Cl.), 1975.- Chétotaxie de Labratrema lamirandi (Carrère, 1937) Maillard, 1975, Bucephaloidea. Observations sur

- Cercaria plumosa Sinitsin, 1911, Fellodistomatoidea. Comparaison avec Cercaria sp. Bayssade-Dufour, 1974, Brachylaimoidea. Discussion sur le sous-ordre des Brachylaimata La Rue, 1957 (Trematoda). Bull. Mus. natn. Hist. nat., Zool. 193, sér. 3, 283: 39-68.
- 14.- BOFILL I POCH (A.) & AGUILAR-AMAT (J.B. de), 1924.- Malacología de les Illes Pitiuses. Trab. Mus. Cienc. Nat. Barcelona X, 3: 3-71.
- 15.- COLL (M.C.), 1977.- Estudio del ectoparasitismo del lirón careto (*Eliomys quercinus ophiusae* Thomas) de la isla de Formentera. Tesina Fac. Farm. Univ. Barcelona, 104 pp.
- 16.- COMBES (Cl.), 1968.- Biologie, écologie des cycles et biogéographie des Digènes et Monogènes d'amphibiens dans l'est des Pyrénées. Mém. Mus. natn. Hist. nat., sér. A Zool., nouv. sér., 51 (fasc. unique): 1-195.
- 17.- COMBES (Cl.), BAYSSADE-DUFOUR (C.) & CASSONE (J.), 1976.- Sur l'impregnation et le montage des cercaires pour l'étude chétotaxique. Ann. Parasit. hum. comp., 51 (3): 399-400.
- 18.- COMPTE SART (A.), 1966.- Resultados de una expedición zoológica a las islas Pitiusas. I. Vertebrados. Bol. R. Soc. Españ. Hist. Nat. (Biol.), 64: 15-46.
- 19.- CRAGG (J.B.), FOSTER (R.) & VINCENT (M.), 1957.- Larval Trematodes (Brachylaemidae) from the slugs Milax sowerbii (Férussac), Agriolimax reticulatus (Müller) and Arion lusitanicus Mabille. Parasitology, 47: 396-404.
- 20.- DEIANA (S.) & ARRU (E.), 1963.- Il ciclo biologico di Postharmostomum communtatum (Dies., 1858) ricostruito speritalmente in Sardegna. Riv. Parassit., 24: 163-177.
- 21.- DOGIEL (V.A.), 1962.- General Parasitology, Edinburgh and London, 516pp.
- 22.- DOLLFUS (R.Ph.), 1934.- Sur quelques Brachylaemus de la faune française récoltés principalement à Richelieu (Indre-et-Loire). Ann. Parasit. hum. comp., 12 (6): 551-575.
- 23.- DOLLFUS (R.Ph.), 1935.- Sur quelques Brachylaemus de la faune française récoltés principalement à Richelieu (Indre-et-Loire). Ann. Parasit. hum. comp., 13 (1): 52-79.

- 24.- DOLLFUS (R.Ph.), 1954.- *Miscellanea helminthologica Maroccana*, XIV. Un Brachylaema (Trématodes, Distomes) de Pigeon domestique. Arch. Inst. Pasteur Maroc, 4: 603-611.
- 25.- DOLLFUS (R.Ph.), 1961.- Contribution à la faune parasitaire de la région de Richelieu. Ann. Parasit. hum comp., 36 (3): 171-355.
- 26.- DOLLFUS (R.Ph.), 1968.- Les Trématodes de l'Histoire Naturelle des Helminthes de Félix Dujardin (1845). Mém. Mus. natn. Hist. nat., nouv. sér., sér. A Zool., 54 (3): 119-196 + XLVII pl.
- 27.- DOLLFUS (R.Ph.), CALLOT (J.) & DESPORTES (C.), 1935.- Infestation expérimentale de Strigiformes par un Brachylaemus. Ann. Parasit. hum. comp., 13: 12-20.
- 28.- DUJARDIN (F.), 1843.- Mémoire sur les helminthes des musaraignes, et en particulier sur les trichostomes, les distomes, et les taenias, sur leurs métamorphoses et leurs transmigrations. Ann. Sci. Nat. Zool., 20: 329-349.
