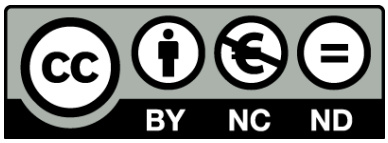
UNIVERSITAT DE BARCELONA

Estudio multidisciplinar de la helmintofauna parásita de *Arvicola scherman, Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*

Roser Adalid Villaronga



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència ***Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons***.

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia ***Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative* Commons**.

This doctoral thesis is licensed under the ***Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License***.

UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

ESTUDIO MULTIDISCIPLINAR DE LA HELMINTOFAUNA PARÁSITA DE *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*

Roser Adalid Villaronga, 2024

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

ESTUDIO MULTIDISCIPLINAR DE LA HELMINTOFAUNA PARÁSITA DE *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*

ROSER ADALID VILLARONGA 2024

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA I CIÈNCIES DE L'ALIMENTACIÓ

Programa de Doctorado: RECERCA, DESENVOLUPAMENT I CONTROL DE MEDICAMENTS

DEPARTAMENT DE BIOLOGIA, SANITAT I MEDI AMBIENT. SECCIÓ DE PARASITOLOGIA

ESTUDIO MULTIDISCIPLINAR DE LA HELMINTOFAUNA PARÁSITA DE *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*

Memoria presentada por Roser Adalid Villaronga para optar al título de doctor por la Universitat de Barcelona

Doctoranda
Roser Adalid Villaronga

Director y tutor
Jordi Miquel Colomé

Director
Màrius Vicent Fuentes Ferrer

ROSER ADALID VILLARONGA 2024

ÍNDICE

Índice I

Resumen 1

Abstract 3

Agradecimientos 5

CAPÍTULO PRIMERO: INTRODUCCIÓN

1. Introducción 11

1.1. Antecedentes de las helmintofaunas de los hospedadores estudiados en la Península Ibérica 11

1.2. Los helmintos parásitos como bioindicadores de contaminación por metales pesados 15

1.2.1. Ecosistemas acuáticos continentales 18

1.2.2. Ecosistemas marinos 21

1.2.3. Ecosistemas terrestres 22

1.3. Interés de los estudios espermatológicos ultraestructurales y estado actual de conocimiento en los digénidos 27

1.4. Objetivos 33

CAPÍTULO SEGUNDO: MATERIAL Y MÉTODOS

2. Material y métodos 37

2.1. Área de estudio 37

2.2. Hospedadores 40

2.2.1. *Arvicola scherman* (Shaw, 1801) 40

2.2.1.1. Caracterización general 40

2.2.1.2. Material analizado 44

2.2.2. *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) 47

2.2.2.1. Caracterización general 47

2.2.2.2. Material analizado 50

2.2.3. *Talpa occidentalis* (Cabrera, 1907) 52

2.2.3.1. Caracterización general 52

2.2.3.2. Material analizado 56

2.3. Captura de los hospedadores 58

2.4. Técnicas helmintológicas 62

2.4.1. Extracción de los helmintos 62

2.4.2. Fijación y conservación de los helmintos 63

2.4.3. Tinción y montaje de los helmintos 64

2.4.4. Identificación definitiva de los helmintos 66

2.5. Métodos estadísticos 67

2.5.1. Factores analizados 67

2.5.2. Estadísticos utilizados 68

2.5.2.1. Terminología 68

2.5.2.2. Índices de diversidad / uniformidad helmintiana 71

2.5.2.3. Distribución de frecuencias 74

2.5.2.4. Frecuencia de distribución del número de especies 75

2.5.2.5. Índice de Abundancia 75

2.5.3. Métodos y técnicas estadísticas 77

2.5.3.1. Datos y pruebas paramétricas y no paramétricas 77

2.5.3.2. Tipos de variables 78

2.5.3.3. Bases de datos 79

2.5.3.4. Software estadístico 80

2.5.3.5. Estadístico de contraste, grados de libertad y significancia estadística 80

2.6. Metodología para el estudio ecotoxicológico 82

2.6.1. Obtención y conservación de las muestras 82

2.6.2. Procesado y mineralización de las muestras..... 83

2.6.3. Análisis y cuantificación de los elementos químicos por ICP-MS 84

2.7. Metodología para el estudio ultraestructural 85

2.7.1. Fijación *in vivo* 85

2.7.2. Deshidratación, infiltración e inclusión..... 87

2.7.3. Microtomía y ultramicrotomía..... 88

2.7.4. Contrastado y observación al microscopio electrónico de transmisión..... 89

2.7.5. Técnica de Thiéry 90

CAPÍTULO TERCERO: RESULTADOS

3. Resultados 95

3.1. Encuadre sistemático de los helmintos..... 95

3.2. Binomías de los helmintos 98

TREMATODA

Ityogonimus lorum (Dujardin, 1845)..... 101

Ityogomimus ocreatus (Goeze, 1782)..... 104

CESTODA

Paranoplocephala omphalodes (Hermann, 1783) 109

Kontrimavichusia asymmetrica (Janicki, 1904)..... 112

Hydatigera taeniaeformis (Batsch, 1786) larvae..... 114

NEMATODA

Aonchotheca wioletti (Ruchljadeva, 1950)..... 123

Capillaria talpae (Siebold, 1850)..... 125

Eucoleus bacillatus (Eberth, 1863) 127

Liniscus incrassatus Diesing, 1851 131

Trichuris arvicolae Feliu, Šparkulová, Casanova, Renaud, Morand, Hugot, Santalla & Durand, 2000 134

Trichuris feliui Ribas & Casanova, 2004 137

Heligmosomum costellatum (Dujardin, 1845) 139

Carolinensis minutus (Dujardin, 1845) 142

Tricholinstowia sp. 145

Spirura talpae (Gmelin, 1790) 148

Syphacia nigeriana Baylis, 1928 151

Porrocaecum sp. larvae 154

ACANTOCEPHALA

Moniliformis sp. 159

Plagiorhynchus (*Prosthorhynchus*) sp. larvae 163

3.3. Estructura de las helmintofaunas 167

3.3.1. *Arvicola scherman* 167

3.3.2. *Microtus lusitanicus* 171

3.3.3. *Talpa occidentalis* 176

3.4. Análisis estadístico y ecológico de las helmintofaunas halladas 180

3.4.1. *Arvicola scherman* 180

3.4.2. *Microtus lusitanicus* 184

3.4.3. *Talpa occidentalis* 189

3.5. Estudio ecotoxicológico del binomio *Talpa occidentalis* / *Ityogonimus* spp. 192

3.6. Estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus* 197

CAPÍTULO CUARTO: DISCUSIÓN

4. Discusión 205

4.1. Con relación a los estudios faunísticos y ecológicos de los hospedadores estudiados 205

4.1.1. *Arvicola scherman* 205

4.1.2. *Microtus lusitanicus* 212

4.1.3. *Talpa occidentalis* 218

4.2. Con relación al estudio ecotoxicológico del binomio *Talpa occidentalis* / *Ityogonimus* spp. 222

4.3. Con relación al estudio ultraestructural 226

4.3.1. Axonemas. 226

4.3.2. Ornamentación externa de la membrana plasmática 228

4.3.3. Microtúbulos corticales. 229

4.3.4. Cuerpos espinosos. 230

4.3.5. Mitocondria. 231

4.3.6. Extremidad posterior del espermatozoide. 232

4.3.7. Modelo de espermatozoide. 233

CAPÍTULO QUINTO: CONCLUSIONES

5. Conclusiones 237

Bibliografía 243

Anexo de publicaciones

Adalid, R, Torres, J., Miñarro M., Fuentes, M.V. & Miquel, J. (2018). First finding of *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* co-infection in the Iberian mole, *Talpa occidentalis*. *Acta Parasitologica*, 63: 835-838. https://doi.org/10.1515/ap-2018-0102 319

Adalid, R., Torres, J., Miñarro, M., Miquel, J., Fuentes, M.V. & Eira, C. (2019). Mercury, lead and cadmium concentrations in *Talpa occidentalis* and in their digeneans of the genus *Ityogonimus*. *Acta Parasitologica*, 64: 464-470. https://doi.org/10.2478/s11686-019-00089-x 323

Adalid, R., Torres, J., Fuentes, M.V. & Miquel, J. (2021). First spermatological data on the digenean genus *Ityogonimus* derived from the description of sperm characters of *Ityogonimus ocreatus* (Brachylaimidae: Ityogoniminae). *Tissue and Cell*, 72: 101541. https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101541 331

Adalid, R., Feliu, C., Somoano, A., Miñarro, M., Ventura, J., Torres, J., Miquel, J. & Fuentes, M.V. (2021). Ecological análisis of the helminth community of *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) in Asturias (NW Spain). *Animals*, 11: 3055. https://doi.org/10.3390/ani11113055..... 339

RESUMEN

Se realiza un estudio multidisciplinar relacionado con los helmintos parásitos de *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*, procedentes de diferentes localidades de Asturias (España). Este estudio consiste en el análisis faunísitico y ecológico de las comunidades de helmintos hallados en cada especie hospedadora, el estudio ecotoxicológico del binomio *T. occidentalis / Ityogonimus* spp. y el estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*.

Se analizaron 815 ejemplares de *A. scherman,* hallándose un total de 6 especies de helmintos, 1 cestodo y 5 nematodos. Las especies fueron *Hydatigera taeniaeformis* larvae, *Aonchotheca wioletti*, *Eucoleus bacillatus*, *Trichuris arvicolae*, *Carolinensis minutus* y *Syphacia nigeriana*. De todas ellas, únicamente las 4 especies más prevalentes (*H. taeniaeformis* larvae*, T. arvicolae*, *C. minutus* y *S. nigeriana*) se consideraron para el estudio ecológico. Las prevalencias, los valores de la riqueza de especies y los índices de diversidad calculados fueron bajos. Los factores analizados para el estudio ecológico fueron la edad y el sexo del hospedador y la estación y el año de captura. *Hydatigera taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y *C. minutus* únicamente se vieron influenciadas por la edad del hospedador, mientras que *S. nigeriana* lo estuvo por la edad del hospedador y por el año y la estación de captura.

Los ejemplares analizados de *M. lusitanicus* fueron 710 y se hallaron 8 especies de helmintos parásitos, 4 cestodos (larva cisticercoide, *H. taeniaeformis* larvae, *Paranoplocephala omphalodes* y *Kontrimavichusia asymmetrica*) y 4 nematodos (*T. arvicolae*, *C. minutus, Heligmosomum costellatum* y *S. nigeriana*). Las prevalencias de las especies halladas, así como los valores de riqueza de especies y los índices de diversidad calculados fueron bajos. Se analizaron los mismos factores que en *M. lusitanicus* para el estudio ecológico con las especies más prevalentes (*H. taeniformis* larvae, *T. arvicolae, C. minutus, H. costellatum* y *S. nigeriana*). *Hydatigera taeniaeformis* larvae y *T. arvicolae* se vieron influenciadas por la edad del hospedador, *C. minutus* por la edad del hospedador y por el año y la estación de captura y *S. nigeriana* por la estación y el año de captura.

De *T. occidentalis* se analizaron 104 ejemplares, hallándose un total de 10 especies: 2 trematodos (*Ityogonimus lorum* e *Ityogonimus ocreatus*), 6 nematodos (*Capillaria talpae*, *Liniscus incrasatus*, *Trichuris feliui*, *Tricholinstowia* sp., *Spirura talpae* y *Porrocaecum* sp. larvae) y 2 acantocéfalos (*Monliliformis* sp. y *Plagiorhynchus* sp. larvae). Las prevalencias obtenidas, así como los valores de riqueza de especies y los índices de diversidad fueron bajos. Para el estudio ecológico se analizaron los mismos factores que en los hospedadores anteriores con las especies más prevalentes (*Ityogonimus* spp., *C. talpae* y *L. incrasatus*). No se hallaron influencias de dichos factores sobre las especies.

El estudio ecotoxicológico consistió en analizar las concentraciones de 3 metales pesados: mercurio, plomo y cadmio en muestras de tejidos de *T. occidentalis* y de sus parásitos *Ityogonimus* spp. Los tejidos analizados del hospedador fueron hígado y riñón de ejemplares parasitados y no parasitados por estos digénidos. No se detectaron diferencias significativas entre las concentraciones de estos metales entre las diferentes muestras. Los valores de bioconcentración indican que este binomio es un buen modelo como bioindicador de contaminación por mercurio y plomo.

En cuato al estudio ultraestructural, el espermatozoide de *I. ocreatus* está formado por 2 axonemas desiguales con la estructura típica 9+'1' de los platelmintos Trepaxonemata, 2 haces de microtúbulos corticales, con un número máximo de 45 microtúbulos, una mitocondria filiforme, ornamentación externa asociada a microtúbulos corticales, cuerpos espinosos y el núcleo. Además, presenta gránulos de glucógeno. La secuencia de desaparición de caracteres hacia el extremo posterior es la siguiente: primer axonema, mitocondria, microtúbulos corticales, núcleo y segundo axonema.

Palabras clave: *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus*, *Talpa occidentalis*, helmintofauna, ecología parasitaria, ecotoxicología, parasitología ambiental, ultraestructura, espermatozoide, Asturias

ABSTRACT

815 specimens of *Arvicola scherman*, 710 of *Microtus lusitanicus* and 104 of *Talpa occidentalis* from Asturias, Northwestern Spain were analysed.

In *A. scherman* 6 species of helminth parasites were detected: 1 cestode (*Hydatigera taeniaeformis* larvae) and 5 nematodes (*Aonchotheca wioletti*, *Eucoleus bacillatus*, *Trichuris arvicolae*, *Carolinensis minutus* and *Syphacia nigeriana*). In *M. lusitanicus* 8 species were detected: 4 cestodes (1 cistycercoid non identified larva, *H. taeniaeformis* larvae, *Paranoplocephala omphalodes* and *Kontrimavichusia asymmetrica*) and 4 nematodes (*T. arvicolae*, *C. minutus*, *Heligmosomum costellatum* and *S. nigeriana*). In *T. occidentalis* 9 species were detected: 2 digenean trematodes (*Ityogonimus lorum* and *Ityogonimus ocreatus*), 6 nematodes (*Capillaria talpae*, *Liniscus incrasatus*, *Trichuris feliui*, *Tricholinstowia* sp., *Spirura talpae* and *Porrocaecum* sp. larvae) and 2 acanthocephalans (*Moniliformis* sp. and *Plagiorhynchus* sp. larvae).

The three studied communities showed low values for prevalences, richness species and diversity indexes. The effect of age and sex host and season and year of capture were analysed in the most prevalent species of each host species. Host age, season and year of capture influenced in some parasite species; no effect of sex was detected in any of the studied species.

The concentrations of three heavy metals (mercury, lead and cadmium) were analysed in the tissues of *Ityogonimus* spp. and in samples of liver and kidney from *T. occidentalis* infected and non-infected by these digeneans. No stadistic differences were detected between the concentrations of heavy metals between the different samples. The values of the bioconcentration factor showed that this binomy is a valid model as bioindicator for mercury and lead.

The spermatozoa of *I. ocreatus* was studied by transmission electronic microscopy. It has 2 axonemes of the 9+'1' trepanonematan pattern, 2 bundles of cortical microtubules with a maximum number of 45 microtubules, external ornamentation associated with cortical microtubules, spine-like bodies, one mitochondrion, nucleus and glycogen granules. The transition of characters towards the posterior spermatozoon tip is as follows: first axoneme, mitochondrion, cortical microtubules, nucleus and second axoneme.

Key words: *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus*, *Talpa occidentalis*, helminthfauna, parasite ecology, ecotoxicology, environmental parasitology, ultrastructure, spermatozoon, Asturias

AGRADECIMIENTOS

La preparación de esta tesis ha comportado la participación de diferentes personas e instituciones para poder desarrollarla, así que creo oportuno mostrar mi agradecimiento a todas ellas.

En primer lugar, quiero agradecer al Profesor Dr. Carlos Feliu por ser el artífice de esta tesis, por introducirme en este mundo de la Parasitología, para mí muy desconocido hasta ese momento. Gracias por todo tu apoyo y tu ayuda para poder realizar esta tesis, sin tus ánimos no me habría atrevido a hacerla.

También quiero expresar mis agradeciemientos a mis directores de tesis los Profesores Dr. Jordi Miquel y Dr. Màrius V. Fuentes Ferrer por todo su apoyo y ayuda para poder realizar esta tesis. Además, quiero agradecerte Jordi por introducirme en el campo de los estudios ultraestructurales y enseñarme el uso de un microscopio electrónico de transmisión, hasta aquel momento todo lo que sabía eran conocimientos teóricos de la carrera de Biología, sin poder haber utilizado nunca uno. Y a ti Màrius, por toda tu ayuda y explicaciones relacionadas con la parte estadística y faunística, por asesorarme en todo momento a pesar de la distancia. Muchas gracias a los dos.

No quiero olvidarme del Dr. Jordi Torres por su ayuda en la parte de Ecotoxicología y por todas sus explicaciones relacionadas con la Parasitología Ambiental, la cual me ha interesado mucho.

Agradezco todo el apoyo del resto de profesorado de la Secció Departamental de Parasitologia del Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, tanto los presentes como los que nos han dejado. A mis compañeros Carme Guillén, Silvia Tebar y Albert Duarte por su apoyo y animarme en todo

momento. A mi compañero de doctorado el Dr. Xevi Roca por todas las conversaciones y risas en el laboratorio.

También quiero agradecer a quien se ha convertido en mi mejor amiga, la Dra. Carla Godínez. Gracias por todas las comidas juntas, por todas las risas que nos hemos pegado, por las chelas de los viernes después de salir del laboratorio, por todas las charlas que tuvimos, por convertirte en mi confindente y por estar a mi lado en uno de los momentos más difíciles de mi vida.

También quiero mencionar a todo el personal del SERIDA y especialmente al Dr. Marcos Miñarro y al Dr. Aitor Somoano. Sin vuestra ayuda esta tesis no hubiera sido posible al cedernos las vísceras de los ejemplares que capturasteis. Tampoco olvidar vuestra indispensable ayuda y consejos para poder capturar los ejemplares que utilizamos en el estudio ultraestructural durante los días que estuvimos en Asturias.

Quiero expresar mi agradecimiento a todo el personal de los Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona, de la Unitat de Microscopia electrónica del Campus Clínic y de la Unitat de Química, por toda su ayuda en el procesado de las muestras para microscopía electrónica y para ecotoxicología y por sus consejos.

No quiero olvidarme de todo el personal de la Facultat d'Infermeria por todo su apoyo en estos años; y de todas las becarias que han estado conmigo desde que estoy trabajando en la Facultat d'Infermeria, Ana, Helena, Lorena, Andrea, Gisela i Chaimaa, por vuestra paciencia y comprensión en los días complicados.

Quiero recordar a mis padres, aunque no estén presentes. Os quiero dar las gracias por ayudarme a ser la perona en la que me he convertido, por enseñarme el valor del esfuerzo y del trabajo para conseguir mis objetivos y

por una infinidad de muchas otras cosas que harían la lista interminable. Me hubiera gustado que hubierais podido estar en este día y sé que os hubiera hecho mucha ilusión a los dos, aunque tú papa ya no pudistes saber que haría un doctorado; pero estáis en mi corazón, así que de alguna manera también estáis aquí.

A toda mi familia por vuestros ánimos en todos estos años que ha durado la tesis, por vuestro interés y apoyo de manera incondicional, muchas gracias.

Y por último quiero agredecer a Fer, mi compañero de vida, por toda la paciencia que has tenido estos años, por tu apoyo incondicional en todo momento, por animarme a seguir con la tesis a pesar de todos mis problemas de salud o cuando falleció mi madre y por estar junto a mí en todo momento. Quiero darte las gracias por sacrificar vacaciones y fines de semana para poder realizar esta tesis.

CAPÍTULO PRIMERO

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

En este primer capítulo se abordan los antecedentes al respecto de los estudios de las helmintofaunas de las tres especies de micromamíferos objeto de análisis en la presente memoria, así como el interés y precedentes existentes en el análisis de metales pesados en diversos hospedadores y en los estudios ultraestructurales del espermatozoide en los digénidos.

1.1. ANTECEDENTES DE LAS HELMINTOFAUNAS DE LOS HOSPEDADORES ESTUDIADOS EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

1.1.1. *Arvicola scherman* (Shaw, 1891)

La helmintofauna de *Arvicola scherman* como tal no ha sido estudiada previamente en la Península Ibérica. No obstante, sí que existen datos anteriores de *Arvicola terrestris* en España, que se podrían atribuir a *A. scherman* dada la naturaleza hipogea de los individuos que analizaron Feliu et al. (1997). En este estudio, los autores analizaron ejemplares de varias especies de micromamíferos capturados durante 17 años en diferentes provincias de España, aunque nos centraremos sólo en las especies objeto de estudio en la presente tesis doctoral. Las capturas de *A. scherman* se realizaron en las provincias de Burgos, Cantabria, León, Lleida, Lugo y Palencia . Se hallaron un total de 10 helmintos que correspondían a 4 cestodos y 6 nematodos. Las especies encontradas fueron los cestodos *Hydatigera taeniaeformis* (=*Taenia taeniaeformis*) larvae, *Anoplocephaloides dentata*, *Paranoplocephala omphalodes* y *Arostrilepis horrida* (=*Hymenolepis horrida*) y los nematodos *Trichuris* sp., *Aonchoteca wioletti*, *Eucoleus bacillatus*, *Heligmosomoides laevis*, *Heligmosomoides glareoli* y *Syphacia nigeriana*.

1.1.2. *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879)

Los precedentes de estudios sobre la helmintofauna de *Microtus lusitanicus* en la Península Ibérica, como en el caso de *A. scherman*, son también escasos.

Uno de ellos fue el realizado por Feliu et al. (1997), para este hospedador las capturas se realizaron en las provincias de Álava, Asturias, Ávila, Burgos, Cantabria, Huesca, La Rioja, León, Lugo, Madrid, Orense, Palencia, Pontevedra, Segovia, Soria, Teruel y Vizcaya. Hallaron un total de 12 especies de parásitos, de las cuales 1 correspondía a un trematodo digénido, 5 fueron cestodos y 6 fueron nematodos (Tabla 1).

En otro estudio posterior, Feliu et al. (2009) hicieron capturas de *M. lusitanicus* desde 1972 hasta 2006 en 42 localidades diferentes. Los ejemplares procedían de las provincias de Álava, Asturias, Ávila, Burgos, Huesca, La Rioja, León, Lugo, Madrid, Orense, Palencia, Pontevedra, Santander, Segovia, Soria, Vizcaya y Zaragoza. Encontraron 12 especies de parásitos diferentes: 1 trematodo digénido, 6 cestodos y 5 nematodos (Tabla 1).

En este mismo trabajo también realizaron un análisis ecológico con 239 individuos capturados entre 1994 y 2006 en Matarrosa del Sil (provincia de León). La riqueza de especies parásitas fue de una especie en la mayoría de los casos. Si había más de una especie, el número más frecuente era dos, siendo el máximo de tres especies. Las parejas más habituales cuando había dos especies de parásitos fueron *S. nigeriana / P. omphalodes, S. nigeriana / H. laevis* y *S. nigeriana / Trichuris arvicolae*. En el caso de los ejemplares con tres especies los grupos fueron *S. nigeriana / P. omphalodes / T. arvicolae* y *S. nigeriana / P. omphalodes / H. laevis.*

Los factores que analizaron fueron la edad y el sexo de los individuos capturados, y la temperatura y la precipitación como factores ambientales. Las abundancias de las especies *H. laevis y Taenia tenuicollis* larvae fueron significativas para la temperatura. Para la pluviosidad, mostraron diferencias significativas *S. nigeriana*, *A. horrida* (=*H. horrida*), *H. laevis* y *T. tenuicollis* larvae.

Tabla 1. Especies de helmintos halladas en *M. lusitanicus* en los estudios previos de Feliu et al.

	Feliu et al. (1997)	Feliu et al. (2009)
Trematoda		
Notocotylus neyrai	X	X
Cestoda		
Taenia tenuicollis larvae	X	X
Taenia polyacantha larvae	X	
Hydatigera taeniaeformis (=*Taenia taeniaeformis*) larvae		X
Anoplocephaloides dentata	X	X
Paranoplocephala omphalodes	X	X
Mesocestoides sp.	X	X
Arostrilepis horrida (=*Hymenolepis horrida*)		X
Nematoda		
Trichuris arvicolae		X
Trichuris sp.	X	
Mastophorus muris	X	X
Heligmosomoides laevis	X	X
Heligmosomum costellatum	X	X
Syphacia nigeriana	X	X
Aspiculuris sp.	X	

1.1.3. *Talpa occidentalis* (Cabrera, 1907)

Los precedentes sobre estudios helmintofaunísticos o helmintoecológicos de este tálpido son escasos. Alvárez et al. (1991) estudiaron la helmintofauna de *Talpa occidentalis* en Galicia, hallando un total de 9 especies de helmintos parásitos, aunque algunas de ellas no fueron identificadas a nivel específico (Tabla 2).

Por su parte, Casanova (1993) hizo un amplio estudio de la helmintofauna del tálpido en España. Así, analizó 221 ejemplares de esta especie capturados en las provincias de Asturias, Ávila, Cáceres, Cádiz, Cantabria, Granada,

Guadalajara, Jaén, La Coruña, La Rioja, León, Lugo, Madrid, Málaga, Orense, Palencia, Salamanca, Sevilla, Soria, Toledo y Zamora. Encontró un total de 13 especies de helmintos parásitos, de las cuales 3 eran trematodos, 1 era un cestodo, 8 eran nematodos y 1 era un acantocéfalo (Tabla 2).

Tabla 2. Helmintofauna de *T. occidentalis* según los estudios de Álvarez et al. (1991), Casanova (1993) y Ribas et al. (2007).

	Álvarez et al. (1991)	Casanova (1993)	Ribas et al. (2007)
Trematoda			
Ityogonimus lorum	X	X	X
Ityogonimus ocreatus		X	
Omphalotrema flexuosa		X	X
Cestoda			
Multitesticulata filamentosa (=*Choanotaenia filamentosa*)	X	X	X
Cestoda gen. sp.	X		
Nematoda			
Soboliphyme hirudiniformis		X	
Soboliphyme occidentalis			X
Capillaria sp. aff. *talpae*		X	
Liniscus capillaris		X	X
Aonchotheca europaea		X	
Parastrongyloides winchesi	X	X	X
Porrocaecum sp. larvae	X	X	
Spirura talpae		X	X
Tricholinstowia linstowi			X
Tricholinstowia mornanti		X	X
Ascariidae gen. sp. larvae	X		
Capillariinae gen. sp. larvae	X		
Nematoda gen. sp.	X		
Acantocephala			
Moniliformis spiralis	X		
Moniliformis sp.		X	X

Finalmente, Ribas et al. (2007) estudiaron la helmintofauna de *Talpa europaea* y *T. occidentalis* en España. Entre los años 1986 y 2002 capturaron un total de 154 ejemplares de *T. occidentalis* procedentes de diferentes provincias españolas. Hallaron un total de 10 especies parásitas (2 trematodos, 1 cestodo, 6 nematodos y 1 acantocéfalo) (Tabla 2).

1.2. LOS HELMINTOS PARÁSITOS COMO BIO-INDICADORES DE CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS

La **Ecotoxicología** es una rama de aparición reciente dentro del amplio campo de la Toxicología. Se encarga de evaluar adecuadamente los efectos negativos que pueden ejercer las más de 45.000 sustancias químicas que están presentes en el medio ambiente. Muchas de ellas son atóxicas, algunas tienen efectos tóxicos limitados y otras pueden llegar a ser altamente peligrosas para los seres vivos y los ecosistemas debido a diferentes reacciones de biotransformación o acumulación (Jurado, 1989). Para conseguir su objetivo, los estudios ecotoxicológicos requieren de una metodología que permita evaluar el estado toxicológico de los ecosistemas basándose en la observación cualitativa y/o cuantitativa de los efectos causados por los agentes químicos en los organismos vivos (Lagadic et al., 1998). Así, esta biomonitorización proporciona información sobre las relaciones entre las condiciones ambientales y los seres vivos (Moreno, 2003).

Los metales pesados son un grupo de elementos potencialmente tóxicos que siempre han estado presentes de forma natural en los ecosistemas, si bien, como consecuencia de la actividad humana, algunos de ellos están aumentando (Retief et al., 2009). Desde el punto de vista biológico los elementos químicos pueden clasificarse en: esenciales (hierro, níquel, cobre y zinc, entre otros) que son necesarios para el metabolismo de los organismos vivos; y no esenciales (por ejemplo, plomo, mercurio y cadmio) que son tóxicos, aunque se encuentren a nivel de trazas, sin una función biológica conocida (Gkretsi et al., 2007; Wakawa et al., 2008), pudiendo actuar además como disruptores endocrinos (ver

la revisión de Chakraborty, 2021). Además, dichos elementos tóxicos pueden estar biodisponibles y persistir durante mucho tiempo en los ecosistemas (Mitkovska et al., 2020).

Para poder visualizar el estado de salud de los ecosistemas se utilizan organismos bioindicadores (Newman, 2019). Una especie bioindicadora es aquella que refleja impactos ambientales con cambios en su número de individuos, en su fisiología o en su composición química (Sures, 2003). Habitualmente se utilizan macrófitos, fitoplancton, invertebrados y peces en los ecosistemas acuáticos (Burger, 2006; Vardanyan et al., 2008) y roedores en los terrestres (ver por ejemplo Sánchez-Chardi & Nadal, 2007; Sánchez-Chardi et al., 2007, 2009; Torres et al., 2011). También se ha demostrado que los parásitos pueden ser buenos bioindicadores, principalmente para metales pesados (ver por ejemplo Sures, 2001, 2003, 2004; Sures et al., 2017; Sures & Nachev, 2022). Los parásitos pueden ser bioindicadores por efecto o por acumulación (Sures, 2001). Los primeros sufren cambios fisiológicos, moleculares, funcionales o sobre sus tamaños poblacionales. Los bioindicadores de acumulación u organismos centinela pueden acumular sustancias presentes en el ecosistema en sus tejidos a concentraciones muy superiores a las que se encuentran en el medio ambiente (Sures, 2003).

La **Parasitología ambiental** estudia el uso de los parásitos como bioindicadores para conocer el estado de salud de los ecosistemas (Nachev & Sures, 2016; Sures et al., 2017; Sures & Nachev, 2022). De acuerdo con Sures (2003), los parásitos deben tener las siguientes características para poder ser considerados organismos centinelas:

a) ser abundantes y con una amplia distribución;
b) ser fácilmente identificables;
c) poseer un tamaño suficientemente grande para poder conseguir suficiente tejido para su análisis químico;
d) ser sésiles o con un hábitat bien establecido;
e) presentar una vida larga y poder determinar su edad con facilidad;
f) y poseer una fisiología bien conocida que incluya los efectos de la edad, del tamaño, del estado de desarrollo y de la actividad reproductora sobre la asimilación del contaminante.

De acuerdo con Kennedy (1997) el uso de los parásitos como bioindicadores ambientales tiene desventajas sobre los organismos de vida libre. Se debe a que están influenciados por:

a) el metabolismo o el nivel de defensas del hospedador, ya sea directa o indirectamente;
b) la distribución de los hospedadores intermediarios o definitivos;
c) la dispersión o agregación de los parásitos en el medio ambiente;
d) la variación de la densidad y diversidad de los parásitos a lo largo del espacio y del tiempo;
e) la falta de información de las respuestas fisiológicas de los parásitos a los contaminantes.

Los parásitos viven en sus hospedadores y los usan como fuente de alimento, interactuando con el metabolismo de los hospedadores. Pueden verse afectados por cambios en la fisiología de sus hospedadores o por sustancias presentes en su dieta (Palm, 2011). La contaminación puede provocar un aumento del parasitismo cuando los mecanismos de defensa de sus hospedadores se vean afectados negativamente, por un aumento de la susceptibilidad del hospedador o por un aumento de las densidades poblaciones de los hospedadores intermediarios o finales adecuados (Lafferty & Kuris, 1999). Pero también puede provocar una disminución debido a que los hospedadores infestados sufran más con la exposición que los libres de parásitos, a que los parásitos sean más sensibles a un determinado contaminante que sus hospedadores o a que la contaminación provoque la desaparición de los hospedadores intermediarios y finales (Rosenberg & Resh, 1993).

Para poder estimar la contaminación ambiental por metales pesados, en base a los niveles detectados en los tejidos de los parásitos, es necesario determinar experimentalmente la ratio entre las concentraciones de metales en el parásito en equilibrio y las concentraciones donde se han expuesto a los contaminantes. En la práctica, el mismo sistema hospedador-parásito puede servir como mecanismo para evaluar los niveles de metales pesados. Esta ratio se denomina Factor de Bioconcentración (FB) y se calcula como la relación entre la concentración de un determinado elemento en los tejidos del parásito respecto a la concentración en los tejidos del hospedador (Sures et al., 1999).

$$FB = \frac{C_{[parásitos]}}{C_{[tejido\ hospedador]}}$$

Se han hecho estudios con acantocéfalos, cestodos, nematodos y digénidos (ver, por ejemplo, las revisiones de Sures, 2001, 2004; Torres et al., 2012; Nachev & Sures, 2016; Sures et al., 2017; Biswal & Chatterjee, 2020; Mehana et al., 2020). De todos ellos, acantocéfalos y cestodos son los que presentan la mayor capacidad de bioacumulación de metales pesados (Sures, 2004; Nachev et al., 2013; Sures et al., 2017). Como todos ellos son principalmente endoparásitos, y por tanto sin contacto directo con el medio ambiente, la interacción con los contaminantes se produce a través de sus hospedadores (Sures et al., 2017). En los peces que viven en aguas continentales la entrada de estos metales se produce principalmente por las branquias, el sistema circulatorio y la circulación enterohepática (Sures & Siddal, 1999). En los ecosistemas marinos los principales mecanismos de entrada de los metales u otros contaminantes en los peces se debe a la dieta y al agua que utilizan para la osmorregulación (Nachev & Sures, 2016). En los ecosistemas terrestres parece que la alimentación es la principal fuente de entrada de los metales en los organismos, más que la acumulación directa a través del medio ambiente (Sures et al., 2000a, 2000b; Torres et al., 2011; Lotfy et al., 2013).

A continuación, en tres subapartados vamos a reseñar (sin querer ser exhaustivos) los precedentes de estudios de esta índole, resaltando sólo algunos a título de ejemplo.

1.2.1. ECOSISTEMAS ACUÁTICOS CONTINENTALES

A nivel de ecosistemas acuáticos de aguas continentales existen numerosos estudios sobre acantocéfalos y cestodos. Sobre nematodos y digénidos hay menos estudios, sobretodo de éstos últimos (Sures et al., 2017).

Con relación a los **acantocéfalos** parásitos de peces se han publicado un gran número de estudios que evalúan la capacidad de acumular metales pesados (Sures et al., 1994a, 1999, 2003a; Galli et al., 1998; Zimmermann et al., 1999; Schludermann et al., 2003; Thielen et al., 2004; Nachev et al., 2010, 2013; Jankovská et al., 2011, 2012a, 2012b; Brázová et al., 2012, 2015; Filipović Marijić

et al., 2013, 2014; Paller et al., 2016; Mijošek et al., 2020). Sures et al. (1999) analizaron el binomio *Pomphorrhynchus laevis* / *Squalius cephalus* a nivel experimental y observaron que *P. laevis* era capaz de concentrar algunos metales pesados (cadmio y plomo) a concentraciones muy superiores a las detectadas en los tejidos del pez. Además, los niveles de metales pesados eran más bajos en los tejidos de los hospedadores parasitados que en los no parasitados. Este mismo binomio fue analizado por Filipović Marijić et al. (2013) en un estudio de campo llevado a cabo en el río Sava (Croacia), obteniendo resultados similares a los de Sures et al. (1999). Detectaron que este acantocéfalo era capaz de acumular cadmio, cobre, manganeso, plata y plomo a concentraciones más elevadas que las de los tejidos de *S. cephalus*. También observaron que las concentraciones de cadmio, cobre y plomo eran más bajas en los tejidos de los *S. cephalus* parasitados que en los no parasitados. Paller et al. (2016) estudiando el binomio *Acanthogyrus* sp. / *Oreochromis niloticus* en el lago Sampoloc (Filipinas), y analizando el plomo como contaminante, observaron que las concentraciones de este metal eran más altas en el acantocéfalo que en los tejidos de los peces, tanto parasitados como no parasitados. Estadísticamente, las diferencias en las concentraciones de este metal en los tejidos de los peces infestados resultaron ser significativamente más bajas que en los tejidos de los peces no infestados.

Con relación a los **cestodos** también hay numerosos estudios (Sures et al., 1997, 1999; Tenora et al., 2000; Tekin-Özar & Kir, 2005, 2008; Retief et al., 2006; Jirsa et al., 2008; Eira et al., 2009; Oyoo-Okoth et al., 2010; Baruš et al., 2012; Brázová et al., 2012, 2015; Yen et al., 2013; Abdel-Gaber et al., 2016, 2017; Erasmus et al., 2020). El binomio *Bathybothrium rectangulum* / *Barbus barbus* fue estudiado por Baruš et al. (2012) en la República Checa, analizando las concentraciones de plomo, cadmio, níquel y cromo en el parásito y en el tejido muscular de los peces, tanto en ejemplares parasitados como no parasitados. Dichos investigadores vieron que *B. rectangulum* era capaz de acumular plomo, níquel y cromo, siendo las concentraciones de estos mismos en los hospedadores parasitados más bajas que en los no parasitados. Otro binomio analizado fue *Polyonchobothrium clarias* / *Clarias gariepinus* en el lago Manzala (Egipto) (Abdel-Gaber et al., 2016). En este estudio las concentraciones de los

metales analizados (zinc, cobre, manganeso, níquel, plomo y cadmio) fueron más altas en *C. gariepinus* que en sus hospedadores. Nuevamente detectaron que las concentraciones de metales fueron más bajas en los hospedadores infestados que en los no infestados. Erasmus et al. (2020), en un estudio experimental con peces (*Cyprinus carpio*) procedentes del río Hex (Sud África) infestados experimentalmente con *Atractolytocestatus huronensis,* encontraron que este cestodo concentraba más metales (cromo, níquel y plomo) que sus hospedadores, aunque sin detectar diferencias significativas entre las concentraciones de estos metales entre los peces parasitados y los no parasitados.

En el caso de los **nematodos** hay pocos estudios sobre ellos en aguas continentales (Sures et al., 1994b; Tenora et al., 1999, 2000; Zimmermann et al., 1999; Baruš et al., 2001, 2007; Genc et al., 2008; Eira et al., 2009; Nachev et al., 2013; Otachi et al., 2014; Hursky & Pietrock, 2015; Akinsanya & Kuton, 2016; Abdel-Gaber et al., 2017; Leite et al., 2017; Erasmus et al., 2020). Los resultados obtenidos sobre su capacidad de bioconcentración son inconcluyentes o se considera que tienen poca capacidad de acumulación (Sures, 2004; Eira et al., 2009; Otachi et al., 2014). Zimmermann et al. (1999), en un estudio experimental con *Anguilla anguilla* y su nematodo parásito *Anguillicola crassus*, observaron que las concentraciones de plomo en el parásito eran más bajas que las detectadas en los tejidos de los hospedadores. En cambio, Baruš et al. (2007), estudiando el binomio *Philometra ovata* / *Gobio gobio* a partir de ejemplares capturados en el río Rokytná (República Checa), sí que detectaron que el nematodo era capaz de bioacumular cromo. Los niveles de cromo detectados en el parásito fueron más de 100 veces superiores a los detectados en los tejidos del gobio. También hallaron diferencias significativas en las concentraciones de cromo en los tejidos de los gobios infestados y los no infestados, siendo más bajas en los primeros.

Con relación a los **digénidos**, los estudios realizados son muy escasos (Sures et al., 2017). Akinsanya & Kuton (2016) estudiaron la capacidad de bioconcentración de *Siphodera* sp. como parásito de *Chrysichthys nigrodigitatus* en la laguna Lekki (Nigeria). Los metales pesados que se analizaron en dicho estudio fueron plomo, hierro, zinc, cadmio y manganeso. De todos ellos,

únicamente el zinc fue bioconcentrado por el digénido, siendo las concentraciones de este metal más bajas en los peces infestados que en los no infestados.

1.2.2. ECOSISTEMAS MARINOS

Los estudios del uso de los parásitos intestinales como bioindicadores en aguas marinas son mucho menores con relación a los de aguas continentales (Mazhar et al., 2014; Nachev & Sures, 2016). Los principales grupos de parásitos estudiados son los cestodos y los nematodos (Nachev & Sures, 2016).

Hay muy pocos estudios con **acantocéfalos** (Sures & Reimann, 2003). Estos autores analizaron diferentes metales en los tejidos de *Aspersentis megarhynchus* y de *Notothenia coriiceps*. Detectaron que las concentraciones eran más altas en el acantocéfalo (*A. megarhynchus*) que en los tejidos del hospedador (*N. coriiceps*). Además, parece que la capacidad de bioconcentrar contaminantes por parte de los acantocéfalos marinos era similar a los estudiados en agua continentales.

En relación con los **cestodos**, existen más publicaciones sobre su capacidad de bioconcentrar metales pesados (Sures et al., 1997; Baruš et al., 2000; Malek et al., 2007; Azmat et al., 2008; Golestaninasab et al., 2014; Mendes et al., 2013; Torres et al., 2015; Courtney-Hogue, 2016; Morris et al., 2016; Hassan et al., 2018). Por ejemplo, Malek et al. (2007), tras analizar los niveles de cadmio y plomo en los tejidos del elasmobranquio *Carcharius dussumieri* y en sus parásitos *Antobothrium* sp. y *Paraorigmatobothrium* sp. pudieron constatar que las concentraciones de estos metales pesados eran más altos en los cestodos que en los peces.

Los **nematodos** son el grupo más estudiado (Szefer et al., 1998; Pascual & Abollo, 2003; Azmat et al., 2008; Dural et al., 2010, 2011; Khaleghzadeh-Ahangar et al., 2011; Morsy et al., 2012; Amini et al., 2013; Mazhar et al., 2014; Abdel-Ghaffar et al., 2015; Morris et al., 2016; Hassan et al., 2018). A título de ejemplo, Dural et al. (2011) analizaron la concentración de metales pesados de *Spaurus aurata* y de su parásito *Hysterothylacium aduncum* en la costa de Turquía (Mar Mediterráneo) y detectaron concentraciones de cadmio, cobre y

plomo más altas en los parásitos que en los tejidos de los hospedadores. También encontraron que los tejidos de los peces parasitados tenían concentraciones más bajas de cadmio, cobre, mercurio y plomo que los hospedadores no parasitados.

Sobre los **digénidos** hay pocos estudios. Tan sólo destacar el estudio de Torres et al. (2014) que analizaron los niveles de selenio y mercurio en dos modelos *Sarpa salpa* / *Robphildollfusium fractum* y *Balistes capriscus* / *Neoapocreadium chabaudi* capturados en dos localidades diferentes de las costas tunecinas (Sfax y Mahdia). Como resultados, tan solo en el modelo *B. capriscus / N. chabaudi* en peces procedentes de la localidad de Sfax se observó que el digénido bioconcentraba mercurio a niveles más altos que en la musculatura del pez.

1.2.3. ECOSISTEMAS TERRESTRES

Sin lugar a duda, todos los ecosistemas terrestres analizados hasta la fecha, y que difieren totalmente de los distintos ecosistemas acuáticos comentados anteriormente, son los que tienen mayor importancia con relación al estudio realizado en la presente memoria.

Los estudios acerca de la capacidad bioindicadora de los parásitos en los distintos ecosistemas terrestres son mucho más escasos que los realizados en el medio acuático (Sures et al., 1998, 2000a, 2000b, 2002; Scheef et al., 2000; Sures, 2004; Torres et al., 2004, 2011; Jankovská et al., 2010a; Fornesa & Paller, 2018; Borchert et al., 2019; entre otros). Los modelos están muy limitados a parásitos de roedores (Jankovská et al., 2008, 2010b), siendo los acantocéfalos y los cestodos los grupos más adecuados como indicadores potenciales de contaminación por metales pesados (Scheef at al., 2000; Sures et al., 2000b; Schludermann et al., 2003; Torres et al., 2004, 2006; Eira et al., 2005; Soliman, 2012). La mayoría de dichos estudios se han realizado bajo condiciones experimentales, en zonas que se suponen contaminadas (vertederos, áreas mineras, ciudades muy polucionadas, etc.) o en zonas donde se han producido accidentes ecológicos (Torres et al., 2012).

Utilizando **acantocéfalos** parásitos de hospedadores terrestres hay estudios experimentales y estudios de campo que evalúan su capacidad de bioconcentrar metales pesados. Sures et al. (2000a) analizaron los niveles de cadmio y plomo en cerdos infestados de forma natural con *Macracanthorhynchus hirudinaceus* en La Paz (Bolivia). Los niveles más altos de estos metales se encontraron en el acantocéfalo, que fue considerado un buen indicador de acumulación para estos metales en los ecosistemas terrestres. Sures et al. (2000b) realizaron ya hace más de dos décadas un estudio experimental pionero en este campo con el modelo *Rattus norvegicus* / *Moniliformis moniliformis* para monitorizar el plomo. En dicho estudio se observó que el acantocéfalo presentaba los valores más altos de plomo, aunque los factores de bioconcentración hallados fueron menores que los obtenidos en general para los acantocéfalos parásitos de peces. En otro experimento con este mismo binomio (Scheef et al., 2000), analizando el cadmio como metal pesado, también demostraron la capacidad de bioconcentración del acantocéfalo para este metal y no obtuvieron diferencias significativas entre las concentraciones de cadmio en los tejidos de los hospedadores infestados y de los no infestados. A nivel de trabajos de campo, Torres et al. (2011) estudiaron los niveles de cadmio y plomo en el binomio *Rattus rattus* / *M. moniliformis* en un área protegida de El Hierro (Islas Canarias, España). Los niveles de plomo y sobre todo de cadmio detectados fueron más elevados en el parásito que en los tejidos de los roedores, por lo que concluyeron que este binomio podía considerarse un buen modelo bioindicador de polución por cadmio. En otro estudio realizado por Teimoori et al. (2014), en este caso con ratas urbanas en Teherán (Irán) y con el mismo acantocéfalo, *M. moniliformis*, se observó que los parásitos tenían mayores niveles de cadmio y cromo que los tejidos analizados del hospedador. Además, de nuevo se observó que las concentraciones de los metales fueron más bajos en las muestras procedentes de hospedadores infestados respecto a los no infestados. En base a los estudios anteriores se podría inferir que el binomio roedor / *M. moniliformis* es un buen modelo como bioindicador de contaminación ambiental por cadmio, plomo y cromo.

Los **cestodos** son el grupo de helmintos más estudiado en este tipo de modelos en los ecosistemas terrestres. Se han efectuado tanto estudios experimentales como de campo fundamentalmente con roedores, aunque también hay estudios más esporádicos con aves y reptiles.

A nivel de roedores, existen varios estudios experimentales con el binomio *R. norvegicus* / *Hymenolepis diminuta* (Sures et al., 2002, Čadjová et al., 2014, Jankovská et al., 2016). En general, en dichos estudios se observó que el parásito era capaz de acumular más plomo (Sures et al., 2002; Čadjová et al., 2014), cadmio y zinc (Jankovská et al., 2016) que los tejidos de las ratas. Además, los niveles de estos metales fueron más bajos en los tejidos de los hospedadores parasitados que en los de los ejemplares no parasitados (Čadjová et al., 2014; Jankovská et al., 2016). Este mismo cestodo, *H. diminuta,* fue investigado en diferentes estudios de campo en diferentes hospedadores: *R. norvegicus* en el Cairo (Egipto) (Sures et al., 2003b), *Rattus* sp. en Teherán (Irán) (Teimoori et al., 2014), *Meriones libycus* en Arabia Saudí (Al-Qurashy et al., 2014) y *Apodemus sylvaticus* en Bulgaria (Rabadjieva et al., 2021). En todos ellos las concentraciones de metales pesados fueron más altas en los parásitos que en los tejidos de los hospedadores analizados. Por tanto, se podría decir que este helminto asociado a diversos hospedadores es un buen indicador de contaminación ambiental por metales pesados. Fornesa & Paller (2018) analizaron ejemplares de *Hymenolepis* spp. y los tejidos de sus hospedadores, *Rattus* spp. Los resultados obtenidos fueron que los parásitos tenían concentraciones más altas de metales pesados que los tejidos de los hospedadores. Por su parte, Torres et al. (2004) estudiaron los niveles de cadmio y plomo en el binomio *A. sylvaticus* / *Gallegoides arfaai*. Este binomio se postuló también como un posible buen indicador para el plomo. Contrariamente, en otro estudio realizado en Dunas de Mira (Portugal) con el binomio *Oryctolagus cuniculus* / *Mosgovoyia ctenoides* no se encontraron diferencias en las concentraciones de los elementos analizados (cadmio, plomo, mercurio y arsénico) entre los dos organismos, por lo que se concluyó que dicho modelo no constituye un buen bioindicador al respecto (Eira et al., 2005). Otro binomio analizado fue *A. sylvaticus* / *Skrjabinotaenia lobata* (Torres et al., 2006). Los autores estudiaron los metales pesados cadmio y plomo para ver si podrían ser

buenos indicadores. Para el cadmio, los niveles fueron similares entre los tejidos del ratón de campo y el cestodo. En cambio, sí que hubo diferencias para el plomo, siendo considerado dicho modelo un buen indicador en zonas urbanas contaminadas. Otros dos modelos estudiados son *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*) / *Paranoplocephala dentata* y *Microtus agrestis* / *P. dentata* (Jankovská et al., 2009). En este estudio se analizaron diferentes metales, entre ellos, el cadmio que no fue bioacumulado en ninguno de los dos modelos al contrario de lo que se observó para el plomo que sí que fue bioconcentrado en los cestodos. Jankovská et al. (2010a, 2010c) analizaron el binomio *Ovis aries* / *Moniezia expansa* como posibles modelos bioindicadores de contaminación por plomo y cadmio. En relación con el plomo, este binomio fue considerado un buen bioindicador, ya que las concentraciones más altas se dieron en el parásito y los niveles en los hospedadores infestados fueron más bajos que en los no infestados. En cambio, este modelo no se consideró adecuado para el cadmio, ya que las concentraciones más altas se dieron en los tejidos de los hospedadores. En otro estudio llevado a cabo en la isla de El Hierro (Islas Canarias, España), Torres et al. (2011) determinaron las concentraciones de cadmio y plomo en el binomio *Mus domesticus* / *Rodentolepis microstoma*. Las concentraciones de plomo fueron superiores en el cestodo que en los tejidos del ratón. Consecuencia de ello, *R. microstoma* fue considerado como un buen indicador para monitorizar el plomo en ambientes terrestres poco contaminados.

Entre los carnívoros, cabe destacar el estudio realizado con zorros (*Vulpes vulpes*) y sus parásitos del género *Mesocestoides* por Jankovská et al. (2010b). Tras analizar diferentes metales pesados se observó de nuevo, tal y como suele ocurrir en el caso de los micromamíferos, que no hubo bioconcentración de cadmio, mientras que se detectó en el cestodo una elevada acumulación de plomo y también de otros elementos como el manganeso, cobre, níquel y zinc a niveles más moderados.

A nivel de aves, Torres et al. (2010) analizaron el binomio *Columba livia* / *Raillietina micracantha* en zonas urbanas poco contaminadas de la isla de Tenerife. Obtuvieron como resultado que este binomio es un buen indicador de contaminación por manganeso y principalmente por plomo. Al-Quarishy et al. (2019) estudiaron los niveles de diferentes metales en la misma especie de ave

y en *Raillietina saudiae* con ejemplares capturados en la Arabia Saudí. De forma análoga al estudio mencionado previamente, los niveles de los metales fueron más elevados en el cestodo que en los tejidos analizados de las palomas. A su vez, los niveles fueron más bajos en las palomas infestadas por el cestodo que en las no infestadas.

En el caso de los reptiles, Soliman (2012) investigó las concentraciones de cobre, níquel, cadmio y plomo en un modelo que implicaba un reptil y un cestodo (*Chalcides ocellatus / Oochoristica tuberculata)*. Los resultados que se obtuvieron ponen de manifiesto que se trata de un buen modelo para monitorizar la contaminación por cobre y plomo.

En relación con los **nematodos** se han realizado muchos menos estudios. Entre ellos, cabe destacar los realizados con el modelo porcino y el parásito de gran tamaño *Ascaris lumbricoides suum* sin obtenerse resultados alentadores (Greichus & Greichus, 1980; Sures et al., 1998). En otro estudio que compara los niveles de plomo y cadmio en los tejidos del zorro (*V. vulpes*) y del ascárido *Toxascaris leonina* se observó de nuevo la poca capacidad para concentrar estos metales por parte del nematodo (Jankovská et al., 2010b). Lo mismo sucedió con el estudio realizado con el reptil *C. ocellatus* y diferentes nematodos que lo infestan, detectándose poca capacidad de acumulación por parte de este grupo de parásitos para cobre, níquel, cadmio y plomo (Soliman, 2012). En general, en base a los resultados disponibles se aprecia que los nematodos tienen poca o nula capacidad de bioacumular metales pesados en comparación con sus hospedadores terrestres.

Los estudios con modelos que involucren **trematodos digénidos**, como el que nos ocupa en la presente memoria, son muy escasos y se centran en grandes herbívoros y *Fasciola* spp. (Sures et al., 1998; Lotfy et al., 2013). Sures et al. (1998) analizaron los niveles de plomo y cadmio en los tejidos de la vaca (*Bos taurus*) y en su parásito *Fasciola hepatica.* Como resultado más destacado cabe decir que los niveles de plomo en el digénido fueron mucho más elevados que los detectados en los tejidos del bóvido. Por su parte, Lotfy et al. (2013) analizaron los niveles de cadmio, cromo, cobre, plomo y zinc en el búfalo africano (*Syncerus caffer*) y sus digénidos *F. hepatica* y *Fasciola gigantica*. En el estudio se evidenció que, en general, los niveles de los metales eran más altos en los

digénidos que en los tejidos del búfalo. En concreto, las concentraciones de cromo, cobre y plomo fueron más altas en *F. hepatica* y las de cadmio, cobre, cromo y zinc en *F. gigantica*.

En general, a modo de conclusión, se podría decir que los digénidos se vislumbran como potenciales buenos bioacumuladores de ciertos metales pesados, si bien es necesario realizar muchos más estudios al respecto que involucren otros grupos de mamíferos terrestres. Por ello, en la presente memoria vamos a ampliar los conocimientos al respecto analizando un modelo completamente inédito como es que involucra un digénido parásito de un micromamífero de etología hipogea, del cual no existe ningún antecedente tan siquiera parecido con el fin de aportar nuevos datos y contribuir a esclarecer este interesante y prometedor campo de estudio todavía muy poco analizado dentro del amplio contexto como es la Ecotoxicología.

1.3. INTERÉS DE LOS ESTUDIOS ESPERMATOLÓGICOS ULTRAESTRUCTURALES Y ESTADO ACTUAL DE CONOCIMIENTO EN LOS DIGÉNIDOS

Desde los inicios de los estudios mediante microscopía electrónica de transmisión aplicados al análisis ultraestructural tanto de la espermatogénesis (en especial la espermiogénesis) como del espermatozoide en los platelmintos parásitos, se vislumbró el gran potencial que poseían los caracteres espermatológicos en taxonomía y filogenia. Dicha utilidad se ha puesto de manifiesto en diversas ocasiones tanto en estudios de cariz exclusivamente ultraestructural como combinando estos datos espermatológicos ultraestructurales con otros de tipo morfológico y/o molecular (Euzet et al., 1981; Świderski, 1986; Justine 1991a, 1991b, 1995, 1998a, 1998b, 2001; Bâ & Marchand, 1995; Hoberg et al., 1997, 2001; Littlewood et al., 1998; Olson et al., 2001; Levron et al., 2010; Bakhoum et al., 2017a; entre otros).

Ehlers (1984, 1985a, 1985b) creó un nuevo taxón, los Trepaxonemata, para ciertos grupos de plathelmintos en base a un carácter del espermatozoide, la particular estructura 9+'1' de los axonemas. Este tipo de axonemas está formado por 9 dobletes de microtúbulos periféricos y un elemento central que en cortes longitudinales se aprecia como una estructura torsionada. En estudios posteriores, se ha podido constatar en diversos grupos (monogénidos, digénidos, cestodos) que esta estructura central de los axonemas 9+'1' de los Trepaxonemata carece de tubulina (Iomini et al., 1995; Iomini & Justine, 1997; Mollaret & Justine 1997; Justine, 1999; Miquel & Marchand, 2001; Ndiaye et al., 2003). Es interesante destacar que los platelmintos Trepaxonemata poseen dos tipos de estructuras flagelares/ciliares, como son la mencionada 9+'1' presente en el axonema o axonemas de los espermatozoides o en los flagelos libres durante el proceso de espermiogénesis y la típica estructura 9+2 presente en los cilios de las células flamígeras del sistema excretor y en los cilios de ciertos epitelios. Finalmente, al respecto de este tipo de axonema 9+'1', cabe también destacar los recientes trabajos de Matoušková et al. (2018, 2019), que han demostrado la presencia de dos estructuras tubulares en el interior del elemento central de los axonemas 9+'1' en dos cestodos de la familia Lytocestidae (Caryophyllidea) gracias al análisis mediante tomografía electrónica. Esta organización interna del elemento central del axonema 9+'1' debería ser investigada en otros grupos de platelmintos Trepaxonemata para poder afirmar si se trata de una característica general de todos ellos o no.

Centrándonos en los platelmintos parásitos cabe decir que los estudios ultraestructurales, tanto de la espermiogénesis como del espermatozoide, han dado sus frutos en lo que concierne a la interpretación de las relaciones filogenéticas, particularmente en monogénidos y cestodos. En el caso de los monogénidos podemos citar los trabajos de Justine (1991a, 1991b, 1998a), entre otros. Así, los Monogenea no son un grupo monofilético, aunque los Monopisthocotylea y los Polyopisthocotylea se muestran independientemente como monofiléticos, no sólo en base a sinapomorfías ultraestructurales sino también según las morfológicas y los datos moleculares. No obstante, el reciente estudio ultraestructural de Justine & Poddubnaya (2018) ha redefinido la situación en cuanto a los Polyopisthocotylea, para los cuales la sinapomorfía

"microtúbulos laterales en la región principal del espermatozoide" ya no se cumpliría.

En el caso de los Cestoda, Świderski (1986) y posteriormente Bâ & Marchand (1995) caracterizaron los modelos básicos de espermiogénesis en este grupo de platelmintos. En base a caracteres como (a) la formación de uno o dos flagelos durante la espermiogénesis, (b) la presencia o no de una rotación flagelar y (c) si se produce o no fusión proximodistal, estos autores caracterizaron tres tipos o cuatro tipos de espermiogénesis, respectivamente. El hecho de poseer uno o dos axonemas en su espermatozoide, ya permitió a Euzet et al. (1981) postular unas primeras hipótesis evolutivas de los distintos órdenes de cestodos en base a este carácter ultraestructural del gameto masculino.

El estudio ultraestructural del espermatozoide de numerosos platelmintos ha permitido también analizar el potencial de los diversos caracteres del espermatozoide y de su variabilidad. Podemos destacar los trabajos de Justine (1991a, 1998b, 2001) y de Levron et al. (2010). Los mencionados estudios de Justine son de gran interés al establecer una serie de sinapomorfías en base a caracteres ultraestructurales del espermatozoide. En el caso de los cestodos, podemos destacar entre ellas la ausencia de mitocondria en los espermatozoides como una sinapomorfía para los Eucestoda o la presencia de microtúbulos corticales espiralados como una sinapomorfía para los cestodos de los órdenes Tetrabothriidea y Cyclophyllidea. En el caso de la mitocondria, los cestodos de los órdenes Gyrocotylidea y Amphilinidea presentan mitocondria en el gameto masculino a diferencia de los Eucestoda. En cuanto a los microtúbulos corticales, cabe decir que los estudios efectuados en dos especies de la familia Mesocestoididae (Cyclophyllidea) mostraron un conjunto de caracteres plesiomórficos, entre ellos los microtúbulos corticales paralelos (Miquel et al., 1999, 2007). Al respecto, ya Mariaux (1998) manifestó tras un estudio molecular que el orden Cyclophyllidea sólo se mostraba monofilético si se excluía de él la familia Mesocestoididae o si se reincorporaban los Tetrabothriidea, que ya habían sido considerados como una familia dentro de los cyclophyllídeos. Atendiendo sólo a estos caracteres ultraestructurales, Justine (2001) ubicó los Mesocestoididae fuera de los Cyclophyllidea, como grupo basal de los Tetrabothriidea.

Hoberg et al. (1997) fueron los primeros en incluir estos caracteres ultraestructurales a una matriz de datos morfológicos para el análisis filogenético de los Eucestoda. En concreto, incorporaron un total de nueve caracteres, tres de ellos relacionados con la espermiogénesis y seis relativos al espermatozoide.

No podemos obviar el escrito de Levron et al. (2010), especialmente por definir y caracterizar siete modelos de espermatozoides para los Eucestoda en base a los siguientes caracteres ultraestructurales:

a) presencia de uno o dos axonemas
b) presencia de microtúbulos corticales paralelos o espiralados
c) presencia de un núcleo paralelo o espiralado
d) presencia o ausencia de cuerpos en cresta
e) presencia o ausencia de vaina periaxonemal
f) presencia o ausencia de tabiques intracitoplasmáticos

Los siete modelos de espermatozoides caracterizan a los diversos órdenes y familias de eucestodos.

Por su parte, el estudio de los Digenea ha sufrido un enorme impulso en los últimos años, hecho que ha permitido que diversos autores abordaran el potencial del gran número de caracteres que aporta el estudio de sus espermatozoides. Queremos empezar destacando los estudios de Quilichini et al. (2007a, 2011), que incidieron en el análisis de la ornamentación adosada externamente a la membrana citoplasmática presente en los gametos masculinos de numerosas especies. Así, atendiendo a este criterio, establecieron tres tipos de espermatozoides:

a) con ornamentación externa en el extremo anterior
b) con ornamentación en una zona más posterior
c) sin ornamentación

Por su parte, Quilichini et al. (2010a) realizaron otro ensayo de catalogación de los espermatozoides de los digénidos, pero en este caso en base a la secuencia de desaparición de caracteres hacia la extremidad posterior del gameto. Así, definieron tres tipos de secuencias que se corresponderían con tres tipos de extremos posteriores:

a) el tipo 1 o tipo opecoelideo, caracterizado por la secuencia "extremo posterior del segundo axonema", "extremo posterior del núcleo" y "microtúbulos corticales"
b) el tipo 2 o tipo fasciolideo, caracterizado por la desaparición de los "microtúbulos corticales", seguida de la secuencia "extremo posterior del segundo axonema" y "extremo posterior del núcleo"
c) el tipo 3 o tipo cryptogonimideo, caracterizado por la desaparición de los "microtúbulos corticales", seguida de la secuencia "extremo posterior del núcleo" y "extremo posterior del segundo axonema"

No obstante, cabe decir que algunas descripciones no encajan con estos tres modelos (Ndiaye et al., 2002; Foata et al., 2007; Quilichini et al., 2010b; Kacem et al., 2019a) y, por ello, autores como Bakhoum et al. (2017a) discutieron sobre la utilidad de estos modelos establecidos en base a tipos de secuencias y manifestaron que, probablemente, sería más útil considerar sólo el último carácter presente en los espermatozoides.

Otro trabajo interesante es el realizado por Quilichini et al. (2007b), quienes incidieron en el análisis de la organización de los microtúbulos corticales a lo largo del espermatozoide. De este modo, consideraron que en algunas especies dicho número va incrementando hasta la región nuclear del gameto para luego decrecer hasta el extremo posterior. Por contra, en otros digénidos el número mayor de microtúbulos corticales se da en la región anterior y progresivamente va disminuyendo hasta la extremidad posterior.

Bakhoum et al. (2017a) efectuaron una puesta al día de todos los trabajos existentes y definieron o redefinieron los distintos caracteres ultraestructurales presentes en los espermatozoides de los digénidos y su variabilidad. Dichos caracteres fueron clasificados en dos grandes grupos, los principales y los secundarios. No obstante, quizás la mayor aportación de dichos autores fue el establecimiento de cinco modelos de espermatozoides en base a los siguientes caracteres principales (Figura 1):

a) el tipo de axonema (9+'1', 9+'1' especial o 9+0)
b) la presencia/ausencia de expansión lateral
c) la presencia/ausencia de ornamentación externa de la membrana citoplasmática y su localización

d) la presencia/ausencia de la asociación "ornamentación externa-microtúbulos corticales"

e) el número de campos de microtúbulos corticales paralelos

f) la localización del número máximo de microtúbulos corticales

g) el número de mitocondrias

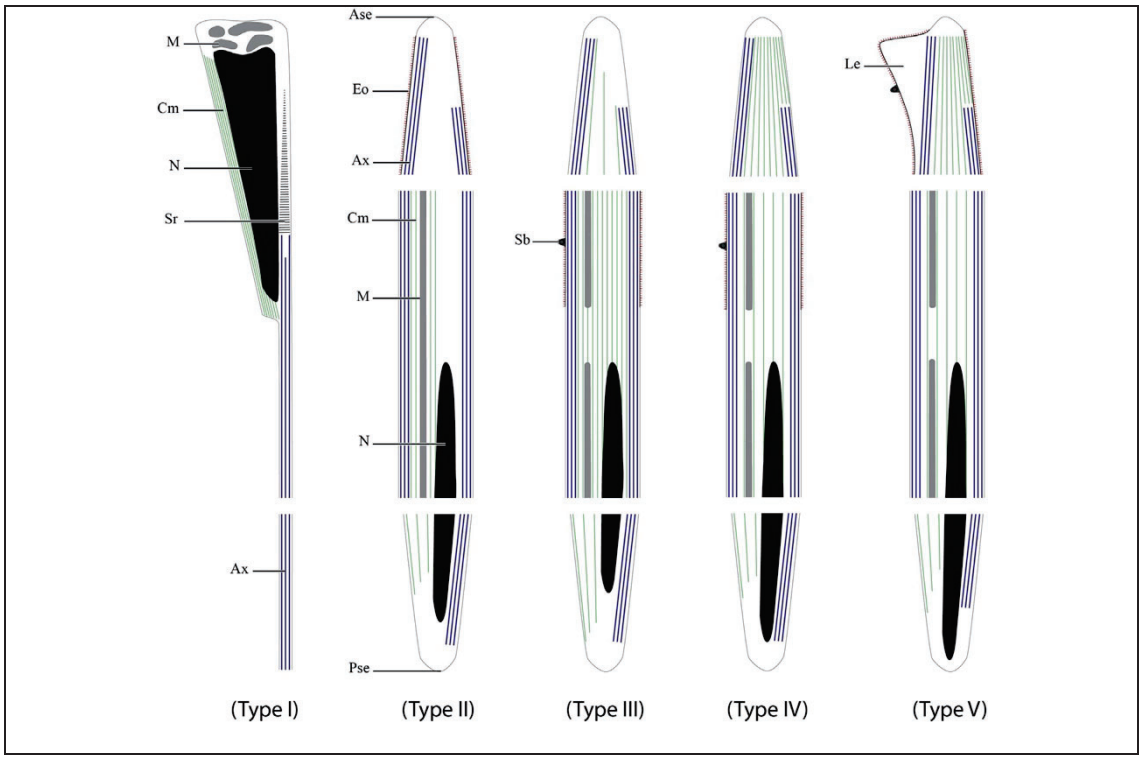


Figura 1. Tipos de espermatozoides en los Digenea (extraído de Bakhoum et al., 2017a). Ase, extremidad anterior del espermatozoide; Ax, axonema; Cm, microtúbulos corticales; Eo, ornamentación externa; Le, expansión lateral; M, mitocondria; N, núcleo; Pse, extremidad posterior del espermatozoide; Sb, cuerpos espinosos; Sr, raíces estriadas.

Según la clasificación aportada por Bakhoum et al. (2017a), los representantes de la superfamilia Brachylaimoidea, conjuntamente con los Echinostomatoidea, Microscaphidioidea, Paramphistomoidea y Pronocephaloidea, ostentarían el tipo V de espermatozoide caracterizado por presentar dos axonemas del tipo 9+'1', expansión lateral, ornamentación externa asociada con microtúbulos corticales y localizada en la parte anterior de la región proximal del gameto, dos campos de microtúbulos corticales, el número máximo de microtúbulos corticales en la parte anterior del espermatozoide y, generalmente, una mitocondria.

Centrándonos exclusivamente en la subclase Digenea, podemos decir que actualmente se poseen datos ultraestructurales de la espermiogénesis y/o del espermatozoide de unas 150 especies pertenecientes a 19 superfamilias y a 55 familias distintas. Evidentemente se trata de unos datos muy escasos teniendo en cuenta que los Digenea están considerados como el grupo de metazoos parásitos internos más numeroso, con alrededor de 18.000 especies nominales presentes en todos los grandes grupos de vertebrados, excepto los elasmobranquios (salvo alguna excepción) (Cribb et al., 2001; Pérez-Ponce de León & Hernández-Mena, 2019). En lo que concierne al grupo objeto de estudio en la presente memoria, cabe apuntar que sólo hay estudios en cuatro especies de brachylaímidos. Tres de ellas están englobadas en la subfamilia Brachylaiminae: *Brachylaima aequans* (Zdárská et al., 1991), *Brachylaima* sp., posteriormente descrita como *Brachylaima mascomai* (González-Moreno, 2002; Gracenea & González-Moreno, 2002), y *Postharmostomum gallinum* (Chen & Lu, 1994). Por su parte, la cuarta especie, *Scaphiostomum palaearcticum* (Ndiaye et al., 2002), pertenece a la subfamilia Ityogoniminae. En esta última subfamilia se encuadra la especie estudiada ultraestructuralmente en la presente tesis doctoral (*Ityogominus ocreatus*).

1.4. OBJETIVOS

El principal objetivo de la presente tesis es realizar el estudio helmintofaunístico y helmintoecológico de tres micromamíferos de naturaleza hipogea procedentes de una misma región geográfica: Asturias. Las tres especies analizadas son *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*. Asimismo, también se pretende abordar el estudio ecotoxicológico en *Talpa occidentalis* para evaluar los niveles de contaminación por metales pesados, así como el estudio ultraestructural del espermatozoide de un digénido parásito del género *Ityogonimus*.

En relación con cada una de las helmintofaunas halladas los objetivos concretos son:

- Establecer la comunidad helmintiana parásita y compararla con los estudios previos en la Península Ibérica.

- Efectuar el análisis estadístico de los principales parámetros utilizados en ecología parasitaria (prevalencia, abundancia e intensidad media de parasitación).
- Establecer la estructura de la comunidad helmintiana y la distribución de cada especie parásita.
- Estudiar la diversidad de la comunidad helmintiana y la riqueza de especies.
- Analizar la posible influencia de factores intrínsecos (edad y sexo del hospedador) y factores extrínsecos (estación y año de captura) sobre los índices de diversidad, la riqueza de especies, las prevalencias y las abundancias de las especies más prevalentes.
- Analizar el efecto de los factores climáticos sobre los parámetros de diversidad, prevalencia y abundancia de las diferentes especies halladas.

Con relación al estudio ecotoxicológico del binomio *T. occidentalis* / *Ityogonimus* spp. los objetivos son:

- Establecer los niveles de cadmio, mercurio y plomo en los tejidos de los hospedadores infestados y no infestados, así como los de los digénidos del género *Ityogonimus* y analizar las posibles diferencias significativas entre ellos.
- Calcular el factor de bioconcentración de cada metal analizado.
- Valorar si el binomio estudiado, *T. occidentalis* / *Ityogonimus* spp., es un buen bioindicador para el cadmio, mercurio y plomo.

En relación con el estudio ultraestructural los objetivos concretos son:

- Determinar los caracteres ultraestructurales presentes en el espermatozoide del género *Ityogonimus*.
- Comparar la organización ultraestructural del espermatozoide de este género con la de otros brachiláimidos.
- Establecer el modelo de espermatozoide para este género y por extensión para los Brachylaimidae.

CAPÍTULO SEGUNDO

MATERIAL Y MÉTODOS

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el segundo capítulo de la presente memoria se tratan diferentes aspectos relacionados con el material mastozoológico examinado, haciendo especial énfasis en la binomía de las tres especies de micromamíferos hipogeos: *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*. Es importante conocer la biología del hospedador para poder comprender la del parásito en su totalidad, debido a las estrechas relaciones que se han establecido entre ellos por su coevolución.

Dentro del mismo capítulo se dedica un primer apartado a la fisiogeografía de Asturias, ya que los diversos factores ambientales ejercen una notable influencia sobre la fauna parásita.

Posteriormente, tras el segundo apartado correspondiente a los hospedadores, y ya en referencia a la metodología, se aborda en primer lugar las técnicas mastozoológicas de captura de los hospedadores. Posteriormente, se describen las principales técnicas utilizadas para la extracción de los helmintos, así como todos los procesos necesarios para poder identificarlos. También se incide en los métodos estadísticos aplicados al análisis helmintoecológico de los resultados obtenidos. Finalmente, se abordan las metodologías para el estudio ecotoxicológico y el ultraestructural.

2.1. ÁREA DE ESTUDIO

Los puntos de captura del presente trabajo están ubicados en el Principado de Asturias, una comunidad autónoma situada en el norte peninsular con una superficie de 10.603,57 km^2 (Figura 2a). Limita al norte con el Mar Cantábrico, al sur con la provincia de León (Castilla-León), al oeste con la de Lugo (Galicia) y al este con la comunidad de Cantabria (Figura 2b) (Olivares, 2015).

El clima de Asturias es temperado hiperoceánico (Rivas-Martínez & Rivas-Sáenz, 2015), con precipitaciones todo el año y temperaturas suaves con bajo riesgo de heladas o nevadas (Somoano, 2017). La temperatura media anual es

de 12,6°C, en invierno es de 7,7°C y en verano es de 17,8°C. Las precipitaciones son frecuentes, siendo la media anual de 1179,3 mm (Olivares, 2015).

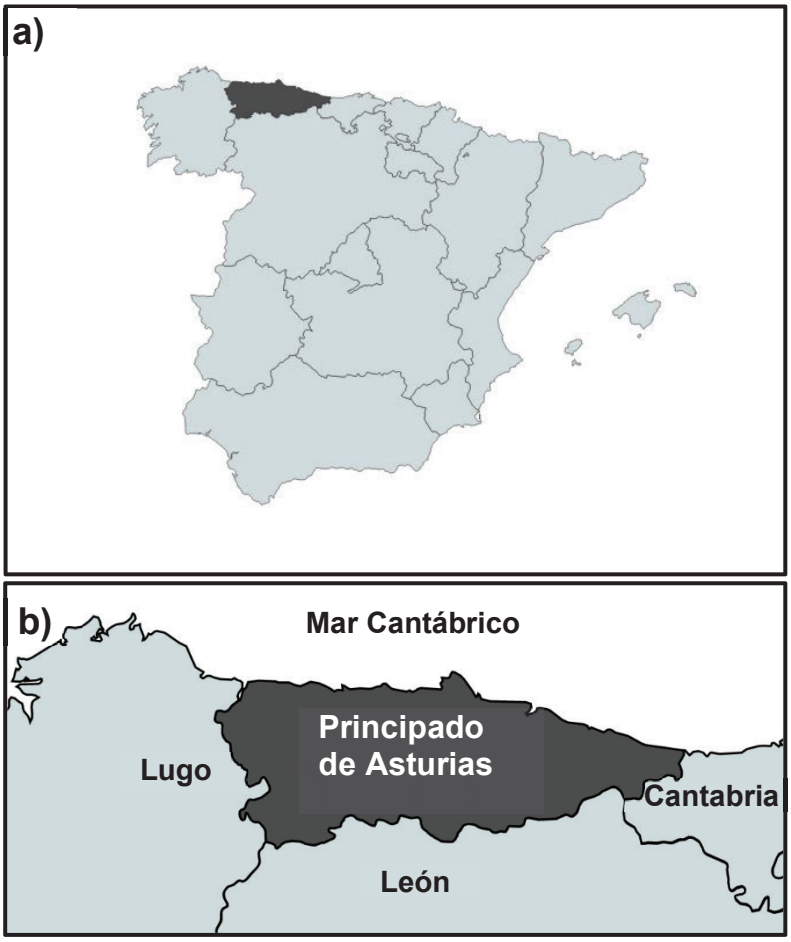


Figura 2. a) Mapa de España donde se indica la posición del Principado de Asturias. **b)** Región ampliada del Norte peninsular, donde se indican los límites del Principado de Asturias.

La situación geográfica de Asturias hace que se mezclen tres tipos de elementos biogeográficos diferentes: el euroasiático, el afro-mediterráneo y el lusitánico. Ello ha originado una elevada biodiversidad, con especies que se encuentran en los límites de su distribución, subespecies adaptadas a la climatología propia de Asturias y endemismos. Entre la flora asturiana destacan unas 1700 especies vasculares que se incluyen entre la flora atlántica europea. La vegetación potencial corresponde a los bosques planocaducifolios de *Quercus robur, Fagus sylvatica, Betula pubescens celtiberica*, *Ulex* spp. o *Erica* spp. (Gobierno del Principado de Asturias, 2006).

A nivel de fauna también hay una gran biodiversidad. La gran variedad de ambientes, desde un entorno marítimo a zonas de alta montaña y ligado a las peculiaridades de su clima y entorno, hacen que en Asturias se encuentren especies que son poco habituales en otras regiones del territorio español. Hay pocos conocimientos sobre la fauna invertebrada en comparación con la fauna vertebrada. Asturias representa el 2% de la superficie de España, pero tiene el 67% de los vertebrados continentales presentes en ella. Hay algunos grupos como peces, anfibios y reptiles, que por diferentes causas, como por las pequeñas cuencas fluviales o por la falta de hábitats adecuados (falta de insolación o temperaturas estivales bajas), no son muy abundantes en esta región. Sin embargo, las aves y los mamíferos sí que están bien representados con un 75% de todas las especies presentes en el territorio español (Gobierno del Principado de Asturias, 2006).

Las localidades donde se hicieron las capturas de los micromamíferos corresponden a campos de cultivo de manzanos que se localizan principalmente en la zona centro-este de la región. El paisaje es un mosaico de campos de cultivo separados por setos y bosques. Los campos de cultivo de manzanos ocupan 10.324 ha (Somoano, 2017). Estos campos están cubiertos por una densa cobertura de hierba presente todo el año (Miñarro et al., 2012) (Figura 3).

Figura 3. Campo de cultivo de manzanos (Priesca, Principado de Asturias).

2.2. HOSPEDADORES

2.2.1. *Arvicola scherman* (Shaw, 1801)

2.2.1.1. Caracterización general

Arvicola scherman (Shaw, 1801) es un mamífero que se incluye dentro del orden Rodentia, familia Cricetidae, subfamilia Arvicolinae (Figura 4). Esta subfamilia incluye un conjunto de especies con una radiación evolutiva muy rápida en las zonas templadas y frías del hemisferio norte (Robovský et al, 2008).

Figura 4. Dibujo de un ejemplar de *Arvicola scherman* (disponible en: https://secem.es/mamiferos/atlas/arvicola-monticola)

Según Ellerman & Morrison-Scott (1951) dentro del género *Arvicola* se incluyen dos especies: *Arvicola sapidus* y *Arvicola terrestris* (Niethammer & Krapp, 1982; Gromov & Polyakov, 1992; Giraudel et al., 2009). Los individuos de la primera especie son muy homogéneos morfológicamente y sus poblaciones están asociadas a cursos de agua o pantanos (Ventura, 2017). Por su parte, *A. terrestris*, es más polimórfica, diferenciándose dos ecotipos: una forma semiacuática asociada a ríos, arroyos, lagos, pantanos y zonas húmedas, tanto de llanuras como en zonas montañosas y una forma hipogea que vive en praderas montañosas donde forma sistemas de galerías (Meylan, 1977; Saucey, 1994; Giraudel et al., 2009). Ognev (1964) reconoció estas dos formas como dos especies, la forma acuática como *Arvicola amphibius* y la forma hipogea como *A. scherman.* Esta clasificación fue ignorada durante mucho tiempo hasta el trabajo de Musser & Carleton (2005). *Arvicola scherman* ya había sido

reconocida como especie previamente por Trouessart (1910), Miller (1912) o Hinton (1926), entre otros. Morfológicamente, las dos especies tienen tamaños diferentes, siendo *A. scherman* más pequeña que *A. amphibius*. La proporción de la cola respecto al cuerpo también es menor en *A. scherman*. A pesar de que genéticamente no se detectan diferencias entre las dos especies, se especula la posibilidad de que el morfotipo acuático y el subterráneo sean los extremos de un hipotético fenotipo continuo, más que ser dos morfotipos diferentes (Kryštufek et al., 2015). Como este problema taxonómico no ha sido resuelto, en el presente trabajo seguiremos la clasificación de Musser & Carleton (2005).

Su área de distribución va desde el norte de España, pasando por todo el centro de Europa, incluyendo Holanda, el sur y centro de Francia y la zona este de Eslovaquia, hasta el centro de Rumanía (Figura 5a), localizándose en zonas aisladas de montañas europeas como los Alpes, los Cárpatos, la Cordillera Cantábrica, el Macizo Central y los Pirineos (Kryštufek et al., 2015). En la Península Ibérica se distribuye por la franja septentrional que va desde los Pirineos leridanos (Valle de Arán y zonas próximas) hasta la Sierra de Ancares (Lugo), Segundera (Zamora) y Montezinho (Portugal) (Figura 5b) (Ventura, 2007). Estudios recientes han detectado la presencia de *A. scherman* en el Valle de Mena en la provincia de Burgos (Román, 2019). Existe un fuerte aislamiento geográfico entre las poblaciones de los Pirineos y las de la Cordillera Cantábrica y el extremo nororiental de Guipúzcoa. En estas regiones se distinguen las subespecies *A. scherman monticola* en los Pirineos y *A. scherman cantabriae* en la región cantábrica. Estas subespecies se diferencian por el tamaño, mayor en *A. scherman monticola*, y por ciertos rasgos dentales y craneales (Ventura & Gosálbez, 1989; Ventura, 1993).

Arvicola scherman es una especia hipogea, tal como se ha comentado anteriormente. Construye madrigueras subterráneas que están formadas por diversas cámaras conectadas por una compleja red de galerías. Estas madrigueras las construyen en prados naturales, que pueden ir desde pocos metros por encima del mar en zonas costeras hasta prados alpinos situados a 2000 m sobre el nivel del mar (Ventura, 2007). Se pueden distinguir dos sistemas de galerías: uno superficial a unos 20 cm de profundidad y otro más profundo, entre los 40 y los 100 cm de profundidad, donde se encuentra el nido y las

cámaras de almacenamiento de comida (Airoldi, 1976; Airoldi & de Werra, 1993). Para excavar las galerías usa los incisivos, desplazando la tierra con las patas y finalmente la expulsa con la cabeza, formando montículos en la superficie (Airoldi et al., 1976).

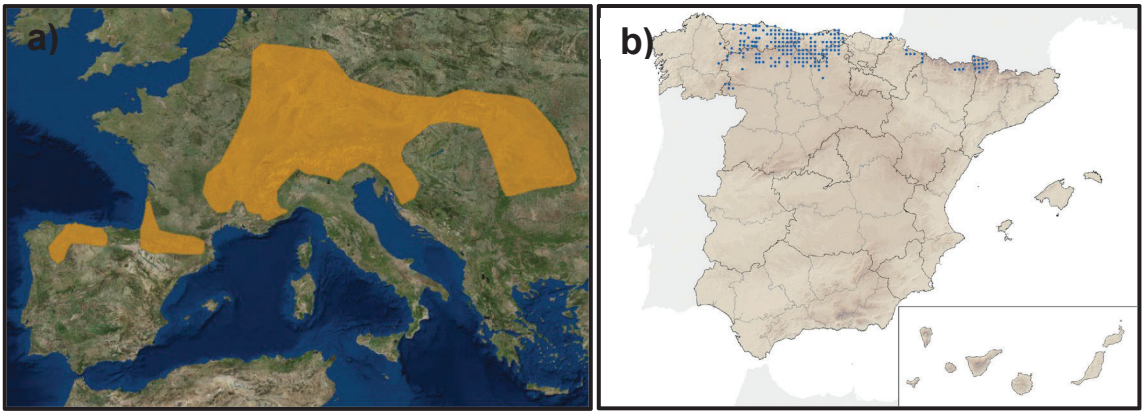


Figura 5. a) Distribución de *A. scherman* en Europa (IUCN disponible en: http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=136766). **b)** Distribución de *A. scherman* en España (Ventura, 2007).

La masa corporal de los individuos adultos varía de los 80 a los 183 g y la longitud del cuerpo de 12 a 18 cm. Las dimensiones de la cola (4-8 cm) y de la oreja (10-14 mm) son relativamente pequeñas (Ventura, 1993; Quéré, 2009). No se ha detectado un dimorfismo sexual evidente. La fórmula dentaria es 1.0.0.3/1.0.0.3 (Ventura, 2007). Entre los incisivos y los molares hay un diastema que los separa (Figura 6) (Lapini & Paolucci, 1992). Son herbívoros, alimentándose tanto de las partes epigeas como hipogeas de las plantas (Kopp, 1993). En el caso de los árboles frutales, se alimentan de la corteza y las raíces, provocándoles serios daños e incluso llegando a matar algunos pies (Meylan, 1977; Walther et al., 2008). Así, ocasionan grandes pérdidas económicas en estos cultivos (Walther et al., 2008; Miñarro et al., 2012; Somoano et al., 2016), razón por la que se la ha considerado como una especie plaga en muchos países (para una revisión, ver Somoano et al., 2017), recomendándose medidas para el control de sus poblaciones (BOE, 2008).

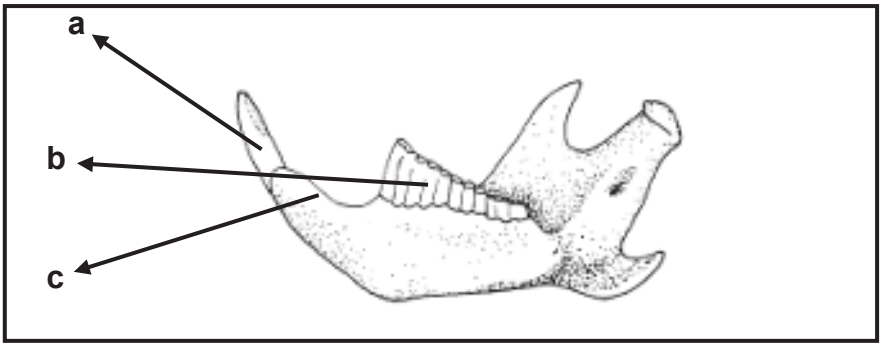


Figura 6. Hemimandíbula de *A. scherman*. Se observan el incisivo (a) y los tres premolares (b) de una de las hemimandíbulas, separados por el diastema (c) (Özkurt et al., 1999).

Aunque hay pocos datos sobre sus ciclos demográficos en la Península Ibérica, estudios realizados en otras zonas de su área de distribución han demostrado la existencia de ciclos plurianuales con picos de densidad que se repiten cada 4-8 años (6 de promedio) (Saucy, 1994). En estos ciclos se suceden 4 fases: baja densidad, crecimiento de la población, densidad alta y disminución (Morilhat et al., 2008). La actividad reproductora de esta especie puede presentar estacionalidad, habiendo una pausa durante el invierno (ver la revisión de Somoano et al., 2017), o puede ser constante durante todo el año si las condiciones ambientales son favorables (Meylan & Airoldi, 1975, en Suiza; Somoano et al., 2017, en Asturias). Las hembras tienen un promedio de 6 camadas al año, con un número de crías que oscila entre 2 y 9, dependiendo de la edad y la masa corporal de la madre (Ventura, 2007). En un mismo sistema de galerías se encuentra una pareja de adultos con su progenie, juveniles y/o subadultos; raramente se encuentran individuos solos y nunca dos individuos adultos del mismo sexo (Airoldi, 1976).

Esta especie es presa de aves rapaces como el búho chico (*Asia otus*) y la lechuza común (*Tyto alba*) y de carnívoros como el zorro (*Vulpes vulpes*), el armiño (*Mustela erminea*), la garduña (*Martes foina*) y el gato doméstico (*Felis catus*) (Ventura, 2007).

2.2.1.2. Material analizado

En total se han analizado 815 ejemplares de *A. scherman,* capturados entre enero de 2011 y enero de 2013 en las siguientes localidades de Asturias (Figura 7):

1. Camoca: 2 ejemplares (2 ♀♀) (1 subadulto y 1 adulto)
2. Ceceda: 21 ejemplares (12 ♂♂ y 9 ♀♀) (1 juvenil, 8 subadultos y 12 adultos)
3. Fresnadiellu: 176 ejemplares (90 ♂♂ y 86 ♀♀) (14 juveniles, 53 subadultos y 109 adultos)
4. Fresnu: 3 ejemplares (2 ♂♂ y 1 ♀) (1 subadulto y 2 adultos)
5. La Fajera: 1 ejemplar (1 ♀) (1 adulto)
6. La Rozada: 34 ejemplares (18 ♂♂ y 16 ♀♀) (4 juveniles, 8 subadultos y 22 adultos)
7. Llata: 26 ejemplares (12 ♂♂ y 14 ♀♀) (2 juveniles, 6 subadultos y 18 adultos)
8. Oles: 365 ejemplares (169 ♂♂ y 196 ♀♀) (39 juveniles, 61 subadultos y 265 adultos)
9. Poreño: 11 ejemplares (8 ♂♂ y 3 ♀♀) (1 juvenil, 2 subadultos y 8 adultos)
10. Priesca: 117 ejemplares (58 ♂♂ y 59 ♀♀) (25 juveniles, 32 subadultos y 60 adultos)
11. SERIDA: 21 ejemplares (13 ♂♂ y 8 ♀♀) (4 juveniles, 5 subadultos y 12 adultos)
12. Sta. Marina: 13 ejemplares (4 ♂♂ y 9 ♀♀) (3 subadultos y 10 adultos)
13. Valle del Lago: 2 ejemplares (1 ♂ y 1 ♀) (2 adultos)
14. Vegadali: 23 ejemplares (14 ♂♂ y 9 ♀♀) (3 juveniles, 4 subadultos y 16 adultos)

Del total de individuos analizados, 427 correspondían a capturas del año 2011, 372 del 2012 y 16 del 2013. En la Tabla 3 se muestra los individuos capturados en función de la estación de captura y la edad y el sexo del hospedador, y en la Tabla 4 en función del año y la estación de captura.

Respecto al sexo, 401 individuos eran machos y 414 hembras. En cuanto a las edades, los individuos se clasificaron en juveniles, subadultos y adultos en función de la edad estimada según Ventura (1993). Este autor definió seis clases de edad (0-5), las cuales, en la presente memoria, se simplificaron de la siguiente manera: las clases 0 y 1 se consideradon juveniles, las 2 y 3 como subadultos,

y las 4 y 5 como adultos. Se contabilizaron: 93 juveniles, 185 subadultos y 537 adultos.

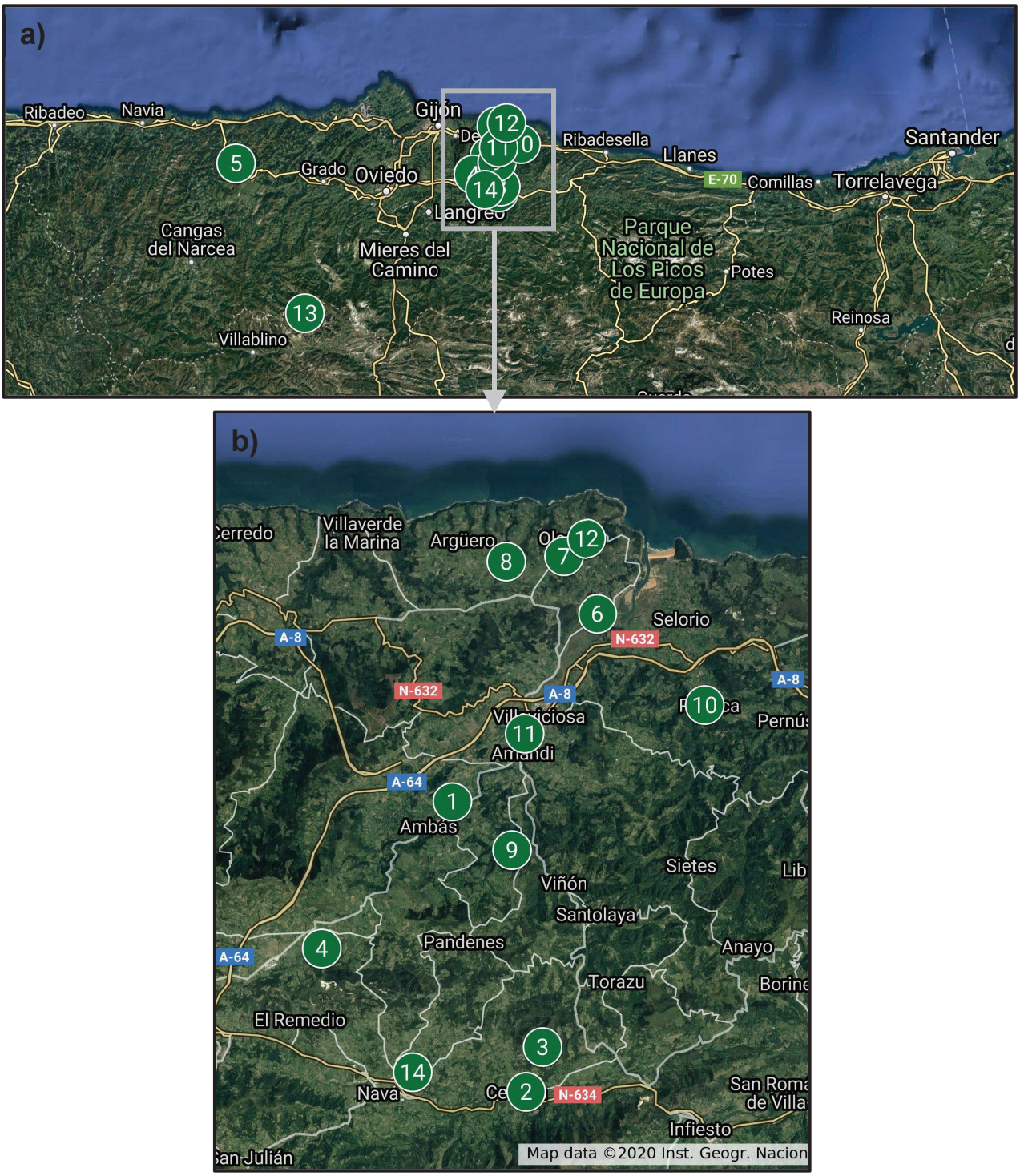


Figura 7. a) Mapa de Asturias con los puntos de captura de *A. scherman*. **b)** Área ampliada con los puntos de captura encuadrados en la figura a. 1) Camoca; 2) Ceceda; 3) Fresnadiellu; 4) Fresnu; 5) La Fajera; 6) La Rozada; 7) Llata; 8) Oles; 9) Poreño; 10) Priesca; 11) SERIDA; 12) Sta Marina; 13) Valle del Lago; 14) Vegadali

Para poder analizar la variabilidad estacional se agruparon los meses según la estación. La agrupación utilizada es la siguiente:

Invierno: enero, febrero y marzo

Primavera: abril, mayo y junio

Verano: julio, agosto y septiembre

Otoño: octubre, noviembre y diciembre

Aunque la agrupación no se corresponde exactamente a las estaciones meteorológicas, se aproxima bastante. En invierno se hicieron 169 capturas, en primavera 227, en verano 197 y en otoño 222.

Tabla 3. Distribución de los individuos analizados de *A. scherman* en función del sexo y edad del hospedador y la estación de captura.

Sexo del hospedador	Estación de captura	Edad del hospedador			
		Juveniles	Subadultos	Adultos	Total
Machos	Invierno	8	20	58	86
	Primavera	16	23	77	116
	Verano	8	25	64	97
	Otoño	13	26	63	102
	Total	45	94	262	401
Hembras	Invierno	5	20	58	83
	Primavera	14	24	73	111
	Verano	17	16	67	100
	Otoño	12	31	77	120
	Total	48	91	275	414

Tabla 4. Distribución de los individuos analizados de *A. scherman* en función del año y estación de captura.

Año de captura	Estación de captura				
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Total
2011	67	124	109	127	427
2012	102	103	88	79	372
2013	16	0	0	0	16
Total	185	227	197	206	815

2.2.2. *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879)

2.2.2.1. Caracterización general

Microtus lusitanicus (Gerbe, 1879) (Figura 8), como *A. scherman*, es un roedor que se incluye en la familia Cricetidae, subfamilia Arvicolinae. El género *Microtus* probablemente tiene una de las radiaciones evolutivas más rápidas dentro de los mamíferos; 65 especies actuales y un alto número de subgéneros (*Agricola, Microtus, Terricola,* etc.) que aparecieron en 1,2-2 millones de años (Jaarola et al., 2004; Fink et al., 2010). Dentro de este género hay especies que son muy próximas entre ellas, con pocas divergencias moleculares, pero reconocidas como especies. Este sería el caso de *M. lusitanicus* y *Microtus duodecimcostatus*. Estas dos especies tienen diferencias genéticas y fenotípicas, pero aún se dan casos de hibridación, lo cual indica que todavía están en alguna fase de su radiación evolutiva (Bastos-Silveira et al., 2012).

Figura 8. Dibujo de *Microtus lusitanicus* (SECEM disponible en: https://secem.es/mamiferos/atlas/microtus-lusitanicus)

Microtus lusitanicus es una especie endémica de la Península Ibérica, donde ocupa el cuadrante noroccidental de la misma, además del extremo suroccidental de Francia (Figura 9). Su distribución va desde el norte de Navarra y Huesca hasta las costas cantábrica y atlántica, pasando por La Rioja, Soria y las Sierras de Guadarrama, Gredos y Gata. En Portugal penetra por la Sierra de la Estrella hasta llegar al sur de Lisboa (Mira & Mathias, 2007).

Figura 9. Distribución de *M. lusitanicus*. (IUCN disponible en: https://www.iucnredlist.org/species/13494/513980)

Esta especie ocupa una gran diversidad de hábitats que van desde el nivel del mar hasta los 2.000 m en la Sierra de Gredos o los Pirineos. Estos hábitats pueden ser naturales (como por ejemplo riberas de pequeños ríos, castañedos o robledales) o agrícolas (principalmente plantaciones de patatas, zanahorias, arrozales y cultivos de frutales). Los suelos tienen que ser blandos y húmedos, con una densa cobertura vegetal. Estas características de los suelos son necesarias para poder construir sus galerías, dado que es una especie hipogea (Mira & Mathias, 2007). Estos sistemas de galerías están formados por dos tipos de túneles: unos superficiales y otros profundos. Los primeros se encuentran a un máximo de 15 cm de profundidad y les permiten salir a la superficie, buscar comida o refugiarse rápidamente de los depredadores. Los segundos se encuentran a 40 cm de profundidad como máximo y en ellos se encuentran cámaras utilizadas como almacén de comida o como nidos (Godinho, 1982; Mira & Mathias, 2007). Estudios recientes han podido establecer el número de entradas en un sistema de galerías en Portugal, contabilizando un total de 334 entradas/salidas. También ha sido posible medir en este sistema de galerías hasta 100 m de longitud entre los extremos y con un total de 606,35 m de galerías. Este sistema presenta una red de galerías más compleja en los

extremos, con más ramificaciones y conexiones, que en la parte central donde es mucho más simple (Ribeiro, 2019).

Este arvicolino de pequeño tamaño tiene una longitud total del cuerpo de 77,5 a 105,0 mm, la cola mide de 17 a 30 mm, la oreja de 6,5 a 10 mm y la masa corporal varía entre los 14 y los 19 g (Mira & Mathias, 2007). No hay dimorfismo sexual entre machos y hembras (Ventura et al., 2010). Su morfología está adaptada a su vida hipogea: cabeza grande, hocico romo, ojos pequeños y cuerpo cilíndrico (Mira & Mathias, 2007). La morfología de sus incisivos está relacionada con la actividad excavadora; los usan para perforar la tierra, que empujan con las patas anteriores, y luego la expulsan con las posteriores al exterior (Giannoni et al., 1993). Su fórmula dentaria es 1.0.0.3/1.0.0.3. Su dieta es herbívora, con especial interés hacia los epífitos, de los cuales se alimenta de pequeños tallos y hojas en invierno y primavera. En verano y otoño incluye pequeños bulbos, semillas, rizomas y tubérculos de otras hierbas. En zonas agrícolas puede producir serios daños en cultivos de zanahorias, patatas y frutales (Mira & Mathias, 2007). En el caso de los manzanos se alimenta de las cortezas de los árboles y las raíces, dañándolos gravemente e incluso llegando a matar algunos pies (Miñarro et al., 2017). En España está considerada como una especie plaga y su control está decretado por ley (BOE, 2008).

No se conoce que esta especie presente poblaciones cíclicas (Gianonni et al., 1993; Mira & Mathias, 2007). Se reproduce a lo largo de todo el año, pero con un ligero descenso durante el invierno (Ventura et al., 2010, en León; Miñarro et al., 2017, en Asturias). Esto podría deberse a las condiciones ambientales favorables y la presencia de cobertura vegetal permanente durante todo el año (Miñarro et al., 2017). En poblaciones más meridionales se ha detectado una disminución de la actividad reproductora en verano por ausencia de hierba fresca (Mira & Mathias, 2007). Las hembras son sexualmente maduras a las 5 semanas de vida, mientras que los machos lo son a las 7 semanas. Tienen entre 1 y 5 crías por camada, aunque lo habitual son 2 ó 3 crías. En cautividad los partos se suceden cada 28 días (Mira & Mathias, 2007). Es una especie monógama; en un sistema de galerías vive una pareja con sus crías, juveniles y subadultos (Ventura et al., 2010; Duarte et al., 2015; Ribeiro, 2019). El cuidado parental lo realizan los adultos y las crías de mayor edad (Ribeiro, 2019).

Microtus lusitanicus es una presa habitual de la lechuza común (*T. alba*) y del cárabo común (*Strix aluco*) (Mira & Mathias, 2007), pero también de un gran número de pequeños y medianos mamíferos como el zorro (*V. vulpes*), el gato montés (*Felis silvestris*), la gineta (*Genetta genetta*) o la garduña (*M. foina*) (Carvalho & Gomes, 2004).

2.2.2.2. Material analizado

En total se han analizado 710 individuos de *M. lusitanicus*, capturados entre enero de 2011 y enero de 2013, como en el caso de *A. scherman*. Las capturas han tenido lugar en Asturias en las siguientes localidades (Figura 10):

1. Coceña: 37 ejemplares (20 ♂♂ y 17 ♀♀) (2 juveniles, 20 subadultos y 15 adultos)
2. Camoca: 3 ejemplares (2 ♂♂ y 1 ♀♀) (3 subadultos)
3. Fresnu: 76 ejemplares (45 ♂♂ y 31 ♀♀) (6 juveniles, 20 subadultos y 50 adultos)
4. Grao: 2 ejemplares (2 ♀♀) (1 subadulto y 1 adulto)
5. La Fajera: 1 ejemplar (1 ♂) (1 adulto)
6. Merón: 7 ejemplares (6 ♂♂ y 1 ♀) (4 subadultos y 3 adultos)
7. Oles: 16 ejemplares (7 ♂♂y 9 ♀♀) (3 juveniles, 8 subadultos y 5 adultos)
8. Poreño: 6 ejemplares (4 ♂♂ y 2 ♀) (1 juvenil, 1 subadulto y 4 adultos)
9. Priesca: 63 ejemplares (33 ♂♂ y 30 ♀♀) (4 juveniles, 23 subadultos y 36 adultos)
10. SERIDA: 499 ejemplares (245 ♂♂ y 254 ♀♀) (47 juveniles, 254 subadultos y 198 adultos)

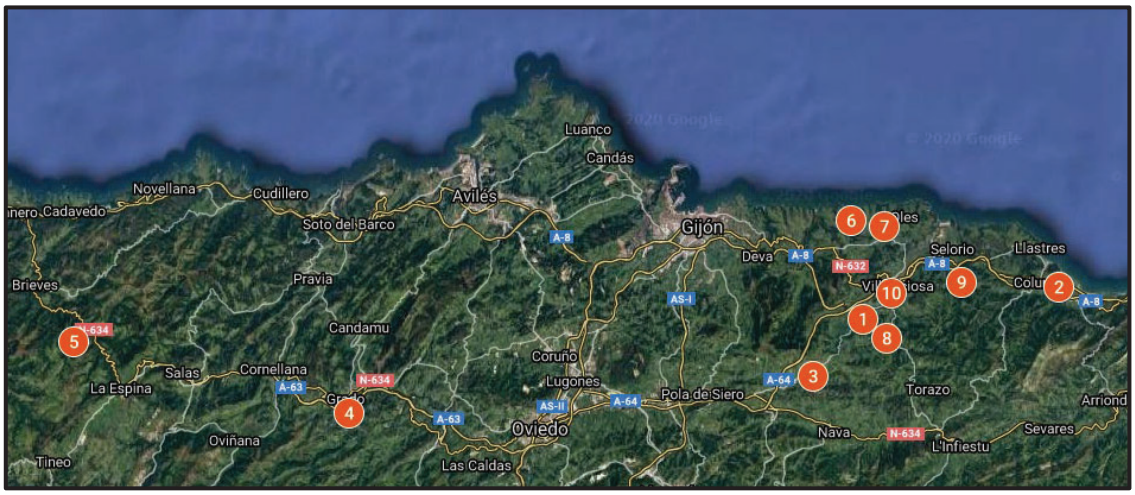


Figura 10. Mapa de Asturias con los puntos de captura de *M. lusitanicus*. 1) Coceña; 2) Camoca; 3) Fresnu; 4) Grao; 5) La Fajera; 6) Merón; 7) Oles; 8) Poreño; 9) Priesca; 10) SERIDA.

Del total de capturas realizadas, 343 corresponderon al año 2011, 354 al 2012 y 13 al 2013. En las Tablas 5 y 6 se plasman un resumen de todos los individuos capturados en función del año de captura, la estación, el sexo y la edad.

Se capturaron 363 machos y 347 hembras que fueron sexados por el personal del SERIDA. Los ejemplares se clasificaron en tres clases de edad: juveniles, subadultos y adultos. Esta clasificación se realizó a partir de la masa corporal de los individuos. Los individuos con masa corporal igual o inferior a los 10 g se clasificaron como juveniles; si era igual o superior a los 15 g como adultos; y el resto como subadultos (Santos et al., 2010). Se contabilizaron 63 juveniles, 334 subadultos y 313 adultos.

Para la estación de captura se siguió el mismo criterio que el explicado en *A. scherman*. Así, en invierno se obtuvieron 126 capturas, 187 en primavera, 196 en verano y 201 en otoño.

Tabla 5. Distribución de los individuos analizados de *M. lusitanicus* en función de la edad y el sexo del hospedador y de la estación de captura.

Sexo del hospedador	Estación de captura	Edad del hospedador			
		Juveniles	Subadultos	Adultos	Total
Machos	Invierno	1	23	37	61
	Primavera	10	35	51	96
	Verano	6	63	36	105
	Otoño	7	66	28	101
	Total	24	187	152	363
Hembras	Invierno	0	32	33	65
	Primavera	8	38	45	91
	Verano	18	36	37	91
	Otoño	13	41	46	100
	Total	39	147	161	347

Tabla 6. Distribución de los individuos analizados de *M. lusitanicus* en función del año y estación de captura.

Año de captura	Estación de captura				
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Total
2011	25	92	110	116	343
2012	101	95	86	72	354
2013	0	0	0	13	13
Total	126	187	196	201	710

2.2.3. *Talpa occidentalis* (Cabrera, 1907)

2.2.3.1. Caracterización general

El topo ibérico, *Talpa occidentalis* (Cabrera, 1907) (Figura 11), es un micromamífero que actualmente se incluye dentro del orden Soricomorpha (Hutterer, 2005). Tradicionalmente se ha incluido dentro del orden Insectivora, suborden Lipotyphla; dentro de este suborden se han agrupado en una sección Soricomorpha que incluía a las familias Talpidae y Soricidae (Woodman & Péfaur, 2008). En la Península Ibérica existen dos especies más de tálpidos: *Talpa europaea* y *Galemys pyrenaicus*. La primera tiene una distribución muy reducida, ocupando los Pirineos, las sierras prepirenaicas, parte de la Cordillera Cantábrica y de la cornisa cantábrica, todos los montes vascos y todas las montañas burgalesas, mientras que hacia el sur sus límites son menos precisos, encontrándose poblaciones en el norte del Sistema Ibérico (Román, 2007a). Por su parte, *G. pyrenaicus*, especie endémica peninsular, se distribuye desde la vertiente francesa de los Pirineos hasta la mitad septentrional de Portugal, asociado a cabeceras de ríos (Nores et al., 2007).

El topo ibérico desde su descripción ha presentado una cierta controversia sobre si se trata una especie con entidad propia o si se trata de una subespecie de Talpa caeca (Román, 2007b). En el momento de su descripción se consideró una subespecie de Talpa caeca, T. caeca occidentalis (Cabrera, 1907) y pocos años después se consideró como especie, separándola de T. caeca (Miller, 1912; Cabrera, 1914). A mediados del siglo XX se volvió a considerar una subespecie de T. caeca (Ellerman & Morrisson-Scott, 1951). En la actualidad

está reconocida como una especie en base a análisis cariológicos y cromosómicos (Jiménez et al., 1984) y moleculares (Colangelo, 2010; Bannikova, 2015; Gutiérrez et al., 2018; Aleix-Mata, 2020; entre otros).

Figura 11. Dibujo de un ejemplar de *Talpa occidentalis* (disponible en : https://secem.es/mamiferos/atlas/talpa-occidentalis)

Es una especie endémica de la Península Ibérica. Ocupa todo el tercio noroccidental peninsular de una forma más o menos continua, estando ausente en toda el área delimitada por los Pirineos y el valle del Ebro (Román, 2007b) (Figura 12).

Figura 12. Distribución de *T. occidentalis* en la península Ibérica. (IUCN disponible en: https://www.iucnredlist.org/species/41483/2953593)

Vive en prados, campos de cultivos y todas aquellas zonas con suelos fácilmente excavables y con abundancia de presas, evitando las zonas rocosas, áridas o de suelos arenosos (Hernández, 2016). El rango altitudinal va desde el nivel del mar hasta los 2.300 m en Sierra Nevada, 1.800 m en la Sierra de Gredos, 1.500 m en el sector oriental de la Cordillera Cantábrica y 1.600 m en Peña Trevinca (Román, 2007b). Es una especie estrictamente hipogea que vive en una compleja red de túneles (Barrionuevo, 2004). Estos túneles pueden ser permanentes o semipermanentes. Los permanentes se encuentran a unos 15-40 cm de profundidad y su construcción produce unos montículos típicos de arena en la superficie (Gorman & Stone, 1990). Los semipermanentes se encuentran a pocos centímetros de la superficie (Gorman & Stone, 1990) y, en algunos casos, estos túneles son tan superficiales que forman los típicos caminos de tierra que utilizan para capturar insectos u otros invertebrados (Miñarro et al., 2012). Los túneles de carácter permanente son usados y mantenidos durante largos periodos de tiempo (Gorman & Stone, 1990). Los túneles los excavan con las patas y expulsan la tierra con la cabeza, formando los típicos montículos en la superficie (Miñarro et al., 2012). Las extremidades anteriores presentan una fuerte adaptación a la actividad excavadora (Bickelmann et al., 2017), estando mucho más desarrolladas que las posteriores, con las manos amplias y con forma de pala (Cabrera, 1914; Blanco, 1998).

El topo ibérico mide de 96 a 130 mm de longitud cabeza-cola y la cola mide entre 19 y 35 mm. La masa corporal oscila entre los 34 y los 66 g (Román, 2007b). Hay dimorfismo sexual, siendo los machos de mayor tamaño y mayor masa corporal que las hembras (Niethammer & Krapp, 1990). La morfología del cuerpo está fuertemente adaptada a la vida subterránea, con un cuerpo cilíndrico y compacto, y con un cuello casi inexistente (Cabrera, 1914; Blanco, 1998). La fórmula dentaria es 3.1.4.3/3.1.4.3 (Román, 2007b). Existen pocos datos sobre la dieta de *T. occidentalis*. Se ha relacionado su abundancia con la biomasa y el número total de lombrices de tierra, siendo ésta su principal fuente de alimentos (García-López de Hierro et al., 2013; Loureiro, 2014). Sin embargo, su dieta podría incluir otros invertebrados como por ejemplo gasterópodos, coleópteros, hormigas, ropalóceros, cochinillas y larvas de insectos (Bas et al., 1978; Niethammer & Krapp, 1990; Chouza Mata & Cid González, 1995). Como

consecuencia de la construcción de los sistemas de galerías, se les considera responsables de dañar los cultivos y son eliminados por los agricultores (Román, 2007b), aunque al alimentarse de invertebrados no causa daños directos a las plantas como sí ocurre con *A. scherman* y *M. lusitanicus* (Miñarro et al., 2012).

Su ciclo reproductivo es discontinuo a lo largo del año, tanto en los machos como en las hembras. Los machos son sexualmente activos de septiembre a mayo, estando inactivos el resto del año y durante la pausa reproductora son estériles. Las hembras también presentan una pausa que va de mayo a septiembre, acompañada de cambios en el útero. Las hembras gestantes aparecen de octubre a abril y las lactantes de noviembre a mayo; la estación de cría va de septiembre a mayo (Jiménez et al., 1990). Una característica muy peculiar de esta especie, que también se da en *T. europaea, Talpa romana* y *Talpa stankovici*, es que las hembras son hermafroditas; presentan ovotestis bilaterales en lugar de ovarios (Jiménez et al., 1993; Sánchez et al., 1996). La parte ovárica contiene oocitos maduros durante el periodo reproductor, siendo funcional. La parte testicular presenta un tamaño variable y no contiene células germinales, pero sí células de Leydig que producen testosterona y células de Sertoli de características fetales (Jiménez et al., 1993, 1996). Las hembras tienen un promedio de 4 crías al año (Román, 2007b). No hay estudios sobre el comportamiento social de los topos ibéricos, pero a partir de datos obtenidos de *T. europaea* y *T. romana* se puede deducir que es una especie sedentaria y territorial. El territorio de las hembras se mantiene constante durante todo el año, mientras que el de los machos aumenta de tres a cuatro veces durante la época reproductora respecto a la no reproductora. Además, el territorio del macho se solapa con el de varias hembras para poder tener más probabilidades de encontrar pareja. Este solapamiento nunca sucede entre individuos del mismo sexo (Stone & Gorman, 1985; Loy et al., 1994).

El topo ibérico es presa de cualquier rapaz o carnívoro de mediano o gran tamaño presentes en la Península Ibérica (Román, 2007b). Forma parte de la dieta del zorro (*V. vulpes*), del gato montés (*F. silvestris*), de la gineta (*G. genetta*) y de la garduña (*M. foina*) (Hernández, 2016).

2.2.3.2. Material analizado

En total se han analizado 104 ejemplares de *T. occidentalis* capturados entre enero de 2011 y agosto del 2013 en las siguientes localidades de Asturias (Figura 13):

1. Ceceda: 1 ejemplar (1♀) (1 adulto)
2. Coceña: 11 ejemplares (4♂♂ y 7♀♀) (2 juveniles, 4 subadultos y 5 adultos)
3. Deva: 1 ejemplar (1♀) (1 adulto)
4. Fresnadiellu: 10 ejemplares (5 ♂♂ y 5 ♀♀) (1 juvenil y 9 adultos)
5. Fresnu: 2 ejemplares (2 ♀♀) (1 juvenil y 1 subadulto)
6. La Fajera: 4 ejemplares (3 ♂♂ y 1 ♀) (1 subadulto y 3 adultos)
7. La Rozada: 1 ejemplar (1 ♀) (1 adulto)
8. Llata: 1 ejemplar (1 ♀) (1 adulto)
9. Merón: 11 ejemplares (7 ♂♂ y 4 ♀♀) (1 juvenil, 7 subadultos y 3 adultos)
10. Oles: 20 ejemplares (13 ♂♂ y 7 ♀♀) (3 juveniles, 4 subadultos y 13 adultos)
11. Poreño: 6 ejemplares (2 ♂♂ y 4 ♀♀) (5 subadultos y 1 adulto)
12. Priesca: 18 ejemplares (11 ♂♂ y 7 ♀♀) (3 juveniles, 5 subadultos y 10 adultos)
13. SERIDA: 8 ejemplares (4 ♂♂ y 4 ♀♀) (1 juvenil, 4 subadultos y 3 adultos)
14. Sta. Marina: 1 ejemplar (1 ♂) (1 adulto)
15. Tuero: 1 ejemplar (1 ♂) (1 subadulto)
16. Vegadali: 8 ejemplares (4 ♂♂ y 4 ♀♀) (1 juvenil y 7 adultos)

Del total de capturas realizadas, 72 correspondieron al año 2011, 26 al 2012 y 6 al 2013. En las Tablas 7 y 8 se muestran los ejemplares analizados en función del año de captura, la estación de captura, el sexo y la edad de los individuos.

Con relación al sexo, se capturaron 55 machos y 49 hembras, identificados sexualmente por la Dra. López Fuster. Los ejemplares fueron clasificados por ella misma en seis clases de edad, del 0 al 5. De acuerdo con ella, la clase 0 correspondía con individuos juveniles, la 1 con subadultos y las 2, 3, 4 y 5 con adultos. En total se identificaron 13 juveniles, 32 subadultos y 59 adultos.

Para la estación de captura se siguió el mismo criterio que con *A. scherman* y *M. lusitanicus*. Así, en invierno se efectuaron 32 capturas, en primavera 37, en verano 32 y en otoño 3.

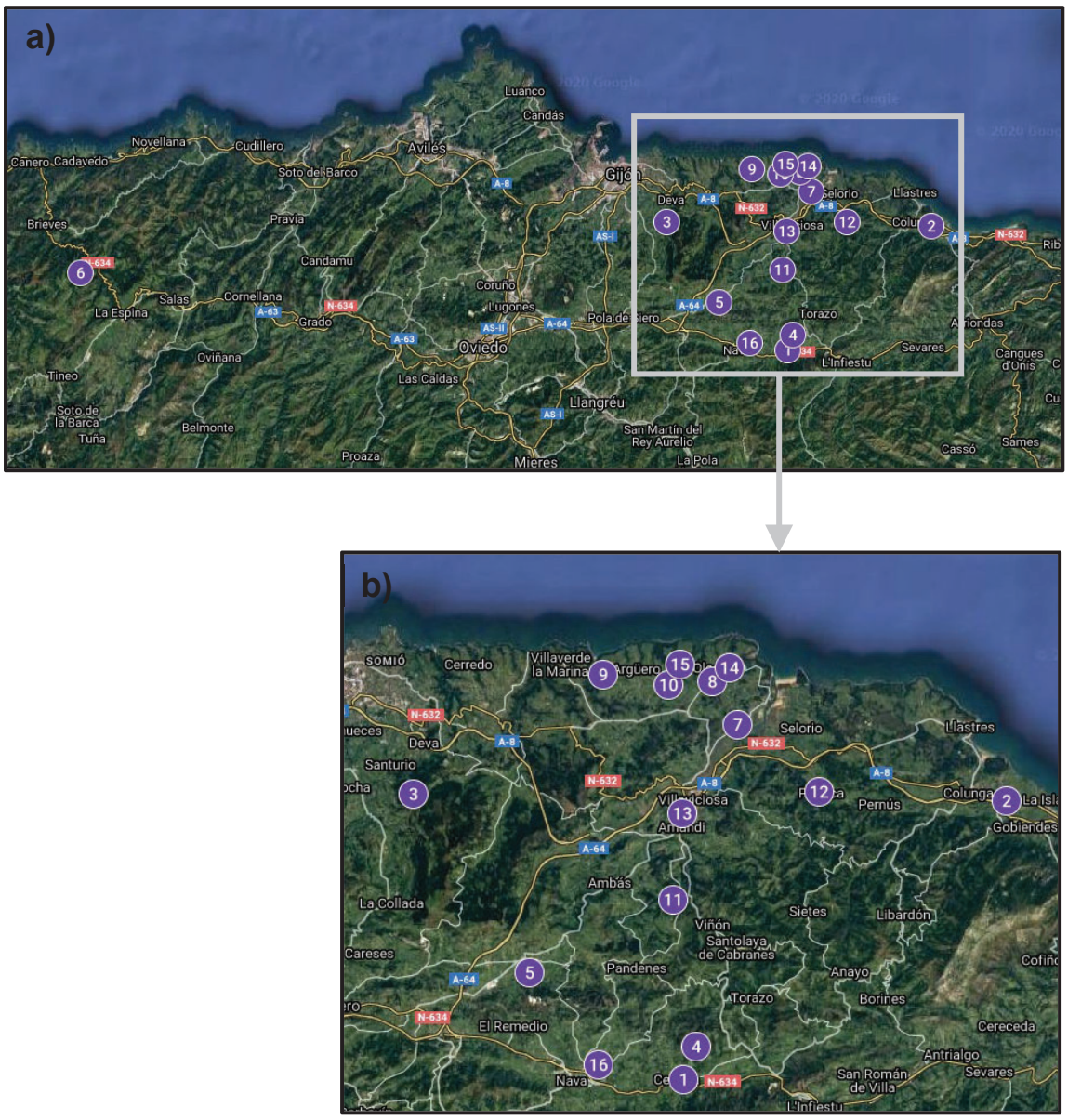


Figura 13. a) Mapa de Asturias con los puntos de captura de *T. occidentalis*. **b)** Región ampliada para facilitar la visualización de todos los puntos. 1) Ceceda; 2) Coceña; 3) Deva; 4) Fresnadiellu; 5) Fresnu; 6) La Fajera; 7) La Rozada; 8) Llata; 9) Merón; 10) Oles; 11) Poreño; 12) Priesca; 13) SERIDA; 14) Sta. Marina; 15) Tuero; 16) Vegadali.

Tabla 7. Distribución de los ejemplares analizados de T. occidentalis en función de la edad y el sexo del hospedador y la estación de captura.

Sexo del hospedador	Estación de captura	Edad del hospedador			
		Juveniles	Subadultos	Adultos	Total
Machos	Invierno	0	4	11	15
	Primavera	6	4	9	21
	Verano	1	10	7	18
	Otoño	0	0	1	1
	Total	7	20	28	55
Hembras	Invierno	1	2	14	17
	Primavera	1	6	9	16
	Verano	4	4	6	14
	Otoño	0	0	2	2
	Total	6	12	31	49

Tabla 8. DIstribución de los ejemplares analizados de *T. occidentalis* en función del año y la estación de captura.

Año de captura	Estación de captura				
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Total
2011	16	30	25	1	72
2012	15	4	5	2	26
2013	1	3	2	0	6
Total	32	37	32	3	104

2.3. CAPTURA DE LOS HOSPEDADORES

Para obtener los hospedadores objeto de estudio se requieren unos conocimientos mínimos de cada especie hospedadora, como son su naturaleza (epigea o hipogea), su etología y los biotopos donde vive.

En el caso de las tres especies estudiadas, todas ellas son de costumbres subterráneas, hecho que requiere una observación completa del terreno a trampear. Se debe detectar la presencia de los montículos de tierra (toperas) o

aberturas que forman dichos micromamíferos al excavar las galerías. Estos montículos pueden ser similares entre *A. terrestris* (Figura 14a) y *T. occidentalis* (Figura 14b), aunque se pueden distinguir observando algunos detalles. Uno de ellos es la distribución de los montículos; la rata topera forma agrupaciones de montículos ya que construye túneles secundarios para expulsar la tierra (Figura 14c), mientras que en *T. occidentalis* siguen una distribución lineal ya que sacan la tierra por encima del túnel (Figura 14d). En las toperas de *T. occidentalis* se pueden ver las denominadas "salchichas de arena", formadas al expulsar la arena con la cabeza hacia adelante (Figura 14b). En cambio, en las de *A. scherman* se pueden detectar trozos de raíces como parte de su alimentación. Además, *T. occidentalis* forma caminos de tierra, que son elevaciones del terreno provocadas por las galerías superficiales que utiliza para capturar insectos (Figura 14e). Por su parte, *M. lusitanicus* forma pequeñas aberturas en el suelo muy características e inconfundibles respecto a las dos especies anteriormente tratadas (Figura 14f) (Miñarro et al., 2012).

La captura de los hospedadores fue realizada por personal del SERIDA (Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario) de Asturias.

Una vez detectados y comprobados que los montículos de tierra podían pertenecer a una de las tres especies objeto de estudio se procedió a instalar las trampas modelo Topcat® (Figura 15). Son un tipo de trampa con resorte que no necesita cebo, ya que se trata de una trampa de intercepción. Se colocan correctamente en la galería y al pasar un individuo hace saltar el resorte, atrapándolo y provocando la muerte casi de inmediato en la mayoría de los casos. La trampa se coloca en la zona de salida de las toperas. Con la ayuda de una ahoyadura se hace un agujero limpio y se coloca la trampa. Se intenta no modificar la estructura de la galería para evitar que los animales puedan detectar posibles cambios que harían que no utilizaran ese túnel, invalidando la trampa. Se tapa con tierra el agujero para impedir la entrada de luz y se marca su posición con una varilla para facilitar su posterior localización (Figura 16).

Las trampas se instalaron durante un cierto tiempo en cada zona de muestreo, siendo revisadas varias veces al día. Esta revisión periódica se hace para evitar que una trampa que se dispara quede inutilizada y para evitar que aumente el grado de descomposición del micromamífero capturado o que sea devorado por otro animal.

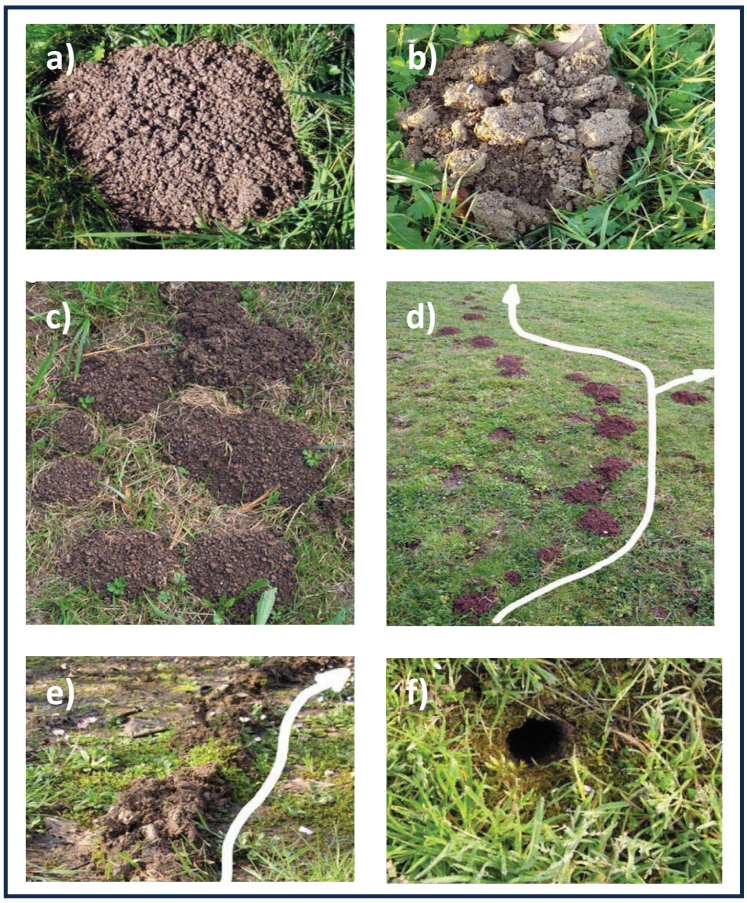


Figura 14. a) Topera de *A. scherman*. **b)** Topera de *T. occidentalis* donde se pueden apreciar las denominadas "salchichas de arena". **c)** Toperas agrupadas de *A. scherman*. **d)** Distribución lineal de las toperas de *T. occidentalis*. **e)** Caminos de tierra de *T.* occidentalis. **f)** Abertura de una galería de *M. lusitanicus* (Miñarro et al., 2012).

Durante la colocación de las trampas se siguió un protocolo de trabajo en el que constaba, la fecha y el lugar de captura, el tipo de biotopo, el número de la trampa y el número total de trampas. Además, se podía hacer constar cualquier otra observación que se creyera oportuna.

Los animales capturados se colocaron en bolsas de plástico con una etiqueta provisional donde se anotó el número de registro, fecha, hora y localidad. Posteriormente fueron sexados y pesados por el personal del SERIDA. El número de registro es el dato más importante ya que permite la identificación de cada animal de forma inequívoca dentro de la colección. Este número consta de cuatro pares de cifras, los tres primeros pares corresponden a la fecha en el orden año, mes y día y el último par indica el número de captura. Por ejemplo, el número 11070501 correspondería a la primera captura del 5 de julio de 2011.

Figura 15. Trampa Topcat® con un ejemplar de *T. occidentalis* capturado.

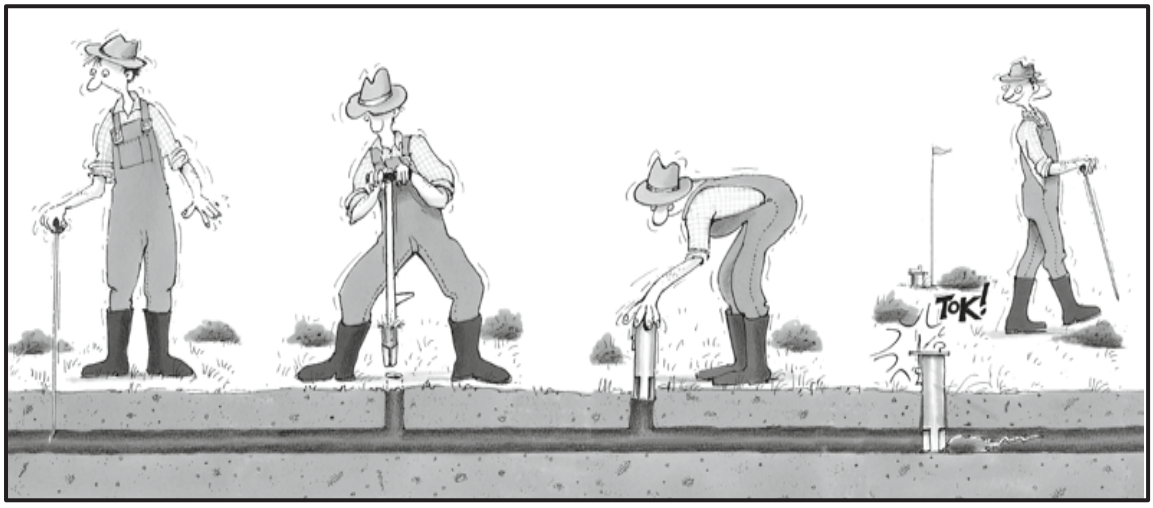


Figura 16. Ilustración donde se muestra el proceso de colocación de una trampa Topcat® (imagen de Andermatt Biocontrol)

2.4. TÉCNICAS HELMINTOLÓGICAS

Las técnicas helmintológicas son todos los procesos que van desde la extracción de los helmintos de sus respectivos microhábitats de parasitación hasta su identificación. Los procedimientos utilizados, que se explican en los siguientes subapartados, son esencialmente los métodos clásicos descritos en obras generales (Langeron, 1949; Nesemeri & Hollo, 1961 o Melvin & Brooke, 1971) y, por otra parte, también ya extensamente descritos en las memorias de Mas-Coma (1976), Feliu (1980) o Casanova (1993), entre otras.

2.4.1. Extracción de los helmintos

Los animales fueron diseccionados por parte del personal del SERIDA para extraer sus vísceras, que es la parte que interesa para hacer el estudio parasitológico. Esta operación es sencilla: consistió en hacer una incisión desde la zona anal hasta el cuello siguiendo la línea ventral mediante unas tijeras y teniendo cuidado de no romper las vísceras para evitar la pérdida o rotura de los helmintos.

Una vez hecha la disección se procedió a extraer las vísceras. Se extrajeron todas a excepción del aparato reproductor ya que no tiene interés parasitológico. El conjunto de las vísceras de cada animal se depositó en una bolsa debidamente identificada con el número de registro y enviadas congeladas a la "Secció Departamental de Parasitologia de la Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació de la Universitat de Barcelona".

En el laboratorio se procedió a hacer el estudio helmintológico, descongelando previamente las muestras. Las vísceras se pusieron en placas de Petri separadamente como sigue: a) corazón y pulmones, b) hígado, c) intestino delgado, d) intestino grueso, e) ciego (solamente para *A. scherman* y *M. lusitanicus*), f) estómago y g) vejiga urinaria (solamente en *T. occidentalis*).

Las vísceras se vaciaron o trocearon con ayuda de pinzas y bisturí y fueron examinadas bajo la lupa binocular para detectar la presencia de parásitos. A medida que aparecían los helmintos se extraían de la placa con un pincel o una

aguja enmangada y se depositaban en otras placas de Petri, más pequeñas, con agua destilada para hacer su contaje y sexado, en el caso que procediese.

Estos resultados provisionales se anotaron en la ficha de cada hospedador. En ellas se indicaba la especie de hospedador, el número de captura y otros datos pertinentes, como fecha y lugar de captura, medidas morfométricas, masa corporal y sexo.

2.4.2. Fijación y conservación de los helmintos

Una vez extraídos los helmintos, éstos deben ser fijados. Esta técnica es distinta según se trate de trematodos, cestodos, nematodos o acantocéfalos. Además, como las muestras estaban sometidas a un proceso de fijación por congelación, únicamente los platelmintos fueron refijados con líquido fijador de Bouin.

Para ello, se hizo una rehidratación previa de los platelmintos con agua destilada durante 30 minutos, el tiempo es variable en función del tamaño del verme. Posteriormente, el helminto se colocó entre porta y cubreobjetos o entre dos portaobjetos según su tamaño, con el líquido fijador de Bouin unos 20 minutos. Transcurrido este tiempo se sumergió el platelminto en una placa de Petri con líquido de Bouin durante unos 30 minutos. Acto seguido, se eliminó el exceso de líquido fijador de Bouin mediante lavados sucesivos con etanol de 70° durante el tiempo necesario.

El líquido fijador de Bouin está constituido por una solución madre de ácido pícrico, formada por solución acuosa saturada de ácido pícrico y formol comercial, a la cual se le añade ácido acético glacial comercial. Las proporciones son las siguientes:

Solución madre de ácido pícrico	
Solución acuosa saturada de ácido pícrico	75 partes
Formol al 40% (comercial)	25 partes
Ácido acético glacial (comercial)	5 partes

Todos los helmintos hallados se guardaron en viales de vidrio en alcohol de 70°. Los viales se identificaban con la respectiva etiqueta con el número de registro, la especie hospedadora, el órgano parasitado y el tipo de parásito (nematodo, cestodo…). Con este sistema de conservación el helminto no sufre ningún tipo de alteración, aspecto clave para su posterior identificación.

2.4.3. Tinción y montaje de los helmintos

Para realizar el estudio ulterior de los helmintos hallados, se realizó una tinción previa a su montaje en el caso de trematodos y cestodos.

Tradicionalmente se ha empleado el carmín borácico de Grenacher para los trematodos y el carmín clorhídrico alcohólico para los cestodos. No obstante, para el presente estudio se utilizó el carmín acético de Semichon dada su simplicidad.

El carmín acético de Semichon se prepara según la siguiente formulación:

Ácido acético glacial	100 ml
Agua destilada	100 ml
Carmín N° 40	c.s.p.

En un matraz de 250 ml se añade el agua y el ácido acético, añadiendo la cantidad suficiente del colorante carmín para obtener una solución saturada. Se deja la mezcla reposar 15 minutos, transcurridos los cuales se introduce en un baño termostático a 95°C sin que llegue a ebullición. Después se saca del baño, se deja enfriar y se filtra para obtener una solución de un color rojo muy vivo. A dicha solución se le añade el mismo volumen de alcohol de 70°. Esta solución se guarda en un frasco topacio de forma indefinida.

El tiempo de permanencia del verme en este colorante depende de su tamaño.

Una vez teñidos los ejemplares, requirieron su diferenciación. Para ello se utilizó una solución diferenciadora ácido-alcohol al 50%. Dicha solución se prepara como sigue:

Etanol de 80°	100 ml
Agua destilada	60 ml
Ácido clorhídrico concentrado	2 ml

La diferenciación se hizo bajo la lupa para poder controlar todo el proceso y evitar que el ejemplar quedase teñido en exceso o demasiado diferenciado, lo que dificultaría la posterior observación de las estructuras internas.

Para el montaje de trematodos y cestodos se utilizó el Bálsamo de Canadá como medio de montaje. Para ello, dado el carácter hidrófobo de esta resina, todos los ejemplares se sometieron a una cadena de deshidratación, pasando por sucesivos alcoholes de lipofilia creciente. El tiempo de deshidratación en cada paso es orientativo y depende del tamaño del platelminto. La cadena que se utilizó consistió en:

Etanol de 80°	5 minutos
Etanol 90°	5 minutos
Etanol 95°	5 minutos
Isopropanol	5 minutos
Xileno	5 minutos

El xileno clarifica el verme lo suficiente para conseguir un buen montaje entre porta y cubreobjetos. Una vez realizado el montaje, se dejó polimerizar el medio a temperatura ambiente.

También se pueden realizar montajes sustituyendo el xileno por un aceite esencial como la creosota o el aceite de clavo, entre otros. Este procedimiento aporta ventajas como un menor endurecimiento del verme y, especialmente, proporcionar una clarificación y turgencia del platelminto que facilita la posterior observación de la organografía interna.

En el caso de los nematodos, éstos no se sometieron a coloración, sino que se efectuaron montajes extemporáneos con lactofenol de Amann, que tiene propiedades clarificantes. Esta técnica sólo requiere que los nematodos estén fijados con etanol de 70°. La composición del lactofenol es:

Ácido fénico	1 parte
Ácido láctico	1 parte
Glicerina anhidra	2 partes
Agua destilada	1 parte

Una vez colocado el nematodo entre porta y cubreobjetos con lactofenol y transcurridos unos minutos ya se pudo hacer la observación al microscopio. Este tipo de montaje permite que el parásito se pueda orientar en la dirección que más interese para su observación, por movimiento lateral del cubreobjetos. Después de su observación al microscopio se tuvo que recuperar el material montado y conservarlo de nuevo en etanol de 70°. Debe controlarse el tiempo de permanencia de la muestra en lactofenol, ya que, si están demasiado tiempo, algunas estructuras pueden quedar clarificadas en exceso y hacerse prácticamente invisibles al microscopio.

2.4.4. Identificación de los helmintos

Todos los procedimientos descritos en los apartados anteriores tienen la finalidad de facilitar la determinación específica de cada helminto. Esta identificación se basa en el reconocimiento de una serie de caracteres morfoanatómicos mediante el microscopio óptico y también, un estudio morfométrico con la ayuda de un micrómetro ocular previamente calibrado.

Las características observadas mediante el estudio microscópico de los helmintos y de los resultados del análisis morfométrico fueron contrastados con los datos existentes en la bibliografía especializada más relevante para cada una de las especies halladas.

2.5. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

2.5.1. Factores analizados

En los análisis estadísticos en ecología parasitaria se pueden considerar dos tipos de factores: intrínsecos y extrínsecos. Los **intrínsecos** son aquellos que dependen del propio hospedador. En cambio, los **extrínsecos** están determinados por las características del ecosistema donde vive el hospedador.

En el presente estudio se consideraron la edad y el sexo del hospedador como factores intrínsecos. Los factores extrínsecos considerados fueron el año de captura, la estación de captura y las variables climáticas (temperatura media, precipitación media y precipitación acumulada).

La climatología está considerada como un factor extrínseco debido a su influencia sobre la capacidad de parasitación de las formas infestantes, huevos o larvas. Las variables climáticas se obtuvieron a partir de los datos mensuales de las estaciones meteorológicas de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) más cercanas a las diferentes localidades de captura de los ejemplares. Se tomaron los valores del año anterior a la captura (Tabla 9).

Tabla 9. Valores climáticos estacionales para Asturias correspondientes al año anterior al de captura y número de hospedadores capturados en cada estación (n) en función de la especie (AS = *Arvicola scherman*; ML = *Microtus lusitanicus*; TO = *Talpa occidentalis*).

	n			Temperatura media (°C)	Precipitación media (mm)	Precipitación acumulada (mm)
	AS	ML	TO			
Invierno 2010	67	25	16	10,1	3,0	269,0
Primavera 2010	124	92	30	15,0	4,0	338,4
Verano 2010	109	110	25	19,9	0,7	65,9
Otoño 2010	127	116	1	12,6	5,5	503,4
Invierno 2011	102	101	15	11,1	2,9	246,0
Primavera 2011	103	95	4	16,2	1,0	88,5
Verano 2011	88	86	5	19,7	1,3	116,2
Otoño 2011	79	72	2	14,6	2,2	199,0
Invierno 2012	16	13	1	10,2	1,4	125,1
Primavera 2012	0	0	3	15,1	3,2	287,7
Verano 2012	0	0	2	19,9	0,8	66,9

2.5.2. Estadísticos utilizados

En los siguientes apartados se hace una pequeña explicación de diferentes conceptos utilizados en estadística. También se efectúa una breve introducción de los diferentes índices de diversidad / uniformidad utilizados en el presente estudio, de la distribución que pueden presentar las comunidades de parásitos, de la frecuencia de distribución del número de especies, y del Índice de Abundancia.

2.5.2.1. Terminología

Antes de empezar a explicar el tratamiento estadístico es conveniente definir algunos términos ecológicos utilizados en el análisis estadístico y en la caracterización de las comunidades helmintianas que son usados habitualmente en parasitología (ver, por ejemplo: Magurran, 1998; Fuentes, 1992; Bush et al., 1997; Fuentes et al., 2005; Sáez-Durán, 2015).

a) Prevalencia

Es el número de individuos hospedadores infestados con uno o más individuos de una misma especie parásita, dividido por el número total de hospedadores analizados (parasitados y no parasitados). Se puede expresar como porcentaje cuando es usado como descriptivo o en forma de fracción cuando se incorpora a un modelo matemático.

$$P = \frac{Nº\ de\ hospedadores\ parasitados}{Nº\ total\ de\ hospedadores}$$

b) Intensidad

Es el número total de individuos de una misma especie parásita dentro de la muestra de hospedadores parasitados por dicha especie. Normalmente se expresa como **Intensidad Media (IM)**, que corresponde al número total de individuos pertenecientes a una especie de parásitos dividido por el número de hospedadores parasitados por esta misma especie parásita.

$$IM = \frac{Nº\ de\ individuos\ parásitos}{Nº\ de\ hospedadores\ parasitados}$$

c) Abundancia

Es el número total de individuos de una misma especie parásita dentro de la muestra de hospedadores analizados, incluyendo a los infestados y a los no infestados. Se suele expresar como **Abundancia Media (AM)**, que es el número de individuos parásitos de una especie dividido por el número total de hospedadores analizados. Los helmintos parásitos tienden a presentar una distribución agregada; esto hace que el parámetro que mejor define la carga parasitaria sea la abundancia y no la intensidad. La abundancia es el parámetro utilizado en el análisis estadístico del presente estudio.

$$AM = \frac{Nº\ de\ individuos\ parásitos}{Nº\ total\ de\ hospedadores}$$

d) Rango

Es el número mínimo y máximo de individuos de una especie parásita en concreto dentro de la población hospedadora analizada.

e) Comunidad helmintiana

Es el conjunto de individuos de todas las especies helmintianas presentes en el total de la población de hospedadora analizada.

f) Infracomunidad helmintiana

Es el conjunto de individuos de todas las especies helmintianas presentes en un determinado individuo hospedador.

g) Población helmintiana

Es el conjunto de individuos de una especie helmintiana en particular en el total de la población hospedadora analizada.

h) Infrapoblación helmintiana

Es el conjunto de individuos de una especie helmintiana en concreto en un determinado individuo hospedador.

i) Riqueza de especies

Es el número de especies parásitas presentes en un individuo hospedador (infracomunidad) o en una población hospedadora (comunidad). Normalmente se utiliza el término **Riqueza media de especies** que es el promedio de la riqueza de especies de la población hospedadora analizada.

j) Especies helmintianas componentes

Son aquellas especies cuya prevalencia dentro de la comunidad helmintiana es igual o superior al 10%.

k) Ciclos biológicos

En el presente estudio se han utilizado dos tipos de ciclos biológicos que se definen en función de si hay o no formas infestantes libres en el medio ambiente (Fuentes et al., 2005, 2007).

Ciclos biológicos FES (Free Environmental Stages): son aquellos ciclos biológicos de parásitos cuya forma infestante para el hospedador es una forma parásita de resistencia libre en el medio ambiente. Incluye a todos los ciclos monoxenos y aquellos ciclos heteroxenos en los cuales el hospedador analizado hace la función de primer hospedador intermediario. En el caso de los ciclos directos de los nematodos se han clasificado en: **geohelmintos** si la forma infestante es una larva de vida libre; **pseudogeohelmintos** si la forma infestante es un huevo que necesita embrionar en el medio externo; y **ageohelmintos** si la forma infestante es un huevo que está embrionado en el momento de su emisión o su embrionación es muy rápida (pocas horas).

Ciclos biológicos No-FES: son aquellos ciclos heteroxenos en los que el hospedador analizado hace la función de hospedador definitivo o de segundo hospedador intermediario. En los parásitos encontrados en las tres especies de micromamíferos analizadas las formas infestantes en los ciclos No-FES se encuentran en invertebrados artrópodos o no artrópodos.

2.5.2.2. Índices de diversidad / uniformidad helmintiana

La biodiversidad o diversidad helmintiana es el concepto que describe la composición de una comunidad helmintiana en términos de número de especies presentes y algún factor que pondera la uniformidad relativa de la distribución de cada especie. Existen diferentes tipos de índice de diversidad / uniformidad.

Los índices utilizados en el presente estudio son los que se han usado tradicionalmente: Índice de Shannon, Índice de Brillouin, Índice de Simpson, Índice de Berger-Parker y Uniformidad de Shannon (Magurran, 1988) (Tabla 10).

Tabla 10. Descripción del comportamiento y características de los índices de diversidad utilizados en el presente estudio.

Medida de diversidad	Capacidad discriminatoria	Sensibilidad al tamaño muestral	Componente de diversidad
Índice de Shannon	Moderada	Moderada	Riqueza
Índice de Brillouin	Moderada	Moderada	Riqueza
Índice de Simpson	Moderada	Baja	Dominancia
Índice de Barger-Parker	Pobre	Baja	Dominancia
Uniformidad de Shannon	Pobre	Moderada	Uniformidad

a) Índice de Shannon (H)

Se basa en la información obtenida a partir de una medida de la riqueza de especies helmintianas.

$$H = -\sum Pi \; ln \; Pi$$

$$Pi = Ni/N$$

Ni es el número de helmintos recogidos de la especie i en el conjunto de todas las infrapoblaciones de la especie parásita *i*.

N es el número total de helmintos de la comunidad helmintiana del hospedador.

H puede variar entre 0 y 5. Cuando *H = 0* indica que todos los individuos parásitos encontrados pertenecen a la misma especie. Cuando *H = 5* indica que todos los individuos parásitos encontrados son de especies diferentes.

Este índice asume que todas las especies parásitas están representadas en la muestra, lo cual puede suponer una importante fuente de error en el caso que la proporción de especies representada sea baja.

b) Índice de Brillouin (HB)

Este índice permite medir la diversidad específica de las infracomunidades helmintianas, ya que se utiliza en aquellos casos en que la comunidad helmintiana está completamente censada con cada uno de los individuos representados. Este es el único índice recomendado para infracomunidades al recogerse todos los helmintos o la muestra en su totalidad. Se basa en la riqueza de las especies.

$$HB = \frac{ln\, N! - \sum ln\, Ni!}{N}$$

El valor de este índice raramente excede de 4,5. No existe una prueba de significación ya que la diversidad se calcula para una colección. Cada valor del índice es significativamente diferente de cualquier otro de forma inmediata. En este índice no hay incertidumbre, describe una colección de especies conocida, en ocasiones puede suceder que la muestra con mayor número de individuos (N) sea más diversa que la de mayor riqueza y uniformidad. La estimación de la diversidad es similar a la obtenida con el Índice de Shannon, pero con un resultado inferior.

Con este índice se pueden calcular los valores particulares de cada infracomunidad, además de los valores globales de la comunidad. Este índice es el único que se ha podido utilizar en las pruebas y tests estadísticos a nivel de infracomunidad helmintiana.

c) Índice de Simpson (S)

Es un índice de dominancia ponderado según la abundancia de las especies helmintianas más comunes. Se basa en la proporción de los helmintos encontrados de cada una de las especies de la comunidad helmintiana, frente al número de helmintos recogidos del total de las poblaciones helmintianas presentes en la especie hospedadora analizada.

$$S = 1 - \sum \left(\frac{Ni}{N}\right)^2$$

El valor de *S* varía de 0 a 1 y su significado es análogo al Índice de Shannon. Debe tenerse en cuenta que en este índice si una especie es muy dominante sobre el resto produce una disminución importante sobre la diversidad neta del hospedador. Esta limitación es importante cuando se compara la diversidad específica de dos hospedadores, ya sean de diferentes poblaciones de la misma especie o de especies hospedadoras diferentes.

d) Índice de Berger-Parker (D)

Es otra forma de medir la dominancia que expresa la importancia de las especies helmintianas más abundantes.

$$D = 1 - \left(\frac{Nmax}{N}\right)$$

Nmax es el número de individuos de la especie helmintiana más abundante.

D puede variar entre 0 y 1. Si *D = 0* indica que todos los individuos parásitos hallados pertenecen a la misma especie, so *D = 1* todos los individuos parásitos encontrados son de diferente especie helmintiana.

e) Uniformidad de Shannon (E)

El Índice de Shannon, como medida de heterogeneidad, considera la uniformidad de la abundancia de especies helmintianas. Se pueden calcular por separado medidas adicionales de uniformidad, tomándose como tal la relación entre diversidad observada (*H)* y diversidad máxima *(Hmax).*

$$E = \frac{H}{Hmax} = \frac{H}{ln\,(n)}$$

E puede variar entre 0 y 1. Cuando *E = 1* todas las especies tienen la misma abundancia.

Como en el caso del Índice de Shannon, este índice considera que todas las especies presentes en la comunidad helmintiana se han contabilizado en la muestra.

2.5.2.3. Distribución de frecuencias

Es la forma como se encuentran distribuidos los individuos parásitos de una población helmintiana dentro de la población hospedadora analizada. En el presente estudio, la distribución de frecuencias de las especies componentes se calculó mediante el Índice de Lefkovitch (Lefkovitch, 1966).

$$L = \frac{1}{45}\ tan^{-1}\left(\frac{S^2}{X}\right) - 1$$

S^2 es la varianza. *X* es el promedio de la especie helmintiana considerada dentro de la muestra hospedadora analizada.

El valor de *L* varía de -1 a +1. Cuando *L = 0* corresponde a una Distribución de Poisson; si *L < 0* corresponde a una Distribución Binomial Positiva; si *L > 0* corresponde a una Distribución Binomial Negativa.

a) Distribución de Poisson

Se caracteriza por no estar influenciada por ningún fenómeno particular derivado de la relación parásito – hospedador. La población helmintiana presenta una distribución al azar.

b) Distribución Binomial Positiva, Regular o Subdispersa

Está caracterizada por la distribución uniforme de la población helmintiana. Esta distribución está condicionada por fenómenos particulares como, por ejemplo, la pequeña dimensión del microhábitat ocupado por el parásito.

c) Distribución Binomial Negativa, Contagiosa o Sobredispersa

Se caracteriza por la distribución agregada de la población helmintiana. Esta distribución está condicionada por fenómenos particulares como, por ejemplo, la diferente respuesta inmunitaria de los hospedadores frente al helminto.

2.5.2.4. Frecuencia de distribución del número de especies

La frecuencia de distribución hace referencia a las infracomunidades de las especies estudiadas, es decir, el número de especies helmintianas que presenta cada individuo para cada una de les especies estudiadas. Este parámetro se expresa como un porcentaje que muestra la frecuencia del número de especies que componen las infracomunidades: % de individuos de una especie de hospedador con ninguna especie; % de individuos de esa misma especie de hospedador con una especie helmintiana, etc. Hasta llegar al % de hospedadores con la mayor infracomunidad, es decir, con el mayor número de especies helmintianas. Este parámetro muestra la distribución del conjunto de especies que componen la comunidad helmintiana dentro de la población hospedadora.

2.5.2.5. Índice de Abundancia

El Índice de Abundancia (IA) permite establecer una clasificación muy general de las especies de la comunidad helmintiana en base a su abundancia media dentro de la comunidad. Se calcula para cada población helmintiana con la siguiente fórmula:

$$IA = A_m \times M$$

A_m es la abundancia media de esa especie;

M es un factor de maduración que puede tener dos valores, M = 1, si al menos un individuo de la población parásita es un adulto, y M = 0*,* si no se ha encontrado ninguna forma adulta dentro de la población parásita.

La interpretación de los valores resultantes sigue el esquema propuesto por Bush (1973) y modificado por Pence & Eason (1980). Se distinguen cuatro clases de especies dentro de la comunidad helmintiana del hospedador estudiado en un hábitat determinado: especies dominantes, especies codominantes, especies con éxito en la migración, y especies sin éxito en la migración.

a) Especies dominantes

Las especies dominantes son aquellas especies con un IA > 1. Están consideradas como las más características de la comunidad helmintiana.

b) Especies codominantes

Las especies codominantes son aquellas cuyo Índice de Abundancia se encuentra entre los valores 0,1 ≤ IA ≤ 1. Son especies que contribuyen significativamente a la comunidad pero que también pueden desarrollarse en otros hábitats.

c) Especies con éxito en la migración

Aquellas especies con un Índice de Abundancia que oscila entre 0 < IA < 0,1 se consideran especies con éxito en la migración. Son especies infrecuentes, pero con capacidad de evolucionar y reproducirse; no se consideran características de la comunidad helmintiana ya que pertenecen a otros hábitats.

d) Especies sin éxito en la migración

Las especies cuyo Índice de Abundancia es IA = 0 son las especies sin éxito en la migración. Son especies características de otras comunidades que consiguen acceder al microhábitat de parasitación, pero sin poder cambiar de estadio evolutivo o reproducirse.

El Índice de Abundancia no se calcula para aquellas especies en las que el hospedador analizado actúa como hospedador intermediario, ya que, al presentarse solamente formas larvarias de esa especie parásita, éstas siempre tendrían un IA = 0, y por tanto serían consideradas, de forma inadecuada, como especies sin éxito en la migración.

2.5.3. MÉTODOS Y TÉCNICAS ESTADÍSTICAS

En este apartado de la memoria se describen los métodos y técnicas estadísticas utilizados en el presente estudio (Parker, 1981; Sokal & Rohlf, 1981; Combes, 1987; Zar, 2010). También se explican las características de las variables consideradas, las bases de datos confeccionadas y el software utilizado para realizar el estudio helmintoecológico.

2.5.3.1. Datos y pruebas paramétricas y no paramétricas

Los datos **paramétricos** son aquellos que siguen una distribución normal y que cumplen los supuestos de homocedasticidad (la varianza de los errores es constante), linealidad, no multicolinealidad y no autocorrelación. Estos datos pueden ser utilizados en las pruebas y tests estadísticos de tipo paramétrico.

Los datos **no paramétricos** son aquellos que no siguen una distribución normal o que la siguen, pero no cumplen algunos de los supuestos mencionados anteriormente.

Los parásitos en general presentan una distribución agregada. Como consecuencia están considerados como datos no paramétricos. Para poder estudiarlos se deben usar pruebas y tests no paramétricos, o bien transformar los datos para que sigan una distribución normal (normalizarlos) y poder usar pruebas y tests paramétricos para su análisis.

2.5.3.2. Tipos de variables

- **Variables dependientes:** son aquellas variables objeto de estudio o investigación de las que se desea conocer la influencia que ejercen otras variables sobre ellas.

- **Variables independientes:** son aquellas variables estudiadas que no dependen de otras variables, de ahí su carácter independiente.

- **Variables cualitativas**: son aquellas variables dependientes o independientes que expresan una cualidad o característica. Pueden ser dicotómicas cuando únicamente pueden tomar dos valores, o politómicas cuando pueden tomar 3 o más valores. Además, también pueden ser nominales o categóricas si sus valores no se pueden someter a un criterio de orden intuitivo, y ordinales si la variable puede tomar distintos valores ordenados siguiendo una escala establecida o intuitiva.

- **Variables cuantitativas:** son aquellas variables dependientes o independientes que toman cantidades numéricas como argumento. Además, estas variables pueden ser **discretas** si presentan separaciones o interrupciones en la escala de valores que pueden tomar (valores numéricos enteros) y **continuas** cuando pueden adquirir cualquier valor dentro de un intervalo especificado de valores (valores numéricos no enteros).

En la Tabla 11 se muestran las variables utilizadas en el presente estudio y sus características.

Tabla 11. Variables utilizadas en el presente estudio y sus principales características

Variables dependientes	Características
Prevalencia	Cuantitativa continua / cualitativa dicotómica
Abundancia	Cuantitativa discreta
Riqueza de especies	Cuantitativa discreta
Índice de Brillouin	Cuantitativa continua
Variables independientes	**Características**
Sexo del hospedador	Cualitativa dicotómica nominal
Edad del hospedador	Cualitativa politómica nominal
Año de captura	Cualitativa politómica nominal
Estación de captura	Cualitativa politómica nominal
Variables climáticas	Cuantitativas continuas

La prevalencia se puede considerar como una variable cuantitativa si se expresa como porcentaje o como cualitativa dicotómica. En este último caso los valores pueden ser 1 o 0, dependiendo de si presentan o no el carácter que define la variable (presencia o ausencia de parásitos). En ambas consideraciones se definen como variables no paramétricas. Entre el resto de variables cuantitativas, los valores de abundancia y de riqueza se han considerado como no paramétricos. En cambio, los valores del índice de Brillouin y de las variables climáticas han sido considerados como paramétricos. Siempre se debe comprobar mediante las pruebas de inferencia estadística el carácter paramétrico o no paramétrico de las variables.

2.5.3.3. Bases de datos

Los datos multidisciplinares obtenidos en el presente estudio fueron recopilados en dos bases de datos: una base de datos parasitológica y una base de datos climatológica.

- **Base de datos parasitológica:** se hizo mediante el software MsExcel 2019. Se utilizó una página para cada una de las especies de hospedador. En ella se registraban los datos del individuo hospedador (número de captura, año de captura, estación de captura, localidad de captura, masa corporal, edad y sexo) y los parásitos hallados en él una vez identificados de forma definitiva.

- **Base de datos climatológica:** se hizo mediante el software MsExcel 2019. En este software se registraron las variables climáticas de interés para cada estación climatológica utilizada en el presente estudio (temperatura media, precipitación media y precipitación media acumulada) para el año anterior al de la captura.

2.5.3.4. Software estadístico

El software que se utilizó en el presente fue:

- **Ms Excel 2019** fue utilizado para calcular los parámetros siguientes: prevalencia, abundancia, rango, índices de diversidad/uniformidad, riqueza de especies, distribución de frecuencias y frecuencia de distribución del número de especies.

- **SPSS 26.0 IBM para Windows** se utilizó para el cálculo de todas las pruebas y tests estadísticos paramétricos y no paramétricos.

2.5.3.5. Estadísticos de contraste, grados de libertad y significancia estadística

En cada una de las pruebas y tests calculados se dan 3 valores: el valor de **estadístico de contraste** utilizado, el valor de **significancia estadística** y el número de **grados de libertad**.

- **Estadístico de contraste:** es el estadístico calculado por una prueba o test estadístico a partir de los datos de una muestra.

- **Grados de libertad:** en estadística, los grados de libertad (df, degrees of freedom) es un estimador de categorías independientes en una prueba o test estadístico. Se utiliza para definir las distribuciones estadísticas y poder realizar las pruebas de contraste de hipótesis. Se calcula mediante la fórmula *n-1*, siendo n el número de categorías de la variable analizada.

- **Significancia estadística:** El proceso de aceptación o rechazo de la hipótesis nula conlleva un riesgo. Este riesgo se cuantifica con el valor *p* y representa la probabilidad de aceptar la hipótesis alternativa como cierta, cuando la hipótesis nula es la cierta. Este valor se sitúa en $p<0,05$, es decir, que la probabilidad de no equivocarse al rechazar la hipótesis nula es superior al 95%.

Los **tests** utilizados en el presente estudio fueron del tipo no paramétrico, los datos no siguen una distribución normal, y se usaron los siguientes:

- **Test de Chi Cuadrado:** es una prueba no paramétrica que permite encontrar relación o asociación entre dos variables cualitativas. El estadístico de contraste es χ^2. Se utilizó para la comparación de prevalencias. Este estadístico, cuando es significativo indica que existe alguna relación entre las variables analizadas.

- **Test de Mann-Whitney:** es una prueba no paramétrica utilizada para la comparación de dos medias. La variable dependiente debe de ser cuantitativa y la independiente cualitativa dicotómica. El estadístico de contraste es *U*. Se utilizó para la comparación de las abundancias según el sexo con las especies componentes.

- **Test de Kruskal-Wallis:** es una prueba no paramétrica utilizada para la comparación de más de dos medias. La variable dependiente debe ser cuantitativa y la independiente cualitativa politómica. El estadístico de contraste es χ^2. Este estadístico, cuando es significativo indica que hay diferencias entre las categorías, pero no las categorías que difieren. Fue utilizado para la comparación de las abundancias de las especies componentes según la edad, el año y la estación de captura.

- **Regresión Logística Binaria (RLB):** es otra prueba no paramétrica entre una variable dependiente cualitativa dicotómica, con los valores 0 (ausencia del carácter) y 1 (presencia del carácter), y una o más variables independientes, que pueden ser cualitativas o cuantitativas. El resultado de este estadístico es un modelo donde están incluidas aquellas variables independientes que tienen una influencia significativa sobre la variable dependiente. Este modelo explica la probabilidad del efecto de cada variable independiente sobre la variable dependiente. Existen diferentes métodos para calcular la RLB; en nuestro

estudio se utilizó el *Adelante de Wald*. En la presente memoria se aplicó para ver qué variables independientes (año y estación de captura, sexo y edad de los hospedadores) tenían efecto sobre las prevalencias de las especies componentes.

- **Coeficiente de correlación de Spearman:** es una prueba de correlación lineal no paramétrica. Se utilizó para correlacionar las variables climáticas del año anterior a la captura (temperatura media, precipitación media y acumulada) con la riqueza de especies, el Índice de Brillouin, las prevalencias y las abundancias de las especies componentes. Las prevalencias se transformaron logarítmicamente, siendo *X* la expresión centesimal del porcentaje:

$$\log \frac{X}{1-X}$$

2.6. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO ECOTOXICOLÓGICO

Para poder realizar el estudio ecotoxicológico de las muestras de los especímenes de *Ityogonimus* spp. y de los tejidos de *T. occidentalis* es necesario que las muestras se conserven correctamente congeladas. Posteriormente deben ser procesadas químicamente para poder cuantificar los elementos químicos de interés para los objetivos del presente estudio. Es necesario el uso de material de acero inoxidable en todas las técnicas que impliquen la manipulación de los hospedadores o los parásitos.

2.6.1. Obtención y conservación de las muestras

Para el estudio ecotoxicológico se analizaron un total de 36 ejemplares de *T. occidentalis* capturados entre febrero de 2011 y febrero de 2012.

Para localizar los individuos del género *Ityogonimus* en el intestino se diseccionaron los ejemplares mediante las técnicas helmintológicas explicadas en el apartado 2.4. Se hallaron 14 ejemplares de *T. occidentalis* parasitados por este helminto. Los parásitos se almacenaron en viales de cristal a -20°C

correctamente etiquetados. A su vez, se recogieron muestras renales y hepáticas de unos 150 mg de peso fresco (p.f.), que fueron conservadas del mismo modo que los parásitos.

Los elementos químicos estudiados fueron el mercurio (Hg), el plomo (Pb) y el cadmio (Cd). El hecho de encontrar animales infestados (n=14) y no infestados (n=22) permitió el estudio de estos contaminantes en los parásitos y en los tejidos tanto de los hospedadores parasitados como de los no parasitados.

2.6.2. Procesado y mineralización de las muestras

Antes de realizar el procesado de todas las muestras (tanto de los parásitos como las tisulares) debe conocerse su peso exacto con una precisión de décima de milígramo. Cada muestra fue digerida en bombas de teflón con 2 ml de ácido nítrico (HNO_3) (Merck, Suprapur) y 1 ml de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Panreac) en una estufa a 90°C durante 24 horas. Todos los materiales empleados en este proceso fueron previamente limpiados con una solución de ácido nítrico durante 2 horas a 90°C. Finalizada la digestión, las muestras digeridas se diluyeron con 30 ml de agua MilliQ y se pesaron para conocer el peso de la solución final obtenida.

Al mismo tiempo se prepararon 10 blancos siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero sin añadir ninguna muestra.

El estándar utilizado (obtenido a partir de tejido muscular de *Squalus acanthias*) fue el DORM-2, National Research Council (Canada) con valores certificados para los elementos analizados. Las muestras se procesaron del mismo modo que las muestras biológicas.

2.6.3. Análisis y cuantificación de los elementos químicos por ICP-MS

Todo el proceso analítico fue estandarizado y validado en los CCiTUB (Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona). Los blancos y estándares se utilizaron respectivamente para determinar los límites de detección y la precisión de los resultados obtenidos.

Las concentraciones totales de los elementos en las soluciones digeridas se obtuvieron mediante ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectometry) (PerkinElmerElan 6000) y posteriormente fueron transformadas a concentraciones de dichos elementos en las muestras biológicas analizadas.

Los límites de detección hallados siempre fueron inferiores a 1 ng/ml y la precisión de los resultados siempre fue superior al 95% para los tres elementos de estudio (mercurio, plomo y cadmio) respecto al estándar utilizado. Estos límites de detección se cuantificaron para cada elemento a partir de los blancos, correspondiendo a uno de los criterios habitualmente utilizados en este tipo de estudios, que es la suma de la media de los blancos más tres veces la desviación estándar de los mismos.

Los factores de bioacumulación (BF) para los tres elementos se calcularon según Sures (Sures et al., 1999). Se utilizaron los estadísticos de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis con el test post Hoc Dunn en lugar de tests paramétricos debido a que las muestras no seguían una distribución normal tras la transformación logarítmica. Los tests se realizaron con el programa Prism 5 y se aplicó un nivel de significancia de $p<0,05$.

2.7. METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO ULTRA-ESTRUCTURAL

Para poder observar correctamente los orgánulos y estructuras del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus* al microscopio electrónico de transmisión (MET) es necesario que el tratamiento de las muestras preserve las diversas estructuras para que las posteriores observaciones sean lo más parecidas a las condiciones *in vivo*. En este proceso se distinguen las siguientes etapas:

1. Fijación
2. Deshidratación
3. Infiltración
4. Inclusión
5. Microtomía y ultramicrotomía
6. Contrastado
7. Observación al MET

2.7.1. Fijación *in vivo*

La fijación consiste en introducir los ejemplares de *I. ocreatus* obtenidos tras disección de sus hospedadores (*T. occidentalis*) en una solución fijadora. Esta solución está formada por varios fijadores. Cada fijador tiene unas características químicas que hacen que reaccione de forma diferente a las biomoléculas (glúcidos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) que forman los organismos. Para el estudio del espermatozoide de este digénido se utilizaron dos fijadores: glutaraldehído tamponado con cacodilato de sodio y tetróxido de osmio en el mismo tampón. El primero permite la estabilización de los componentes proteicos, mientras que el segundo estabiliza y tiñe los componentes lipídicos, en concreto, los ácidos grasos insaturados.

En primer lugar, se efectuó una prefijación con glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato sódico 0,1M (pH = 7,4), durante 2 h en frío (4°C). Este primer paso permite la estabilización de las proteínas. Esta solución fijadora se preparó extemporáneamente como sigue:

Glutaraldehído 25 %	1 ml
Cacodilato sódico 0,2M (pH = 7,4)	5 ml
Agua MilliQ	4 ml

Transcurrido el tiempo de la fijación se hicieron 3 lavados con tampón cacodilato sódico 0,1M (pH = 7,4) de 30 minutos cada uno.

La solución de lavado del tampón cacodilato 0,1M (pH = 7,4) se consiguió por dilución 1/2 de la solución madre de tampón cacodilato 0,2M (pH = 7,4) con agua MilliQ.

La segunda fase de la fijación o postfijación se hizo con una solución de tetróxido de osmio al 1% en tampón cacodilato 0,1M (pH = 7,4) durante 1 h en frío (4°C). Esta solución mantiene los lípidos y permite el contrastado de los lípidos insaturados por parte del osmio. Esta solución fijadora se preparó extemporáneamente como sigue:

Tetróxido de osmio 4% (solución acuosa)	1 ml
Cacodilato de sodio 0,2M (pH = 7,4)	2 ml
Agua MilliQ	1 ml

Transcurrido este tiempo, se efectuaron 3 lavados con cacodilato de sodio 0,1M (pH = 7,4) de 30 minutos cada uno. Todo este proceso se realizó bajo la campana extractora de gases debido a la alta toxicidad de los productos empleados, en especial los vapores de tetróxido de osmio. Tras la post-fijación con tetróxido de osmio también se pueden aplicar lavados con agua MilliQ. En algunos casos se han conseguido mejores resultados en las observaciones posteriores, reduciendo la posibilidad de apreciar precipitados de osmio.

El uso de tampones a pH fisiológico asegura que el pH celular se mantiene constante durante la fijación, evitando la precipitación de las proteínas y los ácidos nucleicos.

La fijación es un proceso muy rápido que empieza cuando el fijador entra en la célula, aislándola de las condiciones externas. Por ello, el tiempo que transcurre entre que se obtiene la muestra y que el fijador penetra en las células debe ser el menor posible. Para conseguir una fijación homogénea el bloque de tejido a fijar debe tener un volumen máximo de 0,5 mm^3. Es por ello que diversos

ejemplares de tamaño considerable han sido seccionados durante la fijación con glutaralhedído. Para ello y para garantizar unos buenos resultados es preciso conocer la morfoanatomía del verme en cuestión.

2.7.2. Deshidratación, infiltración e inclusión

Dado que los fijadores utilizados son de naturaleza acuosa se requirien unos pasos previos a la inclusión, ya que las resinas epoxi que se utilizan en esta última etapa no se mezclan con disoluciones de base acuosa. Estas etapas son la deshidratación y la infiltración.

La deshidratación se realizó mediante una cadena de etanoles de diferentes gradaciones, finalizando con un último pase en óxido de propileno. El etanol reacciona con el tetróxido de osmio, produciendo un precipitado denso en los tejidos. El óxido de propileno se utiliza en tejidos de difícil inclusión como son los trematodos. Se mezcla muy bien con las resinas epoxi y, si quedan trazas de él, se incorporan en el medio de inclusión. Este óxido es muy volátil, por lo que hay que vigilar que el medio no se deshidrate durante los procesos de transferencia. A continuación, se indica la cadena de deshidratación utilizada, con los tiempos para cada paso:

Etanol 50°	15 min
Etanol 70°	15 min
Etanol 80°	15 min
Etanol 90°	15 min
Etanol 96°	15 min
Etanol absoluto	2 x 30 min
Óxido de propileno	1 h

La infiltración consiste en sustituir el óxido de propileno por la resina epoxi Spurr. Se realizó de manera progresiva para garantizar que la resina penetrase perfectamente y de forma homogénea en los tejidos del material a estudiar. Se utilizó la resina y el óxido de propileno en diferentes proporciones, tal como se indica en la Tabla 12. Todo este proceso se debe realizar en agitación, ya sea orbital o tangencial, para garantizar la correcta infiltración.

Tabla 12. Protocolo de infiltración del material. C_3H_6O, óxido de propileno; o/n, over night; TA, temperatura ambiente; v/v, volumen/volumen.

Resina (Spurr)	C_3H_6O	Tiempo	Temperatura	Agitación
1 v/v	3 v/v	2 h	TA	Sí
2 v/v	2 v/v	3 h	TA	Sí
3 v/v	1 v/v	3-4 h	TA	Sí
100%	0%	4-5 h	TA	Sí
100%	0%	o/n	TA	Sí

La inclusión de los materiales en bloques de resina se realizó en moldes de caucho-silicona debidamente etiquetados. La polimerización se hizo en la estufa a 60 °C durante 48-72 horas, obteniéndose los bloques al final del proceso.

2.7.3. Microtomía y ultramicrotomía

Antes de empezar a hacer los cortes semifinos de las muestras hay que eliminar la resina sobrante de los bloques. Este proceso se denomina piramidado y en el presente estudio se realizó con el piramidotomo *Reichert TM-60*. Así se conseguió llegar hasta la muestra, dejándola lista para proceder con los cortes semifinos.

Los cortes semifinos se hicieron con el ultramicrótomo *Reichert-Jung Ultracut E* utilizando cuchillas de vidrio. Las cuchillas de vidrio se obtuvieron con el equipo *Knifemaker EM KMR2* de la marca Leica. Estas cuchillas permiten hacer cortes de entre 0,5 y 1 µm de grosor.

Estos cortes semifinos de la muestra, de 1 µm de grosor, se colocaron sobre un portaobjetos y se tiñeron con azul de metileno (1% azul de metileno y 1% de bórax) durante 10 segundos. Transcurrido el tiempo de tinción se hizo un lavado con agua para eliminar el exceso de colorante. Los cortes se dejaron secar y las preparaciones quedaron listas para su observación al microscopio óptico. Este proceso es importante para poder localizar las zonas de estudio y acotar el área de corte para los cortes ultrafinos.

Una vez se localizó la zona de interés, se repidamidaron los bloques en aquellos casos que fue necesario, procediendo a hacer los cortes ultrafinos con el mismo ultramicrotomo, pero usando cuchillas de diamante. Estos cortes tuvieron un grosor de 60 nm. Los cortes quedaron recogidos en una “piscina” adosada a la cuchilla con agua MilliQ. Por medio de un código de colores se puede saber el grosor de los cortes obtenidos, interesándonos aquellos que presentaron un tono plateado (entre 60 y 90 nm).

Los cortes fueron estirados con vapores de xilol. Por medio de un pincel se cogieron los cortes de la “piscina” y se colocaron sobre un papel de filtro donde previamente se virtió una gota de xilol. Una vez estirados los cortes se colocaron sobre rejillas de cobre de 200 mesh para el contrastado o en rejillas de oro para aplicar la técnica citóquimica de Thiéry. Estas rejillas se guardaron en cámaras con una atmósfera controlada hasta su utilización.

2.7.4. Contrastado y observación al microscopio electrónico de transmisión

Para poder observar los cortes ultrafinos al microscopio electrónico de transmisión (MET) se requiere un contrastado según el método de Reynolds (1963). Para ello, primero se utilizó una solución acuosa de acetato de uranilo al 2% durante 30 min a oscuras. Transcurrido este tiempo se lavaron las rejillas con agua MilliQ y se secaron con papel Whatman. Después se empleó una solución de citrato de plata durante 10 min en cámaras herméticas. Se recomienda el uso de perlas de hidróxido de sodio para absorber la humedad presente en la cámara. Se hizo otro lavado con agua MilliQ y las rejillas se secaron con papel absorbente.

El acetato de uranilo al 2% se obtuvo disolviendo 0,1 g de acetato de uranilo en 5 ml de agua MilliQ, esperando 30 min para conseguir una correcta disolución del soluto.

El citrato de plomo se obtuvo al mezclar 1,33 g de nitrato de plomo (II) ($Pb(NO_3)_2$) con 1,76 g de citrato de sodio dihidrato ($Na_3(C_6H_5O_7)\cdot 2H_2O$) y con 30 ml de agua MilliQ. Esta mezcla se dejó en agitación durante 30 min.

Posteriormente, se añadieron 8 ml de hidróxido de sodio (NaOH) 1N en 50 ml de agua MilliQ.

Una vez contrastadas las rejillas ya pueden ser observadas al MET. En este caso se utilizó el equipo *JEOL 1010* con una aceleración de 80 Kv a 600 voltios de potencia. Las observaciones se capturaron con una cámara digital asociada al MET. Las micrografías se guardaron en formato TIFF para analizarlas en el laboratorio con más detalle.

2.7.5. Técnica de Thiéry

Esta técnica, descrita por Jean Paul Thiéry (Thiéry, 1967), permite el contrastado de polisacáridos y glicoproteínas intracelulares como es el caso del glucógeno, un polisacárido de reserva celular de interés en este estudio. Para hacer esta tinción se utilizaron las rejillas de oro para colocar los cortes ultrafinos.

Para realizar esta técnica primero se sumergieron las rejillas en una solución de ácido peryódico al 10%, usando como solvente agua MilliQ, durante 20-30 min. Después se hicieron 3 lavados de 10 min con agua MilliQ. Acabados los lavados, las rejillas se sumergieron en una solución de tiocarbohidrazida al 0,2% más una solución de ácido acético al 20% durante 24 h para polisacáridos o durante 48-72 h para glicoproteínas. En nuestro estudio se realizó una incubación de 30-45 min para evidenciar el glucógeno. Tras el tiempo de incubación se hicieron los siguientes lavados (en todos los casos el solvente fue agua MilliQ):

Ácido acético 10%	2 x 1 min
Ácido acético 10%	2 x 15 min
Ácido acético 5%	5 min
Ácido acético 1%	5 min
Agua MilliQ	3 x 10 min
Agua MilliQ gota a gota	≈ 1 min

Cuando faltaban 20-30 min para acabar los lavados con acético se preparó una solución de proteinato de plata al 1% (solvente agua MilliQ). Una vez finalizados los lavados se sumergieron las rejillas en esta solución durante 30 min en oscuridad absoluta. Al acabar se hicieron dos lavados con agua MilliQ de 10 min cada uno. Las rejillas se secaron con papel de Whatman y ya estaban listas para su observación al MET, en las condiciones explicadas en el apartado 2.7.4.

CAPÍTULO TERCERO

RESULTADOS

3. RESULTADOS

En este tercer capítulo de la memoria se van a exponer los resultados obtenidos. En primer lugar, se detalla la clasificación sistemática de todos los parásitos hallados y sus binomías de forma muy breve. También se explican los resultados obtenidos en relación con la estructura de las tres helmintofaunas obtenidas y del análisis estadístico aplicado. Posteriormente, se exponen los resultados obtenidos en el estudio ecotoxicológico del binomio *Ityogonimus* spp. / *Talpa occidentalis* y en el estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*.

3.1. ENCUADRE SISTEMÁTICO DE LOS HELMINTOS

A continuación, se presenta el encuadre sistemático de las especies de helmintos halladas en el presente estudio. Para ello, se han tenido en cuenta las obras de Moravec (1982), Khalil et al. (1994), Gibson et al. (2002), Anderson et al. (2009), Amin (2013), Caira & Jensen (2017), Hodda (2022), Makarikov & Binkiené (2022), así como diversos recursos de internet como WoRMS (World Register of Marine Species) o Global Cestode Database, entre otras.

Fílum Platyhelminthes Minot, 1876
Subfílum Rabditophora Ehlers, 1985
Superclase Neodermata Ehlers, 1985
Clase Trematoda Rudolphi, 1808
Subclase Digenea Carus, 1863
Orden Diplostomida Olson, Cribb, Tkach & Littlewood, 2003
Superfamilia Brachylaimoidea Joyeux & Foley, 1930
Familia Brachylaimidae Joyeux & Foley, 1930
Subfamilia Ityogonominae Yamaguti, 1958
Género *Ityogonimus* Lühe, 1899
***Ityogonimus lorum* (Dujardin, 1845)**
***Ityogonimus ocreatus* (Goeze, 1782)**

Clase Cestoda

Subclase Eucestoda

Orden Cyclophyllidea van Beneden in Braun, 1900

Familia Anoplocephalidae Cholodkovsky, 1902

Género *Paranoplocephala* Lühe, 1910

***Paranoplocephala omphalodes* (Hermann, 1783)**

Familia Hymnolepididae Ariola, 1899

Género *Kontrimavichusia* Makarikov & Binkiene, 2022

***Kontrimavichusia asymmetrica* (Janicki, 1904)**

Familia Taeniidae Ludwig, 1886

Género *Hydatigera* Lamarck, 1816

***Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) larvae**

Fílum Nematoda Cobb, 1932

Clase Dorylaimea Hodda, 2007

Subclase Trichocephalia Hodda, 2007

Superorden Trichocephalica Hodda, 2007

Orden Trichocephalida Spasski, 1954

Suborden Trichinellina Hodda, 2007

Superfamilia Trichinelloidea Ward, 1907

Familia Capillariidae Railliet, 1915

Subfamilia Capillariinae Railliet, 1915

Género *Aonchotheca* López-Neyra, 1947

***Aonchotheca wioletti* (Ruchljadeva,1950)**

Género *Capillaria*, Zeder, 1800

***Capillaria talpae* (Siebold, 1850)**

Género *Eucoleus* Dujardin, 1845

***Eucoleus bacillatus* (Eberth, 1863)**

Género *Liniscus* Dujardin, 1845

***Liniscus incrassatus* Diesing, 1851**

Familia Trichuridae Ransom, 1911

Subfamila Trichurinae Ransom, 1911

Género *Trichuris* Roederer, 1761

***Trichuris arvicolae* Feliu, Špakulová**,

Casanova, Renaud, Morand, Hugot,

Santalla & Durand, 2000

***Trichuris feliui* Ribas & Casanova, 2004**

Clase Chromadorea Inglis, 1983

Subclase Plectia Hodda, 2007

Superorden Rhabditica Hodda, 2007

Orden Rhabditida Chitwood, 1933

Suborden Rhabditina Chitwood, 1933

Superfamilia Strongyloidea Baird, 1853

Familia Trichostrongylidae Leiper, 1908

Subfamilia Heligmosominae Travassos, 1914

Género *Heligmosomum* Railliet & Henry, 1909

***Heligmosomum costellatum* (Dujardin, 1845)**

Género *Carolinensis* Travassos, 1937

***Carolinensis minutus* (Dujardin, 1845)**

Género *Tricholinstowia* Travassos, 1937

***Tricholinstowia* sp.**

Orden Spirurida Railliet, 1915

Suborden Spirurina Railliet & Henry, 1915

Superfamilia Spiruroidea Oerley, 1885

Familia Spiruridae Oerley, 1885

Subfamilia Spirurinae Oerley, 1885

Género *Spirura* Blanchard, 1849

***Spirura talpae* (Gmelin, 1790)**

Suborden Oxyurina Railliet, 1916

Superfamilia Oxyuroidea Cobbold, 1864

Familia Oxyuridae Cobbold, 1864

Subfamilia Oxyurinae Cobbold, 1864

Género *Syphacia* Seurat, 1916

***Syphacia nigeriana* Baylis, 1928**

Suborden Ascaridina Inglis, 1983

Superfamilia Ascaridoidea Baird, 1853

Familia Ascarididae Baird, 1853

Subfamilia Toxocarinae Hatwich, 1954

Género *Porrocaecum* Railliet & Henry, 1912

***Porrocaecum* sp. larvae**

Fílum Acanthocephala Rudolphi, 1808

Clase Archiacanthocephala Meyer, 1931

Orden Moniliformidea Schmidt, 1972

Familia Moniliformidae Van Cleave, 1924

Género *Moniliformis* Travassos, 1915

***Moniliformis* sp.**

Clase Palaeacanthocephala Meyer, 1931

Orden Polymorphida Petrochenko, 1956

Familia Plagiorhynchidae Galvan, 1960

Subfamilia Plagiorhynchinae Meyer, 1931

Género *Plagiorhynchus* Lühe, 1911

Subgénero *Prosthorhynchus* Kostylev, 1915

***Plagiorhynchus* (*Prosthorhynchus*) sp. larvae**

3.2. BINOMÍA DE LOS HELMINTOS

En este apartado se hace una descripción de las características morfológicas, de la distribución zoogeográfica y del ciclo biológico de las diferentes especies de helmintos halladas en el presente estudio en los tres hospedadores.

TREMATODA

***Ityogonimus lorum* (Dujardin, 1845)**

Hospedador: *Talpa occidentalis*

Microhábitat: intestino

Prevalencia: 50% (n=6)

Localidades: Oles, Priesca y Vegadali

Morfología y Sistemática

Ityogonimus lorum es un trematodo digénido incluido en la familia Brachylaimidae, subfamilia Ityogoniminae (Pojmańska, 2002).

Ityogonimus lorum, al igual que otras especies del género, presenta las dos ventosas claramente separadas una de otra (aspecto que distingue los géneros *Ityogonimus* y *Scaphiostomum*). La longitud corporal en individuos grávidos oscila entre los 2,7 y 5,6 mm. La ratio entre ventosas es: VO/VV 0,81 y VV/VO 1,25. Presenta una prefaringe y un esófago muy reducidos, mientras que la faringe es muy desarrollada. Los dos ciegos intestinales llegan al extremo posterior. Las gónadas, intracecales, están situadas próximas al extremo posterior. Los dos testículos, ovalados y en tándem, están claramente separados y el ovario, también ovalado, está situado entre ellos. El poro genital está situado entre el ovario y el testículo posterior. Las dos glándulas vitelógenas, laterales y extracecales, se extienden desde la ventosa ventral hasta el testículo anterior (Figura 17). Los huevos son ovalados y operculados, midiendo 13,0 x 28,4 µm de media. La morfometría completa puede consultarse en la descripción bionómica de *Ityogonimus ocreatus*.

Biogeografía

Ityogonimus lorum es un brachyláimido estenoxeno parásito intestinal de insectívoros del género *Talpa*. Ha sido denunciado en diversas ocasiones en *Talpa occidentalis* (Casanova et al., 1996a; Ribas & Casanova, 2006a). También ha sido denunciado parasitando *Talpa europaea* en diversos países europeos (Davies, 1932; Frankland, 1959; Ribas & Casanova, 2005, 2006a; entre otros).

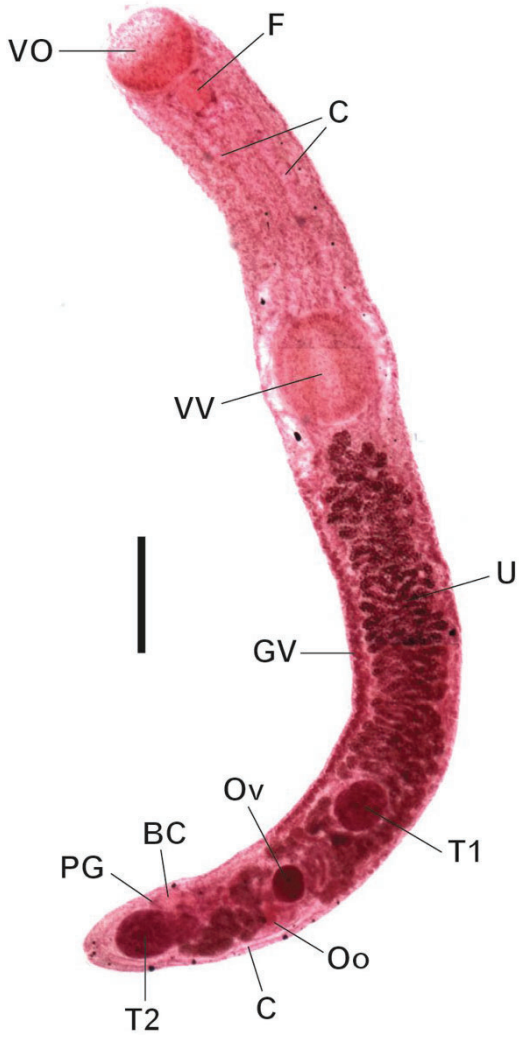


Figura 17. Ejemplar adulto de *Ityogonimus lorum*. BC, bolsa del cirro; C, ciego intestinal; F, faringe; GV, glándula vitelógena; Oo, ootipo; Ov, ovario; PG, poro genital; T1, testículo anterior; T2, testículo posterior; U, útero; VO, ventosa oral; VV, ventosa ventral. Escala = 500 µm.

Ciclo biológico

El ciclo biológico de *I. lorum* no se conoce, si bien cabe pensar que sea similar al de otros brachyláimidos (Ulmer, 1951a, 1951b; Mas-Coma et al., 1986; Mas-Coma & Montoliu, 1986, 1987, 1995; Butcher & Grove, 2001; Gracenea & González-Moreno, 2002; González-Moreno & Gracenea, 2006; Segade et al., 2011; Sirgel et al., 2012; Nakao et al., 2017, 2018; Waki et al., 2020). Así, probablemente ostentaría un ciclo vital con la participación de especies del género *Talpa* como hospedadores definitivos y de dos gasterópodos pulmonados terrestres como primer y segundo hospedadores intermediarios. Recientemente, Świderski et al. (2020) han observado a nivel ultraestructural que

los huevos intrauterinos presentes en las últimas porciones del útero contienen un miracidio carente de cilios. La ausencia de cilios, conjuntamente con la no observación de células neuronales, ni de sistema protonefridial se relacionó por estos autores con una infestación pasiva; el miracidio no eclosiona del huevo en el medio externo, por lo que el molusco primer hospedador intermediario ingeriría directamente el huevo. Es decir, el miracidio no requiere efectuar una búsqueda activa del molusco. Además, estas observaciones también se relacionaron con el carácter terrestre del ciclo biológico.

Ityogonimus ocreatus (Goeze, 1782)

Hospedador: *Talpa occidentalis*

Microhábitat: intestino

Prevalencia: 83,3% (n=6)

Localidades: Coceña, Oles y Priesca

Morfología y Sistemática

Ityogonimus ocreatus es un brachyláimido incluido en la subfamilia Ityogoniminae (Pojmańska, 2002). Su morfoanatomía es similar a la de su congénere *Ityogonimus lorum* (Figura 18). Las principales diferencias con esta última especie radican en tres aspectos (Tabla 13): (a) la longitud corporal (entre 14 y 17 mm), (b) la distancia entre ventosas (entre 2,9 y 4,9 mm) y (c) la ratio entre ventosas (VO/VV 3,48; VV/VO 0,30).

Biogeografía

Ityogonimus ocreatus es un parásito intestinal de insectívoros del género *Talpa*. Ha sido denunciado en diversas ocasiones en *Talpa occidentalis* (Casanova et al., 1996a; Ribas & Casanova, 2006a). También ha sido hallado parasitando *Talpa europaea* en diversos países europeos (Davies, 1932; Frankland, 1959; Chiriac & Popescu, 1973; Ribas & Casanova, 2005, 2006a; entre otros) y *Talpa romana* en Italia (Milazzo et al., 2002).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de *I. ocreatus* resta por conocer, si bien cabe pensar que sea similar al de otros brachyláimidos tal y como se ha comentado en la descripción bionómica de *I. lorum*. Así, probablemente ostentaría un ciclo vital triheteroxeno totalmente terrestre con la participación de especies del género *Talpa* como hospedadores definitivos y de dos gasterópodos pulmonados terrestres como primer y segundo hospedadores intermediarios.

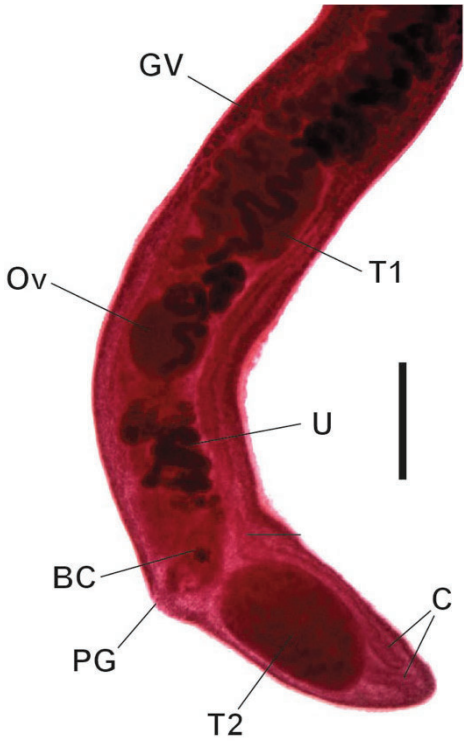


Figura 18. Extremo posterior de un ejemplar adulto de *Ityogonimus ocreatus*. BC, bolsa del cirro; C, ciego intestinal; GV, glándula vitelógena; Ov, ovario; PG, poro genital; T1, testículo anterior; T2, testículo posterior; U, útero. Escala = 500 µm.

Tabla 13. Morfometría comparada entre *Ityogonimus lorum* e *I. ocreatus*. Todas las medidas están expresadas en µm. BC, bolsa del cirro; GV, glándula vitelógena; Ov, ovario; PG, poro genital; T1, testículo anterior; T2, testículo posterior; VO, ventosa oral; VV, ventosa ventral.

	Ityogonimus lorum	***Ityogonimus ocreatus***
	Media (rango) (n=8; n=80 para huevos)	**Media (rango) (n=7; n=40 para huevos)**
Longitud corporal	4.176,7 (2.704-5.624)	15.022,1 (14.044-16.996)
Anchura máxima	614,0 (433-784)	848,7 (712-970)
Ø Faringe	147,7 (112-165)	151,0 (135-168)
Ø VO	350,2 (232-480)	352,3 (307-455)
Ø VV	432,1 (289-511)	106,1 (67-125)
ratio VO/VV	0,81 (0,75-0,96)	3,48 (2,64-4,75)
ratio VV/VO	1,25 (1,04-1,34)	0,30 (0,21-0,38)
OS–VS	976,4 (784-1.218)	3.846,5 (2.910-4.932)
Ø T1	215,5 (168-271)	470,6 (374-573)
Ø T2	246,8 (177-359)	520,71 (464-576)
T1–T2	597,2 (268-929)	1.230,5 (877-1.496)
T1–Ov	153,5 (41-237)	322,4 (237-433)
Ov–T2	298,0 (113-526)	822,9 (619-1114)
T1–Extremo posterior	981,4 (402-1.393)	2.499,8 (2.043-3.137)
T2– Extremo posterior	122,5 (62-299)	268,3 (217-340)
Ø Ov	152,8 (125-180)	382,2 (341-454)
Ø BC	60,7 (48-73)	138,2 (86-176)
PG– Extremo posterior	326,8 (155-464)	874,4 (216-1.238)
GV derecha–VV	250,2 (93-423)	-121,2 (-960--506)
GV izquierda V–VV	261,8 (124-310)	-598,5 (-877--258)
VV–GV derecha	1.607,2 (495-2.456)	5.716,8 (1.579-7.646)
VV–GV izquierda	1.645,9 (444-2.580)	6.204,4 (2.456-7.946)
Ø Huevos	13,0 x 28,4 (11-26 x 15-30)	13,6 x 30,8 (13-30 x 14-32)

CESTODA

Paranoplocephala omphalodes (Hermann, 1783)

Hospedador: *Microtus lusitanicus*
Microhábitat: intestino delgado
Prevalencia: 0,28%
Localidades: Fresnu

Morfología y Sistemática

Paranoplocephala omphalodes es un platelminto que se incluye dentro de la clase de Cestoda, orden Cyclophyllidea, familia Anoplocephalidae (Haukisalmi et al., 2014).