- 29.- DUJARDIN (F.), 1845.- Histoire naturelle des helminthes ou vers intestinaux. Libr. Encycl. de Roset, Paris, 645 pp.
- 30.- ERASMUS (D.A.), 1972.- The Biology of Trematodes. Edward Arnold (Publ.), London, 312 pp.
- 31.- ERHARDOVA (B.), 1958.- (Parasitische Würmer der Nagetiere in der Tschechoslowakei). Cesk. Parasit., 5 (1): 27-103.
- 32.- ESPAÑOL (F.), 1954.- Los Tenebriónidos (Col.) de Baleares. Trab. Mus. Cienc. Nat. Barcelona, 1 (5): 1-96.
- 33.- FOSTER (R.), 1958.- The effects of trematode metacercariae (Brachylaimidae) on the slugs Milax sowerbii Férussac and Agriolimax reticulatus Müller. Parasitology, 48: 261-268.
- 34.- FOSTER (R.), 1958.- Infestation of the slugs Milax sowerbii Férussac and Agriolimax reticulatus Müller by trematode metacercariae (Brachylaimidae). Parasitology, 48: 303-311.
- 35.- FRETTER (V.) & PEAKE (J.), 1975.- Pulmonates. Vol. I. Functional Anatomy and Physiology. Academic Press, London-New York-San Francisco, 417 pp.

- 36.- GALLEGO (J.) & PORTUS (M.), 1976.- Pucos de l'illa de Formentera. Comunicación presentada a la Sesión Conjunta S.C.B./I.C.H.N./S.H.N.B. sobre "Insularidad" (Mallorca/Cabrera, 19-21.III.1976). But. Inst. Cat. Hist. Nat. (en prensa).
- 37.- GASULL (L.), 1963.- Algunos Moluscos terrestres y de agua dulce de Baleares. Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares, 9 (1-4): 3-80.
- 38.- GASULL (L.), 1964.- Las Helicella (Xeroplexa) de Baleares. Gasteropoda Pulmonata. Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares, 10 (1-4): 3-88.
- 39.- GASULL (L.), 1965.- Algunos Moluscos terrestres y de agua dulce de Baleares. Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares, 11 (1-4): 7-161.
- 40.- GASULL (L.), 1969.- Adiciones y rectificaciones a la fauna malacológica terrestre y de agua dulce de las Baleares. Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares, 15: 59-73.
- 41.- GASULL (L.) & VAN RECTEREN ALTENA (C.O.), 1969.- Pulmonados desnudos de las Baleares (Mollusca, Gasteropoda). Bol. Soc. Hist. Nat. Baleares, 15: 121-134.
- 42.- HOFFMANN (K.), 1899.- Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung von Distomum leptosomum Olsson. Zool. Jahrbücher Abt. Syst., 12: 174-204.
- 43.- JAECKEL (S.), 1952.- Die Mollusken der spanischen Mittelmeer-Inseln. Mitt. Zool. Mus. Berlin, 28: 55-143.
- 44.- JAECKEL (S.), 1954.- Nachtrag zu "Die Mollusken der spanischen Mittelmeer-Inseln". Mitt. Zool. Mus. Berlin, 30.
- 45.- JAECKEL (S.) & PLATE (H.-P.), 1964.- Beiträge zur Kenntnis der Molluskenfauna der Insel Mallorca. Malakol. Abh. Staatl. Mus. Tierkd. Dresden, 1 (4): 53-87.
- 46.- JOURDANE (J.), 1970.- Rôle et importance dans les Pyrénées des Gasteropodes terrestres dans les cycles biologiques de quelques Plathelminthes parasites. Thèse Fac. Sciences Univ. Montpellier, 79 pp.
- 47.- JOURDANE (J.), 1976.- Recherches sur le cycle biologique de Pseudoleucomchloridium soricis (Soltys, 1952) dans les Pyrénées. Ann. Parasit. hum. comp., 51 (4): 421-432.

- 48.- JOURDANE (J.), 1977.- Ecologie du développement et de la transmission des Plathelminthes parasites des Soricidae pyrénéens. Mém. Mus. natn. Hist nat., nouv. sér., sér. A Zool., 103: 1-171 + XX pl.