De acuerdo con Tenora et al. (1985) *P. omphalodes* presenta las siguientes características morfológicas y morfométricas. Los individuos miden 90-200 mm de longitud y poseen una anchura máxima de 2,5-4 mm. El número de segmentos varía entre 300 y 480. El escólex es inerme y presenta 4 ventosas que miden 360-480 µm de diámetro. El cuello se puede diferenciar y mide 1-1,5 mm. Los poros genitales se encuentran seriados o irregularmente alternados en un lado o en el otro del estróbilo; se abren en el margen lateral del segmento cerca de su parte media. La bolsa del cirro en los segmentos maduros mide 240-280 x 70-80 µm y en los grávidos 300-325 x 80-100 µm. El cirro es espinoso. Presenta vesícula seminal interna y externa. La interna mide 140 x 60 µm en los anillos maduros y 150 x 90 µm en los grávidos. La externa mide 100-120 x 30 µm. El número de testículos varía entre 35 y 60, miden 45 µm de diámetro y se distribuyen desde la parte media de la glándula vitelógena hasta el canal excretor aporal ventral. La vagina mide 110-150 µm de longitud y 30-50 µm de ancho en los segmentos maduros. El receptáculo seminal es alargado, con forma de botella y mide 300-600 x 80-50 µm. El ovario mide 120-280 µm de longitud y 450-800 µm de ancho en los segmentos maduros y ocupa la mitad poral del parénquima medular. La glándula vitelógena mide 200-400 x 80-150 µm. El útero inicialmente se observa como un saco transversal ligeramente anterior al ovario y los testículos, mientras que posteriormente adquiere una forma reticulada, con sáculos internos, anteriores y posteriores. Los huevos son esféricos con un diámetro medio de 35 µm, presentando un aparato piriforme bien desarrollado.

Esta especie desde su descripción original ha presentado distintas nominaciones. Se describió originalmente como *Taenia omphalodes* Hermann, 1783. A principios del siglo XX se transfirió al género *Anoplocephala* Blanchard, 1848 y finalmente se estableció dentro del género *Paranoplocephala* Lühe, 1910 (Tenora et al., 1985; Haukisalmi et al., 2004). A partir de datos morfológicos y moleculares se ha podido establecer la existencia de varias especies crípticas dentro de ésta (Haukisalmi et al., 2004; Vlasenko et al., 2019).

Biogeografía

Paranoplocephala omphalodes es una especie holártica (Rausch, 1994); su distribución abarca desde Europa occidental hasta Alaska (Haukisalmi et al., 2004). Aunque se ha detectado en un amplio rango de hospedadores (Tenora & Murai, 1980), es característica de topillos del género *Microtus* (Haukisalmi et al., 2004).

En la Península Ibérica ha sido hallada parasitando a *Microtus lusitanicus* (=*Pitymys lusitanicus*) y *Arvicola terrestris* (Feliu et al., 1997). También ha sido denunciada en otros micromamíferos como *Arvicola sapidus*, *Chionomys nivalis* (=*Microtus nivalis*), *Microtus* agrestis, *Microtus arvalis*, *Microtus cabrerae*, *Microtus duodecimcostatus* (=*Pitymys duodecimcostatus*), *Microtus gerbei* (=*Pitymis pyrenaicus, Microtus pyrenaicus*) y *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*) (Feliu et al., 1991, 1992a, 1997).

En Europa ha sido denunciada en *Arvicola amphibius*, *Chionomys gud*, *Cricetus cricetus*, *M. agrestis*, *M. arvalis*, *Microtus gregalis*, *Microtus levis*, *Microtus oeconomus*, *Microtus* subterraneus y *M. glareolus* (Tenora et al., 1985; Milazzo et al., 2003; Haukisalmi et al., 2004; Bjelić-Čabrilo et al., 2015; Vlasenko et al., 2019; Chihai et al., 2020).

En Asia ha sido citada en *M. agrestis*, *M. gregalis*, *Microtus maximowczii, M. oeconomus* y *Myodes rufocanus* (Haukisalmi et al., 2004; Yi-Fan et al., 2014).

Finalmente, en Alaska se ha hallado en *M. oeconomus*, *Microtus miurus*, *Microtus abbreviatus* y *M. rufocanus* (Haukisalmi et al., 2004).

Ciclo biológico

Paranoplocephala omphalodes es un cestodo de ciclo biológico indirecto. Sus principales hospedadores definitivos son topillos del género *Microtus* (Haukislami et al., 2004) y los intermediarios son colémbolos (Smirnova & Shalajeva, 1986). El desarrollo postembrionario en los colémbolos tarda de 10 a 11 días en condiciones experimentales, formándose un cisticercoide. Los colémbolos se concentran en zonas que son visitadas con frecuencia por roedores que se infestan al ingerir los colémbolos junto con los vegetales (Smirnova & Shalajeva, 1986).

Kontrimavichusia asymmetrica (Janicki, 1904)

Hospedador: *Microtus lusitanicus*
Microhábitat: intestino delgado
Prevalencia: 0,70%
Localidades: Fresnu

Morfología y Sistemática

Kontrimavichusia asymmetrica es un platelminto que se incluye en la clase Cestoda, orden Cyclophyllidea, familia Hymenolepididae (Santalla et al., 2002; Haukisalmi et al., 2010; Makarikov & Binkiené, 2022).

Este hymenolepídido mide 50-135 mm de longitud y la anchura máxima es de 2-4 mm. El escólex mide 220-300 µm de diámetro y presenta 4 ventosas y ganchos. Las ventosas miden 85-120 µm de diámetro. El número de ganchos varía de 18 a 21 y miden 18-20 µm de largo, con una morfología muy característica. En los anillos inmaduros los testículos forman un triángulo o están situados en línea y en los maduros un testículo se sitúa en una posición poral y los otros dos se sitúan en la región aporal, los tres en línea. La bolsa del cirro mide 220-330 x 60 µm. El cirro mide 100 µm de longitud y 30 µm de ancho y está recubierto por unas espinas finas y deciduas. El ovario mide 200-400 µm de diámetro y el receptáculo seminal 350 x 100 µm. Los huevos son esféricos con un diámetro de 45-67 µm. La oncosfera mide 20-30 µm y presenta ganchos que miden 8,5-9 µm (Murai, 1974; Tenora & Murai, 1976).

Inicialmente esta especie se clasificó como *Hymenolepis asymmetrica* Janicki, 1904 (ver por ejemplo Murai, 1974; Tenora & Murai, 1976; Feliu et al., 1985a; Makarikov & Binkiené, 2022). Spassky (1954) propuso el género *Rodentolepis* Spassky, 1954 en base a sus hospedadores definitivos (roedores) y a la presencia de un escólex armado con ganchos rostelares, e incluyó la especie dentro de este género. No obstante, la validez de *Rodentolepis* ha sido cuestionada por muchos autores (ver Makarikov & Binkiené, 2022), aunque tras el estudio de Santalla et al. (2002) se evidenció la pertenencia de la especie al género *Rodentolepis* a partir de datos morfométricos y moleculares. Recientemente, Makarikov & Binkiené (2022) han propuesto incluir esta especie dentro del nuevo género *Kontrimavichusia* creado por estos autores a partir de

datos morfológicos (la capacidad de invaginación del escólex o la presencia de ventosas armadas, entre otros) y genéticos, aunque también apuntan la posibilidad de que esta especie sea un conjunto de criptoespecies en base a estos datos moleculares.

Biogeografía

Kontrimavichusia asymmetrica es una especie paleártica que parasita roedores, principalmente arvicólidos (Santalla et al., 2002).

En España ha sido denunciada en *Arvicola sapidus, Microtus agrestis* y *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*) (Mas-Coma et al., 1978; Feliu et al., 1985a, 1997).

En Europa ha sido hallada en *Apodemus flavicollis, Arvicola terrestris, M. agrestis, Microtus arvalis, Microtus gerbei, Microtus nivalis, Microtus subterraneus, Microtus tatricicus* y *M. glareolus* (ver Santalla et al., 2002).

Ciclo biológico

Kontrimavichusia asymmetrica es un cestodo de ciclo indirecto que tiene como hospedador definitivo diferentes arvicólidos (Feliu et al., 1997). Se han detectado ácaros oribátidos como hospedadores intermediarios, hallándose larvas cisticercoides de este helminto en especies de este grupo. Los arvicólidos se infestarían al ingerir los ácaros portadores de formas larvarias junto a los vegetales de los cuales se alimentan (Pavlichenko et al., 1992).

Hydatigera taeniaeformis (Batsch, 1786) larvae

Hospedadores: *Arvicola scherman* y *Microtus lusitanicus*
Microhábitat: hígado
Prevalencia en *A. scherman*: 19,0%
Localidades en *A. scherman*: Camoca, Ceceda, Fresnadiellu, Fresnu, La Rozada, LLata, Oles, Priesca, SERIDA, Sta. Marina y Vegadali
Prevalencia en *M. lusitanicus*: 8,31%
Localidades en *M. lusitanicus*: Camoca, Ceceña, Fresnu, Grao, Oles, Priesca y SERIDA

Morfología y Sistemática

Hydatigera taeniaformis se incluye dentro de la clase Cestoda, orden Cyclophyllidea, familia Taeniidae (Nakao et al., 2013).

Esta especie ha recibido diferentes nombres: *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786), *Cysticercus fasciolaris* Rudolphi, 1808 o *Hydatigera himalayotaenia* Malhatro & Capoor, 1982 (Nakao et al., 2013).

La posición taxonómica de esta especie ha ido cambiando con el tiempo. Teniendo en cuenta caracteres morfológicos, ha habido autores que han aceptado a *Hydatigera* como un género válido, mientras que otros lo han sinonimizado con *Taenia* (ver Nakao et al., 2013; Lavikainen et al., 2016). Estudios moleculares con ADN mitocondrial y nuclear apoyan la recuperación de *Hydatigera* como un género válido (Lavikainen et al., 2016). Este género incluiría a cuatro especies: *H. taeniaeformis*, *H. parva*, *H. krepkogorski* y *H. kamiyai* (Catalano et al., 2019).

Existen estudios moleculares que apuntarían la posibilidad de que *H. taeniaeformis* sea un complejo de criptoespecies (Nakao et al., 2013; Lavikainen et al., 2016). Estas criptoespecies serían: *H. taeniaeformis s.s.*, *H. kamiyai* y una tercera especie no nominada todavía a nivel específico. *Hydatigera taeniaeformis s.s.* tiene como hospedadores intermediarios a diferentes especies de la subfamilia Murinae (Muridae). *Hydatigera kamiyai,* aislada de ejemplares de *Myodes rufocanus* de Japón, difiere molecular y morfológicamente de los ejemplares de múridos de Europa y Asia, y sus hospedadores intermediarios son

cricétidos de la subfamilia Arvicolinae. La tercera especie fue localizada en la región mediterránea, hallada en ejemplares de *Felis catus*, *Felis silvestris* e híbridos entre las dos especies procedentes de Italia; su posición taxonómica es incierta por la falta de datos morfológicos y de sus hospedadores intermediarios (Lavikainen et al., 2016).

Los quistes se localizan en la superficie del hígado, son de un color blanco-amarillento y tienen una forma esférica (Mészáros & Murai, 1979; Murai, 1982; Fuehrer et al., 2012). Las medidas de estos quistes varían entre los 2 y los 13 mm según las descripciones de los diferentes autores: 6-10 mm (Mészáros & Murai, 1979), 5-12 mm (Murai, 1982), 8-10 mm (Tenora et al., 1983), 4-9 mm (Pétavy et al., 2003), 5-13 mm (Fuehrer et al., 2012), 2-8 mm (Sharma et al., 2017). En su interior se localiza una única larva libre, denominada estrobilicerco (Murai, 1982; Tenora et al., 1983; Sharma et al., 2017), que está rodeada por un líquido de color blanco turbio (Sharma et al., 2017). Este estrobilicerco presenta un cuerpo pseudosegmentado (Murai, 1982) y sus medidas varían dependiendo de su nivel de desarrollo (Sharma et al., 2017). En su extremo anterior se localiza el escólex, que es idéntico al de la forma adulta (Štěrba & Baruš, 1976; Murai, 1982), y consta de dos coronas de ganchos alternados (pequeños y grandes) y 4 ventosas (Štěrba & Baruš, 1976; Miño et al., 2013). El número de ganchos varía entre 26 y 44, las medidas de los ganchos pequeños oscilan entre los 193-290 µm y la de los grandes entre 293-465 µm, existiendo diferencias entre los autores (Tabla 14). En las larvas halladas en el presente estudio el número de ganchos osciló entre los 28 y los 36, tanto para *Arvicola terrestris* como para *Microtus lusitanicus* (Figura 19a). Los ganchos grandes midieron 433-485 µm en especímenes extraídos de *M. lusitanicus* y 443-484 µm en los de *A. scherman* (Figura 19b). Los ganchos pequeños midieron 258-310 µm en ejemplares extraídos de *M. lusitanicus* y 238-299 µm en los de *A. scherman* (Figura 19c) (Tabla 15).

Biogeografía

Hydatigera taeniaeformis presenta una distribución cosmopolita (Gupta et al., 2021; Kirillova et al., 2021a).

En la Península Ibérica ya ha sido denunciada como parásito de *A. terrestris* (Feliu et al., 1997) y *M. lusitanicus* (=*Pitymis mariae*) (Tenora & Mészáros, 1972). También ha sido citada parasitando a *Apodemus sylvaticus*, *Arvicola sapidus*, *Chionomys nivalis*, *Microtus agrestis*, *Microtus arvalis*, *Microtus duodecimcostatus*, *Mus musculus*, *Mus spretus*, *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*), *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus* (Illescas Gómez et al., 1989; Feliu et al., 1997; Fuentes et al., 2004a; Debenedetti et al., 2015).

Tabla 14. Número total de ganchos y dimensiones (en µm) de los ganchos según distintos autores.

	Hospedador	País	Número ganchos	Gancho pequeño	Gancho grande
Murai (1972)	*Apodemus flavicollis* *Apodemus sylvaticus*	Hungría	32-36	240-280	420-465
Mészáros & Murai (1979)	*Mus specilegus*	Rumanía	36	258-268	400-455
Murai (1982)	*Microtus arvalis* *A. flavicollis* *M. spicilegus*	Hungría	30-36	250-288	420-456
Tenora et al. (1983)	*A. flavicollis* *Microtus agrestis*	Finlandia	30-34	270-280	410-420
Pétavy et al. (2003)	*Arvicola terrestris*	Francia	36	250-270	360-440
Fuehrer et al. (2012)	*A. terrestris* *Microtus arvalis*	Austria	26-38	250	>400
Galimberti et al. (2012)	*Felis catus* *Felis silvestris* *Felis silvestris* x *catus*	Italia	36-44	248-272	389-431
Miño et al. (2013)	*Akodon azarae*	Argentina	34-38	193-253	293-443

Tabla 15. Número total de ganchos y dimensiones de los ganchos (en µm) en *A. scherman* y *M. lusitanicus* en el presente estudio.

	Ganchos totales	Gancho pequeño	Gancho grande
***A. scherman* (n=76)**			
Mínimo-Máximo	28-36	238-299	443-484
Media	32,1	274	462
***M. lusitanicus* (n=30)**			
Mínimo-Máximo	28-36	258-310	433-485
Media	32,5	275	463

En Europa esta especie ha sido denunciada como parásito de *Apodemus flavicollis*, *Apodemus microps*, *Apodemus ponticus* (=*Sylvaemus ponticus*), *A. sylvaticus*, *Apodemus uralensis* (*Sylvaemus uralensis*), *Arvicola amphibius*, *A. terrestris*, *Microtus agrestis*, *M. arvalis*, *Microtus majori* (=*Terricola majoris*), *Microtus oeconomus, Microtus subterraneus* (=*Pitymys subterraneus*), *Mus musculus*, *Mus spicilegus* (=*Mus musculus spicilegus*), *M. glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*), *Ondatra zibethicus*, *R. norvegicus* y *R. rattus* (Murai, 1972, 1982; Meszáros & Murai, 1979; Nickel & Buchwald, 1979; Tenora et al., 1979a, 1983; Loos-Frank, 1987; Pétavy et al., 1996, 2003; Borgsteede et al., 2003; Milazzo et al., 2005, 2010a; Deter et al., 2006; Mathy et al., 2009; Kataranovski et al., 2010; Ondriková et al., 2010; Fuehrer et al., 2012; Iliev et al., 2017; Makarikov et al., 2017; Miller et al., 2017; Chihai et al., 2018; Chihai, 2021; Kirillova et al., 2021a; Schuster et al., 2021).

En Asia ha sido hallada en *Apodemus* spp.*, Apodemus argenteus*, *Apodemus speciosus*, A. sylvaticus, *Bandicota bengalensis*, *Calomyscus alburzensis*, *Cricetulus migratorius*, *Funambulus pennantiii*, *Meriones hurrianae*, *Meriones lybicus*, *Meriones persicus*, *M arvarlis*, *M. oeconomus*, *Millardia meltada* (=*Rattus meltada*), *M. musculus*, *Myodes rufocanus* (=*Cletrhionomys rufocanus befordiae*), *Nesokia indica*, *Rattus* spp., *Rattus flavipectus*, *Rattus losea*, *R. norvegicus*, *R. rattus*, *Rattus tiomanicus* y *Tatera indica* (Jawdat & Mahmoud, 1980; Parihar & Nama, 1980; Krishnasamy et al., 1980; Hatakeyama, 1986; Asakawa et al., 1991, Uchida et al., 2001; Claveria et al., 2005; Singla et al., 2008; Pakdel et al., 2013; Yi-Fan et al., 2014; Lee et al., 2016; Zarei et al., 2016; Ranjabar et al., 2017; Moradpour et al., 2018; Zhao et al., 2020; Aslanova & Fataliyev, 2022).

En África se ha reportado parasitando a *Acomys cahirinus*, *Arvicanthis nicotilus*, *Gerbillus gerbillus*, *M. musculus*, *R. norvegicus*, *R. rattus*, y *Rattus tanezumi*, (Mishra & González, 1975; Ramadan et al., 1988; Udonsi, 1989; Wanas et al., 1993; Mafiana et al., 1997; Ivoke, 2009; Julius et al., 2018; Catalano et al., 2019).

En América ha sido denunciada parasitando a *Akodon azarae*, *Ctenomys talarum*, *M. musculus*, *Neotoma micropus*, *Peromyscus maniculatus*, *R. norvegicus*, *R. rattus* y *Sigmodon hispidus* (Seidenberg et al., 1974; Mollhagan, 1978; Theis & Schwab, 1992; Bomfim, 2001; Rossin et al., 2004; Rodríguez-Vivas et al., 2011; Charles et al., 2012; Miño et al., 2013, 2019; Panti-May et al., 2015; Sharma et al., 2017).

En Oceanía se ha detectado parasitando a *Mus domesticus* y *Rattus exulans* (Roberts, 1991; Singleton, 1993a).

Ciclo biológico

Esta especie presenta un ciclo diheteroxeno. Los hospedadores intermediarios son roedores (Widmer & Jurczynski, 2012; Lee et al., 2016; Catalano et al., 2019; Gupta et al., 2021; Kirillova et al., 2021a; Chihai, 2021; Aslanova & Fataliyev, 2022) principalmente Muridae y Cricetidae (Chihai, 2021) e insectívoros (Gupta et al., 2021; Aslanova & Fataliyev, 2022). Los hospedadores definitivos son carnívoros de las familias Felidae, Canidae y Mustelidae (Fuehrer et al., 2012; Widmer & Jurcyznski, 2012), siendo los félidos los más comunes (Fuehrer et al., 2012; Miller et al., 2017).

Los hospedadores intermediarios se infestan al ingerir vegetales, agua y materiales para el nido, contaminados con huevos de este parásito (Sharma et al., 2017). Los huevos embrionados eclosionan en el intestino delgado de los hospedadores intermediarios liberando las oncosferas. Estas oncosferas penetran la pared intestinal y llegan al hígado por la circulación portal. Una vez en él, se desarrolla la forma larvaria, el estrobilicerco que se enquista (Widmer & Jurczynski, 2012), aunque también lo pueden hacer en otros órganos como pulmones, mesenterio, pleura, pared abdominal o riñones (Lee et al., 2016). Esta forma larvaria se conoce con el nombre de *C. fasciolaris* (Sharma et al., 2017). Los hospedadores definitivos se infestan al consumir presas parasitadas por las

formas larvarias de esta especie (Widmer & Jurczynski, 2012; Sharma et al., 2017; Zhao et al., 2020; Gupta et al., 2021). Una vez se encuentra en el carnívoro hospedador definitivo y llega al intestino delgado la larva pasa a la forma adulta y elimina con las heces los anillos grávidos conteniendo los huevos (Widmer & Jurczynski, 2012; Zhao et al., 2020; Gupta et al., 2021).

Se han descrito casos de infestación en humanos por parte de este parásito. Štěrba & Baruš (1976) describieron el caso de un hombre que presentaba un quiste de *H. taeniaeformis*. En otros casos se han descrito formas adultas en el intestino delgado en Argentina, Sri Lanka y Japón (ver Zhao et al., 2020). Estas infestaciones en humanos son raras y se producirían por la ingesta accidental de huevos o quistes (Moradpour et al., 2018).

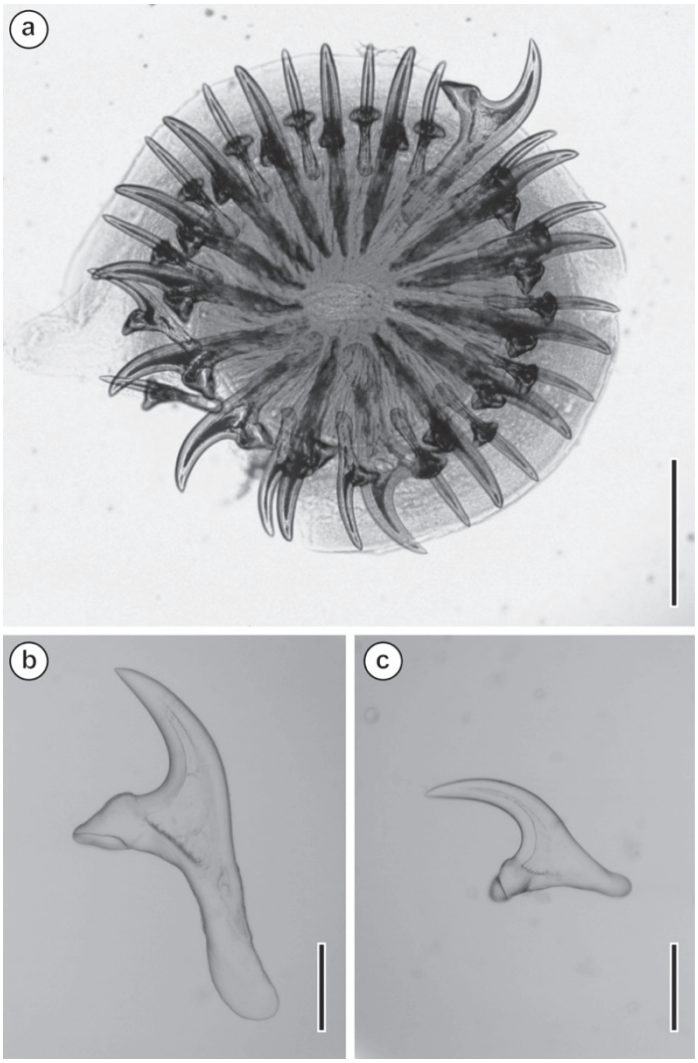


Figura 19. *Hydatigera taeniaeformis* larvae. **a)** Ganchos rostelares, visión apical. **b)** Gancho grande. **c)** Gancho pequeño. Escalas = 200 µm

NEMATODA

Aonchotheca wioletti (Rukhlyadeva, 1950)

Hospedador: *Arvicola scherman*
Microhábitat: estómago
Prevalencia: 0,1%
Localidades: Valle del lago

Morfología y Sistemática

Aonchotheca wioletti es un nematodo incluido dentro de la clase Dorylaimea, orden Trichocephalida, familia Capillariidae (Moravec, 1982; Hodda, 2022).

Originalmente se incluyó dentro del género *Capillaria* (Rukhlyadeva, 1950). Moravec (1982) en su revisión de la familia Capillariidae separó el género *Aonchotheca* de *Capillaria*. Justine & de Roguin (1990) consideraron que en realidad *A. wioletti* es un sinónimo de *Capillaria murissylvatici* basándose en caracteres morfológicos compartidos por ambas especies y la volvieron a incluir dentro del género *Capillaria*. Finalmente, Deng et al. (2022) en base a caracteres moleculares (el gen cox1 del ADN y el 18S del ARN ribosómico) establecieron que *Aonchotheca,* juntamente con *Eucoleus* y *Pseudocapillaria,* son géneros separados de *Capillaria*, tal como lo propugnó Moravec (1982).

De acuerdo con Rukhlyadeva (1950) esta especie tiene una morfología filiforme con la abertura bucal en posición terminal. Los machos miden 11,34-13,04 mm, con una anchura máxima de 53-70 µm. La longitud del esófago es de 2,84-4,01 mm y su anchura máxima es de 30 µm. La posición de la cloaca es subterminal. Presentan un par de alas caudales laterales cortas, con unas dimensiones de 12-22 µm de longitud y 17-30 µm de anchura. La espícula es fina y filiforme, tiene una longitud de 279-309 µm, su anchura en la parte proximal es de 9 µm y en la parte distal es de 43 µm.

Las hembras miden 13,11-17,06 mm de longitud y su anchura máxima es de 70 µm. La longitud del esófago es de 3,06-3,43 mm y la anchura máxima es de 34-43 µm. La vulva se localiza a 21-43 µm de la base del esófago y a 1,53-3,15 mm del extremo cefálico. El ano presenta una posición terminal. Los huevos tienen forma de limón y miden 60 x 26-30 µm.

Biogeografía

Aonchotheca wioletti es un nematodo de distribución paleártica que tiene como hospedador específico a *Arvicola terrestris* (Chechulin et al., 2010; Veciana et al., 2016). Su área de distribución del parásito debería coincidir con la de su hospedador (Chechulin et al., 2010).

Ha sido denunciada como parásito de *A. terrestris* en la Península Ibérica (Feliu et al., 1997). También ha sido encontrada en este mismo hospedador en Europa y Asia (ver Justine & de Roguin, 1990; Chechulin et al., 2010).

Ciclo biológico

El ciclo biológico del género *Aonchotheca* es conocido en unas pocas especies. Se trata de ciclos diheteroxenos en los cuales, generalmente, participan invertebrados como las lombrices de tierra como hospedadores intermediarios que ingieren los huevos embrionados con el primer estadio larvario expulsados con las heces. En el hospedador intermediario se forma en pocos días la larva infestante (tercer estadio) que accede al hospedador definitivo por ingestión de los invertebrados (Anderson, 2000). Así, en *Aonchotheca caudinflata*, parásito intestinal de diversas aves anátidas y gallináceas, el ciclo biológico es indirecto con lombrices de tierra como hospedadores intermediarios. En el caso de *Aonchotheca putorii*, parásito de diversos carnívoros, principalmente Mustelidae, el ciclo también cuenta con la participación de lombrices de tierra como hospedadores intermediarios, aunque también se puede transmitir de un modo directo por ingestion de los huevos embrionados por parte del mustélido. Finalmente, *Aonchotheca philippinenis* es una especie que se ha detectado en el ser humano, aunque es propia de aves que se alimentan de peces de agua dulce que son los hospedadores intermediarios (Anderson, 2000).

Capillaria talpae (Siebold, 1850)

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: estómago
Prevalencia: 1,0%
Localidades: Vegadali

Morfología y Sistemática

Capillaria talpae es un nematodo incluido dentro de la clase Dorylaimea, orden Tricocephalida, familia Capillariidae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Casanova (1993) esta especie está poco descrita en la bibliografía. Las descripciones coinciden en una ratio 1:25 entre la longitud del esófago respecto a la longitud total del cuerpo. La vagina se localiza en la parte anterior, destacando la ausencia de apéndice vaginal y una musculatura poco visible y desarrollada (Figura 20a). Los huevos, con morfología irregular, presentan una cara cóncava y otra convexa, y miden 64-68 x 26-32 µm (Casanova, 1993) (Figura 20b).

Biogeografía

Capillaria talpae es un nematodo paleártico (Casanova, 1993) que ha sido denunciado parasitando a *Talpa europaea* en la Península Ibérica (Ribas & Casanova, 2005).

A nivel europeo ha sido denunciado en *T. europaea* (ver Casanova, 1993; Ribas & Casanova, 2006a, entre otros) y también en *Talpa romana* (Milazzo et al., 2002). Casanova (1993) denunció la presencia en *Talpa occidentalis* de un capillárido, que nominó como *Capillaria* sp. aff. *talpae* ya que algunos caracteres diferían de la descripción de la especie. Según el autor, no es el único ejemplo en el que individuos pertenecientes a alguna especie del género *Capillaria* encontrados en ejemplares del género *Talpa* quedan innominados (ver Casanova, 1993).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de este nematodo es desconocido. En base al ciclo biológico conocido en otras especies del género *Capillaria s.l.* (*Aonchotheca*

philippinensis o *Eucoleus aerophilus*, por ejemplo) se podría suponer que el ciclo es indirecto (Anderson, 2000; Traversa et al., 2011; El-Dib & Ali, 2020), pudiendo ser los hospedadores intermediarios gusanos de tierra, que forman parte de la dieta de *T. occidentalis*. No obstante, también podría presentar un ciclo directo tal como sucede con *Calodium hepaticum* (Silverman et al., 1973). En la presente tesis el ciclo de esta especie se ha considerado como monoxeno.

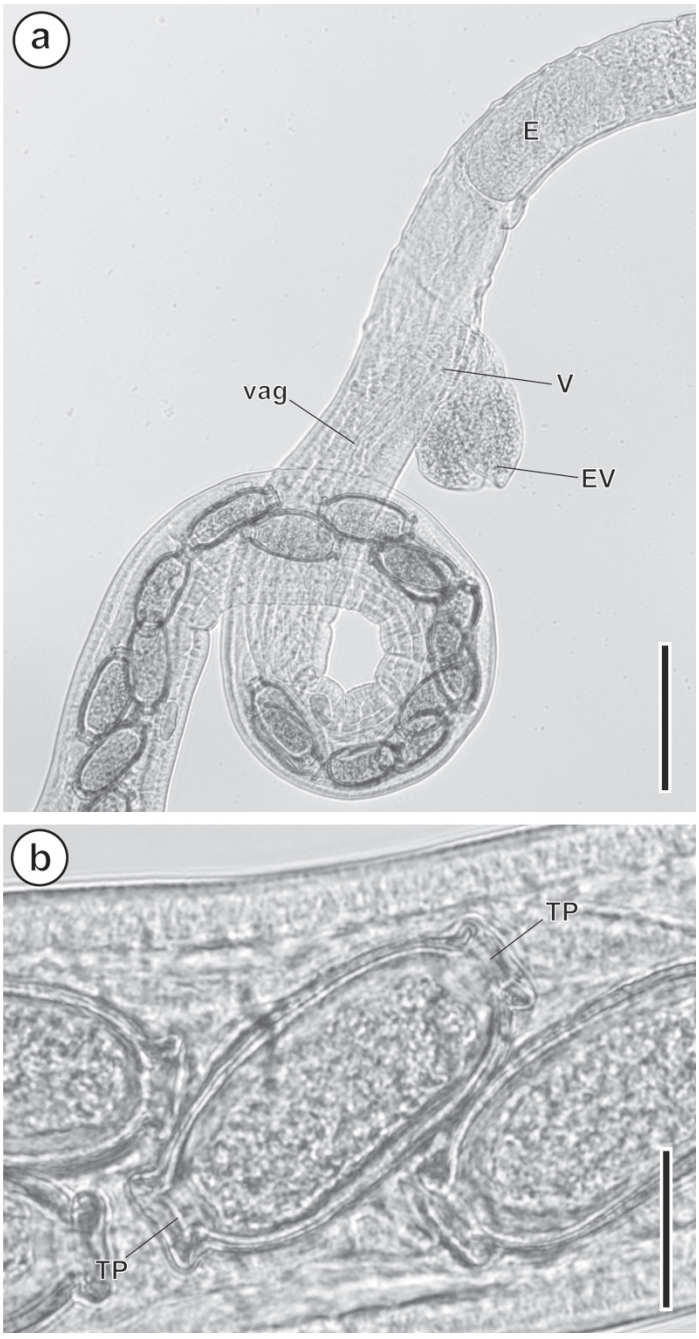


Figura 20. *Capillaria talpae*, hembra. **a)** Región vulvar. **b)** Huevo. EV, expansiones cuticulares; TP, tapones polares; V, vulva; vag, vagina. Escalas a) = 100 µm; b) = 25 µm.

Eucoleus bacillatus (Eberth, 1863)

Hospedador: *Arvicola scherman*
Microhábitat: estómago
Prevalencia: 0,4%
Localidades: Fresnadiellu y Valle del Lago

Morfología y Sistemática

Eucoleus bacillatus (= *Capillaria bacillata*) es un nematodo que se incluye dentro de la clase Dorylaimea, orden Trichocephalida, familia Capillariidae (Moravec, 1982; Hodda, 2022).

De acuerdo con Feliu (1980), machos y hembras presentan dos bandas bacilares en posición ventral y dorsal respectivamente que se extienden a lo largo del cuerpo del helminto. La boca está rodeada por tres pequeñas papilas. El anillo nervioso se localiza a 88,3 µm del extremo cefálico.

Los machos miden 16,215 mm de longitud y la anchura máxima es de 88 µm. El esófago tiene una longitud de 6,931 mm y está formado por una parte muscular y otra glandular (el esticosoma). El esófago muscular ocupa una pequeña porción, con una longitud de 258-380 µm. El esticosoma presenta su extremo posterior a 6,672 mm del extremo cefálico. El extremo caudal está curvado ventralmente, presenta una bolsa con dos lóbulos laterales y la cloaca en posición terminal. Su aparato genital se caracteriza por presentar una espícula muy fina que es difícil de observar. Sus medidas son 774 µm de longitud y 3 µm de anchura. La espícula está rodeada por una vaina de 395-456 µm de longitud, recubierta por unas fuertes espinas de 3 µm de largo (Feliu, 1980) (Figura 21a).

Las hembras son un poco más grandes que los machos; miden 20,789-48,345 mm de longitud con una anchura máxima de 141 µm. El esófago mide 8,102 mm de largo en su totalidad y su parte muscular mide 258-380 µm. El esticosoma tiene el extremo posterior a 7,722 mm del extremo cefálico. La abertura anal se encuentra en posición terminal. Su aparato reproductor está formado por un ovario y un útero muy iguales y una vagina que mide 988-1.307 µm de longitud. La vulva carece de ensanchamiento prevulvar y de labios evaginables. La distancia de la vulva al final del esófago es de 198 µm. Los

huevos tienen forma alargada, presentan una cubierta ornamentada y miden 61,2-68,4 x 28,8-32,4 µm (Feliu, 1980) (Figura 21b).

Figura 21. *Eucoleus bacillatus*. **a)** Extremo posterior del macho. **b)** Huevo. TP, tapones polares; VE, vaina espicular. Escalas: a) = 200 µm; b) = 25 µm.

Biogeografía

Eucoleus bacillatus es un nematodo cosmopolita (Hasegawa et al., 1992).

En España ha sido denunciado como parásito de *Apodemus sylvaticus*, *Arvicola sapidus, Arvicola terrestris, Microtus arvalis, Mus spretus* y *Rattus rattus* (Feliu, 1980; Feliu et al., 1992a, 1997; Asakawa & Tenora, 1996; Fuentes et al., 2000; Debenedetti et al., 2014; Sáez-Durán et al., 2021; entre otros).

En Europa ha sido citado en *A. sylvaticus, A. terrestris, M. spretus, Myodes glareolus* y *Rattus norvegicus* (Bernard, 1961; Behnke et al., 1993; Asakawa & Tenora, 1996).

En Asia ha sido hallado en *Apodemus peninsulae, Arvicola amphibius* y *Rattus argentiventer* (Hasegawa et al., 1992; Asakawa & Tenora, 1996; Tinnin et al., 2011).

Existe cierta controversia con esta especie y *Eucoleus gastricus* por su gran parecido morfológico y la ausencia de unas buenas claves morfológicas para su correcta identificación (Rothenburger et al., 2014). Se han diferenciado las dos especies en función de los hospedadores en los que se encuentran. Así, si los hospedadores son del género *Rattus* se considera que es *E. gastricus* y si son del género *Mus* se considera *E. bacillatus*, aunque hay citas de *E. bacillatus* en *Rattus* y *Mus* (ver Feliu, 1980). Según Bernard (1961), *E. bacillatus* es un parásito típico de múridos, considerando a los arvicolinos como hospedadores accidentales.

Ciclo biológico

El ciclo biológico de este nematodo es desconocido. Los adultos se localizan en la mucosa gástrica a la que acceden perforando su pared y se acomodan en forma de zig-zag. Una vez se ha producido la fecundación, la hembra protruye una porción del cuerpo hacia el interior del estómago para realizar la ovoposición. De este modo los huevos llegan a la luz del estómago donde seguirán todo el tracto intestinal hasta salir al exterior con las heces. A partir de este punto se desconoce como sigue el ciclo (Behnke et al., 1993). Se sabe que los huevos son no embrionados en el momento de la puesta (Feliu, 1980). Cabe la posibilidad de que el ciclo sea indirecto, como es el caso de *Eucoleus garfiai*, un parásito que se localiza en la lengua de los jabalíes, o *Eucoleus annulatus*, parásito de gallinas y aves de caza, ambos con lombrices

de tierra (*Lumbricus terrestris, Allolobophora caliginosa*, *Allolobophora rosea o Eisenia foetida*) como hospedadores intermediarios (Löwenstein & Kutzer, 1993; Anderson, 2000). También podría seguir un ciclo directo como *Eucoleus contortus*, un parásito de diferentes grupos de aves salvajes, en cuyo ciclo una vez los huevos salen al exterior con las heces tardan de 24 a 40 días en ser infestantes (Anderson 2000; Yabsley, 2008). En la presente tesis se ha considerado como un parásito monoxeno.

Liniscus incrassatus Diesing, 1851

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: vejiga de la orina
Prevalencia: 23,1%
Localidades: Coceña, Fresnadiellu, La Fajera, Llata, Merón, Oles, Poreño, Priesca, SERIDA, Tuero y Vegadali

Morfología y Sistemática

Liniscus incrassatus es un nematodo que se incluye dentro de la clase Dorylaimea, orden Trichocepalida, familia Capillariidae (Moravec, 1982; Hodda, 2022).

De acuerdo con Torres (1988), esta especie presenta las siguientes características.

Los machos miden 8,42-10,396 mm de longitud y tienen una anchura máxima de 51-58 µm que se localiza a nivel del intestino. El esófago mide 3,217-4,010 mm de longitud, la parte muscular mide 198-221 µm y el esticosoma 3,019-3,789 mm. Presentan una espícula tubular con una longitud de 627-855 µm con la parte distal roma. Está protegida por una vaina lisa, sin espinas, que normalmente se encuentra invaginada (Figura 22a).

Las hembras miden 9,423-11,026 mm de longitud y tienen una anchura máxima de 91-137 µm a nivel de la región intestinal. El esófago tiene una longitud total de 4,32-5,216 mm, el esófago muscular mide 125-180 µm y el esticosoma 4,141-5,091 mm. El esticosoma está formado por células esticosomáticas apenas marcadas. La vulva se localiza a 162-185 µm de la parte final de la región esofágica y se caracteriza por la ausencia de labios (Figura 22b). Los huevos se disponen en hileras de 1, 2, 3, 4 o 5 en el útero, miden 57-63 x 29-31 µm y presentan una ornamentación externa irregular.

Existen numerosos sinónimos para esta especie: *Capillaria capillaris, Capillaria exilis, Capillaria incrassata, Capillaria linstowi, Capillaria sunci, Capillaria urinicola, Trichosoma capillare, Trichosoma incrassata* (Nikonorova et al., 2018). Ha habido mucha controversia en relación con la taxonomía de esta

especie; durante mucho tiempo se han asignado ejemplares a *C. capillaris* o a *C. incrassata* indiscriminadamente (Roots, 1992).

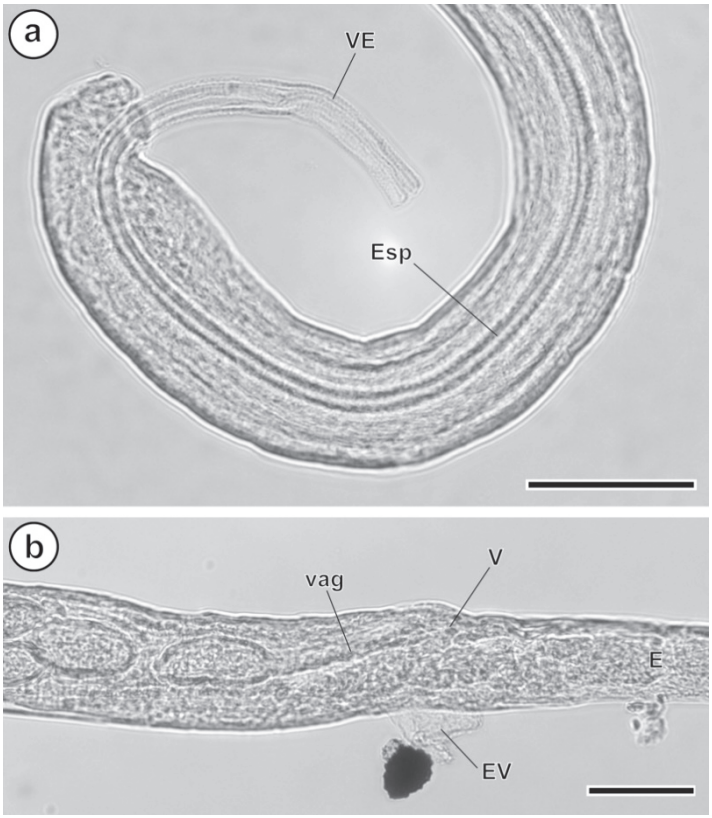


Figura 22. *Liniscus incrassatus*. **a)** Extremo caudal del macho. **b)** Región vulvar de la hembra. E, esófago; Esp, espícula; EV, expansiones vulvares; V, vulva; vag, vagina; VE, vaina espicular. Escalas = 50 µm.

Biogeografía

Liniscus incrassatus es una especie de distribución paleártica (Torres, 1988; Nikonorova et al., 2018), detectada en insectívoros (Ribas & Casanova, 2006a).

En España ha sido denunciado como parásito de *Crocidura russula, Neomys* fodiens, *Sorex araneus* y *Talpa europaea* (Torres, 1988; Mascato et al., 1993; Fuentes et al., 2000; Mas-Coma et al., 2000; Ribas & Casanova, 2005; entre otros).

En Europa ha sido citado en *S. araneus*, *Sorex minutus, T. europaea* y *Talpa occidentalis* (Roots, 1992; Ribas & Casanova, 2006a; Nikonorova et al., 2018; entre otros). Finalmente, en el continente asiático ha sido hallado en *Sorex caecutiens* y *Sorex tundrensis* de Siberia (Dokuchev et al., 2015).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de esta especie es totalmente desconocido (Torres, 1988; Roots, 1992). Roots (1992) propugnó la posibilidad de que se trate de un ciclo biológico heteroxeno, con la participación de lombrices de tierra (Lumbricidae) como hospedadores intermediarios.

Trichuris arvicolae Feliu, Špakulová, Casanova, Renaud, Morand, Hugot, Santalla & Durand, 2000

Hospedadores: *Arvicola scherman* y *Microtus lusitanicus*

Microhábitat: ciego

Prevalencia en *A. scherman*: 7,0%

Localidades en *A. scherman*: Fresnadiellu, Fresnu, La Rozada, Oles, Poreño, Priesca, SERIDA, Valle del Lago y Vegadali

Prevalencia en *M. lusitanicus*: 5,07%

Localidades en *M. lusitanicus*: Coceña, Fresnu, Poreño, Priesca y SERIDA

Morfología y Sistemática

Trichuris arvicolae es un nematodo que se incluye dentro de la clase Dorylaimea, orden Trichocephalida, familia Trichuridae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Feliu et al. (2000), esta especie se caracteriza por presentar una estriación transversal conspicua, un extremo cefálico estrecho y redondeado, y estiletes que son diferenciables en algunos individuos. El esticosoma está formado por una hilera de 64-82 esticocitos.

Los machos miden 24,28-32,33 mm de longitud. La anchura en la zona de transición esófago-intestino es de 200-280 µm. La región esofágica mide 16,28-20,83 mm de largo y 110-140 µm de anchura máxima. La región postesofágica mide 6,35-11,50 mm de largo y 290-410 µm de anchura máxima. La ratio entre la región esofágica y postesofágica es 1,62-2,94. Presentan una espícula fina con un extremo distal redondeado y rodeada por una vaina espinosa. El testículo presenta 20-25 circunvoluciones y empieza a una distancia de 1,23-2,35 mm del extremo caudal (Feliu et al., 2000).

Las hembras miden 13,35-42,55 mm de longitud. La anchura en la zona de transición esófago-intestino es de 120-250 µm. La región esofágica mide 8,85-27,50 mm de largo y 100-130 µm de anchura máxima. Las medidas de la región postesofágica son 4,1-15,6 mm de largo y 270-520 µm de anchura máxima. La ratio entre la región esofágica y postesofágica es 1,36-2,71. La vulva no sobresale. La vagina está musculada y mide 200-700 µm de longitud. El ano se localiza en una posición subterminal del cuerpo a una distancia de 10-45 µm

del extremo caudal (Figura 23a). Los huevos maduros tienen forma alargada, presentan 2 tapones polares y miden 67-79 x 31-43 µm (Figura 23b) (Feliu et al., 2000).

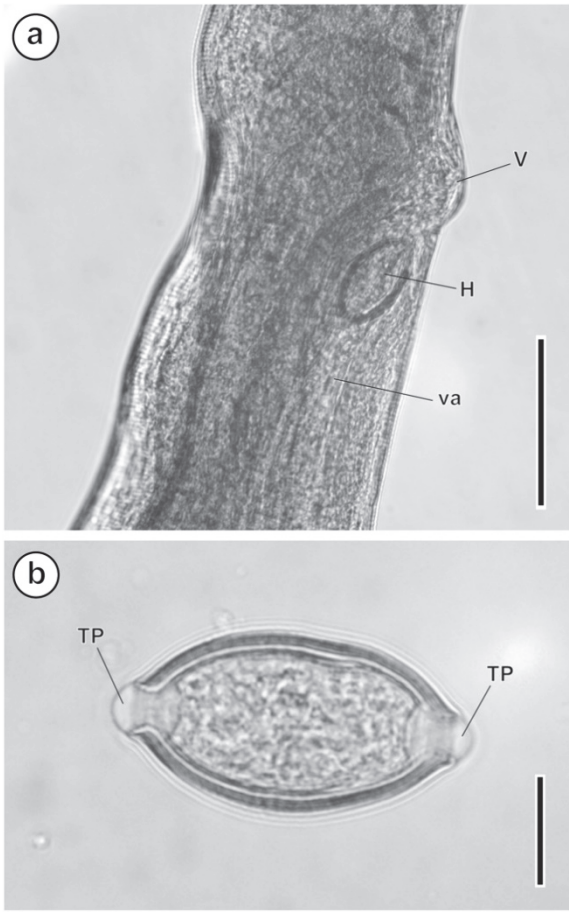


Figura 23. *Trihuris arvicolae*, hembra. **a)** Región vulvar; **b)** huevo. H, huevo; TP, tapones polares; V, vulva; va, vagina. Escalas a) = 100 µm; b) = 25 µm.

Esta especie se ha diferenciado de *Trichuris muris*, una especie cosmopolita que infesta múridos, a partir de estudios morfológicos, isoenzimáticos y moleculares (Feliu et al., 2000; Cutillas et al., 2002). Estudios anteriores a Feliu et al. (2000) citaban a *T. muris* como parásito de múridos y arvicólidos (ver Cutillas et al., 2002; Callejón et al., 2012), aunque estudios morfológicos ya sugerían la posibilidad de que los tricúridos parásitos de roedores Arvicolidae constituyeran una especie distinta de *T. muris* (ver Cutillas et al., 2002).

Biogeografía

Trichuris arvicolae es una especie paleártica (Petružela et al., 2021) que parasita arvicólidos (Feliu et al., 2000).

En España ha sido denunciado parasitando *Arvicola sapidus, Microtus agrestis, Microtus arvalis* y *Myodes glareolus* (Feliu et al., 2000, entre otros). A nivel de la Península Ibérica también se ha citado en Portugal como parásito de *A. sapidus* (Fuentes et al., 2003).

En Europa se ha hallado en *Arvicola terrestris scherman*, *Microtus agrestis, M. arvalis* y *M. glareolus* (Feliu et al., 2000; Deter et al., 2007a; Hildebrand et al., 2007; Kirillova et al., 2021b; entre otros).

Ciclo biológico

Trichuris arvicolae es un parásito monoxeno que se localiza en el ciego (Feliu et al., 2000). Los huevos no embrionados son eliminados al medio junto a las heces de los roedores infestados. Una vez en el suelo embrionan y pasan a ser infestantes. Los hospedadores, tras ingerir los huevos, ya sea por contacto con el suelo contaminado, junto al alimento o al acicalarse entre ellos, éstos eclosionan en el intestino y se liberan las larvas. Éstas tardan 40 días en madurar y una vez llegan a la fase adulta migran hasta el ciego, donde viven (Deter et al., 2008).

Trichuris feliui Ribas & Casanova, 2004

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: intestino
Prevalencia: 1,0%
Localidades: Oles

Morfología y Sistemática

Trichuris feliui es un nematodo que se incluye dentro de la clase Dorylaimea, orden Trichocephalida, familia Trichuridae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Ribas & Casanova (2004) esta especie se caracteriza por presentar una estriación transversal y conspicua, y un extremo cefálico estrecho y redondeado, sin estilete. El esticosoma está formado por una hilera de 42-53 esticocitos.

Los machos miden 8,90 mm de longitud y 600 µm de anchura máxima que corresponde a la zona de transición esófago-intestino. La longitud del esófago es de 4,87 mm y la anchura máxima es de 26 µm. La ratio entre la región esofágica y postesofágica es 1,20:1. Destaca la ausencia de tubo espicular. La espícula es esbelta y con el extremo distal redondeado; mide 1,04 mm de largo y 23-25 µm de ancho en el extremo proximal. La vaina espicular es espinosa y sus medidas son 67 µm de largo y 11 µm de ancho. El tubo cloacal distal mide 1,1 mm de largo y 20 µm de ancho. Los machos presentan un par de papilas postcloacales.

Las hembras, más grandes que los machos, miden 10,08 mm de longitud y 700 µm de anchura en la zona de transición esófago-intestino. La anchura máxima corresponde a la zona vulvar y es de 790 µm. Las medidas del esófago son 5,01 mm de longitud y 36 µm de anchura máxima. Presentan un apéndice vulvar con unas medidas de 43 x 43 µm. La abertura vulvar se localiza a una distancia de 170 µm posterior a la zona de unión esófago-intestino. La vagina es musculosa y mide 308 µm de longitud. El ano ocupa una posición subterminal y se localiza a 10 µm del extremo caudal. Los huevos maduros tienen forma alargada y sus medidas incluyendo los tapones polares son 60 x 30 µm.

Biogeografía

Trichuris feliui es un parásito exclusivo del género *Talpa* con una distribución europea (Ribas & Casanova, 2004).

Tanto a nivel peninsular como a nivel europeo, la especie únicamente ha sido denunciada en *Talpa europaea* (Ribas & Casanova, 2005, 2006a; Ribas et al., 2007). Así, el presente estudio representa la primera cita del tricúrido en *Talpa occidentalis*, que se erige como un nuevo hospedador del nematodo.

Ciclo biológico

Trichuris feliui es un parásito monoxeno de hábitat intestinal (Ribas & Casanova, 2006a; Ribas et al., 2007). Su ciclo biológico sería muy parecido al explicado para *T. arvicolae*, con la salvedad que la infestación sería por contacto directo con los huevos embrionados una vez depositados en el suelo junto a las heces (Ribas et al., 2007).

Heligmosomum costellatum (Dujardin, 1845)

Hospedador: *Microtus lusitanicus*
Microhábitat: intestino delgado
Prevalencia: 3,52%
Localidades: Fresnu, Grao, Merón, Oles y SERIDA

Morfología y Sistemática

Heligmosomum costellatum es un nematodo que se incluye en la clase Chromadorea, orden Rhabditida, familia Trichostrongylidae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Mészáros (1977) la superficie corporal presenta unas crestas cuticulares transversales, sin bordes internos queratinizados. El extremo cefálico está rodeado por una vesícula cuticular (Figura 24a).

Los machos miden 10,5-14,2 mm de largo con una anchura máxima de 95-130 µm. El esófago tiene una longitud de 430-550 µm. El anillo nervioso y el poro excretor están situados respectivamente a 220-270 µm y a 500-680 µm del extremo anterior. En general la bolsa copuladora es simétrica y está formada por dos lóbulos (Figura 24b). La costilla dorsal es corta y se divide en 4, siendo las divisiones interiores más largas que las exteriores. La costilla externo-dorsal es larga y estrecha (Figura 24c). Las costillas laterales tienen una raíz compartida; de ellas, las anterolaterales son las más gruesas y las mediolaterales son las más largas (Figura 24d). Las costillas posteroventrales son las más desarrolladas entre las ventrales. Presentan dos espículas que miden 830-1.200 µm de longitud y están recubiertas por una fina cutícula (Figura 24b). Carecen de gubernáculo (Mészáros, 1977).

Las hembras miden 14,6-20,6 mm con una anchura máxima de 200-280 µm, siendo más grandes que los machos. El esófago mide 530-700 µm de longitud. El anillo nervioso y el poro excretor se encuentran respectivamente a 210-310 µm y a 500-800 µm del extremo anterior. A nivel de sistema reproductor cabe destacar que presentan un único útero y la vulva se encuentra a 90-110 µm del extremo posterior. Los huevos miden 86-100 x 55-63 µm (Mészáros, 1977).

Biogeografía

Heligmosomum costellatum es una especie paleártica (Durette-Desset, 1971).

En España el trichostongylido ha sido hallado previamente en *Microtus lusitanicus* (=*Pitymys mariae, Pitymys lusitanicus*) por Mészáros (1977) y Feliu et al. (1997). También ha sido denunciado parasitando a *Apodemus sylvaticus*, *Chionomys* nivalis, *Microtus* agrestis, *Microtus arvalis* y *Microtus duodecimcostatus* (=*Pitymys duodecimcostatus*) (Tenora & Mészáros, 1972; Mészáros, 1977; Feliu et al., 1984a, 1997).

En Europa se ha citado en *Alticola* macrotis, *Apodemus agrarius*, *Apodemis flavicollis*, *Apodemus peninsuliae, A. sylvaticus*, *Arvicola amphibius*, *Arvicola terrestris, Chionomys nivalis* (=*Myodes nivalis*), *Micromys minutus*, *M. agrestis, M.* arvalis, *Microtus schidlovskii*, *Microtus socialis*, *Microtus subterraneus* (=*Pitymys subterraneus*), *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*) y *Ondatra zibethica* (Tenora et al., 1973; Mészáros, 1977; Genov & Yanchev, 1981; Haukisalmi et al., 1994; Tenora & Borcovcova, 2003; Chechulin et al., 2005; Klimpel et al., 2007; Janova et al., 2010; Vlasov et al., 2015; Shalaeva, 2016; Movsesyan et al., 2018).

En Asia, *H. costellatum* ha sido reportado parasitando a *Microtus montebelli* (Asakawa et al., 2004).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de *H. costellatum* es directo, sin hospedadores intermediarios. Tiene tres estadios larvarios de vida libre y un cuarto que es la que pasa a adulto en el lumen del intestino delgado del hospedador (Janova et al., 2010). De acuerdo con Durette-Desset et al. (1994) la infestación tendría lugar por penetración activa de las larvas de tercer estadio a través de la piel o por ingestación de éstas.

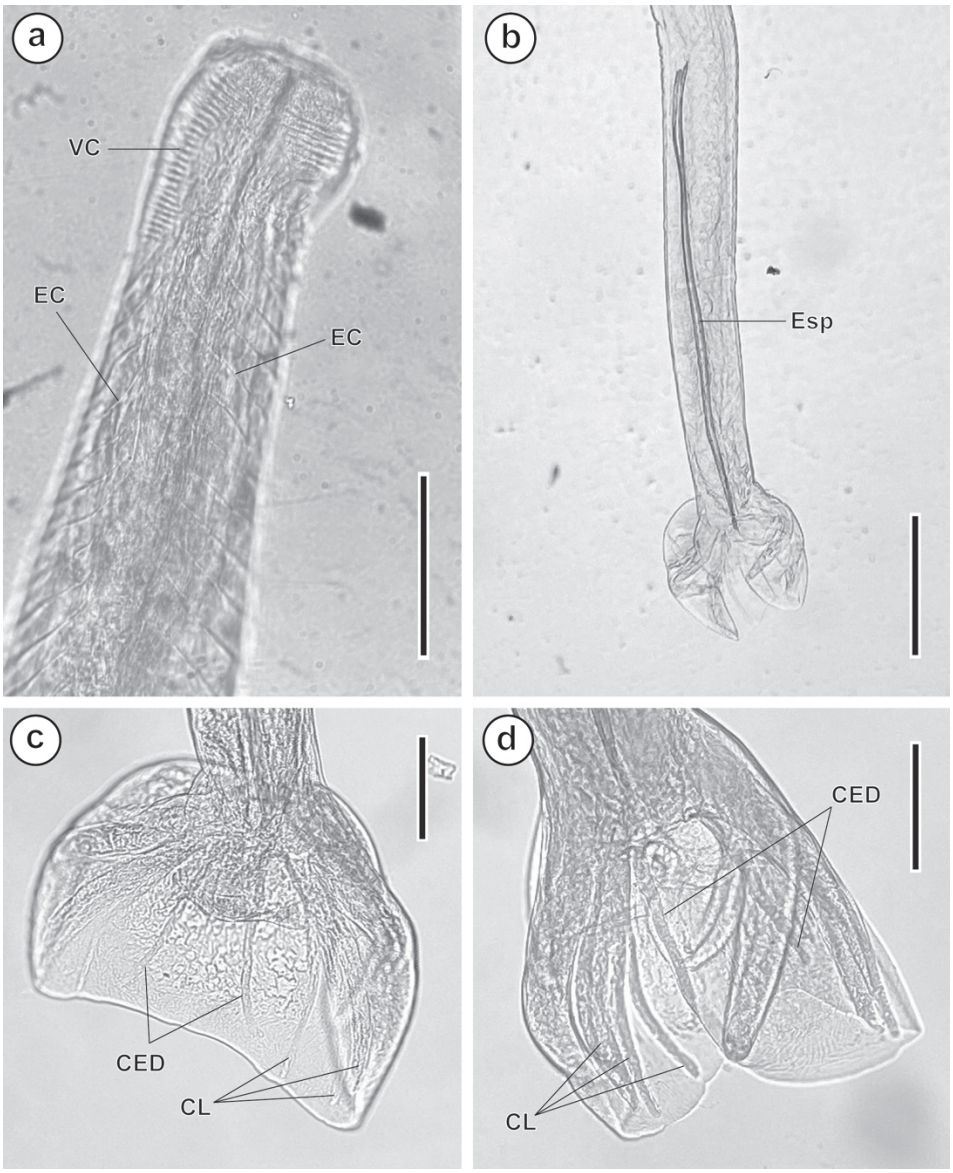


Figura 24. *Heligmosomum costellatum*. **a)** Extremo cefálico de la hembra. **b)** Extremo caudal del macho mostrando la bolsa copulatriz y las dos espículas (Esp). **c), d)** Bolsa copulatriz. CED, costilla externodorsal; CL, costilla lateral; EC, estriaciones cuticulares; VC, vesícula cuticular. Escalas a), c), d) = 100 µm; b) = 300 µm.

***Carolinensis minutus* (Dujardin, 1845)**

Hospedador: *Arvicola scherman* y *Microtus lusitanicus*

Microhábitat: intestino delgado

Prevalencia en *A. scherman*: 30,2%

Localidades en *A. scherman*: Ceceda, Fresnadiellu, Fresnu, La Fajera, La Rozada, Llata, Oles, Priesca, SERIDA, Sta. Marina y Vegadali

Prevalencia en *M. lusitanicus*: 43,38%

Localidades en *M. lusitanicus*: Camoca, Ceceño, Fresnu, Oles, Poreño, Priesca y SERIDA

Morfología y Sistemática

Carolinensis minutus es un nematodo que se incluye dentro de la clase Chromadorea, orden Rhabditida, familia Trichostrongylidae (Hodda, 2022).

Esta especie fue descrita por Dujardin como *Strongylus minutus* en 1845. En el año 1968 Durette-Desset la incluyó en el género *Longistriata* como *Longistriata wolgaense* y en 1971 la propia autora la transfirió al género *Boreostrongylus*, para finalmente incluirla dentro del género *Carolinensis* en 1983 (véase Jackson & Frieberg, 2022).

Según Mészáros (1977), estos nematodos se caracterizan por su pequeño tamaño. Tienen la superficie del cuerpo recubierta por crestas cuticulares longitudinales, siendo las de la parte ventral más desarrolladas que las de la parte dorsal. La extremidad cefálica está rodeada por una vesícula cuticular.

Los machos miden 2,2-2,5 mm con una anchura máxima de 60-70 µm. La longitud del esófago es de 280-330 µm. El anillo nervioso y el poro excretor están situados a 130-170 µm y a 170-210 µm del extremo anterior, respectivamente. El extremo posterior acaba en una bolsa copulatriz bilobulada, simétrica y sin papila prebursal. Las costillas externodorsales y dorsales parten de un tronco común (Figura 25). Las externodorsales se dividen cerca de la base, mientras que las dorsales se bifurcan y a la vez se vuelven a bifurcar cerca del margen distal de la bolsa. Las costillas posterolaterales y mediolaterales también tienen un tronco común, así como las costillas ventrales. Estas últimas están menos desarrolladas que todas las anteriores. Las espículas son alargadas y miden

280-350 µm de longitud. El gubernáculo, con forma de hoja, mide 27-34 µm de longitud (Mészáros, 1977).

Las hembras miden 2,8-3,2 mm de longitud y su anchura máxima es de 60-70 µm. El esófago mide 350-400 µm. El anillo nervioso y el poro excretor se encuentran a 170-200 µm y a 200-220 µm del extremo anterior, respectivamente. La vulva se localiza a 90-120 µm del extremo posterior. La cola mide 30-35 µm de longitud y presenta dos pequeñas papilas en la punta. Los huevos miden 68-85 x 37-53 µm (Mészáros, 1977).

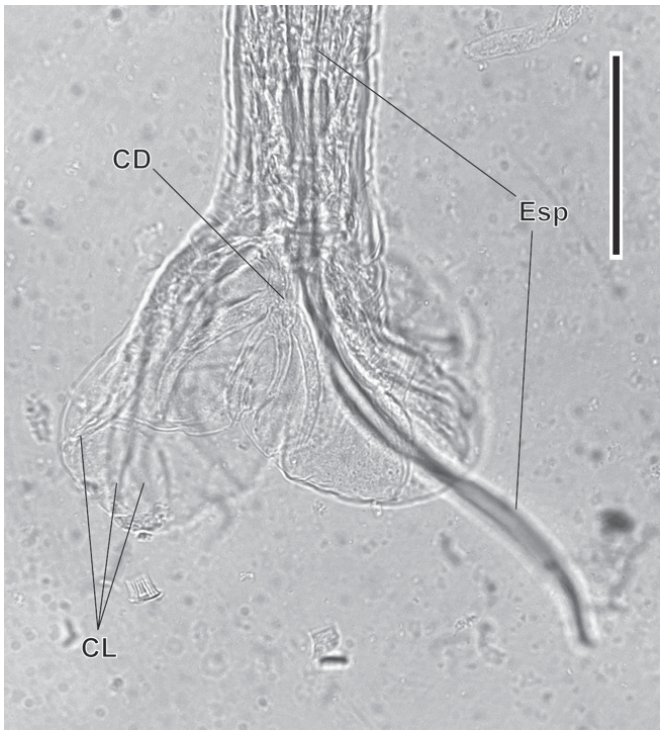


Figura 25. Bolsa copulatriz del macho de *Carolinensis minutus*. CD, costilla dorsal; CL, costilla lateral; Esp, espículas. Escala = 100 µm.

Biogeografía

Carolinensis minutus es un parásito de distribución paleártica propio de arvicolinos (Jackson & Frieberg, 2022).

En España y Portugal ha sido citado parasitando a *Arvicola sapidus*, *Chionomys nivalis*, *Microtus agrestis*, *Microtus pyrenaicus* (=*Pitymys pyrenaicus*) (Feliu et al., 1985b, 1992a, 1997; Fuentes et al., 2003; entre otros).

En Europa ha sido denunciado en *Arvicola terrestris, M. agrestis*, *Microtus arvalis*, *Microtus guentheri*, *Microtus raticeps*, *Microtus subterraneus*, *Myodes*

glareolus (ver por ejemplo Mészáros, 1977; Mészáros & Murai, 1979; Mathews et al., 2006; Kirillova et al., 2020; Jackson & Friberg, 2022).

En el continente asiático ha sido citado en *M. arvalis, M. guentheri, Microtus montebelli*, (Mészáros, 1977; Ito & Itagaki, 2003; Asakawa, 2005; Kirillova et al., 2020; entre otros).

Ciclo biológico

Se considera que su ciclo biológico es monoxeno, siendo los estadios larvarios muy dependientes de la humedad, la temperatura y la insolación (Feliu et al., 1992a). La infestación se produciría por penetración de las larvas de tercer estadio a través de la piel o por su ingestión (Durette-Desset et al., 1994).

Tricholinstowia sp.

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: intestino delgado
Prevalencia: 1,0%
Localidades: Fresnu

Morfología y Sistemática

Tricholinstowia Travassos,1937 es un género de nematodos incluido dentro de la clase Chromadorea, orden Rhabditida, familia Trichostrongylidae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Durette-Desset et al. (2017), son pequeños nematodos que se caracterizan por tener la extremidad cefálica más larga que ancha y el esófago relativamente largo. La sinlofa consta de 9-16 crestas. Las crestas dorsales presentan la cutícula crenulada, estando ausente de crestas como mínimo el sector izquierdo-dorsal. Las crestas ventrales se caracterizan por tener puntas esclerotizadas. La sección media de la parte derecha-ventral está libre de crestas. Las crestas izquierda y derecha son las más largas.

Los machos miden 0,99-2,25 mm de longitud. La ratio entre la longitud del esófago y la del cuerpo es de 15-24% y entre la longitud de la espícula y la del cuerpo es de 6-15%. La bolsa es subsimétrica y, generalmente, carecen de gubernáculo. El cono genital es inconspicuo o muy poco desarrollado (Durette-Desset et al., 2017).

Las hembras miden 1,3-3,3 mm de longitud. La longitud del esófago con relación a la del cuerpo es de 12-25%. La relación entre la distancia de la vulva al extremo posterior del cuerpo y la longitud del cuerpo es del 3-8%. La longitud del útero respecto a la del cuerpo es de 13-16%. Son monodelfas, con un solo tubo genital. El útero tiene más de 8 huevos que miden 41-130 x 24-43 µm (Figura 26) (Durette-Desset et al., 2017).

El género *Tricholinstowia*, descrito por Travassos en 1937, actualmente incluye 8 especies: *Tricholinstowia desseti, Tricholinstowia linstowi, Tricholinstowia maseri, Tricholinstowia mogera, Tricholinstowia morenishi,*

Tricholinstowia mornanti, Tricholinstowia talpae y *Tricholinstowia vigisi* (Durette-Desset et al., 2017).

No ha sido posible la identificación específica del ejemplar encontrado ya que era una hembra inmadura y las claves dicotómicas consultadas para la identificación se basan en caracteres propios del macho.

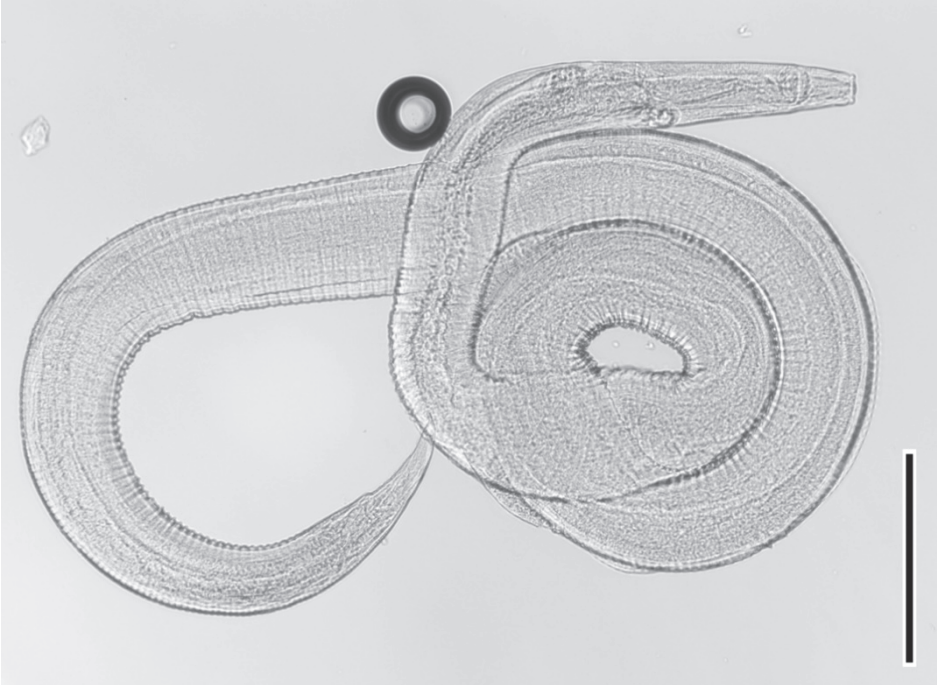


Figura 26. Hembra de *Tricholinstowia* inmadura hallada en el presente estudio. Escala = 200 µm.

Biogeografía

Tricholinstowia es un género de distribución holártica, parásito de tálpidos (Durette-Desset & Vaucher, 1974; Ribas & Casanova, 2006a).

En la Península Ibérica especies de este género han sido denunciadas como parásitos de *Talpa europaea* y *Talpa occidentalis* (Ribas & Casanova, 2005, 2006a).

A nivel europeo y en Rusia este género ha sido descrito como parásito de *Talpa caeca, T. europaea, T. occidentalis* y *Talpa romana* (Durette-Desset & Vaucher, 1974; Ribas & Casanova, 2006a; Kirillova & Kirillov, 2017; entre otros).

También se han citado especies de este género parasitando a *Scapanus orarius* en los Estados Unidos (Durette-Desset & Vaucher, 1974) o a *Mogera*

imaizumii, Mogera kobeae, Mogera tokudae y *Mogera wogura* en Japón (Yokohata et al., 1989; Sakata & Asakawa, 2003; Koizumi et al., 2011).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de este género de nematodos no es conocido, pero como el de otros trichostrongílidos se podría considerar monoxeno, siendo la fase larvaria la forma infestante (Durette-Desset, 1985). La infestación se produciría por penetración activa de las larvas de tercer estadio a través de la piel o por su ingesta (Durette-Desset et al., 1994).

Spirura talpae (Gmelin, 1790)

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: estómago
Prevalencia: 20,2%
Localidades: Coceña, Llata, Oles, Priesca y SERIDA

Morfología y Sistemática

Spirua talpae es un nematodo incluido dentro de la clase Chromadorea, orden Spirurida, familia Spiruridae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Hall (1916), esta especie se caracteriza por tener la parte posterior más delgada que la parte anterior. El extremo cefálico tiene forma redondeada; la boca consta de dos labios muy finos, cada uno de los cuales presenta tres papilas. El esófago es estrecho y cilíndrico y su longitud es 1/5 parte de la longitud total del cuerpo. La cutícula está densamente estriada transversalmente. Cerca del extremo anterior del cuerpo se sitúa una bolsa cuticular ventral (Figura 27a).

Los machos miden 10-20 mm de longitud y tienen una anchura de 250 µm por debajo del estroma. El extremo cefálico tiene un diámetro de 70 µm y la abertura bucal 40 µm. La cola mide 600 µm y tiene una terminación obtusa. Presentan dos alas caudales, 4 pares de papilas preanales, 5 pares postanales (las dos últimas muy próximas al extremo posterior del cuerpo) y una papila impar anterior a la cloaca. Tienen dos espículas, desiguales tanto en tamaño como en forma. La derecha es la mayor, mide 530 µm de longitud y 18 µm de anchura. La izquierda es la menor, mide 400 µm de longitud, tiene forma ensiforme (en forma de espada), está dividida longitudinalmente por una quilla delgada y presenta dos expansiones laterales en forma de alas membranosas estriadas transversalmente (Hall, 1916) (Figura 27b).

Las hembras son mayores que los machos; tienen una longitud de 20-32 mm de longitud y una anchura de 300 µm debajo del estroma. La extremidad cefálica mide 109 mm de diámetro y la abertura bucal 59 µm. El extremo posterior del cuerpo es cónico, con una terminación obtusa. La vulva se encuentra a 11,8 mm del extremo posterior del cuerpo y presenta labios prominentes. Los huevos

son elípticos y miden 48-52 x 36-38 µm. Cada hembra presenta entre 10 y 30 huevos (Hall, 1916).

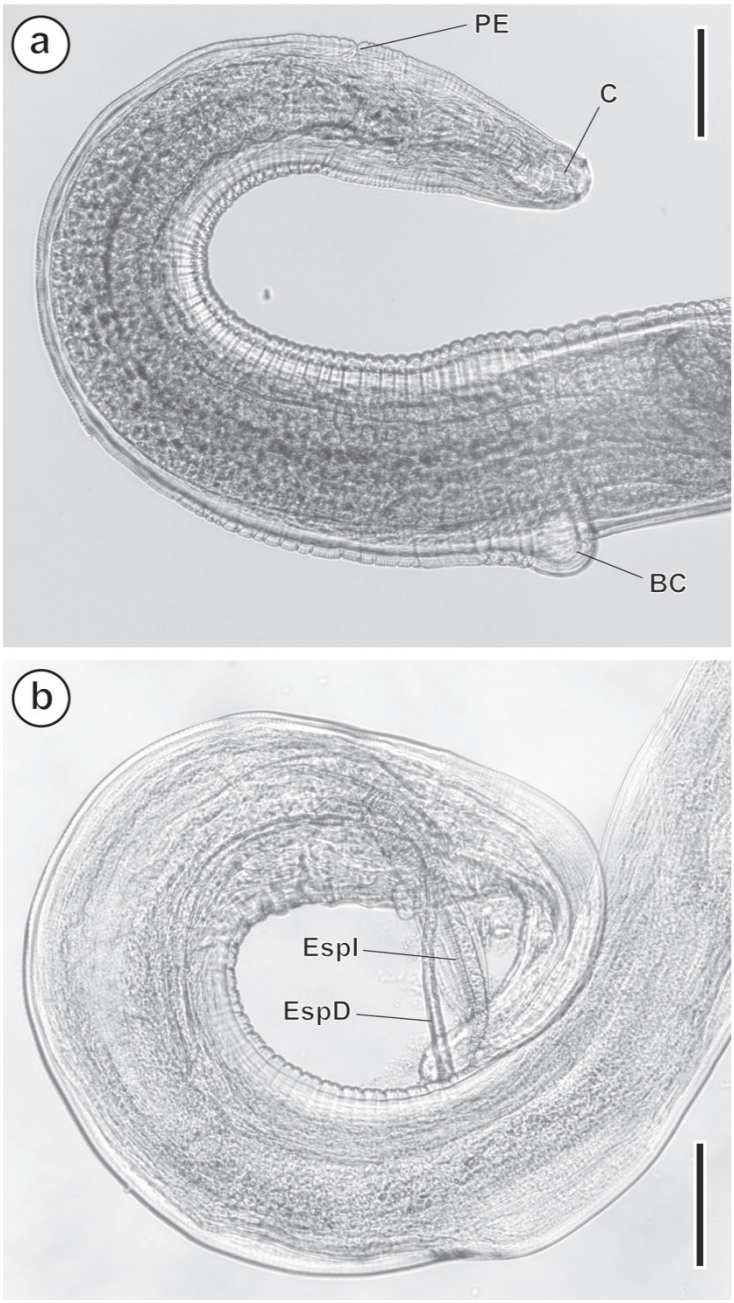


Figura 27. *Spirura talpae*. **a)** Extremo anterior de la hembra. **b)** Extremo caudal del macho. BC, bolsa cuticular; C, cápsula bucal; EspD, espícula derecha; EspI, espícula izquierda; PE, poro excretor. Escalas = 100 µm.

Biogeografía

Spirura talpae es un nematodo que ha sido denunciado como parásito de *Talpa europaea* en la Península Ibérica (Sánchez-Acedo & Mas-Coma, 1977; Ribas & Casanova, 2005).

A nivel europeo ha sido hallada parasitando *T. europaea, Talpa romana* y *Talpa occidentalis* (Casanova, 1993; Ribas & Casanova, 2006a; entre otros). A nivel asiático ha sido denunciada en la antigua URSS parasitando *T. europaea* (Petrov & Tchertkova, 1959). También ha sido hallada en Estados Unidos como parásito del sorícido *Blarina brevicauda* (Huffman & Penner, 1981).

Ciclo biológico

De acuerdo con Chabaud & Mahon (1958), el ciclo biológico de *S. talpae* es diheteroxeno siendo los hospedadores intermediarios coleópteros de los géneros *Cetonia, Tropinota* o *Oxythyrea*.

Estos autores consiguieron reproducir el ciclo biológico de este parásito hasta la fase de larva 3 en los coleópteros, pero no pudieron hacer la infestación experimental en topos. Los huevos son ingeridos por los coleópteros, eclosionan y las larvas se enquistan en la cavidad general del cuerpo. Estos quistes consisten en una cápsula de doble cubierta con la larva enrollada en su interior. En esta forma efectúan dos mudas hasta llegar a la larva 3, que es la forma infestante. Cuando llegan a esta fase, la larva entra en una diapausa estricta. A partir de este punto, dichos autores suponen que cuando la larva es ingerida por el hospedador definitivo prosigue el ciclo hasta llegar a las formas adultas.

Syphacia nigeriana Baylis, 1928

Hospedadores: *Arvicola scherman* y *Microtus lusitanicus*
Microhábitat: ciego
Prevalencia en *A. scherman*: 11,5%
Localidades en *A. scherman*: Ceceda, Fresnadiellu, Llata, Oles, Priesca, Sta. Marina y Valle del Lago
Prevalencia en *M. lusitanicus*: 22,25%
Localidades en *M. lusitanicus*: Coceña, Fresnu, Merón, Oles, Poreño, Priesca y SERIDA

Morfología y Sistemática

Syphacia nigeriana es un nematodo incluido dentro de la clase Chromadorea, orden Spirurida, familia Oxyuridae (Hodda, 2022).

De acuerdo con Tenora & Mészáros (1975) el extremo anterior de *S. nigeriana* presenta 3 labios rudimentarios, 4 papilas cefálicas y 2 anfidios. No presentan ala cervical y la lateral es muy estrecha. La cutícula está estriada transversalmente.

Los machos tienen una longitud corporal de 1,5-1,6 mm y una anchura máxima de 130-160 µm. El esófago mide 230-240 µm de longitud. El anillo nervioso y el poro excretor están situados respectivamente a 90-110 µm y a 250-330 µm del extremo apical. Presentan tres mamelones estriados transversalmente localizados a 500, 750 y 1000 µm del extremo cefálico (Figuras 28a, b). La cola está curvada ventralmente y mide 160 µm. Presentan gubernáculo y espículas que miden 27-31 µm y 68-75 µm, respectivamente (Tenora & Mészáros, 1975) (Figura 28b).

Las hembras son más grandes que los machos, presentando una longitud corporal de 3-5,5 mm de longitud y una anchura máxima de 200-360 µm. El anillo nervioso y el poro excretor se localizan respectivamente a 130-170 µm y a 400-560 µm del extremo anterior. La vulva se localiza a 630-840 µm del extremo anterior. La cola mide 530-700 µm. Los huevos tienen un lado aplanado y miden 95-123 x 30-37 µm (Tenora & Mészáros, 1975).

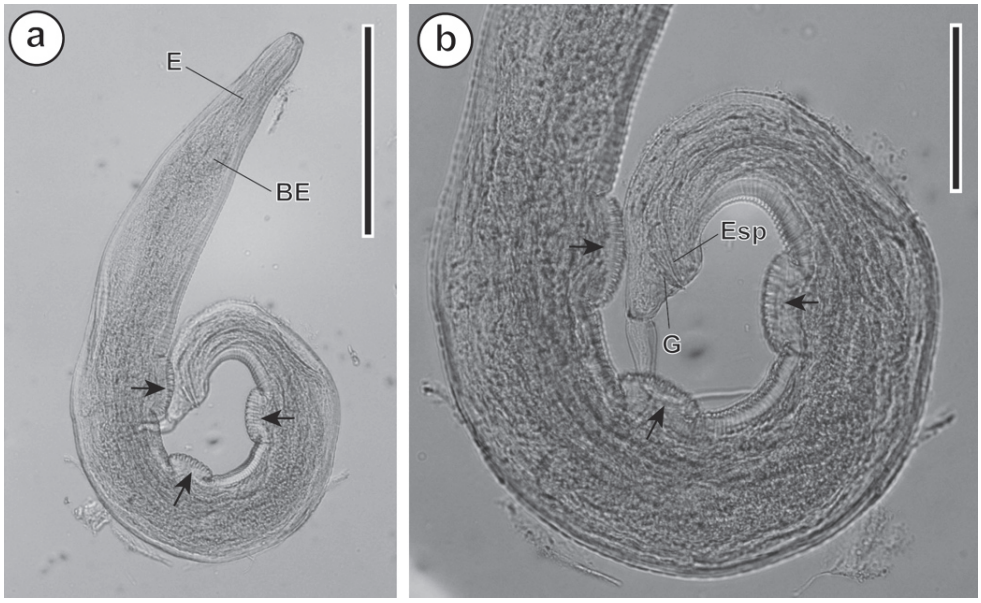


Figura 28. *Syphacia nigeriana*, macho. **a)** Ejemplar entero. **b)** Extremo cuadal. Flechas, mamelones cuticulares; BE, bulbo esofágico; E, esófago; Esp, espícula; G, gubernáculo. Escala a) = 300 µm; b) = 100 µm.

Biogeografía

Syphacia nigeriana es una especie holártica (Kirillova et al., 2020). Fue descrita por Baylis (1928) en cinco especies de micromamíferos de África occidental: *Taterillus gracilis, Gerbiliscus kempi, Praomys tulbergi, Mastomys erithroleucus* y *Lemniscomys striatus.* También ha sido denunciada en diferentes especies del género *Microtus* en América: *Microtus gregalis murici, Microtus mexicanus mexicanus, Microtus oeconomus macfarlani, Microtus eoconomus operarus, Microtus pennsylvanicus alcorni, Microtus pennsylvanicus drummondi,* y *Microtus pennsylvanicus pennsylvanicus* (ver Mészáros, 1977). Los parasitólogos europeos la consideran una especie que parasita roedores de este continente, principalmente del género *Microtus* (Behnke et al., 2021). Estudios morfológicos y moleculares de diversas especies del género *Syphacia* han evidenciado que individuos analizados procedentes de Gran Bretaña y de diversas localidades africanas pertenecen a la misma especie, *S. nigeriana* (Behnke et al., 2021).

En España ya ha sido denunciada parasitando *Microtus lusitanicus* (=*Pitymys lusitanicus*) y *Arvicola* terrestris (Feliu et al., 1997, 2009). También ha sido hallada parasitando *Arvicola sapidus, Chionomys nivalis, Microtus agrestis*,

Microtus arvalis, *Microtus cabrerae,* y *Microtus duodecimcostatus* (=*Pitymys duodecimcostatus*) (Mas-Coma et al., 1978; Feliu et al., 1991, 1997).

En Europa ha sido reportada en *A. terrestris, C. nivalis, M. agrestis, M. arvalis, Microtus guentheri, Microtus lavernedii, Microtus oeconomus, Mus musculus* y *Myodes glareolus* (Mészáros, 1977; Tenora et al., 1979b; Genov & Yanchev, 1980; Cerqueira et al., 2007; Behnke et al., 2021).

Algunos autores diferencian *Syphacia arvicolae* Sharpilo, 1973 de *S. nigeriana*. *Syphacia arvicolae* fue identificada en ejemplares de *A. terrestris* y otros arvicolinos en diferentes países europeos (Sharpilo, 1973; Pleshchev, 1978; Genov & Yanchev, 1980; Feliu et al., 1984b, Behnke et al., 2021).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de *S. nigeriana* no es muy conocido. No obstante, se sabe que es un ciclo directo, sin hospedadores intermediarios. La forma de transmisión principalmente se da por contacto directo de posibles hospedadores con los huevos embrionados, sin que intervengan formas de vida libre (Haukisalmi, 1986).

Porrocaecum sp. larvae

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: intestino
Prevalencia: 1,0%
Localidades: Vegadali

Morfología y Sistemática

El género *Porrocaecum* engloba nematodos incluidos dentro de la clase Chromadorea, Orden Spirurida, familia Ascarididae (Hodda, 2022).

No se pudo identificar a nivel específico ya que se trataba de una forma larvaria. El ejemplar parasitado por este parásito presentaba una estructura quística localizada en la pared externa del abdomen. Esta estructura estaba formada por una cubierta membranosa semitransparente con un pedúnculo que la fijaba a la pared abdominal, y en su interior se localizaba la larva enrollada en espiral.

Considerando el trabajo de Osche (1955), nuestro especimen larvario podría tratarse de *Porrocaecum talpae*. Las cápsulas fibrosas se localizan en el intestino y en el mesenterio de *Sorex araneus*, *Neomys fodiens* y *Talpa europaea*. En su interior se localiza la larva de color rojo. Esta larva presenta un esófago con un pequeño divertículo, un ciego intestinal relativamente grande y una pared del cuerpo muy engrosada. Las medidas totales de la larva son 7,94-8,54 mm de longitud y 260 µm de ancho máximo. Las medidas de las cápsulas son de 2,1 x 2 mm.

Biogeografía

Hay especies del género *Porrocaecum* que presentan una distribución cosmopolita (Fagerholm & Overstreet, 2008).

Diversas formas larvarias del género *Porrocaecum* ya han sido denunciadas previamente en *Talpa* spp., *Talpa occidentalis* y *Talpa caeca* en la Península Ibérica. También se han encontrado en ejemplares de *Crocidura russula*, *Erinaceus europaeus* y *S. araneus* (Cordero del Campillo et al., 1994; Feliu et al., 2001; Ribas & Casanova, 2005, 2006a).

A nivel europeo ha sido encontrado en ejemplares de *T. europaea* (Casanova, 1993; Ribas & Casaova, 2006a).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de este grupo de nematodos es diheteroxeno terrestre, con lombrices de tierra como hospedadores intermediarios y aves como definitivos (Anderson, 2000; Eckerlin et al., 2020). Los huevos, expulsados junto con las heces de las aves, llegan al suelo donde son ingeridos por las lombrices de tierra. El ciclo finaliza una vez las lombrices de tierra infestadas son ingeridas por su hospedador definitivo (Anderson, 2000; Fagerholm & Overstreet, 2008; Eckerlin et al., 2020). Las especies que tienen como hospedador definitivo aves de presa usan a micromamíferos como hospedadores paraténicos. En estos casos las larvas se encuentran enquistadas en el mesenterio o en el intestino de estos mamíferos y llegan a su hospedador definitivo cuando estos tejidos son consumidos (Fagerholm & Overstreet, 2008).

ACANTHOCEPHALA

Moniliformis sp.

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: intestino
Prevalencia: 1,9%
Localidades: Fresnadiellu y Merón

Morfología y Sistemática

Moniliformis es un género de acantocéfalos incluido dentro de la clase Archiacanthocephala, orden Moniliformida, familia Moniliformidae (Amin, 2013).

Este género fue definido por Travassos en 1915. Ha sido sinonimizado parcialmente con *Echinorhynchus*, *Gigantorhynchus* y *Hormorhynchus* (Amin, 2013).

El género *Moniliformis* se caracteriza por tener un cuerpo de tamaño mediano a grande, con una forma cilíndrica alargada, pudiendo llegar a ser fusiforme en las hembras adultas. Presentan una pseudosegmentación muy clara que solo involucra a la pared corporal. La probóscide es casi cilíndrica o tiene forma de maza corta. Presenta numerosos ganchos en forma de medialuna que se distribuyen en filas longitudinales. La raíz de los ganchos es simétrica y está poco diferenciada de la hoja. La vaina de la probóscide es una bolsa cerrada de doble pared. La parte externa presenta las fibras dispuestas de forma oblicua, confiriendo una constitución en espiral a la vaina. Esta disposición de las fibras es una característica diferencial del género *Moniliformis* respecto al resto de los Archiacanthocephala, que las presentan de forma longitudinal. El ganglio cerebroide se sitúa cerca de la base de la probóscide. Los lemniscos son largos y filiformes, contienen pocos núcleos esferoidales gigantes. Hay ocho glándulas cementarias dispuestas en pares, en dos filas de cuatro, presentando cada glándula un núcleo subesférico gigante. Carecen de protonefridios. Los embrióforos son elipsoidales con una pared gruesa. La pared de los huevos es delgada (López-Neyra, 1946; Golvan, 1962).

Biogeografía

De las 20 especies del género *Moniliformis* aceptadas en la actualidad, la mayoría presentan una distribución continental (África, América del Norte, América del Sur, Asia o Europa) y únicamente *Moniliformis moniliformis* presenta una distribución cosmopolita (Lynggaard, 2021; Ramilo et al., 2023).

En la Península Ibérica se han denunciado *Moniliformis spiralis* y *Moniliformis* sp. como parásitos de *Talpa occidentalis* (Ribas & Casanova, 2006a; Ribas et al., 2007). También se ha citado *Moniliformis circumflexus* (=*Echinorhynchus* circumflexus) como parásito de *Talpa* europaea (López-Neyra, 1946; Ribas & Casanova, 2006a), aunque el binomio aceptado actualmente de esta especie es *Oligacanthorhynchus circumflexus* (Amin, 2013). Se ha denunciado *M. moniliformis* parasitando a *Atelerix algirus*, *Mus spretus*, *Procyon lotor*, *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus* (Mas-Coma et al., 2000; Torres et al., 2011, 2012; Feliu et al., 2012; Galán-Puchades et al., 2018; García Sanjuan et al., 2022). Además, en la Península Ibérica y Europa, se ha denunciado *Moniliformis cestodiformes* en *Erinaceus europaeus* (Ramilo et al., 2023).

En Europa se ha citado *M. moniliformis* parasitando a *Apodemus agrarius*, *Martes martes*, *Spalax leucodon*, *Spermophilus citellus* y *Vulpes vulpes*, entre otras especies (Murai, 1968; Kazimierczak et al., 2006; Yakolev et al., 2013; Shimalov, 2018; Kachamakova et al., 2023; entre otros).

En Asia hay un gran número de citas de *M. moniliformis* en diferentes especies de ratas (*R. rattus*, *R. norvegicus*, *Rattus exulans, Rattus tanezumi*) (Paramasvaran et al., 2009; Zain et al., 2012; Chaisiri et al., 2015; Mendenhall et al., 2018; entre otros) y en otras especies como, por ejemplo, *Apodemus sylvaticus*, *Bandicota bengalensis*, *Cricetulus migratorius*, *Hemiechinus auritus*, *Meriones persicus*, *Paraechinus hypomelas* (Singla et al., 2008; Tavakol et al., 2015; Harandi et al., 2016; Zolfaghari & Nabavi, 2016; Aslanova & Fataliyev, 2022). También han sido denunciadas otras especies de este género como *Moniliformis clarcki* en *Citellus undulatus* y *Sciurus vulgaris* (Agapova, 1962; Shalaeva et al., 1987), *Moniliformis cryptosaudi* en *H. auritus* (Amin et al., 2019), *Moniliformis echinosorexi* en *Echinosorex gymnurus* (Deveaux et al., 1988),

Moniliformis saudi en *Paraechinus aethiopicus* (Amin et al., 2016) y *Moniliformis tarsii* en *Tarsius bancanus* (Deveaux et al., 1988).

En África también se ha denunciado *M. moniliformis* parasitando a diferentes especies de micromamíferos como *A. algirus*, *R. norvegicus*, *R. rattus* y *P. aethiopicus* (Ward & Nelson, 1967; Khaldi et al., 2012; Ogunniyi et al., 2014; Archer et al., 2017; Houéménou et al., 2018). Además, se han citado otras especies como *Moniliformis acomysi* en *Acomys cahirinus* (Ward & Nelson, 1967) y en otros roedores (Smales et al., 2018) y a *Moniliformis kalahariensis* en *Atelerix frontalis* (Amin et al., 2014).

En América *M. moniliformis* ha sido citado en numerosas ocasiones parasitando a *R. norvegicus* y *R. rattus* (de Sotomayor et al., 2015; Abad et al., 2016; Solórzano et al., 2021; entre otros). También ha sido denunciado en *Felis catus* (Cantó et al., 2013), *Procyon lotor* (Richardson, 2014) y en el lagarto *Cnemidophorus tigris multiscutatus* (Goldberg et al., 1998). Otras especies de este género halladas han sido *Moniliformis amini* en *Abronthrix olivaceus* (Guerreiro et al., 2017), *Moniliformis clarki* en *Geomys bursarius*, *Glaucomys volans, Sciurus carolinensis* o *Xerospermophilus spilosoma* (Singleton et al., 1993b; Amin & Pitts, 1996; Pung et al., 2000; Ubelaker et al., 2010), *Moniliformis ibumani* en *Peromyscus hylocetes* (Lynggaard et al., 2021) y *Moniliformis necromysi* en *Necromys lasiurus* (Gomes et al., 2020), entre otros.

En Australia y otros países de Oceanía únicamente se ha citado *M. moniliformis* en *Rattus mordax*, *Rattus niobe*, *R. rattus*, *Rattus verucundus* y *F. catus* (Smales, 2016, 2018, 2021; Dybing et al., 2018).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de las especies del género *Moniliformis* es diheteroxeno. Los hospedadores intermediarios son insectos terrestres, principalmente escarabajos o cucarachas (Abe et al., 1997; Libersat & Moore, 2000; Amin et al., 2016; Galán-Puchades et al., 2018).

Los huevos del acantocéfalo son ingeridos por el hospedador intermediario. En ellos se localizan en el hemocele donde se desarrolla la forma infestante, el cistacanto. Cuando un hospedador intermediario infestado es ingerido por el hospedador definitivo adecuado, el cistacanto pasa a la forma

adulta. La hembra, una vez ha sido fecundada, efectúa la puesta de huevos que son eliminados con las heces. Una vez en el medio externo, restan a la espera de ser ingeridos por un hospedador intermediario (de Buron & Golvan, 1986; Ribas & Casanova, 2006b; Richardson & Nickol, 2008).

Hay estudios en especies de este género que demuestran la capacidad que tienen los acantocéfalos para modificar el comportamiento de los hospedadores intermediarios, de manera que sean más susceptibles a la predación por parte del hospedador definitivo (Moore, 1984; Libersat & Moore, 2000; Ribas & Casanova, 2006b; Richardson & Nickol, 2008; Dimitrova, 2009; Øverli & Johansen, 2019). Por ejemplo, Libersat & Moore (2000) estudiaron el comportamiento de escape en *Periplaneta americana* cuando está parasitada por *M. moniliformis*. En las cucarachas parasitadas se vio una respuesta de huida o bien más lenta o bien necesitando estímulos más fuertes para desencadenarla respecto a los individuos no parasitados.

Moniliformis moniliformis es un parásito con capacidad para producir acantocefaliasis en humanos, habiéndose descrito casos en diferentes países (ver Mathison et al., 2021). Se considera que los humanos son hospedadores accidentales y que los adquieren por la ingesta de un hospedador infestado (Schmidt, 1971).

Plagiorhynchus (*Prosthorhynchus)* sp. larvae

Hospedador: *Talpa occidentalis*
Microhábitat: intestino delgado
Prevalencia: 2,9%
Localidades: Merón y Oles

Morfología y Sistemática

El subgénero *Plagiorhynchus* (*Prosthorhynchus*) está incluido en la clase Paleoacantocephala, orden Polymorphida, familia Plagiorhynchidae (Amin, 2013).

La posición taxonómica de *Prosthorhynchus* ha cambiado con el tiempo. Se estableció como un género dentro de la familia Polymophidae y posteriormente se transfirió a la familia Prostorhynchidae, que incluía a este género y otros que tienen como hospedadores definitivos a mamíferos terrestres y como hospedadores intermediarios a insectos terrestres (Amin et al., 1999). Schmidt & Kuntz (1966) sinonimizaron *Plagiorhynchus* y *Prosthorrhynchus*; únicamente existen dos diferencias morfológicas consistentes entre los dos taxones: la posición del poro genital femenino (terminal en *Plagiorhynchus* y subterminal en *Prosthorhynchus)* y la forma del huevo (fusiforme con prolongaciones polares en *Plagiorhynchus* y oval sin prolongaciones polares en *Prosthorhynchus*) (Amin et al., 1999; García-Varela et al., 2019). Esta clasificación fue rechazada por Hoklova (1986) y Golvan (1994), aunque fue aceptada por otros autores como Smales (2002), Dimitrova (2009) y Amin (2013).

De acuerdo con Golvan (1956) este subgénero presenta las siguientes características.

El cuerpo es liso, inerme, oblongo y cilíndrico, con un tamaño mediano. La probóscide es cilíndrica y armada con numerosos ganchos con una raíz bien desarrollada, a excepción de las 4 últimas filas circulares inferiores que están formadas por espinas con una raíz pequeña.

El receptáculo está formado por una doble pared muscular, completamente cerrada que se insiere a nivel de la unión entre la probóscide y

el cuerpo, por debajo de la última hilera de espinas. El ganglio se ubica en el eje del receptáculo, a nivel del tercio medio.

Los lemniscos son mucho más largos que el receptáculo e impiden que se doble su extremo inferior. Contienen unos núcleos redondeados. Los núcleos subcuticulares son numerosos y redondeados.

Los testículos están situados a nivel de la parte anterior del cuerpo, son ovoides y se encuentran uno después del otro, tocándose por los polos contiguos en los machos sexualmente maduros. También presentan tres glándulas cementantes; en algunos casos estas glándulas se dividen en dos, formando un total de 6 glándulas.

En el caso de las hembras, el saco ligamentario está roto, estando las masas ováricas y los huevos flotando libremente en la cavidad pseudocelómica. El orificio genital femenino presenta una posición subterminal, carece de espinas y se abre en el ápice de una papila genital. Los huevos tienen forma oval regular y constan de tres membranas. La membrana externa forma una pared gruesa que puede estar ornamentada. La membrana media es concéntrica a la anterior y nunca presenta prolongaciones polares.

Los especímenes hallados en el presente estudio no pudieron ser identificados por tratarse de estadios larvarios.

Biogeografía

El subgénero *Prosthorhynchus* presenta una distribución cosmopolita (Golvan, 1956).

En la Península Ibérica diferentes especies de este subgénero han sido citadas como parásitos de *Erinaceus europaeus* y *Atelerix algirus* (Feliu et al., 2001; García-Salguero et al., 2019).

En otras partes de Europa diferentes especies del subgénero han sido denunciadas en *Eliomys quercinus, E. europaeus*, *Erinaceus roumanicus, Talpa europaea* o *Vulpes vulpes* (Golvan, 1961; Richards et al., 1995; Skuballa et al., 2010; García-Salguero et al., 2019; Hancock, 2022). En las Islas Azores (Portugal) también se ha detectado parasitando a *Mus musculus* (Casanova et al., 1996b).

En América ha sido denunciado en la musaraña *Blarina brevicauda* y el mapache *Procyon lotor* (Nickol & Oetinger, 1968; Sato et al., 2005).

En Asia también ha sido citado en *P. lotor* (Sato et al., 2005; Sato & Suzuki, 2006).

Finalmente, en Oceanía han sido denunciadas especies de este subgénero, tanto en Australia como en Nueva Zelanda como parásitos de *Antechinus agilis*, *Antechinus stuartii*, *E. europaus*, *Hydromis chrysogaster*, *Isodon obesculus*, *Parameles gunnii*, *Potouros tridactylus*, *Sminthopsis leucopus*, *V. vulpes* y *Walabia bicolour* (Smales, 1988, 2002; Skuballa et al., 2010).

Ciclo biológico

El ciclo biológico de este grupo de acantocéfalos es terrestre. El ciclo es heteroxeno y presentan como hospedadores intermediarios a isópodos terrestres. En los hospedadores intermediarios se localizan a nivel del hemocele, donde pasan por diferentes estadios larvarios hasta llegar a la forma infestante que es el cistacanto. El cistacanto pasa a la forma adulta en el hospedador definitivo tras ser ingerido junto con el hospedador intermediario infestado. Una vez se han reproducido, la hembra realiza la puesta de huevos en el tracto digestivo y son eliminados con las heces, restando a la espera de ser ingeridos por un hospedador intermediario (de Buron & Golvan, 1986; Ribas & Casanova, 2006b; Richardson & Nickol, 2008).

En algunas especies de las que se conoce su ciclo biológico, los hospedadores intermediarios son *Armadillidium versicolor*, *Armadillium* vulgare, *Hemilepsitus fedtschenkoi*, *Hemilepsitus reductus*, *Parcellio laevis*, *Parcellio scaber* o *Trachelipus squamuliger* (de Buron & Golvan, 1986; Smales 1988; Dimitrova, 2009; Sato et al., 2019).

Es conocido que estos parásitos pueden alterar el comportamiento o la coloración de sus hospedadores intermediarios para hacerlos más susceptibles a la predación por parte del hospedador definitivo (Moore, 1984; Ribas & Casanova, 2006b; Richardson & Nickol, 2008; Dimitrova, 2009; Øverli & Johansen, 2019).

Han sido denunciados como parásitos de diferentes grupos de aves terrestres, principalmente Charadriiformes y Passeriformes (Richardson & Nickol, 2008; García-Varela, 2020) y de mamíferos terrestres, principalmente roedores e insectívoros, que están considerados como hospedadores de espera o paraténicos, ya que en ellos los parásitos no alcazan la madurez sexual (Golvan, 1956, 1961; Lisitsyna, 2010).

3.3. ESTRUCTURA DE LAS HELMINTOFAUNAS

3.3.1. *Arvicola scherman*

El número de ejemplares hallados parasitados de *Arvicola scherman* fue de 464, lo que representa una prevalencia del 57%. Los helmintos hallados fueron *Hydatigera taeniaeformis* larvae como cestodo y como nematodos *Aonchotheca wioletti*, *Eucoleus bacillatus*, *Trichuris arvicolae*, *Carolinensis minutus* y *Syphacia nigeriana* (Tabla 16). Todos estos parásitos ya habían sido hallados en otros arvicolinos ibéricos (Feliu et al., 1997). Cabe destacar, que es la primera vez que se encuentra *C. minutus* en este hospedador en la península.

Tabla 16. Características seleccionadas de la comunidad helmintiana de los 815 *A. scherman* analizados. C, ciego; E, estómago; ES, error estándar; F, FES; H, hígado; I, intestino; IC intervalo de confianza; n, número; NF, no FES.

Especie helminto	Localización	Tipo de ciclo	n	Prevalencia (95% IC)	Abundancia media (ES)	Intensidad media (rango)
CESTODA						
***H. taeniaeformis* larvae**	H	F	155	19 (16-22)	0,25 (0,02)	1 (1-13)
NEMATODA						
A. wioletti	E	NF	1	0,1 (0,0-0,5)	<0,00 (<0,00)	2 (2)
E. bacillatus	E	F	3	0,4 (0,0-0,5)	0,01 (<0,00)	1 (1-3)
T. arvicolae	C	F	57	7 (5-9)	0,12 (0,02)	1 (1-8)
C. minutus	I	F	246	30 (27-37)	3,12 (0,42)	3 (1-128)
S. nigeriana	C	F	94	12 (10-14)	3,11 (0,79)	5 (1-348)

La especie más prevalente fue *C. minutus* (30%), seguida por *H. taeniaeformis* larvae (19%) y de *S. nigeriana* (12%); el resto de especies presentaron una prevalencia inferior al 10%. La especie con la intensidad más alta fue *S. nigeriana* con un valor de 5, seguida de *C. minutus* con 3, el resto de especies presentaron valores inferiores a 1 (Tabla 16).

Se analizaron las 4 especies con las prevalencias más altas (*C. minutus*, *H. taeniaeformis* larvae, *S. nigeriana* y *T. arvicolae*) considerando el sexo y la edad del hospedador y la estación y el año de captura del hospedador (Tablas 17, 18, 19 y 20).

Tabla 17. Características seleccionadas de las 4 especies de helmintos más prevalentes en *A. scherman* según el sexo del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies			
			***H. taeniaeformis* larvae**	***T. arcvicolae***	***C. minutus***	***S. nigeriana***
Sexo	**Machos**	**Prevalencia (IC 95%)**	21 (17-25)	6 (4-9)	31 (27-36)	11 (8-14)
		Abundancia media (ES)	0,27 (0,04)	0,11 (0,03)	2,97 (0,55)	2,39 (0,83)
		Intensidad media (rango)	1 (1-13)	1 (1-8)	3 (1-128)	6 (1-264)
	Hembras	**Prevalencia (IC 95%)**	17 (14-21)	8 (6-11)	29 (25-34)	12 (9-15)
		Abundancia media (ES)	0,22 (0,03)	0,12 (0,03)	3,27 (0,55)	3,82 (0,83)
		Intensidad media (rango)	1 (1-4)	1 (1-6)	3 (1-120)	5 (1-348)

Tabla 18. Características seleccionadas de las 4 especies de helmintos más prevalentes en *A. scherman* según la edad del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies			
			***H. taeniaeformis* larvae**	***T. arcvicolae***	***C. minutus***	***S. nigeriana***
Edad	**Juveniles**	**Prevalencia (IC 95%)**	-	-	54 (44-64)	4 (1-10)
		Abundancia media (ES)	-	-	12,18 (2,86)	1,49 (0,87)
		Intensidad media (rango)	-	-	6 (1-128)	36 (3-64)
	Subadultos	**Prevalencia (IC 95%)**	8 (5-13)	6 (3-10)	44 (37-51)	10 (6-15)
		Abundancia media (ES)	0,16 (0,08)	0,10 (0,03)	4,24 (0,81)	6,74 (3,11)
		Intensidad media (rango)	1 (1-13)	1 (1-3)	3 (1-67)	2 (1-348)
	Adultos	**Prevalencia (IC 95%)**	26 (13-25)	8 (6-11)	21 (18-25)	13 (10-16)
		Abundancia media (ES)	0,32 (0,03)	0,14 (0,03)	1,16 (0,23)	2,15 (0,51)
		Intensidad media (rango)	1 (1-4)	1 (1-8)	2 (1-72)	6 (1-142)

Tabla 19. Características seleccionadas de las 4 especies de helmintos más prevalentes en *A. scherman* según la estación de captura. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies			
			H. taeniaeformis larvae	*T. arcvicolae*	*C. minutus*	*S. nigeriana*
Estación	Invierno	Prevalencia (IC 95%)	18 (13-25)	7 (4-12)	25 (19-32)	9 (5-14)
		Abundancia media (ES)	0,20 (0,04)	0,13 (0,04)	1,89 (0,56)	3,19 (2,02)
		Intensidad media (rango)	1 (1-4)	1 (1-6)	2 (1-64)	7 (1-348)
	Primavera	Prevalencia (IC 95%)	21 (16-27)	10 (6-15)	48 (41-55)	8 (5-12)
		Abundancia media (ES)	0,26 (0,03)	0,09 (0,05)	5,91 (1,05)	3,39 (1,88)
		Intensidad media (rango)	1 (1-3)	1 (1-8)	3 (1-118)	6 (1-329)
	Verano	Prevalencia (IC 95%)	21 (16-27)	5 (2-9)	29 (23-36)	13 (16-27)
		Abundancia media (ES)	0,26 (0,08)	0,09 (0,03)	3,41 (1,08)	2,91 (1,01)
		Intensidad media (rango)	1 (1-13)	2 (1-3)	3 (1-128)	7 (1-142)
	Otoño	Prevalencia (IC 95%)	16 (12-21)	6 (3-10)	16 (12-21)	16 (12-21)
		Abundancia media (ES)	0,02 (0,04)	0,07 (0,02)	0,87 (0,26)	2,94 (1,12)
		Intensidad media (rango)	1 (1-3)	1 (1-2)	3 (1-38)	3 (1-176)

En relación con el número de especies halladas, más de un 55% de los hospedadores analizados estaban parasitados por una o dos especies de helmintos; también se hallaron infracomunidades formadas por un máximo de tres especies (Tabla 21). Las parejas de especies halladas conjuntamente fueron *C. minutus* con *H. taeniaeformis* larvae, *S. nigeriana*, *T. arvicolae* o *E. bacillatus*; *H. taeniaeformis* larvae con *T. arvicolae* o *S. nigeriana*; *S. nigeriana* con *T. arvicolae*; *T. arvicolae* con *E. bacillatus*. En el caso de las infracomunidades con 3 especies los grupos de especies halladas fueron: *C. minutus*, *H. taeniaeformis* larvae y *S. nigeriana*; *C. minutus*, *S. nigeriana* y *T. arvicolae*; *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y *S. nigeriana*; *S. nigeriana*, *T. arvicolae* y *A. wioletti*.

Tabla 20. Características seleccionadas de las 4 especies de helmintos más prevalentes en *A. scherman* según el año de captura. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies			
			H. taeniaeformis larvae	*T. arcvicolae*	*C. minutus*	*S. nigeriana*
Año	2011	Prevalencia (IC 95%)	18 (15-22)	6 (4-9)	28 (24-32)	7 (5-10)
		Abundancia media (ES)	0,22 (0,03)	0,11 (0,03)	3,21 (0,68)	1,29 (0,35)
		Intensidad media (rango)	1 (1-3)	1 (1-8)	3 (1-128)	10 (1-80)
	2012	Prevalencia (IC 95%)	20 (16-24)	9 (6-12)	33 (28-38)	16 (13-20)
		Abundancia media (ES)	0,27 (0,05)	0,13 (0,03)	3,11 (0,50)	5,24 (1,68)
		Intensidad media (rango)	1 (1-13)	1 (1-4)	3 (1-72)	3 (1-348)
	2013	Prevalencia (IC 95%)	31 (11-58)	-	19 (4-45)	25 (5-36)
		Abundancia media (ES)	0,31 (0,12)	-	0,88 (0,68)	2,31 (1,27)
		Intensidad media (rango)	1 (1)	-	3 (3-8)	11 (1-15)

Tabla 21. Frecuencia de ocurrencia del número total de helmintos presentes en cada infracomunidad de *A. scherman* de Asturias.

Nº especie de helmintos	n	%
0	351	43,06
1	379	46,50
2	78	9,57
3	7	0,86

A partir de los valores del índice de abundancia se pudo establecer la estructura de la comunidad helmintiana (Tabla 22). Las especies dominantes fueron *C. minutus* y *S. nigeriana*; *T. arvicolae* fue codominante; *E. bacillatus* fue especie inmigrante con éxito; y *A. wioletti* fue inmigrante sin éxito.

La distribución de frecuencias (Índice de Lefkovitch) de las especies más prevalentes (Tabla 22) permitió establecer que las especies analizadas

presentaban una distribución binomial negativa, siendo moderada en el caso de *H. taeniaeformis* larvae y *T. arvicolae*.

Tabla 22. Índice de Abundancia (IA) del total de especies halladas en *A. scherman* e Índice de Lefkovitch (L) de las especies más prevalentes de *A. scherman* de Asturias.

Especie de helminto	IA	L
***H. taeniaeformis* larvae**	-	0,429
A. wioletti	0,00	-
E. bacillatus	0,01	-
T. arvicolae	0,12	0,526
C. minutus	3,12	0,974
S. nigeriana	3,11	0,993

3.3.2. *Microtus lusitanicus*

De los 710 ejemplares de *Microtus lusitanicus* analizados, 594 estaban parasitados, lo que representa una prevalencia global del 84%. En total se hallaron 8 especies de helmintos parásitos: 4 cestodos (larva cisticercoide, *H. taeniaeformis* larvae, *Paranoplocephala omphalodes* y *Kontrimavichusia asymmetrica*) y 4 nematodos (*T. arvicolae*, *Carolinensis minutus*, *Heligmosomum costellatum* y *S. nigeriana*) (Tabla 23). Todas las especies observadas han sido halladas previamente en otros arvicolinos (Feliu et al., 1997). Además, el hymenolepídido *K. asymmetrica* y el heligmosómido *C. minutus* representan nuevas citas en *M. lusitanicus*. Se detectó una larva tipo cisticercoide en un individuo en el intestino, pero que no pudo ser posible su identificación específica.

De todas las especies detectadas en *M. lusitanicus*, la que tuvo la prevalencia más alta fue *C. minutus* (43%), seguida por *S. nigeriana* (22%), mientras que el resto de las especies detectadas presentaron una prevalencia inferior al 10% (Tabla 23). La especie con la intensidad media de parasitación más alta fue *S. nigeriana* con un valor de 5, seguida por *C. minutus* y *H. costellatum* con 3, mientras que el resto de especies presentaron una media inferior a 1 (Tabla 23).

Tabla 23. Características seleccionadas de la comunidad helmintiana de los 710 *M. lusitanicus* analizados. C, ciego; ES, error estándar; F, FES; H, hígado; I, intestino; IC, intervalo de confianza; n, número; NF, no FES.

Especie helminto	Localización	Tipo de ciclo	n	Prevalencia (95% IC)	Abundancia media (ES)	Intensidad media (rango)
CESTODA						
***H. taeniaeformis* larvae**	H	F	59	8 (6-10)	0,10 (0,01)	81 (1-5)
P. omphalodes	I	NF	2	0,3 (0,0-0,5)	<0,00 (<0,00)	1 (1)
K. asymmetrica	I	NF	5	0,7 (0,4-2)	0,01 (<0,00)	1 (1-2)
NEMATODA						
T. arvicolae	C	F	36	5 (4-7)	0,06 (0,01)	1 (1-4)
C. minutus	I	F	308	43 (40-46)	5,80 (0,91)	3 (1-417)
H. costellatum	I	F	25	4 (3-6)	0,16 (0,05)	3 (1-22)
S. nigeriana	C	F	158	22 (19-25)	4,54 (0,81)	5 (1-262)

Las cinco especies con la prevalencia más alta fueron analizadas considerando el sexo y la edad del hospedador y la estación y el año de captura del hospedador. Estas especies fueron *C. minutus*, *S. nigeriana*, *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y *H. costellatum* (Tablas 24, 25, 26 y 27).

Tabla 24. Características seleccionadas de las 5 especies de helmintos más prevalentes en *M. lusitanicus* según el sexo del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies				
			***H. taeniaeformis* larvae**	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
Sexo	**Machos**	**Prevalencia (IC 95%)**	9 (6-12)	6 (4-10)	40 (35-45)	4 (3-6)	18 (18-27)
		Abundancia media (ES)	0,10 (0,02)	0,07 (0,02)	4,60 (0,93)	0,18 (0,07)	5,28 (1,22)
		Intensidad media (rango)	1 (1-2)	1 (1-2)	3 (1-239)	3 (1-21)	6 (1-262)
	Hembras	**Prevalencia (IC 95%)**	7 (5-10)	4 (2-6)	47 (42-52)	3 (2-5)	19 (15-23)
		Abundancia media (ES)	0,10 (0,02)	0,06 (0,02)	7,07 (1,58)	0,13 (0,07)	3,76 (1,04)
		Intensidad media (rango)	1 (1-5)	1 (1-4)	3 (1-417)	2 (1-22)	4 (1-191)

En relación con el número de especies parásitas halladas en cada infracomunidad, más del 60% de los hospedadores ostentaron una o dos especies diferentes de helmintos. También se encontraron infracomunidades de 4 especies (Tabla 28). Las infracomunidades formadas por dos especies fueron: *C. minutus* con *S. nigeriana, H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* o *H. costellatum*; *S. nigeriana* con *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae, H. costellatum* o *K. asymmetrica*; *H. taeniaeformis* larvae con *T. arvicolae* o *H. costellatum*. Las infracomunidades con tres especies fueron: *C. minutus* / *S. nigeriana* / *H. taeniaeformis* larvae; *C. minutus* / *S. nigeriana* / *T. arvicolae*; *C. minutus* / *S. nigeriana* / *H. costellatum*; *C. minutus* / *S. nigeriana* / *P. omphalodes*; *C. minutus* / *H. taeniaeformis* larvae / *T. arvicolae*; *C. minutus* / *H. taeniaformis* larvae / *H. costellatum*; *S. nigeriana* / *H. taeniaeformis* larvae / *T. arvicolae*. Y la infracomunidad con 4 especies constó de *S. nigeriana* / *H. taeniaeformis* larvae / *H. costellatum* / *K. asymmetrica*.

Tabla 25. Características seleccionadas de las 5 especies de helmintos más prevalentes en *M. lusitanicus* según la edad del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies				
			***H. taeniaeformis* larvae**	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
Edad	**Juveniles**	**Prevalencia (IC 95%)**	-	-	62 (50-74)	3 (1-11)	14 (7-25)
		Abundancia media (ES)	-	-	20,19 (7,21)	0,11 (0,09)	2,51 (1,08)
		Intensidad media (rango)	-	-	9 (1-417)	4 (2-5)	13 (1-41)
	Subadultos	**Prevalencia (IC 95%)**	5 (3-8)	3 (2-5)	45 (40-50)	3 (2-5)	23 (19-28)
		Abundancia media (ES)	0,05 (0,01)	0,04 (0,01)	5,56 (1,06)	0,22 (0,10)	5,71 (1,42)
		Intensidad media (rango)	1 (1-2)	1 (1-2)	3 (1-239)	4 (1-22)	4 (1-262)
	Adultos	**Prevalencia (IC 95%)**	14 (10-19)	8 (5-12)	38 (32-44)	4 (2-7)	23 (18-28)
		Abundancia media (ES)	0,17 (0,03)	0,10 (0,02)	3,16 (0,87)	0,10 (0,04)	3,70 (1,00)
		Intensidad media (rango)	1 (1-5)	1 (1-4)	2 (1-238)	1 (1-8)	5 (1-191)

La estructura de la comunidad helmintiana se estableció según los valores del Índice de Abundancia (Tabla 29) y fue la siguiente: las especies dominantes serían *C. minutus* y *S. nigeriana*; como especie codominante *H. costellatum*; como especie inmigrante con éxito *T. arvicolae* y como especies inmigrantes sin éxito *Paranoplocephala omphalodes* y *K. asymmetrica*. La forma larvaria de *H. taeniaeformis* no fue incluida en esta clasificación ya que el topillo lusitánico actúa como un hospedador intermediario para esta especie.

A partir de la frecuencia de distribución (Índice de Lefkovitch) de las especies con las prevalencias más altas (Tabla 29) se pudo establecer que todas las especies presentaban una distribución binomial negativa a excepción de *H. taniaeformis* larvae y *T. arvicolae* que presentaban una distribución más próxima a una Poisson o aleatoria.

Tabla 26. Caracteres seleccionados de los cinco helmintos más prevalentes en *M. liusitanicus* según la estación de captura del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies				
			***H. taeniaeformis* larvae**	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
Estación	**Invierno**	**Prevalencia (IC 95%)**	10 (5-17)	2 (0,4-6)	28 (20-37)	6 (3-12)	30 (22-39)
		Abundancia media (ES)	0,12 (0,03)	0,02 (0,01)	0,78 (0,21)	0,30 (0,17)	9,65 (2,71)
		Intensidad media (rango)	1 (1-2)	1 (1)	1 (1-22)	3 (1-22)	3 (1-128)
	Primavera	**Prevalencia (IC 95%)**	10 (6-15)	7 (4-12)	49 (42-56)	5 (2-9)	24 (18-31)
		Abundancia media (ES)	0,10 (0,02)	0,08 (0,02)	6,14 (0,99)	0,22 (0,12)	9,65 (2,71)
		Intensidad media (rango)	1 (1)	1 (1-2)	5 (1-80)	2 (1-21)	11 (1-262)
	Verano	**Prevalencia (IC 95%)**	6 (3-10)	7 (4-12)	59 (52-66)	3 (1-6)	17 (12-23)
		Abundancia media (ES)	0,07 (0,02)	0,09 (0,03)	13,30 (3,07)	0,12 (0,06)	1,60 (0,43)
		Intensidad media (rango)	1 (1-3)	1 (1-2)	5 (1-417)	4 (1-7)	5 (1-54)
	Otoño	**Prevalencia (IC 95%)**	8 (5-13)	3 (1-6)	31 (25-38)	0,5 (0,1-4)	20 (15-26)
		Abundancia media (ES)	0,11 (0,04)	0,05 (0,02)	1,36 (0,29)	0,02 (0,02)	2,80 (0,73)
		Intensidad media (rango)	1 (1-5)	1 (1-4)	2 (1-31)	3 (3)	6 (1-75)

Tabla 27. Caracteres seleccionados de los 5 helmintos más prevalentes en *M. lusitanicus* según el año de captura del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies				
			H. taeniaeformis larvae	*T. arvicolae*	*C. minutus*	*H. costellatum*	*S. nigeriana*
Año	2011	Prevalencia (IC 95%)	8 (5-12)	5 (3-8)	51 (46-57)	3 (2-5)	16 (12-19)
		Abundancia media (ES)	0,10 (0,02)	0,06 (0,01)	8,11 (1,64)	0,17 (0,07)	2,37 (0,61)
		Intensidad media (rango)	1 (1–5)	1 (1–2)	4 (1-417)	5 (1-21)	4 (1-130)
	2012	Prevalencia (IC 95%)	9 (6-13)	5 (3-8)	36 (31-41)	4 (2-7)	29 (24-34)
		Abundancia media (ES)	0,10 (0,02)	0,07 (0,20)	3,76 (0,88)	0,15 (0,07)	6,81 (1,50)
		Intensidad media (rango)	1 (1–3)	1 (1–4)	2 (1–238)	2 (1–22)	5 (1–262)
	2013	Prevalencia (IC 95%)	8 (0,2-34)	-	31 (9-57)	-	-
		Abundancia media (ES)	0,08 (0,08)	-	0,54 (0,27)	-	-
		Intensidad media (rango)	1 (1)	-	2 (1-3)	-	-

Tabla 28. Frecuencia de la ocurrencia del número total de especies de helmintos presentes en cada infracomunidad de *M. lusitanicus* en Asturias.

Número de especies de helmintos	n	%
0	260	36,62
1	320	45,07
2	117	16,48
3	12	1,69
4	1	0,14

Tabla 29. Índice de Abundancia (IA) e Índice de Lefkovitch (L) de las especies más prevalentes de *M. lusitanicus* en Asturias.

Especie de helminto	IA	L
***H. taeniaeformis* larvae**	-	0,23
T. arvicolae	0,06	0,24
C. minutus	5,80	0,99
H. costellatum	0,16	0,88
S. nigeriana	4,54	0,99

3.3.3. *Talpa occidentalis*

Se hallaron un total de 66 ejemplares parasitados de *Talpa occidentalis*, lo que representó una prevalencia del 64%. Las especies parásitas halladas fueron como trematodos *Ityogonimus lorum* e *Ityogonimus ocreatus*; como nematodos *Capillaria talpae*, *Liniscus incrasatus*, *Trichuris feliui*, *Tricholinstowia* sp., *Spirura talpae* y *Porrocaecum* sp. larvae; y como acantocéfalos *Moniliformis* sp. y *Plagiorhynchus* (*Prostorhynchus*) sp. larvae (Tabla 30). La mayoría de estas especies ya habían sido descritas parasitando al topo ibérico en la Península Ibérica (Alvárez et al., 1991; Casanova, 1993; Ribas et al., 2007).

Tabla 30. Características seleccionadas de la comunidad helmintiana de los 104 *T. occidentalis* analizados. E, estómago; ES, error estándar; F, FES; H, hígado; I, intestino; IC intervalo de confianza; n, número; NF, no FES; V, vejiga de la orina.

Especie helminto	Localización	Tipo de ciclo	n	Prevalencia (95% IC)	Abundancia media (ES)	Intensidad media (rango)
TREMATODA						
***Ityogonimus* spp.**	I	NF	41	39 (30-49)	2,22 (0,47)	3 (1-30)
NEMATODA						
C. talpae	E	F	1	1 (0,0-5)	0,04 (0,04)	4 (4)
L. incrasatus	V	NF	24	23 (15-32)	0,62 (0,13)	2 (1-7)
T. feliui	I	F	1	1 (0,0-5)	0,12 (0,12)	12 (12)
***Tricholinstowia* sp.**	I	F	1	1 (0,0-5)	0,01 (0,01)	1 (1)
S. talpae	E	NF	21	20 (13-29)	1,39 (0,67)	2 (1-65)
***Porrocaecum* sp. larvae**	I	NF	1	1 (0,0-5)	0,01 (0,01)	1 (1)
ACANTOCEPHALA						
***Moniliformis* sp.**	I	NF	2	2 (0,3-7)	0,03 (0,02)	1 (1)
***Plagiorhynchus* sp. larvae**	I	NF	3	3 (0,7-8)	0,05 (0,03)	2 (1-2)

Las especies con la prevalencia más alta fueron las del género *Ityogonimus* (39%), seguidas por *L. incrasatus* (23%) y por *S. talpae* (20%). La prevalencia del resto de especies no superó el 10%. La especie que presentó la intensidad de parasitación más alta fue *T. feliui* (12), seguida por *C. talpae* (4) e *Ityogonimus* spp. (3). El resto de especies presentaron una intensidad inferior a 2.

Las tres especies más prevalentes (*Ityogonimus* spp., *L. incrasatus* y *S. talpae*) fueron analizadas considerando el sexo y la edad del hospedador y la estación y el año de captura del hospedador (Tablas 31 y 32).

Tabla 31. Características seleccionadas de las especies de helmintos más prevalentes en *T. occidentalis* según el sexo y la edad del hospedador. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies		
			***Ityogonimus* spp.**	***L. incrasatus***	***S. talpae***
Sexo	**Machos**	**Prevalencia (IC 95%)**	45 (32-59)	25 (14-38)	22 (12-35)
		Abundancia media (ES)	2,78 (0,76)	0,67 (0,19)	1,96 (1,21)
		Intensidad media (rango)	3 (1-30)	2 (1-7)	3 (1-65)
	Hembras	**Prevalencia (IC 95%)**	33 (17-39)	20 (11-32)	18 (9-30)
		Abundancia media (ES)	1,59 (0,50)	0,55 (0,19)	0,76 (0,43)
		Intensidad media (rango)	3 (1-17)	3 (1-4)	2 (1-20)
Edad	**Juveniles**	**Prevalencia (IC 95%)**	31 (9-57)	15 (2-43)	31 (9-57)
		Abundancia media (ES)	2,85 (1,59)	0,31 (0,24)	0,85 (0,49)
		Intensidad media (rango)	8 (2-19)	2 (1-3)	2 (1-6)
	Subadultos	**Prevalencia (IC 95%)**	41 (24-59)	31 (16-50)	13 (4-29)
		Abundancia media (ES)	2,13 (1,00)	0,97 (0,30)	2,16 (2,03)
		Intensidad media (rango)	2 (1-30)	3 (2-7)	2 (1-65)
	Adultos	**Prevalencia (IC 95%)**	41 (29-54)	20 (11-32)	22 (12-34)
		Abundancia media (ES)	2,14 (0,53)	0,49 (0,15)	1,10 (0,44)
		Intensidad media (rango)	3 (1-17)	2 (1-5)	3 (1-20)

Tabla 32. Características seleccionadas de las especies de helmintos más prevalentes en *T. occidentalis* según la estación y el año de captura. ES, error estándar; IC, intervalo de confianza.

			Especies		
			***Ityogonimus* spp.**	***L. incrasatus***	***S. talpae***
Estación	**Invierno**	**Prevalencia (IC 95%)**	41 (24-59)	22 (9-40)	22 (9-40)
		Abundancia media (ES)	2,41 (0,77)	0,78 (0,30)	2,81 (2,06)
		Intensidad media (rango)	3 (1-16)	3 (2-7)	2 (1-65)
	Primavera	**Prevalencia (IC 95%)**	51 (35-67)	24 (12-40)	19 (8-34)
		Abundancia media (ES)	2,43 (0,69)	0,62 (0,20)	0,41 (0,16)
		Intensidad media (rango)	3 (1-19)	3 (1-4)	2 (1-4)
	Verano	**Prevalencia (IC 95%)**	28 (14-46)	25 (12-43)	19 (7-36)
		Abundancia media (ES)	2,00 (1,06)	0,50 (0,17)	1,16 (0,67)
		Intensidad media (rango)	2 (1-30)	2 (1-3)	4 (1-20)
	Otoño	**Prevalencia (IC 95%)**	-	-	33 (0,3-48)
		Abundancia media (ES)	-	-	1,00 (1,00)
		Intensidad media (rango)	-	-	3 (3)
Año	**2011**	**Prevalencia (IC 95%)**	38 (27-50)	21 (12-32)	24 (15-35)
		Abundancia media (ES)	1,71 (0,43)	0,51 (0,13)	1,07 (0,37)
		Intensidad media (rango)	2 (1-19)	3 (1-4)	3 (1-20)
	2012	**Prevalencia (IC 95%)**	46 (27-66)	27 (9-43)	12 (2-30)
		Abundancia media (ES)	2,96 (0,95)	0,81 (0,34)	2,58 (2,50)
		Intensidad media (rango)	5 (1-16)	2 (1-7)	1 (1-65)
	2013	**Prevalencia (IC 95%)**	33 (4-71)	33 (4-71)	17 (0,4-60)
		Abundancia media (ES)	5,17 (4,97)	1,00 (0,68)	0,17 (0,17)
		Intensidad media (rango)	16 (1-30)	3 (2-4)	1 (1)

Más de un 55% de los ejemplares analizados de *T. occidentalis* estaban parasitados por una o dos especies. Hallándose un máximo de tres especies diferentes en un mismo hospedador (Tabla 33). Las infracomunidades formadas por dos especies fueron: *Ityogonimus* spp. con *L. incrasatus*, *S. talpae* o *Moniliformis* sp.; *L. incrasatus* con *S. talpae*; *S. talpae* con *P.* (*Prostorhynchus*) sp. larvae. La de tres especies fue *Ityogonimus* spp., *L. incrasatus* y *S. talpae*.

Tabla 33. Frecuencia de ocurrencia del número total de helmintos presentes en cada infracomunidad de *T. occidentalis.*

Nº especie de helmintos	n	%
0	38	36,54
1	42	40,38
2	19	18,27
3	5	4,81

Según los valores del Índice de Abundancia la estructura de la comunidad helmintiana fue la siguiente: como especies dominantes *Ityogonimus* spp. y *S. talpae*; como codominantes *L. incrasatus* y *T. feliui*; y como especies inmigrantes con éxito *C. talpae*, *Tricholinstowia* sp. y *Moniliformis* sp. (Tabla 34).

Tabla 34. Índice de Abundancia (IA) del total de las especies halladas en *T. occidentalis* e Índice de Lefkovitch (L) de las especies más prevalentes de *T. occidentalis* en Asturias.

Especie de helminto	IA	L
***Ityogonimus* spp.**	2,22	0,877
C. talpae	0,04	-
L. incrasatus	0,62	0,561
T. feliui	0,12	-
***Tricholinstowia* sp.**	0,01	-
S. talpae	1,39	0,962
***Porrocaecum* sp larvae**	-	-
***Moniliformis* sp.**	0,03	-
***P.* (*Prostorhynchus*) sp. larvae**	-	-

Aplicando el Índice de Lefkovitch a las especies más prevalentes se pudo establecer el tipo de distribución que presentaban las especies. *Ityogonimus* spp., *L. incrasatus* y *S. talpae* presentaron una distribución binomial negativa siendo moderada en el caso de *L. incrasatus* (Tabla 34).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ECOLÓGICO DE LAS HELMITO-FAUNAS HALLADAS

En este apartado se presentan los resultados obtenidos del análisis estadístico aplicado a cada hospedador. Se han utilizado diferentes índices de biodiversidad para la comunidad helmintiana y para las infracomunidades helmintianas; los tests para determinar el efecto de los factores intrínsecos y extrínsecos sobre abundancias de los parásitos; y una correlación para ver el efecto de los parámetros meteorológicos sobre las especies parásitas.

3.4.1. *Arvicola scherman*

Para estudiar la diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana hallada se utilizaron los índices de Shannon, de Simpson, de Berger-Parker y el de Uniformidad de Shannon. Para ello, se consideraron todos los helmintos hallados, indiferentemente de su prevalencia, y los factores edad, sexo, estación y año de captura del hospedador (Tablas 35 y 36).

Tabla 35. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *A. scherman* de Asturias según el sexo y la edad del hospedador. También se muestra el total para la comunidad.

	Sexo		Edad			Total
	Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Índice de Shannon	O,93	0,89	0,35	0,78	1,03	0,91
Índice de Simpson	0,56	0,54	0,19	0,50	0,57	0,55
Índice de Berger-Parker	0,48	0,49	0,11	0,40	0,43	0,55
Índice de Uniformidad de Shannon	0,58	0,49	0,31	0,49	0,58	0,51

Tabla 36. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *A. scherman* de Asturias según la estación y el año de captura.

	Estación				Año		
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Índice de Shannon	0,90	0,85	0,91	0,78	0,85	0,86	0,84
Índice de Simpson	0,53	0,51	0,55	0,43	0,48	0,52	0,49
Índice de Berger-Parker	0,41	0,39	0,49	0,28	0,34	0,40	0,34
Índice de Uniformidad de Shannon	0,56	0,48	0,66	0,57	0,64	0,48	0,76

Según estos resultados, en relación con el sexo, los machos presentaron unos valores ligeramente superiores a las hembras. La diversidad aumentaba con la edad del hospedador, existiendo una diferencia relativamente clara entre las tres clases de edad. Si se tiene en cuenta la estación de captura, los individuos capturados en verano y en invierno presentaron los valores más altos, mientras que otoño fue la estación con los valores más bajos. Analizando el año de captura, los individuos capturados en el año 2012 fueron los más diversos.

Para analizar la diversidad de las infracomunidades helmintianas se utilizaron la riqueza media de especies y el Índice de Brillouin (Tablas 37 y 38) obteniéndose resultados parecidos a los hallados en la comunidad helmintiana.

Tabla 37. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *A. scherman* de Asturias según el sexo y la edad del hospedador. ES, error estándar; Máx, máximo; X, media.

		Sexo		Edad			Total
		Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Riqueza media de especies	**X**	0,69	0,67	0,58	0,69	0,70	0,68
	ES	0,04	0,03	0,06	0,05	0,03	0,02
Índice de Brillouin	**X**	0,04	0,03	0,01	0,03	0,04	0,04
	ES	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	<0,00
	Máx	0,72	0,68	0,50	0,58	0,72	0,72
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,07	0,06	0,02	0,04	0,08	0,06
	ES	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
% de *A. scherman* infestados		56,86	57,00	54,83	61,08	55,87	56,93

Tabla 38. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *A. scherman* de Asturias según la estación y el año de captura del hospedador. ES, error estándar; Máx, máximo; X, media.

		Estación				Año		
		Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Riqueza media de especies	**X**	0,59	0,89	0,69	0,53	0,59	0,78	0,75
	ES	0,05	0,05	0,05	0,04	0,03	0,04	0,17
Índice de Brillouin	**X**	0,02	0,06	0,04	0,02	0,03	0,05	0,03
	ES	0,01	0,01	0,01	0,01	<0,00	O,01	0,02
	Máx	0,43	0,72	0,58	0,45	0,67	0,72	0,35
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,05	0,08	0,71	0,04	0,05	0,08	0,05
	ES	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,04
% de *A. scherman* infestados		51,89	70,04	56,85	47,09	51,76	62,63	62,50

En el caso del sexo no se hallaron diferencias significativas entre los machos y las hembras, siendo los valores de los machos ligeramente más altos que en las hembras. Como en el caso de la comunidad helmintiana, la diversidad de las infracomunidades aumentaba con la edad del hospedador, aunque no se hallaron diferencias significativas. A nivel de la estación de captura, sí que se apreciaron diferencias, siendo primavera la estación con mayor diversidad y otoño la estación con menos diversidad. A nivel de año de captura no se observaron diferencias con la diversidad de la comunidad helmintiana, siendo el año 2012 el que presentaba los valores más altos.

Los resultados del análisis de los factores intrínsecos (edad y sexo del hospedador) y de los extrínsecos (año y estación de captura) sobre la prevalencia y la abundancia de las especies más prevalentes de las comunidades de helmintos de la rata topera se pueden observar en las Tablas 39 y 40, respectivamente. La edad del hospedador tuvo efecto sobre las prevalencias de *H. taeniaeformis* larvae y *C. minutus*. En el caso de las abundancias la edad del hospedador tuvo efecto sobre las 4 especies analizadas y, además, el año y la estación de captura sobre *S. nigeriana.*

Tabla 39. Modelos de Regresión Logística Binaria para la prevalencia de las especies de helmintos componentes de los ejemplares de *A. scherman* analizados por año y estación de captura, sexo y edad del hospedador, climatología y estación meteorológica expresados por los valores de X^2 con las probabilidades asociadas (*p*) en el modelo creado, incluyendo las variables independientes. Sólo se muestran los modelos estadísticamente significativos. gl, grados de libertad.

Especie de helminto / Variable independiente incluida en el modelo	gl	X^2	*p*
Parasitación global de *A. scherman*			
Climatología	8	44,778	<0,0001
***H. taeniaeformis* larvae**			
Edad del hospedador	2	72,969	<0,0001
T. arvicolae			
Estación meteorológica	1	37,498	<0,0001
Estación meteorológica y edad del hospedador	3	51,024	<0,0001
C. minutus			
Edad del hospedador	2	57,926	<0,0001
Edad del hospedador y estación de captura	5	125,393	<0,0001
S. nigeriana			
Climatología	8	33,883	<0,0001
Climatología y estación meteorológica	9	40,268	<0,0001

Se utilizó la correlación de Spearman para relacionar los factores climáticos (temperatura y precipitación) con los parámetros de diversidad (riqueza de especies e Índice de Brillouin), la prevalencia y abundancia de parasitación. Los resultados permitieron relacionar la prevalencia de *S. nigeriana* con la precipitación medida y la precipitación acumulada en Gijón y la prevalencia total con la temperatura media en Oviedo (Tabla 41). Cabe resaltar la ausencia de correlación entre los factores climáticos y los parámetros de diversidad.

Tabla 40. Valores de los tests de Mann-Whitney (U) y de Kruskal-Wallis (X^2), con las probabilidades asociadas (*p*), aplicados en el análisis de las abundancias de las especies más prevalentes de *A. scherman* de Asturias. El test de Mann-Whitney se aplicó al sexo del hospedador y el test de Kruskal-Wallis a la edad del hospedador, la estación y elaño de captura. Solo se muestran los resultados significativos. gl, grados de libertad.

Especie de helminto / Variable independiente incluida en el modelo	gl	U / X^2	*p*
***H. taeniaeformis* larvae**			
Edad del hospedador	2	52,731	<0,0001
T. arvicolae			
Edad del hospedador	2	8,602	0,014
C. minutus			
Edad del hospedador	2	74,672	<0,0001
S. nigeriana			
Edad del hospedador	2	6,307	0,043
Año de captura	2	18,088	<0,0001
Estación de captura	3	8,049	0,045

Tabla 41. Valores del Coeficiente de Correlación de Spearman (r_s), con las probabilidades asociadas (*p*), entre las variables climáticas (temperatura y precipitación) y diversidad (riqueza de especies, índice de Brillouin), prevalencia y abundancia de *A. scherman*. Sólo se muestran los resultados significativos.

Correlaciones	r_s	*p*
Prevalencia total y temperatura media en Oviedo	-0,821	0,023
Prevalencia de *S. nigeriana* y precipitación media en Gijón	-0,717	0,030
Prevalencia de *S. nigeriana* y precipitación acumulada en Gijón	-0,717	0,030

3.4.2. *Microtus lusitanicus*

Los Índices de Shannon, Simpson, Berger-Parker y el índice de Uniformidad de Shannon reflejan la diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana. Estos índices se calcularon teniendo en cuenta toda la población del hospedador, es decir, todas las especies y no sólo las más prevalentes; los factores considerados fueron la edad y el sexo del hospedador, y la estación y el año de captura del hospedador (Tablas 42 y 43). Los machos presentaron

valores ligeramente superiores en cuanto a diversidad que las hembras. La diversidad helmintiana aumentaba con la edad del hospedador, siendo similar entre las subpoblaciones subadulta y adulta. En relación con la estación de captura, los individuos capturados durante la primavera y el verano presentaron los valores más altos de diversidad, mientras que los capturados en otoño presentaron los más bajos. Respecto al año de captura los individuos capturados en 2012 fueron los más diversos, mientras que los capturados en 2013 fueron los menos diversos.

Tabla 42. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *M. lusitanicus* en Asturias según el sexo y la edad del hospedador.

	Sexo		Edad			Total
	Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Índice de Shannon	0,86	0,78	0,38	0,82	0,93	0,84
Índice de Simpson	0,53	0,48	0,20	0,53	0,55	0,52
Índice de Berger-Parker	0,48	0,36	0,11	0,51	0,49	0,46
Índice de Uniformidad de Shannnon	0,44	0,40	0,34	0,46	0,45	0,40

Tabla 43. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *M. lusitanicus* en Asturias según la estación y el año de captura.

	Estación				Año		
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Índice de Shannon	0,76	0,81	0,45	0,81	0,68	0,81	0,38
Índice de Simpson	0,38	0,50	0,22	0,48	0,39	0,49	0,22
Índice de Berger-Parker	0,23	0,41	0,12	0,35	0,25	0,38	0,13
Índice de Uniformidad de Shannon	0,39	0,41	0,25	0,50	0,38	0,39	0,54

Los resultados para la diversidad de las infracomunidades helmintianas (riqueza media de especies e índice de Brillouin) según el sexo y la edad del hospedador, y la estación y el año de captura del hospedador fueron parecidos a los obtenidos en la diversidad de la comunidad helmintiana (Tablas 44 y 45).

En las Tablas 46 y 47 se muestra el papel de los factores extrínsecos (estación y año de captura) e intrínsecos (edad y sexo del hospedador) sobre las

especies más prevalentes de las comunidades de helmintos de *M. lusitanicus* en relación con su prevalencia y abundancia, respectivamente. El análisis de los resultados obtenidos muestra que, en general, las especies componentes del topillo lusitánico estaban afectadas significativamente por la edad del hospedador, la estación y el año de captura, mientras que el sexo del hospedador no tenía ningún efecto sobre su prevalencia y abundancia.

Tabla 44. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *M. lusitanicus* en Asturias según el sexo y la edad del hospedador. ES, error estándar; Máx, máximo; X, media.

		Sexo		Edad			Total
		Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Riqueza media de especies	**X**	0,86	0,81	0,79	0,80	0,88	0,84
	ES	0,04	0,04	0,08	0,04	0,05	0,03
Índice de Brillouin	**X**	0,06	0,06	0,05	0,06	0,07	0,06
	ES	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
	Máx	0,60	0,75	0,62	0,65	0,75	0,75
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,07	0,06	0,04	0,06	0,06	0,06
	ES	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
% de *M. lusitanicus* infestados		62,53	64,26	68,25	61,08	64,86	61,38

Tabla 45. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *M. lusitanicus* en Asturias según la estación y el año de captura del hospedador. ES, error estandar; Máx, máximo; X, media.

		Estación				Año		
		Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Riqueza media de especies	**X**	0,78	1,01	0,92	0,62	0,83	0,86	0,38
	ES	0,07	0,06	0,05	0,05	0,04	0,04	0,14
Índice de Brillouin	**X**	0,06	0,07	0,05	0,05	0,06	0,06	0,02
	ES	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02
	Máx.	0,65	0,62	0,55	0,75	0,75	0,65	0,28
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,07	0,08	0,06	0,04	0,06	0,06	0,06
	ES	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
% de *M. lusitanicus* infestados		56,83	73,80	71,43	49,47	65,01	62,71	38,46

Se utilizó la correlación de Spearman para relacionar los factores climáticos (temperatura y precipitación) con los parámetros de diversidad (riqueza de especies y el índice de Brillouin), la prevalencia y la abundancia de parasitación. Únicamente se halló la correlación positiva entre la prevalencia de *T. arvicolae* y la temperatura media, y, entre la abundancia de *T. arvicolae* y de *C. minutus* con la temperatura media (Tabla 48). Cabe remarcar la ausencia de correlación entre los factores clímáticos y los parámetros de diversidad, tal como ocurre en *A. scherman*.

Tabla 46. Modelos de Regresión Logística Binaria para la prevalencia de las especies de helmintos más prevalentes de los *M. lusitanicus* analizados por año y estación de captura, sexo y edad del hospedador, expresados por los valores de X^2 con las probabilidades asociadas (*p*) en el modelo creado, incluyendo las variables independientes. Sólo se muestran los modelos estadísticamente significativos. gl, grados de libertad.

Especie de helminto / Variable independiente incluida en el modelo	gl	X^2	*p*
Parasitación global de *M. lusitanicus*			
Estación de captura	3	32,471	<0,0001
***H. taeniaeformis* larvae**			
Edad del hospedador	2	27,540	<0,0001
T. arvicolae			
Edad del hospedador	2	13,789	0,001
C. minutus			
Edad del hospedador	2	13,333	0,001
Edad y sexo del hospedador	2	7,189	0,027
Estación de captura	3	49,574	<0,0001
Año de captura	2	17,216	<0,0001
H. costellatum			
Estación de captura	3	11,074	0,011
S. nigeriana			
Estación de captura	3	8,711	0,033
Año de captura	2	23,797	<0,0001

Tabla 47. Valores de los tests de Mann-Whitney (U) y de Kruskal-Wallis (X^2), con las probabilidades asociadas (*p*), aplicados en el análisis de las abundancias de las especies más prevalentes de *M. lusitanicus* en Asturias El test de Mann-Whitney se aplicó al sexo del hospedador y el test de Kruskal-Wallis a la edad del hospedador, estación y año de captura. Sólo se muestran los resultados significativos. gl, grados de libertad.

Especie de helminto / Variable independiente incluida en el modelo	gl	U / X^2	*p*
***H. taeniaeformis* larvae**			
Edad del hospedador	2	23,327	<0,0001
T. arvicolae			
Edad del hospedador	2	10,992	0,004
C. minutus			
Edad del hospedador	2	13,789	0,001
Estación de captura	3	68,329	<0,0001
Año de captura	2	21,101	<0,0001
S. nigeriana			
Estación de captura	3	8,386	0,039
Año de captura	2	20,706	<0,0001

Tabla 48. Valores del Coeficiente de Correlación de Spearman (r_s), con las probabilidades asociadas (*p*), entre las variables climáticas (temperatura y precipitación) y diversidad (riqueza de especies, índice de Brillouin), prevalencia y abundancia. Sólo se muestran los resultados significativos.

Correlaciones	r_s	*p*
Prevalencia de *T. arvicolae* y temperatura media	0,691	0,009
Abundancia de *T. arvicolae* y temperatura media	0,663	0,014
Abundancia de *C. minutus* y temperatura media	0,698	0,008

3.4.3. *Talpa occidentalis*

Como en el análisis de los dos hospedadores anteriores, los índices de Shannon, de Simpson, de Berger-Parker y el de la Uniformidad de Shannon fueron usados para estudiar la diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana hallada en *T. occidentalis*. Se consideraron todos los helmintos hallados, sin tener en cuenta su prevalencia, y los factores edad y sexo del hospedador, estación y año de captura del hospedador (Tablas 49 y 50).

Tabla 49. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *T. occidentalis* de Asturias según el sexo y la edad del hospedador. También se muestra el total para la comunidad.

	Sexo		Edad			Total
	Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Índice de Shannon	1,18	1,20	1,27	1,17	1,06	1,23
Índice de Simpson	0,63	0,64	0,64	0,65	0,59	0,64
Índice de Berger-Parker	0,52	0,48	0,46	0,60	0,44	0,50
Índice de Uniformidad de Shannon	0,66	0,67	0,79	0,65	0,59	0,56

Tabla 50. Índices de diversidad / uniformidad de la comunidad helmintiana de *T. occidentalis* de Asturias según la estación y el año de captura.

	Estación				Año		
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Índice de Shannon	1,01	0,85	1.47	0,00	1,18	1,07	0,97
Índice de Simpson	0,61	0,47	0,70	0,00	0,63	0,62	0,54
Índice de Berger-Parker	0,53	0,30	0,55	0,00	0,50	0,54	O,38
Índice de Uniformidad de Shannon	0,73	0,61	0,75	-	0,61	0,77	0,70

Según estos resultados la diversidad fue muy parecida entre machos y hembras. Se observó que la diversidad disminuía con la edad de los hospedadores, siendo más alta en individuos juveniles que en adultos. Las estaciones con la diversidad más alta fueron invierno y verano. La diversidad nula en otoño podría ser debida al bajo número de capturas que se hicieron en

esta estación. Según el año de captura, en general, la diversidad fue más alta en los años 2011 y 2012 que en 2013.

La riqueza media de especies y el Índice de Brillouin se calcularon para analizar la diversidad de las infracomunidades helmintianas (Tablas 51 y 52). Los resultados obtenidos de la diversidad en las infracomunidades fueron un poco diferentes a los anteriores.

Tabla 51. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *T. occidentalis* de Asturias según el sexo y la edad del hospedador. ES, error estándar; Máx, máximo; X, media.

		Sexo		Edad			Total
		Machos	Hembras	Juveniles	Subadultos	Adultos	
Riqueza media de especies	**X**	1,02	0,80	0,92	0,97	0,88	0,91
	ES	0,12	0,11	0,27	0,18	0,10	0,08
Índice de Brillouin	**X**	0,09	0,06	0,11	0,10	0,06	0,08
	ES	0,03	0,02	0,07	0,03	0,02	0,17
	Máx	0,82	0,50	0,82	0,64	0,50	0,82
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,14	0,11	0,18	0,17	0,09	0,12
	ES	0,04	0,03	0,11	0,05	0,03	0,25
% de *T. occidentalis* infestados		67,27	59,18	61,54	59,34	66,10	63,46

Tabla 52. Características de diversidad de la infracomunidad helmintiana de *T. occidentalis* de Asturias según la estación y el año de captura del hospedador. ES, error estándar; Máx, máximo; X, media.

		Estación				Año		
		Invierno	Primavera	Verano	Otoño	2011	2012	2013
Riqueza media de especies	**X**	0,88	0,97	0,94	0,33	0,90	0,92	1,00
	ES	0,15	0,13	0,17	0,33	0,10	0,17	0,52
Índice de Brillouin	**X**	0,08	0,09	0,07	0,00	0,07	0,10	0,10
	ES	0,03	0,03	0,03	0,00	0,02	0,04	0,06
	Máx	0,64	0,82	0,50	0,00	0,82	0,64	0,32
Índice de Brillouin sólo infestados	**X**	0,12	0,13	0,12	0,00	0,11	0,15	0,20
	ES	0,04	0,04	0,04	-	0,03	0,03	0,10
% de *T. occidentalis* infestados		62,50	70,27	59,38	33,33	63,89	65,38	50,00

Los resultados de la diversidad entre sexos de los hospedadores fueron parecidos a los de la diversidad de la comunidad, siendo similares entre machos y hembras. A nivel de edad de los hospedadores los valores fueron parecidos entre las diferentes clases de edad, pero sí se pudo observar una disminución de la diversidad en las infracomunidades a medida que aumentaba la edad del hospedador. A nivel de estación de captura todas presentaron valores similares de diversidad menos otoño que era muy inferior al resto. Respecto al año de captura los valores fueron parecidos entre los tres años.

El análisis de los factores intrínsecos (edad y sexo del hospedador) y de los factores extrínsecos (estacion y año de captura) sobre la prevalencia y la abundancia de las especies más prevalentes (*Ityogonimus* spp., *C. talpae* y *L. incrasatus*) no permitió detectar ningún efecto de estos factores.

Se utilizó la correlación de Spearman para relacionar los factores clímáticos (temperatura y precipitación) con los parámetros de diversidad (riqueza de especies e Índice de Brillouin), la prevalencia y abundancia de parasitación. Únicamente se encontró la correlación entre la abundancia de parasitación de *L. incrasatus* con la precipitación media y la precipitación acumulada en la estación meteorológica de Oviedo (Tabla 53).

Tabla 53. Valores del Coeficiente de Correlación de Spearman (r_s), con las probabilidades asociadas (*p*), entre las variables climáticas (temperatura y precipitación) y diversidad (riqueza de especies, índice de Brillouin), prevalencia y abundancia de *T. occidentalis*. Sólo se muestran los resultados significativos.

Correlaciones	r_s	*p*
Abundancia de *L. incrasatus* y precipitación media en Oviedo	0,729	0,040
Abundancia de *L. incrasatus* y precipitación acumulada en Oviedo	0,731	0,039

3.5. ESTUDIO ECOTOXICOLÓGICO DEL BINOMIO *Talpa occidentalis / Ityogonimus* spp.

El estudio ecotoxicológico se efectuó conjuntamente con las dos especies del género *Ityogonimus* halladas parasitando *Talpa occidentalis* para garantizar la cantidad necesaria de tejido a analizar. Además, durante el procesado de las muestras de estos digénidos, diversos especímenes no pudieron ser diferenciados a nivel específico.

El promedio de las concentraciones de los metales pesados analizados, mercurio, plomo y cadmio, en las muestras de riñón de los hospedadores no infestados fueron de 218,8 ng/g p.f., 337,7 ng/g p.f. y 4.516,8 ng/g p.f., respectivamente (Tabla 54). En el caso de las muestras hepáticas los valores fueron 435,6 ng/g p.f., 141,0 ng/g p.f. y 3.703,5 ng/g p.f., respectivamente (Tabla 54).

Las concentraciones obtenidas en las muestras de riñón procedentes de hospedadores parasitados fueron 249,6 ng/g p.f., 324,1 ng/g p.f. y 4.247,6 ng/g p.f., respectivamente para mercurio, plomo y cadmio (Tabla 54). En el caso de las muestras de hígado las concentraciones fueron 356,2 ng/g p.f., 149,3 ng/g p.f. y 3.149,5 ng/g p.f., respectivamente (Tabla 54).

En los Digènidos analizados los valores promedio hallados fueron 20.891,7 ng/g p.f., 12.374,6 ng/g p.f. y 4.260,4 ng/g p.f., respectivamente para mercurio, plomo y cadmio (Tabla 54).

En los Gráficos 1, 2 y 3 se muestran las concentraciones promedio para los tres metales analizados, mercurio, plomo y cadmio respectivamente, en los diferentes tejidos de los hospedadores y en los parásitos.

Las concentraciones más altas de mercurio y plomo fueron halladas en dos individuos de *Ityogonimus*, siendo los valores 74,0 y 45,0 µg/g p.f., respectivamente. Por el contrario, el valor más alto de cadmio se encontró en una muestra de riñón de un topo no parasitado, con un valor de 14,9 µg/g p.f.

Tabla 54. Promedio de las concentraciones de cada metal pesado analizado con su valor estándar y la mediana junto al rango de valores para las muestras obtenidas de riñón e hígado en los *T. occidentalis* no infestados e infestados por *Ityogonimus* spp. y en la de estos parásitos. Las unidades son ng/g peso fresco. ES, error estándar; máx, valor máximo del rango, mín, valor mínimo del rango.

		Promedio ± ES	Mediana (mín-máx)
***T. occidentalis* no parasitado (n=22)**			
Mercurio	**Riñón**	218,6 ± 52	141 (17,5-861,6)
	Hígado	435,6 ± 203,1	138 (22,3-4.499)
Plomo	**Riñón**	337,7 ± 46,1	278,4 (75,5-1.010)
	Hígado	141,0 ± 12,6	133,5 (54,4-324)
Cadmio	**Riñón**	4.516,8 ± 725	4.128 (517-14.944)
	Hígado	3.703,5 ± 344	3.845 (664-6.927)
***T. occidentalis* parasitado (n=14)**			
Mercurio	**Riñón**	249,6 ±77	111 (16,3-927,4)
	Hígado	356,2 ± 94,0	230 (17,7-974,3)
Plomo	**Riñón**	324,1 ± 58,5	245,3 (115-824)
	Hígado	149,3 ± 31,8	93,0 (51-458)
Cadmio	**Riñón**	4.247,6 ± 769	4.031 (292-10.183)
	Hígado	3.149,5 ± 389	3167 (587-5.642)
***Ityogonimus* spp. (n=14)**			
Mercurio		20.891,7 ± 5.766	14.745 (365,7-73.956)
Plomo		12.374,6 ± 3.648	7.149 (1.375-45.038)
Cadmio		4.260,4 ± 443	4.602 (1.339-7.155)

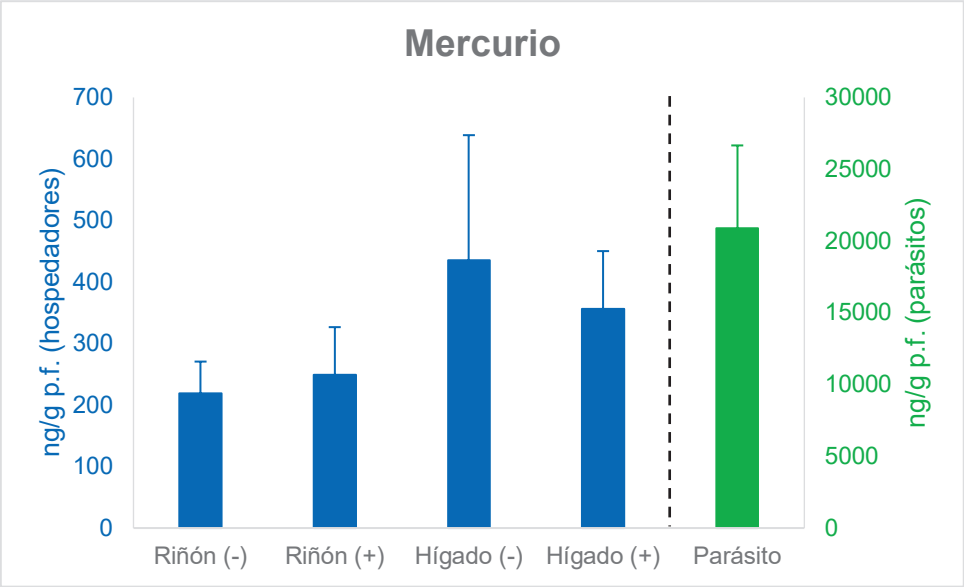


Gráfico 1. Concentraciones medias de mercurio (ng/g p.f.) en los diferentes tejidos analizados (eje de la izquierda) y en los parásitos (eje de la derecha). (-), muestras procedentes de hospedadores no parasitados; (+), muestras procedentes de hospedadores parasitados. Se indica la barra de error estándar para cada valor.

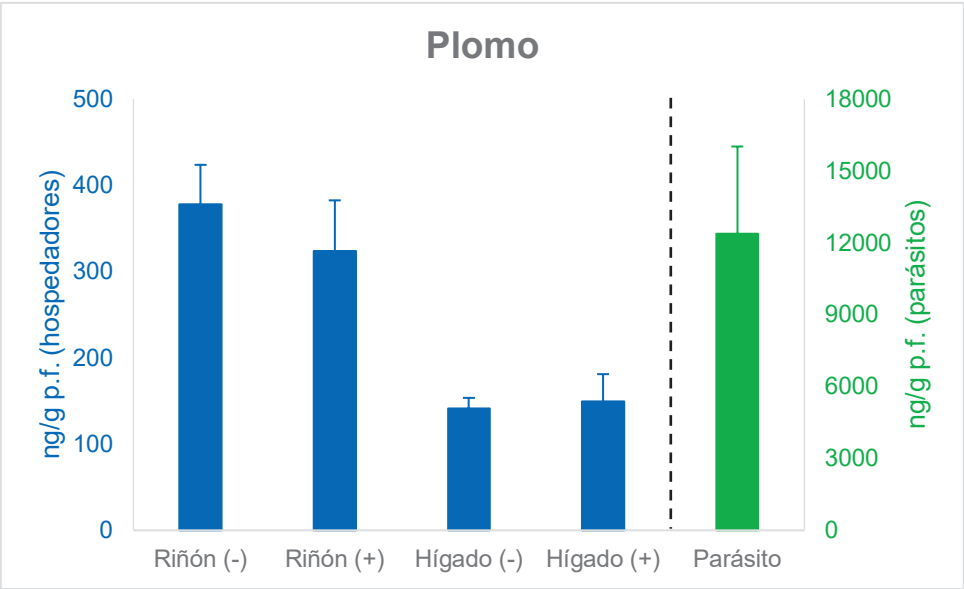


Gráfico 2. Concentraciones medias de plomo (ng/g p.f.) en los diferentes tejidos analizados (eje de la izquierda) y los parásitos (eje de la derecha). (-), muestras procedentes de hospedadores no parasitados; (+), muestras procedentes de hospedadores parasitados. Se indica la barra de error estándar para cada valor.

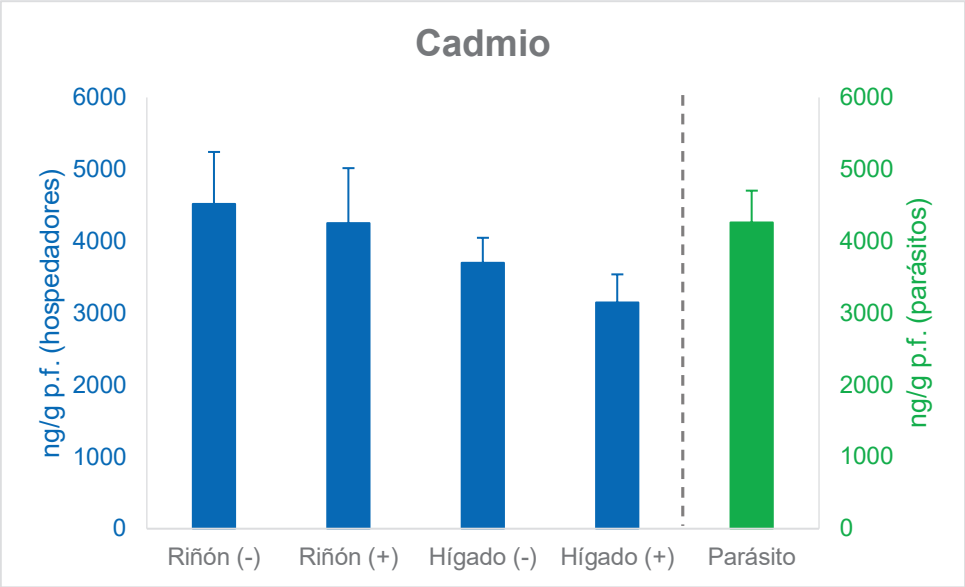


Gráfico 3. Concentraciones medias de cadmio (ng/g p.f.) en los diferentes tejidos analizados (eje de la izquierda) y los parásitos (eje de la derecha). (-), muestras procedentes de hospedadores no parasitados; (+), muestras procedentes de hospedadores parasitados. Se indica la barra de error estándar para cada valor.

Al comparar los valores de cada metal entre los hospedadores infestados y los no infestados en los diferentes tejidos, no se obtuvieron diferencias significativas (Tabla 55). Por el contrario, sí se obtuvieron diferencias al comparar las concentraciones de cadmio en el hígado, siendo más altas en el parásito que en los hospedadores infestados (U=56; p=0,0278).

Tabla 55. Resultados del test de U Mann-Whitney para comparar las medianas para cada metal en cada tejido entre los hospedadores infestados y los no infestados.

		U	p
Mercurio	**Riñón**	150	0,455
	Hígado	147	0,418
Plomo	**Riñón**	144	0,381
	Hígado	117	0,120
Cadmio	**Riñón**	152	0,481
	Hígado	122	0,156

Los factores de bioconcentración se calcularon a partir de los promedios de las concentraciones de los diferentes metales para cada tejido analizado de los parásitos infestados respecto a las concentraciones en los parásitos, tal como se ha explicado en el apartado 1.2 (Tabla 56). En el caso del mercurio las concentraciones en los parásitos fueron 84 veces más altas que las obtenidas en las muestras de riñón, y 59 veces mayores que las muestras hepáticas. En el caso del plomo estos valores fueron de 38 y 83, respectivamente. Y para el cadmio fueron de 1 y 1,3, respectivamente.

Al comparar los valores medios de las concentraciones de mercurio en los parásitos con los de las muestras hepáticas y renales de los hospedadores parasitados se observó que las de los parásitos eran significativamente más altas ($H=24,6$; $p<0,0001$) (Test Dunn: riñón, $p<0,0001$; hígado, $p=0,0002$). No se detectaron diferencias significativas entre las muestras de riñón e hígado de los hospedadores infestados (Test Dunn, $p>0.9999$) (Tabla 57). En el caso del plomo también se detectó que las medianas eran más altas en los parásitos que en los tejidos de los hospedadores infestados ($H=31,2$; $p<0,0001$) (Test Dunn: riñón, $p=0,0012$; hígado, $p<0,0001$). Tampoco se detectaron diferencias entre las muestras de riñón e hígado de las muestras parasitadas por el trematodo (test Dunn, $p>0,9999$) (Tabla 57). Finalmente, en el caso del cadmio, no se obtuvieron diferencias entre las muestras de los digénidos y las de los tejidos de los hospedadores parasitados ($H=3,18$; $p=0,2038$) (Tabla 57).

Tabla 56. Factores de bioconcentración (FB) obtenidos para cada metal analizado, comparando el valor de concentración de *Ityogonimus* con el del tejido correspondiente en los *T. occidentalis* parasitados.

	FB Riñón	FB Hígado
Mercurio	83,7	58,6
Plomo	38,2	82,6
Cadmio	≈ 1	1,3

Tabla 57. Valores obtenidos en el test de Kruskal-Wallis y de Dunn para comparar las medianas de las concentraciones de los tres contaminantes analizados entre los parásitos y los tejidos de los hospedadores parasitados. ns, no significativo

	Kruskal-Wallis		Test Dunn		
	H	p	P hígado-riñón	P parásito-riñón	P parásito-hígado
Mercurio	24,6	<0,0001	ns	<0,0001	0,0002
Plomo	31,2	<0,0001	ns	0,0012	<0,0001
Cadmio	3,18	0,2038	ns	ns	ns

3.6. ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DEL ESPERMATOZOIDE DE *Ityogonimus ocreatus*

El estudio mediante microscopía electrónica de transmisión de numerosos cortes ultrafinos a nivel de la vesícula seminal procedentes de cuatro especímenes grávidos de *Ityogonimus ocreatus*, permitió observar en secciones tanto longitudinales como transversales los distintos caracteres ultraestructurales presentes en el espermatozoide e interpretar su organización. Así, tras el análisis exhaustivo de numerosas micrografías se consideraron tres regiones establecidas arbitrariamente en función de la presencia de diversos caracteres. Estas regiones son la región I o región anterior, la región II o región media y la región III o región posterior. El hecho de establecer sólo tres regiones se debe a que actualmente, en la mayoría de estudios de esta índole, se intenta reducir al máximo el número de regiones a fin y efecto de facilitar la comparación entre los espermatozoides de distintas especies.

El espermatozoide de *I. ocreatus* es una célula filiforme con los extremos ligeramente aguzados y caracterizada por la presencia de los siguientes caracteres principales:

- dos axonemas de distinta longitud que presentan el patrón 9+'1' propio de los platelmintos Trepaxonemata
- dos haces de microtúbulos corticales o periféricos paralelos en la región principal (área mitocondrial y nuclear)
- una sola mitocondria

- núcleo
- ornamentación externa de la membrana plasmática
- cuerpos espinosos
- gránulos de glucógeno

A continuación, se describen las tres regiones mencionadas con anterioridad.

Región I: es la región anterior del espermatozoide. La extremidad anterior es filiforme y más o menos aguzada (Figura 29a). Los centriolos de los dos axonemas aparecen simultáneamente en el mismo nivel (Figuras 29b y 31I). En esta zona anterior de la región I, tanto los centriolos como los axonemas están rodeados por un haz discontinuo de 18-20 microtúbulos corticales paralelos adosados a la membrana plasmática (Figuras 29b-d). Más posteriormente aparece la ornamentación externa de la membrana plasmática y los cuerpos espinosos (Figuras 29e-g y 31I). En esta parte posterior de la región I los microtúbulos corticales paralelos ya están organizados en dos haces al aparecer los cuatro puntos de fusión separando estos dos haces (Figura 29e). Asimismo, esta zona ornamentada es la que presenta el número mayor de microtúbulos corticales (unos 45) (Figuras 29e, g). La desaparición de la ornamentación externa y de los cuerpos espinosos marca la transición hacia la región II del espermatozoide.

Región II: es la región media del espermatozoide, básicamente caracterizada por la ausencia de ornamentación externa de la membrana plasmática (Figuras 29h-k y 31II). En esta región el número de microtúbulos corticales se reduce ostensiblemente y, consecuencia de ello, se aprecian con mayor claridad los dos haces (Figuras 29i-k). Progresivamente también aparecen los acúmulos de glucógeno (Figuras 29i-k). En la parte posterior de la región II aparece la mitocondria (Figuras 29k y 31II).

Región III: es la región nuclear y posterior del espermatozoide. Esta región se caracteriza principalmente por la presencia del núcleo y la extremidad posterior de la mitocondria (Figuras 30a-d y 31III). Los gránulos de glucógeno también se aprecian en esta región (Figuras 30a-e). La transición progresiva de

los principales caracteres hacia la extremidad posterior del espermatozoide es la siguiente:

- desorganización y desaparición del primer axonema (Figuras 30c, d).
- extremidad posterior de la mitocondria (Figuras 30d, e).
- desaparición de los microtúbulos corticales (Figura 30f).
- extremidad posterior del núcleo (Figuras 30f, g).
- desorganización del segundo axonema (Figuras 30g, h).

La aplicación del test citoquímico de Thiéry (Thiéry, 1967) permitió evidenciar la reacción positiva a este test para el material granular presente en las regiones II y III del espermatozoide. Es por ello que podemos afirmar que se trata de glucógeno (Figura 30i).

En la Figura 31 se muestra un esquema con la organización de todos estos caracteres a lo largo de la célula espermática.

Podemos pues destacar que, tras el estudio ultraestructural efectuado, el espermatozoide de *I. ocreatus* presenta dos axonemas de distinta longitud, siendo el segundo axonema más largo que el primero. La correcta interpretación de las numerosas micrografías obtenidas, considerando en todo momento el sentido de las agujas del reloj para los axonemas, permitió esta interpretación. Así, los dos axonemas se observan en su parte anterior más o menos a un mismo nivel, mientras que en el área posterior o nuclear se aprecia claramente la desorganización y desaparición del primer axonema mucho antes que el segundo, que llega hasta la extremidad posterior. Evidentemente, el estudio de numerosas secciones de distintos espermatozoides y la rigurosidad en su análisis permitieron realizar una interpretación correcta, a pesar de las connotaciones subjetivas que dichas interpretaciones pueden comportar.

Otro aspecto interesante a tener en cuenta es la presencia y localización de la ornamentación externa de la membrana plasmática. Su asociación con los microtúbulos corticales es otro aspecto a valorar. La ornamentación externa es un carácter que tiene gran interés ya que existen diversos tipos de espermatozoides en los Digenea en función de su presencia/ausencia y de su localización, tal como se aborda en el capítulo de discusión de los resultados.

Finalmente, la transición de caracteres hacia la extremidad posterior y más concretamente el carácter terminal (en *I. ocreatus* el segundo axonema) también es un aspecto a considerar en los estudios comparativos con otros digénidos.

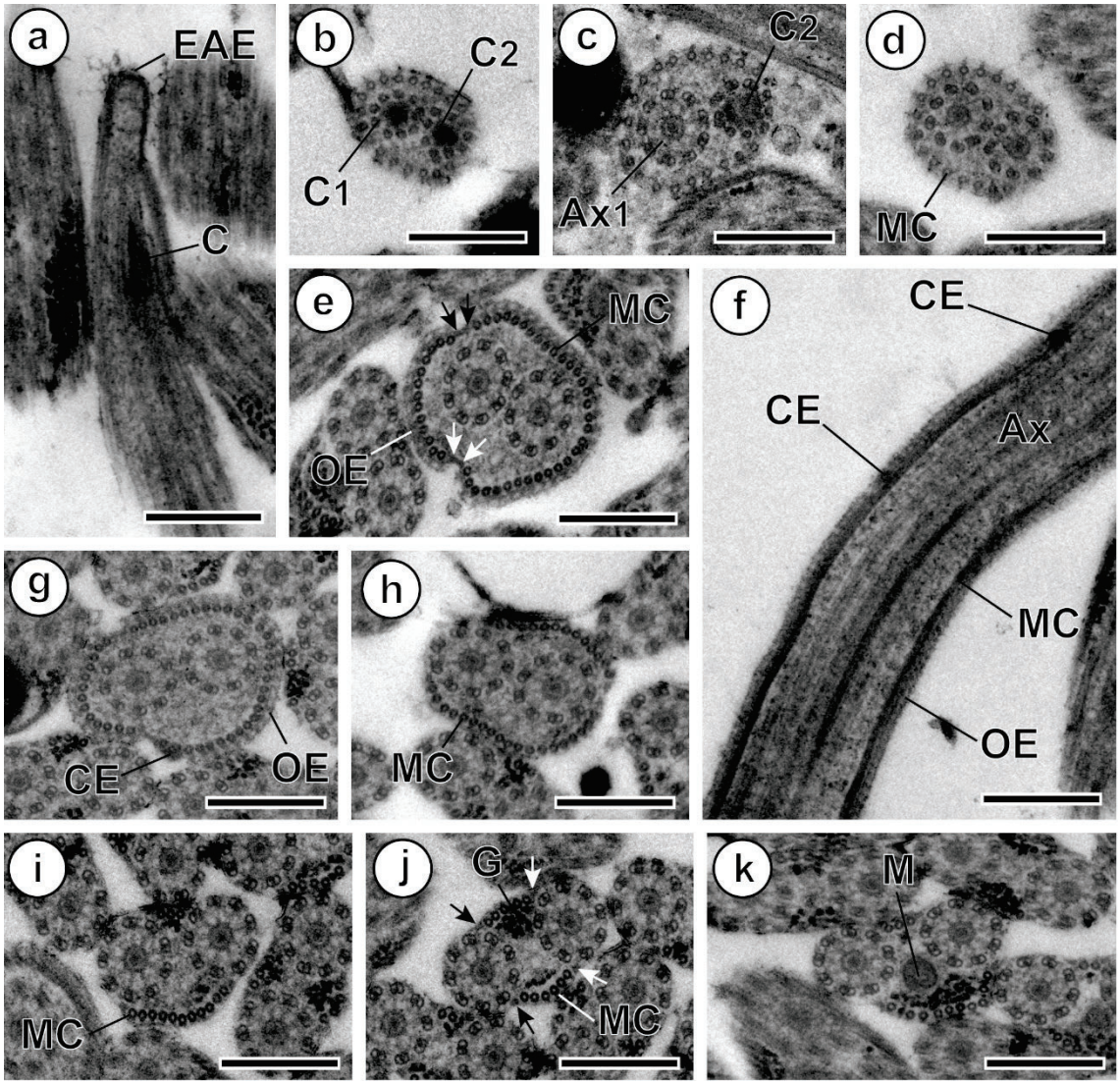


Figura 29. Espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*, regiones I (a–g) y II (h–k). **a)** Sección longitudinal de la extremidad anterior. **b-d)** Secciones del área no ornamentada de la región I. **e-g)** Secciones transversales y longitudinal del área ornamentada de la región I. **h-j)** Secciones del área anterior de la región II. **k)** Secciones del área posterior de la región II mostrando la mitocondria. Flechas, puntos de fusión; Ax, axonema; Ax1, primer axonema; C1 y C2, centriolos del primer y segundo axonema; CE, cuerpos espinosos; EAE, extremidad anterior del espermatozoide; G, glucógeno; M, mitocondria; MC, microtúbulos corticales; OE, ornamentación externa de la membrana plasmática. Escalas = 0,3 µm.

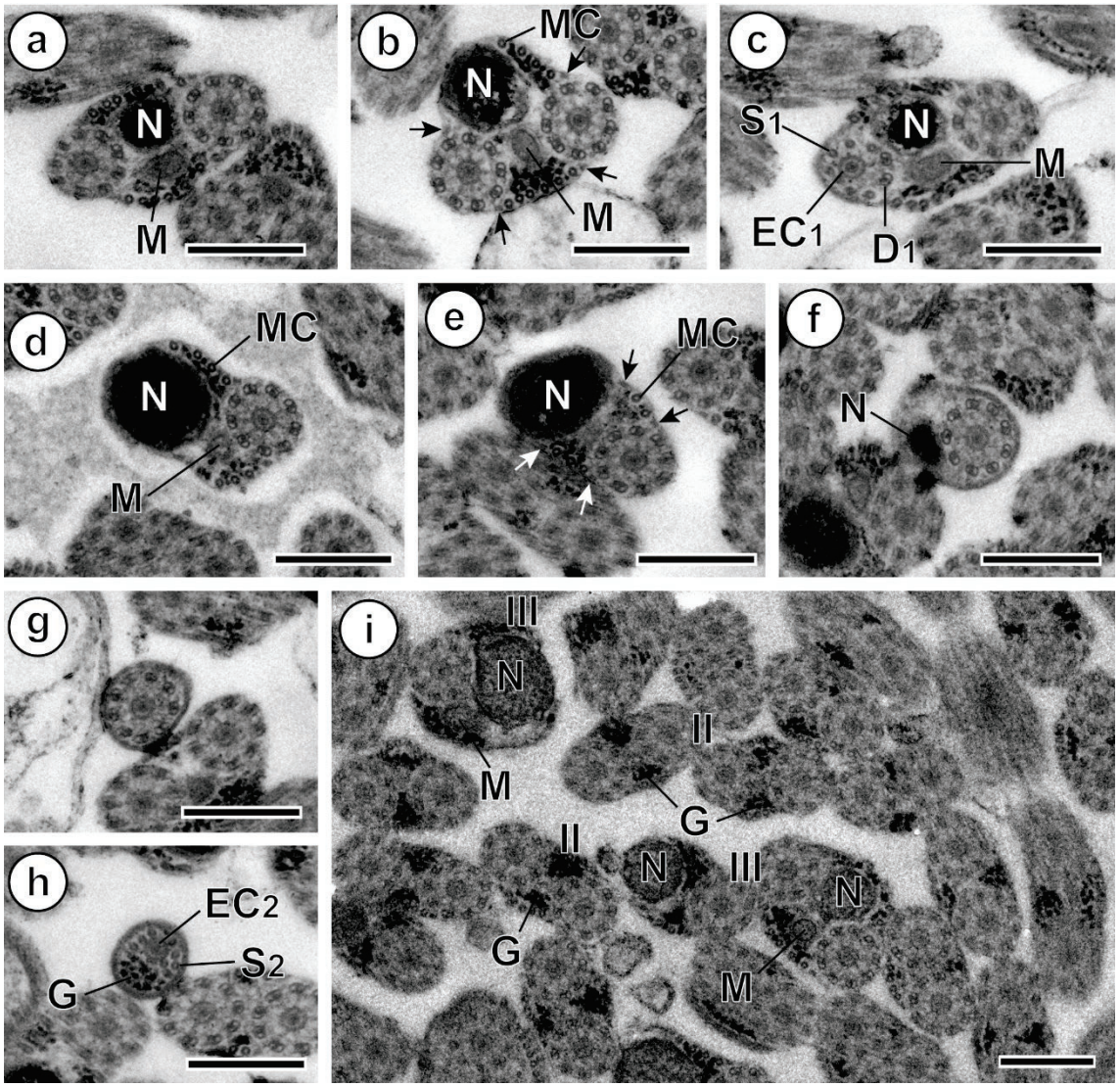


Figura 30. Espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*, región III (a–h) y test citoquímico de Thiéry (i). **a-h)** Secciones correlativas mostrando la transición de caracteres hacia la extremidad posterior. **i)** Reacción positiva del test de Thiéry evidenciando la presencia de glucógeno en las regiones II y III. Flechas, puntos de fusión; II y III, región II y III; D1, dobletes del primer axonema; EC1 y EC2, elemento central del primer y segundo axonema; G, glucógeno; M, mitocondria; MC, microtúbulos corticales; N, núcleo; S1 y S2, singletes del primer y segundo axonema. Escalas = 0,3 µm.

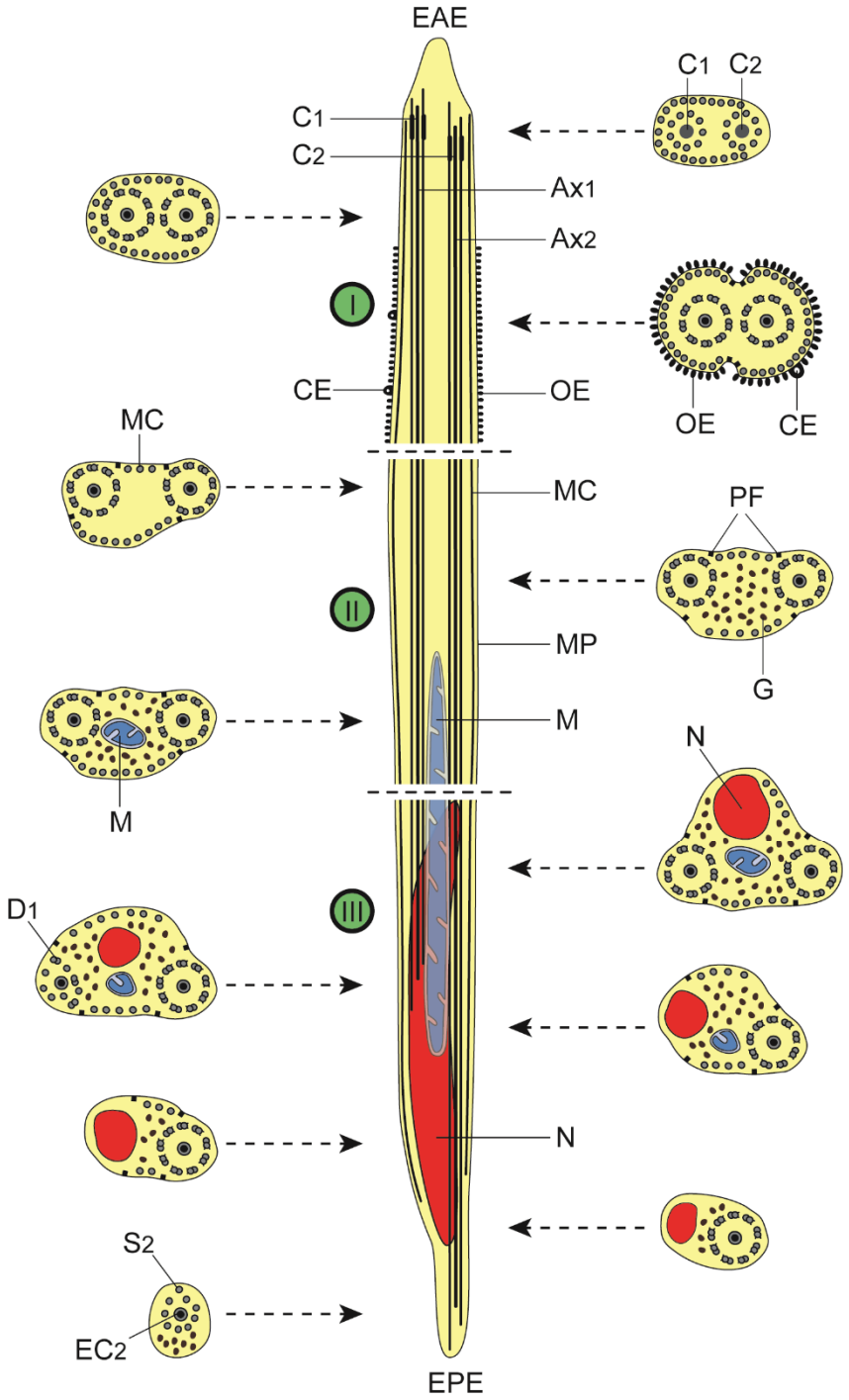


Figura 31. Reconstrucción esquemática del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*. El espermatozoide está organizado en tres regiones, región I (anterior), región II (media) y región III (posterior). Ax1 y Ax2, primer y segundo axonema; AZ, puntos de fusión; C1 y C2, centriolos del primer y segundo axonema; CE: cuerpos espinosos; D1, dobletes del primer axonema; EAE, extremidad anterior del espermatozoide; EC2, elemento central del segundo axonema; EPE, extremidad posterior del espermatozoide; G, glucógeno; M, mitocondria; MC, microtúbulos corticales; MP, membrana plasmática; N, núcleo; OE, ornamentación externa de la membrana plasmática; S2, singletes del segundo axonema.

CAPÍTULO CUARTO

DISCUSIÓN

4. DISCUSIÓN

En el presente capítulo se analizan las helmintofaunas de los tres hospedadores analizados y se comparan con trabajos similares realizados en la Península Ibérica o en la región paleártica. También se analizan los resultados obtenidos en el estudio ecotoxicólogico y en el estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*.

4.1. CON RELACIÓN A LOS ESTUDIOS FAUNÍSTICOS Y ECOLÓGICOS DE LOS HOSPEDADORES ESTUDIADOS

En este apartado se procede a analizar los resultados obtenidos para cada helmintofauna, teniendo en cuenta todos los análisis estadísticos realizados. Además, se comparan con estudios anteriores tanto las helmintofaunas como los diferentes índices y los factores analizados que fueron significativos.

4.1.1. *Arvicola scherman*

Es la primera vez que se hace una descripción de la helmintofauna de *Arvicola scherman* en la Península Ibérica. Sin embargo, sí que existen datos previos con relación a *A. terrestris scherman*.

La helmintofauna de la población analizada de *A. scherman* de Asturias presentó una estructura parecida a las halladas en otros arvicolinos ibéricos (Feliu et al., 1997), siendo las especies dominantes eurixenas u oligoxenas, presentando poca afinidad hacia el hospedador. No obstante, también se encontraron especies estenoxenoas como *Aonchotheca wioleti*. Además, las infracomunidades presentaron unos valores bajos de riqueza de especies. El tipo de vida hipogea y la dieta hervíbora podrían explicar la baja diversidad de helmintos en comparación con otros arvicolinos ibéricos (Feliu et al., 1992b, 1997).

Al comparar los resultados del presente estudio con los resultados anteriores de Feliu et al. (1997) se observaron diferencias a nivel de composición de especies de la comunidad helmintiana. A nivel de cestodos cabe destacar la ausencia de especies que tienen como hospedador definitivo a la rata topera en el presente estudio, mientras que Feliu et al. (1997) encontraron tres especies: *Anoplocephaloides dentata*, *Paranoplopcephala omphalodes* y *Arostrilepis horrida* (=*Hymenolepis horrida*). En relación con los nematodos destaca la ausencia en este estudio de *Heligmosomoides laevis* y de *Heligmosomoides glareoli* y la presencia de *Carolinensis minutus*.

La ausencia de helmintos que tienen como hospedadores definitivos a *A. scherman* podría deberse al estrés ecológico (King et al. 2010). Estos autores demostraron que el estrés ecológico provoca una disminución de helmintos que infestan insectos, peces, anfibios y vertebrados terrestres. El uso de pesticidas y la fragmentación del hábitat como consecuencia de la actividad agrícola también se han relacionado con una disminución de la riqueza de especies y de la diversidad de especies helmintianas, provocando un aumento de los nematodos de ciclo directo y una disminución de las especies heteroxenas que tienen a los mamíferos como hospedadores definitivos (king et al., 2010). Además, la fragmentación del territorio que provocan los campos de cultivo puede afectar a la diversidad y a la abundancia de los mamíferos, ya que actúan como barreras impidiendo la conexión de diferentes poblaciones (Somoano et al., 2022), pudiendo afectar todos estos factores a la diversidad helmintiana.

Las bajas prevalencias halladas en el presente estudio concuerdan con los valores obtenidos para la riqueza media de especies y los índices de diversidad. Esto podría deberse, tal como se ha comentado anteriormente, al tipo de vida y a la dieta de la rata topera (Feliu et al., 1992b, 1997).

En relación con el tipo de ciclo biológico de las especies de hemintos halladas en el este estudio, cinco eran FES y una no FES. El ciclo de vida FES es aquél en que la forma infestante para *A. scherman* es de vida libre ya sea un ciclo monoxeno (*Eucoleus bacillatus*, *Trichuris arvicolae*, *Carolinensis minutus* o *Syphacia nigeriana*) o en el que la rata topera actúa como hospedador intermediario (*Hydatigera taeniaeformis*). En el ciclo de vida No FES para *A. scherman* sería aquel ciclo heteroxeno en que actúa como hospedador definitivo.

Es el caso de *A. wioletti*, para la que sólo se encontró una rata topera parasitada por esta especie que tiene a invertebrados, principalmente lombrices de tierra, como hospedadores intermediarios.

El análisis de la frecuencia de especies permitió establecer que *C. minutus* y *S. nigeriana* son las especies dominantes y *T. arvicolae* es la codominante. Además, las dos especies dominantes presentan una distribución con un nivel muy alto de agregación. *Trichuris arvicolae* e *H. taeniaeformis* larvae también presentan una distribución agregada, aunque con un nivel de agregación menor. Una distribución muy agregada de los parásitos está relacionada con la estabilidad de las relaciones hospedador-parásito, mientras que si estos niveles de agregación son bajos están asociados con la desestabilización de estas relaciones (Dobson, 1988; Dobson & Hudson, 1992; Shaw & Dobson, 1995). De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, *T. arvicolae* e *H. taeniaeformis* larvae tendrían una mayor responsabilidad en una posible desestabilización de las poblaciones de *A. scherman* en el área de estudio.

La alta agregación de las especies dominantes podría ser debida a diferentes factores como heterogeneidades en las poblaciones del hospedador y/o en la presión de parasitación (Wilson et al., 2001). El mecanismo o vía de transmisión del parásito no parece tener un efecto sobre el nivel de agregación. En cambio, sí que refleja la distribución óptima de las especies y los procesos coevolutivos existentes entre los parásitos y sus hospedadores (Morand & Krasnov, 2008).

La **edad** es un factor que no influye sobre la diversidad ni la riqueza media de las especies helmintianas de *A. scherman*, aunque se observa una tendencia en aumentar el valor de estos índices con la edad del hospedador. De acuerdo con los resultados del test de Kruskal-Wallis y de la regresión logística binaria, las especies influenciadas por la edad del hospedador son: *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae*, *C. minutus* y *S. nigeriana*.

En *H. taeniaeformis* larvae se observa como la prevalencia y la abundancia aumentan con la edad de los hospedadores. Estos resultados son acordes a los de estudios anteriores (Burlet et al., 2011; Fuehrer et al., 2012). Los individuos hospedadores juveniles están protegidos de la infestación por los huevos de estos helmintos por las inmunoglobulinas A que ingieren con el

calostro y por las inmunoglobulinas A y G transplacentarias. Los adultos presentan también una protección frente a los huevos, pero que no evita que algunos individuos presenten quistes hepáticos (Theis & Schwab, 1992). Además, los adultos pueden infestarse con más facilidad al tener más territorio y más tiempo de contacto con los huevos dispersos en el medio ambiente (Hudson et al., 2006). En otros estudios anteriores con animales silvestres también se detectó un aumento de la prevalencia y de la abundancia con la edad (Elton et al., 1931; Kisielewska, 1971; Montgomery & Montgomery, 1989; Gregory, 1992; Gregory et al., 1992; Behnke et al., 1999, 2022; Fuentes et al., 2004b, 2007, 2010; Eira et al., 2006; Feliu et al., 2009; Jackson et al., 2009, 2014; Friberg et al., 2013; Sáez-Durán et al., 2018).

En el caso de *T. arvicolae* se observa como las abundancias aumentan con la edad del hospedador. Estos resultados son diferentes a los obtenidos por Deter et al. (2007a), que analizó el mismo binomio hospedador / helminto. Estos autores encontraron que las prevalencias disminuían con la edad, sin encontrar hospedadores parasitados en individuos de más de 8 meses de edad. Nuestros resultados son totalmente inesperados, teniendo en cuenta los ciclos biológicos de *T. arvicolae* y de *A. scherman*. *Trichuris arvicolae* es un pseudogeohelminto; los huevos una vez depositados en el exterior deben embrionar para pasar a ser la forma infestante. Los juveniles al pasar más tiempo en el sistema de galerías tendrían más probabilidades de infestarse que los subadultos y los adultos, debiendo presentar prevalencias y abundancias más altas, tal como encontraron Deter et al. (2007a) en su estudio. No obstante, hay estudios que reportan la misma tendencia en diferentes especies de *Trichuris* que los obtenidos en la presente memoria, en los cuales la prevalencia aumenta con la edad del hospedador (ver Mair et al., 2021).

En *C. minutus* se observa que la prevalencia y la abundancia disminuyen con la edad, siendo estos resultados los esperados. Una posible explicación podría ser la que proponen Gregory et al. (1992): los individuos adultos tienen más desarrollado el sistema inmunitario adquirido, lo cual conlleva que sean menos susceptibles a la parasitación que los individuos más jóvenes. Este hecho también se podría relacionar con el ciclo de vida de la rata topera, ya que los

individuos más jóvenes tendrían más posibilidades de infestarse al pasar más tiempo en el sistema de galerías que los adultos.

En el caso de *S. nigeriana* los individuos con las abundancias más altas son los subadultos. Estudios previos en otros depredadores no detectaron una influencia de la edad en *M. lusitanicus* (Feliu et al., 2009) o bien las prevalencias y las abundancias de este parásito fluctuaban entre los diferentes grupos de edad en *Myodes glareolus*, disminuyendo en los grupos de más edad (Bajer et al., 2005) o estando ausente en los individuos de más edad de *Microtus arvalis* (Gubányi et al., 1992). Los resultados obtenidos en el presente estudio parecen coincidir con los de Bajer et al. (2005); los valores de la abundancia varían entre las diferentes clases de edad, pero son inferiores en los adultos. Esto podría deberse, tal como se ha comentado anteriormente, a la mayor capacidad inmunitaria de los individuos de más edad (Gregory et al., 1992).