- 49.- JOURDANE (J.) & TRIQUELL (A.), 1973.- Digènes parasites d'Apodemus sylvaticus (L.) dans la partie orientale des Pyrénées. Description de Macyella apodemi sp. n. Bull. Mus. natn. Hist. nat., 117, Zool. 91: 351-361.
- 50.- JOYEUX (Ch.) & FOLEY (H.), 1930.- Les helminthes de Meriones shawi shawi Rozet dans le nord l'Algerie. Bull. Soc. Zool. France, 55: 553-374.
- 51.- JOYEUX (Ch.), BAER (J.G.) & TIMON-DAVID (J.), 1932.- Le développement du Trématode Brachylaemus (Brachylaemus) nicolli (Witenberg). C.R. Séanc. Soc. Biol., 109: 464-466.
- 52.- JOYEUX (Ch.), BAER (J.G.) & TIMON-DAVID (J.), 1934.- Recherches sur les Trématodes du genre Brachylaemus Dujardin (Syn. Harmostomum Braun). Bull. Biol. France et Belgique, 68 (4): 385-418.
- 53.- KAHMANN (H.), 1970.- Der Gartenschläfer Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 von der Pityuseninsel Formentera (Morphometrie). Veröff. Zool. Staatssamml. München, 14: 75-90.
- 54.- KAHMANN (H.) & LAU (G.), 1972.- Der Gartenschläfer Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 von der Pityuseninsel Formentera (Lebensführung). Veröff. Zool. Staatssamml. München, 16: 29-49.
- 55.- KAHMANN (H.) & THOMS (G.), 1974.- Bestandszunahme des Gartenschläfers, Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 auf Formentera. Säugetierkd. Mitt., 22 (4): 351-353.
- 56.- KAHMANN (H.) & THOMS (G.), 1977.- Ueber Wachstum und Altern des europäischen Gartenschläfers, Eliomys quercinus (Linné, 1766). Säugetierkd. Mitt., 25 (2): 81-108.
- 57.- KRUIDENIER (F.J.) & GALLICCHIO (V.), 1959.- The ortography of the Brachylaimidae (Joyeux & Foley, 1930); Brachylaime microti sp. nov.; B. rauschi McIntosh, 1950; and an addendum to Dollfus' (1935) list of Brachylaime (Trematoda: Digenea). Trans. Amer. Micr. Soc., 78: 428-441.

- 58.- KRULL (W.H.), 1933.- Studies on the life history of Brachylaemus sp., possibly B. spinosulum (Hoffmann, 1899). J. Parasit., 20 (2): 109-110.
- 59.- KRULL (W.H.), 1935.- Studies on the life history of Panopistus pricei Sinitzin, 1931 (Trematoda). Parasitology, 27 (1): 93-100.
- 60.- KRULL (W.H.), 1935.- Some observations on the life history of Brachylaemus virginiana (Dickerson) Krull, N. 1934. Trans. Amer. Micr. Soc., 54 (2): 118-134.
- 61.- KRULL (W.H.), 1936.- New terrestrial and aquatic intermediate hosts for Brachylaemus virginiana (Dickerson) Krull (Trematoda: Brachylaemidae). Proc. Helm. Soc. Wash., 3 (2): 56-58.
- 62.- LANGERON (M.), 1949.- Précis de Microscopie. Tomos I y II. Masson et Cie. Ed., Paris, 1430 pp.
- 63.- LEWIS (J.W.), 1969.- Studies on the life history of Brachylaimus oesophagei Shaldybin, 1953 (Digenea: Brachylaimidae). J. Helminth., 43 (1/2): 79-98.
- 64.- MALEK (E.A.), 1962.- Laboratory Guide and Notes for Medical Malacology. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 154 pp.
- 65.- MALEK (E.A.) & CHENG (T.C.), 1974.- Medical and Economic Malacology. Academic Press, New York-San Francisco-London, 408 pp.
- 66.- MARGALEF (R.), 1974.- Ecología. Ed. Omega, Barcelona, 951 pp.
- 67.- MARTOJA (R.) & MARTOJA-PIERSON (M.), 1967.- Initiation aux techniques de l'Histologie animale. Masson et Cie. Ed., Paris, 345 pp.
- 68.- MAS-COMA (S.), 1976.- Contribución al conocimiento de la helmintofauna de micromamíferos de España. Tesis Doct. Fac. Farm. Univ. Barcelona, tomos I y II, 527 pp.
- 69.- MAS-COMA (S.), 1976.- Interes, avantatges i inconvenients dels ecosistemes aïllats en estudis parasitològics. Comunicació presentada en la Sesió Conjunta S.C.B./I.C.H.N./S.H.N.B. sobre "Insularidad" (Mallorca/Cabrera, 19-21.III.1976). But. Inst. Cat. Hist. Nat. (en prensa).

- 70.- MAS-COMA (S.), 1977.- Gongylonema pithyusensis n. sp. (Nematoda: Spiruridae), parasite oesophagien du Lérot Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 (Rodentia: Gliridae) à Formentera (Baléares). Ann. Parasit. hum. comp., 52 (1): 13-18.
- 71.- MAS-COMA (S.), en prensa.- Helminthos de Micromamíferos de Formentera (Islas Pitiusas). Nota preliminar. Rev. Ibér. Parasit.
- 72.- MAS-COMA (S.), en prensa.- La Parasitología, auxiliar de la Paleontología y de la Mamalogía en la dilucidación de las vías de poblamiento insular. Circ. Farm.
- 73.- MAS-COMA (S.) & FELIU (C.), 1977.- Observaciones sobre algunos Nematodos de Roedores españoles con motivo de su hallazgo en Múridos silvestres de Formentera. Rev. Ibér. Parasit., 37 (1/2): 143-151.
- 74.- MAS-COMA (S.) & FELIU (C.), en prensa.- Contribución al conocimiento de la Helmintofauna de Micromamíferos ibéricos. IV. Parásitos de Apodemus sylvaticus Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae). Rev. Ibér. Parasit.
- 75.- MAS-COMA (S.) & GALLEGO (J.), 1975.- Ueber den Trematodenbefall des Gartenschläfers, Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925, von der Pityuseninsel Formentera (Spanien). Säugetierkd. Mitt., 23 (4): 251-258.
- 76.- MAS-COMA (S.) & GALLEGO (J.), 1975.- Algunas consideraciones sistemáticas sobre las familias Brachylaemidae Joyeux y Foley, 1930 y Leucochloridiomorphidae Travassos y Kohn, 1966 (Trematoda: Brachylaemoidae). Rev. Ibér. Parasit., 35 (3-4): 339-354.
- 77.- MAS-COMA (S.) & GALLEGO (J.), 1977.- Pseudophysaloptera kahmanni n. sp. (Nematoda: Physalopteridae), parasite de l'estomac du Lérot Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 (Rodentia: Gliridae) à Formentera (Baléares). Ann. Parasit. hum. comp., 52 (1): 19-24.
- 78.- MAS-COMA (S.) & GALLEGO (J.), 1977.- Conocimientos actuales sobre la helmintofauna de micromamíferos (Insectívora; Rodentia) en España. Índice-Catálogo de Zooparásitos Ibéricos. III. Cestodos, IV. Nematodos y Anejos. Cordero del Campillo et al., León: 165-205.

- 79.- MAS-COMA (S.) & GALLEGO (J.), en prensa.- Variabilidad morfológica en Dollfusinus frontalis Biocca et Ferretti, 1958 y Brachylaemus sp. aff. recurvus (Dujardin, 1845) (Trematoda: Brachylaemidae), parásitos del lirón careto en Formentera. Rev. Ibér. Parasit.
- 80.- MAS-COMA (S.) & KAHMANN (H.), en prensa.- Zur Bionomie von Dollfusinus frontalis Biocca und Ferretti, 1958 (Trematoda: Brachylaemidae), Schmarotzer im Sinus frontalis und Cavum nasi von Kleinen Säugetieren (Insectivora; Rodentia). Acta Parasit. Polon.
- 81.- MAS-COMA (S.) & MONTOLIU (I.), en prensa.- Sobre la biología de los Trematodos del lirón careto, Eliomys quercinus ophiusae Thomas, 1925 (Rodentia: Gliridae), en Formentera (Islas Pitiusas). Rev. Ibér. Parasit.