En relación con el **sexo**, ni la diversidad, ni la riqueza de especies, ni las prevalencias, ni las abundancias de las cuatro especies analizadas se ven influenciadas por este factor. Estudios anteriores demostraron un efecto del sexo del hospedador, estando los machos más parasitados que las hembras (Sánchez et al., 2011). Esto podría tener diferentes causas: (a) los machos presentan un tamaño corporal más grande que las hembras, por lo que pueden proporcionar más recursos a los parásitos, y ser más susceptibles a ellos; (b) un efecto hormonal por los esteroides que los hace más susceptibles a las infecciones, aunque este mecanismo de acción no está muy claro; (c) factores relacionados con el comportamiento que facilitan la parasitación, como por ejemplo, las luchas, un menor acicalamiento durante la época de celo o el mayor tamaño de sus territorios (Grybzek et al., 2015). Todos estos factores hacen aumentar la probabilidad de que los machos entren en contacto con más facilidad con las formas infestantes. En otros estudios se demostró que las hembras eran el sexo más parasitado (Grybzek et al., 2015). El estado reproductivo y los niveles hormonales pueden afectar el sistema inmunitario, pudiéndolas hacer más susceptibles a la parasitación, agravándose durante la gestación y la lactancia. El hecho de que diferentes hembras compartan el nido puede aumentar la probabilidad de que se infesten (Sánchez et al., 2011). Otros estudios con micromamíferos tampoco encontraron un efecto del sexo sobre los

parásitos (Theis & Schwab, 1992; Behnke et al., 1999; Fuentes et al., 2004b; Cerqueira et al., 2007; Milazzo et al., 2010b; Grzybek et al., 2015; Behnke et al., 2022). Hay estudios que sugieren la hipótesis de que la influencia del sexo dependa del taxón y/o de la asociación hospedador / parásito (Klein, 2004; Krasnov et al., 2005, 2012; Bordes et al., 2012). Otros estudios sugieren la posibilidad de que efecto del sexo esté relacionado con la estacionalidad y que podría afectar a cada sexo de manera diferente dependiendo de su comportamiento reproductivo (Bajer et al., 2005; Grzybek et al., 2015).

La **estación de captura** influye sobre la diversidad y la riqueza de especies. En ambos casos la estación con los valores más altos es primavera, seguida de verano y la estación con los valores más bajos es otoño. Al estudiar la influencia de este factor sobre las prevalencias y las abundancias de las cuatro especies analizadas, únicamente la abundancia de *S. nigeriana* fue significativa.

Syphacia nigeriana, tal como se ha comentado en su descripción, es un ageohelminto, siendo directamente los huevos la forma infestante. Las hembras grávidas migran des del ciego hasta la zona del ano donde emergen y depositan los huevos en la zona perianal. Los huevos pasan a ser infestantes muy poco tiempo después de ser puestos. Se puede producir una autoinfestación al ingerir el mismo hospedador los huevos al acicalarse o infestar a otros individuos del mismo grupo al limpiarse entre ellos o al compartir los nidos (Bajer et al., 2005). Es importante el contacto entre los hospedadores para la transmisión de este parásito (Lewis, 1968). Estudios anteriores con otras especies vieron un efecto de la estación de captura. Así, Abu-Madi et al. (2000) obtuvieron que las prevalencias de *Syphacia stroma* en *Apodemus sylvativus* fueron más altas en invierno y primavera, y disminuyeron durante verano y otoño. Por su parte, Bajer et al. (2005) vieron que las prevalencias de *Syphacia petrusewiczi* en *Myodes* glareolus fueron más altas en otoño respecto a primavera. En otro estudio, Eira et al. (2006) observaron que las prevalencias de *S. stroma* en *A. sylvaticus* fueron más altas en primavera que en el resto de estaciones, mientras que las intensidades de *Syphacia frederici* fueron más altas en invierno respecto al resto de estaciones. En el presente estudio se reportan las abundancias más altas en primavera e invierno, disminuyendo en otoño y verano. La rata topera, en condiciones favorables, presenta actividad reproductora todo el año (Meylan &

Airoldi, 1975; Somoano et al., 2017). Por tanto, las abundancias altas de invierno se podrían explicar por unas condiciones más desfavorables que obligan a los hospedadores a pasar más tiempo en el sistema de galerías, favoreciendo un mayor contacto de los individuos y más posibilidades de infestación. Estos resultados concordarían con otros estudios en los que se relacionaron las altas prevalencias de este helminto con altas densidades poblaciones de sus hospedadores (Ameberg et al., 1998; Abu-Madi et al., 2000; Behnke et al., 2008, 2022).

Si se tiene en cuenta el **año de captura** del hospedador, los índices de diversidad y de riqueza de especies se ven influenciados, siendo el año 2012 el que presenta los valores más altos. En relación con la influencia de este factor sobre las abundancias de las especies analizadas, *S. nigeriana* es la única especie que se ve influenciada. Esta influencia se podría explicar por diferencias climatológicas y por variaciones en las densidades poblacionales.

Se debe destacar la ausencia de correlaciones entre las variables climáticas y los índices de diversidad de las infracomunidades (riqueza de especies e índice de Brillouin) que se mantienen sin explicación. La prevalencia total de la comunidad helmintiana se ve influenciada negativamente por la temperatura media de Oviedo y la prevalencia de *S. nigeriana* se ve influenciada negativamente por la precipitación media y acumulada en Gijón. La temperatura podría tener una influencia sobre la viabilidad de las formas infestantes, afectando a las prevalencias de los helmintos. No se puede explicar la influencia de la precipitación sobre las prevalencias de *S. nigeriana* que es un ageohelminto y que en ninguna otra especie ya sea un geohelminto o un pseudogeohelminto no se obtengan correlaciones.

4.1.2. *Microtus lustanicus*

La helmintofauna de la población analizada de *M. lusitanicus* de Asturias presenta una estructura parecida a las halladas en otros arvicolinos, siendo las especies dominantes eurixenas u oligoxenas, es decir, con poca especificidad hacia el hospedador (Feliu et al., 1991, 1997). Además, la riqueza de especies a nivel de infracomunidad es pobre. El tipo de vida semihipogea del topillo lusitánico y su dieta vegetariana podrían ser la explicación a la baja diversidad de los parásitos en comparación con otros arvicolinos ibéricos (Feliu et al., 1992b, 1997).

Al comparar nuestros resultados con estudios anteriores (Feliu et al., 1991, 1997, 2009), se encuentran diferencias a nivel de la composición de especies. Las principales diferencias detectadas son: (a) la ausencia de *Notocotylus neyrai* (Trematoda), de cestodos adultos como *Anoplocephaloides dentata* o *Aristrolepis horrida* y de *Heligmosomoides laevis* (Nematoda); y (b) la presencia de *Kontrimavichusia asymmetrica* (Cestoda) y *Carolinensis minutus* (Nematoda). La falta de helmintos de ciclo indirecto que tienen a *M. lusitanicus* como hospedador definitivo podría deberse al uso de pesticidas en algunos campos de cultivo. Estos productos tienen un efecto negativo sobre la supervivencia de los hospedadores intermediarios (artrópodos y caracoles), dificultando el cierre del ciclo biológico de los parásitos. Otro factor a tener en cuenta es el reducido tamaño de los campos de cultivo que incrementa la posible extinción estocástica de especies de helmintos, que se ve favorecida por la poca capacidad de recolonización de los campos de cultivo dada la baja conectividad que hay entre ellos (Diamond, 1975). Además, un estudio sobre la genética de poblaciones demostró que este tipo de paisaje agrícola fragmentado afecta negativamente a la capacidad de dispersión y de colonización de los topillos a escala local (Somoano et al., 2022).

Existe una concordancia entre los bajos valores de la prevalencia y de la riqueza media de especies y los índices de diversidad. Estudios previos también obtuvieron bajas prevalencias (Feliu et al., 2009), siendo *S. nigeriana* la especie más prevalente. Tal como se ha comentado anteriormente, el tipo de vida y de dieta del topillo lusitánico podrían explicar esta baja diversidad de helmintos en comparación con otros arvicolinos procedentes de la Península Ibérica (Feliu et al., 1992b, 1997).

De las ocho especies encontradas en el presente estudio, seis presentan un ciclo biológico FES, es decir, un tipo de ciclo en el cual la forma infestante del parásito versus *M. lusitanicus* es de vida libre. Únicamente cinco topillos lusitánicos estaban parasitados por un parásito heteroxeno con un artrópodo como hospedador intermediario (ciclo no FES).

El análisis de la distribución de frecuencia de las especies permite establecer a *C. minutus* como especie dominante y a *S. nigeriana* y *Heligmosomun costellatum* como especies codominantes. Todas ellas presentan un nivel de agregación alto, mientras que *T. arvicolae* e *H taeniaeformis* larvae presentan una distribución más próxima a la aleatoria. Como ya se comentó en el análisis de *A. sherman*, altos niveles de agregación de los parásitos están asociados con la estabilidad de las relaciones hospedador-parásito, mientras que si los niveles de agregación son bajos están asociados con la desestabilización de estas relaciones (Dobson, 1988; Dobson & Hudson, 1992; Shaw & Dobson, 1995). De acuerdo con nuestros resultados, únicamente, *T. arvicolae* e *H. taeniaeformis* larvae podrían ser responsables de la desestabilización de la población de *M. lusitanicus* en el área de estudio.

La alta agregación de las especies dominantes y codominantes podrían ser debidas a diferentes factores, como heterogeneidades en las poblaciones del hospedador y/o en la presión de parasitación (Wilson et al., 2001). El mecanismo o vía de transmisión del parásito no parece afectar al nivel de agregación. En cambio, el nivel de agregación refleja la distribución óptima de las especies y los procesos coevolutivos existentes entre los parásitos y sus hospedadores (Morand & Krasnov, 2008). *Hydatigera taeniaeformis* larvae y *T. arvicolae* presentan los niveles más bajos de agregación de todas las especies analizadas.

La **edad** es un factor que influye sobre la diversidad y la riqueza media de las especies parásitas, que aumentan a medida que los individuos pasan de los estados juveniles a la fase adulta. De acuerdo con los resultados del test de Kruskal-Wallis y de la regresión logística binaria, las especies que se ven influenciadas por la edad del hospedador son: *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y *C. minutus*. En las dos primeras especies la probabilidad de parasitación aumenta con la edad, mientras que en la última disminuye.

Como se ha comentado anteriormente en el análisis de *A. sherman*, en *H. taeniaeformis* larvae estos resultados son acordes a los obtenidos en estudios anteriores; los individuos juveniles están protegidos de los huevos del parásito por las inmunoglobulinas A que ingieren con el calostro y por las inmunoglobulinas A y G transplacentarias. Los adultos presentan una protección frente a los huevos de esta especie, aunque algunos individuos presentan quistes hepáticos (Theis & Schwab, 1992). Además, los animales adultos pueden infestarse con más facilidad por su propia edad y al tener más territorio; tienen más facilidad para entrar en contacto con las formas infestantes de los helmintos al tener más tiempo y espacio de contacto con éstas (Hudson et al., 2006). En estudios anteriores con otros roedores salvajes las prevalencias y las intensidades medias de parasitación aumentan con la edad (Elton et al., 1931; Kisielewska, 1971; Montgomery & Montgomery, 1989; Gregory, 1992; Gregory et al., 1992; Behnke et al., 1999, 2022; Eira et al., 2006; Fuentes et al., 2004b, 2007, 2010; Feliu et al., 2009; Jackson et al., 2009, 2014; Friberg et al., 2013; Sáez-Durán et al., 2018).

En el caso de *T. arvicolae* los resultados obtenidos son parecidos a los obtenidos en *A. scherman*. Los individuos adultos están más parasitados que los más jóvenes. Estos resultados, tal como se ha comentado en la rata topera, teniendo en cuenta el tipo de ciclo biológico de este nematodo, son contrarios a los esperados y también a los que obtuvieron Deter et al. (2007a) en su estudio con *A. terrestris*. No obstante, son concordantes con los resultados obtenidos en otros estudios con otras especies de *Trichuris*, donde los individuos adultos estaban más parasitados que los juveniles (ver Mair et al., 2021).

Los resultados obtenidos para *C. minutus* son semejantes a los obtenidos en *A*. *scherman*. Los individuos de más edad están menos parasitados que los más jóvenes. Tal como se ha comentado en el caso de *A. scherman,* el desarrollo de un sistema immunitario adquirido (Gregory et al., 1992) junto con el tipo de vida menos hipogea de los topillos adultos respecto a los juveniles podrían explicar estas diferencias en los niveles de parasitación.

En cuanto al **sexo** del hospedador ocurre lo mismo que en *A. scherman*; no se detectan diferencias ni en la diversidad ni en los valores de riqueza. Tampoco se detecta ningún efecto del sexo en los modelos de la regresión logística binaria ni en el test de Mann-Whitney. Tal como se ha explicado en el caso de la rata topera, tampoco hay unas relaciones claras del efecto del sexo sobre los parásitos en estudios anteriores.

Con relación a la **estación de captura** y teniendo en cuenta el conjunto de especies helmintianas halladas, los índices de diversidad más bajos corresponden a verano y los más altos a primavera y otoño, mientras que en invierno se obtienen los valores más bajos de riqueza de especies y en primavera los más altos. Relacionando estos resultados con la biología de *M. lusitanicus*, durante el invierno los topillos lusitánicos presentan menos actividad fuera del sistema de galerías, por lo que tendrían menos posibilidades de contactar con las formas infestantes de los parásitos y, consecuentemente, de infestarse. Esto podría ser una posible explicación a los resultados obtenidos. De acuerdo con la regresión logística binaria y el test de Kruskal-Wallis, se ha detectado un efecto de la estación de captura sobre las prevalencias y las abundancias de *C. minutus*, *H. costellatum* y *S. nigeriana*. *Heligmosomum costellatum* y *C. minutus* son dos nematodos geohelmintos, por lo que requieren humedades ambientales altas para asegurar la supervivencia de las larvas en el medio ambiente (Anderson, 2000).

En el caso de *H. costellatum* las prevalencias más altas están relacionadas con el estadio reproductivo de los hospedadores. Teniendo en cuenta que *M. lusitanicus* se reproduce durante todo el año (Miñarro et al., 2017), las bajas prevalencias e intensidades detectadas en otoño estarían más influenciadas por factores ambientales que afectarían la viabilidad de las formas infestantes (Bajer et al., 2005). De esta manera, las condiciones ambientales en verano podrían tener un efecto negativo sobre la supervivencia de las larvas, por lo que se encontrarían menos individuos parasitados por esta especie en otoño.

No hay datos publicados sobre la influencia de la estacionalidad en *C. minutus*. De acuerdo con nuestros resultados, primavera y verano son las estaciones más favorables para este nematodo.

En el caso de *S. nigeriana* los valores más altos de parasitación en invierno son parecidos a los obtenidoes en *A. scherman*. Teniendo en cuenta que estos dos hospedadores tienen hábitos de vida parecidos, la alta agregación de individuos en invierno facilitaría la parasitación, tal como se ha explicado en la rata topera.

Teniendo en cuenta el **año de captura** del hospedador, los índices de diversidad y los valores de riqueza de especies son parecidos entre los años estudiados, mostrando una estabilidad a un plazo medio de tiempo en la comunidad de parásitos de *M. lusitanicus* en Asturias. Entre todas las especies de helmintos parásitos, las únicas especies que presentan diferencias significativas para este factor en la prevalencia y la abundancia son *C. minutus* y *S. nigeriana*. Estas diferencias podrían explicarse por la variabilidad ambiental y de la abundancia del hospedador.

Cabe destacar la ausencia de correlaciones entre las variables climáticas y los índices de diversidad (riqueza de especies y índice de Brillouin) que se mantienen sin explicación. Sí que se han hallado correlaciones entre las prevalencias y/o las abundancias de algunos parásitos como *T. arvicolae* y *C. minutus*, que presentan un ciclo de tipo pseudogeohelminto y geohelminto, respectivamente. En estos parásitos se observa una correlación positiva con la temperatura media del año anterior de la captura, que tiene un efecto sobre la supervivencia de las formas infestantes.

Está documentado el papel que juegan los parásitos sobre la reproducción y la supervivencia de los mamíferos silvestres (Gulland, 1995; Albon et al., 2002; Hudson et al., 2002; Stein et al., 2002; Newey & Thirdgood, 2004). Además, también se ha constatado el papel clave que pueden tener los parásitos en la regulación de las poblaciones de vertebrados (Gulland, 1995; Grenfell et al., 1998; Redpath et al., 2006).

En el caso de las especies de parásitos halladas en el presente estudio, se ha demostrado que *T. arvicolae* afecta la fecundidad de su hospedador (Deter et al., 2007b, 2008), pudiendo desarrollar un control en el aumento de las poblaciones en diferentes especies de roedores y, por tanto, constituir un potencial mecanismo de control de plagas (Mair et al., 2021). También se ha demostrado que los hospedadores infestados por *H. taeniaeformis* larvae presentan unos niveles más bajos de leptina y más altos del neuropéptido Y en el plasma respecto a los no infestados (Lõhmus et al., 2012). De acuerdo con estos resultados, los parásitos estimulan el apetito de los hospedadores y hacen que estén más hambrientos. Los modelos predicen que los animales hambrientos tienden a presentar conductas más arriesgadas que los saciados (Krebs & Kalcenik, 1991; Lõhmus & Sundström, 2004). De esta manera, los hospedadores intermediarios probablemente deberían ser predados por el hospedador definitivo de este parásito con más facilidad (Lõhmus et al., 2012). *Hydatigera taeniaeformis* larvae podría tener un papel en el control de la población por una disminución en el número de roedores. De acuerdo con nuestros resultados, *T. arvicolae* y *H. taeniaeformis* larvae pueden tener un efecto desestabilizador sobre las poblaciones de topillo lusitánico y, considerando el papel que tienen en el control de las poblaciones de sus hospedadores, ambas especies podrían ser propuestas como potenciales sistemas de control de plagas de la población de *M. lusitanicus* en Asturias y en el conjunto de su área de distribución.

4.1.3. *Talpa occidentalis*

La helmintofauna de *Talpa occidentalis*, tal como se ha comentado en apartados anteriores, ya ha sido descrita con anterioridad en la Península Ibérica. La estructura de la helmintofauna hallada en Asturias es parecida a las descritas en estudios anteriores del topo enano en la Península Ibérica (Casanova, 1993). La mayoría de las especies encontradas son estenoxenas, teniendo a especies del género *Talpa* spp. como hospedadores exclusivos, como es el caso de las especies de *Ityogonimus*, *Capillaria talpae* o *Trichuris feliui*, por ejemplo, hallándose un número inferior de parásitos que tienen a tálpidos y sorícidos como hospedadores, como es el caso de *Liniscus incrasatus* o *Spirura talpae*. En comparación con otros micromamíferos ibéricos, su helmintofauna es pobre, tal como se encontró en estudios anteriores (Casanova, 1993). Este hecho podría deberse al tipo de vida hipogea que presentan, aunque su dieta insectívora, que incluye lombrices de tierra, larvas de insectos, arácnidos, babosas e insectos adultos principalmente, y esta forma de vida subterránea deberían facilitar el acceso a las formas infestantes de los helmintos (Casanova, 1993).

A nivel de composición de especies cabe destacar el hallazgo de una coinfestación de *Iytogonimus lorum* e *I. ocreatus* en un mismo individuo. Estudios anteriores únicamente habían encontrado una de las dos especies. Por ejemplo, Chiriac & Popescu (1973) y Shimalov & Shimalov (2001) encontraron únicamente a *I. lorum* (=*I. talpae*); Ribas & Casanova (2005) encontraron a *Ityogonimus lorum* en *Talpa europaea* en el sur de Europa; Milazzo et al. (2002) analizando la helmintofauna de *Talpa romana* encontraron a *I. ocreatus*. En otros estudios hallaron la ocurrencia de las dos especies, *I. lorum* e *I. ocreatus* pero no su coinfestación (Frankland, 1959; Casanova, 1993; Casanova et al., 1996a). Frankland (1959) y Casanova (1993) hipotetizan la existencia de una aparente interacción negativa entre las dos especies a nivel de cada hospedador, teniendo en cuenta que tanto *T. europaea* como *T. occidentalis* únicamente presentan una de las dos especies de *Ityogonimus.* Este es el primer caso de una coinfestación de *I. lorum* e *I. ocreatus* en *T. occidentalis* y en todo el género *Talpa*.

Otra diferencia en comparación con estudios anteriores es la ausencia del digénido *Omphalotrema flexuosa*, que fue hallada por Casanova (1993) y Ribas et al. (2007) en el topo ibérico. El ciclo de vida de esta especie es desconocido, pero teniendo en cuenta que es un omphalométrido podría tener un pulmonado de agua dulce como primer hospedador intermediario, un artrópodo acuático como segundo hospedador intermediario y un ave o un mamífero como hospedador definitivo (Casanova, 1993). Este tipo de ciclo tan dependiente del ecosistema acuático podría explicar su ausencia en el presente estudio, por la carencia de cursos de agua próximos a las zonas de trampeo.

A nivel de cestodos también destaca la ausencia de *Multitesticulatus filamentosa*. Este cestodo fue hallado en *T. occidentalis* por Alvárez et al. (1991), Casanova (1993) y Ribas et al. (2007). Su ausencia es poco sorprendente, ya que en estudios previos o tampoco fue hallada (Furmaga, 1959; Milazzo et al., 2002) o fue encontrada con prevalencias muy bajas (Baer, 1932; Vaucher & Hunkeler, 1967; Prokopič & Genov, 1974; Prokopič & Grulich, 1976; Casanova, 1993).

En relación con los nematodos destaca la ausencia de *Soboliphyme hirudiniformis*, *Soboliphyme occidentalis*, *Liniscus capillaris*, *Aonchotheca europaea*, *Parastrongyloides winchesi* y la detección por primera vez en *T. occidentalis* de *L. incrasatus* y *T. feliui*. La ausencia de *S. hirudiniformis* podría deberse a que se trataría de una especie poco frecuente y detectada siempre con bajas prevalencias en estudios anteriores (ver Casanova, 1993). Ello también podría explicar la ausencia de la otra especie del género, *S. occidentalis*, que no se ha vuelto a denunciar más, después de la cita de Ribas & Casanova (2004).

Las bajas prevalencias y la riqueza pobre en especies concuerdan con la riqueza media de especies y los índices de de diversidad. Este hecho podría deberse a la vida subterránea que presenta esta especie, tal como se ha comentado anteriormente.

La mayoría de las especies halladas en el presente estudio presentan un ciclo biológico no FES, especies con un ciclo heteroxeno donde el topo ibérico actúa como hospedador definitivo (*I. lorum*, *I. ocreatus*, *L. incrasatus*, *S. talpae, Moniliformis* sp.) o es un hospedador accidental (*Porrocaecum* sp. o

Plagiorhynchus sp.). Únicamente *T. feliui* y *Tricholinstowia* sp. presentan un ciclo tipo FES, en ambos casos el ciclo es monoxeno, pero *T. feliui* es un ageohelminto y *Tricholinstowia* sp. es un geohelminto.

El análisis de la frecuencia de especies permite establecer como especies dominantes a las especies de *Ityogonimus* y *S. talpae*, como codiminantes a *L. incrasatus* y *T. feliui* y como inmigrantes exitosas a *C. talpae* y *Moniliformis* sp. Las especies más prevalentes, *Ityogonimus* spp., *S. talpae* y *L. incrasatus* presentan una distribución agregada; en las primeras el nivel de agregación es muy alto, mientras que en el caso de *L. incrasatus* el nivel de agregación es menor. Tal como se ha comentado en los dos hospedadores anteriores, este nivel de agregación está asociado a la estabilidad de las relaciones hospedador-parásito. Como más alto es el nivel de agregación, más alta es la estabilidad en estas relaciones y, al contrario, valores bajos de agregación se asocian a la desastibilización de estas relaciones (Dobson, 1988; Dobson & Hudson, 1992; Shaw & Dobson, 1995). De acuerdo con los resultados obtenidos, *L. incrasatus* podría ser una posible especie de desestabilización de las poblaciones de *T. occidentalis* en Asturias.

La alta agregación de las especies dominantes podría ser debida a diferentes factores, como heterogeniedades en las poblaciones del hospedador y/o en la presión de parasitación (Wilson et al., 2001). El mecanismo o vía de transmisión del parásito no parecen afectar el nivel de agregación. En cambio, el nivel de agregación refleja la distribución óptima de las especies y los procesos coevolutivos existentes entre los parásitos y sus hospedadores (Morand & Krasnov, 2008). En el caso de *T. occidentalis*, las especies dominantes presentaban un ciclo biológico no FES, requiriendo la ingesta del hospedador intermediario adecuado para su infestación.

En relación con la **edad del hospedador**, este factor no ejerce ningún efecto sobre la diversidad ni la riqueza media de las especies parásitas, aunque sí que se observa una tendencia a disminuir estos factores a medida que aumenta la edad de los hospedadores. Tampoco se observa un efecto de este factor sobre las abundancias de las especies más prevalentes, especies de *Ityogonimus*, *L. incrasatus* y *S. talpae*. Casanova (1993) tampoco encontró

diferencias significativas en su estudio entre las especies halladas y la edad del hospedador.

Teniendo en cuenta el **sexo del hospedador** tampoco se observa un efecto de este sobre la diversidad ni la riqueza media de las especies parásitas, ni sobre las abundancias de las mencionadas especies más prevalentes. No obstante, sí que se observa una tendencia en que los machos presentan valores de parasitación más altos que las hembras para las especies dominantes. Casanova (1993) tampoco encontró diferencias significativas para este factor en su estudio. También observó esta misma tendencia a excepción de *S. talpae* en la localidad de la Riba (Santander) en la que las hembras presentaron valores ligeramente superiores a los machos. Ribas & Casanova (2005) en *Talpa europaea* y Milazzo et al. (2002) en *T. romana* tampoco encontraron diferencias significativas entre machos y hembras. En cambio, en otros estudios sí que se hallaron diferencias significativas entre sexos en *T. europaea* (Prokopič & Grulich, 1976). Estos últimos autores atribuyeron las diferencias a una mayor ingesta de alimento por parte de los machos, facilitando la ingesta de posibles formas infestantes de los helmintos y, por otra parte, a que el territorio de los machos sea más grande que el de las hembras, lo que implica un mayor desplazamiento y una mayor probabilidad de infestación.

La **estación** tampoco ejerce ninguna influencia sobre la diversidad, la riqueza media de especies, ni sobre la abundancia de las especies analizadas. Debe destacarse el bajo número de capturas del topo ibérico durante otoño que puede ser un factor distorsionador de los resultados obtenidos.

Tampoco se observa un efecto del **año de captura** sobre la diversidad, la riqueza media de especies, ni sobre la abundancia de las especies analizadas.

Como en el caso de los hospedadores precedentes, *A. scherman* y *M. lusitanicus*, tampoco se observa una correlación entre las variables climáticas y los índices de diversidad. Sin embargo, en este caso, tal como se ha comentado anteriormente, se podría deber al estilo de vida, casi exclusivamente subterráneo, que presenta el topo ibérico, que lo independiza de las condiciones ambientales exteriores. Sí que se observa una correlación entre la abundancia de *L. incrasatus* y la precipitación media y la acumulada de la estación meteorológica de Gijón. Este nematodo tiene como hospedador definitivo a *T.*

occidentalis y se supone que a lombrices de tierra como hospedadores intermediarios (Roots, 1992). El efecto de la humedad podría tener una influencia sobre la viabilidad de los gusanos de tierra afectando la parasitación del topo ibérico por este parásito.

4.2. CON RELACIÓN AL ESTUDIO ECOTOXICOLÓGICO DEL BINOMIO *Talpa occidentalis* / *Ityogonimus* spp.

La mayoría de los estudios medioambientales realizados en los ecosistemas terrestres corresponden a zonas que se suponen contaminadas o afectadas por una catástrofe ecológica (Torres et al., 2006; Tovar-Sánchez et al., 2012; Al Sayegh Petkovšek et al., 2014). Pocos tratan sobre investigaciones en áreas de alto interés ecológico o económico, que puedan estar sometidas a diversos tipos de bajo estrés químico antropogénico, directo o indirecto, haciéndolas menos adecuadas para la vida silvestre o las actividades humanas (Sures & Reimann, 2003; Rodrigues dos Santos et al., 2006; Torres et al., 2011). En este contexto, la ciencia de la Parasitología ambiental, que utiliza los parásitos como indicadores ambientales de contaminantes, parece útil para la monitorización tanto de la salud ambiental como de los impactos causados por la especie humana (Sures et al., 2017).

El papel de la acumulación de **mercurio** a lo largo de las redes tróficas terrestres es obviado en muchas ocasiones, siendo mucho más abundantes los estudios en ecosistemas acuáticos o marinos que en los terrestres. Hay pocos estudios que analicen los niveles de mercurio en mamíferos de pequeño o mediano tamaño. Las principales vías de entrada de mercurio en los mamíferos terrestres son la inhalación y la ingestión, y esta última está fuertemente influenciada por el tipo de alimentación que presentan. Los topos se alimentan de invertebrados, siendo las lombrices de tierra su fuente principal de alimento (Niethammer & Krapp, 1990). Estos oligoquetos constituyen una parte considerable de la biomasa total de la fauna edáfica y desarrollan un papel muy importante como vía de entrada de los metales pesados en los topos debido a

su desmostrada alta capacidad para acumular estos metales procedentes del suelo (Nahmani et al., 2007). En realidad, las lombrices de tierra representan el principal enlace de los contaminantes en las vías tróficas desde el suelo hasta los depredadores, siendo un serio riesgo por envenenamiento secundario para los depredadores vertebrados debido al fenómeno de la biomagnificación (Ma & Talmage, 2001; Jelaska et al., 2014). Aunque se ha prestado más atención a la capacidad de bioacumulación de los gusanos de tierra sobre otros metales que sobre el mercurio, es sabida su capacidad para acumular este elemento (Rodríguez Álvarez et al., 2014). Se debe tener en cuenta que la captación del mercurio está influenciada por la presencia de materia orgánica y por las diferentes condiciones del suelo (Le Roux et al., 2016).

Los elementos tóxicos disponibles para los micromamíferos pueden tener diferentes orígenes. En el pasado, fungicidas para las semillas e insecticidas orgánicos contenían mercurio en sus moléculas y eran usados con relativa frecuencia. Como consecuencia, aquellos mamíferos que se alimentaban de semillas podían verse expuestos a concentraciones peligrosas de este elemento (Wren, 1986). Bull et al. (1977), en un estudio realizado en Inglaterra, analizaron el contenido de mercurio en muestras de hígado y riñón de *Myodes glareolus* (=*Clethrionomys glareolus*) procedentes de dos áreas diferentes; estudiaron una zona control, donde los resultados obtenidos fueron de 60 y 80 ng/g p.f., respectivamente para cada tejido, y una zona contaminada, donde fueron de 150 y 350 ng/g p.f., respectivamente. En un estudio más reciente, Eira et al. (2005), usando el binomio *Oryctolagus cuniculus* / *Mosgovoyia ctenoides* en Portugal, obtuvieron unas concentraciones de mercurio en el hígado de 40 ng/g p.f., de 80 ng/g p.f. en el riñón, y de 40 ng/g p.f. en los cestodos intestinales. Estos autores concluyeron que las elevadas concentraciones de mercurio halladas a nivel de riñón en los conejos estudiados podrían tener su origen en el uso de fungicidas organomercuriales por parte de una gran instalación productora de flores ubicada en el área de estudio.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican una contaminación por mercurio, ya sea en el área muestreada (suelo, sedimentos, agua) o en las presas de los topos, por los altos niveles de mercurio hallados en el hígado y en el riñón (405 ng/g p.f. y 231 ng/g p.f., respectivamente). Por otro

lado, los factores de bioacumulación obtenidos a partir de los *Ityogonimus* analizados son altos, y permiten confirmar que el binomio *T. occidentalis* / *Ityogonimus* spp. es un buen bioindicador de contaminación por este metal pesado.

Los valores promedio de la concentración de **plomo** en los tejidos de los hospedadores no parasitados fueron de 325 ng/g p.f. y en los hospedadores parasitados por *Ityogonimus* spp. fueron de 150 ng/g p.f. Además, las concentraciones de plomo fueron más elevadas en las muestras de los digénidos con un promedio de 12.373,6 ng/g p.f., lo que implica factores altos de bioacumulación, que fueron de 38,2 para el riñón y de 82,9 para el hígado. Si se comparan estas concentraciones con las obtenidas en las muestras de *O. cuniculus* en Portugal, que fueron de 60 ng/g p.f. en las muestras renales y de 160 ng/g p.f. en las muestras hepáticas (Eira et al., 2005), se aprecia que son comparativamente más altas en las primeras. La ingesta de este elemento tóxico puede estar relacionada con los diferentes tipos de alimentación que presentan las dos especies; los topos se alimentan básicamente de lombrices de tierra, mientras que en los conejos su dieta consiste en diferentes tipos de vegetales. Así, Eira et al. (2005) señalaron que las altas concentraciones de plomo se podrían deber a la caza principalmente de conejo en el área de estudio. La hipótesis que la munición de caza es la principal fuente de contaminación por plomo para la vida silvestre al ingerir los perdigones que contienen este metal ha sido propugnada en diferentes ocasiones (Lewis et al., 2001). Ésta también podría ser la causa que justificara las elevadas concentraciones de plomo en *T. occidentalis* en el presente estudio. Además, debe tenerse en cuenta que la ingesta de gusanos de tierra por parte de los topos en zonas donde los suelos están contaminados por plomo produce bioacumulación, hecho que está bien documentado en la literatura (Li et al., 2010).

En un estudio realizado por Sures et al. (2003b) se evaluó el modelo *Rattus norvegicus* / *Hymenolepis diminuta* como posible bioindicador de contaminación por plomo bajo condiciones naturales. El trabajo lo realizaron en dos zonas contaminadas próximas a la ciudad de El Cairo (Egipto). La concentración detectada en el riñón fue cerca de 200 ng/g p.f. y de menos de 100 ng/g p.f. en las muestras de hígado. A pesar de las evidentes diferencias

entre la dieta de los roedores en grandes áreas urbanas y la de los topos en zonas agrícolas, las concentraciones tisulares en *T. occidentalis* procedentes de zona agrícolas con una baja densidad humana son más altas que las halladas en un micromamífero omnívoro que habita en una gran ciudad. Torres et al. (2006), en un estudio parecido, evaluaron el modelo *Apodemus sylvaticus* / *Skrjabinotaenia lobata*. El estudio lo realizaron en un vertedero cercano a la ciudad de Barcelona (España). Las concentraciones de plomo obtenidas en el riñón y en el hígado fueron de 144,8 ng/g p.f. y 23,1 ng/g p.f., respectivamente, siendo los valores muy inferiores a los hallados en el presente estudio. Estos modelos basados en cestodos de pequeñas dimensiones, como *H. diminuta* o *S. lobata*, en zonas que se suponen contaminadas, se han propuesto como buenas herramientas para la biomonitorizacion de contaminación por plomo (Sures et al., 2003b; Torres et al., 2006). Teniendo en cuenta estos estudios previos en zonas supuestamente más contaminadas que las del presente estudio, el modelo de pequeño mamífero / helminto propuesto parece una mejor herramienta para la biomonitorización de la contaminación por plomo en determinadas áreas, ya que hasta el momento ningún otro modelo analizado ha obtenido factores de bioacumulación tan altos para este elemento.

En general, los niveles de **cadmio** hallados en las muestras de hígado y de riñón de los topos son más altos que los encontrados en *O. cuniculus* por Eira et al. (2005) en Portugal. Se deben considerar los tipos de dieta muy diferentes que presentan topos y conejos, que pueden tener un efecto diferencial sobre las concentraciones en cada hospedador, aunque es difícil de inferir el origen de esta aparente alta contaminación por cadmio en el área de estudio. En cualquier caso, considerando la existencia de pequeños campos agrícolas, los niveles de contaminación detectados en este estudio podrían ser resultado de aplicar fosfatos como fertilizantes, que pueden representar una entrada directa de cadmio en los suelos agrícolas (Sager, 1997; Pan et al., 2010; Riedel et al., 2015; Bigalke et al., 2017).

Los topos del género *Talpa* están ampliamente distribuidos a lo largo del oeste de la región paleártica. Únicamente tres digénidos son parásitos exclusivos de este género: *Combesia macrobursata*, *Ityogonimus lorum* e *I. ocreatus* (Ribas & Casanova, 2006a). Estas dos últimas especies infestan frecuentemente a

Talpa occidentalis, *T. europaea* y *T. romana* en la región paleártica. Es por ello que el modelo propuesto en el presente estudio que incluye a digénidos de *T. occidentalis* podría ser reproducido en Europa usando otros modelos *Talpa* spp. / *Ityogonimus* spp. A pesar de que hay poca información sobre los mecanismos de captación de los elementos traza por parte de los helmintos, en un futuro se debería prestar más atención a otros digénidos parásitos de micromamíferos cuando se biomonitoricen contaminantes ambientales en ecosistemas terrestres.

4.3. CON RELACIÓN AL ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL

El estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus* ha permitido constatar las principales características, así como la organización de los diversos caracteres a lo largo de la célula espermática. Se puede afirmar que presenta dos axonemas del tipo 9+'1', ornamentación externa de la membrana plasmática, microtúbulos corticales paralelos al hipotético eje longitudinal del espermatozoide, una sola mitocondria, núcleo, cuerpos espinosos y gránulos de glucógeno.

4.3.1. Axonemas

Los axonemas presentan una longitud distinta, apareciendo aproximadamente al mismo nivel y desapareciendo uno de ellos anteriormente al otro. Dichos axonemas poseen la estructura 9+'1' típica de los platelmintos Trepaxonemata (Ehlers, 1984, 1985a, 1985b). Así, están formados por 9 dobletes periféricos con sus brazos de dineina y con un elemento central particular que no es un simple microtúbulo. Ésta es la típica estructura descrita por Ehlers que presentan todos los Trepaxonemata, grupo que incluye especies de platelmintos de vida libre y otros de parásitos, los Neodermata. Dentro de los Neodermata, tanto los trematodos (Aspidogastrea y Digenea), como los monogénidos y los cestodos, presentan esta estructura 9+'1', salvo escasas excepciones. En concreto, en los digénidos, sólo los representantes de la familia Schistosomatidae y un Didymozoidae difieren en este patrón. Los

schistosomátidos exhiben el patrón 9+'1' "especial" en los axonemas, caracterizado por la ausencia de brazos de dineina y por la presencia de un elemento central difuso (Jamieson & Justine, 2017). En concreto, existen estudios en siete especies del género *Schistosoma*: *S. bovis*, *S. curassoni*, *S. intercalatum*, *S. haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. margrebowieri* y *S. rodhaini* (Justine et al., 1993; Yang et al., 2003). Por otra parte, en el género *Didymozoon*, Justine & Mattei (1983) describieron el patrón de axonema 9+0, caracterizado por la ausencia de elemento central y por la ausencia de los brazos de dineina exteriores.

En relación con la particular estructura del elemento central de los axonemas 9+'1', cabe destacar los recientes estudios realizados en especies de cestodos Caryophyllidea (*Caryophyllaeides fennica* y *Khawia rossitensis*) por parte de Matoušková et al. (2018, 2019). Dichos investigadores evidenciaron la presencia de dos elementos tubulares helicoidales dentro del elemento central del axonema 9+'1' de estos cestodos gracias al análisis mediante tomografía electrónica.

Finalmente, cabe resaltar que estudios realizados en digénidos como *Echinostoma caproni*, *Echinostoma liei* y *Fasciola hepatica* (Iomini et al., 1995; Justine et al., 1998; Justine 1999; Ndiaye et al., 2003), así como en monogénidos y cestodos (Mollaret & Justine, 1997; Justine et al., 1998; Justine, 1999; Miquel & Marchand, 2001) mostraron la presencia de tubulina tan solo a nivel de los microtúbulos corticales y de los dobletes de los axonemas, siendo negativo el marcaje con diversas tubulinas a nivel del elemento central de los axonemas 9+'1'. En otra especie de platelminto no parásita, el Temnocephalida *Troglocaridicola* sp., los resultados hallados fueron similares (Justine et al., 1998; Justine, 1999). En concreto, en todas estas especies se testaron la α-tubulina, la β-tubulina, la tubulina acetilada y en el caso del cestodo *Mesocestoides litteratus*, Miquel & Marchand (2001), adicionalmente, también testaron la tubulina tirosinada, obteniendo los resultados negativos anteriormente mencionados.

4.3.2. Ornamentación externa de la membrana plasmática

La ornamentación externa de la membrana plasmática está presente en el espermatozoide de numerosos digénidos. Quilichini et al. (2007a, 2011) establecieron tres grupos de digénidos en función de la presencia/ausencia de este carácter, así como de su localización en el espermatozoide cuando está presente. Así, un primer grupo se estableció en base a la ornamentación localizada en la parte proximal del espermatozoide, un segundo grupo con la ornamentación en una posición más distal y, finalmente, un tercer grupo con ausencia de ornamentación. En el caso de *I. ocreatus*, el espermatozoide pertenece al primer grupo, al igual que el otro Ityogoniminae estudiado, *Scaphiostomum palaearcticum* (Ndiaye et al., 2002). En cuanto a las especies de la otra subfamilia de brachyláimidos, los Brachylaiminae, la situación en cuanto a este carácter es distinta. González-Moreno (2002) en *Brachylaima* sp. –descrita con posterioridad como *Brachylaima mascomai* por Gracenea & González-Moreno (2002)– no describió la presencia de ornamentación, mientras que en *Brachylaima aequans* y *Postharmostomum gallinum* los estudios realizados son parciales, no pudiéndose valorar la presencia/ausencia de ornamentación (Ždárská et al., 1991; Chen & Lu, 1994).

Otro aspecto relacionado con la ornamentación externa de la membrana plasmática es su asociación o no con los microtúbulos corticales. En este sentido, cabe decir que en *I. ocreatus* la ornamentación está asociada a los microtúbulos corticales, tal como sucede en el espermatozoide de la mayoría de digénidos (Bakhoum et al., 2017a). Las únicas excepciones, es decir, especies con espermatozoides con ornamentación no asociada a microtúbulos corticales, son el Faustulidae *Pronomymna ventricosa* (Quilichini et al., 2007a) y los Hemiuroidea de las familias Gonocercidae, Hemiuridae, Lecithasteridae, Sclerodistomidae y Sclerodistomoididae (Quilichini et al., 2010b; Ndiaye et al., 2012a, 2013a, 2013b, 2014, 2017; Dione et al., 2016; Bâ et al., 2020, 2022; Kacem et al., 2020).

4.3.3. Microtúbulos corticales

Con relación a los microtúbulos corticales, cabe mencionar que en los espermatozoides de todos los digénidos, estos elementos están dispuestos de forma paralela al hipotético eje longitudinal del espermatozoide. De hecho, en los platelmintos sólo difieren de esta circunstancia los cestodos de los órdenes Tetrabothriidea y Cyclophyllidea, con la excepción de los Mesocestoididae (Miquel et al., 1999, 2007; Levron et al., 2010). Existen tres aspectos relacionados con los microtúbulos corticales de interés en la interpretación de las relaciones filogenéticas entre los Digenea: la presencia/ausencia, la localización de su número máximo y el número de haces en que están agrupados (Bakhoum et al., 2017a).

En referencia a la presencia/ausencia de estos elementos, sólo dos especies carecen de microtúbulos corticales en su gameto masculino. Se trata de los Didymozoidae *Didymocystis wedli* y *Didymozoon* sp. (según los autores probablemente *Didymozoon sphyraenae*) (Justine & Mattei, 1983; Pamplona-Basilio et al., 2001). No obstante, la mayoría de digénidos presentan microtúbulos corticales en sus espermatozoides y, en este caso, en la región principal (mitocondrial y nuclear) pueden estar agrupados en uno o dos haces. En *I. ocreatus*, al igual que en el resto de brachyláimidos, están organizados en dos haces entre los dos axonemas, un haz dorsal y uno ventral (Ždárská et al., 1991; Chen & Lu, 1994; González-Moreno, 2002; Ndiaye et al., 2002). Otros grupos de digénidos, los Faustulidae, Hemiuridae, Lecithasteridae, Sclerodistomidae y Sclerodistomoididae, incluyen especies que presentan en su espermatozoide un único haz de microtúbulos corticales entre los dos axonemas (Quilichini et al., 2007a, 2010b; Ndiaye et al., 2012a, 2013a, 2013b, 2014, 2017; Dione et al., 2016; Bâ et al., 2020, 2022; Kacem et al., 2020).

Atendiendo a la localización del número máximo de microtúbulos corticales, se pueden establecer dos grupos según Bakhoum et al. (2017a). Un primer grupo presenta el máximo número de microtúbulos corticales en la región media del espermatozoide, mientras que un segundo grupo lo presenta en la región anterior. *Ityogonimus ocreatus* se incluye en el segundo grupo, presentando como número máximo unos 45 microtúbulos corticales. Lo mismo

sucede con el otro Ityogoniminae estudiado, *S. palaearcticum*, que presenta unos 69 microtúbulos como valor máximo (Ndiaye et al., 2002). En el caso de los Brachylaiminae, el análisis de las micrografías publicadas por Ždárská et al. (1991) para *B. aequans* y las presentadas en la tesis doctoral de González-Moreno (2002) para *B. mascomai* permiten contar un número máximo de alrededor de 22 y 20 microtúbulos corticales, respectivamente. Dichas secciones también pueden interpretarse como localizadas en la parte anterior del espermatozoide.

4.3.4. Cuerpos espinosos

Los cuerpos espinosos fueron hallados por primera vez y descritos por Miquel et al. (2000) en el Opecoeliidae *Opecoeloides furcatus*, como unas prominencias densas a los electrones que parecían presentar en su interior una estructura vesiculosa. Desde el momento de esta descripción hasta la actualidad se han observado en el espermatozoide de numerosos digénidos (Bakhoum et al., 2017a). Cabe apuntar que en ciertos estudios previos a la descripción de los cuerpos espinosos se aprecian estructuras compatibles con los cuerpos espinosos al observar las micrografías publicadas. Al no describirse en el texto de dichas publicaciones, cabe pensar que estas estructuras fueron probablemente interpretadas como artefactos. Este es el caso del estudio de Justine & Mattei (1982) en *Haematoloechus* sp. (Haematoloechidae), en el que se aprecian estructuras similares en la región ornamentada del espermatozoide (véase la figura 11 publicada por dichos autores). Lo mismo podríamos decir del trabajo de Orido (1988) en *Paragonimus ohirai* (Paragonimidae) (véase las figuras 6 y 7 de este artículo). Cabe añadir que precisamente la zona con ornamentación de la membrana plasmática es el área del espermatozoide donde aparecen los cuerpos espinosos. *Ityogonimus ocreatus* constituye la primera especie de la familia Brachylaimidae en la que se ha observado estas estructuras. Así, en los estudios de *B. aequans*, *B. mascomai*, *P. gallinum* y *S. palaearcticum* no se detectaron cuerpos espinosos (Ždárská et al., 1991; Chen & Lu, 1994; González-Moreno, 2002; Ndiaye et al., 2002).

Estas estructuras no deben ser confundidas con los cuerpos en cresta descritos en la mayoría de los cestodos (Levron et al., 2010), ya que existen diferencias claras entre dichas estructuras. En primer lugar, la distribución a lo largo del espermatozoide; los cuerpos en cresta están presentes en el extremo anterior, mientras que los cuerpos espinosos no. En segundo lugar, su morfología, ya que los cuerpos espinosos parecen contener una estructura vesiculosa. Finalmente, a pesar de mostrar una periodicidad en algunas especies, los cuerpos espinosos son estructuras aisladas, mientras que los cuerpos en cresta son cordones helicoidales que rodean el espermatozoide en su región anterior (Miquel et al., 2006).

4.3.5. Mitocondria

Los espermatozoides de los digénidos pueden presentar una, dos o tres mitocondrias (Bakhoum et al., 2017a). Dichas mitocondrias se formarían por fusión de diversas mitocondrias en las espermátidas durante la espermiogénesis. Tradicionalmente, se había considerado que las diversas mitocondrias que acompañan al núcleo en su migración a lo largo de las espermátidas durante la espermiogénesis originaban, tras su fusión, una larga mitocondria en el espermatozoide (Burton, 1972).

No obstante, en las últimas décadas, diversos investigadores han considerado la presencia de más de una mitocondria para poder llevar a cabo interpretaciones coherentes de las secciones observadas en los estudios ultraestructurales del espermatozoide en diversos digénidos. Así, hoy en día, existen especies en las que se ha descrito una, dos e incluso tres mitocondrias en el espermatozoide (Bakhoum et al., 2017a).

En *I. ocreatus* la única mitocondria presente es filiforme, al igual que en las otras especies de brachyláimidos estudiados (Ždárská et al., 1991; Chen & Lu, 1994; González-Moreno, 2002; Ndiaye et al., 2002). En otras especies de digénidos se ha descrito mitocondrias moniliformes. Éste es el caso del acanthocólpido *Stephanostomoides tenuis* (Bakhoum et al., 2015), del sclerodistomóidido *Sclerodistomoides pacificus* (Bâ et al., 2020), de los aephnidiogénidos del género *Holorchis* (Bâ et al., 2011; Kacem & Miquel, 2020a),

de los lepocreádiidos *Opechona bacillaris* y *Prodistomum polonii* (Ndiaye et al., 2015; Kacem & Miquel, 2020b), de los opecoélidos *Allopodocotyle pedicellata* y *Macvicaria obovata* (Bakhoum et al., 2017b; Kacem et al., 2017a), de los cryptogonímidos *Aphallus tubarium* y *Timoniella imbutiformis* (Foata et al., 2012; Kacem et al., 2017b) o del plagiórchiido *Enodiotrema reductum* (Ndiaye et al., 2012b).

Recientemente se ha descrito otro tipo de mitocondria con el estremo posterior en forma de U en el opecoélido *Allopodocotyle tunisiensis* (Kacem et al., 2019b).

4.3.6. Extremidad posterior del espermatozoide

Quilichini et al. (2010a) establecieron tres tipos de extremidad posterior en los digénidos atendiendo a la transición de caracteres hacia el extremo posterior del gameto masculino. El tipo 1, o tipo opecoelideo, se caracteriza por la secuencia "extremo posterior del segundo axonema – extremo posterior del núcleo – microtúbulos corticales". El tipo 2, o tipo fasciolideo, se caracteriza por la transición "microtúbulos corticales – extremo posterior del segundo axonema – extremo posterior del núcleo". Finalmente, el tipo 3, o tipo cryptogonimideo, sigue la secuencia "microtúbulos corticales – extremo posterior de núcleo – extremo posterior del segundo axonema".

La extremidad posterior del espermatozoide de *I. ocreatus* se caracteriza por la siguiente sucesión en la desaparición de las principales estructuras hacia el extremo posterior del espermatozoide: "primer axonema – mitocondria – microtúbulos corticales – núcleo – segundo axonema". Esta secuencia difiere de la descrita para el espermatozoide de *S. palaearcticum*: "mitocondria – primer axonema – núcleo – microtúbulos corticales y/o segundo axonema" (Ndiaye et al., 2002).

No obstante, cabe apuntar que, debido a diversas inconsistencias en algunas especies, autores como Bakhoum et al. (2017a) manifestaron que la consideración del último carácter o carácter terminal del espermatozoide podría ser más útil en el análisis comparado de las diversas familias de digénidos. Así, el carácter terminal en el espermatozoide de *I. ocreatus* es la extremidad

posterior del segundo axonema, mientras que en *S. palaearcticum* no está claro si se trata del segundo axonema o los microtúbulos corticales (Ndiaye et al., 2002). En relación con los Brachylaiminae, tanto *B. mascomai* como *P. gallinum* parecen presentar el segundo axonema como carácter terminal del espermatozoide (Chen and Lu, 1994; González-Moreno, 2002).

4.3.7. Modelo de espermatozoide

Bakhoum et al (2017a), en base al análisis de las numerosas especies de digénidos de las que existen estudios ultraestructurales del espermatozoide, establecieron cinco posibles modelos de espermatozoides para los Digenea. Estos modelos se establecieron en base a los siguientes caracteres:

a) el tipo de axonema (9+'1', 9+'1' especial o 9+0),
b) la presencia/ausencia de expansión lateral,
c) la presencia/ausencia de ornamentación externa de la membrana plasmática y su localización,
d) la presencia/ausencia de la asociación "ornamentación externa–microtúbulos corticales",
e) el número de campos de microtúbulos corticales paralelos,
f) la localización del número máximo de microtúbulos corticales y
g) el número de mitocondrias.

Según la clasificación aportada por Bakhoum et al. (2017a), los representantes de la superfamilia Brachylaimoidea, conjuntamente con los Echinostomatoidea, Microscaphidioidea, Paramphistomoidea y Pronocephaloidea, ostentarían el tipo V de espermatozoide caracterizado por presentar dos axonemas 9+'1', expansión lateral, ornamentación externa asociada con microtúbulos corticales y localizada en la parte anterior de la región proximal del gameto masculino, dos campos de microtúbulos corticales, el número máximo de microtúbulos corticales en la parte anterior del espermatozoide y, generalmente, una mitocondria. Cabe decir, no obstante que en *S. palaearcticum* la expansión lateral es muy reducida (Ndiaye et al., 2002). En el presente estudio, se ha constatado la ausencia de expansión lateral en el

espermatozoide de *I. ocreatus.* Por su parte, el espermatozoide de *B. mascomai* carece de ornamentación externa (González-Moreno, 2002).

CAPÍTULO QUINTO

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

En este capítulo se procede a exponer las principales conclusiones que se extraen a partir de los resultados obtenidos y en base a los objetivos marcados.

A nivel de la **helmintofauna de *Arvicola scherman*** las conclusiones obtenidas son:

1. La comunidad helmintiana de *A. scherman* está formada por seis especies: *Hydatigera taeniaeformis* larvae*, Aonchotheca wioletti, Eucoleus bacillatus, Trichuris arvicolae, Carolinensis minutus* y *Syphacia nigeriana*. El hallazgo de *Carolinensis minutus* constituye la primera cita en la península Ibérica en este hospedador.
2. Las especies dominantes de la comunidad helmintiana de *A. scherman* en Asturias son *C. minutus* y *S. nigeriana*, la codominante es *T. arvicolae*, la inmigrante con éxito es *E. bacillatus* y la inmigrante sin éxito *A. wioletti*. Todas las especies presentan una distribución binomial negativa.
3. Los valores de las prevalencias, las abundancias, la riqueza de las especies y los índices de diversidad obtenidos, en general, son bajos. La riqueza de especies y los índices de diversidad están influenciados por la estación y el año de captura, presentando primavera y el año 2012 los valores más altos.
4. La edad del hospedador ejerce influencia sobre las prevalencias y abundancias de *H. taeniaeformis* larvae y *C. minutus*, y sobre, las abundancias de *T. arvicolae* y *S. nigeriana*. Además, en el caso de *S. nigeriana* se detecta una influencia de la estación y el año de captura sobre sus abundancias. El sexo del hospedador no parece ejercer ningún efecto sobre las especies analizadas.

En relación con la **helmintofauna de *Microtus lusitanicus*** las principales conclusiones halladas son:

1. La comunidad helmintiana de *M. lusitanicus* está formada por ocho especies: una larva cisticercoide no identificada, *H. taeniaeformis* larvae, *Paranoplocephala omphalodes*, *Kontrimavichusia asymmetrica*, *T. arvicolae*, *C. minutus*, *Heligmosomum costellatum* y *S. nigeriana*. De todas ellas, *K. asymmetrica* y *C. minutus* son nuevas citas para este hospedador a nivel de la península ibérica.
2. *Carolinensis minutus* y *S. nigeriana* son las especies dominantes, *H. costellatum* la codominante, *T. arvicolae* la inmigrante con éxito y *P omphalodes* y *K. asymmetrica* las inmigrantes sin éxito. En general, todas las especies halladas presentan una distribución binomial negativa.
3. En general los valores de las prevalencias, las abundancias, la riqueza media de especies y los índices de diversidad son bajos. La edad del hospedador ejerce una influencia sobre la riqueza de especies y los índices de diversidad, aumentando estos valores con la edad. En el caso de la estación de captura también se detecta un efecto de ésta sobre los índices de diversidad, siendo máximos en primavera y otoño, y sobre la riqueza de especies, siendo primavera la estación con los mayores valores.
4. La edad del hospedador tiene influencia sobre las prevalencias y abundancias de *H. taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y de *C. minutus*. La estación de captura influye sobre las prevalencias y abundancias de *C. minutus* y *S. nigeriana*, y sobre las prevalencias de *H. costellatum*. El año de captura ejerce influencia sobre las prevalencias y abundancias de *C. minutus* y *S. nigeriana.* El sexo del hospedador no parece ejercer ningún efecto sobre los factores analizados

Las principales conclusiones extraídas en relación con la **helmintofauna de *Talpa occidentalis*** son:

1. Se han hallado un total de diez especies de helmintos parasitando a *T. occidentalis* procedentes de Asturias: *Ityogonimus lorum*, *Ityogonimus*

ocreatus, *Capillaria talpae*, *Liniscus incrasatus*, *Trichuris feliui*, *Tricholinstowia* sp., *Spirura talpae*, *Porrocaecum* sp. larvae, *Moniliformis* sp. y *Plagiorhynchus* (*Prostorhynchus*) sp. Se detectan coinfestaciones de *Ityogonimus lorum* e *Ityogonimus ocreatus* en un mismo hospedador por primera vez a nivel mundial.

2. La estructura de la comunidad helmintiana presenta como especies dominantes a *Ityogonimus* spp. y *S. talpae*, como dominantes a *L. incrasatus* y *T. feliui*, y como especies inmigrantes con éxito a *C. talpae*, *Tricholinstowia* sp. y *Moniliformis* sp.

3. Las prevalencias son bajas, así como los valores de riqueza media de especies y los índices de diversidad.

4. Los factores analizados, edad y sexo del hospedador, estación y año de captura, no ejercen ninguna influencia sobre las prevalencias y las abundancias de las especies analizadas: *Ityogonimus* spp., *L. incrasatus* y *C. talpae*.

En relación con el estudio **ecotoxicológico** del binomio *Talpa occidentalis* / *Ityogonimus* spp. las principales conclusiones son:

1. Este binomio es un buen bioindicador para el mercurio. No se detectan diferencias significativas en las concentraciones de este metal pesado entre los hospedadores infestados y los no infestados por *Ityogonimus* spp., pero sí se detectan diferencias entre los hospedadores infestados y este parásito.

2. También es un buen indicador de contaminación por plomo. No hay diferencias en las concentraciones de plomo entre los hospedadores infestados y los no infestados, pero sí entre los hospedadores infestados y los digénidos.

3. En cambio, no es un buen indicador para el cadmio. No se detectan diferencias en las concentraciones de este contaminante entre los hospedadores no infestados y los infestados, ni entre estos últimos y los digénidos.

Con relación al estudio **ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*** las principales conclusiones son:

1. El espermatozoide de *I. ocreatus* presenta dos axonemas, ornamentación externa de la membrana plasmática, cuerpos espinosos, microtúbulos corticales, una sola mitocondria, núcleo y gránulos de glucógeno.
2. Los axonemas, de longitud desigual, son de tipo 9+'1' de los Trepaxonemata. Los microtúbulos se distribuyen en dos haces, con un número máximo de 45 en la región anterior del espermatozoide. En esta misma región se observa la ornamentación externa y la presencia de cuerpos espinosos, estructura que se detecta por primera vez en los Brachylaimidae.
3. La secuencia de desorganización de estructuras hacia el extremo posterior del espermatozoide es la siguiente: primer axonema, mitocondria, microtúbulos corticales, núcleo y segundo axonema.
4. El modelo de espermatozoide se corresponde al tipo V de Bakhoum et al., aunque carece de expansión citoplasmática lateral. Este mismo modelo se puede considerar para la familia Brachylaimidae, a pesar del escaso número de especies estudiadas.

BIBLIOGRAFÍA

A

Abad, D., Chávez, A., Pinedo, R., Tantaleán, M. & González-Viera, O. (2016). Helmintofauna gastrointestinal de importancia zoonótica y sus aspectos patológicos en roedores (*Rattus* spp.) en tres medioambientes. *Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú*, **27**: 736-750. https://doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12568

Abdel-Gaber, R., Abdel-Ghaffar, F., Bashtar, A.-R., Morsy, K. & Saleh, R. (2016). Interactions between the intestinal cestode *Polyonchobothrium clarias* (Pseudophyllidea: Ptychobothriidae) from the African sharptooth catfish *Clarias gariepinus* and heavy metal pollutants in an aquatic environment in Egypt. *Journal of Helminthology*, **90**: 742-752. https://doi.org/10.1017/S0022149X15001054

Abdel-Gaber, R., Abdel-Ghaffar, F., Abdallah Shazly, M., Morsy, K., Al Quraishy, S., Mohamed, S. & Mehlhorn, H. (2017). Morphological re-description of *Electrotaenia malapteruri* (Cestoda: Proteocephalidae) and *Dujardinnascaris malapteruri* (Nematoda: Heterocheilidae) infecting the Electric catfish *Malapterurus electricus* and heavy metal accumulation in host and parasites in relation to water and sediment analysis in Lake Manzala, North Delta, Egypt. *Acta Parasitologica*, **62**: 319-335. https://doi.org/10.1515/ap-2017-0040

Abdel-Ghaffar, F., Abdel-Gaber, R., Bashtar, A.-R., Morsy, K., Mehlorn, H., Al Quraishy, S. & Saleh, R. (2015). *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda, Anisakidae) with a new host record from the common sole *Solea solea* (Soleidae) and its role as a biological indicator of pollution. *Parasitology Research*, **114**: 513-522. https://doi.org/10.1007/s00436-014-4213-1

Abe, N., Nonaka, N., Iwaki, T., Ganzorig, S., Alexander, J.A., Oku, Y. & Kamiya, M. (1997). Description of *Moniliformis* worms from gray red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*, in Hokkaido Japan. *Parasitology International*, **46**: 41-44. https://doi.org/10.1016/S1383-5769(97)00007-X

Abu-Madi, M.A., Behnke, J.M., Lewis, J.W. & Gilbert, F.S. (2000). Seasonal and site variation in the component community structure of intestinal helminths in *Apodemus sylvaticus* from three contrasting habitats in south-east England. *Journal of Helminthology*, **74**: 7-15. https://doi.org/10.1017/S0022149X00000020

Agapova, A.I. (1962). The helminths of squirrels in Kazakhstan parasites of the wild animals of Kazakhstan. *Trudy Instituta Zoologii. Akademia Nauk Kazakhskoi SSR*, **16**: 81-83

Airoldi, J.-P. (1976). Le terrier de la forme fouisseuse du campagnol terrestre*, Arvicola terrestris scherman* Shaw (Mammalia, Rodentia). *Zeitschrift für Säugetierkunde,* **41:** 23-42

Airoldi, J.-P. & de Werra, D. (1993). The burrow system of the fossorial form of the water vole (*Arvicola terrestris scherman* Shaw.) (Mammalia, Rodentia): an approach using graph theoretical methods and simulation models. *Mammalia,* **57**: 423-433. https://doi.org/10.1515/mamm.1993.57.3.423

Airoldi, J.-P., Altrocchi, R. & Meylan, A. (1976). Le comportement fouisseur du campagnol terrestre, *Arvicola terrestris scherman* Shaw (Mammalia, Rodentia). *Revue suisse de Zoologie,* **83**: 283-286

Akinsanya, B. & Kuton, M.P. (2016). Bioaccumulation of heavy metals and parasitic fauna in *Synodontis clarias* (Linnaeus, 1758) and *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacepede, 1803) from Lekki Lagoon, Lagos, Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Diseases*, **6**: 615-621. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61096-4

Al-Quraishy, S., Gewik, M.M. & Abdel-Baki, A.-A.S. (2014). The intestinal cestode *Hymenolepis diminuta* as a lead sink for its rat host in the industrial areas of Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **21**: 387-390. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.09.010

Al-Quraishy, S., Abdel-Gaber, R., Alajmi, R., Dkhil, M.A., Al Jawer, M. & Morsy, K. (2019). Morphological and molecular appraisal of cyclophyllidean cestode parasite *Raillietina saudiae* sp. nov. infecting the domestic pigeon *Columba livia domestica* and its role as a bio-indicator for environmental quality. *Parasitology International*, **71**: 59-72. https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.03.002

Al Sayegh Petovšek, S., Kopušar, N. & Kryštufek, B. (2014). Small mammals as biomonitors of metal pollution: a case study in Slovenia. *Environmental Monitoring and Assessment*, **186**: 4261-4274. https://doi.org/10.1007/s10661-014-3696-7

Albon, S.D., Stein, A., Irvine, R.J., Langvatn, R., Ropstad, E. & Halverso, O. (2002). The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, **269**: 1625-1632. https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2064

Aleix-Mata, G., Gutiérrez, J., Ruiz-Ruano, F.J., Lorite, P., Marchal, J.A. & Sánchez, A. (2020). The complete mitochondrial genome of *Talpa aquitania* (Talpidae: Insectivora), a mole species endemic to northern Spain and Southern France. *Molecular Biology Reports,* **47**: 2397-2403. https://doi.org/10.1007/s11033-020-05296-8

Álvarez, M.F., Nuñez, A., Bos, J., Quintero, P., Tojo J. & Sanmartin, M.L. (1991). Datos sobre la helmintofauna de varias especies de insectívoros (Soricidae, Erinaceidae, Talpidae) en Galicia. *VII Congreso Nacional y I International Congress of Southwestern European Associations of Parasitology*, Valencia (España). 50 p

Ameberg, P., Skorping, A., Grenfell, B. & Read, A.F. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, **265**: 1283-1289. https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0431

Amin, O.M. (2013). Classification of the Acanthocephala. *Folia Parasitologica*, **60**: 273-305. https://doi.org/10.14411/fp.2013.031

Amin, O.M. & Pitts, R.M. (1996). *Moniliformis clarki* (Acanthocephala: Moniliformidae) from the pocket Gopher, *Geomys missouriensis*, in Missouri. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **63**: 144-145

Amin, O.M., Canaris, A.G. & Kinsella, J.M. (1999). A taxonomic reconsideration of the Genus *Plagiorhynchus s. lat.* (Acanthocephala: Plagiorhynchidae), with descriptions South African *Plagiorhynchus* (*Prosthorhynchus*) *cylindraceus* from Shore birds and *P.* (*P.*) *malayensis*, and a key to the species of the subgenus *Prosthorhynchus*. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **66**: 123-132

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Halajian, A., el-Naggar, A. & Tavakol, S. (2014). Description of *Moniliformis kalahariensis* (Acanthocephala: Moniliformidae) from the South african hedgehog, *Atelerix frontalis* (Erinaceidae) in South Africa. *Comparative Parasitology*, **81**: 33-43. http://dx.doi.org/10.1654/4664.1

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Mahommed, O. & Evans, R.P. (2016). Morphological and molecular descriptions of *Moniliformis saudi* sp. n. (Acanthocephala: Moniliformidae) from the desert hedgehog, *Paraechinus aethiopicus* (Ehrenberg) in Saudi Arabia, with a key to species and notes on histopathology. *Folia Parasitologica*, **63**: 014. https://doi.org/10.14411/fp.2016.014

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Sharifdini, M. & Albayati, N.Y. (2019). *Moniliformis cryptosaudi* n. sp. (Acanthocephala: Monilformidae) from the long-eared hedgehog *Hemiechinus auritus* (Gmelin) (Erinaceidae) in Iraq; a case of incipient cryptic speciation related to *M. saudi* in Saudi Arabia. *Acta Parasitologica*, **64**: 195-204. https://doi.org/10.2478/s11686-018-00021-9

Amini, Z., Pazooki, J., Abtahi, B. & Shokri, M. (2013). Bioaccumulation of Zn and Cu, in *Chasar bathybius* (Gobiidae) tissue and its nematode parasite *Dichelyne minutus*, southeast of the Caspian Sea, Iran. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, **42**: 196-200.

Anderson, R.C. (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. 2a edición. CABI Publishing, Wallingford (UK). 650 p

Anderson, R.C., Chabaud, A.G. & Willmott (2009). *Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume*. CAB International, Wallingford (UK). 463 p

Archer, C.E., Appleton, C.C., Mukaratirwa, S., Lamb, J. & Schoeman, M.C. (2017). Endo-parasites of public-health importance recovered from rodents in the Durban metropolitan area, South Africa. *Southern African Journal of Infectious Diseases*, **32**: a55. https://doi.org/10.4102/sajid.v32i2.55

Asakawa, M. (2005). Perspectives of host-parasite relationships between rodents and nematodes in Japan. *Mammal Study*, **30**: S95-S99. https://doi.org/10.3106/1348-6160(2005)30[S95:POHRBR]2.0.CO;2

Asakawa, M. & Tenora, F. (1996). A checklist of epidemiology of nematode parasites of the genus *Apodemus* (Murinae: Rodentia) throughout the world excluding Japan. *Journal of Rakuno Gakuen University*, **20**: 181-213

Asakawa, M., Yamaguchi, S., Fujino, R., Ohbayashi, M. & Hasegawa, H. (1991). Study on the helminth fauna of the Japanese wood and field mice *Apodemus* spp. on the Tsushima and Iki Islands. *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan*, **46**: 59-68

Asakawa, M., Tenora, F. & Borkovcová, M. (2004). Notes to the Nematoda of the genus *Heligmosomum* Railliet et Henry, 1909 (Nematoda, Heligmosomidae) parasitizing Rodentia in Japan. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, **52**: 23-26. https://doi.org/10.11118/actaun200452020023

Aslanova, E.K. & Fataliyev, G.H. (2022). Epidemiological and epizoological characteristics of rodent (Mammalia: Rodentia) in Lankaran natural region of Azerbaijan Republic. *Amurian Zoological Journal*, **14**: 168-174. https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2022-14-1-168-174

Azmat, R., Fayyaz, S., Kazi, N., Mahmood, S.J. & Uddin, F. (2008). Natural Bioremediation of heavy metals through nematode parasites of fish. *Biotechnology*, **7**: 139-143.

B

Bâ, A., Bakhoum, A.J.S., Ndiaye, P.I., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2020). Spermatological characteristics of *Sclerodistomoides pacificus* (Digenea, Sclerodistomoididae) a parasite of the flying fish *Cheilopogon pinnatibarbatus* (Teleostei, Exocoetidae). *Tissue and Cell*, **62**: 101314. https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.101314

Bâ, A., Bakhoum, A.J.S., Ndiaye, P.I., Bray, R.A., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2022). New spermatological characteristics in the Hemiuroidea inferred from the ultrastructure of the spermatozoon of *Gonocerca phycidis* a stomach parasite of *Gephyroberyx darwinii* (Teleostei: Trachichthyidae) off the Senegal coast. *Zoomorphology*, **141**: 223-231. https://doi.org/10.1007/s00435-022-00569-1

Bâ, C.T. & Marchand, B. (1995). Spermiogenesis, spermatozoa and phyletic affinities in the Cestoda. En: Jamieson, B.G.M., Ausió, J. & Justine, J.-L. (Eds.), *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Mémoires du Muséum National d´Histoire Naturelle,* **166**: 87-95

Bâ, C.T., Ndiaye, P.I., Dione, A., Quilichini, Y. & Marchand, B. (2011). Ultrastructure of the spermatozoon of *Holorchis micracanthum* (Digenea: Lepocreadiidae), an intestinal parasite of *Plectorhinchus mediterraneus* (Pisces, Teleostei) in Senegal. *Parasitology Research*, **109**: 1099-1106. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2352-1

Baer, J.G. (1932). Contribution à la faune helmintologique de Suisse (Deuxième part). *Revue suisse de Zoologie*, **39**: 1-56

Bajer, A., Behnke, J.M., Pawelczyk, A., Kuliś, K., Sereda, M.J. & Siński, E. (2005). Medium-term temporal stability of the helminth component community in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology*, **130**: 213-228. https://doi.org/10.1017/s0031182004006389

Bakhoum, A.J.S., Quilichini, Y., Justine, J.-L., Bray, R.A., Bâ, C.T. & Marchand, B. (2015). Ultrastructural study of sperm cells in Acanthocolpidae: the case of *Stephanostomum murielae* and *Stephanostomoides tenuis* (Digenea). *PeerJ*, **3**: e744. https://doi.org/10.7717/peerj.744

Bakhoum, A.J.S., Miquel, J., Ndiaye, P.I., Justine, J.-L., Falchi, A., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2017a). Advances in spermatological characters in the Digenea: review and proposal of spermatozoa models and their phylogenetic importance. *Advances in Parasitology,* **98**: 111-165. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.04.001

Bakhoum, A.J.S., Kacem, H., Neifar, L. & Miquel, J. (2017b). The Opecoelidae sperm model and its contribution to phylogeny: Spermatozoon ultrastructural particularities of *Allopodocotyle pedicellata* (Plagioporinae, Digenea, Platyhelminthes). *Zoologischer Anzeiger*, **266**: 28-34. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2016.10.006

Bannikova, A.A., Zemlemerova, E.D., Colangelo, P., Sõzen, M., Sevindik, M., Kidov, A.A., Dzuev, R.I., Kryštufek, B. & Lebedev, V.S. (2015). An underground burst of diversity – a new look at the phylogeny and taxonomy of the genus *Talpa* Linnaeus, 1758 (Mammalia: Talpidae) as revealed by nuclear and mitochondrial genes. *Zoological Journal of the Linnean Society,* **175**: 930-948. https://doi.org/10.1111/zoj.12298

Barrionuevo, F.J., Zurita, F., Burgos, M. & Jiménez, R. (2004). Developmental stages and growth rate of the mole *Talpa occidentalis* (Insectivora, Mammalia). *Journal of Mammalogy,* **85**: 120-125. https://doi.org/10.1644/BPR-010

Baruš, V., Tenora, F. & Kráčmar, S. (2000). Heavy metal (Pb, Cd) concentrations in adult tapeworms (Cestoda) parasitizing birds (Aves). *Helminthologia*, **37**: 131-136

Baruš, V., Tenora, F., Kráčmar, S. & Prokeš, M. (2001). Cadmium and lead concentrations in *Contracaecum rudolphii* (Nematoda) and its host, the cormorant *Phalacrocorax carbo* (Aves). *Folia Parasitologica*, **48**: 77-78. https://doi.org/10.14411/fp.2001.012

Baruš, V., Jarkovský, J. & Prokeš, M. (2007). *Philometra ovata* (Nematoda: Philometroidea): a potential sentinel species of heavy metal accumulation. *Parasitology Research*, **100**: 929-933. https://doi.org/10.1007/s00436-006-0384-8

Baruš, V., Šimková, A., Prokeš, M., Peňáz, M. & Vetešnik, L. (2012). Heavy metals in two host-parasite systems: tapeworm vs. fish. *Acta Veterinaria Brno,* **81**: 313-317. https://doi.org/10.2754/avb201281030313

Bas, S., Guitián, J., Sánchez, J. & Castro, A. (1978). *Contribución al conocimiento de las comunidades de vertebrados terrestres de la Sierra de Caurel (Lugo)*. Informe inédito. Facultad de Biología, Universidad de Santiago de Compostela.

Bastos-Silveira, C., Santos, S.M., Monarca, R., Mathias, M.L. & Heckel, G. (2012). Deep mitochondrial introgression and hybridization among ecologically divergent vole species. *Molecular Ecology,* **21**: 5309-5323. https://doi.org/10.1111/mec.12018

Baylis, H.A. (1928). On a collection of nematodes from Nigerian mammals (chiefly rodents). *Parasitology*, **20**: 280-304. https://doi.org/10.1017/S0031182000011707

Behnke, J.M., Barnard, C., Hurst, J.L., McGregor, P.K., Gilbert, F. & Lewis, J.W. (1993). The prevalence and intensity of infection with helminth parasites in *Mus spretus* from the Setubal Peninsula of Portugal. *Journal of Helminthology*, **67**: 115-122 https://doi.org/10.1017/s0022149x00012992

Behnke, J.M., Lewis, J.W., Mohd Zain, S.N. & Gilbert, F.S. (1999). Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in Southern England: Interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *Journal of Helminthology*, **73**: 31-44. https://doi.org/10.1017/S0022149X99000049

Behnke, J.M., Bajer, A., Harris, P.D., Newington, L., Pidgeon, E., Rowlands, G., Sheriff, C., Kuliś-Malkowska, K., Siński, E., Gilbert, F.S. & Barnard, C.J. (2008). Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology*, **135**: 985-997. https://doi.org/10.1017/S0031182008004393

Behnke, J.M., Stewart, A., Smales, L., Cooper, G., Lowe, A., Kinsella, J.M., Bajer, A., Dwużnik-Szarek, D., Herman, J., Fenn, J., Catalano, S., Diagne, C.A. & Webster, J.P. (2021). Parasitic nematodes of the genus *Syphacia* Seurat, 1916 infecting Cricetidae in the British Isles: the enigmatic status of *Syphacia nigeriana*. *Parasitology*, **149**: 76-94. https://doi.org/10.1017/S0031182021001578

A

Abad, D., Chávez, A., Pinedo, R., Tantaleán, M. & González-Viera, O. (2016). Helmintofauna gastrointestinal de importancia zoonótica y sus aspectos patológicos en roedores (*Rattus* spp.) en tres medioambientes. *Revista de Investigaciones Veterinarias de Perú*, **27**: 736-750. https://doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12568

Abdel-Gaber, R., Abdel-Ghaffar, F., Bashtar, A.-R., Morsy, K. & Saleh, R. (2016). Interactions between the intestinal cestode *Polyonchobothrium clarias* (Pseudophyllidea: Ptychobothriidae) from the African sharptooth catfish *Clarias gariepinus* and heavy metal pollutants in an aquatic environment in Egypt. *Journal of Helminthology*, **90**: 742-752. https://doi.org/10.1017/S0022149X15001054

Abdel-Gaber, R., Abdel-Ghaffar, F., Abdallah Shazly, M., Morsy, K., Al Quraishy, S., Mohamed, S. & Mehlhorn, H. (2017). Morphological re-description of *Electrotaenia malapteruri* (Cestoda: Proteocephalidae) and *Dujardinnascaris malapteruri* (Nematoda: Heterocheilidae) infecting the Electric catfish *Malapterurus electricus* and heavy metal accumulation in host and parasites in relation to water and sediment analysis in Lake Manzala, North Delta, Egypt. *Acta Parasitologica*, **62**: 319-335. https://doi.org/10.1515/ap-2017-0040

Abdel-Ghaffar, F., Abdel-Gaber, R., Bashtar, A.-R., Morsy, K., Mehlorn, H., Al Quraishy, S. & Saleh, R. (2015). *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda, Anisakidae) with a new host record from the common sole *Solea solea* (Soleidae) and its role as a biological indicator of pollution. *Parasitology Research*, **114**: 513-522. https://doi.org/10.1007/s00436-014-4213-1

Abe, N., Nonaka, N., Iwaki, T., Ganzorig, S., Alexander, J.A., Oku, Y. & Kamiya, M. (1997). Description of *Moniliformis* worms from gray red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus bedfordiae*, in Hokkaido Japan. *Parasitology International*, **46**: 41-44. https://doi.org/10.1016/S1383-5769(97)00007-X

Abu-Madi, M.A., Behnke, J.M., Lewis, J.W. & Gilbert, F.S. (2000). Seasonal and site variation in the component community structure of intestinal helminths in *Apodemus sylvaticus* from three contrasting habitats in south-east England. *Journal of Helminthology*, **74**: 7-15. https://doi.org/10.1017/S0022149X00000020

Agapova, A.I. (1962). The helminths of squirrels in Kazakhstan parasites of the wild animals of Kazakhstan. *Trudy Instituta Zoologii. Akademia Nauk Kazakhskoi SSR*, **16**: 81-83

Airoldi, J.-P. (1976). Le terrier de la forme fouisseuse du campagnol terrestre*, Arvicola terrestris scherman* Shaw (Mammalia, Rodentia). *Zeitschrift für Säugetierkunde,* **41:** 23-42

Airoldi, J.-P. & de Werra, D. (1993). The burrow system of the fossorial form of the water vole (*Arvicola terrestris scherman* Shaw.) (Mammalia, Rodentia): an approach using graph theoretical methods and simulation models. *Mammalia,* **57**: 423-433. https://doi.org/10.1515/mamm.1993.57.3.423

Airoldi, J.-P., Altrocchi, R. & Meylan, A. (1976). Le comportement fouisseur du campagnol terrestre, *Arvicola terrestris scherman* Shaw (Mammalia, Rodentia). *Revue suisse de Zoologie,* **83**: 283-286

Akinsanya, B. & Kuton, M.P. (2016). Bioaccumulation of heavy metals and parasitic fauna in *Synodontis clarias* (Linnaeus, 1758) and *Chrysichthys nigrodigitatus* (Lacepede, 1803) from Lekki Lagoon, Lagos, Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Diseases*, **6**: 615-621. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61096-4

Al-Quraishy, S., Gewik, M.M. & Abdel-Baki, A.-A.S. (2014). The intestinal cestode *Hymenolepis diminuta* as a lead sink for its rat host in the industrial areas of Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **21**: 387-390. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.09.010

Al-Quraishy, S., Abdel-Gaber, R., Alajmi, R., Dkhil, M.A., Al Jawer, M. & Morsy, K. (2019). Morphological and molecular appraisal of cyclophyllidean cestode parasite *Raillietina saudiae* sp. nov. infecting the domestic pigeon *Columba livia domestica* and its role as a bio-indicator for environmental quality. *Parasitology International*, **71**: 59-72. https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.03.002

Al Sayegh Petovšek, S., Kopušar, N. & Kryštufek, B. (2014). Small mammals as biomonitors of metal pollution: a case study in Slovenia. *Environmental Monitoring and Assessment*, **186**: 4261-4274. https://doi.org/10.1007/s10661-014-3696-7

Albon, S.D., Stein, A., Irvine, R.J., Langvatn, R., Ropstad, E. & Halverso, O. (2002). The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, **269**: 1625-1632. https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2064

Aleix-Mata, G., Gutiérrez, J., Ruiz-Ruano, F.J., Lorite, P., Marchal, J.A. & Sánchez, A. (2020). The complete mitochondrial genome of *Talpa aquitania* (Talpidae: Insectivora), a mole species endemic to northern Spain and Southern France. *Molecular Biology Reports,* **47**: 2397-2403. https://doi.org/10.1007/s11033-020-05296-8

Álvarez, M.F., Nuñez, A., Bos, J., Quintero, P., Tojo J. & Sanmartin, M.L. (1991). Datos sobre la helmintofauna de varias especies de insectívoros (Soricidae, Erinaceidae, Talpidae) en Galicia. *VII Congreso Nacional y I International Congress of Southwestern European Associations of Parasitology*, Valencia (España). 50 p

Ameberg, P., Skorping, A., Grenfell, B. & Read, A.F. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, **265**: 1283-1289. https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0431

Amin, O.M. (2013). Classification of the Acanthocephala. *Folia Parasitologica*, **60**: 273-305. https://doi.org/10.14411/fp.2013.031

Amin, O.M. & Pitts, R.M. (1996). *Moniliformis clarki* (Acanthocephala: Moniliformidae) from the pocket Gopher, *Geomys missouriensis*, in Missouri. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **63**: 144-145

Amin, O.M., Canaris, A.G. & Kinsella, J.M. (1999). A taxonomic reconsideration of the Genus *Plagiorhynchus s. lat.* (Acanthocephala: Plagiorhynchidae), with descriptions South African *Plagiorhynchus* (*Prosthorhynchus*) *cylindraceus* from Shore birds and *P.* (*P.*) *malayensis*, and a key to the species of the subgenus *Prosthorhynchus*. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **66**: 123-132

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Halajian, A., el-Naggar, A. & Tavakol, S. (2014). Description of *Moniliformis kalahariensis* (Acanthocephala: Moniliformidae) from the South african hedgehog, *Atelerix frontalis* (Erinaceidae) in South Africa. *Comparative Parasitology*, **81**: 33-43. http://dx.doi.org/10.1654/4664.1

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Mahommed, O. & Evans, R.P. (2016). Morphological and molecular descriptions of *Moniliformis saudi* sp. n. (Acanthocephala: Moniliformidae) from the desert hedgehog, *Paraechinus aethiopicus* (Ehrenberg) in Saudi Arabia, with a key to species and notes on histopathology. *Folia Parasitologica*, **63**: 014. https://doi.org/10.14411/fp.2016.014

Amin, O.M., Heckmann, R.A., Sharifdini, M. & Albayati, N.Y. (2019). *Moniliformis cryptosaudi* n. sp. (Acanthocephala: Monilformidae) from the long-eared hedgehog *Hemiechinus auritus* (Gmelin) (Erinaceidae) in Iraq; a case of incipient cryptic speciation related to *M. saudi* in Saudi Arabia. *Acta Parasitologica*, **64**: 195-204. https://doi.org/10.2478/s11686-018-00021-9

Amini, Z., Pazooki, J., Abtahi, B. & Shokri, M. (2013). Bioaccumulation of Zn and Cu, in *Chasar bathybius* (Gobiidae) tissue and its nematode parasite *Dichelyne minutus*, southeast of the Caspian Sea, Iran. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, **42**: 196-200.

Anderson, R.C. (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. 2a edición. CABI Publishing, Wallingford (UK). 650 p

Anderson, R.C., Chabaud, A.G. & Willmott (2009). *Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume*. CAB International, Wallingford (UK). 463 p

Archer, C.E., Appleton, C.C., Mukaratirwa, S., Lamb, J. & Schoeman, M.C. (2017). Endo-parasites of public-health importance recovered from rodents in the Durban metropolitan area, South Africa. *Southern African Journal of Infectious Diseases*, **32**: a55. https://doi.org/10.4102/sajid.v32i2.55

Asakawa, M. (2005). Perspectives of host-parasite relationships between rodents and nematodes in Japan. *Mammal Study*, **30**: S95-S99. https://doi.org/10.3106/1348-6160(2005)30[S95:POHRBR]2.0.CO;2

Asakawa, M. & Tenora, F. (1996). A checklist of epidemiology of nematode parasites of the genus *Apodemus* (Murinae: Rodentia) throughout the world excluding Japan. *Journal of Rakuno Gakuen University*, **20**: 181-213

Asakawa, M., Yamaguchi, S., Fujino, R., Ohbayashi, M. & Hasegawa, H. (1991). Study on the helminth fauna of the Japanese wood and field mice *Apodemus* spp. on the Tsushima and Iki Islands. *Bulletin of the Biogeographical Society of Japan*, **46**: 59-68

Asakawa, M., Tenora, F. & Borkovcová, M. (2004). Notes to the Nematoda of the genus *Heligmosomum* Railliet et Henry, 1909 (Nematoda, Heligmosomidae) parasitizing Rodentia in Japan. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, **52**: 23-26. https://doi.org/10.11118/actaun200452020023

Aslanova, E.K. & Fataliyev, G.H. (2022). Epidemiological and epizoological characteristics of rodent (Mammalia: Rodentia) in Lankaran natural region of Azerbaijan Republic. *Amurian Zoological Journal*, **14**: 168-174. https://www.doi.org/10.33910/2686-9519-2022-14-1-168-174

Azmat, R., Fayyaz, S., Kazi, N., Mahmood, S.J. & Uddin, F. (2008). Natural Bioremediation of heavy metals through nematode parasites of fish. *Biotechnology*, **7**: 139-143.

B

Bâ, A., Bakhoum, A.J.S., Ndiaye, P.I., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2020). Spermatological characteristics of *Sclerodistomoides pacificus* (Digenea, Sclerodistomoididae) a parasite of the flying fish *Cheilopogon pinnatibarbatus* (Teleostei, Exocoetidae). *Tissue and Cell*, **62**: 101314. https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.101314

Bâ, A., Bakhoum, A.J.S., Ndiaye, P.I., Bray, R.A., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2022). New spermatological characteristics in the Hemiuroidea inferred from the ultrastructure of the spermatozoon of *Gonocerca phycidis* a stomach parasite of *Gephyroberyx darwinii* (Teleostei: Trachichthyidae) off the Senegal coast. *Zoomorphology*, **141**: 223-231. https://doi.org/10.1007/s00435-022-00569-1

Bâ, C.T. & Marchand, B. (1995). Spermiogenesis, spermatozoa and phyletic affinities in the Cestoda. En: Jamieson, B.G.M., Ausió, J. & Justine, J.-L. (Eds.), *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Mémoires du Muséum National d´Histoire Naturelle,* **166**: 87-95

Bâ, C.T., Ndiaye, P.I., Dione, A., Quilichini, Y. & Marchand, B. (2011). Ultrastructure of the spermatozoon of *Holorchis micracanthum* (Digenea: Lepocreadiidae), an intestinal parasite of *Plectorhinchus mediterraneus* (Pisces, Teleostei) in Senegal. *Parasitology Research*, **109**: 1099-1106. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2352-1

Baer, J.G. (1932). Contribution à la faune helmintologique de Suisse (Deuxième part). *Revue suisse de Zoologie*, **39**: 1-56

Bajer, A., Behnke, J.M., Pawelczyk, A., Kuliś, K., Sereda, M.J. & Siński, E. (2005). Medium-term temporal stability of the helminth component community in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology*, **130**: 213-228. https://doi.org/10.1017/s0031182004006389

Bakhoum, A.J.S., Quilichini, Y., Justine, J.-L., Bray, R.A., Bâ, C.T. & Marchand, B. (2015). Ultrastructural study of sperm cells in Acanthocolpidae: the case of *Stephanostomum murielae* and *Stephanostomoides tenuis* (Digenea). *PeerJ*, **3**: e744. https://doi.org/10.7717/peerj.744

Bakhoum, A.J.S., Miquel, J., Ndiaye, P.I., Justine, J.-L., Falchi, A., Bâ, C.T., Marchand, B. & Quilichini, Y. (2017a). Advances in spermatological characters in the Digenea: review and proposal of spermatozoa models and their phylogenetic importance. *Advances in Parasitology,* **98**: 111-165. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.04.001

Bakhoum, A.J.S., Kacem, H., Neifar, L. & Miquel, J. (2017b). The Opecoelidae sperm model and its contribution to phylogeny: Spermatozoon ultrastructural particularities of *Allopodocotyle pedicellata* (Plagioporinae, Digenea, Platyhelminthes). *Zoologischer Anzeiger*, **266**: 28-34. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2016.10.006

Bannikova, A.A., Zemlemerova, E.D., Colangelo, P., Sõzen, M., Sevindik, M., Kidov, A.A., Dzuev, R.I., Kryštufek, B. & Lebedev, V.S. (2015). An underground burst of diversity – a new look at the phylogeny and taxonomy of the genus *Talpa* Linnaeus, 1758 (Mammalia: Talpidae) as revealed by nuclear and mitochondrial genes. *Zoological Journal of the Linnean Society,* **175**: 930-948. https://doi.org/10.1111/zoj.12298

Barrionuevo, F.J., Zurita, F., Burgos, M. & Jiménez, R. (2004). Developmental stages and growth rate of the mole *Talpa occidentalis* (Insectivora, Mammalia). *Journal of Mammalogy,* **85**: 120-125. https://doi.org/10.1644/BPR-010

Baruš, V., Tenora, F. & Kráčmar, S. (2000). Heavy metal (Pb, Cd) concentrations in adult tapeworms (Cestoda) parasitizing birds (Aves). *Helminthologia*, **37**: 131-136

Baruš, V., Tenora, F., Kráčmar, S. & Prokeš, M. (2001). Cadmium and lead concentrations in *Contracaecum rudolphii* (Nematoda) and its host, the cormorant *Phalacrocorax carbo* (Aves). *Folia Parasitologica*, **48**: 77-78. https://doi.org/10.14411/fp.2001.012

Baruš, V., Jarkovský, J. & Prokeš, M. (2007). *Philometra ovata* (Nematoda: Philometroidea): a potential sentinel species of heavy metal accumulation. *Parasitology Research*, **100**: 929-933. https://doi.org/10.1007/s00436-006-0384-8

Baruš, V., Šimková, A., Prokeš, M., Peňáz, M. & Vetešnik, L. (2012). Heavy metals in two host-parasite systems: tapeworm vs. fish. *Acta Veterinaria Brno,* **81**: 313-317. https://doi.org/10.2754/avb201281030313

Bas, S., Guitián, J., Sánchez, J. & Castro, A. (1978). *Contribución al conocimiento de las comunidades de vertebrados terrestres de la Sierra de Caurel (Lugo)*. Informe inédito. Facultad de Biología, Universidad de Santiago de Compostela.

Bastos-Silveira, C., Santos, S.M., Monarca, R., Mathias, M.L. & Heckel, G. (2012). Deep mitochondrial introgression and hybridization among ecologically divergent vole species. *Molecular Ecology,* **21**: 5309-5323. https://doi.org/10.1111/mec.12018

Baylis, H.A. (1928). On a collection of nematodes from Nigerian mammals (chiefly rodents). *Parasitology*, **20**: 280-304. https://doi.org/10.1017/S0031182000011707

Behnke, J.M., Barnard, C., Hurst, J.L., McGregor, P.K., Gilbert, F. & Lewis, J.W. (1993). The prevalence and intensity of infection with helminth parasites in *Mus spretus* from the Setubal Peninsula of Portugal. *Journal of Helminthology*, **67**: 115-122 https://doi.org/10.1017/s0022149x00012992

Behnke, J.M., Lewis, J.W., Mohd Zain, S.N. & Gilbert, F.S. (1999). Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in Southern England: Interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *Journal of Helminthology*, **73**: 31-44. https://doi.org/10.1017/S0022149X99000049

Behnke, J.M., Bajer, A., Harris, P.D., Newington, L., Pidgeon, E., Rowlands, G., Sheriff, C., Kuliś-Malkowska, K., Siński, E., Gilbert, F.S. & Barnard, C.J. (2008). Temporal and between-site variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology*, **135**: 985-997. https://doi.org/10.1017/S0031182008004393

Behnke, J.M., Stewart, A., Smales, L., Cooper, G., Lowe, A., Kinsella, J.M., Bajer, A., Dwużnik-Szarek, D., Herman, J., Fenn, J., Catalano, S., Diagne, C.A. & Webster, J.P. (2021). Parasitic nematodes of the genus *Syphacia* Seurat, 1916 infecting Cricetidae in the British Isles: the enigmatic status of *Syphacia nigeriana*. *Parasitology*, **149**: 76-94. https://doi.org/10.1017/S0031182021001578

Behnke, J.M., Rogan, M.T., Craig, P.S., Jackson, J.A. & Hide, G. (2022). Long-term trends in helminth infections of wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) from the vicinity of Malhalm in North Yorkshire, England. *Parasitology*, **148**: 451-463. https://doi.org/10.1017/S0031182020002243

Bernard, J. (1961). Liste des nématodes parasites des micromammifères de la faune belge. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **36**: 775-784. https://doi.org/10.1051/parasite/1961365775

Bickelmann, C., van der Vos, W., de Bakker, M.A.G., Jiménez, R., Maas, S. & Sánchez-Villagra, M.R. (2017). *Hox* gene expression in the specialized limbs of the Iberian moles (*Talpa occidentalis*). *Evolution & Development*, **19**: 3-8. https://doi.org/10.1111/ede.12216

Bigalke, M., Ulrich, A., Rehmus, A. & Keller, A. (2017). Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland. *Environmental Pollution*, **221**: 85-93. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.035

Biswal, D. & Chatterjee, S. (2020). Fish parasites as biological indicators: A systematic review. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, **13**: 1743-1755. https://doi.org/10.21786/bbrc/13.4/16

Bjelić-Čabrilo, O., Novakov, N., Ćirković, M., Čabrilo, B., Popović, E. & Lujić, J. (2015). Helminth fauna and zoonotic potential of the European hamster *Cricetus cricetus* Linnaeus, 1758 in agrobiocoenoses from Vojvodina province (Serbia). *Helminthologia*, **52**: 139-143. https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0025

Blanco, J.C. (1998). *Mamíferos de España. I. Insectívoros, Quirópteros, Primates y Carnívoros de la península Ibérica, Baleares y Canarias*. Geo Planeta Guías de campo, Barcelona (España). 457 p

BOE (2008). Real decreto 409/2008, de 28 de marzo, por el que se establece el programa nacional de control de las plagas del topillo de campo, *Microtus arvalis* (Pallas), y otros microtinos. *Boletín Oficial del Estado* (España), **86**: 19217-19219

Bomfim, T.C.B. do (2001). Algumas obsevações sobre infecção natural em *Rattus norvegicus* por *Cysticercus fasciolaris* (Eucestoda: Taeniidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, **10**: 79-82

Borchert, E.J., Leaphart, J.C., Bryan Jr, A.L. & Beasley, J.C. (2019). Ecotoxicoparasitology of mercury and trace elements in semi-aquatic mammals and their endoparasite communities. *Science of The Total Environment*, **679**: 307-316. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.326

Behnke, J.M., Rogan, M.T., Craig, P.S., Jackson, J.A. & Hide, G. (2022). Long-term trends in helminth infections of wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) from the vicinity of Malhalm in North Yorkshire, England. *Parasitology*, **148**: 451-463. https://doi.org/10.1017/S0031182020002243

Bernard, J. (1961). Liste des nématodes parasites des micromammifères de la faune belge. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **36**: 775-784. https://doi.org/10.1051/parasite/1961365775

Bickelmann, C., van der Vos, W., de Bakker, M.A.G., Jiménez, R., Maas, S. & Sánchez-Villagra, M.R. (2017). *Hox* gene expression in the specialized limbs of the Iberian moles (*Talpa occidentalis*). *Evolution & Development*, **19**: 3-8. https://doi.org/10.1111/ede.12216

Bigalke, M., Ulrich, A., Rehmus, A. & Keller, A. (2017). Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland. *Environmental Pollution*, **221**: 85-93. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.035

Biswal, D. & Chatterjee, S. (2020). Fish parasites as biological indicators: A systematic review. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, **13**: 1743-1755. https://doi.org/10.21786/bbrc/13.4/16

Bjelić-Čabrilo, O., Novakov, N., Ćirković, M., Čabrilo, B., Popović, E. & Lujić, J. (2015). Helminth fauna and zoonotic potential of the European hamster *Cricetus cricetus* Linnaeus, 1758 in agrobiocoenoses from Vojvodina province (Serbia). *Helminthologia*, **52**: 139-143. https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0025

Blanco, J.C. (1998). *Mamíferos de España. I. Insectívoros, Quirópteros, Primates y Carnívoros de la península Ibérica, Baleares y Canarias*. Geo Planeta Guías de campo, Barcelona (España). 457 p

BOE (2008). Real decreto 409/2008, de 28 de marzo, por el que se establece el programa nacional de control de las plagas del topillo de campo, *Microtus arvalis* (Pallas), y otros microtinos. *Boletín Oficial del Estado* (España), **86**: 19217-19219

Bomfim, T.C.B. do (2001). Algumas obsevações sobre infecção natural em *Rattus norvegicus* por *Cysticercus fasciolaris* (Eucestoda: Taeniidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, **10**: 79-82

Borchert, E.J., Leaphart, J.C., Bryan Jr, A.L. & Beasley, J.C. (2019). Ecotoxicoparasitology of mercury and trace elements in semi-aquatic mammals and their endoparasite communities. *Science of The Total Environment*, **679**: 307-316. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.326

Bordes, F., Ponlet, N., Goüy de Bellocq, J., Ribas, A., Krasnov, B.R. & Morand, S. (2012). Is there sex-biased resistance and tolerance in Mediterranean wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations facing multiple helminth infections? *Oecologia*, **170**: 123-135. https://doi.org/10.1007/s00442-012-2300-5

Borgsteede, F.H.M., TIbben, J.H. & van der Giessen, J.W.B. (2003). The musk rat (*Ondatra zibethicus*) as intermediate host of cestodes in the Netherlands. *Veterinary Parasitology*, **117**: 29-36. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2003.07.015

Brázová, T., Torres, J., Eira, C., Hanzelová, V., Miklisová, D. & Šalamún, P. (2012). Perch and its parasites as heavy metal biomonitors in a freshwater environment: the case study of the Ružín water reservoir, Slovakia. *Sensors*, **12**: 3068-3081. https://doi.org/10.3390/s120303068

Brázová, T., Hanzelová, V., Miklisová, D., Šalamún, P. & Vidal-Martínez, V.M. (2015). Host-parasite relationships as determinants of heavy metal concentrations in perch (*Perca fluviatilis*) and its intestinal parasite infection. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **122**: 551-556. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.09.032

Bull, K.R., Roberts, R.D., Inskip, M.J. & Goodman, G.T. (1977). Mercury concentrations in soil, grass, earthworms and small mammals near an industrial emission source. *Environmental Pollution (1970)*, **12**: 135–140. https://doi.org/10.1016/0013-9327(77)90016-7

Burger, J. (2006). Bioindicators: A review of their use in the environment literature 1970-2005. *Enviromental Bioindicators*, **1**: 136-144. https://doi.org/10.1080/15555270600701540

Burlet, P., Deplazes, P. & Hegglin, D. (2011). Age, season and spatio-temporal factors affecting the prevalence of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* in *Arvicola terrestris*. *Parasites & Vectors*, **4**: 6. https://doi.org /10.1186/1756-3305-4-6

Burton, P.R. (1972). Fine structure of the reproductive system of a frog lung-fluke. III. The spermatozoon and its differentiation. *Journal of Parasitology*, **58**: 68-83. https://doi.org/10.2307/3278243

Bush, A.O. (1973). An ecological analysis of the helminth parasites of the white ibis in Florida. University of Florida. Doctoral dissertation. 115 p

Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M. & Shostak, A.W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, **83**: 575-583. https://doi.org/10.2307/3284227

Butcher, A.R. & Grove, D.I. (2001). Description of the life-cycle stages of *Brachylaima cribbi* n. sp. (Digenea: Brachylaimidae) derived from eggs recovered from human faeces in Australia. *Systematic Parasitology*, **49**: 211-221. https://doi.org/10.1023/A:1010616920412

C

Cabrera, A. (1907). XXXII – Three new Spanish Insectivores. *Annals and Magazine of Natural History,* **20**: 212-215. https://doi.org/10.1080/00222930709487326

Cabrera, A. (1914). *Fauna Ibérica, Mamíferos.* Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid (España). 441 p

Čadjová, Z., Miholová, D., Skázová, J., Válek, P., Jankovská, I. & Langrová, I. (2014). Is the tapeworm able to affect tissue Pb-concentrations in white rats? *Parasitology*, **141**: 826-836. https://doi.org/10.1017/S0031182013002242

Caira, J.N. & Jensen, K. (2017). *Planetary Biodiversity Inventory (2008-2017): Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth*. University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication No. 25, Lawrence, Kansas (USA). 463 p

Callejón, R., de Rojas, M., Feliu, C., Balao, F., Marrugal, A., Henttonen, H., Guevara, D. & Cutillas, C. (2012). Phylogeography of *Trichuris* populations isolated from different Cricetidae rodents. *Parasitology*, **193**: 1795-1812. https://doi.org/10.1017/S0031182012001114

Cantó, G.J., Guerrero, R.I., Olvera-Ramírez, A.M., Milián, F., Mosqueda, J. & Aguilar-Tipacamú, G. (2013). Prevalence of fleas and gastrointestinal parasites in free-roaming cats in central Mexico. *PLoS ONE*, **8**: e60744. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060744

Carvalho, J.C. & Gomes, P. (2004). Feeding resource partitioning among four sympatric carnivores in the Peneda-Gerês National Park (Portugal). *Journal of Zoology,* **263**: 275-283. https://doi.org/10.1017/S0952836904005266

Casanova, J.C. (1993). *Análisis ecológico de las helmintofaunas de Mamíferos silvestres: Genetta genetta (Linnaeus, 1758) (Carnivora: Viverridae), Clethrionomys glareolus Schreber, 1790 (Rodentia: Arvicolinae) y Talpa occidentalis Cabrera, 1907 (Insectivora: Talpidae).* Universitat de Barcelona, Facultad de Farmacia. Tesis Doctoral. 708 p

Casanova, J.C., Feliu, C. & Torres, J. (1996a). Helminthic community of the dwarf mole, *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907 (Insectivora: Talpidae), in Iberian Peninsula, faunistic and ecological features. *Rivista di Parassitologia*, **13**: 439-449

Casanova, J.C., Miquel, J., Fons, R., Molina, X., Feliu, C., Mathias, M.L., Torres, J., Libois, R., Santos-Reis, M., Collares-Perereira, M. & Marchand, B. (1996b). On the helminthfauna of wild mammals (Rodentia, Insectivora and Lagomorpha) in Azores archipielago (Portugal). *Vie et Milieu / Life & Environment*, **46**: 253-259

Catalano, S., Bâ, K., Diouf, N.D., Léger, E., Verocai, G.G. & Webster, J.P. (2019). Rodents of Senegal and their role as intermediate hosts of *Hydatigera* spp. (Cestoda: Taeniidae). *Parasitology*, **146**: 299-304. https://doi.org/10.1017/S0031182018001427

Cerqueira, D., Delattre, P., de Sousa, B., Gabrion, C., Morand, S. & Quere, J.-P. (2007). Numerical response of a helminth community in the course of a multi-annual abundance cycle of the water vole (*Arvicola terrestris*). *Parasitology*, **134**: 705-711. https://doi.org/10.1017/S0031182006001946

Chabaud, A.G. & Mahon, J. (1958). Cycle évolutif du Nematode *Spirura talpae* (Gmelin, 1790). *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie Paris*, **152**: 474-476

Chaisiri, K., Siribat, P., Ribas, A. & Morand, S. (2015). Potentially zoonotic helminthiases of Murid Rodents from the Indo-Chinese peninsula: Impact of habitat and the risk of human infection. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, **15**: 73-85. https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1619

Chakraborty, S.B. (2021). Non-essential heavy metals as endocrine disruptors: evaluating impact on reproduction in teleosts. *Proceedings of the Zoological Society*, **74**: 417-431. https://doi.org/10.1007/s12595-021-00399-x

Charles, R.A., Kjos, S., Ellis, A.E., Dubney, J.P., Shock, B.C. & Yabsley, M.J. (2012). Parasites and vector-borne pathogens of southern plains woodrats (*Neotoma micropus*) from southern Texas. *Parasitology Research*, **110**: 1855-1862. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2710-z

Chechulin, A.I., Guljaev, V.D., Panov, V.V. & Krivopalov, A.V. (2005). Influence of the climatic phase and the density and demographic structure of the water vole population on helminth infection. *Parazitologiia*, **39**: 397-406

Chechulin, A.I., Zav'yalov, E.L., Gerlinskaya, L.A., Krivopalov, A.V., Makarikov, A.A. & Muzyka, V.Y. (2010). Helminthes of the water vole *Arvicola terrestris* Linnaeus of forest-bog biocenoses in the North of the Baraba Lowland. *Contemporary Problems of Ecology*, **3**: 4-9. https://doi.org/10.1134/S1995425510010029

Chen, K.Q. & Lu, Y.J. (1994). Ultrastructural studies on the spermatozoa and spermatogenesis in *Postharmostomum gallinum* (Trematoda: Digenea). *Journal of Shangai Agricultural College,* **12**: 235-239

Chihai, O. (2021). Assessment of parasite fauna in field vole (*Microtus arvalis*, Pallas, 1778) from different biotopes of the Republic of Moldava. *Oltenia Studii si Comunicari Stiintele Naturii*, **37**: 125-130

Chihai, O., Erhan, D., Rusu, Ş., Nistreanu, V., Larion, A., Tălămbuţă, N., Melnic, G., Zamornea, M. & Anghel, T. (2018). Parasite fauna of *Myodes glareolus* from the natural reserve "Plauil Fagului" of the Republic of Moldava. *Oltenia Studii si Comunicari Stiintele Naturii*, **34**: 83-88

Chihai, O., Toderas, I., Erhan, D., Rusu, S., Talambuta, N., Nistreanu, V., Larion, A., Zamornea, M., Melnic, G. & Naformita, N. (2020). Epidemiological structure or parasite fauna in bank vole (*Clethrionomys glareolus*, Schreber, 1780) from the 'Plaiul Fagului' Natural Reserve, Republic of Moldova. *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţele Vieţii*, **1**: 126-134

Chiriac, E. & Popescu, A. (1973). Cercetari asupra helmintofaunei unor specii de insectivore (Mammalia) corelativ cu hrana lor. *Studii si Cercetari de Biologie Seria Zoologie*, **25**: 117-125

Chouza Mata, M. & Cid González, R. (1995). Mamíferos. En: Sociedade Galega de Historia Natural. Colección do Patrimonio Ecológico (Eds.), *Átlas de vertebrados de Galicia: aproximación á distribución dos vertebrados terrestres de Galicia durante o quinquenio 1980-85. Tomo I. Peixes, Anfibios e Mamíferos*. Consello da Cultura Gallega, Ponencia de Patrimonio Natural, Santiago de Compostela (España), pp 173-322

Claveria, F.G., Causapin, J., de Guzman, M.A., Toledo, M.G. & Salisbay, C. (2005). Parasite biodiversity in *Rattus* spp. caught in wet markets. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, **36**: 146-148

Colangelo, P., Bannikova, A.A., Kryštufek, B., Lebedev, V.S., Annesi, F., Capanna, E. & Loy, E. (2010). Molecular systematics and evolutionary biogeography of the genus *Talpa* (Soricomorpha: Talpidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **55**: 372-380. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.01.038

Combes, C. (1987). *ABC de Parasitologie, probabilité et statistique*. U.A. CNRS, París (Francia). 160 p

Cordero del Campillo, M., Castañón Ordóñez, L. & Reguera Feo, A. (1994). *Índice-Catálogo de zooparásitos ibéricos*. 2ª edición. Universidad de León, Secretariado de Publicaciones, León (España). 650 p

Courtney-Hogue, C. (2016). Heavy metal accumulation in *Lacistorhynchus dollfusi* (Trypanorhyncha: Lacistorhynchidae) infecting *Citharichthys sordicus* (Pleuronectiformes: Bothidae) from Santa Monica Bay, southern California. *Parasitology*, **143**: 794-799. https://doi.org/10.1017/S003118201600038X

Cribb, T.H., Bray, R.A., Littlewood, D.T.J., Pichelin, S.P. & Herniou, E.A. (2001). The Digenea. En: Littlewood, D.T.J. & Bray, R.A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis, London (UK), pp 168–185

Cutillas, C., Oliveros, R., de Rojas, M & Guevara, D.C. (2002). Determination of *Trichuris muris* from murid hosts and *T. arvicolae* (Nematoda) from arvicolid rodents by amplification and sequentiation of the ITS1-5.8S-ITS2 segment of the ribosomal DNA. *Parasitology Research*, **88**: 574-582. https://doi.org/10.1007/s00436-002-0596-5

D

Davies E. (1932). On a trematode, *Ityogonimus lorum* (Duj. 1845), with notes on the occurrence of other trematode parasites of *Talpa europaea* in the Aberystwyth area. *Parasitology*, **24**: 253-259. https://doi.org/10.1017/S0031182000020618

de Buron, I. & Golvan, Y.J. (1986). Les hôtes des Acanthocéphales. I. Les hôtes intermédiaires. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **61**: 581-592. https://doi.org/10.1051/parasite/1986615581

de Sotomayor C., R., Serrano-Martínez, E., Tantaleán V., M., Quispe, H., M. G. (2015). Identificación de parásitos gastrointestinales en ratas de Lima metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, **26**: 273-281. https://doi.org/10.15381/rivep.v26i2.11003

Debenedetti, Á.L., Sáez-Durán, S., Sainz-Elipe, S., Galán-Puchades, M.T. & Fuentes, M.V. (2014). Hepatic parasitosis in two wood mice, *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae), due to *Aonchotheca annulosa* (Nematoda: Trichuridae) and *Eucoleus bacillatus* (Nematoda: Trichuridae). Erratic parasitism or *post mortem* migration? *Acta Parasitologica*, **59**: 610-64. https://doi.org/10.2478/s11686-014-0280-9

Debenedetti, Á.L., Sainz-Elipe, S., Sáez-Durán, S., Galicia, D., Imaz, A., Galán-Puchades, M.T. & Fuentes, M.V. (2015). The helminth community of the wood mouse *Apodemus sylvaticus* from the Erro River valley, Navarre, Spain. *Journal of Helminthology*, **89**: 727-733. https://doi.org/10.1017/S0022149X1400056X

Deng, Y.-P., Suleman, Zhang, X.-L., Li, R., Li, L.-Y., Fu, Y.-T., Liu, G.-H. & Yao, C. (2022). *Aonchotheca* (Nematoda: Capillariidae) is validated as a separated genus from *Capillaria* by both mithocondrial and nuclear ribosomal DNA. *Parasites & Vectors*, **15**: 493. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05609-9

Deter, J., Berthier, K., Chaval, Y., Cosson, J.-F., Morand, S. & Charbonnel, N. (2006). Influence of geographical scale on the detection of density dependence in the host-parasite system, *Arvicola terrestris* and *Taenia taeniaeformis*. *Parasitology*, **132**: 595-605. https://doi.org/10.1017/S0031182005009327

Deter, J., Chaval, Y., Galan, M., Berthier, K., Ribas Salvador, A., Casanova Garcia, J.C., Morand, S., Cosson, J.-F. & Charbonnel, N. (2007a). Linking demography and host dispersal to *Trichuris arvicolae* distribution in a cyclic vole species. *International Journal for Parasitology*, **37**: 813-824. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.01.012

Deter, J., Cosson, J.-F., Chaval, Y., Charbonnel, N. & Morand, S. (2007b). The intestinal nematode *Trichuris arvicolae* affects the fecundity of its host, the common vole *Microtus arvalis*. *Parasitology Research,* **101**: 1161-1164. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0584-x

Deter, J., Charbonnel, N., Cosson, J.-F. & Morand, S. (2008). Regulation of vole populations by the nematode *Trichuris arvicolae*: insights from modelling. *European Journal of Wildlife Research*, **54**: 60-70. https://doi.org/10.1007/s10344-007-0110-6

Deveaux, T.P., Schmidt, G.D. & Krishnasamy, M. (1988). Two new species of *Moniliformis* (Acanthocephala: Moniliformidae) from Malaysia. *Journal of Parasitology*, **74**: 322-325. https://doi.org/10.2307/3282462

Diamond, J.M. (1975). The island dilemma: Lessons of modern biogeographic studies for the design of natural reserves. *Biological Conservation*, **7**: 129-146. https://doi.org/10.1017/S0022149X00000020

Dimitrova, Z.M. (2009). Acanthocephalans of the nominotypical subgenus of *Plagyorhynchus* (Plagiorhynchidae) from charadriiform birds in the collection of the Natural History Museum, London with a key to the species of the subgenus. *Zookeys*, **6**: 75-90. https://doi.org/10.3897/zookeys.6.94

Dione, A., Quilichini, Y., Bâ, C.T., Diagne, P.M., Ndiaye, P.I. & Marchand, B. (2016). Ultrastructural study of the spermatozoon of *Hemiurus appendiculatus* (Digenea, Hemiuroidea, Hemiuridae), a parasite of *Boops boops* (Pisces, Teleostei, Sparidae) off Senegal. *Tissue and Cell*, **48**: 96-103. https://doi.org/10.1016/j.tice.2016.01.002

Dobson, A.P. (1988). The population biology of parasite induced changes in host behaviour. *The Quaterly Review of Biology*, **63**: 139-165. https://doi.org/10.1086/415837

Dobson, A.P. & Hudson, P.J. (1992). Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. *Journal of Animal Ecology*, **61**: 487-498. https://doi.org/10.2307/5339

Dokuchev, N.E., Emelyanova, L.G. & Orekhov, P.T. (2015). Shrews of the Nadym River Basin (North of western Siberia). *Contemporary Problems of Ecology*, **8**: 51-55. https://doi.org/10.1134/S1995425515010035

Duarte, M.A., Mathias, M.L. & Bastos-Silveira, C. (2015). Pair-bonding behaviour of the sister species *Microtus lusitanicus* and *M. duodecimcostatus*. *Journal of Ethology,* **33**: 213-223. https://doi.org/10.1007/s10164-015-0434-8

Dural, M., Genc, E., Yemenicioğlu, S. & Sangun M.K. (2010). Accumulation of some heavy metals seasonally in *Hysterotylacium aduncum* (Nematoda) and its host Red Sea Bream, *Pagellus erythrinus* (Sparidae) from Gulf of Iskenderun (north-eastern Mediterranean). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **84**: 125-131. https://doi.org/10.1007/s00128-009-9904-4

Dural, M., Genc, E., Sangun, M.K. & Güner, Ö. (2011). Accumulation of some heavy metals in *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda) and its host sea bream, *Sparus aurata* (Sparidae) from North-Eastern Mediterranean Sea (Iskenderun Bay). *Environmental Monitoring and Assessment*, **174**: 147-155. https://doi.org/10.1007/s10661-010-1445-0

Durette-Desset, M.-C. (1971). Essai de classification des nematodes héligmosomes. Correlations avec la paléobiogéographie des hôtes. *Memoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Série A - Zoologie*, **69**: 1-126

Durette-Desset, M.-C. (1985). Trichostrongyloid nematodes and their vertebrate hosts: Reconstruction of the phylogeny of a parasitic group. *Advances in Parasitology*, **24**: 239-306. https://doi.org/10.1016/s0065-308x(08)60564-3

Durette-Desset, M.-C. & Vaucher, C. (1974). Nematodes Héligmosomes parasites d'insectivores talpidés de la región holarctique. *Annales des Parasitologie Humaine et Comparée*, **49**: 191-200. https://doi.org/10.1051/parasite/1974492191

Durette-Desset, M.-C., Beveridge, I. & Spratt, D.M. (1994). The origins and evolutionary expansion of the Strongylida (Nematoda). *International Journal for Parasitology*, **24**: 1139-1165. https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90188-0

Durette-Desset, M.-C-., Digiani, M.C., Kilani, M. & Geffard-Kuriyama, D. (2017). *Critical revision of the Heligmonellidae (Nematoda: Trichostrongylina: Heligmosomoidea).* Publications Scientifiques du Muséum, Paris (France). 290 p

Dybing, N.A., Jacobson, C., Irwin, P., Algar, D. & Adams, P.J. (2018). Challenging the dogma of the 'Island Syndrome': a study of helminth parasites of feral cats and black rats on Christmas Island. *Australian Journal of Environmental Management,* **25**: 99-118. https://doi.org/10.1080/14486563.2017.1417165

E

Eckerlin, R.P., Feldman, D.M. & Pagels, J.F. (2020). *Porrocaecum encapsulatum* (Nematoda: Ascaridida: Toxocaridae) in Northern short-tailed shrews from Virginia. *Banisteria*, **54**: 127-132

Ehlers, U. (1984). Phylogenetisches System der Plathelminthes. *Verhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg (NF),* **27**: 291–294

Ehlers, U. (1985a). Phylogenetic relationships within the Platyhelminthes. En: Conway Morris, S., George, J.D., Gibson, R. & Platt, H.M. (Eds.), *The origins and relationships of lower invertebrates*. Oxford University Press, Oxford (UK), pp 143-158

Ehlers, U. (1985b). *Das Phylogenetische System der Plathelminthes*. G Fischer, Stuttgart (Germany). 317 p

Eira, C., Torres, J., Vingada, J. & Miquel, J. (2005). Concentration of some toxics elements in *Oryctolagus cuniculus* and in its intestinal cestode *Mosgovoyia ctenoides*, in Dunas de Mira (Portugal). *Science of The Total Environment*, **346**: 81-86. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.11.014

Eira, C., Torres, J., Vingada, J. & Miquel, J. (2006). Ecological aspects influencing the helminth community of the wood mouse *Apodemus sylvaticus* in Dunas de Mira, Portugal. *Acta Parasitologica*, **51**: 300-308. https://doi.org/10.2478/s11686-006-0046-0

Eira, C., Torres, J., Miquel, J., Vaqueiro, J., Soares, A.M.V.M. & Vingada, J. (2009). Trace elements concentrations in *Proteocephalus macrocephalus* (Cestoda) and *Anguillicola crassus* (Nematoda) in comparison to their fish host, *Anguilla anguilla* in Ria de Aveiro, Portugal. *Science of The Total Environment*, **407**: 991-998. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.040

El-Dib, N. & Ali, M.I. (2020). Can thick-shelled eggs of *Capillaria philippinensis* embryonate within the host? *Journal of Parasitic Diseases*, **44**: 666-669. https://doi.org/10.1007/s12639-020-01248-y

Ellerman, J.R. & Morrison-Scott, T.C.S. (1951). *Checklist of Palearctic and Indian Mammals 1758 to 1946*. Trustees of the British Museum (Natural History), London (UK). 810 p

Elton, C., Ford, E.B., Baker, J.R. & Gardner, A.D. (1931). The health and parasites of a wild mouse population. *Proceedings of the Zoological Society of London*, **101**: 657-721. https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1931.tb01037.x

Erasmus, J.H., Wepener, V., Nachev, M., Zimmermann, S., Malherbe, W., Sures, B. & Smit, N.J. (2020). The role of fish helminth parasites in monitoring metal pollution in aquatic ecosystems: a case study in the world's most productive platinum mining region. *Parasitology Research,* **119**: 2783-2798. https://doi.org/10.1007/s00436-020-06813-1

Euzet, L., Świderski, Z. & Mokhtar-Maamouri, F. (1981). Ultrastructure comparée du spermatozoïde des Cestodes. Relations avec la phylogénèse. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée,* **56**: 247-259. https://doi.org/10.1051/parasite/1981563247

F

Fagerholm, H.-P. & Overstreet, R.M. (2008). Ascaridoid Nematodes: *Contracaecum*, *Porrocaecum*, and *Baylisascaris.* En: Atkinson, C.T., Thomas, N.J. & Hunter, D.B. (Eds), *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Blackwell Publishing, Ames (USA), pp 413-433

Feliu, C. (1980). *Contribución al conocimiento de la helmintofauna de micromamíferos ibéricos: Helmintos de Gliridae y Muridae: Rodentia.* Universitat de Barcelona, Facultad de Farmacia. Tesis Doctoral. 556 p

Feliu, C., Mas-Coma, S. & Gállego, J. (1984a). Contribución al conocimiento de la helmintofauna de micromamíferos ibéricos. VIII. Nuevos datos sobre parásitos de *Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758 (Rodentia: Muridae). *Revista Ibérica de Parasitología*, **44**: 109-128

Feliu, C., Mas-Coma, S., Roset, F. & Gállego, J. (1984b). Contribución al conocimiento de la helmintofauna de micromamíferos ibéricos. X. Parásitos de *Arvicola terrestris*, (Linnaeus, 1758) (Rodentia: Arvicolidae). *Circular Farmacéutica,* **42**: 227-234

Feliu, C., Gisbert, J. & Rey, I. (1985a). Presencia de *Hymenolepis asymmetrica* Janicki, 1904 (Cestoda: Hymenolepididae) en roedores ibéricos. Primer hallazgo del helminto en *Arvicola sapidus* Miller, 1908 (Arvicolidae). *Revista Ibérica de Parasitología*, **45**: 381-382

Feliu, C., Torres, J., Gállego, J., Gosálbez, J. & Ventura, J. (1985b). Primeros datos acerca de la helmintofauna de los roedores del Delta del Ebro (Península Ibérica). *Miscel·lània Zoològica*, **9**: 55-64

Feliu, C., Torres, J., Miquel, J., Gisbert, J. & Garcia-Perea, R. (1991). Helminthofauna of *Microtus (Microtus) cabrerae* (Thomas, 1906) (Rodentia: Arvicolidae) in the Iberian Peninsula: faunistic and ecological considerations. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée,* **66**: 121-125. https://doi.org/10.1051/parasite/1991663121

Feliu, C., Torres, J., Miquel, J., Casanova, J.C., Ruiz-Olmo, J. & Palazon, J. (1992a). Ecological factors conditioning the helminthfauna of *Arvicola sapidus* (Miller, 1908) (Rodentia: Arvicolidae) in the Iberian Peninsula. *Semiaquatische Säugetiere*, **1992**: 98-102

Feliu, C., Torres, J., Casanova, J.C., & Miquel, J. (1992b). Consideraciones sobre el binomio helmintofauna - modo de vida de los roedores ibéricos. En: Hernández Rodríguez, S. (Ed), *In Memoriam al Profesor Doctor D. Francisco de Paula Mártinez Gómez*. Servicio de Publicaciones Universidad de Córdoba, Córdoba (España), pp 351-366

Feliu, C., Renaud, F., Catzeflis, F., Hugot, J.-P., Durand, P. & Morand, S. (1997). A comparative analysis of parasite species richness of Iberian Rodents. *Parasitology*, **115**: 453-466. https://doi.org/10.1017/S0031182097001479

Feliu, C., Spakulová, M., Casanova, J.C., Renaud, F., Morand, S., Hugot, J.-P. Santalla, F. & Durand, P. (2000). Genetic and morphological heterogeneity in small rodent whipworms in Southwestern Europe: characterization of *Trichuris muris* and description of *Trichuris arvicolae* n. sp. (Nematoda: Trichuridae). *Journal of Parasitology*, **86**: 442-449. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0442:GAMHIS]2.0.CO;2

Feliu, C., Blasco, S., Torres, J., Miquel, J. & Casanova, J.C. (2001). On the helminthofauna of *Erinaceus europaeus* Linnaeus, 1758 (Insectivora, Erinaceidae) in the Iberian Peninsula. *Revista Ibérica de Parasitología*, **61**: 31-37

Feliu, C., Ventura, J., Segovia, J. M., Jimenez, L., Ribas, A. & Gisbert, J. (2009). Helminths of *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) (Rodentia: Cricetidae) in the Iberian Peninsula: faunistic and ecological considerations. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología,* **68**: 159-166

Filipović Marijić, V., Vardić Smrzlić, I. & Raspor, B. (2013). Effect of acanthocephalan infection on metal, total protein and metallothionein concentrations in European chub from a Sava River section with low metal contamination. *Science of The Total Environment*, **463-464**: 772-780. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.041

Filipović Marijić, V., Vardić Smrzlić, I. & Raspor, B. (2014). Does fish reproduction and metabolic activity influence metal levels in fish intestinal parasites, acanthocephalans, during fish spawning and post-spawning period? *Chemosphere*, **112**: 449-455. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.086

Fink, S., Fischer, M.C., Excoffier, L. & Heckel, G. (2010). Genomic scans support repetitive continental colonization events during the rapid radiation of voles (Rodentia: *Microtus*): the utility of AFLPs versus mitochondrial and nuclear sequence markers. *Systematic Biology,* **59**: 548-572. https://doi.org/10.1093/sysbio/syq042

Foata, J., Quilichini, Y. & Marchand, B. (2007). Spermiogenesis and sperm ultrastructure of *Deropristis inflata* Molin, 1859 (Digenea, Deropristidae), a parasite of *Anguilla anguilla*. *Parasitology Research,* **101**: 843-852. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0550-7

Foata, J., Quilichini, Y., Greani, S. & Marchand, B. (2012). Sperm ultrastructure of the digenean *Aphallus tubarium* (Rudolphi, 1819) Poche, 1926 (Platyhelminthes, Cryptogonimidae) intestinal parasite of *Dentex dentex* (Pisces, Teleostei). *Tissue and Cell*, **44**: 15-21. https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.10.001

Fornesa, R.N. & Paller, V.V. (2018). Lead (Pb) bioconcentration in cestode parasites (*Hymenolepis* spp.) of rats (*Rattus* spp.) and their potential as indicator of heavy metal contamination in terrestrial environments. *6th International Conference of Rodent Biology and Management & 6th Rodents et Spatium*, Postdam, Germany.

Frankland, H.M.T. (1959). The incidence and distribution in Britain of the trematodes of *Talpa europaea*. *Parasitology*, **49**: 132-142. https://doi.org/10.1017/S0031182000026779

Friberg, I.M., Little, S., Ralli, C., Lowe, A., Hall, A., Jackson, J.A. & Bradley, J.E. (2013). Macroparasites at peripheral sites of infection are major and dynamic modifiers of systemic antimicrobial pattern recognition responses. *Molecular Ecology*, **22**: 2810-2826. https://doi.org/10.1111/mec.12212

Fuehrer, H.-P., Siehs, C., Schneider, R. & Auer, H. (2012). Morphometrical analysis of *Taenia taeniaeformis* and *Taenia crassiceps* in the common vole (*Microtus arvalis*) and the water vole (*Arvicola terrestris*) in Vorarlberg, Austria. *Helminthologia*, **49**: 169-173. https://doi.org/10.2478/s11687-012-0034-x

Fuentes, M.V. (1992). *Ecología de los helmintos parásitos de roedores en la Islas Pitiusas de Ibiza y Formentera (Archipiélago Balear, España).* Tesis doctoral, Universitat de València. 393 p

Fuentes, M.V., Cerezuela, A.M. & Galan-Puchades, M.T. (2000). A helminthological survey of small mammals (insectivores and rodents) in the Serra Calderona mountains (Valencian Community, Spain). *Research and Reviews in Parasitology*, **60**: 25-35

Fuentes, M.V., Sáez, S., Trelis, M., Cruz, J., Sarmento, P., Casanova, J.C., Torres J., Feliu, C. & Esteban, J.G. (2003). Helminthfauna of small mammals (Insectivora, Rodentia) collected in the Serra da Malcata (Portugal). *Revista Ibérica de Parasitología*, **63**: 89-92

Fuentes, M.V., Sáez, S., Trelis, M., Muñoz-Antolí, C. & Esteban, J.G. (2004a). The helminths community of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia, Muridae) in the Sierra de Gredos (Spain). *Arxius de Miscel·lània Zoològica*, **2**: 1-6

Fuentes, M.V., Sáez, S., Trelis, M., Galán-Puchades, M.T. & Esteban, J.G. (2004b). The helminth community of the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, in the Sierra Espuña, Murcia, Spain. *Journal of Helminthology*, **78**: 219-223. https://doi.org/10.1079/joh2003226

Fuentes, M.V., Sainz-Elipe, S. & Galán-Puchades, M.T. (2005). Comparative análisis of the helminth community of the common shrew, *Crocidura russula,* of three western Mediterranean enclaves and the inland of the Iberian Peninsula. *Revista Ibérica de Parasitología*, **65**: 37-42

Fuentes, M.V., Sainz-Elipe, S. & Galán-Puchades, M.T. (2007). Ecological study of the wood mouse helminth community in a burned Mediterranean ecosystem in regeneration five years after a wildfire. *Acta Parasitologica*, **52**: 403-413. https://doi.org/10.2478/s11686-007-0056-6

Fuentes, M.V., Sainz-Elipe, S., Sáez-Durán, S. & Galán-Puchades, M.T. (2010). The helminth community of the wood mouse *Apodemus sylvaticus* in a Mediterranean ecosystem in regeneration ten years after a wildfire. *Journal of Helminthology*, **84**: 39-48. https://doi.org/10.1017/S0022149X09990277

Furmaga, S. (1959). Internal parasites of the mole (*Talpa europaea* L.) in the Lublin environment. *Acta Parasitologica Polonica*, **7**: 203-214

G

Galán-Puchades, M.T., Sanxis-Furió, J., Pascual, J., Bueno-Marí, R., Franco, S., Peracho, V., Montalvo, T. & Fuentes, M.V. (2018). First survey on zoonotic helminthosis in urban brown rats (*Rattus norvegicus*) in Spain and associated public health considerations. *Veterinary Parasitology*, **259**: 49-52. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.06.023

Galimberti, A., Romano, D.F., Genchi, M., Paoloni, D., Vercillo, F., Bizzarri, L., Sassera, D., Bandi, C., Genchi, C., Ragni, B. & Casiraghi, M. (2012). Integrative taxonomy at work: DNA barcoding of taeniids harboured by wild and domestic cats. *Molecular Ecology Resources*, **12**: 403-413. https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03110.x

Galli, P., Crosa, G. & Occhipinti Ambrogi, A. (1998). Heavy metals concentrations in acanthocephalans parasites compared to their host fish. *Chemosphere*, **37**: 2983- 2988. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00340-3

García-López de Hierro, L., Moleón, M., Lupiáñez, D.G., Virgós, E. & Jiménez, R. (2013). Positive and negative unintended human-induced effects on Iberian mole abundance at the edge of its distribution area. *Mammalian Biology*, **78**: 276-282. https://doi.org/10.1016/j.mambio.2012.08.001

García-Salguero, A., Delgado-Serra, S., Sola, J., Negre, N., Miranda, M.A. & Paredes-Esquivel, C. (2019). Combined morphology and DNA-barcoding to identify *Plagiorhynchus cylindraceus* cystacanths in *Atelerix algirus*. *Parasitology Research*, **118**: 1473-1478. https://doi.org/10.1007/s00436-019-06299-6

García Sanjuan, C., Aguirre, J.I., Villaverde, S. & Banda, E. (2022). Surveillance for gastrointestinal, subcutaneous and ectoparasites of invasive North American raccoons (*Procyon lotor*) in central Spain. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, **36**: 100793. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100793

García-Varela, M., Park, J.-K., Hernández-Orts, J.S. & Pinacho-Pinacho, C.D. (2019). Morphological and molecular data on a new species of *Plagiorhynchus* Lühe, 1911 (Acanthocephala: Plagiorhynchidae) form the long-billed curlew (*Numenius americanus*) from northern Mexico. *Journal of Helminthology*, **94**: E61. https://doi.org/10.1017/S0022149X19000543

Genc, E., Sangun, M.K., Dural, M., Can, M.F. & Altunhan, C. (2008). Element concentrations in the swimbladder parasite *Anguillicola crassus* (Nematoda) and its host the European eel, *Anguilla anguilla* from Asi River (Hatay-Turkey). *Environmental Monitoring & Assessment*, **141**: 59-65. https://doi.org/10.1007/s10661-007-9878-9

Genov, T. & Yanchev, Ya. (1980). On the taxonomy of nematodes of the genus *Syphacia* Seurat, 1916 (Nematoda, Oxyuridae) in Bulgaria. *Khelmintologiya,* **10**: 38-58

Genov, T. & Yanchev, Ya. (1981). The morphology of nematodes of the genera *Heligmosomoides* Hall, 1916 and *Heligmosomum* Railliet et Henry, 1909 (Heligmosomidae Cram, 1927) in Bulgaria. *Khelmitontologiya*, **12**: 8-30

Giannoni, S.M., Borghi, C.E. & Martínez-Rica, J.P. (1993). Comparing the burrowing behaviour of the Iberian mole voles (*Microtus (Terricola) lusitanicus, M. (T.) pyrenaicus* and *M. (T.) duodecimcostatus). Mammalia,* **57**: 483-490. https://doi.org/10.1515/mamm.1993.57.4.483

Gibson, D.I., Jones, A. & Bray, R.A. (2002). *Keys to the Trematoda. Vol. 1.* CAB International and The Natural History Museum, London (UK). 521 p

Giraudel, J.-L., Quéré, J.-P. & Spitz, F. (2009). Artificial neural networks enable discrimination of taxa using morphological characters: an example with a problematic small mammal, the water vole (genus *Arvicola*) (Rodentia, Cricetidae). *Mammalia,* **73**: 38-46. https://doi.org/10.1515/MAMM.2009.010

Global Cestode Database. https://tapewormdb.uconn.edu. Fecha de acceso: 10/09/2023

Gkresti, V., Mars, W.M., Bowen, W.C., Barua, L., Yang, Y., Guo, L., Arnaud, R.S., Dedhar, S., Wu, C. & Michaulopoulos, G.K. (2007). Loss of integrin linked kinase from mouse hepatocytes *in vitro* and *in vivo* results in apoptosis and hepatitis. *Hepatology*, **45**: 1025-1034. https://doi.org/10.1002/hep.21540

Gobierno del Principado de Asturias (2006). Diversidad faunística y florística de Asturias. Flora de Asturias. Consultado en: https://www.asturias.es/portal/site/webasturias/

Godinho, J.S.P. (1982). *Contribuição para o estudo da bioecologia do Pitymys lusitanicus (Gerbe) como base para o seu controlo*. Instituto Superior de Agronomía, Lisboa (Portugal). 115 p

Goldberg, S.R., Bursey, C.R. & Wu, M.Q. (1998). Composition of the helminth community of a montane population of the coastal whiptail, *Cnemidophorus tigris multiscutatus* (Sauria: Teiidae) from Los Angeles County, California. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences*, **97**: 82-85. https://doi.org/10.3160/0038-3872-97.2.82

Golestaninasab, M., Malek, M., Roohi, A., Karbassi, A.R., Amoozadeh, E., Rashidinejad, R., Ghayoumi, R. & Sures, B. (2014). A survey on bioconcentration capacities of some marine parasitic and free-living organisms in the Gulf of Oman. *Ecological Indicators*, **37**: 99-104. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.09.039

Golvan, Y.J. (1956). Acanthocéphales d'oiseaux. Troisième note. Révision des espèces européennes de la sous-famille des Plagiorhynchinae A. Meyer, 1931 (Polymorphidae). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **31**: 350-384. https://doi.org/10.1051/parasite/1956314350

Golvan, Y.J. (1961). Le Phylum des Acanthocephala. (Troisème note). La classe des Palaeacanthocephala (Meyer, 1931) (fin). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **36**: 717-736. https://doi.org/10.1051/parasite/1961365717

Golvan, Y.J. (1962). Le Phylum des Acanthocephala. (Quatrième note). La classe des Archiacanthocephala (A. Meyer, 1931). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **37**: 1-72. https://doi.org/10.1051/parasite/1962371001

Golvan, Y.J. (1994). Nomenclature of the Acanthocephala. *Research and Reviews in Parasitology*, **54**: 135-205

Gomes, A.P.N., Costa, N.A., Gentile, R., Vilela, R.V. & Maldonado Jr, A. (2020). Morphological and genetic description of *Moniliformis necromysi* sp. n. (Archiacanthocephala) from the wild rodent: *Necromys lasiurus* (Cricetidae: Sigmondontinae) in Brazil. *Journal of Helminthology*, **94**: E138. https://doi.org/10.1017/S0022149X20000188

González-Moreno, O. (2002). *Contribución al conocimiento de la bionomía de digénidos de la Familia Brachylaimidae Joyeux et Foley, 1930, en el delta del Llobregat (Barcelona).* Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. 375 p

González-Moreno, O. & Gracenea, M. (2006). Life cycle and description of a new species of brachylaimid (Trematoda: Digenea) in Spain. *Journal of Parasitology*, **92**: 1305-1312. https://doi.org/10.1645/GE-821R.1

Gorman, M.L. & Stone, R.D. (1990). *The Natural History of Moles*. Comstock Pub. Associates, Portland (USA). 138 p

Gracenea, M. & González-Moreno, O. (2002). Life cycle of *Brachylaima mascomai* n. sp. (Trematoda: Brachylaimidae), a parasite of rats in the Llobregat delta (Spain). *Journal of Parasitology,* **88**: 124-133. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0124:LCOBMN]2.0.CO;2

Gregory, R.D. (1992). On the interpretation of host-parasite ecology: *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in wild wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations. *Journal of Zoology*, **226**: 109-121. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1992.tb06130.x

Gregory, R.D., Montgomery, S.S.J. & Montgomery, W.I. (1992). Population biology of *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in the wood mouse. *Journal of Animal Ecology*, **61**: 749-757. https://doi.org/10.2307/5628

Greichus, A. & Greichus, Y.A. (1980). Identification and quantification of some elements in the hog roundworm, *Ascaris lumbricoides suum*, and certain tissues of its host. *International Journal for Parasitology*, **10**: 89-91. https://doi.org/10.1016/0020-7519(80)90016-8

Grenfell, B.T, Wilson, K., Finkenstädt, B.F., Coulson, T.N., Murray, S., Albon, S.D., Pemberton, J.M., Clutton-Brock, T.H. & Crawley, M.J. (1998). Noise and determinism in synchronized sheep dynamics. *Nature*, **394**: 674-677. https://doi.org/10.1038/29291

Gromov, I.M. & Polyakov, I.Y. (1992). *Voles (Microtinae). Fauna of the USSR – Mammals*. Vol. III, Nº 8. E.J. Brill Publishing Company, Leiden (Holanda). 725 p

Grzybek, M., Bajer, A., Bednarska, M., Al-Sarraf, M., Behnke-Borowczyk, J., Harris, P.D., Price, S.J., Brown, G.S., Osborne, S.J., Siński, E. & Behnke, J.M. (2015). Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in helminth infracommunities of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Parasitology*, **142**: 1722-1743. https://doi.org/10.1017/S0031182015001225

Gubányi, A., Mészáros, F., Murai, É. & Soltész, A. (1992). Studies on helminth parasites of the small field mouse (*Apodemus microps*) and the common vole (*Microtus arvalis*) from a pine forest in Hungary. *Parasitologia Hungarica*, **25**: 37-51

Guerreiro Martins, N.B., Robles, M.R. & Navone, M.T. (2017). A new species of *Moniliformis* from a Sigmodontinae rodent in Patagonia (Argentina). *Parasitology Research*, **116**: 2091-2099. https://doi.org/10.1007/s00436-017-5508-9

Gulland, F.M.D. (1995). The impact of infectious diseases on wild animal populations: A review. En: Grenfell, B.T. & Dobson, A.P. (Eds.), *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*. Cambridge University Press, Cambridge (UK), pp 20-51

Gupta, N., Gupta, D.K., Kumar, S. & Gupta, V. (2021). Scanning electron microscopy of *Cysticercus fasciolaris* (larval *Taenia taeniaeformis* Batsch, 1786) from the wild rat, *Rattus rattus* LInnaeus, 1758, morpho-physiology and risk to human health. *Annals of Parasitology*, **67**: 31-38. https://doi.org/10.17420/ap6701.309

Gutiérrez, J., Lamelas, L., Aleix-Mata, G., Arroyo, M., Marchal, J.A., Palomeque, T., Lorite, P. & Sánchez, A. (2018). Complete mitochondrial genome of the Iberian Mole *Talpa occidentalis* (Talpidae, Insectivora) and comparison with *Talpa europaea*. *Genetica,* **146**: 415-423. https://doi.org/10.1007/s10709-018-0033-z

H

Hall, M.C. (1916). Nematode parasites of the orders Rodentia, Lagomorpha and Hyracoidea. *Proceedings of the United States National Museum,* **50**: 1-274

Hancock, E.G. (2022). A spiny-headed worm, *Plagiorhynchus cylindraceus* (Acanthocephala), in hedgehog faeces in southwest Scotland. *The Glasglow Naturalist*, **27**: 83-85. https://doi.org/10.37208/tgn27417

Harandi, M.F., Madjdzadeh, S.M. & Ahmadinejad, M. (2016). Helminth parasites of small mammals in Kerman province, Southeastern Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, **40**: 106-109. https://doi.org/10.1007/s12639-014-0456-0

Hasegawa, H., Shiraishi, S. & Rochman. (1992). *Tikusnema javaense* N. Gen., N. Sp. (Nematoda: Acuarioidea) and other nematodes from *Rattus argentiventer* collected in West Java, Indonesia. *Journal of Parasitology*, **78**: 800-804. https://doi.org/10.2307/3283307

Hassan, A., Moharram, S. & El Helaly, H. (2018). Role of parasitic helminths in bioremediating some heavy metal accumulation in the tissues of *Lethrinus mahsena*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **18**: 435-443. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v18_3_09

Hatakeyama, S. (1986). Susceptibility of voles in Hokkaido and the innate resistance of *Clethrionomys rufocanus bedfordiae* to infection by the cestode, *Taenia taeniaeformis*. *Japanese Journal of Veterinary Research*, **34**: 131

Haukisalmi, V. (1986). Frequency distributions of helminths in microtine rodents in Finnish Lapland. *Annales Zoologici Fennici*, **23**: 141-150

Haukisalmi, V., Henttonen, H. & Pietiäinen, H. (1994). Helminth parasitism does not increase the vulnerability of the field vole *Microtus agrestis* to predation by the Ural owl *Strix uralensis*. *Annales Zoologici Fennici,* **31**: 263-269

Haukisalmi, V., Wickström, L.M., Henttonen, H., Hantula, J. & Gubányi, A. (2004). Molecular and morphological evidence for multiple species within *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Anoplocephalidae) in *Microtus* voles (Arvicolinae). *Zoologica scripta*, **33**: 277-290. https://doi.org/10.1111/j.0300-3256.2004.00148.x

Haukisalmi, V., Hardman, L.M., Foronda, P., Feliu, C., Laakkonen, J., Niemimaa, J., Lehtonen, J.T. & Henttonen, H. (2010). Systematic relationships of hymenolepidid cestodes of rodents and shrews inferred from sequences of 28S ribosomal RNA. *Zoologica Scripta*, **39:** 631-641. https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2010.00444.x

Haukisalmi, V., Hardman, L.M., Hoberg, E.P. & Henttonen, H. (2014). Phylogenetic relationships and taxonomic revision of *Paranoplocephala* Lühe, 1910 sensu lato (Cestoda, Cyclophyllidea, Anoplocephalidae). *Zootaxa*, **3873**: 371-415. https://doi.org/10.11646/zootaxa.3873.4.3

Hernández, M.C. (2016). Topo ibérico – *Talpa occidentalis*. *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*, Eds Salvador, A. & Barja, I. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. http://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/talocc.html

Hildebrand, J., Zalezny, G. & Okulewicz, A. (2007). A new whipworm from arvicolid rodents, *Trichuris arvicolae* Feliu et al., 2000, in the helminth fauna of Poland. *Wiadomosci Parazytologiczne*, **53**: 339-341

Hinton, M.A.C. (1926). *Monograph of the voles and lemmings (Microtinae) living and extinct. Vol. 1.* British Museum (Natural History), London (UK). 488 p. https://doi.org/10.5962/bhl.title.8319

Hoberg, E.P., Mariaux, J., Justine, J.-L., Brooks, D.R. & Weekes, P.J. (1997). Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: historical perspectives and a new working hypothesis. *Journal of Parasitology,* **83**: 1128-1147. https://doi.org/10.2307/3284374

Hoberg, E.P., Mariaux, J. & Brooks, D.R. (2001). Phylogeny among orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae): Integrating morphology, molecules and total evidence. En: Littlewood, D.T.J. & Bray, R.A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis, London (UK), pp 112-126

Hodda, M. (2022). Phylum Nematoda: a classification, catalogue and index of valid genera, with a census of valid species. *Zootaxa*, **5114**: 1-289. https://doi.org/10.11646/zootaxa.5114.1.1

Hoklova, I.G. (1986). *The Acanthocephalan fauna of terrestrial vertebrates of S.S.S.R.* Nauka Press, Moscow (Russia). 276 p

Houéménou, G., Bonou, G.A., Tobada, P., Youssao, I. & Abdou Karim, I.Y. (2018). Prevalence of helminths in rodents and shrews from Cotonou town, Benin. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, **12**: 21-29

Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H. & Dobson, A.P. (2002). *The Ecology of Wildlife Diseases*. Oxford University Press, Oxford (UK). 216 p

Hudson, P.J., Cattadori, I.M., Boag, B. & Dobson, A.P. (2006). Climate disruption and parasite-host dynamics: Patterns and processes associated with warming and the frequency of extreme climatic events. *Journal of Helminthology*, **80**: 175-182. https://doi.org/10.1079/JOH2006357

Huffman, J.E. & Penner, L.R. (1981). Helminths from the short-tail shrew, *Blarina brevicauda*, in Connecticut with reference to the histopathology of *Capillaria*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **48**: 209-213

Hursky, O. & Pietrock, M. (2015). Intestinal nematodes affect selenium bioaccumulation, oxidative stress biomarkers, and health parameters in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*. *Environmental Science & Technology*, **49**: 2469-2476. https://doi.org/10.1021/es5048792

Hutterer, R. (2005). Order Soricomorpha. En: Wilson, D.E. & Reeder, D.A.M (Eds.), *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference.* Ed. John Hopkins University Press, Baltimore (USA), pp 220-311

I

Iliev, P.T., Georgiev, G.Zh., Kirkova, Z.T. & Chakarova, B.G. (2017). A survey of helminth infections in the black rat from Stara Zagora district, Bulgaria. *Macedonian Veterinary Review*, **40**: 177-182. https://doi.org/10.1515/macvetrev-2017-0021

Illescas Gómez, P., Rodríguez Osorio, M., Rodríguez Pérez, J., Fernández Valdivia, J. & Alarcón Morente, J.L. (1989). Estudio del parasitismo por helmintos o sus fases larvarias de *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769 en Granada. *Revista Ibérica de Parasitología*, **49**: 203-208

Iomini, C. & Justine, J.-L. (1997). Spermiogenesis and spermatozoon of *Echinostoma caproni* (Platyhelminthes, Digenea): transmission and scanning electron microscopy, and tubulin immunocytochemistry. *Tissue and Cell,* **29**: 107-118. https://doi.org/10.1016/S0040-8166(97)80077-8

Iomini, C., Raikova, O., Noury-Sraïri, N. & Justine, J.-L. (1995). Immunocytochemistry of tubulin in spermatozoa of Platyhelminthes. En: Jamieson, B.G.M., Ausió, J. & Justine, J.-L. (Eds.), *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy*. *Mémoires du Muséum National d´Histoire Naturelle,* **166**: 97-104

Ito, M. & Itagaki, T. (2003). Survey on wild rodents for endoparasites in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, **65**, 1151-1153. https://doi.org/10.1292/jvms.65.1151

IUCN. *Arvicola scherman*. Disponible en: http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=136766. Fecha de acceso: 10/09/2022

IUCN. *Microtus lusitanicus*. Disponible en: https://www.iucnredlist.org/species/13494/513980. Fecha de acceso: 10/09/2022

IUCN. *Talpa occidentalis*. Disponible en: https://www.iucnredlist.org/species/41483/2953593. Fecha de acceso 10/09/2022

Ivoke, N. (2009). Studies on the seasonal variations and prevalence of helminth fauna ot the black rat, *Rattus rattus* (L) (Rodentia: Muridae) from different microhabitats in Nsukka, Nigeria. *Animal Research International*, **6**: 1063-1071. https://doi.org/10.4314/ari.v6i3.55986

J

Jaarola, M., Martínková, N., Gündüz, İ., Brunhoff, C., Zima, J., Nadachowski, A., Amori, G., Bulatova, N.S., Chondropoulos, B., Fraguedakis-Tsolis, S., González-Esteban, J., López-Fuster, M.J., Kandaurov, A.S., Kefelioğlu, H., Mathias, M.L., Villate, I. & Searle, J.B. (2004). Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **33:** 647-663. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.07.015

Jackson, J.A. & Friberg, I.M. (2022). *Carolinensis minutus* (Dujardin, 1845) Travassos 1937 (Nematoda, Heligmonellidae) in *Microtus agrestis* in the United Kingdom. *Check List*, **18**: 845-848. https://doi.org/10.15560/18.4.845

Jackson, J.A., Friberg, I.M., Bolch, I., Lowe, A., Ralli, C., Harris, P.D., Behnke, J.M. & Bradley, J.E. (2009). Immunomodulatory parasites and toll-like receptor-mediated tumour necrosis factor alpha responsiveness in wild mammals. *BMC Biology*, **7**: 16. https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-16

Jackson, J.A., Hall, A.J., Friberg, I.M., Ralli, C., Lowe, A., Zawadzka, M., Turner, A.K., Stewart, A., Birtles, R.J., Paterson, S., Bradley, J.E. & Begon, M. (2014). An immunological marker of tolerance to infection in wild rodents. *PLoS Biology*, **12**: e1001901. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001901

Jamieson, B.G.M. & Justine, J.-L. (2017). Spermatozoa, Spermatogenesis and Fertilization in *Schistosoma*. En: Jamieson BGM (Ed.), *Schistosoma: Biology, Pathology and Control*. CRC Press, Boca Raton (USA), pp 300-319

Jankovská, I., Langrová, I., Bejček, V., Miholová, D., Vadlejch, J. & Petrtyl, M. (2008). Heavy metal accumulation in small terrestrial rodents infected by cestodes or nematodes. *Parasite*, **15**: 581-588. https://doi.org/10.1051/parasite/2008154581

Jankovská, I., Miholová, D., Langrová, I., Bejček, V., Vadlejch, J., Kolihová, D. & Šulc, M. (2009). Influence of parasitism on the use of small terrrestrial rodents in environmental pollution monitoring. *Environmental Pollution*, **157**: 2584-2586. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.04.008

Jankovská, I., Vadlejch, J., Száková, J., Miholová, D., Kunc, P., Knížková, I. & Langrová, I. (2010a). Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Monieza expansa* (Cestoda: Anoplocephalidae) and its final host (*Ovis aries*). *Ecotoxicology*, **19**: 928-932. https://doi.org/10.1007/s10646-010-0474-3

Jankovská, I., Miholová, D., Bejček, V., Vadlejch, J., Šulc, M., Skázová, J. & Langrová, I. (2010b). Influence of parasitism on trace element contents in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and its parasites *Mesocestoides* spp. (Cestoda) and *Toxascaris leonina* (Nematoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* **58**: 469-477. https://doi.org/10.1007/s00244-009-9355-2

Jankovská, I., Vadlejch, J., Skázová, J., Miholová, D., Kunc, P., Knížková, I, Čadková, J. & Langrová, I. (2010c). Experimental studies on the cadmium accumulation in the cestode *Moniezia expansa* (Cestoda: Anoplocephalidae) and its final host (*Ovis aries*). *Experimental Parasitology*, **126**: 130-134. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.010

Jankovská, I., Miholová, D., Petrtýl, M., Romočuský, S., Kalous, L., Vadlejch, J., Čadková, Z. & Langrová, I. (2011). Intestinal Parasite *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala) from European Perch (*Perca fluviatilis*) as a Bioindicator for Lead Pollution in the Stream "Jevanský potok" Near Prague, Czech Republic. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **86**: 342-346. https://doi.org/10.1007/s00128-011-0210-6

Jankovská, I., Miholová, D., Lukešová, D., Kalous, L., Válek, P., Romočuský, Š, Vadlejch, J., Petrtýl M., Langrová, I. & Čadková, Z. (2012a). Concentrations of Zn, Mn, Cu and Cd in different tissues of perch (*Perca fluviatilis*) and in perch parasite (*Acanthocephalus lucii*) from the stream near Prague (Czech Republic). *Environmental Research*, **112**: 83-85. https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.11.003

Jankovská, I., Kolihová, D., Miholová, D., Lukešová, D., Romočuský, S. Válek, P., Vadlejch, J., Kalous, L., Langrová, I., Petrtýl, M. & Čadková, Z. (2012b). Effect of *Acanthocephalus lucii* infection on total mercury concentrations in muscle and gonads of fish host (*Perca fluviatilis*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **88**: 967-970. https://doi.org/10.1007/s00128-012-0595-x

Jankovská, I., Sloup, V., Skázová, J., Langrová, I. & Sloup, S. (2016). How the tapeworm *Hymenolepis diminuta* affects zinc and cadmium accumulation in a host fed a hyperaccumulating plant (*Arabidopsis halleri*). *Environmental Science and Pollution Research*, **23**: 19126-19133. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7123-1

Janova, E., Skoric, M., Heroldova, M., Tenora, F., Fictum, P. & Pavlik, I. (2010). Determinants of the prevalence of *Heligmosomum costellatum* (Heligmosomidae: Trichostrongyloidea) in a common vole population in southern Moravia, Czech Republic. *Journal of Helminthology*, **84**: 410-414. https://doi.org/10.1017/S0022149X1000009X

Jawdat, S.Z. & Mahmoud, S.N. (1980). The incidence of cestoidean and acanthocephalan parasites of some rodents in Iraq. *Bulletin of the Natural History Research Centre University of Baghdad*, **7**: 55-72

Jelaska, L. Š., Jurasović, J., Brown, D.S., Vaughan, I.P. & Symondson, W.O.C. (2014). Molecular field analysis of trophic relationships in soil-dwelling invertebrates to identify mercury, lead and cadmium transmission through forest ecosystems. *Molecular Ecol*ogy, **23**: 3755–3766. https://doi.org/10.1111/mec.12566

Jiménez, R., Burgos, M. & Díaz de la Guardia, R. (1984). Karyotype and chromosome banding in the mole (*Talpa occidentalis*) from the South-East of the Iberian Peninsula. Implications on its taxonomic position. *Caryologia,* **37**: 253-258. https://doi.org/10.1080/00087114.1984.10797705

Jiménez, R., Burgos, M., Sánchez, A. & Díaz de la Guardia, R. (1990). The reproductive cycle of *Talpa occidentalis* in the southeastern Iberian Peninsula. *Acta Theriologica,* **35**: 165-169. https://doi.org/10.4098/AT.arch.90-18

Jiménez, R., Burgos, M., Sánchez, A., Sinclair, A.H., Alarcón, F.J., Marín, J.J., Ortega, E. & Díaz de la Guardia, R. (1993). Fertile females of the mole *Talpa occidentalis* are phenotypic intersexes with ovotestes. *Development,* **118**: 1303-1311. https://doi.org/10.1242/dev.118.4.1303

Jiménez, R., Alarcón, F.J., Sánchez, A., Burgos, M. & Díaz de la Guardia, R. (1996). Ovotestis variability in young and adult females of the mole *Talpa occidentalis* (Insectivora, Mammalia). *Journal of Experimental Zoology,* **274**: 130-137. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19960201)274:2<130::AID-JEZ6>3.0.CO;2-Q

Jirsa, F., Leodolter-Dvorak, M., Krachler, R. & Frank, C. (2008). Heavy metals in the nase, *Chondrostoma nassus* (L. 1758), and its intestinal parasite *Caryophillaeus laticeps* (Pallas 1781) from Austrian rivers: Bioindicative aspects. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **55**: 619-626. https://doi.org/10.1007/s00244-008-9154-1

Julius, R.S., Schwan, E.V. & Chimimba, C.T. (2018). Helminth composition and prevalence of indigenous and invasive synanthropic murid rodents in urban areas of Gauteng Province, South Africa. *Journal of Helminthology*, **92**: 445-454. https://doi.org/10.1017/S0022149X17000761

Jurado, R. (1989). *Toxicología Veterinaria*. Ed. Salvat S.A. Barcelona (España). 636 p

Justine, J.-L. (1991a). Phylogeny of parasitic Platyhelminthes: a critical study of synapomorphies proposed on the basis of the ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa. *Canadian Journal of Zoology,* **69**: 1421-1440. https://doi.org/10.1139/z91-203

Justine, J.-L. (1991b). Cladistic study in the Monogenea (Platyhelminthes), based upon a parsimony analysis of spermiogenetic and spermatozoal ultrastructural characters. *International Journal for Parasitology,* **21**: 821-838. https://doi.org/10.1016/0020-7519(91)90151-V

Justine, J.-L. (1995). Spermatozoal ultrastructure and phylogeny of the parasitic Platyhelminthes. En: Jamieson, B.G.M., Ausió, J. & Justine, J.-L. (Eds.), *Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle,* **166**: 55-86

Justine, J.-L. (1998a). Non-monophyly of the monogeneans? *International Journal for Parasitology,* **28**: 1653-1657. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00060-5

Justine, J.-L. (1998b). Spermatozoa as phylogenetic characters for the Eucestoda. *Journal of Parasitology,* **84**: 385-408. https://doi.org/10.2307/3284502

Justine, J.-L. (1999). Spermatozoa of Platyhelminthes: Comparative Ultrastructure, Tubulin Immunocytochemistry and Nuclear Labeling. En: Gagnon, C. (Ed.), *The Male Gamete. From Basic Science to Clinical Applications.* Cache River Press, Vienna (USA), pp 352-362

Justine, J.-L. (2001). Spermatozoa as phylogenetic characters for the Platyhelminthes. En: Littlewood, D.T.J. & Bray, R.A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes.* Taylor & Francis, London (UK), pp 231-238

Justine, J.-L. & de Roguin, L. (1990). *Capillaria murissylvatici* (Nematoda, Capillariinae), parasite d'un rongeur de Baluchistan Iranien. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Section A Zoologie, Biologie et Ecologie Animales*, **12**: 19-33

Justine, J.-L. & Mattei, X. (1982). Réinvestigation de l'ultrastructure du spermatozoïde d'*Haematoloechus* (Trematoda: Haematoloechidae). *Journal of Ultrastructure Research*, **81**: 322-332. https://doi.org/10.1016/S0022-5320(82)90060-0

Justine, J.-L. & Mattei, X. (1983). A spermatozoon with two 9 + 0 axonemes in a parasitic flatworm, *Didymozoon* (Digenea: Didymozoidae). *Journal of Submicroscopic Cytology*, **15**: 1101-1105

Justine, J.-L. & Poddubnaya, L.G. (2018). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure in basal polyopisthocotylean monogeneans, Hexabothriidae and Chimaericolidae, and their significance for the phylogeny of the Monogenea. *Parasite,* **25**: 7. https://doi.org/10.1051/parasite/2018007

Justine, J.-L., Jamieson, B.G.M. & Southgate, V.R. (1993). Homogeneity of sperm structure in six species of Schistosomes (Digenea, Platyhelminthes). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, **68**: 185-187. https://doi.org/10.1051/parasite/1993684185

Justine, J.-L., Iomini, C., Raikova, O.I. & Mollaret, I. (1998). The homology of cortical microtubules in platyhelminth spermatozoa: a comparative immunocytochemical study of acetylated tubulin. *Acta Zoologica (Stockholm),* **79**: 235-241. https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1998.tb01161.x

K

Kacem, H. & Miquel, J. (2020a). Spermatological characters in the Lepocreadioidea, with first data on *Holorchis pycnoporus* (Aephnidiogenidae), a parasite of the Striped seabream *Lithognathus mormyrus* (*Sparidae*) from the Gulf of Gabes (*Tunisia)*. *Tissue and Cell*, **67**: 101409. https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101409

Kacem, H. & Miquel, J. (2020b). Sperm ultrastructure of *Prodistomum polonii* (Digenea, Lepocreadioidea), an intestinal parasite of the Atlantic horse mackerel, *Trachurus trachurus (Teleostei, Carangidae),* from the Gulf of Gabes, Mediterranean Sea. *Zoologischer Anzeiger*, **286**: 100-107. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2020.04.004

Kacem, H., Quilichini, Y., Neifar, L., Torres, J. & Miquel, J. (2017a). Ultrastructure of the spermatozoon of *Macvicaria obovata* (Digenea, Opecoelidae), a parasite of *Sparus aurata (Pisces, Teleostei)* from the Gulf of Gabès, Mediterranean Sea. *Acta Parasitologica,* **62**: 520-528. https://doi.org/10.1515/ap-2017-0062

Kacem, H., Blasco, S., Foronda, P. & Miquel, J. (2017b). Sperm characters of *Timoniella imbutiforme* (Digenea, Opisthorchioidea, Cryptogonimidae), a parasite of the European seabass *Dicentrarchus labrax. Zoologischer Anzeiger*, **271**: 49-56. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2017.11.005

Kacem, H., Świderski Z. & Miquel, J. (2019a). Sperm cell ultrastructure of the haplosplanchnid *Haplosplanchnus caudatus* (Platyhelminthes: Digenea) - an intestinal parasite of *Mugil cephalus*, and its potential phylogenetic application. *Zoologischer Anzeiger,* **283**: 201-206. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2019.09.002

Kacem, H., Diagne, P.M. & Miquel, J. (2019b). Ultrastructural organisation of the spermatozoon of *Allopodocotyle tunisiensis* Derbel and Neifar, 2009 (Digenea, Opecoelidae), an intestinal parasite of *Solea aegyptiaca* Chabanaud, 1927 (Teleostei, Soleidae). *Tissue and Cell*, 57: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.01.008

Kacem, H., Giese, E.G. & Miquel, J. (2020). Sperm characters in the Hemiuridae (Digenea): first data on *Aphanurus stossichii* (Aphanurinae) and *Ectenurus lepidus* (Dinurinae). *Parasitology Research*, **119**: 991-999. https://doi.org/10.1007/s00436-020-06609-3

Kachamakova, M., Mutafchiev, Y., Nikolov, P.N. & Koshev, Y. (2023). Conservation of host, translocation of parasites – Monitoring of helminths during population reinforcement of the European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*). *Diversity*, **15:** 266. https://doi.org/10.3390/d15020266

Kataranovski, M., Zolotarevski, L., Belij, S., Mirkov, I., Stošić, J., Popov, A. & Kataranovski, D. (2010). First record of *Calodium hepaticum* and *Taenia taeniaeformis* liver infection in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*) in Serbia. *Archives of Biological Sciences*, **62**: 431-440. https://doi.org/10.2298/ABS1002431K

Kazimierczak, K., Górski, P. & Laskowski, Z. (2006). Red fox (*Vulpes vulpes*) a new host species for acanthocephalan *Moniliformis moniliformis* (Bremser, 1811) in Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*, **52**: 135-136

Kennedy, C.R. (1997). Freshwater fish parasites and environmental quality: an overview and caution. *Parasitology,* **39**: 249-254

Khaldi, M., Torres, J., Samsó, B., Miquel, J., Biche, M., Benyettou, M., Barech, G., Benelkadi, H.A. & Ribas, A. (2012). Endoparasites (helminths and coccidians) in the hedgehogs *Atelerix algirus* and *Paraechinus aethiopicus* from Algeria. *African Zoology*, **47**: 48-54. https://doi.org/10.1080/15627020.2012.11407522

Khaleghzadeh-Ahangar, H., Malek, M. & McKenzie, K. (2011). The parasitic nematodes *Hysterothylacium* sp. type MB larvae as bioindicators of lead and cadmium: a comparative study of parasites and host tissues. *Parasitology*, **138**: 1400-1405. https://doi.org/10.1017/S0031182011000977

Khalil, L.F., Jones, A. & Bray, R.A. (1994). *Keys to the cestodes parasites of vertebrates*. CAB International, Wallingford (UK). 751 p

King, K.C., Mclaughlin, J.D., Boily, M. & Marcogliese, D.J. (2010). Effects of agricultural landscape and pesticides on parasitism in native bullfrogs. *Biological Conservation*, **143**: 302-310. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.10.011

Kirillova, N.Yu. & Kirillov, A.A. (2017). Overview of helminths in small mammals in the Zhiguli State Reserve. *Nature Conservation Research*, **2**: 24-37. https://doi.org/10.24189/ncr.2017.007

Kirillova, N.Yu., Kirillov, A.A., Ruchin, A.B., & Trukhachev, M.V. (2020). Helminth fauna of *Microtus cf. arvalis* (Rodentia, Cricetidae) in Russia and adjacent countries. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, **21**: 1961-1979. https://doi.org/10.13057/biodiv/d210524

Kirillova, N.Yu., Kirillov, A.A. & Ruchin, A.B. (2021a). First record of the European pine vole, *Microtus subterraneus* (Rodentia: Cricetidae) in Russia with overview on the rodent's range. *Russian Journal of Theriology*, **20**: 19-24. https://doi.org/10.15298/RUSJTHERIOL.20.1.03

Kirillova, N.Yu., Ruchin, A.B. & Kirillov A.A. (2021b). Helminths in myomorph rodents (Rodentia: Myomorpha) from the National Park "Smolny" and its surroundings (European Russia). *Forests*, **12**: 1510. https://doi.org/10.3390/f12111510

Kisielewska, K. (1971). Intestinal helminths as indicators of a of the age structure of *Microtus arvalis* Pallas, 1778 population. *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences - Série des Sciences Biologiques*, **19**: 275-282

Klein, S.L. (2004). Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology*, **26**: 247-264. https://doi.org/10.1111/j.0141-9838.2004.00710.x

Klimpel, S., Förster, M. & Schmal, G. (2007). Parasite fauna of the bank vole (*Clethrionomys glareolus*) in an urban region of Germany: reservoir host or zoonotic metazoan parasites? *Parasitology Research*, **102**: 69-75. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0725-2

Koizumi, T., Nogami, S. & Yokohata, Y. (2011). Gastrointestinal helminth fauna of the lesser Japanese mole (*Mogera imaizumii*) in Kanagawa Prefecture, Japan, and analyses on infection status of two parasitic nematodes species of the host. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **16**: 121-126

Kopp, R. (1993). *Étude de l'impact de la forme fouisseuse du Campagnol terrestre, Arvicola terrestris scherman (Shaw), sur la végétation d'une prairie*. PhD dissertation, Université de Lausanne (Suisse)

Krasnov, B.R., Morand, S., Hawlena, H., Khokhlova, I.S. & Shenbrot, G.I. (2005). Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia*, **146**: 209-217. https://doi.org/10.1007/s00442-005-0189-y

Krasnov, B.R., Bordes, F., Khokhlova, I.S. & Morand, S. (2012). Gender-biased parasitism in small mammals: patterns, mechanisms, consequences. *Mammalia*, **76**: 1-13. https://doi.org/10.1515/mammalia-2011-0108

Krebs, J.R. & Kacelnik, A. (1991). A decision making. En: Krebs, J.R. & Davies, N.B. (Eds.), *Behavioural ecology and evolutionary approach*. Blackwell Scientific, Oxford (UK), pp 105-136

Krishnasamy, M., Singh, K.I., Ambu, S. & Ramachandran, P. (1980). Seasonal prevalence of the helminth fauna of the wood rat *Rattus tiomanicus* (Miller) in west Malaysia. *Folia Parasitologica (Praha)*, **27**: 231-235

Kryštufek, B., Koren, T., Engelberger, S., Horváth, G.F., Purger, J.J., Arslan, A., Chişamera, G. & Murariu, D. (2015). Fossorial morphotype does not make a species in water voles. *Mammalia*, **79**: 293-303. https://doi.org/10.1515/mammalia-2014-0059

L

Lafferty, K.D. & Kuris, A.M. (1999). How environmental stress affects the impacts of parasites. *Limnology and Oceanography,* **44**: 925-931. https://doi.org/10.4319/lo.1999.44.3_part_2.0925

Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. & Ramade, F. (1998). *Utilisation de Biomarqueurs pour la Surveillance de la Qualité de l'Environnement*. Ed. Lavoisier, Tec&Doc, Paris (France). 316 p

Langeron, M. (1949). *Precís de Microscopie, Tome 1, Tome 2.* Masson et Cie, Paris (France). 1430 p

Lapini, L. & Paolucci, P. (1992). *Arvicola terrestris scherman* (Shaw, 1801) in North-Eastern Italy (Mammalia: Arvicolidae). *Bulletin of the Natural History Museum of Venice*, **43**: 231-234.

Lavikainen, A., Iwaki, T., Haukisalmi, V., Konyaev, S.V., Casiraghi, M., Dokuchaev, N.E., Galimberti, A., Halajian, A., Henttonen, H., Ichikawa-Seki, M., Itagaki, T., Krivopalov, A.V., Meri, S., Morand, S., Närebo, A., Olsson, G.E., Ribas, A., Terefe, Y. & Nakao, M. (2016). Reappraisal of *Hydatigera taniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda: Taeniidae) sensu lato with description of *Hydatigera kamiyani* n. sp. *International Journal for Parasitology*, **46**: 361-374. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.01.009

Le Roux, S., Baker, P. & Crouch, A. (2016). Bioaccumulation of total mercury in the earthworm *Eisenia andrei*. *Springerplus*, **5**: 681. https://doi.org/10.1186/s40064-016-2282-6

Lee, B.-W., Jeon, B.-S., Kim, H.-S., Kim, H.-C-. & Yoon, B.-I. (2016). *Cysticercus fasciolaris* infection in wild rats (*Rattus norvegicus*) in Korea and formation of cysts by remodeling of collagen fibers. *Journal of Veterinary Diagnosis Investigation*, **28**: 263-270. https://doi.org/10.1177/1040638716643129

Lefkovitch, L.P. (1966). An index of spatial distribution. *Population Ecology*, **8**: 89-92. https://doi.org/10.1007/BF02518798

Leite, L.A.R., Pedro, N.H.O., de Azevedo, R.K., Kinoshita, A., Gennari, R.F., Watanabe, S. & Abdallah, V.D. (2017). *Contracaecum* sp. parasitizing *Acestrorhynchus lacustris* as a bioindicator for metal pollution in the Batalha River, southeast Brazil. *Science of The Total Environment*, **575**: 836-840. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.132

Levron, C., Miquel, J., Oros, M. & Scholz, T. (2010). Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): advances in ultrastructural and phylogenetic studies. *Biological Reviews,* **85**: 523-543. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00114.x

Lewis, J.W. (1968). Studies on the helminth parasites of the long-tailed field mouse, *Apodemus sylvaticus sylvaticus* from Wales. *Journal of Zoology*, **154**: 287-312. https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1968.tb01665.x

Lewis, L.A., Poppenga, R.J., Davidson, W.R., Fischer, J.R. & Morgan, K.A. (2001). Lead toxicosis and trace element levels in wild birds and mammals at a firearms training facility. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* **41**: 208–214. https://doi.org/10.1007/s002440010239

Li, L., Xu, Z., Wu, J. & Tian, G. (2010). Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource Technology*, **101**: 3430–3436. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.085

Libersat, F. & Moore, J. (2000). The parasite *Moniliformis moniliformis* alters the escape response of its cockroach host *Periplaneta americana*. *Journal of Insect Behaviour*, **13**: 103-110. https://doi.org/10.1023/A:1007719710664

Lisitsyna, O.I. (2010). Morphological variability of *Plagiorhynchus* (*Prosthorhynchus*) *cylindraceus* (Acanthocephala, Plagiorhynchidae) and its importance in assessment of taxonomy structure of this subgenus. *Vestnik Zoologii*, **44**: 533-542. https://doi.org/10.2478/v10058-010-0035-5

Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. & Clough, K.A. (1998). A phylogeny of the Platyhelminthes: towards a total-evidence solution. *Hydrobiologia,* **383**: 155-160. https://doi.org/10.1023/A:1003436821134

Lõhmus, M. & Sundström, L.F. (2004). Leptin and social environment influence the risk-taking and feeding behaviour of Asian blue quail. *Animal Behaviour*, **68**: 607-612. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.12.019

Lõhmus, M., Moalem, S. & Björklund, M. (2012). Leptin, a tool of parasites? *Biology Letters*, **8**: 849-852. http://doi.org/10.1098/rsbl.2012.0385

Loos-Frank, B. (1987). Larval cestodes in southwest german rodents. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*, **74**: 97-106

López-Neyra, C.R. (1946). Compendio de Helmintología Ibérica (Continuación). Parte II. Capítulo IV. Clase Acanthocephala Rudolphi, 1808. *Revista Ibérica de Parasitología*, **6**: 3-50

Lotfy, W.M., Ezz, A.M. & Hassan, A.A.M. (2013). Bioaccumulation of Some Heavy Metals in the Liver Flukes *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Iranian Journal of Parasitology*, **8**: 552-558

Loureiro, C.C.P. (2014). *Efeito da exclusão do pastoreiro na distribução e actividade da toupeira ibérica, Talpa occidentalis, na Companhia des Lezírias.* Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências. Tese de Maestrado. Biologia (Biologia da Conservaçao). 64 p

Löwenstein, M. & Kutzer, E. (1993). The distribution and biology of *Capillaria garfiai* from *Sus scrofa*. *Applied Parasitology*, **34**: 51-62

Loy, A., Dupré, E. & Capanna, E. (1994). Territorial behaviour in *Talpa romana*, a fossorial insectivore from southcentral Italy. *Journal of Mammalogy*, **75**: 529-535**.** https://doi.org/10.2307/1382577

Lynggaard, C., García-Prieto, L., Guzmán-Cornejo, C. & García-Varela, M. (2021). Description of a new species of *Moniliformis* (Acantocephala: Moniliformidae) from *Peromyscus hylocetes* (Rodentia: Cricetidae) in Mexico. *Parasitology International*, **83**: 102315. https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102315

M

Ma, W.C. & Talmage, S.S. (2001). Insectivora**.** En: Shore, R.F. & Rattner, B.A. (Eds.), *Ecotoxicology of wild mammals*. Wiley, Chichester (UK), pp 123–158

Mafiana, C.F., Osho, M.B. & Sam-Wobo, S. (1997). Gastrointestinal helminth parasites of the black rat (*Rattus rattus*) in Abeokuta, southwest Nigeria. *Journal of Helminthology*, **71**: 217-220. https://doi.org/10.1017/s0022149x00015947

Magurran, A.E. (1988). *Ecological diversity and its measurement.* Croom Helm, London (UK). 178 p. https://doi.org/10.1007/978-94-015-7358-0

Mair, I., Else, K.J. & Forman, R. (2021). *Trichuris muris* as a tool for holistic discovery research: from translational research to environmental bio-tagging. *Parasitology*, **148**: 1722-1734. https://doi.org/10.1017/S003118202100069X

Makarikov, A.A. & Binkiené, R. (2022). Redescription and taxonomic position of *Rodentolepis* (*sensu lato*) *asymmetrica* (Janicki, 1904), with the erection of *Kontrimavichusia* n. g. (Eucestoda: Hymenolepididae) from arvicoline rodents (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Helminthology*, **96**: E63. https://doi.org/10.1017/S0022149X22000505

Makarikov, A.A., Stakheev, V.V. & Orlov, V.N. (2017). On helminth fauna of rodents from the Northwest Caucasus. *Parazitologiia*, **51**: 317-328

Malek, M., Haseli, M., Mobedi, I., Ganjali, M.R. & MacKenzie, K. (2007). Parasites as heavy metal bioindicators in the shark *Carcharhinus dussumieri* from the Persian Gulf. *Parasitology*, **134**: 1053-1056. https://doi.org/10.1017/S0031182007002508

Mariaux, J. (1998). A molecular phylogeny of the Eucestoda. *Journal of Parasitology*, **84**: 114-124. https://doi.org/10.2307/3284540

Mas-Coma, S. (1976). *Contribución al conocimiento de la helmintofauna de micromamíferos en España.* Tomos I y II. Universitat de Barcelona, Facultad de Farmacia. Tesis Doctoral. 527 p

Mas-Coma, S. & Montoliu, I. (1986). The life cycle of *Brachylaima ruminae* n. sp. (Trematoda: Brachylaimidae), a parasite of rodents. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **72**: 739-753. https://doi.org/10.1007/BF00925095

Mas-Coma, S. & Montoliu, I. (1987). The life cycle of *Dollfusinus frontalis*, a brachylaimid trematode of small mammals (Insectivora and Rodentia). *International Journal for Parasitology*, **17**: 1063-1079. https://doi.org/10.1016/0020-7519(87)90159-7

Mas-Coma, S. & Montoliu, I. (1995). Life cycle of *Pseudoleucochloridium pericardicum* n. sp. (Trematoda: Brachylaimidae), a parasite of shrews (Insectivora: Soricidae) in the Oriental Pyrenees. *Research and Reviews in Parasitology*, **55**: 155-171

Mas-Coma, S., Tenora, F. & Rocamora, J.M. (1978). A contribution to knowledge of the helminth fauna of Iberian small mammals. V. The parasites of *Microtus agrestis* Linnaeus, 1761 and *Microtus nivalis* Martins, 1842 (Rodentia: Microtidae). *Revista Ibérica de Parasitología,* **38**: 63-72

Mas-Coma, S., Esteban, J.G. & Valero, M.A. (1986). The genus *Scaphiostomum* Braun, 1901 (Trematoda: Brachylaimidae): a systematic review and description of *Scaphiostomum palaearcticum* n. sp. *Systematic Parasitology*, **8**: 141-150. https://doi.org/10.1007/BF00009870

Mas-Coma, S., Esteban, J.G., Fuentes, M.V., Bargues, M.D., Valero, M.A. & Galan-Puchades, M.T. (2000). Helminth parasites of small mammals (insectivores and rodents) on the Pityusic island of Eivissa (Balearic Archipelago). *Research and Reviews in Parasitology*, **60**: 41-49

Mascato, F.A., Rey, J., Bos, J., Peris, D., Paniagua, E. & Blanco, P. (1993). Parásitos Capillariinae (Nematoda) de algunas especies de micromamíferos gallegos. *Nova Acta Científica Compostelana (Bioloxía)*, **4**: 111-120

Mathews, F., Moro, D., Strachan, R., Gelling, M. & Buller, N. (2006). Health surveillance in wildlife reintroductions. *Biological Conservation*, **131**: 338-347. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.04.011

Mathison, B.A., Mehta, N. & Couturier, M.R. (2021). Human acanthocephaliasis: a thorn in the side of parasite diagnostics. *Journal of Clinical Microbiology*, **59**: e0269120. https://doi.org/10.1128/JCM.02691-20

Mathy, A., Hanosset, R., Adant, S. & Losson, B. (2009). The carriage of larval *Echinococcus multilocularis* and other cestodes by the musk rat (*Ondatra zibethicus*) along the Ourthe river and its tributaries (Belgium). *Journal of Wildlife Diseases*, **45**: 279-287. https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.2.279

Matoušková, M., Bílý, T., Bruňanská, M., Mackiewicz, J.S. & Nebesářová, J. (2018). Ultrastructural, cytochemistry and electron tomography analysis of *Caryophyllaeides fennica* (Schneider, 1902) (Cestoda: Lytocestidae) reveals novel spermatology characteristics in the Eucestoda. *Parasitology Research,* **117**: 3091-3102. https://doi.org/10.1007/s00436-018-6001-9

Matoušková, M., Bílý, T., Bruňanská, M., Oros, M., Kostič, B. & Nebesářová, J. (2019). New data on spermiogenesis and trepaxonematan axoneme in basal tapeworms (Cestoda, Caryophyllidea, Lytocestidae) parasitizing cyprinid fishes. *Scientific Reports,* **9**: 12881. https://doi.org/10.1038/s41598-019-49312-9

Mazhar, R., Shazili, N.A. & Harrison, F.S. (2014). Comparative study of the metal accumulation in *Hysterothalycium reliquens* (nematode) and *Paraphilometroides nemipteri* (nematode) as compared with their doubly infected host, *Nemipterus peronei* (Notched threadfin bream). *Parasitology Research*, **113**: 3737-3743. https://doi.org/10.1007/s00436-014-4039-xç

Mehana, E.E., Khafaga, A.F., Elblehi, S.S., Abd El-Hack, M.E., Naiel, M.A.E., Bin-Jumah, M., Othman, S.I. & Allam, A.A. (2020). Biomonitoring of Heavy Metal Pollution Using Acanthocephalans Parasite in Ecosystem: An Update Overview. *Animals*, **10**: 811. https://doi.org/10.3390/ani10050811

Melvin, A.M. & Brooke, M.M. (1971). *Métodos de laboratorio para diagnóstico de parasitosis intestinales.* Nueva Editorial Interamericana, Mexico D.F. (Mexico). 198 p

Mendenhall, I.H., Ch'ng, L. Neves, E.S., Borthwick, S.A. & Smith, G.J.D. (2018). High diversity of medically important gastrointestinal rodent-borne helminths in Singapore. *Zoonoses Public Health*, **65**: 361-366. https://doi.org/10.1111/zph.12438

Mendes, P., Eira, C., Vingada, J., Miquel, J. & Torres, J. (2013). The system *Tetrabothrius bassani* (Tetrabothriidae)/*Morus bassanus* (Sulidae) as a bioindicator of marine heavy metal pollution. *Acta Parasitologica*, **58**: 21-25. https://doi.org/10.2478/s11686-013-0102-5

Mészáros, F. (1977). Parasitic nematodes of *Microtus arvalis* (Rodentia) in Hungary. *Parasitologia Hungarica*, **10**: 67-83

Mészáros, F. & Murai, É. (1979). Contribution to the knowledge of helminths of rodents in Roumania. *Parasitologia Hungarica*, **12**: 55-70

Meylan, A. (1977). Fossorial forms of the water vole, *Arvicola terrestris* (L.), in Europe. *EPPO Bulletin,* **7**: 209–218. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1977.tb02723.x

Meylan, A. & Airoldi, J.P. (1975). Reproduction hivernale chez *Arvicola terrestris scherman* Shaw (Mammalia, Rodentia). *Revue suisse de Zoologie*, **82**: 689-694

Mijošek, T., Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Ivanković, D., Krasnići, N., Redžović, Z., Veseli, M., Gottstein, S., Lajtner, J., Sertić Perić, M., Matoničkin Kepčija, R. & Erk, M. (2020). Thallium accumulation in different organisms from karst and lowland rivers of Croatia under wastewater impact. *Environmental Chemistry*, **17**: 201-212. https://doi.org/10.1071/EN19165

Milazzo, C., Casanova, J.C., Aloise, G., Ribas, A. & Cagnin, M. (2002). The helminth community of *Talpa romana* (Thomas, 1902) (Insectivora, Talpidae) in southern Italy. *Parasitology Research*, **88**: 979–983. https://doi.org/10.1007/s00436-002-0698-0

Milazzo, C., Casanova, J.C., Aloise, G., Ribas, A. & Cagnin, M. (2003). Helminths of the bank vole *Clethrionomys glareolus* (Rodentia, Arvicolinae) in Southern Italy. *Italian Journal of Zoology*, **70**: 333-337. https://doi.org/10.1080/11250000309356539

Milazzo, C., Aloise, G., Cagnin, M., Di Bella, C., Geraci, F., Feliu, C. & Casanova, J.C. (2005). Helminths of *Apodemus sylvaticus* (Muridae) distributed on the Southern European border (Italian Peninsula). *Vie et Milieu / Life and Environment*, **55**: 45-51

Milazzo, C., Ribas, A., Casanova, J.C., Cagnin, M., Geraci, F. & Di Bella, C. (2010a). Helminths of the brown rat (*Rattus norvegicus*) (Berkenhout, 1769) in the city of Palermo, Italy. *Helminthologia*, **47**: 238-240. https://doi.org/10.2478/s11687-010-0037-4

Milazzo, C., Di Bella, C., Casanova, J.C., Ribas, A. & Cagnin, M. (2010b). Helminth communities of wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) on the river Avena (Calabria, southern Italy). *Hystrix*, **21**: 171-176. https://doi.org/10.4404/hystrix-21.2-4477

Miller, G.S. Jr (1912). *Catalogue of the Mammals of Western Europe (Europe exclusive of Russia) in the collection of the British Museum*. British Museum (Natural History), London (UK). 1019 p. https://doi.org/10.5962/bhl.title.8345

Miller, A.L., Olsson, G.E., Sollenberg, S., Walburg, M.R., Skarin, M. & Höglund, J. (2017). Transmission ecology of taeniid larval cestodes in rodents in Sweden, a low endemic area for *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology*, **144**: 1041-1051. https://doi.org/10.1017/S0031182017000257

Miñarro, M., Montiel, C. & Dapena, E. (2012). Vole pests in apple orchards: use of presence signs to estimate the abundance of *Arvicola terrestris cantabriae* and *Microtus lusitanicus*. *Journal of Pest Science,* **85**: 477-488. https://doi.org/10.1007/s10340-012-0438-x

Miñarro, M., Somoano, A. & Ventura, J. (2017). Intra-annual continuous reproduction of the apple pest *Microtus lusitanicus*: Implications for management. *Crop Protection,* **96**: 164-172. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.020

Miño, M.H., Rojas Herrera, E.J. & Notarnicola, J. (2013). The wild rodents *Akodon azarae* (Cricetidae: Sigmodontinae) as intermediate host of *Taenia taeniaeformis* (Cestoda: Cyclophyllidea) on poultry farms of central Argentina. *Mastozoología Neotropical*, **20**: 407-412

Miño, M.H., Rojas Herrera, E.J., Notarnicola, J. & Hodara, K. (2019). Helminth community from Azara's grass mouse (*Akodon azarae*) in three habitats with different land use in farming system of Argentina. *Journal of Helminthology*, **93**: 187-194. https://doi.org/10.1017/S0022149X18000032

Miquel, J. & Marchand, B. (2001). Tubulin immunocytochemistry of the spermatozoa in the cestode *Mesocestoides litteratus* (Mesocestoididae). *Acta Parasitologica,* **46**: 130-134

Miquel, J., Feliu, C. & Marchand, B. (1999). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mesocestoides litteratus* (Cestoda, Mesocestoididae). *International Journal for Parasitology,* **29**: 499-510. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00202-1

Miquel, J., Nourrisson, C. & Marchand, B. (2000). Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Opecoeloides furcatus* (Trematoda, Digenea, Opecoelidae), a parasite of *Mullus barbatus* (Pisces, Teleostei). *Parasitology Research*, **86**: 301-310. https://doi.org/10.1007/s004360050047

Miquel, J., Fournier-Chambrillon, C., Fournier, P. & Torres, J. (2006). Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the cranial digenean *Troglotrema acutum* (Leuckart, 1842). *Journal of Parasitology*, **92**: 441-453. https://doi.org/10.1645/GE-743R.1

Miquel, J., Eira, C., Świderski, Z. & Conn, D.B. (2007). *Mesocestoides lineatus* (Goeze, 1782) (Mesocestoididae): new data on sperm ultrastructure. *Journal of Parasitology,* **93**: 545-552. https://doi.org/10.1645/GE-1008R.1

Mira, A. & Mathias, M.L. (2007). *Microtus lusitanicus* Gerbe, 1879. En: Palomo, L.J., Gisbert, J. & Blanco, J.C. (Eds.), *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos de España.* Dirección General de la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid (España), pp 418-421

Mishra, G.S. & González, J.P. (1975). Account of a study on the endo parasites of the rat *Rattus-norvegicus* in Tunis. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, **52**: 71-88

Mitkovska, V.I., Dimitrov, H.A. & Chassovnikarova, T.G. (2020). Chronic exposure to lead and cadmium pollution results in genomic instability in a model biomonitor species (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **194**: 110413. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110413

Mollaret, I. & Justine, J.-L. (1997). Immunocytochemical study of tubulin in the 9+'1' sperm axoneme of a monogenean (Platyhelminthes), *Pseudodactylogyrus* sp. *Tissue and Cell,* **29**: 699-706. https://doi.org/10.1016/S0040-8166(97)80045-6

Mollhagan, T. (1978). Habitat influence on helminth parasitism of the cotton rat in western Texas, with remarks on some of the parasites. *Southwestern Naturalist*, **23**: 401-407. https://doi.org/10.2307/3670248

Montgomery, S.S.J. & Montgomery, W.I. (1989). Spatial and temporal variation in the infracommunity structure of helminths of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae). *Parasitology*, **98**: 145-150. https://doi.org/10.1017/s0031182000059783

Moore, J. (1984). Parasites that change behavior of their host. *Scientific American*, **250**: 108-115.

Moradpour, N., Borji, H., Darvish, J., Moshaverina, A. & Mahmoudi, A. (2018). Rodents helminth parasites in different region of Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, **13**: 275-284.