- 82.- PANIN (V.Y.) & SUMENKOVA (N.I.), 1963.- (Life-cycle of Brachylaemus aequans Looss, 1899 (Trematoda; Brachylaemidae)). Trudy Inst. Zool. Alma-Ata, 19: 83-88.
- 83.- PAVLOV (P.), 1946.- Infestation expérimentale d'animaux domestiques par Brachylaemus. Ann. Parasit. hum. comp., 21: 94-95.
- 84.- PETTER (F.), 1961.- Les lérots des Iles Baléares et de l'Ouest de la région méditerranéenne (Rongeurs, Myoxidae). Coll. Inst. Centre Nat. Rech. Sc., 94 (Banyuls-sur-Mer): 97-102.
- 85.- POJMANSKA (T.), 1957.- (Internal parasites (Cestoda, Trematoda) of field micromammals from the environment of Turew near Poznań). Acta Parasit. Polon., 5 (7): 117-161.
- 86.- POJMANSKA (T.), 1959.- Metacercariae of some Brachylaemidae (Trematoda) in land snails of the Bialowieza National Park. Acta Parasit. Polon., 7 (16): 343-369.
- 87.- POJMANSKA (T.), 1961.- Investigations on the occurrence and biology of trematodes of Sorex araneus araneus L. in Bialowieza National Park. Acta Parasit. Polon., 9 (23): 305-330.
- 88.- POJMANSKA (T.), 1971.- Some of the Important Features of Cercariae within the Family Brachylaimidae. Parasitologische Schriftenreihe, 21: 43-46.

- 89.- POJMANSKA (T.), 1972.- An attempt to estimate the value of some morphological and biological characters for establishing the taxa of various ranks within the superfamily Brachylaimoidea Allison, 1943 (Trematoda). Acta Parasit. Polon., 20 (24): 249-257.
- 90.- REYNOLDS (B.D.), 1938.- Developmental stages of Panopistus pricei Sinit-sin in Agriolimax agrestis. Parasitology, 30 (3): 320-323.
- 91.- REYNOLDS (B.D.), 1938.- Metacercariae of a species of Brachylaemus, probably B. virginianus, from Agriolimax agrestis. J. Parasit., 24 (4): 377-378.
- 92.- RICHARD (J.), 1971.- La Chétotaxie des cercaires. Valeur systématique et phylétique. Mém. Mus. natn. Hist. nat., nouv. sér., sér. A Zool, 67: 1-179.
- 93.- ROBINSON (E.J.), 1949.- The life history of Postharmostomum helicis (Leidy, 1847) n. comb. (Brachylaemidae). J. Parasit., 35 (5): 513-533.
- 94.- RUDOLPHI (C.), 1819.- Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi. Berlin.
- 95.- SANS-COMA (V.) & KAHMANN (H.), 1977.- Die Waldmaus (Apodemus) der Pityuseninsel Formentera. Säugetierkd. Mitt., 25 (1): 35-43.
- 96.- SIMON-VICENTE (F.), 1955.- Nota previa sobre el ciclo experimental de un Brachylaemus. Rev. Ibér. Parasit., 15: 607-610.
- 97.- SIMON-VICENTE (F.), 1955.- Brachylaemus en infestación experimental y natural. Rev. Ibér. Parasit., 15 (4): 301-320.
- 98.- SINITSIN (D.), 1931.- Studien über die Phylogenie der Trematoden. V. Revision of Harmostominae in the light of new facts from their morphology and life history. Z. Parasitenk., 3: 786-835.
- 99.- TEIXEIRA DE FREITAS (J.F.), KOHN (A.) & IBAÑEZ (N.), 1967.- Sobre as espécies de Brachylaemus (Brachylaemus) Dujardin, 1843 (Trematoda). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 65 (1): 41-69.
- 100.- TENORA (F.), 1963.- Review of parasitic worms in rodents of the genus Apodemus in Czechoslovakia. Zool. Listy., 12 (4): 331-336.

- 101.- THALER (L.), 1973.- Nanisme et gigantisme insulaires. La Recherche, 37 (4): 741-750.
- 102.- THERON (A.), 1975.- Recherches sur les rythmes d'emergence des cercaires de Guadalupe (parasites de *Biomphalaria glabrata*) et des Pyrénées. Thèse Univ. Sciences et Techniques du Languedoc, 149 pp.
- 103.- THOMAS (O.), 1925.- The garden dormouse (*Eliomys*) of Formentera, Balearic Islands. Ann. Mag. Nat. Hist., 9 (16): 389-390.
- 104.- TIMON-DAVID (J.), 1959.- Recherches sur les kystes à Brachylaemus du Cyclostome. Ann. Parasit. hum. comp., 34 (3): 271-287.
- 105.- TIMON-DAVID (J.), 1964.- Développement expérimental et formes larvaires de Dollfusinus frontalis Biocca et Ferretti, 1958 (Trematoda, Digenea), parasite des sinus frontaux du hérisson. C. R. Acad. Sc. Paris, 258 (12): 3755-3757.
- 106.- TIMON-DAVID (J.), 1965.- Infestation expérimentale d'une Hélicelle par huit espèces de Trématodes digénétiques appartenant à quatre familles différentes. Ann. Parasit. hum. comp., 40 (2): 149-154.
- 107.- TIMON-DAVID (J.), 1965.- Développement expérimental, formes larvaires et cycle vital de Dollfusinus frontalis Biocca et Ferretti, 1958. Ann. Parasit. hum. comp., 40 (3): 265-284.
- 108.- TOKOBAEV (M.M.), 1962.- (Helminthofauna of the relict suslik-endemic of central asian mountains). Zool. Zh., 41 (7): 1100-1103.
- 109.- TRAVASSOS (L.), & KOHN (A.), 1966.- Lista dos generos incluidos na superfamilia Brachylaemoidea. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 64 (nº único): 11-33.
- 110.- ULMER (M.J.), 1949.- Sporocyst generations of Postharmostomum laruei Mc. Intosh (Trematoda: Brachylaemidae). J. Parasit., 35 (6): 22.
- 111.- ULMER (M.J.), 1949.- Life cycle of Postharmostomum laruei Mc. Intosh 1934 (Trematoda: Brachylaemidae). Science, 109: 13-14.
- 112.- ULMER (M.J.), 1950.- A precociously developed brachylaemid metacercaria within a sporocyst. J. Parasit., 36 (6): 28.

- 113.- ULMER (M.J.), 1951.- Postharmostomum helicis (Leidy, 1847) Robinson 1949, (Trematoda), its life history and a revision of the subfamily Brachylaeminae. Trans. Amer. Micr. Soc., 70 (3): 189-238.
- 114.- ULMER (M.J.), 1952.- Morphological features of Brachylaima virginianum metacercariae (Trematoda: Brachylaimatidae), and migration route of cercariae in the second intermediate host. Iowa State Coll. J. Sc., 27 (1): 91-103.
- 115.- ULMER (M.J.), 1955.- Precociously developed brachylaemid metacercariae within sporocysts. Proc. Iowa Acad. Sc., 61: 631-635.
- 116.- VERICAD (J.R.) & BALCELLS (E.), 1965.- Fauna mastozoológica de las Pitiusas. Bol. R. Soc. Españ. Hist. Nat. (Biol.), 63: 233-264.
- 117.- VILELLA (J.B.), 1953.- The life history of Entosiphonus thompsoni Sinitsin, 1931 (Trematoda: Brachylaematidae). J. Parasit., 39 (4, sect. 2): 20.
- 118.- VILELLA (J.B.), 1953.- The life history of Ectosiphonus rhomboideus Sinitsin, 1931 (Trematoda: Brachylaematidae) from the short-tailed shrew Blarina brevicauda. J. Parasit., 39 (4, sect. 2): 21.
- 119.- VILELLA (J.B.), 1960.- Deroceras laeve a new first intermediate host of Panopistus pricei Sinitsin, 1931 (Trematoda: Brachylaimidae). J. Parasit., 46 (5, sect. 2): 15.
- 120.- YAMAGUTI (S.), 1971.- Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates. Vol. I, 1074 pp. Keigaku Publishing Co., Tokyo.
- 121.- YAMAGUTI (S.), 1975.- A synoptical review of life histories of Digenetic Trematodes of Vertebrates. 590 pp. + 219 pl. Keigaku Publishing Co., Tokyo.