Morand, S. & Krasnov, B. (2008). Why apply ecology laws to epidemiology? *Trends in Parasitology*, **24**: 304-309. https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.003

Moravec, F. (1982). Proposal of a new siystematic arrangement of nematodes of the family Capillariidae. *Folia Parasitologica*, **29**: 119-132

Moreno, M.D. (2003). *Toxicología ambiental: Evaluación de riesgo para la salud humana.* Ed. McGraw-Hill, Madrid (España). 384 p

Morilhat, C., Bernard, N., Foltête, J.-C. & Giraudoux, P. (2008). Neighbourhood landscape effect on population kinetics of the fossorial water vole (*Arvicola terrestris scherman*). *Landscape Ecology,* **23**: 569-579. https://doi.org/10.1007/s10980-008-9216-9

Morris, T., Avenant-Oldewage, A., Lamberth, S. & Reed, C. (2016). Shark parasites as bio-indicators of metals in two South African embayments. *Marine Pollution Bulletin*, **104**: 21-228. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.027

Morsy, K., Bashtar, A.-R., Abdel-Ghaffar, F., Mehlhorn, H., Al Quraishy, S., El-Mahdi, M., Al-Ghamdi, A. & Mostafa, N. (2012). First record of anisakid juveniles (Nematoda) in the European seabass *Dicentrarchus labrax* (family: Moronidae), and their role as bio-indicators of heavy metal pollution. *Parasitology Research*, **110**: 1131-1138. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2600-4

Movsesyan, S.O., Nikoghosian, M.A., Petrosina, R.A., Vlasov, E.A. & Kuznetsov, D.N. (2018). Nematodes of rodents of Armenia. *Annals of Parasitology*, **64**: 173-180. https://doi.org/10.17420/ap6403.148

Murai, É. (1968). The lesser mole rat (*Spalax leucodon*, Nordm.) as a new host of *Moniliformis moniliformis* (Bremser, 1811) Meyer, 1933 (Acanthocephala, Moniliformidae). *Parasitologia Hungarica*, **1**: 109-118

Murai, É. (1972). Review of tapeworms (Cestodes) of rodents of the genus *Apodemus* in Hungary. *Parasitologia Hungarica*, **5**: 47-82

Murai, É. (1974). Review of tapeworms in Microtinae from Hungary. *Parasitologia Hungarica*, **7**: 111-141

Murai, É. (1982). Taeniid species in Hungary (Cestoda: Taeniidae). II. Larval stages of taeniids parasitizing rodents and lagomorphs. *Miscellanea Zoologica Hungarica*, **1**: 27-44

Musser, G.G. & Carleton, M.C. (2005). *Arvicola* Lacépède, 1799; *Arvicola amphibius* (Linnaeus, 1758); *Arvicola scherman* (Shaw, 1801). En: Wilson, D.E. & Reeder, D.M. (Eds.), *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. 3ª edición. Johns Hopkins University Press, Baltimore (USA). 2142 p

N

Nachev, M. & Sures, B. (2016). Environmental Parasitology: Parasites as accumulation bioindicators in the marine environment. *Journal of Sea Research*, **113**: 45-50. http://doi.org/10.1016/j.seares.2015.06.005

Nachev, M., Zimmermann, S., Rigaud T. & Sures, B. (2010). Is metal accumulation in *Pomphorhynchus laevis* dependent on parasite sex or infrapopulation side? *Parasitology*, **137**: 1239-1248. https://doi.org/10.1017/S0031182010000065

Nachev, M., Schertzinger, G. & Sures, B. (2013). Comparison of the metal accumulation capacity between the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* and larval nematodes of the genus *Eustrongylides* sp. infecting barbel (*Barbus barbus*). *Parasites & Vectors*, **6**: 21. https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-21

Nahmani, J., Hodson, M.E. & Black, S. (2007). A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environmental Pollution*, **145**: 402-424. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.009

Nakao, M., Lavikainen, A., Iwaki, T., Haukisalmi, V., Konyaev, S., Oku, Y., Okamoto, M. & Ito, A. (2013). Molecular phylogeny of the genus *Taenia* (Cestoda: Taeniidae): Proposals for the resurrection of *Hydatigera* Lamarck, 1816 and the creation of a new genus *Versteria*. *International Journal for Parasitology*, **43**: 427-437. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.11.014

Nakao, M., Waki, T., Sasaki, M., Anders, J.L., Koga, D. & Asakawa, M. (2017). *Brachylaima ezohelicis* sp. nov. (Trematoda: Brachylaimidae) found from the land snail *Ezohelix gainesi*, with a note of an unidentified *Brachylaima* species in Hokkaido, Japan. *Parasitology International*, **66**: 240-249. https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.01.015

Nakao, M., Sasaki, M., Waki, T., Anders, J.L. & Katahia, H. (2018). *Brachylaima asakawai* sp. nov. (Trematoda: Brachylaimidae), a rodent intestinal fluke in Hokkaido, Japan, with a finding of the first and second intermediate hosts. *Parasitology International*, **67**: 565-574. https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.04.010

Ndiaye, P.I., Miquel, J., Bâ, C.T., Feliu, C. & Marchand, B. (2002). Spermiogenesis and sperm ultrastructure of *Scaphiostomum palaearcticum* Mas-Coma, Esteban et Valero, 1986 (Trematoda, Digenea, Brachylaimidae). *Acta Parasitologica,* **47**: 259-271

Ndiaye, P.I., Miquel, J., Fons, R. & Marchand, B. (2003). Spermiogenesis and sperm ultrastructure of the liver fluke *Fasciola hepatica* L., 1758 (Digenea, Fasciolidae): transmission and scanning electron microscopy, and tubulin immunocytochemistry. *Acta Parasitologica,* **48**: 182-194

Ndiaye, P.I., Diagne, P.M., Sène, A., Bakhoum, A.J.S. & Miquel, J. (2012a). Ultrastructure of the spermatozoon of the digenean *Lecithocladium excisum* (Rudolphi, 1819) (Hemiuroidea: Hemiuridae), a parasite of marine teleosts in Senegal. *Folia Parasitologica*, **59**: 173-178. https://doi.org/10.14411/fp.2012.024

Ndiaye, P.I., Quilichini, Y., Sène, A., Tkach, V.V., Bâ, C.T. & Marchand, B. (2012b). Ultrastructural study of the spermatozoon of the digenean *Enodiotrema reductum* Looss, 1901 (Platyhelminthes, Plagiorchioidea, Plagiorchiidae), parasite of the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in Senegal. *Parasitology Research*, **111**: 859-864. https://doi.org/10.1007/s00436-012-2911-0

Ndiaye, P.I., Bakhoum, A.J.S., Sène, A. & Miquel, J. (2013a). Ultrastructure of the spermatozoon of *Parahemiurus merus* (Linton, 1910) (Digenea: Hemiuroidea: Hemiuridae), a parasite of *Sardinella aurita* Valenciennes, 1847 and *S. maderensis* (Lowe, 1838) (Teleostei: Clupeidae) in the Senegalese coast. *Zoologischer Anzeiger*, **252**: 572-578. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2012.11.005

Ndiaye, P.I., Quilichini, Y., Sène, A., Bray, R.A., Bâ, C.T. & Marchand, B. (2013b). *Prosorchis palinurichthi* Kurochkin, Parukhin & Korotaeva, 1971 (Digenea, Sclerodistomidae): ultrastructure of the mature spermatozoon. *Zoologischer Anzeiger*, **252**: 404-409. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2012.11.001

Ndiaye, P.I., Quilichini, Y., Sène, A., Tkach, V.V., Bâ, C.T. & Marchand, B. (2014). Ultrastructural characters of the spermatozoa in Digeneans of the genus *Lecithochirium* Lühe, 1901 (Digenea, Hemiuridae), parasites of fishes: comparative study of *L. microstomum* and *L. musculus*. *Parasite*, **21**, 49. https://doi.org/10.1051/parasite/2014050

Ndiaye, P.I., Bakhoum, A.J.S., Sène, A., Diagne, P.M. & Miquel, J. (2015). The ultrastructural characters of the mature spermatozoon of *Opechona bacillaris* (Molin, 1859) (Digenea, Lepocreadiidae) a parasite of *Scomber colias* Gmelin, 1789 (Scombridae) off the coast of Dakar (Senegal). *Acta Zoologica (Stockholm)*, **96**: 91-98. https://doi.org/10.1111/azo.12054

Ndiaye, P.I., Quilichini, Y., Marigo, A.M., Bâ, C.T., Tkach, V.V. & Marchand, B. (2017). Ultrastructural characteristics of the mature spermatozoon of the digenean *Sclerodistomum italicum* (Stossich, 1893) (Hemiuroidea, Sclerodistomidae) intestinal parasite of *Hypocanthus amia* (Teleostei, Carangidae). *Tissue and Cell*, **49**: 15-21. https://doi.org/10.1016/j.tice.2016.12.007

Nesemeri, L. & Hollo, F. (1961). *Diagnóstico parasitológico veterinario.* Editorial Acribia, Zaragoza (España). 303 p

Newey, S. & Thirgood, S.J. (2004). Parasite-mediated reduction in fecundity of mountain hares. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, **271**: S413-S415. http://doi.org/10.1098/rsbl.2004.0202

Newman, M.C. (2019). *Fundamentals of Ecotoxicology. The Science of Pollution*. CRC Press, Boca Raton (USA). 708 p. https://doi.org/10.1201/9781351133999

Nickel, S. & Buchwald, G.W. (1979). Contributions to the parasitic fauna of the GDR. 4. Studies of the presence of helminths in the brown rat (*Rattus norvegicus*). *Angewandte Parasitologie*, **20**: 131-136

Nickol, B.B. & Oetinger, D.F. (1968). *Prosthorhynchus formossus* from the short-tailed shrew (*Blarina brevicauda*) in New York State. *Journal of Parasitology*, **54**: 456. https://doi.org/10.2307/3277066

Niethammer, J. & Krapp, F. (1982). *Handbuch der Säugetiere Europas.* Vol. 2/1 (Rodentia). Akademische Verlagsgesell-schaft, Wiesbaden (Germany). 649 p

Niethammer, J. & Krapp, F. (1990). *Handbuch der Säugetiere Europas.* Vol. 3/1 (Insectivora & Primates). Aula-Verlag, Wiesbaden (Germany). 523 p

Nikonorova, I.A., Binkiene, R., Bugmyrin, S.V. & Ieshko, E.P. (2018). Helminth fauna of the common shrew *Sorex araneus* L. in the european part of the species range. *Parazilogiya*, **52**: 41-69

Nores, C., Queiroz, A.I. & Gisbert, J. (2007). *Galemys pyrenaicus* (E. Geoffroy Saint Hilaire, 1811). En: Gisbert, J. & Palomo, J.L. (Eds.), *Atlas y Libro Rojo de los mamíferos de España.* Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid (España), pp 92-95

O

Ognev, S.I. (1964). *Mammals of the U.S.S.R. and Adjacent Countries. Mammals of Eastern Europe and Northern Asia. Vol. VII, Rodents.* Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem (Israel). 626 p

Ogunniyi, T., Balogun, H. & Shasanya, B. (2014). Ectoparasites and endoparasites of peridomestic house-rats in Ile-Ife, Nigeria and implications on human health. *Iranian Journal of Parasitology*, **9**: 134-149

Olivares Navarro, C. (2015). *Climatología en Asturias periodo 1981-2010*. Universidad de Oviedo, Máster de Teledetección y Sistemas de Información Geográfica. Trabajo Fin de Máster. 55 p

Olson, P.D., Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. & Mariaux, J. (2001). Interrelationships and Evolution of the Tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **19**: 443-467. https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0930

Ondriková, J., Miklisová, D. Ribas, A. & Stanko, M. (2010). The helminth parasites of two sympatric species of the genus *Apodemus* (Rodentia, Muridae) from south-eastern Slovakia. *Acta Parasitologica*, **55**: 369-378. https://doi.org/10.2478/s11686-010-0043-1

Orido, Y. (1988). Ultrastructure of spermatozoa of the lung fluke, *Paragonimus ohirai* (Trematoda: Troglotrematidae), in the seminal receptacle. *Journal of Morphology*, **196**: 333-343. https://doi.org/10.1002/jmor.1051960306

Osche, G (1955). Über entwicklung, zwischenwirt und bau von *Porrocaecum talpae*, *Porrocaecum ensicaudatum* und *Habronema mansion* (Nematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, **17**, 144-164. https://doi.org/10.1007/BF00260312

Otachi, E.O., Körner, W., Avenant-Oldewage, A., Fellner-Frank, C. & Jirsa, F. (2014). Trace elements in sediment, blue spotted tilapia *Oreochromis leucocistus* (Trewavas, 1933) and its parasite *Contracaecum multipapillatum* from Lake Naivasha, Kenya, including a comprehensive health risk analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, **21**: 7339-7349. https://doi.org/10.1007/s11356-014-2602-8

Øverli, Ø. & Johansen, B. (2019). Kindness to the final host and vice versa: A trend for parasites providing easy prey? *Frontiers in Ecology and Evolution*, **7**: 50. https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00050

Oyoo-Okoth, E., Wim, A., Osano, O., Kraak, M.H.S., Ngure, V., Makwali, J. & Orina, P.S. (2010). Use of the fish endoparasite *Ligula intestinalis* (L., 1758) in an intermediate cyprinid host (*Rastreneobola argentea*) for biomonitoring heavy metals in Lake Victoria, Kenya. *Lakes and Reservoirs*, **15**: 63-73. https://doi.org/10.1111/j.1440-1770.2010.00423.x

Özkurt, Ş., Çolak, E., Yiğit, N., Sozen, M. & Çolak, R. (1999). Contributions to the kariology and morphology of *Arvicola terrestris* (Lin. 1758) (Mammalia: Rodentia) in central Anatolia. *Turkish Journal of Zoology*, **23**: 7

P

Pakdel, N., Naem, S., Rezaei, F. & Chalehchaleh, A.-A. (2013). A survey on helminthic infection in mice (*Mus musculus*) and rats (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*) in Kermanshah, Iran. *Veterinary Research Forum*, **4**: 105-109

Paller, V.G.V., Resurreccion, D.J.B., de la Cruz, C.P.P. & Bandal, M.Z.Jr. (2016). Acanthocephalan parasites (*Acanthogyrus* sp.) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as biosink of lead (Pb) contamination in a Philippine freshwater lake. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **96**: 810-815. https://doi.org/10.1007/s00128-016-1790-y

Palm, H.W. (2011). Fish parasites as biological indicators in a changing world: can we monitor environmental impact and climate change? En: Melhorn, H. (Ed.), *Progress in Parasitology*. Parasitology Research Monographs, 2, Springer, Berlin (Germany), pp 223-250. http://doi.org/10.1007/978-3-642-21396-0_12

Pamplona-Basilio, M.C., Baptista-Farias, M.F.D. & Kohn, A. (2001). Spermatogenesis and spermiogenesis in *Didymocystis wedli* Ariola, 1902 (Didymozoidae, Digenea). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **96**: 1153-1159. https://doi.org/10.1590/s0074-02762001000800021

Pan, J., Plant, J.A., Voulvoulis, N., Oates, C.J. & Ihlenfeld, C. (2010). Cadmium levels in Europe: implications for human health. *Environmental Geochemistry and Health*, **32**: 1-12. https://doi.org/10.1007/s10653-009-9273-2

Panti-May, J.A., Hernández-Betancourt, S.F., Rodríguez-Vivas, R.I. & Robles, M.R. (2015). Infection levels of intestinal helminths in two commensal rodent species from rural households in Yucatan, Mexico. *Journal of Helminthology*, **89**: 42-48. https://doi.org/10.1017/S0022149X13000576

Paramasvaran, S., Sani, R.A., Hassan, L., Hanjeet, K., Krishnasamy, M., John, J., Santhana, R., Sumarni, M.G. & Lim, K.H. (2009). Endo-parasites fauna of rodents caught in five wet markets in Kuala Lumpur and its potential zoonotic implications. *Tropical Biomedicine*, **26**: 67-72

Parihar, A. & Nama, H.S. (1980). Helminth fauna of small rodents of Jodhpur India an analytic study. *Rivista di Parassitologia*, **41**: 437-448

Parker, R.E. (1981). *Estadística para biólogos*. Ediciones Omega, Barcelona (España). 136 p

Pascual, S. & Abollo, E. (2003). Accumulation of heavy metals in the whaleworm *Anisakis simplex s.l.* (Nematoda: Anisakidae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **83**: 905-906. https://doi.org/10.1017/S0025315403008038h

Pavlichenko, P.G., Tkach, V.V. & Korniushin, V.V. (1992). *Ceratozetella sellnicki* (Acari, Oribatida) – a new intermediate host of the cestode *Rodentolepis asymmetrica*. *Vestnik Zoologii*, **5**: 76-79

Pence, D.B. & Eason, S. (1980). Comparison of the helminth faunas of two sympatric top carnivores from the Rolling Plains of Texas. *Journal of Parasitology*, **66**: 115-120. https://doi.org/10.2307/3280601

Pérez-Ponce de León, G. & Hernández-Mena, D.I. (2019). Testing the higher-level phylogenetic classification of Digenea (Platyhelminthes, Trematoda) based on nuclear rDNA sequences before entering the age of the 'next-generation' Tree of Life. *Journal of Helminthology,* **93**: 260–276. https://doi.org/10.1017/S0022149X19000191

Pétavy, A.F., Tenora, F. & Deblock, S. (1996). Contributions to knowledge on the helminths parasitizing several Arvicolidae (Rodentia) in Auvergne (France). *Helminthologia*, **33**: 51-58

Pétavy, A.F., Tenora, F. & Deblock, S. (2003). Co-occurrence of metacestodes of *Echinococcus multilocularis* and *Taenia taeniaeformis* (Cestoda) in *Arvicola terrestris* (Rodentia) in France. *Folia Parasitologica*, **50**: 157-158

Petrov, A.M. & Chertkova, A.N. (1959). On the study of the helminth fauna of the moles in the U.S.S.R. *Trudy Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii Imeni Akademika KI Skryabina*, **6**: 167-176

Petružela, J., Ribas, A. & de Bellocq, J.G. (2021). Mitogenetics and evolutionary history of rodent whipworms (*Trichuris* spp.) originating from three biogeographic regions. *Life*, **11**: 540. https://doi.org/10.3390/life11060540

Pleshchev, V.S. (1978). Nematodes from the genus *Syphacia* Seurat, 1916 from Rodents in Kazakhstan. *Zhiznennye tsikly, ekologiya i morfologiya gel'mintov zhivotnykh Kazakhstana (EVgvozdev ed.). Nauka, Alma-ata Kazakhstan*, **1978**: 168-174

Pojmańska, T. (2002). Family Brachylaimidae Joyeux & Foley, 1930. En: Gibson, D.I., Jones, A. & Bray, R.A. (Eds.), *Keys to the Trematoda. Vol. 1*. CAB International and The Natural History Museum, London (UK), pp 37-43

Prokopič, J. & Genov, T. (1974). Distribution of helminths in micromammals (Insectivora and Rodentia) under different ecological and geographical conditions. *Folia Parasitologica*, **22**: 232

Prokopič, J. & Grulich, I. (1976). Contribution to the knowledge of the distribution of helminths in the intestinal tract of the common mole (*Talpa europaea* L.) in the Austrian Alps. *Věstnik Československé Společnosti ZoologickØ*, **40**: 118-127

Pung, O.J., Durden, L.A., Patrick, M.J., Conyers, T. & Mitchell, L.R. (2000). Ectoparasites and gastrointestinal helminths of southern flying squirrels in southeast Georgia. *Journal of Parasitology*, **86**: 1051-1055. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[1051:EAGHOS]2.0.CO;2

Q

Quéré, J.P. (2009). *Position systématique et éléments de la biologie du campagnol terrestre.* En: Delattre, P. & Giraudoux, P. (Eds), *Le campagnol terrestre. Prévention et contrôle des populations*. Éditions Quæ, Versailles Cedex (France), pp 27-30

Quilichini, Y., Foata, J. & Marchand, B. (2007a). Ultrastructural study of the spermatozoon of *Pronoprymna ventricosa* (Digenea, Baccigerinae), parasite of the twaite shad *Alosa fallax* Lacepede (Pisces, Teleostei). *Parasitology Research,* **101**: 1125-1130. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0599-3

Quilichini, Y., Foata, J. & Marchand, B. (2007b). Ultrastructural study of the spermatozoon of *Nicolla testiobliquum* (Digenea, Opecoelidae) parasite of brown trout *Salmo trutta* (Pisces, Teleostei). *Parasitology Research,* **101**: 1295-1301. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0636-2

Quilichini, Y., Foata, J., Justine, J.-L., Bray, R.A. & Marchand, B. (2010a). Ultrastructural study of the spermatozoon of *Heterolebes maculosus* (Digenea, Opistholebetidae), a parasite of the porcupinefish *Diodon hystrix* (Pisces, Teleostei). *Parasitology International,* **59**: 427-434. https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.06.002

Quilichini, Y., Foata, J., Justine, J.-L., Bray, R.A. & Marchand, B. (2010b). Spermatozoon ultrastructure of *Aponurus laguncula* (Digenea: Lecithasteridae), a parasite of *Aluterus monoceros* (Pisces, Teleostei). *Parasitology International,* **59**: 22-28. https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.06.007

Quilichini, Y., Foata, J., Justine, J.-L., Bray, R.A. & Marchand, B. (2011). Spermatozoon ultrastructure of *Gyliauchen* sp. (Digenea: Gyliauchenidae), an intestinal parasite of *Siganus fuscescens* (Pisces: Teleostei). *Biological Bulletin,* **221**: 197-205. https://doi.org/10.1086/BBLv221n2p197

R

Rabadjieva, D., Tepavitcharova, S., Kovacheva, A., Gergulova, R., Ilieva, R., Vladov, I, Nanev, V., Gabrashanska, M. & Karavoltsos, S. (2021). Trace elements accumulation in the eco-system water-soil-vegetation (*Agropyron cristatum*) – common voles (*Microtus arvalis*) – parasites (*Hymenolepis diminuta*) in Radnevo, Bulgaria. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **66**: 126750. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126750

Ramadan, M.M., Saoud, M.F.A. & Shahawi, A.A.E. (1988). On the helminth parasites of rodents in the Eastern Delta Egypt 2. A review of the cestode genus *Hydatigena* Lamarck, 1816. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, **18**: 141-148

Ramilo, D.W., Cruz, J.T., Amin, O., Fragoso, C., Brazio, E., Correia, J., Cardoso, L. & Pereira da Fonseca, I. (2023). A new definitive host for *Moniliformis cestodiformis* (Acanthocephala: Moniliformidae): first report of a naturally infected European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, **32**: e015022. https://doi.org/10.1590/S1984-29612023014

Ranjabar, M.J., Sarkari, B., Mowlavi, G.R., Seifollahi, Z., Moshfe, A., Abdolahi Khabisi, S. & Mobedi, I. (2017). Helminth infection of rodents and their zoonotic importance in Boyer-Ahmad district, Southwestern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, **12**: 572-579

Rausch, R.L. (1994). Transberingian dispersal of cestodes in mammals. *International Journal for Parasitology*, **24**, 1203–1212. https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)90191-0

Redpath, S.M., Mougeot, F., Leckie, F.M., Elston, D.A & Hudson, P.J. (2006). Testing the role of parasites in driving the cyclic population dynamics of a gamebird. *Ecology Letters*, **9**: 410-418. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00895.x

Retief, N.-R., Avenant-Oldewage, A. & du Preez, H. (2006). The use of cestode parasites from the largemouth yellowfish, *Labeobarbus kimberleyensis* (Gilchrist and Thompson, 1913) in the Vaal Dam, South Africa as indicators of heavy metal bioaccumulation. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, **31**: 840-847. https://doi.org/10.1016/j.pce.2006.08.004

Retief, N.-R., Avenant-Oldewage, A. & du Preez, H.H. (2009). Seasonal study on *Bothriocephalus* as indicator of metal pollution in yellowfish, South Africa. *Water SA*, **35**: 315-322. https://doi.org/10.4314/wsa.v35i3.76769

Reynolds, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, **17**: 208-212. https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208

Ribas, A. & Casanova, J.C. (2004). A new whipworm, *Trichuris feliui* (Nematoda, Trichuridae) from *Talpa europaea* (Insectivora, Talpidae). *Acta Parasitologica*, **49**: 140-144

Ribas, A. & Casanova, J.C. (2005). Helminths of *Talpa europaea* (Insectivora, Talpidae) in southwestern Europe. *Acta Parasitologica*, **50**: 161-167

Ribas, A. & Casanova, J.C. (2006a). Helminth fauna of *Talpa* spp. in the Palaearctic Realm. *Journal of Helminthology*, **80**: 1-6. https://doi.org/10.1079/JOH2005328

Ribas, A. & Casanova, J.C. (2006b). Acanthocephalans. En: Morand, S., Krasnov, B.R. & Poulin, R. (Eds.), *Micromammals and Macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo (Japan), pp 81-90

Ribas, A., Barbosa, A.M., Casanova, J.C., Real, R., Feliu, C. & Vargas, J.M. (2007). Geographical patterns of the species richness of helminth parasites of moles (*Talpa* spp.) in Spain: Separating the effect of sampling effort from those of other conditioning factors. *Vie et Milieu / Life and Environment*, **57**: 45-52

Ribeiro, J.N. (2019). *Colony social structure and burrow architecture of the Lusitanian pine vole, Microtus lusitanicus (Gerbe, 1879)*. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Mestrado en Biologia de Conservaçao. 41 p

Richards, D.T., Harris, S. & Lewis, J.W. (1995). Epidemiological studies on intestinal helminth parasites or rural and urban red foxes (*Vulpes vulpes*) in the United Kingdom. *Veterinary Parasitology,* **59**: 39-51. https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00736-V

Richardson, D.J. (2014). Acanthocephala of the raccoon (*Procyon lotor*) with a faunal review of *Macracanthorhynchus ingens* (Archiacanthocephala: Oligacanthorhynchidae). *Comparative Parasitology*, **81**: 44-52. https://doi.org/10.1654/4672.1

Richardson, D.J. & Nickol, B.B. (2008). Acantocephala. En: Atkinson, C.T., Thomas, N.J. & Hunter, D.B. (Eds.), *Parasitic diseases of wild birds*. Wiley-Blackwell, Ames (USA), pp 277-288

Riedel, T., Hennessy, P., Iden, S.C. & Koschinsky, A. (2015). Leaching of soil-derived major and trace elements in an arable topsoil after the addition of biochar. *European Journal of Soil Science*, **66**: 823-834. https://doi.org/10.1111/ejss.12256

Rivas-Martínez, S. & Rivas-Sáenz, S. (2015). Worldwide Bioclimatic Classification System. Phytosociological Research Centre. Disponible en internet: <http://www.globalbioclimatics.org/default.htm>. Fecha de acceso 18/09/2023

Roberts, M. (1991). The parasites of the Polynesian rat within and beyond New Zealand. *International Journal for Parasitology*, **21**: 777-783. https://doi.org/10.1016/0020-7519(91)90145-w

Robovský, J., Řičánková, V. & Zrzavý, J. (2008). Phylogeny of Arvicolinae Mammalia, Cricetidae): utility of morphological and molecular data sets in a recently radiating clade. *Zoologica Scripta,* **37**: 571-590. https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2008.00342.x

Rodrigues dos Santos, I., Viera Silva-Filho, E., Schaefer, C., Sella, S.M., Silva, C.A., Gomes, V., Passos, M.J. & Van Ngan, P. (2006). Baseline mercury and zinc concentrations in terrestrial and coastal organisms of Admiralty Bay, Antarctica. *Environmental Pollution*, **140**: 304-311. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.07.007

Rodríguez Álvarez, C., Jiménez Moreno, M., Guzmán Bernardo, F.J., Rodríguez Martín-Doimeadios, R.C. & Berzas Nevado, J.J. (2014). Mercury methylation, uptake and bioaccumulation by the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). *Applied Soil Ecology*, **84**: 45-53. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.06.008

Rodríguez-Vivas, R.I., Panti-May, J.A., Parada-López, J., Hernández-Betancourt, S.F. & Ruiz-Pina, H.A. (2011). The occurrence of the larval cestode *Cysticercus fasciolaris* in rodent populations from the Cuxtal ecological reserve, Yucatan, Mexico. *Journal of Helminthology*, **85**: 458-461. https://doi.org/10.1017/S0022149X10000817

Román, J. (2007a). *Talpa europaea* Linnaeus, 1758. En: Gisbert, J. & Palomo, J.L. (Eds.), *Atlas y Libro Rojo de los mamíferos de España.* Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid (España), pp 86-88

Román, J. (2007b). *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907. En: Gisbert, J. & Palomo, J.L. (Eds.), *Atlas y Libro Rojo de los mamíferos de España*. Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid (España), pp 89-91

Román, J. (2019). Primer registro de rata topera, *Arvicola scherman* (Shaw, 1801), en el Valle de Mena (Burgos, norte de España). *Galemys*, **31**: 75-77. https://doi.org/10.7325/Galemys.2019.N1

Roots, C.D. (1992). *Morphological and ecological studies on helminth parasites of British shrews.* Thesis for the degree of Doctor of Philosophy, University of London, Department of Biology, King's College and Royal Holloway & Bedford New College. 314 p

Rosenberg, D.M. & Resh, V.H. (1993). *Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates*. Springer-Verlag, New York (USA). 488 p

Rossin, A., Malizia, A.I. & Denegri, G.M. (2004). The role of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae) in the life cycle of *Taenia taeniaeformis* (Cestoda: Taeniidae) in urban environments. *Veterinay Parasitology*, **122**: 27-33. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.03.001

Rothenburger, J.L., Himsworth, C.G., Lejeune, M., Treuting, P.M. & Leighton, F.A. (2014). Lesions associated with *Eucoleus* sp. in the non-glandular stomach of wild urban rats (*Rattus norvegicus*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, **3**: 95-101. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.04.003

Rukhlyadeva, M.N. (1950). A new *Capillaria* from the stomach of a water rat. *Trudy Gel'mintologicheskoi Laboratorii. Akademia Nauk SSSR*, **4**: 136-138

S

Sáez-Durán, S. (2015). *Influencia de factores intrínsecos y extrínsecos sobre la evolución postincendio de la comunidad helmintiana del ratón de campo, Apodemus sylvaticus, en el Parc Natural de la Serra Calderona (C. Valenciana).* Tesis Doctoral, Universitat de València. 330 p

Sáez-Durán, S., Debenedetti, Á.L., Sainz-Elipe, S., Galán-Puchades, M.T. & Fuentes, M.V. (2018). The helminth community component species of the wood mouse as biological tags of a ten post-fire-year regeneration process in a Mediterranean ecosystem. *Parasitology Research*, **117**: 2217-2231. https://doi.org/10.1007/s00436-018-5909-4

Sáez-Durán, S., Debenedetti, Á.L., Sainz-Elipe, S., Sabater-Tena, M., Galán-Puchades, M.T. & Fuentes, M.V. (2021). Ecological analysis of the helminth community of the Wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, along an 18-year post-fire regeneration period in a mediterranean ecosystem. *Animals*, **11**: 2926. https://doi.org/10.3390/ani11102926

Sager, M. (1997). Possible trace metal load from fertilizers. *Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment*, **48**: 217-223

Sakata, K. & Asakawa, M. (2003). Parasitic nematodes of Sado moles (*Mogera tokudae*) with the first geographical record of *Tricholinstowia talpae* (Morgan, 1928) from Sado I. and a brief description of the species. *Journal of Rakuno Gakuen University Natural Science*, **27**: 211-214

Sánchez, A., Bullejos, M., Burgos, M., Hera, C., Stamatopoulos, C., Díaz de la Guardia, R. & Jiménez, R. (1996). Females of four mole species of genus *Talpa* (Insectivora, Mammalia) are true hermaphrodites with ovotestes. *Molecular Reproduction and Development,* **44**: 289-294. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(199607)44:3<289::AID-MRD2>3.0.CO;2-I

Sánchez, A., Devevey, G. & Bize, P. (2011). Female-biased infection and transmission of the gastrointestinal nematode *Trichuris arvicolae* infecting the common vole, *Microtus arvalis*. *International Journal for Parasitology*, **41**: 1397-1402. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.09.004

Sánchez-Acedo, C. & Mas-Coma, S. (1977). Sobre la presencia de *Spirura talpae* (Gmelin, 1790) (Nematoda: Spiruridae) en el alto Pirineo aragonés. *Revista Ibérica de Parasitología*, **37**: 153-156

Sánchez-Chardi, A. & Nadal, J. (2007). Bioaccumulation of metals and effects of landfill pollution in small mammals. Part I. The greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*. *Chemosphere*, **68**: 703-711. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.042

Sánchez-Chardi, A., Peñarroja-Matutano, C., Ribeiro, C.A. & Nadal, J. (2007). Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. *Chemosphere*, **70**: 101-109. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.06.047

Sánchez-Chardi, A., Peñarroja-Matutano, C., Borrás, M. & Nadal, J. (2009). Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part III: Structural alterations. *Environmental Research*, **109**: 960-967. https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.08.004

Santalla, F., Casanova, J.C., Durand, P., Vaucher, C., Renaud, F. & Feliu, C. (2002). Morphometric and genetic variability of *Rodentolepis asymmetrica* (Hymenolepididae) from the Pyrenean mountains. *Journal of Parasitology*, **88**: 983-988. https://doi.org/10.2307/3285542

Santos, S., Lourenço, R., Mathias, M.L. & Mira, A. (2010). Spatial and temporal ecology of the Lusitanian pine vole (*Microtus lusitanicus*) in a Mediterranean polyculture. *Animal Biology,* **60**: 209-227. https://doi.org/10.1163/157075610X496306

Sato, H. & Suzuki, K. (2006). Gastrointestinal helminths of feral raccoons (*Procyon lotor*) in Wakayama prefecture, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science,* **68**: 311-318. https://doi.org/10.1292/jvms.68.311

Sato, H., Suzuki, K., Uni, S. & Kamiya, H. (2005). Recovery of the evertes cystachant of seven acanthocephalan species of birds from feral raccon (*Procyon lotor*) in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, **67**: 1203-1206. https://doi.org/10.1292/jvms.67.1203

Sato, T., Iritani, R. & Sakura, M. (2019). Host manipulation by parasites as a cryptic driver of energy flow through food webs. *Current Opinion in Insect Science*, **33**: 69-76. https://doi.org/10.1016/j.cois.2019.02.010

Saucy, F. (1994). Density dependence in time series of the fossorial form of the Water vole, *Arvicola terrestris. Oikos*, **71**: 381-392. https://doi.org/10.2307/3545826

Scheef, G., Sures, B. & Taraschewski, H. (2000). Cadmium accumulation in *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) from experimentally infected rats. *Parasitology Research*, **86**: 688-691. https://doi.org/10.1007/PL00008553

Schludermann, C., Konecny, R., Laimgruber, S., Lewis, J.W., Schiemer, F, Chovanec, A. & Sures, B. (2003). Fish macroparasites as indicators of heavy metal pollution in river sites in Austria. *Parasitology,* **126**: S61-S69. https://doi.org/10.1017/S0031182003003743

Schmidt, G.D. (1971). Acanthocephalan infections of man, with two new records. *Journal of Parasitology*, **57**: 582-584. https://doi.org/10.2307/3277920

Schmidt, G.D. & Kuntz, R.E. (1966). New and little-known plagyiorhynchid Acantocephala from Taiwan and the Pescadores Islands. *Journal of Parasitology*, **52**; 520-527. https://doi.org/10.2307/3276322

Schuster, R.K., Specht, P. & Rieger, S. (2021). On the helminth fauna of the muskrat (*Ondatra zibethicus* (Linnaeus, 1766)) in the Barnim District of Brandenburg State/Germany. *Animals*, **11**: 2444. https://doi.org/10.3390/ani11082444

SECEM. *Arvicola schrman*. Disponible en: https://secem.es/mamiferos/atlas/arvicola-monticola. Fecha de acceso: 9/10(/2022

SECEM. *Microtus lusitanicus*. Disponible en: https://secem.es/mamiferos/atlas/microtus-lusitanicus. Fecha de acceso: 13/10/2022

SECEM. *Talpa occidentalis*. Disponible en: https://secem.es/mamiferos/atlas/talpa-occidentalis. Fecha de acceso: 21/11/2022

Segade, P., Crespo. C., García, N., García-Estévez, J.M., Arias, C. & Iglesias, R. (2011). *Brachylaima aspersae* n. sp. (Digenea: Brachylaimidae) infecting farmed snails in NW Spain: morphology, life cycle, pathology, and implications for heliciculture. *Veterinary Parasitology*, **175**: 273-286. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.026

Seidenberg, A.J., Kelly, P.C., Lubin, E.R. & Buffington, J.D. (1974). Helminths of the cotton rat in southern Virginia, with comments on sex ratios of parasitic nematodes populations. *American Midline Naturalist*, **92**: 320-326. https://doi.org/10.2307/2424297

Shalaeva, N.M. (2016). Ecological peculiarities of helmith fauna of the large field mouse (*Apodemus peninsulae*, Thom, 1862) in Zabaikalie. *17th Conference on the "Theory and practice of the struggle against parasitic diseases"*, Moscow, Russia, pp 508-509

Shalaeva, N.M., Zhaltsanova, D.-S.D. & Dorzhiev, C.Z. (1987). Helminthofauna of longtailed Siberian suslik *Citellus undulatus* L. of Baikal Lake basin. *Helminthologia (Bratislava)*, **24**: 249-255

Sharma, R., Tiwari, K., Birmingham, K., Armstrong, E., Montanez, A., Guy, R., Sepulveda, Y., Mapp-Alexander, V. & DeAllie, C. (2017). *Cysticercus fasciolaris* in brown rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies. *Journal of Parasitology Research*, **2017**: 1723406. https://doi.org/10.1155/2017/1723406

Sharpilo, L.D. (1973). Representatives of the genus *Syphacia* Seurat, 1916 (Nematoda, Syphaciidae) in the fauna of the Ukrainian SSR. *Vestnik Zoologii*, **5**: 59-63.

Shaw, D.J. & Dobson, A.P. (1995). Patterns of macroparasites abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology*, **111**: S111-S133. https://doi.org/10.1017/s0031182000075855

Shimalov, V.V. (2018). The first finding of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala, Moniliformidae) in Belarus. *Journal of Parasitic Diseases*, **42**: 327-328. https://doi.org/10.1007/s12639-018-0992-0

Shimalov V.V. & Shimalov V.T. (2001). Helminth fauna of the European mole (*Talpa europaea* Linnaeus, 1758) in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, **87**, 790–791. https://doi.org/10.1007/s004360100438

Silverman, N.H., Katz, J.S. & Levin, S.E. (1973). *Capillaria hepatica* infestation in a child. *South Africa Medical Journal*, **47**: 219-221

Singla, L.D., Singla, N., Parshad, V.R., Juyal, P.D. & Sood, N.K. (2008). Rodents as reservoirs of parasites in India. *Integrative Zoology*, **3**: 21-26. https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2008.00071.x

Singleton, G.R., Smith, A.L., Shellam, G.R., Fitzgerald, N. & Müller, W.J. (1993a). Prevalence of viral antibodies and helminths in field populations of house mice (*Mus domesticus*) in southeastern Australia. *Epidemiology & Infection*, **110**: 399-417. https://doi.org/10.1017/s0950268800068345

Singleton, J., Richardson, D.J. & Lockhart, J.M. (1993b). Severe moniliformiasis (Acanthocephala: Moniliformidae) in a gray squirrel, *Sciurus carolinensis*, from Arkansas USA. *Journal of Wildlife Diseases*, **29**: 165-168. https://doi.org/10.7589/0090-3558-29.1.165

Sirgel, W.F., Artigas, P., Bargues, M.D. & Mas-Coma, S. (2012). Life cycle of *Renylaima capensis*, a brachylaimid trematode of shrews and slugs in South Africa: two-host and three-host transmission modalities suggested by epizootiology and DNA sequencing. *Parasites & Vectors*, **5**: 169. https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-169

Skuballa, J., Taraschewski, H., Petney, T.N., Pfäffle, M. & Smales, L.R. (2010). The avian acanthocephalan *Plagiorhynchus cylindraceus* (Palaeacanthocephala) parasitizing the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Europe and New Zealand. *Parasitology Research*, **106**: 431-437. https://doi.org/10.1007/s00436-009-1681-9

Smales, L.R. (1988). *Plagyorhynchus* (*Prosthorhynchus*) *cylindraceus* (Goeze, 1782) Schmidt & Kundt, 1966, from the Australian bandicoots, *Parameles gunnii* Gray, 1838, and *Isoodon obesulus* (Shaw, 1797). *Journal of Parasitology*, **74**: 1062-1064. https://doi.org/10.2307/3282238

Smales, L.R. (2002). Plagiorhynchidae Meyer, 1931 (Acanthocephala) from Australasian birds and mammals, with descriptions of *Plagiorhynchus* (*Plagiorhynchus*) *menurae* (Johnston, 1912) and *P.* (*P.*) *allisonae* n. sp. *Systematic Parasitology*, **51**: 207-216. https://doi.org/10.1023/a:1014590530850

Smales, L.R. (2016). The gastrointestinal helminths of *Rattus niobe* (Rodentia: Muridae) with descriptions of two new genera and three new species (Nematoda) from Papua New Guinea and Papua Indonesia. *Zootaxa*, **4117**: 183-197. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4117.2.3

Smales, L.R. (2018). The gastrointestinal helminths of *Rattus verucundus* (Rodentia: Muridae) with the description of a new species (Heligmonolidae: Nematoda) from Papua New Guinea and a comment on the Rictulariidae (Nematoda) from the Sahul region. *Transactions of the Royal Society of the South Australia*, **142**: 183-195. https://doi.org/10.1080/03721426.2018.1509414

Smales, L.R. (2021). Gastrointestinal helminths of *Rattus mordax* (Rodentia: Muridae) from Papua New Guinea. *Comparative Parasitology*, **88**: 158-163. https://doi.org/10.1654/COPA-D-21-00004

Smales, L.R., Halajian, A., Luus-Powel, W.J. & Tavakol, S. (2018). Acanthocephalans, including the description of a new species of *Mediorhynchus* (Gigantorhynchidae) and a redescription of *Centrorhynchus clitorideus* (Centrorhynchidae) from vertebrates hosts from South Africa. *Comparative Parasitology*, **85**: 95-106. https://doi.org/10.1654/1525-2647-85.1.95

Smirnova, L. & Shalajeva, N. (1986). The role of collembolls in the circulation of micromammalia cestodes in zonal tundra. *Wiadomości Parazytologiczne*, **32**: 489-491

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1981). *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* 2nd edition. W.H. Freeman and Co, New York (USA). 859 p

Soliman, M.E.M. (2012). Heavy metal pollution across sites affecting the intestinal helminth communities of the Egyptian lizard, *Chalcides ocellatus* (Forskal, 1775). *Environmental Monitoring and Assessment*, **184**: 7677-7685. https://doi.org/10.1007/s10661-012-2528-x

Solórzano, L., Sánchez-Amador, F., Sánchez S. & Pizarro, J. (2021. *R. rattus* y *R. norvegicus*, como resorvorio de endoparásitos zoonóticos en Ecuador. *Revista MZV Córdoba*, **26**: e1260. https://doi.org/10.21897/rmvz.1260

Somoano, A. (2017). *Blology and population genetics of Arvicola scherman cantabriae (Rodentia, Arvicolinae)*. Universidad de Oviedo. Tesis Doctoral. 141 p

Somoano A., Miñarro M. & Ventura J. (2016). Reproductive potential of a vole pest (*Arvicola scherman*) in Spanish apple orchards. *Spanish Journal of Agricultural Research,* **14**: e1008. https://doi.org/10.5424/sjar/2016144-9870

Somoano, A., Ventura J. & Miñarro, M. (2017). Continuous breeding of fossorial water vole in northwestern Spain: potential impact on apple orchards. *Folia Zoologica – Praha*, **66**: 37-49. https://doi.org/10.25225/fozo.v66.i1.a6.2017

Somoano, A., Bastos-Silveira, C., Ventura, J. Miñarro, M. & Heckel, G. (2022). A bocage landscape restricts the gene flow of pest vole populations. *Life*, **12**: 800. https://doi.org/10.3390/life12060800

Spassky, A.A. (1954). Classification of the hymenolepidids of mammals. *Trudy Gel'mintologcheskoy Laboratorii, Akademii Nauk SSSR*, **7**: 120-167

Štěrba, J. & Baruš (1976). First record of *Strobilocercus fasciolaris* (Taeniidae-larvae) in man. *Folia Parasitologica (Praha)*, **28**: 221-226

Stien, A., Irvine, R.J., Ropstad, E., Halvorsen, O. Langvatn, R. & Albon, S.D. (2002). The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *Journal of Animal Ecology*, **71**: 937-945. https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2002.00659.x

Stone, R.D. & Gorman, M.L. (1985). Social organization of the European mole (*Talpa europaea*) and the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*). *Mammal Review*, **15**: 35-42. https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1985.tb00385.x

Sures, B. (2001). The use of fish parasites as bioindicators of heavy metals in aquatic ecosystems: a review. *Aquatic Ecology*, **35**: 245-255. https://doi.org/10.1023/A:1011422310314

Sures, B. (2003). Accumulation of heavy metals by intestinal helminths in fish: an overview and perspective. *Parasitology*, **126**: S53-S60. https://doi.org/10.1017/S003118200300372X

Sures, B. (2004). Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *Trends in Parasitology*, **20**: 170-177. https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.014

Sures, B. & Nachev, M. (2022). Effects of multiple stressors in fish: how parasites and contaminants interact. *Parasitology,* 149: 1822-1828. https://doi.org/10.1017/S0031182022001172

Sures, B. & Reimann, N. (2003). Analysis of trace elements in the Antarctic host-parasite system *Notothenia coriiceps* and *Aspersentis megarhynchus* (Acantocephala) caught at King George Island, South Shetland Islands. *Polar Biology*, **26**: 680-686. https://doi.org/10.1007/s00300-003-0538-4

Sures, B. & Siddal, R. (1999). *Pomphorhynchus laevis*: the intestinal acanthocephalan as a lead sink for its fish host, chub (*Leuciscus cephalus*). *Experimental Parasitology*, **93**: 66-72. https://doi.org/10.1006/expr.1999.4437

Sures, B., Taraschewski, H. & Jackwerth, E. (1994a). Lead accumulation in *Pomphorhynchus laevis* and its host. *Journal of Parasitology*, **80**: 355-357. https://doi.org/10.2307/3283403

Sures, B., Taraschewski, H. & Jacwerth, E. (1994b). Lead content of *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala), *Anguillicola crassus* (Nematoda) and their host *Anguilla anguilla*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **19**: 105-107

Sures, B., Taraschewski, H. & Rokicki, J. (1997). Lead and cadmium content of two cestodes, *Monobothrium wageneri* and *Bothriocephalus scorpii*, and their fish hosts. *Parasitology Research*, **83**: 618-623. https://doi.org/10.1007/s004360050307

Sures, B., Jürges, G. & Taraschewski, H. (1998). Relative concentrations of heavy metals in the parasites *Ascaris suum* (Nematoda) and *Fasciola hepatica* (Digenea) and their respective porcine and bovine definitive host. *International Journal for Parasitology*, **28**: 1173-1178. https://doi.org/10.1016/s0020-7519(98)00105-2

Sures, B., Siddall, R. & Taraschewski, H. (1999). Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. *Parasitology Today*, **15**: 16-21. https://doi.org/10.1016/S0169-4758(98)01358-1

Sures, B., Franken, M. & Taraschewski, H. (2000a). Element concentrations in the archiacanthocephalan *Macracanthorhynchus hirudinaceus* compared with those in the porcine definitive host from a slaughterhouse in La Paz, Bolivia. *International Journal for Parasitology*, **30**: 1071-1706. https://doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00094-1

Sures, B., Jürges, G. & Taraschewski, H. (2000b). Accumulation and distribution of lead in the archiacanthocephalan *Moniliformis moniliformis* from experimentally infected rats. *Parasitology*, **121**: 427-433. https://doi.org/10.1017/s003118209900654x

Sures B., Grube, K. & Taraschewski, H. (2002). Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Hymenolepis diminuta* and its final host, *Rattus norvegicus*. *Ecotoxicology*, **11**: 363-368. https://doi.org/10.1023/A:1020561406624

Sures, B., Zimmermann, S., Sonntag, C., Stüben, D. & Taraschewsi, H. (2003a). The acanthocephalan *Paratenuisentis ambiguus* as a sensitive indicator of the precious metals Pt and Rh from automobile catalytic converters. *Environmental Pollution*, **122**: 401-405. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00306-8

Sures, B., Scheible, T., Bashtar, A.R. & Taraschewski, H. (2003b). Lead concentrations in *Hymenolepis diminuta* adults and *Taenia taeniaeformis* larvae compared to their rat hosts (*Rattus norvegicus*) sampled from the city of Cairo, Egypt. *Parasitology*, **127**: 483-487. https://doi.org/10.1017/S0031182003003901

Sures, B., Nachev, M., Selbach, C. & Marcogliese, D.J. (2017). Parasite responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. *Parasites & Vectors*, **10**: 65. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2001-3

Świderski, Z. (1986). Three types of spermiogenesis in cestodes. *Proceedings of the XIth International Congress of Electron Microscopy*, Kyoto, Japan, pp 2959-2960

Świderski, Z., Conn, D.B. & Miquel, J. (2020). Ultrastructure and cytochemistry of intrauterine embryonic and larval stages of *Ityogonimus lorum* (Digenea: Brachylaimidae) involving transitory development of ciliated miracidia. *Parasitology Research*, **119**: 1583-1595. https://doi.org/10.1007/s00436-020-06629-z

Szefer, P., Rokicki, J., Frelek, K., Skóra, K. & Malinga, M. (1998). Bioaccumulation of selected trace elements in lung nematodes, *Pseudalius inflexus*, of harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) in a Polish zone of the Baltic Sea. *Science of The Total Environment*, **220**: 19-24. https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00221-6

T

Tavakol, S., Amin, O.M., Luus-Powel, W.J. & Halajian, A. (2015). The acanthocephalan fauna of Iran, a checklist. *Zootaxa*, **4033**: 237-258. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4033.2.3

Teimoori, S., Sabour Yaraghi, A., Makki, M.S., Shahbazi, F., Nazmara, S., Rokni, M.B., Mesdaghinia, A., Salahi Moghaddam, A., Hosseini, M., Rakhshanpour, A. & Mowlavi, G. (2014). Heavy metal bioabsorption capacity of intestinal helminths in urban rats. *Iranian Journal of Public Health*, **43**: 310-315

Tekin-Özan, S. & Kir, I. (2005). Comparative study on the accumulation of heavy metals in different organs ot tench (*Tinca tinca* L. 1758) and plerocercoids ot its endoparasite *Ligula intestinalis*. *Parasitology Research*, **97**: 156-159. https://doi.org/10.1007/s00436-005-1412-9

Tekin-Özan, S. & Kir, I. (2008). Concentrations of some heavy metals in tech (*Tinca tinca L., 1758*), its endoparasite (*Ligula intestinalis* L., 1758), sediment and water in Beyşehir Lake, Turkey. *Polish Journal of Environmental Studies*, **17**: 597-603

Tenora, F. & Borkovcova, M. (2003). Corrections in the review of helminthofauna of *Ondatra zibethica* (L., 1785) (Rodentia) in the Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, **51**: 65-69

Tenora, F. & Mészáros, F. (1972). Data to the knowledge of the helminthofauna in *Pitymis* species occurring in Spain. *Parasitologia Hungarica*, **5**: 159-162

Tenora, F. & Mészáros, F. (1975). Nematodes of the genus *Syphacia* Seurat, 1916 (Nematoda) - parasites of rodents (Rodentia) in Czechoslovakia and Hungary. *Acta Universitatis Agriculturae*, **23**: 537-554

Tenora, F. & Murai, É (1976). Cestodes parasitizing *Pitymys subterraneus* (Rodentia) from the Pieniny Mountains (Poland). *Parasitologia Hungarica*, **9**: 63-66

Tenora, F. & Murai, É. (1980). The genera *Anoplocephaloides* and *Paranoplocephala* (Cestoda), parasites of Rodentia in Europe. *Acta Zoologica Academiae Scientarum Hungarica*, **26**: 263-268

Tenora, F., Murai, É. & Mészáros, F. (1973). Quantitative and qualitative analysis of helminth fauna of *Microtus arvalis* (Rodentia, Microtinae) in Europe. *Parasitologia Hungarica*, **6**: 131-148

Tenora, F., Wiger, R. & Baruš, V. (1979a). Seasonal and annual variations in the prevalence of helminths in a cyclic population of *Clethrionomys glareolus*. *Holarctic Ecology*, **2**: 176-181. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1979.tb00698.x

Tenora, F., Baruš, V., Wiger, R. & Genov, T. (1979b). *Syphacia nigeriana* Baylis, 1928 (Nematoda, Oxyuridae) - parasite of *Microtus guentheri* (Rodentia) in Bulgaria. *Acta Universitatis Agriculturae, Brno, Facultas Agronomica*, **27**: 133-138

Tenora, F., Henttonen, H. & Haukisalmi, V. (1983). On helminths of rodents in Finland. *Annales Zoologici Fennici*, **20**: 37-45

Tenora, F., Muraí, É. & Vaucher, C. (1985). On some *Paranoplocephala* species (Cestoda: Anoplocephalidae) parasitizing rodents (Rodentia) in Europe. *Parasitologia Hungarica,* **18**: 29-48

Tenora, F., Baruš, V., Kráčmar, S., Dvořáček, J. & Srnková, J. (1999). Parallel analysis of some heavy metals concentrations in the *Anguillicola crassus* (Nematoda) and the European eel *Anguilla anguilla* (Osteichthyes). *Helminthologia*, **36**: 79-81

Tenora, F., Baruš, V., Kráčmar, S. & Dvořáček, J. (2000). Concentrations of some heavy metals in *Ligula intestinalis* plerocercoids (Cestoda) and *Philometra ovata* (Nematoda) compared to some of their hosts (Osteichthyes). *Helminthologia*, **37**: 15-18

Theis, J.H. & Schwab, R.G. (1992). Seasonal prevalence of *Taenia taeniaeformis*: relationship to age, sex, reproduction and abundance of an intermediate host (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Wildlife Diseases*, **28**: 42-50. https://doi.org/10.7589/0090-3558-28.1.42

Thielen, F., Zimmermann, S., Baska, F., Taraschewski, H. & Sures, B. (2004). The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) from barbel as a bioindicator for metal pollution in the Danube River near Budapest, Hungary. *Environmental Pollution,* **129**: 421-429. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.11.011

Thiéry, J.P. (1967). Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *Journal de Microscopie (Paris)*, **6**: 987-1018

Tinnin, D.S., Ganzorik, S. & Gardner, S.L. (2011). *Helminths of small mammals (Erinaceomorpha, Soricomorpha, Chiroptera, Rodentia and Lagomorpha) of Mongolia*. Museum of Texas Tech University, Lubbock, Texas (USA), **59**: 1-50

Torres, J. (1988). *Sobre las helmintofaunas de las especies de insectívoros y roedores del delta del Ebro (NE de la Península Ibérica)*. Universitat de Barcelona, Facultad de Farmacia. Tesis doctoral. 659 p

Torres, J., de Lapuente, J., Eira, C. & Nadal, J. (2004). Cadmium and lead concentrations in *Gallegoides arfaai* (Cestoda: Anoplocephalidae) and *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) from Spain. *Parasitology Research*, **94**: 468-470. https://doi.org/10.1007/s00436-004-1232-3

Torres, J., Peig, J., Eira, C. & Borrás, M. (2006). Cadmium and lead concentrations in *Skrjabinotaenia lobata* (Cestoda: Catenotaeniidae) and in its host *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) in the urban dumping site of Garraf (Spain). *Environmental Pollution*, **143**: 4-8. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.11.012

Torres, J., Foronda, P., Eira, C., Miquel, J. & Feliu, C. (2010). Trace elements concentration in *Raillietina micracantha* in comparison to its definitive host, the feral pigeon, *Columba livia* in Santa Cruz de Tenerife (Canary Archipelago, Spain). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58**: 176-182. https://doi.org/10.1007/s00244-009-9352-5

Torres, J., Eira, C., Miquel, J., Foronda, P. & Feliu, C. (2011). Cadmium and lead concentrations in *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) and *Rodentolepis microstoma* (Cestoda), and in their definitive hosts, *Rattus rattus* and *Mus domesticus* in El Hierro (Canary Archipielago, Spain). *Acta Parasitologica*, **56**: 320-324. https://doi.org/10.2478/s11686-011-0064-4

Torres, J., Eira, C., Miquel, J. & Feliu, C. (2012). Heavy metal accumulation by intestinal helminths of vertebrates. En: Muñoz-Torrero, D., Haro, D. & Vallès, J. (Eds.), *Recent Advances in Pharmaceutical Sciences II*. Transworld Research Network, Kerala (India), pp 169-181

Torres, J., Kacem, H., Eira, C., Neifar, L. & Miquel, J. (2014). Total mercury and selenium concentrations in *Sarpa salpa* and *Balistes capriscus* and in their respective digenean endoparasites *Robphildollfusium fractum* and *Neoapocreadium chabaudi* from Tunisia. *Acta Parasitologica*, **59**: 580-585. https://doi.org/10.2478/s11686-014-0293-4

Torres, J., Eira, C., Miquel, J., Ferrer-Maza, D., Delgado, E. & Casadevall, M. (2015). Effect of Intestinal Tape worm *Clestobothrium crassiceps* on Concentrations of Toxic Elements and Selenium in European Hake *Merluccius merluccius* from the Gulf of Lion (Northwestern Mediterranean Sea). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**: 9349-9356. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03886

Tovar-Sánchez, E., Cervantes, L.T., Martínez, C., Rojas, E., Valverde, M., Ortiz-Hernández, M.L. & Mussali-Galante, P. (2012). Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental by mine tailings. *Environmental Science and Pollution Research*, **19**: 1677-1686. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0680-4

Traversa, D., Di Cesare, A., Lia, P.R., Castagna, G., Meloni, S., Heine, J., Strube, K., Milillo, P., Otranto, D., Meckes, O. & Schaper, R. (2011). New insights into morphological and biological features of *Capillaria aerophila* (Tricocephalida, Trichuridae). *Parasitology Research*, **109**: S97-S104. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2406-4

Trouessart, E.L. (1910). *Faune des Mammifères d'Europe.* R. Friedländer, Berlin (Germany). 219 p

U

Ubelaker, J.E., Chudhri, S.I., Clifford, P.P. & Duszynski, D.W. (2010). Helminths parasites of the spotted ground squirrel *Xerospermophilus* (syn. *Spermophilus*) *spilosoma* (Bennett, 1833) Helgen, Cole, Helgen, and Wilson, 2009, from Central New Mexico, U.S.A. *Comparative Parasitology*, **77**: 178-182. https://doi.org/10.1654/4398.1

Uchida, A., Uchida, K., Kawakami, Y., Doi, R., Kanda, E. & Nihei, N. (2001). Epidemiological surveys of helminths in wild mammals in central Japan. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, **54**: 635-638. https://doi.org/10.12935/jvma1951.54.635

Udonsi, J.K. (1989). Helminth parasites of wild populations of the black rat *Rattus rattus* (L.), from urban, rural residential and other ecological areas of Nigeria. *Acta Parasitologica Polonica*, **34**: 107-116

Ulmer, M.J. (1951a). *Postharmostomum helicis* (Leidy, 1847) Robinson, 1949 (Trematoda), its life history and a revision of the subfamily Brachylaeminae. Part I. *Transactions of the American Microscopical Society,* **70**: 189-238. https://doi.org/10.2307/3223052

Ulmer, M.J. (1951b). *Postharmostomum helicis* (Leidy, 1847) Robinson, 1949 (Trematoda), its life history and a revision of the subfamily Brachylaeminae. Part II. *Transactions of the American Microscopical Society*, **70**: 319-347. https://doi.org/10.2307/3223568

V

Vardanyan, L., Schmieder, K., Sayadyan, H., Heege, T., Heblinski, J., Agyemang, T., De, J. & Breuer, J. (2008). Heavy metal accumulation by certain aquatic macrophytes from Lake Sevan (Armenia). En: Sengupta, M. & Dalwani, R. (Eds.), *Proceedings of Taal2007, the 12th World Lake Conference,* Jaipur, India, pp 1028-1038

Vaucher, C. & Hunkeler, P. (1967). Contribution à l'étude des cestodes et des trématodes parasites des micromammifières de Suisse. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles*, **90**: 161-184

Veciana, M., Chaisiri, K., Morand, S. & Ribas, A. (2016). *Aonchotheca yannickchavali* n. sp. (Nematoda: Capillariidae) in *Bandicota indica* (Bechstein, 1800) and *Bandicota savilei* (Thomas, 1916) (Rodentia: Muridae) collected from Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, **50**: 470-473. https://doi.org/10.1016/j.anres.2016.04.009

Ventura, J. (1993). Crecimiento relativo de *Arvicola terrestris monticola* (Rodentia, Arvicolidae). *Miscel·lània Zoològica*, **17**: 237-248

Ventura, J. (2007). *Arvicola terrestris* (Linnaeus, 1758). En: Gisbert, J. & Palomo, J.L. (Eds.), *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid (España), pp 401-404

Ventura, J. (2017). *Rata de agua – Arvicola sapidus.* En: Salvador, A. & Barja, I. (Eds.), *Enciclopedia Virtual de* los Vertebrados Españoles. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid (España). Disponible en: https://www.vertebradosibericos.org/mamiferos/arvsap.html

Ventura, J. & Gosálbez, J. (1989). Taxonomic review of *Arvicola terrestris* (Linnaeus, 1758) (Rodentia, Arvicolidae) in the Iberian Peninsula. *Bonner Zoologische Beiträge*, **40**: 227-242

Ventura, J., Jiménez, L. & Gisbert, J. (2010). Breeding characteristics of the Lusitanian pine vole, *Microtus lusitanicus*. *Animal Biology*, **60**: 1-14. https://doi.org/10.1163/157075610X12610595764011

Vlasov, E.A., Malisheva, N.S. & Krivopalov, A.V. (2015). Helminth fauna of myomorph rodents (Rodentia, Myomorpha) in the Central Chernozem State Nature Reserve. *Russian Journal of Parasitology*, **4**: 24-33. https://doi.org/10.12737/17327

Vlasenko, P., Abramov, S., Bugmyrin, S., Dupal, T., Fomenko, N., Gromov, A., Zakharov, E., Ilyashenko, V., Kabdolov, Z., Tikunov, A., Vlasov, E. & Krivopalov, A. (2019). Geographical distribution and hosts of the cestode *Paranoplocephala omphalodes* (Hermann, 17883 Lühe, 1910 in Russia and adjacent territories. *Parasitology Research*, **118**: 3543-3548. https://doi.org/10.1007/s00436-019-06462-z

W

Wakawa, R.J., Uzairu, A., Kagbu, J.A. & Balarbe, M.L. (2008). Impact assessment of effluent discharge on physico-chemical parameters and some heavy metal concentrations in surface water of River Challawa Kano, Nigeria. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, **2**: 100-106.

Waki, T., Sasaki, M., Mashino, K., Iwaki, T. & Nakao, M. (2020). *Brachylaima lignieuhadrae* n. sp. (Trematoda: Brachylaimidae) from land snails of the genus *Euhadra* in Japan. *Parasitology International*, **74**: 101992. https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101992

Walther, B., Fülling, O., Malevez J. & Pelz, H.-J. (2008). How expensive is vole damage? En: Boos M. (Ed.), Ecofruit - *13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference*, Weinsberg, Germany, pp 330-334

Wanas, M.Q., Sheehata, K.K. & Rashed, A.A. (1993). Larval occurrence of *Hydatigera taeniaeformis* Batsch (1786) (Cestoda: Taeniidae) in the liver of wild rodents in Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, **23**: 381-388

Ward, H.L. & Nelson, D.R. (1967). Acanthocephala of the genus *Moniliformis* from rodents of Egypt with the description of a new species from the Egyptian spiny mouse (*Acomys cahirinus*). *Journal of Parasitology*, **53**: 150-156. https://doi.org/10.2307/3276638

Widmer, D. & Jurczynski, K. (2012). Infection with the strobilicercus of *Taenia taeniaeformis* in a malagasy giant jumping rat (*Hypogeomys antimena*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **43**: 914-921. https://doi.org/10.1638/2012-0116R1.1

Wilson, K., Bjørnstad, O.N., Dobson, A.P., Merler, S., Poglayen, G., Randolph, S.E., Read, A.F. & Skorping, A. (2001). Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. En: Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H. & Dobson, A.P. (Eds.), *The Ecology of Wildlife Diseases*. Oxford University Press, Oxford (UK), pp 6-44. https://doi.org/10.1093/oso/9780198506201.003.0002

Woodman, N. & Péfaur, J.E. (2008). Order Soricomorpha Gregory, 1910. En: Gardner, A.L. (Ed.), *Mammals of South America. Volume I: Marsupials, Xenarthrans, Schrews, and Bats.* University of Chicago Press, Chicago (USA), pp 177-187

WoRMS (World Register of Marine Species). https://www.marinespecies.org. Fecha de acceso: 10/09/2023

Wren, C.D. (1986). A review of metal accumulation and toxicity in wild mammals: I. Mercury. *Environmental Research*, **40**: 210–244. https://doi.org/10.1016/S0013-9351(86)80098-6

X

Y

Yabsley, M.J. (2008). Capillarid Nematodes. En: Atkinson, C.T., Thomas, N.J. & Hunter, D.B. (Eds.), *Parasitic diseases in wild birds*. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa (USA), pp 463-497. https://doi.org/10.1002/9780813804620.ch27

Yakolev, Y.B., Lisitsina, O.I. & Malega, O.M. (2013). First record of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala, Moniliformidae) in the European pine marten from Ukraine. *Vestnik Zoologii*, **47**: 364

Yang, M.-Y., Dong, H.-F. & Jiang, M.-S. (2003). Ultrastructural observation of spermatozoa and fertilization in *Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica*, **85**: 63-70. https://doi.org/10.1016/S0001-706X(02)00233-4

Yen Nhi, T.T., Mohd Shazili, N.A. & Shaharom-Harrison, F. (2013). Use of cestodes as indicator of heavy-metal pollution. *Experimental Parasitology*, **133**: 75-79. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.10.014

Yi-Fan, C., Xu-Heng, N., Hui, H., Shou-Young, D., Duszynski, D.W. & Jiang-Hui, B. (2014). Gastrointestinal parasites of root voles, *Microtus oeconomus* (Rodentia: Muridae), from Haibei area, Qinghai province, China. *Comparative Parasitology*, **81**: 185-190. https://doi.org/10.1654/4675.1

Yokohata, Y., Abe, H., Jiang, Y.P. & Kamiya, M. (1989). Gastrointestinal helminth fauna of Japanese moles, *Mogera* spp. *Japanese Journal of Veterinary Research*, **37**: 1-13

Z

Zain, S.N.M., Behnke, J.M. & Lewis, J.W. (2012). Helminth communities from two urban rat populations in Kuala Lumpur, Malaysia. *Parasites & Vectors*, **5**: 47. https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-47

Zar, J.H. (2010). *Biostatistical análisis*. 5th edition. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey (USA). 944 p

Zarei, Z., Mohebali, M., Heidari, Z., Davoodi, J., Shabestari, A., Motevalli Haghi, A., Khanaliha, K. & Kia, E.B. (2016). Helminth infections of *Meriones persicus* (persian jird), *Mus musculus* (house mice) and *Cricetulus migratorius* (grey hamster): a cross sectional study in Meshkin-Shahr district, northwest Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, **11**: 213-220

Ždárská, Z., Soboleva, T.N., Štěrba, J. & Valkounová, J. (1991). Ultrastructure of the male reproductive system of the trematode *Brachylaimus aequans*. *Folia Parasitologica (Praha),* **38**: 33-37

Zhao, F., Zhou, Y., Wu, Y., Zhou, K., Liu A., Yang, F. & Zhang, W. (2020). Prevalence and genetic characterization of two mitochondrial gene sequences of *Strobilocercus fasciolaris* in the livers of brown rat (*Rattus norvegicus*) in Heilongjiang province in Northeastern China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**: 588107. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.588107

Zimmermann, S., Sures, B. & Taraschewski, H. (1999). Experimental studies on lead accumulation in the eel-specific endoparasites *Anguillicola crassus* (Nematoda) and *Paratenuisentis ambiguous* (Acanthocephala) as compared with their host, *Anguilla anguilla*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **37**: 190-195. https://doi.org/10.1007/s002449900505

Zolfaghari, N. & Nabavi, R. (2016). Endoparasites of the long-eared hedgehog (*Hemiechinus auratus*) in Zabol district, Southeast Iran. *Türkiye Parazitolojii Dergisi*, **40**: 37-41. https://doi.org/10.5152/tpd.2016.4541

ANEXO DE PUBLICACIONES

DOI: 10.1515/ap-2018-0102
© W. Stefański Institute of Parasitology, PAS
Acta Parasitologica, 2018, 63(4), 835–838; ISSN 1230-2821

DE GRUYTER

RESEARCH NOTE

First finding of *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* co-infection in the Iberian mole, *Talpa occidentalis*

Roser Adalid[1], Jordi Torres[1,2], Marcos Miñarro[3], Màrius Vicent Fuentes[4] and Jordi Miquel[1,2]*

[1]Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028 Barcelona, Spain; [2]Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain; [3]Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario de Asturias, Ctra. de Oviedo, sn, 33300 Villaviciosa, Spain; [4]Unitat de Parasitologia, Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Universitat de València, Av. Vicent Andrés Estellés, 46100 Burjassot, València, Spain

Abstract

The *Ityogonimus lorum-I. ocreatus* co-infection is reported for the first time in the Iberian mole *Talpa occidentalis* in Asturias (NW Spain). Both *Ityogonimus* species are stenoxenous helminths of insectivores of the genus *Talpa* and they have often been found parasitizing the Iberian mole and also the European mole *T. europaea*, but a mixed infection had not been previously reported. The present study also highlights the main differential morphometric characteristics between *I. lorum* and *I. ocreatus* such as the body length, the ventral sucker diameter, the ratio between suckers and the distance between suckers.

Keywords

Ityogonimus co-infection, Brachylaimidae, Ityogoniminae, *Talpa*, morphometric data

The Iberian mole, *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907 (Eulipotyphla: Talpidae) is a hypogean insectivore endemic to the Iberian Peninsula that is widely distributed in this region, except for north-eastern Spain (Román 2007). The parasitic helminth fauna of *T. occidentalis* is well known and includes digeneans, cestodes, nematodes and acanthocephalans (Casanova *et al*., 1996; Ribas and Casanova, 2006). Among digeneans, the species *Ityogonimus lorum* (Dujardin, 1845), *I. ocreatus* (Goeze, 1782) (Brachylaimidae) and *Omphalometra flexuosa* (Rudolphi, 1809) (Omphalometridae) are frequently found parasitizing the Iberian mole. Considering brachylaimids, both *Ityogonimus* species are stenoxenous helminths of insectivores of the genus *Talpa* and they have also been found in the European mole, *Talpa europaea* Linnaeus, 1758 (see Davies, 1932; Frankland, 1959; Chiriac and Popescu, 1973; Ribas and Casanova, 2005, 2006). Moreover, *I. ocreatus* has also been cited parasitizing the Italian mole, *Talpa romana* (Thomas, 1902), in Calabria (Southern Italy) (Milazzo *et al*. 2002).

Mixed digenean infections of *I. lorum* and *O. flexuosa* or *I. ocreatus* and *O. flexuosa* have frequently been observed by several authors in the genus *Talpa*. For example, Frankland (1959) described the occurrence of *I. lorum*, *I. ocreatus* and *O. flexuosa* in *T. europaea* in the United Kingdom, but no co-infection of both *Ityogonimus* species was described. Other helminthological studies of the European mole describe only one of the *Ityogonimus* species. Chiriac and Popescu (1973) and Shimalov and Shimalov (2001) found only *I. ocreatus* (described as *I. talpae*) in Romania and Belarus, respectively. Ribas and Casanova (2005) found only *I. lorum* and also the digenean *Nephrotrema truncatum* (Leuckart, 1842) in the helminthological survey of *T. europaea* in Southwestern Europe (France and Spain).

Regarding the Italian mole, *T. romana*, Milazzo *et al*. (2002) analysed its parasite community in Southern Italy and they found six helminth species, with the presence of only one digenean, *I. ocreatus*.

Previous studies on the parasitic helminth fauna of the Iberian mole were carried out by Casanova (1993) and Casanova *et al*. (1996), who found only three digeneans (*I. lorum*, *I. ocreatus* and *O. flexuosa*). The prevalences of *Ityogonimus* spp. were 11.0% for *I. lorum* and 1.9% for *I. ocreatus*, and a co-infection of both brachylaimids was never found by

*Corresponding author: jordimiquel@ub.edu

these authors. In this sense, Frankland (1959) and Casanova (1993) hypothesised about an apparent negative interaction between *I. lorum* and *I. ocreatus* at the level of the individual host, since both European moles and Iberian moles parasitized by *Ityogonimus* harboured exclusively one of the species.

Here we report for the first time the co-infection of *I. lorum* and *I. ocreatus* in the Iberian mole *T. occidentalis* in Asturias (NW Spain). Moreover, the present finding constitutes the first record of mixed infections of *Ityogonimus* spp. not only in the Iberian mole, but also for the genus *Talpa*.

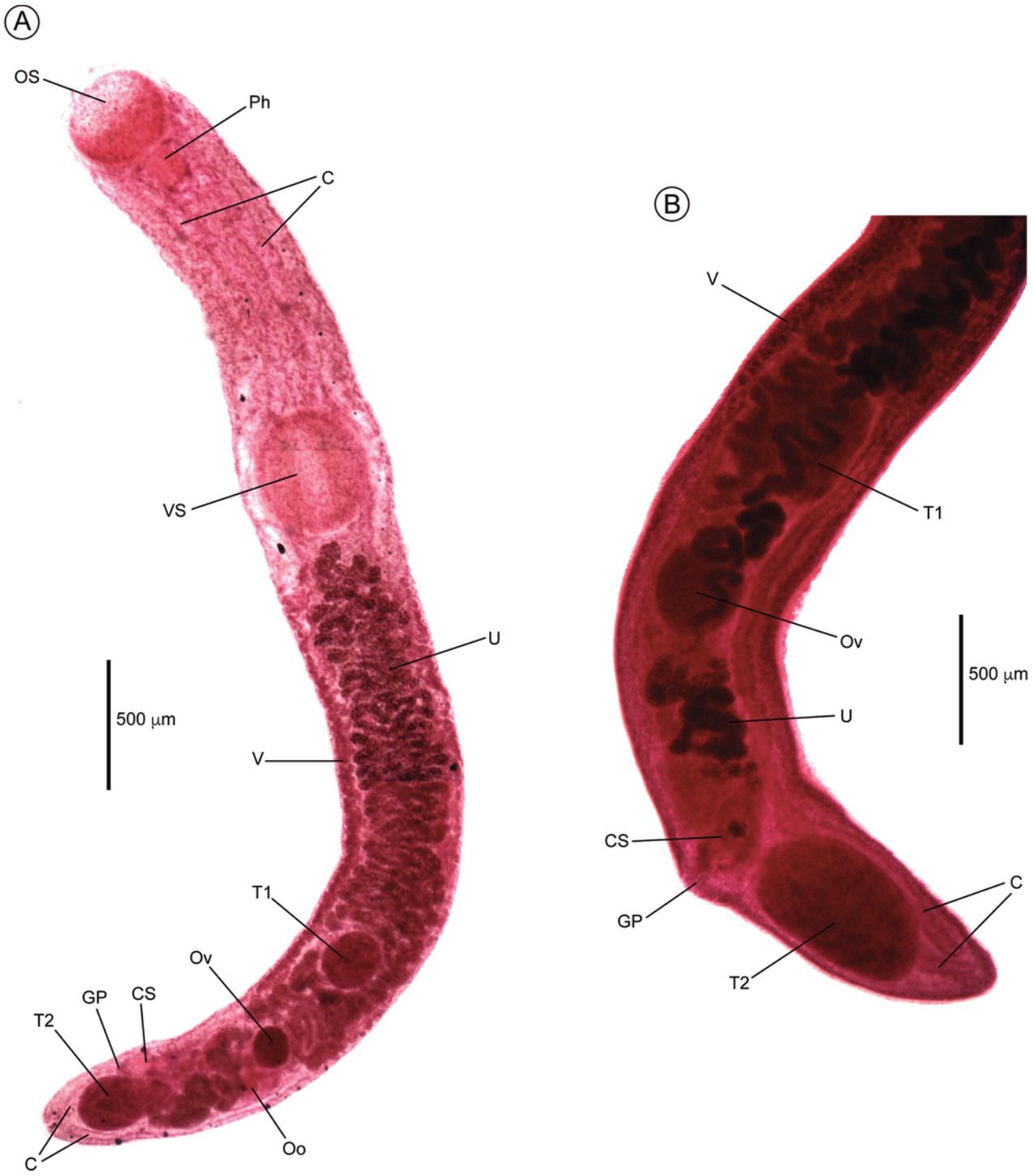


Fig. 1A and B. *Ityogonimus* spp. after Semichon's acetic carmine staining. **A –** *Ityogonimus lorum*; **B –** Genital region of *Ityogonimus ocreatus.* Abbreviations: C – caeca, CS – cirrus sac, GP – genital pore, Ov – ovary, Oo – ootype, OS – oral sucker, Ph – pharynx, T1 – anterior testis, T2 – posterior testis, U – uterus, V – vitelline fields, VS – ventral sucker

Table I. Morphometric data of *Ityogonimus* spp. from *Talpa occidentalis* in Asturias, Spain

	Ityogonimus lorum	***Ityogonimus ocreatus***
	Average (range) (n = 8; n = 80 for eggs)	**Average (range) (n = 7; n = 40 for eggs)**
Body length	4,176.7 (2,704–5,624)	15,022.1 (14,044–16,996)
Maximum width	614.0 (433–784)	848.7 (712–970)
Ph Ø	147.7 (112–165)	151.0 (135–168)
OS Ø	350.2 (232–480)	352.3 (307–455)
VS Ø	432.1 (289–511)	106.1 (67–125)
OS/VS ratio	0.81 (0.75–0.96)	3.48 (2.64–4.75)
VS/OS ratio	1.25 (1.04–1.34)	0.30 (0.21–0.38)
OS–VS	976.4 (784–1,218)	3,846.5 (2,910–4,932)
T1 Ø	215.5 (168–271)	470.6 (374–573)
T2 Ø	246.8 (177–359)	520.71 (464–576)
T1–T2	597.2 (268–929)	1,230.5 (877–1,496)
T1–Ov	153.5 (41–237)	322.4 (237–433)
Ov–T2	298.0 (113–526)	822.9 (619–1114)
T1–Posterior end	981.4 (402–1,393)	2,499.8 (2,043–3,137)
T2–Posterior end	122.5 (62–299)	268.3 (217–340)
Ov Ø	152.8 (125–180)	382.2 (341–454)
CS Ø	60.7 (48–73)	138.2 (86–176)
GP–Posterior end	326.8 (155–464)	874.4 (216–1238)
Right V–VS	250.2 (93–423)	-121.2 (-960–506)
Left V–VS	261.8 (124–310)	-598.5 (-877–-258)
VS–right V	1,607.2 (495–2,456)	5,716.8 (1,579–7,646)
VS–left V	1,645.9 (444–2,580)	6,204.4 (2,456–7,946)
Eggs Ø	13.0 × 28.4 (11–26 × 15–30)	13.6 × 30.8 (13–30 × 14–32)

All measurements (except sucker ratios) are given in micrometres. CS – cirrus sac, GP – genital pore, OS – oral sucker, Ov – ovary, T1 – anterior testis, T2 – posterior testis, V – vitelline fields, VS – ventral sucker

The present study was based on six Iberian moles trapped accidentally during a vole pest control campaign in four localities of Asturias (Spain): Coceña (3 specimens), Oles (1), Priesca (1) and Vegadali (1). After host necropsies, the recovered live digeneans were fixed between slides and coverslips with Bouin and posteriorly rinsed in 70º ethanol. Then, specimens were stained with Semichon carmine, differentiated with 50% acid alcohol solution, dehydrated in an ethanol series (80º, 90º, 96º) and isopropyl alcohol, cleared with clove oil, and finally mounted on slides with Canada balsam (Figs. 1A and B). Measurements of both gravid *Ityogonimus* species are shown in Table I in order to establish the differential characters for specific classification.

In this study, *I. lorum-I. ocreatus* co-infection was detected in two of the six studied hosts (33.3%). In these two moles the individual intensities of each brachylaimid were: 18 *I. lorum* + 7 *I. ocreatus* and 4 *I. lorum* + 13 *I. ocreatus*. On the other hand, in the whole sample, prevalences of *I. lorum* and *I. ocreatus* were respectively 50% and 83.3% (see Table II).

Within the Brachylaimidae, the genus *Ityogonimus* belongs to the subfamily Ityogoniminae, which also includes the genus *Scaphiostomum*. Species of *Ityogonimus* are distinguished by their reduced suckers and by the presence of a short oesophagus (Pojmańska, 2002). Both *I. lorum* and *I. ocreatus* are filiform digeneans with two small suckers clearly separated from each other. This is the most evident difference when comparing to *Scaphiostomum* species, which presents oral and ventral suckers close together. In all *Ityogonimus* specimens, the prepharynx and the oesophagus are very reduced whereas the pharynx is well-developed. The two caeca extend

Table II. Prevalence, mean intensity and mean abundance of *Ityogonimus* spp. from *Talpa occidentalis* in Asturias, Spain (n = 6)

	n	**Prevalence**	**Mean Intensity (range)**	**Mean Abundance**
Ityogonimus lorum	3	50.0	8.0 (2-18)	4.0
Ityogonimus ocreatus	5	83.3	10.6 (2-17)	8.8
Co-infection *I. lorum-I. ocreatus*	2	33.3		

up to the posterior end of the body. Gonads are situated near the posterior extremity. Testes are well separated and the ovary is located between them. Both ovary and testes are intracaecal and sub-spherical to oval in shape. The two testes are disposed in tandem. The genital pore is localised between the ovary and the posterior testis, at the anterior level of the posterior testis. The vitellarium is formed by two lateral and extracaecal vitelline fields that extend from the ventral sucker to the level of the anterior testis (Fig. 1A and B). The main morphometric differences between *I. lorum* and *I. ocreatus* are: (i) the body length (4.18 mm vs 15.02 mm), (ii) the ventral sucker diameter (432 μm vs 106 μm), (iii) the ratio between suckers (OS/VS) (0.81 vs 3.48), and (iv) the distance between suckers (976 μm vs 3,846 μm) (see Table I).

Acknowledgements. JT and JM are members of the 2017-SGR-1008 research group.

References

Casanova J.C. 1993. *Análisis ecológico de las helmintofaunas de mamíferos silvestres: Genetta genetta Linnaeus*, *1758 (Carnivora: Viverridae)*, *Clethrionomys glaerolus Schreber*, *1790 (Rodentia: Arvicolidae) y Talpa occidentalis Cabrera*, *1907 (Insectivora: Talpidae)*. PhD Thesis, Universitat de Barcelona. (In Spanish)

Casanova J.C., Feliu C., Torres J. 1996. Helminthic community of the dwarf mole, *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907 (Insectivora: Talpidae), in Iberian Peninsula. Faunistic and ecological features. *Rivista di Parassitologia*, 13, 439–449

Chiriac E., Popescu A. 1973. Cercetari asupra helmintofaunei unor specii de insectivore (Mammalia) corelativ cu hrana lor. *Studii si Cercetari de Biologie Seria Zoologie*, 25, 117–125. (In Romanian)

Davies E. 1932. On a trematode, *Ityogonimus lorum* (Duj. 1845), with notes on the occurrence of other trematode parasites of *Talpa europaea* in the Aberystwyth area. *Parasitology*, 24, 253–259. DOI: 10.1017/S0031182000020618

Frankland H.M.T. 1959. The incidence and distribution in Britain of the trematodes of *Talpa europaea*. *Parasitology*, 49, 132–142. DOI: 10.1017/S0031182000026779

Milazzo C., Casanova J.C., Aloise G., Ribas A., Cagnin M. 2002. The helminth community of *Talpa romana* (Thomas, 1902) (Insectivora, Talpidae) in southern Italy. *Parasitology Research*, 88, 979–983. DOI: 10.1007/s00436-002-0698-0

Pojmańska T. 2002. Family Brachylaimidae Joyeux & Foley, 1930. In: (Eds: D.I. Gibson, A. Jones, R.A. Bray) *Keys to the Trematoda* Vol. 1. CAB International and The Natural History Museum, London, pp. 37–43

Ribas A., Casanova J.C. 2005. Helminths of *Talpa europaea* (Insectivora, Talpidae) in southwestern Europe. *Acta Parasitologica*, 50, 161–167

Ribas A., Casanova J.C. 2006. Helminth fauna of *Talpa* spp. in the Palaearctic Realm. *Journal of Helminthology*, 80, 1–6. DOI: 10.1079/JOH2005328

Román J. 2007. *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907. In: (Eds: L.J. Palomo, J. Gisbert, J.C. Blanco) *Atlas y libro rojo de los mamíferos terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad–SECEM–SECEMU, Madrid, pp. 89–91. (In Spanish)

Shimalov V.V., Shimalov V.T. 2001. Helminth fauna of the European Mole (*Talpa europaea* Linnaeus, 1758) in Belorussian Polesie. *Parasitology Research*, 87, 790–791. DOI: 10.1007/s00436 0100438

Received: March 19, 2018
Revised: May 25, 2018
Accepted for publication: June 4, 2018

Acta Parasitologica (2019) 64:464–470
https://doi.org/10.2478/s11686-019-00089-x

ORIGINAL PAPER

Mercury, Lead and Cadmium Concentrations in *Talpa occidentalis* and in Their Digeneans of the Genus *Ityogonimus*

Roser Adalid[1] · Jordi Torres[1,2] · Marcos Miñarro[3] · Jordi Miquel[1,2] · Màrius Vicent Fuentes[4] · Catarina Eira[5]

Received: 2 April 2019 / Accepted: 20 May 2019 / Published online: 5 June 2019
© Witold Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences 2019

Abstract

Introduction Many parasites living in aquatic ecosystems are useful indicators of environmental health. On the other hand, information is scarcer with respect to the use of helminth parasites of vertebrates living in terrestrial ecosystems as monitoring tools for toxic element environmental pollution. The present study evaluates the suitability of the model *Talpa occidentalis*/*Ityogonimus* spp. as a bioindicator system for mercury (Hg), lead (Pb) and cadmium (Cd) contamination in agricultural soils from Asturias (Spain).

Methods Kidney and liver samples collected from *T. occidentalis* specimens ($n = 36$) and *Ityogonimus* spp. samples collected from 14 infected hosts were analyzed byICP-MS.

Results The highest mean levels of Hg and Pb were found in *Ityogonimus* individuals (20.9 and 12.4 μg g^{-1} wet weight, respectively). Considering renal and hepatic concentrations in *T. occidentalis*, bioaccumulation factors of *Ityogonimus* for Hg were 83.7 and 58.6, respectively, whereas concerning Pb bioaccumulation factors were 38.2 and 82.9, respectively. No bioaccumulation was detected in *Ityogonimus* in the case of Cd.

Conclusions More studies involving digenean parasites of small mammals are needed, especially when biomonitoring environmental toxic element pollution in terrestrial ecosystems. The present results support the above-mentioned model as a suitable biomonitoring system to evaluate environmental Hg and Pb contamination in terrestrial non-urban Iberian habitats. Similar models involving other species (*Talpa* spp./*Ityogonimus* spp.) might be used in a much wider geographical range.

Keywords Pollution · Parasites · Talpidae · Biomonitoring model · Terrestrial ecosystems

Introduction

Toxic elements are widespread in the environment and can be responsible for negative effects in the biota. In environmental impact studies, certain free-living organisms provide valuable information about the chemical state of their environment through their bioaccumulation capacities. The use of small mammals to evaluate these effects is yet limited despite their proven relevancy to predict environmental risk [1–3]. On the other hand, several studies have evidenced that some helminth parasites are able to accumulate much more trace elements than their respective definitive host [e.g., 4–8]. Therefore, parasites are useful monitors for environmental health since they reveal the availability of contaminants, even if environmental concentrations are expected to be low, while tolerating high contaminant burdens.

Most of the helminth/host models tested for this purpose (involving several vertebrates) have been performed in freshwater habitats [4]. Contrarily, in terrestrial systems, only a

✉ Catarina Eira
catarina.eira@ua.pt

1 Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028 Barcelona, Spain

2 Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain

3 Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario de Asturias, Ctra. de Oviedo, sn, 33300 Villaviciosa, Spain

4 Unitat de Parasitologia, Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Universitat de València, Av. Vicent Andrés Estellés, Burjassot, 46100 València, Spain

5 CESAM and Department of Biology, University of Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal

few studies have tested this capacity mostly involving cestodes and/or acanthocephalan parasites of small mammals [5–10].

Concerning terrestrial digeneans, to date only two models involving larger mammals have been evaluated, using cattle (porcine and bovine) and buffaloes infected by *Fasciola* specimens [11, 12]. This lack of information motivates the need for further studies on parasitological models involving digeneans that may reflect small-scale differences in heavy metal contamination in terrestrial ecosystems.

Moles of the genus *Talpa* are strictly subterranean mammals, which are widely distributed throughout the western Palearctic region from the Iberian Peninsula to Siberia. The genus *Talpa* involves nine species that present an irregular distribution [13]. In fact, *T. caeca* and *T. europaea* present a wide distribution in Europe, whereas *T. occidentalis* is restricted to the Iberian Peninsula, *T. romana* to Italy and *T. stankovici* to the Balkans [14]. The Iberian mole, *T. occidentalis* Cabrera, 1907 (Eulipotyphla: Talpidae) is a fossorial small mammal that feeds on invertebrates (mainly earthworms and insect larvae) categorized as a least concern species by the IUCN that inhabits only in Portugal and Spain [15].

Ribas and Casanova [16] concluded that only three digeneans (*Combesia macrobursata*, *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus*) are exclusive parasites of *Talpa*. The genus *Ityogonimus* includes only three species: *I. lorum*, *I. ocreatus* and *I. scalopi.* Species of the genus *Ityogonimus* are Brachylaimidae digenids belonging to the Ityogoniminae subfamily that includes parasites of birds and mammals, using terrestrial molluscs as intermediate hosts [17]. *Ityogonimus scalopi* parasitizes Nearctic moles of the genus *Scalopus*. *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* frequently infect *T. occidentalis, T. europaea* and *T. romana* in the Palearctic but mixed infections were evidenced for the first time in *T. occidentalis* by Adalid et al. [18].

The present study evaluates for the first time a model involving a small mammal and their adult terrestrial trematodes (*T. occidentalis*/*Ityogonimus* digeneans) in order to determine its potential usefulness as a biomonitoring tool for mercury (Hg), lead (Pb) and cadmium (Cd) under natural field conditions.

Materials and Methods

All analyzed *T. occidentalis* individuals were collected in Asturias, in the northern maritime facade of Spain, at small agricultural plots (mainly apple orchards used in the production of cider). All individuals (36 adult specimens of *T. occidentalis*) were accidentally trapped with snap traps (Topcat®, Switzerland) placed in galleries during vole pest control campaigns targeting *Microtus lusitanicus* (Gerbe 1879) and *Arvicola scherman* (Shaw 1801) from February 2011 to February 2012. They were dissected using stainless-steel instruments and scanned for *Ityogonimus* intestinal specimens. One kidney sample and one liver sample of around 150 mg (wet weight, w. w.) of each specimen were collected and stored in glass vials (frozen at − 20 °C). Several specimens of *Ityogonimus* (both *I. lorum* and *I. ocreatus*) from the 14 infected moles were also stored in the same form until element analysis. In this study, it was possible to analyze 14 moles infected with mixed *Ityogonimus* spp. (38.88% of prevalence) and 22 moles uninfected by these digeneans.

Each sample was digested in Teflon vessels with 2 ml HNO_3 (Merck, Suprapur) and 1 ml H_2O_2 (PanReac) at 90 °C in an oven and left overnight. All materials used in this process were thoroughly acid-rinsed. After digestion, samples were diluted with 30 ml of Milli-Q water. The whole process was standardized and validated at the CCiTUB ("Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona"). Blanks and standards (National Research Council, Canada) were used to obtain the detection limits as well as the accuracy of the results. Total concentrations of all elements were quantified by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, PerkinElmer Elan 6000). The detection limits (mean blank value plus three standard deviations) were always inferior to 1 ng ml^{-1}, and the accuracy values were always higher than 95% for all three elements. Concentrations refer to wet weight tissues.

Bioaccumulation factors (BFs) for elements in the digeneans (*Ityogonimus* spp.) were calculated as proposed by Sures et al. [19]. In several cases, datasets did not present a normal distribution and variances for some groups were significantly different even after log-transformation. Thus, Mann–Whitney *U* tests and Kruskal–Wallis tests with the post hoc Dunn's test were used instead of parametric tests. All tests were performed in Prism 5, and a minimum significance level $P < 0.05$ was applied in all tests.

Results

Mercury, lead and cadmium mean concentrations in hepatic and renal tissues of both infected and uninfected subsamples of *T. occidentalis* as well as in *Ityogonimus* specimens are represented in Fig. 1. Mercury, lead and cadmium mean concentrations (± SE) along with their median and range are presented in Table 1. Comparing infected with non-infected hosts, no significant differences were detected between median concentrations of the analyzed toxic elements considering either kidney or liver tissues (see Table 1, Mann–Whitney tests' results). The highest mean concentration of Hg and Pb was found in two individual samples of *Ityogonimus* (73.9 and 45.1 μg g^{-1} w. w., respectively). Contrarily, the highest value of Cd (14.9 μg g^{-1} w. w) was

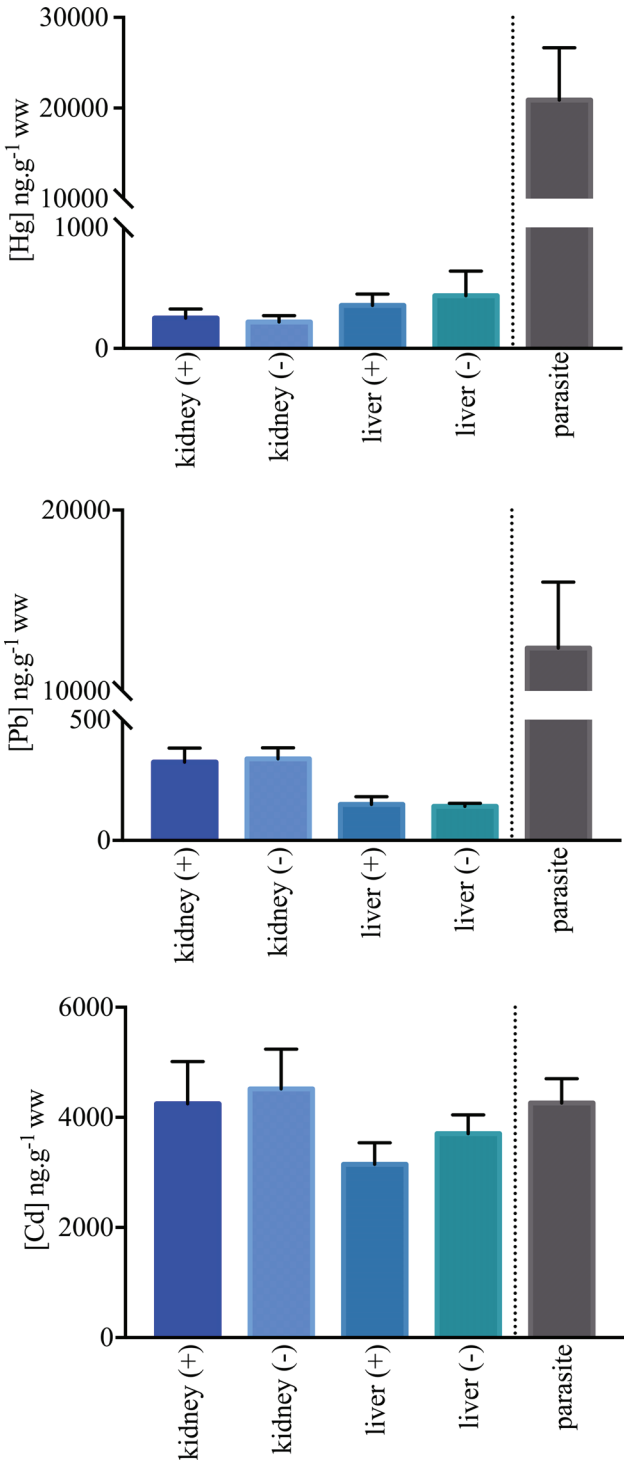


Fig. 1 Mercury, lead and cadmium mean concentrations in hepatic and renal tissues of both infected (+) and uninfected (−) subsamples of *T. occidentalis* as well as in *Ityogonimus*. Error bars indicate standard error. Graphics were produced in PRISM 5 and joined in Photoshop CS6 in tiff format

recorded in renal tissue of one *T. occidentalis* uninfected by flukes.

The mean Hg concentration found in the digeneans was nearly 84 times higher than that found in renal tissues and 59 times higher than Hg concentrations in hepatic tissues of infected hosts (Table 2). In fact, significantly higher median Hg concentrations were found ($H = 24.6$, $P < 0.0001$) in the parasites in comparison with renal and hepatic tissues of infected hosts (Dunn's test: kidney, $P < 0.0001$; liver, $P = 0.0002$) although no significant differences were found between renal and hepatic tissues of infected hosts (Dunn's test, $P > 0.9999$).

The mean Pb concentration found in *Ityogonimus* was 38 times higher than that found in renal tissue and 83 times higher than that found in hepatic tissues of their hosts (Table 2). Significantly higher median Pb concentrations were found ($H = 31.2$, $P < 0.0001$) in the parasites in comparison with renal and hepatic tissues of infected hosts (Dunn's test: kidney, $P = 0.0012$; liver, $P < 0.0001$) although no significant differences were found between renal and hepatic tissues of infected hosts (Dunn's test, $P > 0.9999$).

The mean Cd concentration found in *Ityogonimus* was only 1.3 times higher than that found in hepatic tissues of their hosts (Table 2). No significant differences were thus found when comparing median Cd concentrations in parasites, renal and hepatic tissues of infected hosts ($H = 3.18$, $P = 0.2038$). However, when comparing the Cd median concentration exclusively between *Ityogonimus* and host liver values, the Cd concentration was in fact significantly higher in the parasite than in hepatic tissue of infected hosts (see Table 1, Mann–Whitney test, $U = 56$; $P = 0.0278$).

Discussion

Several studies aiming to investigate terrestrial environmental quality have mainly been done on expectedly polluted areas or after environmental accidents [3, 6, 20]. However, scarce attention has been paid to areas of high ecological or economic importance that may also be subject to several types of chronic low direct or indirect anthropogenic chemical stress, making them less suitable for wildlife or human activities [7, 21, 22]. In this context, the field of environmental parasitology focusing on parasites as indicators of environmental contamination seems to be useful for monitoring both environmental health and anthropogenic impacts [4].

The role of mercury accumulation in terrestrial food webs is often neglected, and studies on aquatic and marine environments are preponderant when compared to terrestrial ecosystems. In this sense, there are not many works quantifying levels of Hg in small or medium terrestrial mammals. The prevalent routes of Hg intake in terrestrial mammals include inhalation, but ingestion is usually the most

Table 1 Mercury, lead and cadmium concentrations (ng g^{-1} w. w.) in renal and hepatic tissues of *T. occidentalis* infested (+) and non-infested (−) by *Ityogonimus* spp. and in the digeneans

	Host (+)		Host (−)		Host (+) vs (−)	
	Mean ± SE		Mean ± SE		Mann–Whitney	
	Median (min–max)	*n*	Median (min–max)	*n*	*U*	*P*
Hg						
Kidney	249.6 ± 77		218.6 ± 52			
	111 (16.3–927.4)	14	141 (17.5–861.6)	22	150	0.455
Liver	356.2 ± 94.01		435.6 ± 203.1			
	230 (17.7–974.3)	14	138 (22.3–4499)	22	147	0.418
Parasite	20,891.7 ± 5766					
	14,745 (365.7–73,956)	14				
Pb						
Kidney	324.1 ± 58.5		337.7 ± 46.1			
	245.3 (115–824)	14	278.4 (75.5–1010)	22	144	0.381
Liver	149.3 ± 31.8		141.0 ± 12.6			
	93.0 (51–458)	14	133.5 (54.4–324)	22	117	0.120
Parasite	12,374.6 ± 3648					
	7149 (1375–45,038)	14				
Cd						
Kidney	4247.6 ± 769		4516.8 ± 725			
	4031 (292–10,183)	14	4128 (517–14,944)	22	152	0.481
Liver	3149.5 ± 389		3703.5 ± 344			
	3167[a] (587–5642)	14	3845 (664–6927)	22	122	0.156
Parasite	4260.4 ± 443					
	4602[a] (1339–7155)	14				

SE standard error

[a]Cd concentration is significantly higher in the parasite than in liver of infected hosts ($U = 56$; $P = 0.0278$)

Table 2 Mercury, lead and cadmium bioaccumulation factors (BF = [Parasite]/[Host (+)]) in renal and hepatic tissues of *T. occidentalis* infested by *Ityogonimus* spp.

	BF kidney	BF liver	Kruskal–Wallis		Dunn's test		
			H	*P*	Kidney vs liver Adj-*P*	Parasite vs kidney Adj-*P*	Parasite vs liver Adj-*P*
Hg	83.7	58.6	24.6	< 0.0001	ns	< 0.0001	0.0002
Pb	38.2	82.9	31.2	< 0.0001	ns	0.0012	< 0.0001
Cd	≈ 1	1.3	3.18	0.2038	ns	ns	ns

ns not significant

important pathway, therefore being strongly influenced by preferences and food selection. Moles feed on invertebrates, especially earthworms [23], which constitute a very important part of the total biomass of the soil fauna and play an important role in the heavy metal intake of moles due to its demonstrated ability to efficiently accumulate these elements from soils [24]. In fact, earthworms represent the most important link in trophic pathways of contaminants from soil to predators representing serious risks of secondary poisoning of vertebrate predators due to biomagnification [25, 26]. Although more attention has been paid to earthworm bioaccumulation of several elements other than mercury, they are also known to accumulate this element [27]. Also, the uptake of Hg is influenced by the presence of organic matter and different conditions of the soil [28].

There are several possible origins of toxic elements bioavailable to small mammals. Mercury-containing compounds were widely used as fungicides for seeds and often used in conjunction with other organic insecticides; consequently, seed-eating small or medium mammals were particularly exposed to hazardous Hg concentrations [29]. Bull et al. [30] analyzed bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from England and reported renal and hepatic concentrations of mercury (80 and 60 ng g^{-1} w. w., respectively) in a control

area, whereas levels near a polluted area amounted to 350 and 150 ng g^{-1} w. w., respectively. More recently, Eira et al. [9] analyzed the model *Oryctolagus cuniculus*/*Mosgovoyia ctenoides* in Portugal and reported concentrations of 80 and 40 ng g^{-1} w. w. in kidney and liver of these lagomorphs and a concentration of 40 ng g^{-1} w. w. in their intestinal cestodes. These authors concluded that the relatively high renal level of mercury in rabbits of Dunas de Mira (Portugal) might have been related to the focalized and long-lasting use of organomercury fungicides in a large flower production facility in the area. In the present study, our results indicate that Hg contamination in the sampled area (soil, sediment, water) or particularly in mole prey may be quite high, since internal tissues of *T. occidentalis* presented mean concentrations of 231 and 405 ng g^{-1} w. w. (respectively, kidney and liver). On the other hand, the high bioaccumulation factors produced by the concentrations observed in the analyzed *Ityogonimus* specimens confirm the role of the model *T. occidentalis*/*Ityogonimus* spp. as a very promising bioindicator system for mercury contamination.

Mean concentrations of lead in kidney and liver of *T. occidentalis* both in uninfected individuals and in those infected by *Ityogonimus* were around 325 and 150 ng g^{-1} w. w., respectively. The concentration of Pb was much higher in *Ityogonimus* specimens (12,373.6 ng g^{-1} w. w.), which implies high Pb bioaccumulation factors (38.2 and 82.9 respect to their host kidney and liver). The lead values reported here are comparatively high with respect to values obtained (60 and 160 ng g^{-1} w. w. in kidney and liver, respectively) in *O. cuniculus* in Portugal [9]. Although the intake of this toxic element may again be related to the different types of food items ingested by moles (mostly earthworms) and wild rabbits (different types of vegetation), Eira et al. [9] pointed out that their study area was used for game and possible shot injuries prior to rabbits' death could explain the high Pb concentrations in the analyzed wild rabbits. The hypothesis that hunting ammunition is one of the wildlife sources of Pb contamination has been suggested in several mammals mostly because of ingestion of lead pellets [31]. This could also be one of the reasons for the elevated Pb concentration in *T. occidentalis* in the present study. However, the ingestion of earthworms living in Pb-contaminated soils should account for most of the metal intake by moles since bioaccumulation of Pb by earthworms is well-documented [32].

In the study performed by Sures et al. [5] in two polluted areas adjacent to the city of Cairo (Egypt), the model *Rattus norvegicus*/*Hymenolepis diminuta* was investigated to test the suitability of this system as an indicator for Pb pollution under field conditions. The concentrations of lead were always inferior to 100 ng g^{-1} w. w. in liver and around 200 ng g^{-1} w. w. in kidney. Despite the surely different diets between rodents in large urban areas and moles in agriculture areas, Pb concentrations in tissues of *T. occidentalis* in an agricultural area with very low human population pressure are higher than lead levels found in an omnivorous small mammal inhabiting a very large city. Similarly, Torres et al. [6] evaluated the model *Apodemus sylvaticus*/*Skrjabinotaenia lobata* in a dumping site near Barcelona (Spain) where the field mouse (*A. sylvaticus*) presented kidney and liver lead concentrations of 144.8 ng g^{-1} w. w. and 23.1 ng g^{-1} w. w., respectively, which were much lower than the values reported in the present study. These models involving small-sized cestodes such as *H. diminuta* or *S. lobata* in expectedly polluted sites were shown to be promising tools for biomonitoring lead contamination [5, 6]. However, the model proposed in the present study is probably a much better small mammal/helminth Pb biomonitoring tool for the evaluation of low contamination in certain areas, since no other model analyzed until now produced higher lead bioaccumulation factors.

In general, cadmium levels reported in the present study are much higher than renal and hepatic concentrations reported by Eira et al. [9] in *O. cuniculus* from Portugal. Taking into consideration that rabbits and moles feed on very different prey items, which might account for the different concentration levels in each host species, it is still difficult to infer about the origin of this apparent higher contamination in the present study area. However, considering the presence of small agriculture fields, the contamination levels observed in the present study might result from the application of phosphate fertilizers, which usually represent a direct input of Cd into arable soils [33–36].

No significant differences were found between median renal and hepatic concentrations of Cd in *T. occidentalis* infected by *Ityogonimus* in comparison with the respective medians in not-infected individuals. Despite the relatively high levels of cadmium in *T. occidentalis* tissues, the median concentration observed in *Ityogonimus* was still significantly higher than the Cd median concentration in their host's liver (infected moles). It is, however, clear that *Ityogonimus* sp. do not bioaccumulate Cd up to values such as those shown by other models involving small mammals and their cestodes [7]. Thus, based on the present results, it is not possible to confirm the model *T. occidentalis*/*Ityogonimus* as a promising bioindicator for environmental Cd contamination.

Moles of the genus *Talpa* are widely distributed throughout the western Palearctic region. As referred earlier, Ribas and Casanova [16] concluded that only three digeneans (*C. macrobursata*, *I. lorum* and *I. ocreatus*) are exclusive parasites of *Talpa*. *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* frequently infect *T. occidentalis, T. europaea* and *T. romana* in the Palearctic. Thus, the model proposed in the present study involving digeneans of *T. occidentalis* might be reproduced throughout Europe using other *Talpa* spp./*Ityogonimus* spp. models. Notwithstanding, information about the mechanisms

responsible for trace element uptake by helminths is scarce, and in the future, more attention should be paid to other digenean parasites of small mammals when biomonitoring environmental contamination in terrestrial ecosystems.

Concluding Remarks

The mercury and lead bioaccumulation factors reported in the present study for *Ityogonimus* are very high considering the theoretically low level of contamination at the sampling area. Therefore, the model *Talpa* spp./*Ityogonimus* spp. is a promising biomonitoring system to evaluate environmental mercury and lead contamination in several terrestrial non-urban habitats where both genus are present. Future research should focus on evaluating mercury and lead in soil, water, and mole prey (mainly earthworms) from the study area.

Acknowledgements Authors wish to thank personnel of the "Serveis Científico-Tècnics" of the University of Barcelona for their contribution to the analytical process.

Funding CE was supported by CESAM UID/AMB/50017/2013 (FCT) co-funded by FCT/MEC and FEDER, within PT2020 and Compete 2020. JT and JM are members of the 2017-SGR-1008 research group.

Compliance with Ethical Standards

Ethical Approval The methods used in this study comply with the current national laws.

Conflict of interest On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

References

1. Hamers T, van den Berg JHJ, van Gestel CAM, van Schooten FJ, Murk AJ (2006) Risk assessment of metals and organic pollutants for herbivorous and carnivorous small mammal food chains in a polluted floodplain (Biesbosch, The Netherlands). Environ Pollut 144:581–595. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.020
2. Sánchez-Chardi A, Peñarroja-Matutano C, Oliveira Ribeiro CA, Nadal J (2007) Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. Chemosphere 70:101–109. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.06.047
3. Al Sayegh Petkovšek S, Kopušar N, Kryštufek B (2014) Small mammals as biomonitors of metal pollution: a case study in Slovenia. Environ Monit Assess 186:4261–4274. https://doi.org/10.1007/s10661-014-3696-7
4. Sures B, Nachev M, Selbach C, Marcogliese DJ (2017) Parasites responses to pollution: what we know and where we go in 'Environmental Parasitology'. Parasite Vector 10:65. https://doi.org/10.1186/s13071-017-2001-3
5. Sures B, Scheible T, Bashtar AR, Taraschewski H (2003) Lead concentrations in *Hymenolepis diminuta* adults and *Taenia taeniaeformis* larvae compared to their rat host (*Rattus norvegicus*) sampled from the city of Cairo, Egypt. Parasitology 127:483–487. https://doi.org/10.1017/S003118220003003901
6. Torres J, Peig J, Eira C, Borrás M (2006) Cadmium and lead concentrations in *Skrjabinotaenia lobata* (Cestoda: Catenotaeniidae) and in its host, *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae) in the urban dumping site of Garraf (Spain). Environ Pollut 143:4–8. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.11.012
7. Torres J, Eira C, Miquel J, Foronda P, Feliu C (2011) Cadmium and lead concentrations in *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) and *Rodentolepis microstoma* (Cestoda), and in their definitive hosts, *Rattus rattus* and *Mus domesticus* in El Hierro (Canary Archipelago, Spain). Acta Parasitol 56:320–324. https://doi.org/10.2478/s11686-011-0064-4
8. Al-Quraishy S, Gewik MM, Abdel-Baki AAS (2014) The intestinal cestode *Hymenolepis diminuta* as a lead sink for its rat host in the industrial areas of Riyadh, Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci 21:387–390. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.09.010
9. Eira C, Torres J, Vingada J, Miquel J (2005) Concentration of some toxic elements in *Oryctolagus cuniculus* and in its intestinal cestode *Mosgovoyia ctenoides* in Dunas de Mira (Portugal). Sci Total Environ 346:81–86. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.11.014
10. Teimoori S, Sabour Yaraghi A, Makki MS, Shahbazi F, Nazmara S, Rokni MB, Mesdaghinia A, Moghaddam AS, Hosseini M, Rakhshanpour A, Mowlavi G (2014) Heavy metal bioabsorption capacity of intestinal helminths in urban rats. Iran J Public Health 4:310–315
11. Sures B, Jürges G, Taraschewski H (1998) Relative concentrations of heavy metals in the parasites *Ascaris suum* (Nematoda) and *Fasciola hepatica* (Digenea) and their respective porcine and bovine definitive hosts. Int J Parasitol 28:1173–1178. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00105-2
12. Lotfy WM, Ezz AM, Hassan AAM (2013) Bioaccumulation of some heavy metals in the liver flukes *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. Iran J Parasitol 8:552–558
13. Hutterer R (2005) Order Soricomorpha. In: Wilson DE, Reeder DM (eds) Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference, 3rd edn. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp 220–311
14. Nicolas V, Martínez-Vargas J, Hugot JP (2017) Molecular data and ecological niche modelling reveal the evolutionary history of the common and Iberian moles (Talpidae) in Europe. Zool Scr 46:12–26. https://doi.org/10.1111/zsc.12189
15. Cassola F (2016) *Talpa occidentalis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016. http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T41483A2953593.en. Accessed 14 July 2018
16. Ribas A, Casanova JC (2006) Helminth fauna of *Talpa* spp. in the Palaearctic Realm. J Helminthol 80:1–6. https://doi.org/10.1079/JOH2005358
17. Pojmańska T (1930) Family Brachylaimidae Joyeux & Foley, 1930. In: Gibson DI, Jones A, Bray RA (eds) Keys to the trematoda, vol 1. CAB International, London, pp 37–43
18. Adalid R, Torres J, Miñarro M, Fuentes MV, Miquel J (2018) First finding of *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* co-infection in the Iberian mole, *Talpa occidentalis*. Acta Parasitol 63:835–838. https://doi.org/10.1515/ap-2018-00
19. Sures B, Siddall R, Taraschewski H (1999) Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. Parasitol Today 15:16–22. https://doi.org/10.1016/S0169-4758(98)01358-1
20. Tovar-Sánchez E, Cervantes LT, Martínez C, Rojas E, Valverde M, Ortiz-Hernández ML, Mussali-Galante P (2012) Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental contamination by mine tailings. Environ Sci Pollut Res 19:1677–1686. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0680-4
21. Sures B, Reimann N (2003) Analysis of trace metals in the Antarctic host-parasite system *Notothenia coriiceps* and *Aspersentis*

megarhynchus (Acanthocephala) caught at King George Island, South Shetland Islands. Polar Biol 26:680–686. https://doi.org/10.1007/s00300-003-0538-4
22. Rodrigues dos Santos I, Vieira Silva-Filho E, Schaefer C, Sella SM, Silva CA, Gomes V, Passos MJ, Van Ngan P (2006) Baseline mercury and zinc concentrations in terrestrial and coastal organisms of Admiralty Bay, Antartica. Environ Pollut 140:304–311. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.07.007
23. Niethammer J (1907) *Talpa occidentalis* Cabrera, 1907. In: Niethammer J, Krapp F (eds) Handbuch der Säugetiere Europas. Band 3/1. Insektenfresser—Insectivora. Herrentiere-primates. Aula Verlag, Wiesbaden, pp 157–161
24. Nahmani J, Hodson ME, Black S (2007) A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. Environ Pollut 145:402–424. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.009
25. Jelaska ŠL, Jurasović J, Brown DS, Vaughan IP, Symondson WOC (2014) Molecular field analysis of trophic relationships in soil-dwelling invertebrates to identify mercury, lead and cadmium transmission through forest ecosystems. Mol Ecol 23:3755–3766. https://doi.org/10.1111/mec.12566
26. Ma WC, Talmage SS (2001) Insectivora. In: Shore RF, Rattner BA (eds) Ecotoxicology of wild mammals. Wiley, Chichester, pp 123–158
27. Álvarez CR, Moreno MJ, Bernardo FG, Martín-Doimeadios RR, Nevado JB (2014) Mercury methylation, uptake and bioaccumulation by the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). Appl Soil Ecol 84:45–53. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.06.008
28. Le Roux S, Baker P, Crouch A (2016) Bioaccumulation of total mercury in the earthworm *Eisenia andrei*. Springerplus 5:681. https://doi.org/10.1186/s40064-016-2282-6
29. Wren CD (1986) A review of metal accumulation and toxicity in wild mammals: I. Mercury. Environ Res 40:210–244. https://doi.org/10.1016/S0013-9351(86)80098-6
30. Bull KR, Roberts RD, Inskip MJ, Goodman GT (1977) Mercury concentrations in soil, grass, earthworms and small mammals near an industrial emission source. Environ Pollut 12:135–140. https://doi.org/10.1016/0013-9327(77)90016-7
31. Lewis LA, Poppenga RJ, Davidson WR, Fischer JR, Morgan KA (2001) Lead toxicosis and trace element levels in wild birds and mammals at a firearms training facility. Arch Environ Contam Toxicol 41:208–214. https://doi.org/10.1007/s002440010239
32. Li L, Xu Z, Wu J, Tian G (2010) Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. Bioresour Technol 101:3430–3436. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.085
33. Sager M (1997) Possible trace metal load from fertilizers. Bodenkultur 48:217–223
34. Pan J, Plant JA, Voulvoulis N, Oates CJ, Ihlenfeld C (2010) Cadmium levels in Europe: implications for human health. Environ Geochem Health 32:1–12. https://doi.org/10.1007/s10653-009-9273-2
35. Riedel T, Hennessy P, Iden SC, Koschinsky A (2015) Leaching of soil-derived major and trace elements in an arable topsoil after the addition of biochar. Eur J Soil Sci 66:823–834. https://doi.org/10.1111/ejss.12256
36. Bigalke M, Ulrich A, Rehmus A, Keller A (2017) Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland. Environ Pollut 221:85–93. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.035

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Tissue and Cell 72 (2021) 101541

Contents lists available at ScienceDirect

Tissue and Cell

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tice

First spermatological data on the digenean genus *Ityogonimus* derived from the description of sperm characters of *Ityogonimus ocreatus* (Brachylaimidae: Ityogoniminae)

Roser Adalid [a,b], Jordi Torres [a,b], Màrius Vicent Fuentes [c], Jordi Miquel [a,b,*]

[a] Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028, Barcelona, Spain
[b] Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028, Barcelona, Spain
[c] Unitat de Parasitologia, Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Universitat de Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés, 46100, Burjassot, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
Ityogonimus ocreatus
Brachylaimidae
Ityogoniminae
Digenea
Spermatozoon
Ultrastructure

ABSTRACT

The present study describes the ultrastructural organization of the spermatozoa of the brachylaimid digenean *Ityogonimus ocreatus* (Ityogoniminae) by means of transmission electron microscopy (TEM). Live digeneans were collected from the digestive tract of an Iberian mole *Talpa occidentalis* (Eulipotyphla, Talpidae) captured accidentally during a vole pest control campaign in Priesca (Asturias, Spain). The TEM study reveals that the *I. ocreatus* sperm are filiform, tapered at both extremities, and have two 9+'1' trepaxonematan axonemes, external ornamentation of the plasma membrane associated with cortical microtubules, spine-like bodies, two bundles of parallel cortical microtubules and one mitochondrion overlapping the anterior part of the nucleus. The external ornamentation of the plasma membrane is located in the posterior part of the anterior region. The maximum number of parallel cortical microtubules (45) is located in the anterior part of the sperm cells. Our results are compared with the available data on the family Brachylaimidae, especially on the other Ityogoniminae studied to date (*Scaphiostomum palaearcticum*).

1. Introduction

The digenean *Ityogonimus ocreatus* belongs to the family Brachylaimidae, which comprises two subfamilies, the Brachylaiminae and the Ityogoniminae (Pojmańska, 2002). The subfamily Ityogoniminae includes exclusively the genera *Ityogonimus* and *Scaphiostomum*. Representatives of the genus *Ityogonimus* are parasites of talpids and this genus currently has three recognized species: *I. lorum* and *I. ocreatus* parasites of *Talpa* spp. in the Palaearctic region (Milazzo et al., 2002; Ribas and Casanova, 2006; Adalid et al., 2018), and *I. scalopi*, a parasite of *Scapanus aquaticus* inhabiting part of the Nearctic region (Turner and McKeever, 1980). The species *I. ocreatus* has been reported as a parasite of the European mole *Talpa europaea*, the Iberian mole *T. occidentalis*, and the Italian mole *T. romana* (see Milazzo et al., 2002; Adalid et al., 2018).

The study of sperm characters has been demonstrated as a useful tool to analyse the phylogenetic relationships in different groups of Platyhelminthes such as monogeneans and cestodes (Justine, 1991a, b, 1998, 2001; Bâ and Marchand, 1995; Levron et al., 2010; Justine and Poddubnaya, 2018). In the Digenea, many studies have been carried out to assess the phylogenetic usefulness of their spermatological ultrastructural characteristics (Quilichini et al., 2007, 2010, 2011; Bakhoum et al., 2017a; Kacem et al., 2020). To our knowledge, the ultrastructural study of the spermatozoa in the Digenea involves more than 140 species. In some groups, such as the bucephalids, hemiurids or opecoelids, the number of studied species is quite important and the analyses of the observed ultrastructural characteristics provided useful data for possible phylogenetic inferences (see Ndiaye et al., 2018; Bâ et al., 2020a; Kacem et al., 2020). This is not the case of brachylaimids, which have been poorly studied. Within the family Brachylaimidae, to date, only the studies of *Brachylaima mascomai* (Brachylaiminae) and *Scaphiostomum palaearcticum* (Ityogoniminae) are extensive enough to extract the most

* Corresponding author at: Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028, Barcelona, Spain.
E-mail address: jordimiquel@ub.edu (J. Miquel).

https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101541
Received 1 March 2021; Received in revised form 6 April 2021; Accepted 6 April 2021
Available online 14 April 2021
0040-8166/© 2021 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

interesting ultrastructural features of the spermatozoa and their organization (González-Moreno, 2002; Ndiaye et al., 2002). Considering the subfamily Brachylaiminae, studies on *Brachylaima aequans* (ŽĎárská et al., 1991) and *Postharmostomum gallinum* (Chen and Lu, 1994) present partial descriptions of the ultrastructure of the sperm cells.

The aim of the present study is to describe the ultrastructural organization of the sperm characters of *I. ocreatus* (Brachylaimidae, Ityogoniminae). This study will increase the ultrastructural spermatological database on the Digenea and contribute to a better understanding of the phylogenetic relationships within the Brachylaimidae.

2. Materials and methods

2.1. Specimens

Live specimens of *I. ocreatus* were recovered from the intestine of a naturally infected Iberian mole *Talpa occidentalis* trapped accidentally in July 2016 during a vole pest control campaign in Priesca (Asturias, Spain).

2.2. Transmission electron microscopy

Adult flukes were rinsed with a 0.9 % NaCl solution and fixed in cold (4 °C) 2.5 % glutaraldehyde in a 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.4 for 2 h, rinsed in 0.1 M sodium cacodylate buffer at pH 7.4, post-fixed in cold (4 °C) 1% osmium tetroxide with 0.9 % potassium ferricyanide in the same buffer for 1 h, rinsed in Milli-Q water (Millipore Gradient A10), dehydrated in an ethanol series and propylene oxide, embedded in Spurr's resin and polymerized at 60 °C for 72 h. Ultrathin sections (60–90 nm thick) at the level of the seminal vesicle were obtained using a Reichert-Jung Ultracut E ultramicrotome. Sections were placed on copper and gold grids (200 μm mesh size). Sections placed on copper grids were double-stained with uranyl acetate and lead citrate according to the Reynolds procedure (Reynolds, 1963). Stained ultrathin sections were examined in a JEOL 1010 transmission electron microscope operated at an accelerating voltage of 80 kV, in the "Centres Científics i Tecnològics" of the University of Barcelona (CCiTUB).

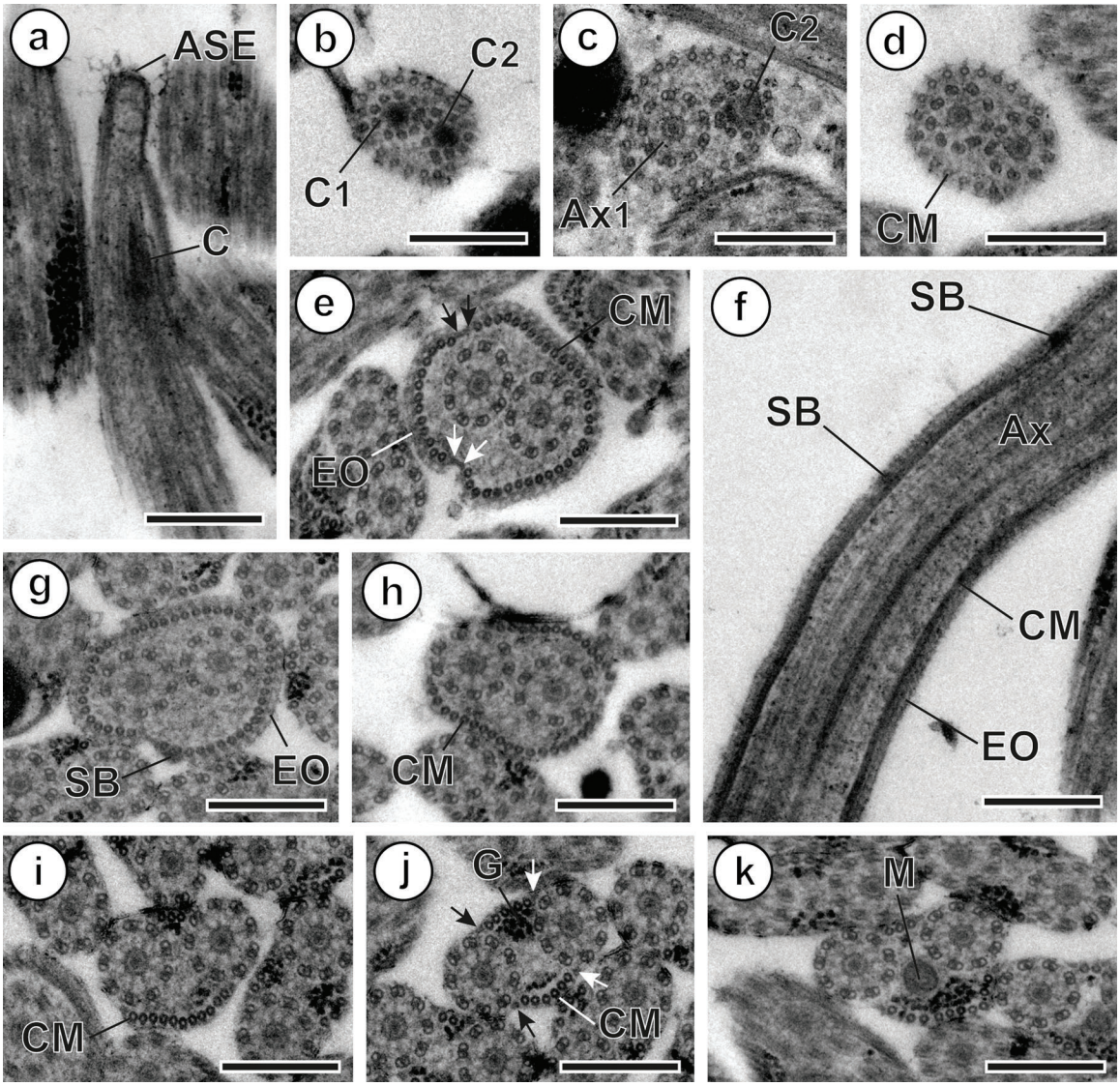


Fig. 1. Spermatozoa of *I. ocreatus*: Regions I (a-g) and II (h-k). (a) longitudinal section of the anterior spermatozoon extremity, (b-d) cross-sections of the non-ornamented area of region I, (e-g) longitudinal and cross-sections of the ornamented area of region I, (h-j) cross-sections of the anterior part of region II, (k) cross-section of the posterior part of region II showing the mitochondrion. Arrows: attachment zones, ASE: anterior spermatozoon extremity, Ax: axoneme, Ax1: first axoneme, C: centriole, C1 and C2: centrioles of the first and second axoneme, CM: cortical microtubules, EO: external ornamentation of the plasma membrane, G: granules of glycogen, M: mitochondrion, SB: spine-like bodies, scale bars: 0.3 μm.

2.3. Cytochemistry

Sections placed on gold grids were treated according to the Thiéry test (Thiéry, 1967) to reveal the ultrastructural localization of glycogen. Thus, sections were treated in periodic acid (PA), thiocarbohydrazide (TCH) and silver proteinate (SP) as follows: 30 min in 10 % PA, rinsed in Milli-Q water, 30 – 45 min in 0.2 % TCH in 20 % acetic acid, rinsed in acetic solutions and Milli-Q water, 30 min in 1% SP in the dark, and rinsed in Milli-Q water. Ultrathin sections were also examined in a JEOL 1010 transmission electron microscope in the CCiTUB.

3. Results

The interpretation of several cross- and longitudinal sections of the spermatozoa of *I. ocreatus* enables us to describe their ultrastructural organization in three regions, from the anterior to posterior sperm extremities (Figs. 1–3). The *I. ocreatus* sperm are filiform and exhibit the following characteristics: two axonemes of the 9+'1' pattern of trepaxonematan Platyhelminthes, two bundles of parallel cortical microtubules, one mitochondrion, nucleus, external ornamentation of the plasma membrane, spine-like bodies and large amount of glycogen granules.

3.1. Region I

Region I (Figs. 1a-g and 3 I) corresponds to the sperm anterior region. The anterior tip is filiform (Fig. 1a). The two centrioles appear at the same level, and both centrioles and the anterior portion of the axonemes are surrounded by a discontinuous and submembranous layer of 18–20 cortical microtubules (Figs. 1b-d and 3 I). The posterior part of region I is mainly characterized by an external ornamentation of the plasma membrane associated with cortical microtubules and by the presence of spine-like bodies (Figs. 1e-g and 3 I). This ornamented area has the maximum number of cortical microtubules (around 45), which are organized in two bundles (Fig. 1e, g).

3.2. Region II

Region II (Figs. 1h-k and 3 II) corresponds to the middle zone of the sperm cells, which are characterized by the absence of external

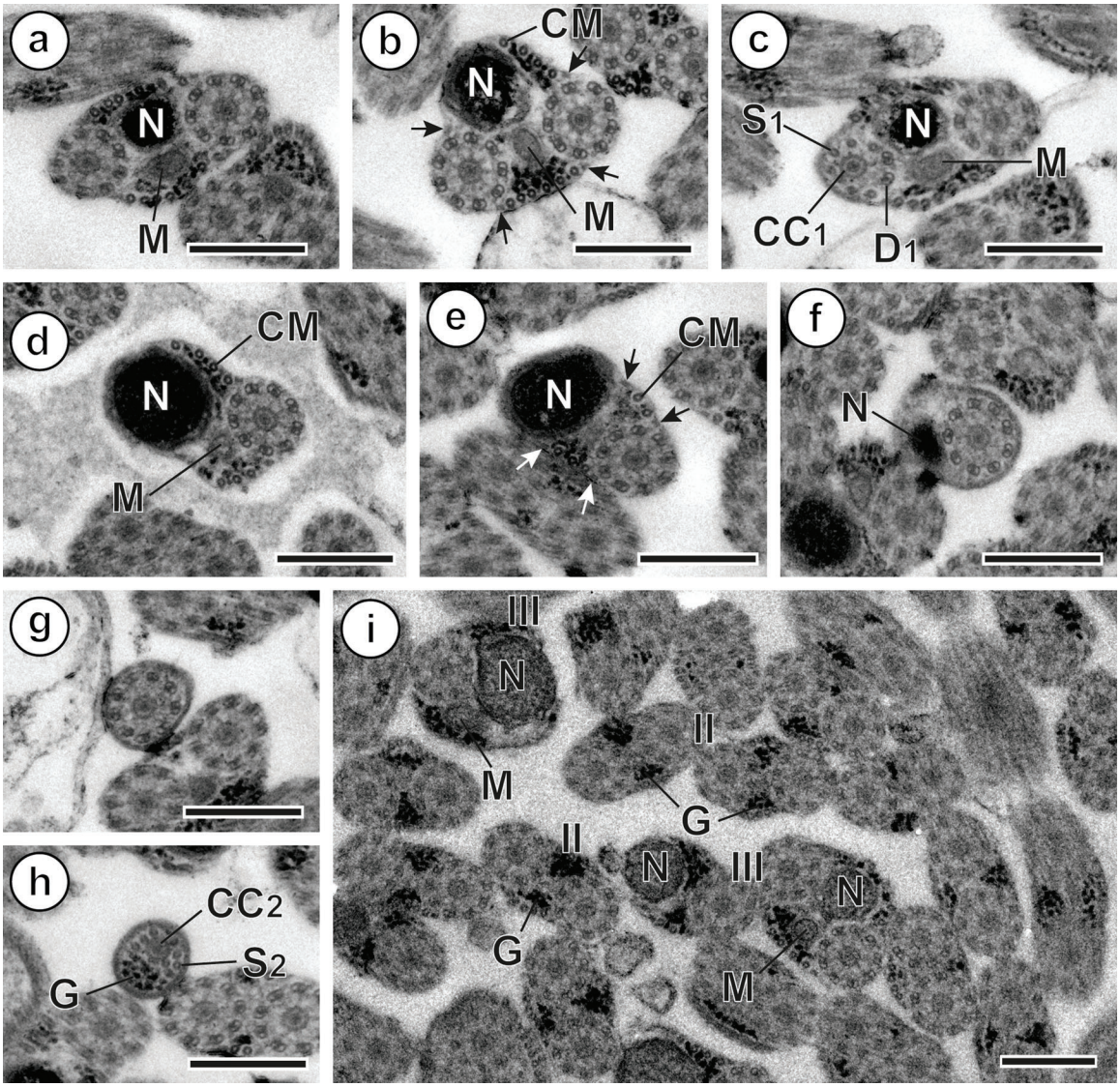


Fig. 2. Spermatozoa of *I. ocreatus*: Region III (a-h) and test of Thiéry for glycogen (i). (a-h) correlative cross-sections showing the transition of characters towards the posterior spermatozoon extremity, (i) positive reaction for glycogen after the Thiéry test. Arrows: attachment zones, II: sperm region II, III: sperm region III, CC1 and CC2: central core of the first and second axoneme, CM: cortical microtubules, D1: doublets of the first axoneme, G: granules of glycogen, M: mitochondrion, N: nucleus, S1 and S2: singlets of the first and second axoneme, scale bars: 0.3 μm.

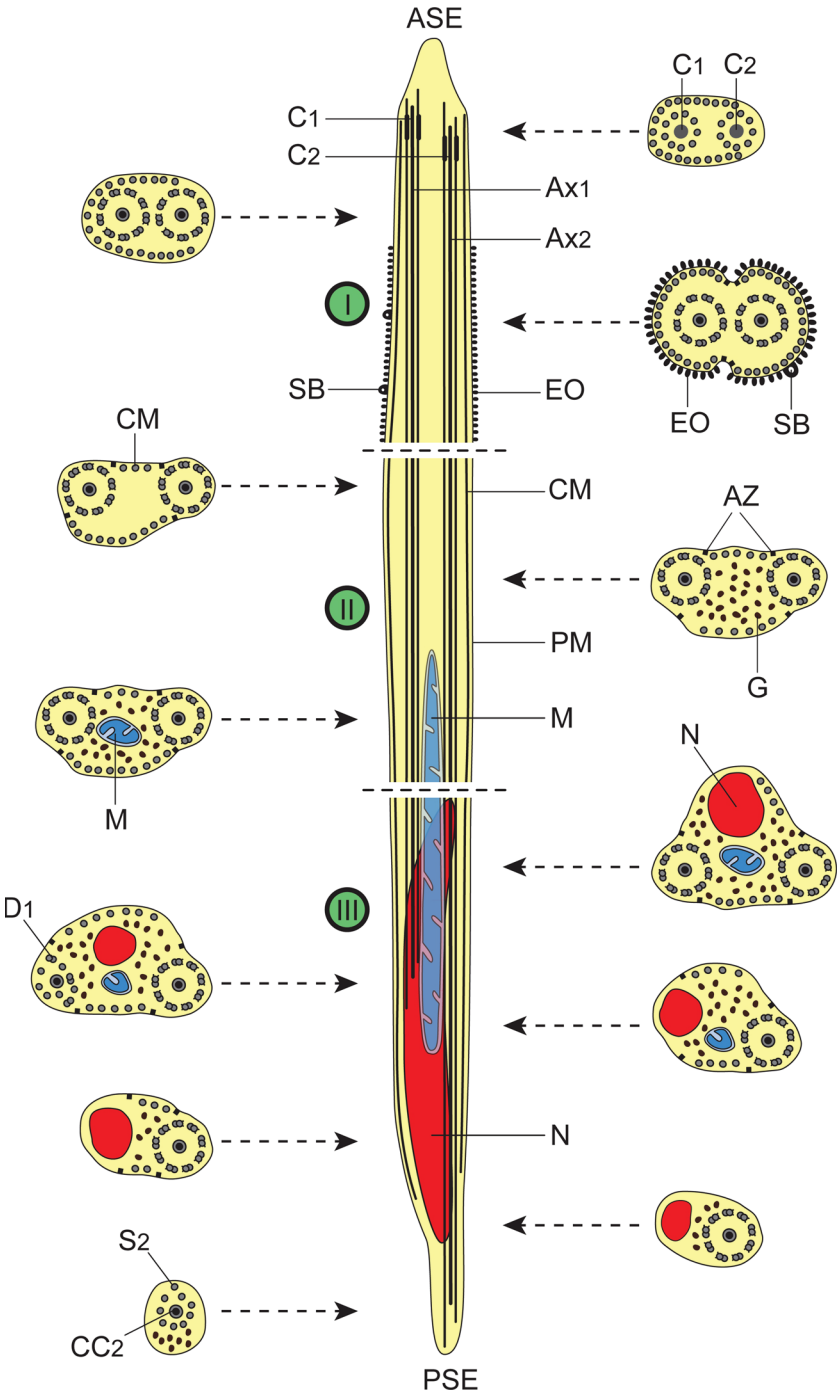


Fig. 3. Schematic reconstruction of the spermatozoon of *I. ocreatus*. The sperm cells are organized in three different regions: region I or anterior part, region II or middle part and region III or posterior part. In order to make the diagram clearer, granules of glycogen are not shown in longitudinal sections. ASE: anterior spermatozoon extremity, Ax1 and Ax2: first and second axoneme, AZ: attachment zones, C1 and C2: centriole of the first and the second axoneme, CC2: central core of the second axoneme, CM: cortical microtubules, D1: doublets of the first axoneme, EO: external ornamentation of the plasma membrane, G: granules of glycogen, M: mitochondrion, N: nucleus, PM: plasma membrane, PSE: posterior spermatozoon extremity, S2: singlets of the second axoneme, SB: spine-like bodies.

ornamentation of the plasma membrane (Figs. 1h-j and 3 II) and by the appearance of the mitochondrion in the posterior part of this region (Figs. 1k and 3 II). Other characteristics of region II are the reduction in the number of cortical microtubules and the appearance of granules of glycogen.

3.3. Region III

Region III (Figs. 2a-h and 3 III) corresponds to the sperm posterior region. This region is characterized by the presence of the nucleus and the posterior extremity of the mitochondrion (Figs. 2a-d and 3 III). Glycogen granules are also present in this region. The transition of characters towards the posterior extremity of the spermatozoa is as follows: (i) disorganization and disappearance of the first axoneme (Fig. 2c, d), (ii) posterior extremity of the mitochondrion (Fig. 2d, e), (iii) disappearance of cortical microtubules (Fig. 2f), and (iv) posterior extremity of the nucleus (Fig. 2f, g). Thus, the posterior tip of the sperm cells exhibits the progressive disorganization of the second axoneme (Fig. 2g, h).

3.4. Cytochemical test of Thiéry

The granules of glycogen are irregularly distributed along regions II and III of the spermatozoa and they were evidenced by the cytochemical test of Thiéry (Fig. 2i).

4. Discussion

The spermatozoa of *I. ocreatus* have the characters usually found in most digeneans: two 9+'1' axonemes, external ornamentation of the plasma membrane, parallel cortical microtubules, mitochondrion and nucleus.

4.1. Axonemes

The *I. ocreatus* sperm have two axonemes showing the 9+'1' pattern, typical of the Trepaxonemata. This pattern is observed in the majority of digeneans and consists in nine peripheral doublets with dynein arms and a highly structured central element (Ehlers, 1984). There are two other types of axonemes in the digenean sperm cells. One type is the 9+'1' special pattern of schistosomes that consists of a single diffuse central element and nine peripheral doublets devoid of dynein arms (see Jamieson and Justine, 2017). The other one is the 9 + 0 pattern typical of *Didymozoon* species that consists of nine doublets without the outer dynein arms and lacking the central structure (Justine and Mattei, 1983).

Recently, Matoušková et al. (2018, 2019) have analysed the structure of the central core of the 9+'1' axonemes of two caryophyllidean cestodes by means of electron tomography analysis. These authors found two helicoidal tubular structures in the central electron-dense core of the axonemes of *Caryophyllaeides fennica* and *Khawia rossittensis*.

4.2. External ornamentation of the plasma membrane

Two groups of digeneans can be distinguished according to the location of the external ornamentation in their spermatozoa. In the first group, the ornamentation appears in the proximal part of the spermatozoa. In the second one, the external ornamentation is located in a more distal position of the spermatozoa (Quilichini et al., 2007). According to Quilichini et al. (2011) a third group can be added, including species without ornamentation. The spermatozoa of *I. ocreatus* belong to the first group, which is in agreement with findings described in *S. palearcticum*, the other Ityogoniminae studied until now (Ndiaye et al., 2002). Moreover, as in most digeneans, the external ornamentation is associated with cortical microtubules (see Bakhoum et al., 2017a). In fact, only hemiuroideans (see Kacem et al., 2020) and *Pronoprymna ventricosa* (Faustulidae) (Quilichini et al., 2007) have external ornamentation not associated with cortical microtubules.

4.3. Cortical microtubules

Three characteristics involving cortical microtubules are important in phylogenetic inference: their presence or absence, the location of their maximum number and the number of bundles (Bakhoum et al., 2017a). Cortical microtubules are present in the sperm cells of most digeneans, except for *Didymocystis wedli* (Pamplona-Basilio et al., 2001) and *Didymozoon* sp. (Justine and Mattei, 1983), which have no microtubules. Moreover, when present, these tubular elements can be organized in one or two bundles. The majority of digeneans have two bundles as in the Ityogoniminae representatives *I. ocreatus* (present study) and *S. palaearcticum* (Ndiaye et al., 2002) and also in the Brachylaiminae (ŽĎárská et al., 1991; Chen and Lu, 1994; González-Moreno, 2002). However, other digeneans such as the hemiurids, sclerodistomids and lecithasterids exhibit only a single bundle (see Kacem et al., 2020).

Two groups of digeneans can be distinguished according to the position of the maximum number of cortical microtubules (Bakhoum et al., 2017a). One group has the maximum number of cortical microtubules in the middle part of the gametes and the other group has the maximum number of cortical microtubules in the anterior part of the spermatozoa. *I. ocreatus* belongs to the second group, with a maximum number of 45 peripheral microtubules.

4.4. Spine-like bodies

Considering the subfamily Ityogoniminae, this study showed that the sperm cells of *I. ocreatus* have spine-like bodies. Contrarily, these structures are absent in the male gametes of *S. palaearcticum* (Ndiaye et al., 2002), the other representative of the subfamily Ityogoniminae. In the remaining studied brachylaimids belonging to the subfamily Brachylaiminae, spine-like bodies were not reported (ŽĎárská et al., 1991; Chen and Lu, 1994; González-Moreno, 2002 -see Table 1). Spine-like bodies were described for the first time in *Opecoeloides furcatus* and the authors describe these elements as more or less triangular electron-dense prominences containing a submembranous spherical vesicle (Miquel et al., 2000). Since then, spine-like bodies were found in the spermatozoa of numerous digeneans (see Bakhoum et al., 2017a).

4.5. Mitochondrion

Digeneans have one, two or three mitochondria in their spermatozoa (for a review see Bakhoum et al., 2017a). They result from the fusion of several mitochondria in the spermatid during spermiogenesis (Burton, 1972). The species *I. ocreatus* has one mitochondrion located in regions II and III of the male gametes. The morphology of the mitochondrion is filiform as in the other brachylaimids studied to date (Chen and Lu, 1994; González-Moreno, 2002; Ndiaye et al., 2002) as well as in most digeneans (see Bakhoum et al., 2017a). However, some authors found other types of mitochondrion, such as the moniliform mitochondria, consisting in several mitochondrial bulges joined by a mitochondrial cord. This is the case of the acanthocolpid *Stephanostomoides tenuis* (Bakhoum et al., 2015), the sclerodistomoidid *Sclerodistomoides pacificus* (Bâ et al., 2020b), aephnidiogenids of the genus *Holorchis* (Bâ et al., 2011; Kacem and Miquel, 2020a), the lepocreadiids *Opechona bacillaris* and *Prodistomum polonii* (Ndiaye et al., 2015; Kacem and Miquel, 2020b), the opecoelids *Allopodocotyle pedicellata* and *Macvicaria obovata* (Bakhoum et al., 2017b; Kacem et al., 2017a), the cryptogonimids *Aphallus tubarium* and *Timoniella imbutiforme* (Foata et al., 2012; Kacem et al., 2017b) or the plagiorchiid *Enodiotrema reductum* (Ndiaye et al., 2012). Furthermore, yet another type of mitochondrion was recently described in the opecoelid *Allopodocotyle tunisiensis* (Kacem et al., 2019), consisting of a filiform mitochondrion with a posterior U-shaped extremity.

4.6. Posterior spermatozoon extremity

The posterior part of the spermatozoa of *I. ocreatus* are characterized by the following succession of disappearance of principal structures towards the posterior extremity of the gametes: 'first axoneme - mitochondrion - cortical microtubules - nucleus - second axoneme'. This sequence differs from that described for *S. palaearcticum*, which revealed the disappearance of the posterior extremity of the mitochondrion, followed by the first axoneme, the nucleus and finally, cortical microtubules and/or the second axoneme (Ndiaye et al., 2002). In fact, Quilichini et al. (2010) established three types of posterior spermatozoa extremities according to this criterion. However, due to several inconsistencies in some digeneans, the consideration of the terminal or last character seems to be more suitable when comparing different families (see Bakhoum et al., 2017a). Thus, the terminal character in *I. ocreatus* is the posterior extremity of the second axoneme, whereas in *S. palaearcticum* the terminal character is the second axoneme or cortical microtubules (Ndiaye et al., 2002). Concerning the Brachylaiminae, both *B. mascomai* and *P. gallinum* seem to have the second axoneme as the terminal character in the spermatozoa (Chen and Lu, 1994; González-Moreno, 2002 -see Table 1).

5. Conclusion

The spermatozoa of representatives of the subfamily Ityogoniminae

Table 1
Available data on the ultrastructure of the spermatozoon in the Brachylaimidae.

Subfamilies and species	Spermatozoon characters													References
	TS	ASC	TAx	LE	EO	EO + CM	LEO	BCM	MCM	LMCM	M	SB	PSC	
BRACHYLAIMINAE														
Brachylaima aequans	?	1Ax?	9+'1'	?	?	?	?	2	22?	?	1?	?	?	ŽĎárská et al. (1991)
Brachylaima mascomai	IV?	1Ax + CM?	9+'1'	–	–	NA	NA	2	20?	AntS?	1	–	Ax?	González-Moreno (2002)
Postharmostomum gallinum	?	2Ax + CM?	9+'1'	?	?	?	?	2	?	?	1	?	Ax?	Chen and Lu (1994)
ITYOGONIMINAE														
Ityogonimus ocreatus	V?	2Ax + CM	9+'1'	–	+	+	AntA	2	45	AntS	1	+	Ax	Present study
Scaphiostomum palaearcticum	V?	1Ax?	9+'1'	–	+	+	AntA	2	69?	AntS	1	–	Ax/ CM?	Ndiaye et al. (2002)

AntA: anterior part of the anterior sperm region, AntS: anterior sperm region, ASC: anterior sperm character, Ax: axoneme, BCM: number of bundles of cortical microtubules, CM: cortical microtubules, EO: external ornamentation of plasma membrane, EO + CM: association of external ornamentation with cortical microtubules, LE: lateral expansion, LEO: location of external ornamentation, LMCM: location of maximum number of cortical microtubules, M: number of mitochondria, MCM: maximum number of cortical microtubules, N: nucleus, NA: not applicable, PSC: posterior sperm character, SB: spine-like bodies, TAx: axoneme type, TS: sperm type, +/-: presence/absence of considered character,? : doubtful or unknown data.

seem to follow the type V proposed by Bakhoum et al. (2017a). This model is characterized by the presence of two 9+'1' axonemes, a lateral expansion, the association 'external ornamentation - cortical microtubules', external ornamentation located in the anterior part of the proximal region, two bundles of parallel cortical microtubules, the maximum number of cortical microtubules located in the anterior part, and one mitochondrion. However, spermatozoa of both *S. palaearcticum* and *I. ocreatus* lack lateral expansions. As emphasized by Bakhoum et al. (2017a), the available ultrastructural data of the spermatozoa in digeneans are congruent with molecular analyses that support the basal dichotomy of the Digenea with two lineages, the Diplostomida and the Plagiorchiida (see Olson et al., 2003; Pérez-Ponce de León and Hernández-Mena, 2019). The Diplostomida includes the superfamilies Diplostomoidea, Brachylaimoidea and Schistosomatoidea. In the latter, several species of schistosomes have been analysed and all of them exhibit the type I of spermatozoa, which is mainly characterized by the 9+'1' special pattern of axonemes (see Jamieson and Justine, 2017). In the Plagiorchiida, the spermatozoa follow the remaining models (types II to V) (see Bakhoum et al., 2017a). In contrast with schistosomes, the existing data on the Brachylaimoidea indicate a model V spermatozoon. However, considering the current status of knowledge, further ultrastructural studies of spermatozoa are needed in diplostomoideans, particularly in the Leucochloridiidae as a related family of brachylaimids, to carefully assess the possible models of sperm cells in the different taxa of the Diplostomida.

Ethical animal disclosure

This study was carried out in strict accordance with the recommendations of the guidelines of animal welfare in experimental science and the European Union legislation (Directive 86/609/EEC).

CRediT authorship contribution statement

Roser Adalid: Field work, TEM study, Drafting the manuscript. **Jordi Torres:** Approval of the manuscript. **Màrius Vicent Fuentes:** Approval of the manuscript. **Jordi Miquel:** Field work, TEM study, Analysis of results, Review the manuscript, Approval of the manuscript.

Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

Acknowledgements

Authors wish to thank Marcos Miñarro from 'SERIDA (Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del Principado de Asturias, España)' for his valuable help in the fieldwork. We also wish to thank the personnel of the 'Unitat de Microscòpia Electrònica, Facultat de Medicina, Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona (CCiTUB)' for their support in the preparation of samples. JT and JM are members of the 2017-SGR-1008 research group.

References

Adalid, R., Torres, J., Miñarro, M., Fuentes, M.V., Miquel, J., 2018. First finding of *Ityogonimus lorum* and *I. ocreatus* co-infection in the Iberian mole, *Talpa occidentalis*. Acta Parasitol. 63, 835–838. https://doi.org/10.1515/ap-2018-0102.

Bâ, C.T., Marchand, B., 1995. Spermiogenesis, spermatozoa and phyletic affinities in the Cestoda. Mém. Mus. Natl. Hist. Nat., Paris 166, 87–95.

Bâ, C.T., Ndiaye, P.I., Dione, A., Quilichini, Y., Marchand, B., 2011. Ultrastructure of the spermatozoon of *Holorchis micracanthum* (Digenea: Lepocreadiidae), an intestinal parasite of *Plectorhinchus mediterraneus* (Pisces, Teleostei) in Senegal. Parasitol. Res. 109, 1099–1106. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2352-1.

Bâ, A., Marchand, B., Ndiaye, P.I., Bâ, C.T., Bakhoum, A.J.S., Bray, R.A., Quilichini, Y., 2020a. Ultrastructure of the spermatozoon of *Labracetabulum gephyroberici* (Digenea, Opecoelidae) intestinal parasite of *Gephyroberyx darwinii* (Teleostei, Trachichtyidae) in Senegal. Zool. Anz. 286, 58–63. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2020.03.006.

Bâ, A., Bakhoum, A.J.S., Ndiaye, P.I., Bâ, C.T., Marchand, B., Quilichini, Y., 2020b. Spermatological characteristics of *Sclerodistomoides pacificus* (Digenea, Sclerodistomoididae) a parasite of the flying fish *Cheilopogon pinnatibarbatus* (Teleostei, Exocoetidae). Tissue Cell 62, 101314. https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.101314.

Bakhoum, A.J.S., Quilichini, Y., Justine, J.-L., Bray, R.A., Bâ, C.T., Marchand, B., 2015. Ultrastructural study of sperm cells in Acanthocolpidae: the case of *Stephanostomum murielae* and *Stephanostomoides tenuis* (Digenea). PeerJ 3, e744. https://doi.org/10.7717/peerj.744.

Bakhoum, A.J.S., Miquel, J., Ndiaye, P.I., Justine, J.-L., Falchi, A., Bâ, C.T., Marchand, B., Quilichini, Y., 2017a. Advances in spermatological characters in the Digenea: review and proposal of spermatozoa models and their phylogenetic importance. Adv. Parasitol. 98, 111–165. https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.04.001.

Bakhoum, A.J.S., Kacem, H., Neifar, L., Miquel, J., 2017b. The Opecoelidae sperm model and its contribution to phylogeny: spermatozoon ultrastructural particularities of *Allopodocotyle pedicellata* (Plagioporinae, Digenea, Platyhelminthes). Zool. Anz. 266, 28–34. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2016.10.006.

Burton, P.R., 1972. Fine structure of the reproductive system of a frog lung-fluke. III. The spermatozoon and its differentiation. J. Parasitol. 58, 68–63.

Chen, K.Q., Lu, Y.J., 1994. Ultrastructural studies on the spermatozoa and spermatogenesis in *Postharmostomum gallinum* (Trematoda: Digenea). J. Shangai Agric. Col. 12, 235–239.

Ehlers, U., 1984. Phylogenetisches System der Plathelminthes. Verh. Naturwiss. Ver. Hambg. (NF) 27, 291–294.

Foata, J., Quilichini, Y., Greani, S., Marchand, B., 2012. Sperm ultrastructure of the digenean *Aphallus tubarium* (Rudolphi, 1819) Poche, 1926 (Platyhelminthes, Cryptogonimidae) intestinal parasite of *Dentex dentex* (Pisces, Teleostei). Tissue Cell 44, 15–21. https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.10.001.

González-Moreno, O., 2002. Contribución al conocimiento de la bionomía de digénidos de la Familia Brachylaimidae Joyeux et Foley, 1930, en el delta del Llobregat (Barcelona). Thesis. Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, 375 pp.

Jamieson, B.G.M., Justine, J.-L., 2017. Spermatozoa, spermatogenesis and fertilization in *Schistosoma*. In: Jamieson, B.G.M. (Ed.), *Schistosoma*: Biology, Pathology and Control. CRC Press, Florida, pp. 300–318.

Justine, J.-L., 1991a. Cladistic study in the Monogenea (Platyhelminthes), based upon a parsimony analysis of spermiogenetic and spermatozoal ultrastructural characters. Int. J. Parasitol. 21, 821–838. https://doi.org/10.1016/0020-7519(91)90151-V.

Justine, J.-L., 1991b. Phylogeny of parasitic Platyhelminthes: a critical study of synapomorphies proposed on the basis of the ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa. Can. J. Zool. 69, 1421–1440. https://doi.org/10.1139/z91-203.

Justine, J.-L., 1998. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Eucestoda. J. Parasitol. 84, 385–408. https://doi.org/10.2307/3284502.
Justine, J.-L., 2001. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Platyhelminthes. In: Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. (Eds.), Interrelationships of the Platyhelminthes. Taylor and Francis, London, pp. 231–238.
Justine, J.-L., Mattei, X., 1983. A Spermatozoon with two 9 + 0 axonemes in a parasitic flatworm, *Didymozoon* (Digenea: Didymozoidae). J. Submicrosc. Cytol. 15, 1101–1105.
Justine, J.-L., Poddubnaya, L.G., 2018. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure in basal polyopisthocotylean monogeneans, Hexabothriidae and Chimaericolidae, and their significance for the phylogeny of the Monogenea. Parasite 25, 7. https://doi.org/10.1051/parasite/2018007.
Kacem, H., Miquel, J., 2020a. Spermatological characters in the Lepocreadioidea, with first data on *Holorchis pycnoporus* (Aephnidiogenidae), a parasite of the Striped seabream *Lithognathus mormyrus* (Sparidae*)* from the Gulf of *Gabes* (Tunisia). Tissue Cell 67, 101409. https://doi.org/10.1016/j.tice.2020.101409.
Kacem, H., Miquel, J., 2020b. Sperm ultrastructure of *Prodistomum polonii* (Digenea, Lepocreadioidea), an intestinal parasite of the Atlantic horse mackerel, *Trachurus trachurus* (Teleostei, Carangidae), from the Gulf of Gabes, Mediterranean Sea. Zool. Anz. 286, 100–107. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2020.04.004.
Kacem, H., Quilichini, Y., Neifar, L., Torres, J., Miquel, J., 2017a. Ultrastructure of the spermatozoon of *Macvicaria obovata* (Digenea, Opecoelidae), a parasite of *Sparus aurata* (Pisces, Teleostei) from the Gulf of Gabès, Mediterranean Sea. Acta Parasitol. 62, 520–528. https://doi.org/10.1515/ap-2017-0062.
Kacem, H., Blasco, S., Foronda, P., Miquel, J., 2017b. Sperm characters of *Timoniella imbutiforme* (Digenea, Opisthorchioidea, Cryptogonimidae), a parasite of the European seabass *Dicentrarchus labrax*. Zool. Anz. 271, 49–56. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2017.11.005.
Kacem, H., Diagne, P.M., Miquel, J., 2019. Ultrastructural organisation of the spermatozoon of *Allopodocotyle tunisiensis* Derbel and Neifar, 2009 (Digenea, Opecoelidae), an intestinal parasite of *Solea aegyptiaca* Chabanaud, 1927 (Teleostei, Soleidae). Tissue Cell 57, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.01.008.
Kacem, H., Giese, E.G., Miquel, J., 2020. Sperm characters in the Hemiuridae (Digenea): first data on *Aphanurus stossichii* (Aphanurinae) and *Ectenurus lepidus* (Dinurinae). Parasitol. Res. 119, 991–999. https://doi.org/10.1007/s00436-020-06609-3.
Levron, C., Miquel, J., Oros, M., Scholz, T., 2010. Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): advances in ultrastructural and phylogenetic studies. Biol. Rev. 85, 523–543. https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00114.x.
Matoušková, M., Bílý, T., Bruňanská, M., Mackiewicz, J.S., Nebesářová, J., 2018. Ultrastructure, cytochemistry and electron tomography analysis of *Caryophyllaeides fennica* (Schneider, 1902) (Cestoda: Lytocestidae) reveals novel spermatology characteristics in the Eucestoda. Parasitol. Res. 117, 3091–3102. https://doi.org/10.1007/s00436-018-6001-9.
Matoušková, M., Bílý, T., Bruňanská, M., Oros, M., Kostič, B., Nebesářová, J., 2019. New data on spermiogenesis and trepaxonematan axoneme in basal tapeworms (Cestoda, Caryophyllidea, Lytocestidae) parasitizing cyprinid fishes. Sci. Rep. 9, 12881. https://doi.org/10.1038/s41598-019-49312-9.
Milazzo, C., Casanova, J.C., Aloise, G., Ribas, A., Cagnin, M., 2002. The helminth community of *Talpa romana* (Thomas, 1902) (Insectivora, Talpidae) in southern Italy. Parasitol. Res. 88, 979–983. https://doi.org/10.1007/s00436-002-0698-0.
Miquel, J., Nourrisson, C., Marchand, B., 2000. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Opecoeloides furcatus* (Trematoda, Digenea, Opecoelidae), a parasite of *Mullus barbatus* (Pisces, Teleostei). Parasitol. Res. 86, 301–310. https://doi.org/10.1007/s004360050047.
Ndiaye, P.I., Miquel, J., Bâ, C.T., Feliu, C., Marchand, B., 2002. Spermiogenesis and sperm ultrastructure of *Scaphiostomum palaearcticum* Mas-Coma, Esteban et Valero, 1986 (Trematoda, Digenea, Brachylaimidae). Acta Parasitol. 47, 259–271.
Ndiaye, P.I., Quilichini, Y., Sène, A., Tkach, V.V., Bâ, C.T., Marchand, B., 2012. Ultrastructural study of the spermatozoon of the digenean *Enodiotrema reductum* Looss, 1901 (Platyhelminthes, Plagiorchioidea, Plagiorchiidae), parasite of the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in Senegal. Parasitol. Res. 111, 859–864. https://doi.org/10.1007/s00436-012-2911-0.
Ndiaye, P.I., Bakhoum, A.J.S., Sène, A., Diagne, P.M., Miquel, J., 2015. The ultrastructural characters of the mature spermatozoon of *Opechona bacillaris* (Molin, 1859) (Digenea, Lepocreadiidae) a parasite of *Scomber colias* Gmelin, 1789 (Scombridae) off the coast of Dakar (Senegal). Acta Zool. 96, 91–98. https://doi.org/10.1111/azo.12054.
Ndiaye, P.I., Marchand, B., Bâ, C.T., Justine, J.-L., Bray, R.A., Quilichini, Y., 2018. Ultrastructure of mature spermatozoa of three Bucephalidae (*Prosorhynchus longisaccatus, Rhipidocotyle khalili* and *Bucephalus margaritae*) and phylogenetic implications. Parasite 25, 65. https://doi.org/10.1051/parasite/2018065.
Olson, P.D., Cribb, T.H., Tkach, V.V., Bray, R.A., Littlewood, D.T.J., 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). Int. J. Parasitol. 33, 733–755. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(03)00049-3.
Pamplona-Basilio, M.C., Baptista-Farias, M.F.D., Kohn, A., 2001. Spermatogenesis and spermiogenesis in *Didymocystis wedli* Ariola, 1902 (Didymozoidae, Digenea). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96, 1153–1159.
Pérez-Ponce de León, G., Hernández-Mena, D.I., 2019. Testing the higher-level phylogenetic classification of Digenea (Platyhelminthes, Trematoda) based on nuclear rDNA sequences before entering the age of the' next-generation' Tree of Life. J. Helminthol. 93, 260–276. https://doi.org/10.1017/S0022149X19000191.
Pojmańska, T., 2002. Family Brachylaimidae Joyeux & Foley, 1930. In: Gibson, D.I., Jones, A., Bray, R.A. (Eds.), Keys to the Trematoda, Vol. 1. CAB International and The Natural History Museum, London, pp. 37–43.
Quilichini, Y., Foata, J., Marchand, B., 2007. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Pronoprymna ventricosa* (Digenea, Baccigerinae), parasite of the twaite shad *Alosa fallax* Lacepede (Pisces, Teleostei). Parasitol. Res. 101, 1125–1130. https://doi.org/10.1007/s00436-007-0599-3.
Quilichini, Y., Foata, J., Justine, J.-L., Bray, R.A., Marchand, B., 2010. Spermatozoon ultrastructure of *Aponurus laguncula* (Digenea: lecithasteridae), a parasite of *Aluterus monoceros* (Pisces, Teleostei). Parasitol. Int. 59, 22–28. https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.06.007.
Quilichini, Y., Foata, J., Justine, J.-L., Bray, R.A., Marchand, B., 2011. Spermatozoon ultrastructure of *Gyliauchen* sp. (Digenea: Gyliauchenidae), an intestinal parasite of *Siganus fuscescens* (Pisces: Teleostei). Biol. Bull. 221, 197–205. https://doi.org/10.1086/BBLv221n2p197.
Reynolds, E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208–212. https://doi.org/10.1083/jcb.17.1.208.
Ribas, A., Casanova, J., 2006. Helminth fauna of *Talpa* spp. in the Palaearctic Realm. J. Helminthol. 80, 1–6. https://doi.org/10.1079/JOH2005328.
Thiéry, J.P., 1967. Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microsc. (Paris) 6, 987–1018.
Turner, H.M., McKeever, S., 1980. *Ityogonimus scalopi* sp. n. (Trematoda: Brachylaemidae) from the Eastern Mole, *Scalopus aquaticus* (Linnaeus 1758). J. Parasitol. 66, 823–824. https://doi.org/10.2307/3280676.
ŽĎárská, Z., Soboleva, T.N., Štěrba, J., Valkounová, J., 1991. Ultrastructure of the male reproductive-system of the trematode *Brachylaimus aequans*. Folia Parasitol. 38, 33–38.

animals

MDPI

Article

Ecological Analysis of the Helminth Community of *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) (Rodentia) in Asturias (NW Spain)

Roser Adalid [1], Carles Feliu [1,2], Aitor Somoano [3], Marcos Miñarro [3], Jacint Ventura [4,5], Jordi Torres [1,2], Jordi Miquel [1,2] and Màrius Vicent Fuentes [6,*]

1 Secció de Parasitologia, Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient, Facultat de Farmàcia i Ciències de l'Alimentació, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII, sn, 08028 Barcelona, Spain; roseradalid@ub.edu (R.A.); cfeliu@ub.edu (C.F.); jtorres@ub.edu (J.T.); jordimiquel@ub.edu (J.M.)
2 Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio), Universitat de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona, Spain
3 Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Ctra. AS-267, PK 19, 33300 Villaviciosa, Spain; aitors@serida.org (A.S.); mminarro@serida.org (M.M.)
4 Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Facultat de Biociències, Campus de Bellaterra, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Cerdanyola del Vallès, Spain; jacint.ventura.queija@uab.cat
5 Àrea de Recerca en Petits Mamífers, Museu de Ciències Naturals de Granollers "La Tela", C/Palaudàries, 102, 08402 Granollers, Spain
6 Parasites and Health Research Group, Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés, 46100 Burjassot, Spain
* Correspondence: mario.v.fuentes@uv.es

Simple Summary: The Lusitanian pine vole is an endemic rodent of the Iberian Peninsula, which has a burrowing behaviour and prefers to live underground. It feeds on bark and roots causing severe damage to trees. In Asturias (NW Spain), this species is considered a pest causing economic losses in apple orchards, damaging the tree, and sometimes even causing its death. With the aim to shed light on the helminth community of this rodent pest species and to elucidate which intrinsic and extrinsic factors affect its helminth species, a faunistic-ecological study was carried out. For this purpose, our own collection of 710 voles from several orchards of various locations in Asturias was used. The results of the ecological study revealed the influence of climate variables, the year and season of capture, as well as the host age, on the diversity of the helminth community and the infection parameters of helminth species, underlining the importance of their life cycles. Our findings on the helminth community of the Lusitanian pine vole in Asturias could be used to improve the biological methods applied to control the population of this rodent pest.

Abstract: The Lusitanian pine vole, *Microtus lusitanicus*, an endemic fossorial rodent of the Iberian Peninsula, has a burrowing behaviour and prefers to live underground. It feeds on bark and roots causing severe damage to trees. In Asturias (NW Spain), where *M. lusitanicus* is considered a pest in several orchards, a faunistic-ecological study was carried out to describe the helminth community of this species and the main factors that could influence its helminth component species. For this purpose, our own collection of 710 voles from several orchards of various locations in Asturias was used. Eight helminth species, four cestodes and four nematodes, were found. Statistical non-parametric tests were used to analyse the effects of extrinsic and intrinsic factors on the diversity of the helminth community and species prevalence and abundance. The results show the influence of climate variables, the year and season of capture, as well as host age, on the diversity of the helminth community and the infection parameters of some helminth species, underlining the importance of their life cycles. In addition to shedding light on the helminth community of this rodent in Asturias, the results obtained could be used to improve the biological methods applied to fight the *M. lusitanicus* pest.

Keywords: helminth community; Lusitanian pine vole; *Microtus lusitanicus*; Asturias; Spain

check for updates

Citation: Adalid, R.; Feliu, C.; Somoano, A.; Miñarro, M.; Ventura, J.; Torres, J.; Miquel, J.; Fuentes, M.V. Ecological Analysis of the Helminth Community of *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) (Rodentia) in Asturias (NW Spain). *Animals* **2021**, *11*, 3055. https://doi.org/10.3390/ani11113055

Academic Editor: Jacques Cabaret

Received: 29 September 2021
Accepted: 22 October 2021
Published: 26 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

The Lusitanian pine vole, *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879), is an endemic fossorial rodent, which inhabits the northwestern quadrant of the Iberian Peninsula and the southwestern tip of France [1]. It can be found from sea level to up to 2000 m, in both natural and agricultural habitats [1,2]. In all cases, the ground must be soft and humid with a high vegetal cover, which are the necessary conditions for the voles to build their gallery systems [1]. This rodent has a burrowing behaviour and prefers to live underground, although surface movements under abundant vegetation may be frequent. Vole galleries remain open as a small hole in the ground [3] with superficial galleries used for feeding and escaping and deep ones used for storing food and nesting [1]. *Microtus lusitanicus* is a monogamous species: a couple of voles and their offspring (juvenile and sub-adult individuals) share the same gallery system [4–6]. Lusitanian pine voles are small sized rodents (body length: 77.5–105.0 mm; body mass; 14.0–19.0 g) with big head, blunt snout, small eyes and cylindrical body [1].

Microtus lusitanicus can cause severe damage to fruit trees, carrots or potatoes [1]. In Asturias (northwest Spain), this rodent species is, along with the montane water vole, *Arvicola scherman* (Shaw, 1801), one of the main causes of economic losses in apple orchards [3,7,8]. Both species feed on bark and roots, damaging the tree, and sometimes even causing its death [3]. In Spain, *M. lusitanicus* is officially considered a pest, and the control of its populations is recommended [9]. Nowadays, rodenticides should comply with current legislation and not involve adverse environmental consequences, produce resistance in the target species, unnecessary pain or to be a threat to non-target animals and humans (EU Regulation 528/2012) [10], making the examination of other potential strategies necessary. Among specific and environmentally benign control practices, increasing landscape heterogeneity, fertility control, the use of repellents or biocontrol (predators, parasites and other pathogens) have been proposed as promising tools [11,12].

Parasites may have a negative effect on host fitness [13]. Host–parasite models predict that parasites can regulate the population dynamics of the hosts [14,15]. Regulation is the process through which high population numbers are lowered to a normal level, but also increased up to this level when they reach low values [16]. The aim of pest control is to reduce the population size to lower levels than the natural equilibrium. It must be considered that many pest species cause damage in spite of their low population densities. To reach this goal, it is necessary that the negative impact of the parasite on the host must exceed the population's intrinsic growth rate and infection, and that this impact needs to be persistent. Parasites can play two roles in rodent pest management: as bio-rodenticides or as vehicles of immunocontraception causing sterility to infected animals [17].

The helminth fauna of *M. lusitanicus* in the Iberian Peninsula was previously analysed [18,19]. These studies, carried out on voles from "damaged vegetable gardens" in several localities of the Iberian Peninsula, especially in the central-western part, reported the detection of a total of 14 helminth species: 1 trematode, 7 cestodes, and 6 nematodes. The structure and dynamics of the vole's helminth community and the environmental factors influencing it have also been analysed. Environmental factors, such as temperature and rainfall, as well as intrinsic factors, such as host age and sex, were found to influence the helminth community of the Lusitanian pine vole.

The main aims of the present study are to shed light on the helminth community of *M. lusitanicus*, to elucidate the potential effect extrinsic and intrinsic factors have on it, and to update and expand previously reported data. Moreover, some new proposed hypotheses could be confirmed: (1) pesticides used in pest control in areas of intensive agricultural use are responsible for the absence of some helminth species found in other localities belonging to the geographical distribution of the Lusitanian pine vole, due to the loss of invertebrate intermediate hosts; (2) the parasitological patterns of those helminth species that are influenced by climate variables will be affected by global warming and/or climate change; (3) the results can be used to improve the biological control methods against this vole pest in agro-ecosystems.

2. Materials and Methods

Asturias is located on the northern coast of Spain (43°30′ N, 5°30′ W) (Figure 1). The climate is temperate oceanic with abundant rainfall spread fairly throughout the year and mild temperatures both in winter and summer. This area is characterized by small agricultural plots separated by hedgerows and woodlands, with an irregular topography of smooth hills and valleys. The fertile soil added to these weather conditions favours the establishment of an evergreen and dense vegetal cover in orchards all year round [3,20,21].

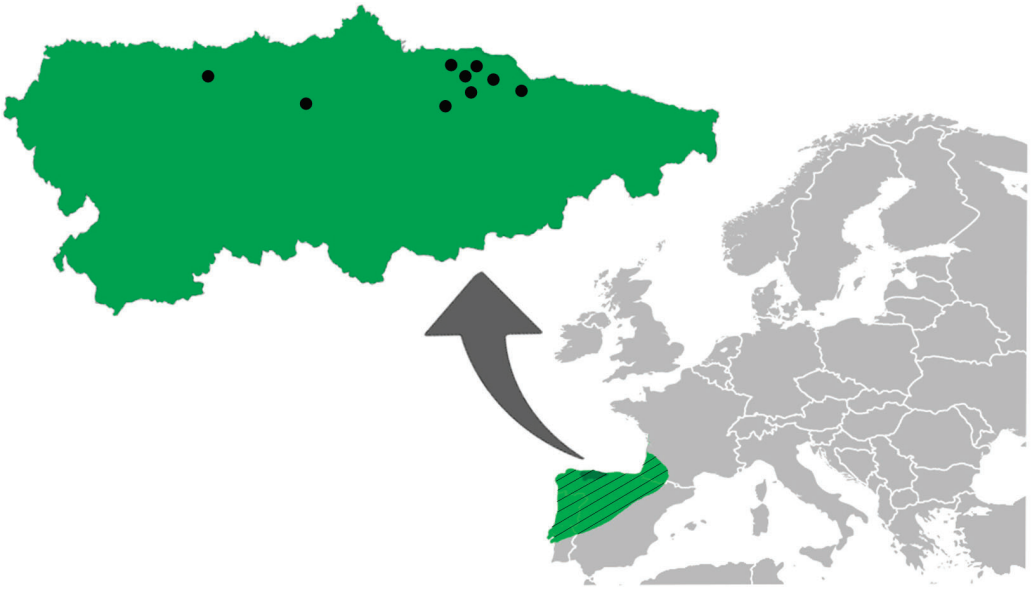


Figure 1. Distribution of *Microtus lusitanicus* in the Iberian Peninsula (**striped green**) and map of Asturias (**dark green**) showing the trapping sites of the individuals analysed (**black points**).

2.1. Zoological and Helminthological Procedures

A total of 710 *M. lusitanicus* (Figure 2) individuals obtained from the collection of SERIDA (Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Asturias) was helminthologically analysed. The sample was collected during a population peak, for two consecutive years (January 2011 to January 2013), in apple orchards of 9 Asturian localities (Figure 1). The recommendations of the Directive of the European Parliament and of the Council on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes [22] were followed in the field work.

Of the total individuals analysed, 343 were captured in 2011, 354 in 2012 and 13 in 2013. Considering sex, 363 were male and 347 were female. Animals were classified by body mass in three age groups: juveniles, $\leq$10 g; sub-adults 10.1–14.9 g: adults, $\geq$15 g [2]. According to this criterion, 63 specimens were juveniles, 334 were sub-adults and 313 were adults. Seasons were defined as: winter (January–March), spring (April–June), summer (July–September) and autumn (October–December). Following this distribution by months, 139 captures took place in winter, 187 in spring, 196 in summer and 188 in autumn. A comprehensive description of the host sample analysed is shown in Tables 1 and 2.

In the laboratory, specimens were dissected, and all viscera were extracted for the parasitological study. All helminths found were preserved in ethanol 70%. Cestodes were stained with alcoholic chlorhydric carmine, differentiated with acidified ethanol, dehydrated in alcohol series, cleared with xylene and mounted in Canada balsam. Some cestode scolices and some nematodes were cleared in Amann lactophenol. The helminth specimens were identified at specific level, based on their morphology and morphometry according to the most relevant descriptions and findings in the scientific literature.

Figure 2. An individual of *Microtus lusitanicus* in its natural habitat.

Table 1. Distribution of *Microtus lusitanicus* analysed by host sex and age and season of capture.

Host Sex	Season	Host Age			
		Juveniles	Sub-Adults	Adults	Total
Males	Winter	3	26	39	68
	Spring	10	35	51	96
	Summer	6	63	36	105
	Autumn	5	63	26	94
	Total	24	187	152	363
Females	Winter	3	33	35	71
	Spring	8	38	45	91
	Summer	18	36	37	91
	Autumn	10	40	44	94
	Total	39	147	161	347

Table 2. Distribution of *Microtus lusitanicus* analysed by year and season of capture.

Year	Season				
	Winter	Spring	Summer	Autumn	Total
2011	25	92	110	116	343
2012	101	95	86	72	354
2013	13	0	0	0	13
Total	139	187	196	188	710

2.2. Helminth Community Analysis

The helminth community composition and structure of the Lusitanian pine vole were analysed considering each particular life cycle as well as prevalence, mean abundance, range and total number of helminths calculated [23].

The analysis of helminth community components was made by means of calculating the frequency of occurrence of the number of helminth species, the abundance index and the frequency distribution of helminths. The abundance index (AI) (excluding those parasite species for which *M. lusitanicus* acts as an intermediate host) was calculated [24,25].

The helminth community of a host species is characterized by the presence of the following categories of species: dominant species (AI > 1); co-dominant species ($0.1 \leq AI \leq 1$); successful immigrant species ($0 < AI < 0.1$); unsuccessful immigrant species (AI = 0).

The frequency distribution of helminth species was calculated by means of the Lefkovitch index (L) [26], where

$$L = (1/45)\text{tang}^{-1}(\text{variance}/\text{mean}) - 1 \quad (1)$$

ranging from −1 (positive binomial or uniform distribution), 0 (Poisson or random distribution) to +1 (negative binomial or aggregated distribution).

The diversity/uniformity analysis of the helminth community was carried out using the Shannon index (H') [27,28], Simpson index (D') [29] expressed as 1-D' [28], Berger-Parker index (d) [30,31], expressed as 1-d [28] and Shannon evenness index (E) [28,32].

The helminth infracommunity structure study was established using the analysis of the number of helminths, number of helminth species, the Brillouin index (HB) [27,28], Brillouin index for infected hosts only and percentage of infected hosts.

The role played by intrinsic (host sex and age) and extrinsic (climate data, year and season of capture) factors (independent variables) in determining the helminth community dependent variables (species richness − the number of helminth species; the helminth community diversity—Brillouin index; the prevalence—% of parasitation; and the worm burden − helminth abundance) was statistically analysed. Climate data, related to temperature (mean daily temperature calculated for each season) and precipitation (mean daily rainfall calculated for each season and cumulative rainfall during each season) (Table 3), were obtained from the nearest climate stations (AEMET—Spanish Meteorological Agency). Values of climate variables, belonging to the year before capture (which are related to both the helminth and vole life cycles), were correlated with the annual values of the dependent variables by means of the Spearman correlation coefficient (r_s); prevalence was previously transformed logarithmically, log (x/(1 − x)). The influence of year and season of capture, and host sex and age on prevalence was analysed using binary logistic regression (BLR), while their influence on the other dependent variables was analysed by means of standard non-parametric tests, i.e., the Mann–Whitney (U) and Kruskal–Wallis (H) tests.

Table 3. Number of *Microtus lusitanicus* analysed (n) and seasonal values of climate variables corresponding to the year prior to host capture.

	n	Mean Temperature (°C)	Mean Rainfall (mm)	Cumulative Rainfall (mm)
Winter 2010	25	10.1	3.0	269.0
Spring 2010	92	15.0	4.0	338.4
Summer 2010	110	19.9	0.7	65.9
Autumn 2010	116	12.6	5.5	503.4
Winter 2011	101	11.1	2.9	246.0
Spring 2011	95	16.2	1.0	88.5
Summer 2011	86	19.7	1.3	116.2
Autumn 2011	72	14.6	2.2	199.0
Winter 2012	13	10.2	1.4	125.1

SPSS 26.0—IBM for Windows was the software package used for statistical analysis. Statistical significance was established at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Helminth Species

A total of 594 Lusitanian pine voles (83.67%) were found to be infected with a total of eight helminth species: four cestodes and four nematodes (Table 4). Among the helminth species observed, although the hymenolepidid *Rodentolepis asymmetrica* and the heligmosomid *Carolinensis minutus* have been previously reported in other Arvicolinae

host species [18], both helminth species are now reported for the first time parasitizing *M. lusitanicus*.

Table 4. Selected characteristics of the helminth community of 710 *Microtus lusitanicus* analysed.

Helminth Species	Site	LC	n	Prevalence (95% CI)	Mean Abundance (SE)	Median Intensity (Range)
CESTODA						
Cysticercoid sp. larvae	I	F	1	0.15 (0.1–0.5)	<0.00 (<0.00)	1 (1)
Hydatigera taeniaeformis larvae	L	F	59	8 (6–10)	0.10 (0.01)	1 (1–5)
Paranoplocephala omphalodes	I	NF	2	0.3 (0.1–0.7)	<0.00 (<0.00)	1 (1)
Rodentolpeis asymmetrica	I	NF	5	0.7 (0.4–2)	0.01 (<0.00)	1 (1–2)
NEMATODA						
Trichuris arvicolae	C	F	36	5 (4–7)	0.06 (0.01)	1 (1–4)
Carolinensis minutus	I	F	308	44 (39–47)	5.80 (0.91)	3 (1–417)
Heligmosomum costellatum	I	F	25	4 (3–6)	0.16 (0.05)	3 (1–22)
Syphacia nigeriana	C	F	158	22 (19–25)	4.54 (0.81)	5 (1–262)

LC, life cycle; N, number of voles parasitized; CI, confidence interval; SE, standard error; I, intestine; L, liver; C, caecum; FES, helminths which have a free-environmental infectious stage for the vole; NF, No-FES.

The morphology and morphometry of some stages of the helminth specimens found parasitizing the voles were analysed under the microscope and some specific measurements were made and compared with those reported in descriptions of the scientific literature, making it possible to identify all of them at specific level, with the only exception being a cysticercoid found in the intestine of a vole.

3.1.1. *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) Larvae

The larval stage of this taenid tapeworm, a strobilocercoid englobed in a cyst of a 5–12 mm diameter, was found on the liver. The scolex (Figures 3 and 4) has a rostellum with 30–36 hooks of two different sizes [33].

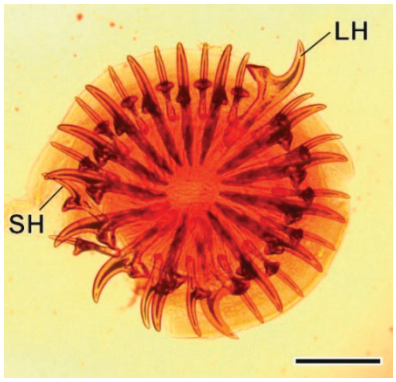


Figure 3. Rostellar hooks of *Hydatigera taeniaeformis* larvae. LH, large hook; SH, small hook. Scale bar = 300 μm.

Figure 4. Large (**A**) and small (**B**) hooks of *Hydatigera taeniaeformis* larvae. Scale bar = 200 µm.

3.1.2. *Paranoplocephala omphalodes* (Hermann, 1783)

This anoplocephalan tapeworm was found in the small intestine. The unarmed scolex, the morphology and disposition of reproductive organs, as well as the size and morphology of the eggs obtained from gravid proglottids allow its identification at specific level [34].

3.1.3. *Rodentolepis asymmetrica* (Janicki, 1904)

The adult stage of this hymenolepidid cestode was found in the small intestine. The armed scolex has a rostellum with 18–21 hooks of 18–20 µm. The eggs are spherical, with a diameter of 45–67 µm, containing an oncosphere of a 20–30 µm diameter, with embryonic hooks of 8.5–9 µm length [34].

3.1.4. *Trichuris arvicolae* Feliu et al., 2000

This Trichurinae nematode was found in the caecum. The morphology of the oesophagus, as well as the morphology and morphometry of female and male sexual organs and eggs (Figures 5 and 6) allowed the recent description of this nematode as a new species [35].

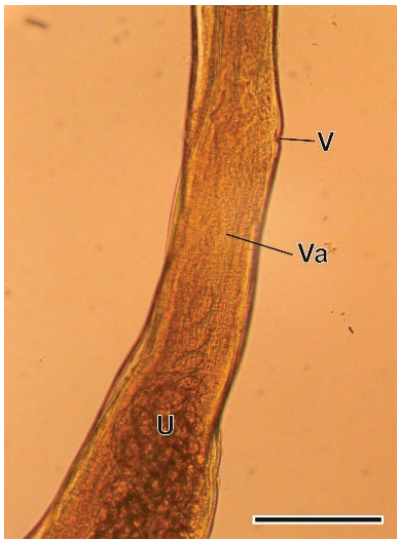


Figure 5. Vulvar region of a *Trichuris arvicolae* female. U, uterus; V, vulva; Va, vagina. Scale bar = 200 µm.

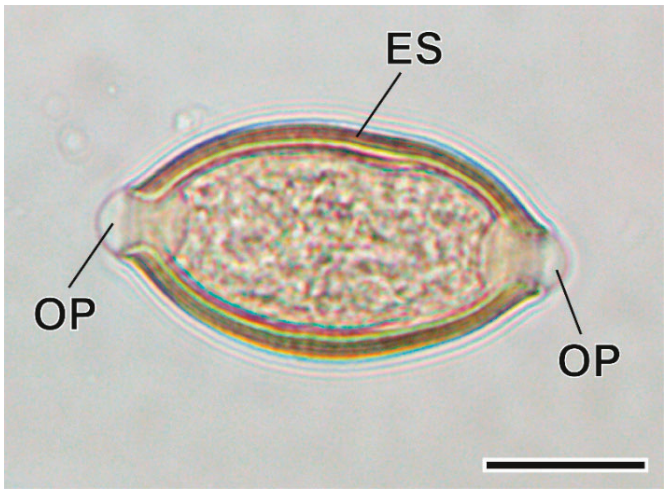


Figure 6. Egg of *Trichuris arvicolae*. ES, eggshell; OP, opercular plugs. Scale bar = 25 µm.

3.1.5. *Carolinensis minutus* (Dujardin, 1845)

This heligmosomid nematode was found in the small intestine. It is characterized by its very small size, the presence of longitudinal ridges that cover its body, the vesicle that covers its head, and the caudal bursa of males [36] (Figure 7).

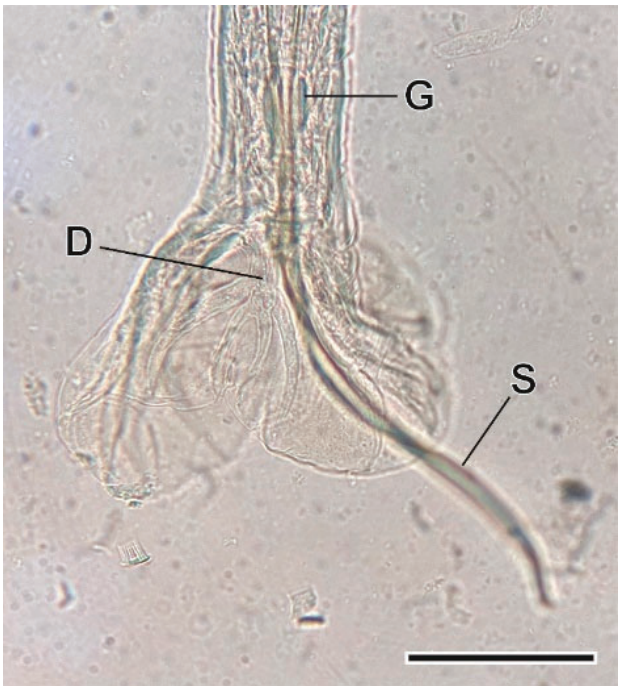


Figure 7. Caudal bursa of a *Carolinensis minutus* male. D, dorsal ray; G, gubernaculum; S, spicules. Scale bar = 1 µm.

3.1.6. *Heligmosomum costellatum* (Dujardin, 1845)

This other heligmosomid nematode was found in the small intestine. It presents transversal stretch marks that cover its cuticle, and a typical caudal bursa of males [36] (Figures 8 and 9).

Figure 8. Cephalic extremity of a *Heligmosomum costellatum* female. Arrows point at cuticular striations. Scale bar = 100 μm.

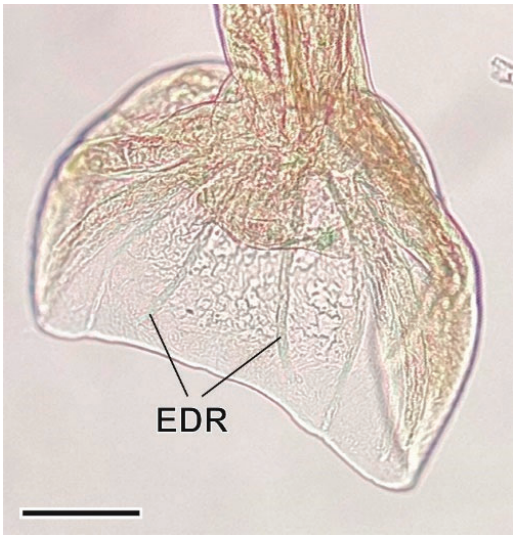


Figure 9. Caudal bursa of a *Heligmosomum costellatum* male. EDR, externodorsal rays. Scale bar = 100 μm.

3.1.7. *Syphacia nigeriana* Baylis, 1928

This oxyurid nematode was found in the caecum. The oxyuriform oesophagus is one of the most relevant characteristics at genus level. The morphological and morphometric characterization of its sexual organs is necessary to enable identification at species level [36] (Figures 10 and 11).

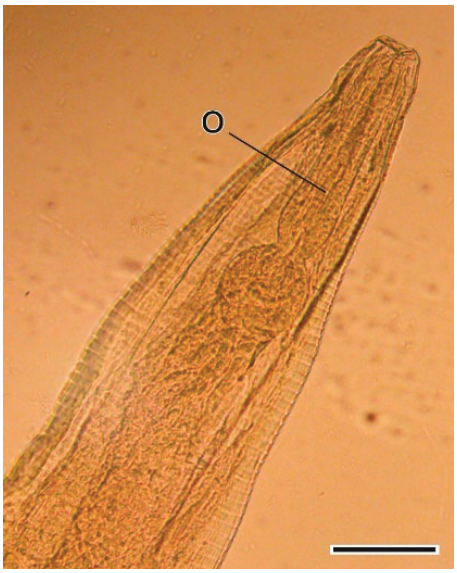


Figure 10. Cephalic extremity of a *Syphacia nigeriana* female. O, oesophagus. Scale bar = 100 μm.

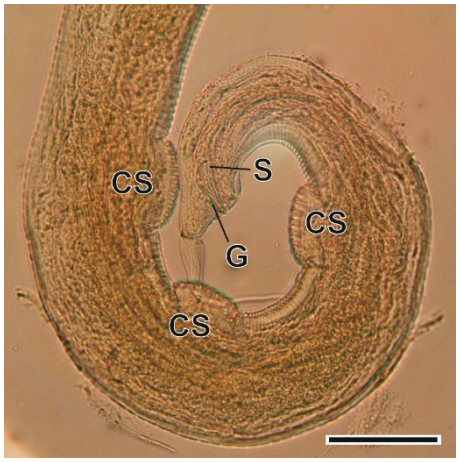


Figure 11. Caudal extremity of a *Syphacia nigeriana* male. CS, ventral cuticular swellings; G, gubernaculum; S, spicule. Scale bar = 100 μm.

3.2. Helminth Community Analysis

Carolinensis minutus showed the highest prevalence of infection (43.38%) and was the most abundant (5.80), while *S. nigeriana* presented the highest mean intensity value (5). The five most prevalent species, *C. minutus* (43.38%), *S. nigeriana* (22.25%), *H. taeniaeformis* larvae (8.31%), *T. arvicolae* (5.07%) and *H. costellatum* (3.52%), were analysed considering sex, age, season and year of capture of the host (Tables 5 and 6).

More than 60% of the hosts presented either one or two helminth species, but infracommunities of up to 4 species were also found (Table 7). The abundance index values (Table 8) make it possible to establish the following community structure: *C. minutus* and *S. nigeriana* as dominant species; *H. costellatum* as co-dominant species; and *T. arvicolae* as successful immigrant species. *Paranoplocephala omphalodes* and *R. asymmetrica* are considered as non-successful immigrant species. The two larval stages (*H. taeniaeformis* and *Cysticercoid* sp.) are not included in this classification since the Lusitanian pine vole acts as intermediate host.

Table 5. Selected characteristics of the five most prevalent helminth species by host sex and age. CI—confidence interval, SE—standard error.

			Species				
			H. taeniaeformis	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
Sex	Males	Prevalence (CI 95%)	9 (6–12)	3 (2–5)	21 (17–26)	2 (1–3)	13 (10–17)
		Mean Abundance (SE)	0.10 (0.02)	0.07 (0.02)	4.60 (0.93)	0.18 (0.07)	5.28 (1.22)
		Median Intensity (range)	1 (1–2)	1 (1–2)	3 (1–239)	3 (1–21)	6 (1–262)
	Females	Prevalence (CI 95%)	7 (5–10)	4 (2–6)	47 (42–52)	3 (2–5)	19 (15–23)
		Mean Abundance (SE)	0.10 (0.02)	0.06 (0.02)	7.07 (1.58)	0.13 (0.07)	3.76 (1.04)
		Median Intensity (range)	1 (1–5)	1 (1–4)	3 (1–417)	2 (1–22)	4 (1–191)
Age	Juveniles	Prevalence (CI 95%)	-	-	62 (50–74)	3 (0.4–11)	14 (7–25)
		Mean Abundance (SE)	-	-	20.19 (7.21)	0.11 (0.09)	2.51 (1.08)
		Median Intensity (range)	-	-	9 (1–417)	3.5 (2–5)	13 (1–41)
	Sub-adults	Prevalence (CI 95%)	5 (3–8)	3 (2–5)	45 (40–50)	3 (2–5)	23 (19–28)
		Mean Abundance (SE)	0.05 (0.01)	0.04 (0.01)	5.56 (1.06)	0.22 (0.10)	5.71 (1.42)
		Median Intensity (range)	1 (1–2)	1 (1–2)	3 (1–239)	4 (1–22)	4 (1–262)
	Adults	Prevalence (CI 95%)	14 (10–18)	8 (5–12)	38 (33–43)	4 (2–7)	23 (19–28)
		Mean Abundance (SE)	0.17 (0.03)	0.10 (0.02)	3.16 (0.87)	0.10 (0.04)	3.70 (1.00)
		Median Intensity (range)	1 (1–5)	1 (1–4)	2 (1–238)	1 (1–8)	5 (1–191)

Table 6. Selected characteristics of the five most prevalent helminth species by season and year of capture. CI—confidence interval, SE—standard error.

			Species				
			H. taeniaeformis	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
Season	Winter	Prevalence (CI 95%)	10 (6–16)	2 (0.4–6)	28 (21-36)	6 (3–11)	30 (23–38)
		Mean Abundance (SE)	0.12 (0.03)	0.02 (0.01)	0.78 (0.21)	030 (0.17)	4.15 (1.40)
		Median Intensity (range)	1 (1–2)	1 (1)	1 (1–22)	2.5 (1–22)	3 (1–128)
	Spring	Prevalence (CI 95%)	10 (6–15)	7 (4–12)	51 (44–59)	5 (2–9)	24 (18–31)
		Mean Abundance (SE)	0.10 (0.02)	0.08 (0.02)	6.14 (0.99)	0.22 (0.12)	9.65 (2.71)
		Median Intensity (range)	1 (1)	1 (1–2)	4.5 (1–80)	2 (1–21)	11 (1–262)
	Summer	Prevalence (CI 95%)	6 (3–10)	7 (4–12)	59 (52–66)	3 (1–6)	17 (12–23)
		Mean Abundance (SE)	0.07 (0.02)	0.09 (0.03)	13.30 (3.07)	0.12 (0.06)	1.60 (0.43)
		Median Intensity (range)	1 (1–3)	1 (1–2)	5 (1–417)	4 (1–7)	4.5 (1–54)
	Autumn	Prevalence (CI 95%)	8 (5–13)	3 (1–7)	31 (25–38)	0.5 (0.1–4)	20 (15–26)
		Mean Abundance (SE)	0.11 (0.04)	0.05 (0.02)	1.36 (0.29)	0.02 (0.02)	2.80 (0.73)
		Median Intensity (range)	1 (1–5)	1 (1–4)	2 (1–31)	3 (3)	6 (1–75)
Year	2011	Prevalence (CI 95%)	8 (5–11)	5 (3–8)	51 (46–57)	3 (2–5)	16 (12–20)
		Mean Abundance (SE)	0.10 (0.02)	0.06 (0.01)	8.11 (1.64)	0.17 (0.07)	2.37 (0.61)
		Median Intensity (range)	1 (1–5)	1 (1–2)	3.5 (1–417)	4.5 (1–21)	4 (1–130)

Table 6. *Cont.*

		Species				
		H. taeniaeformis	***T. arvicolae***	***C. minutus***	***H. costellatum***	***S. nigeriana***
2012	Prevalence (CI 95%)	9 (6–12)	5 (3–8)	36 (31–41)	4 (2–7)	29 (24–34)
	Mean Abundance (SE)	0.10 (0.02)	0.07 (0.20)	3.76 (0.88)	0.15 (0.07)	6.81 (1.50)
	Median Intensity (range)	1 (1–3)	1 (1–4)	2 (1–238)	2 (1–22)	5 (1–262)
2013	Prevalence (CI 95%)	8 (0.2–34)	-	31 (9–57)	-	-
	Mean Abundance (SE)	0.08 (0.08)	-	0.54 (0.27)	-	-
	Median Intensity (range)	1 (1)	-	1.5 (1–3)	-	-

Table 7. Frequency of occurrence of the number of helminth species present in infracommunities of *Microtus lusitanicus* from Asturias.

No. of Helminth Species	n	%
0	260	36.6
1	320	45.1
2	117	16.5
3	12	1.7
4	1	0.1

Table 8. Abundance Index (AI) and Lefkovitch Index (L) of the most prevalent helminth species of *Microtus lusitanicus* from Asturias.

Helminth Species	AI	L
Hydatigera taeniaeformis larvae	-	0.23
Trichuris arvicolae	0.06	0.24
Carolinensis minutus	5.80	0.99
Heligmosomum costellatum	0.16	0.88
Syphacia nigeriana	4.54	0.99

The frequency distribution of the most prevalent helminth species (Table 8) showed that all species analysed presented a negative binomial distribution, but *H. taeniaeformis* and *T. arvicolae* were close to a Poisson or random distribution.

The values of the Shannon, Simpson, Berger–Parker and Shannon evenness indices reflect the diversity/uniformity of the helminth community. They were analysed considering the total host population, host age and sex, as well as season and year of capture (Tables 9 and 10). Males presented a slightly lower helminth diversity than females. Moreover, helminth diversity increases with the age of the host being similar between sub-adult and adult subpopulations. Hosts captured during spring and autumn and in 2012 presented the highest diversity, while those captured during summer and in 2013 presented the lowest.

Table 9. Diversity characteristics of the helminth community of *Microtus lusitanicus* from Asturias by host sex and age.

	Sex		Age			
	Males	**Females**	**Juveniles**	**Sub-Adults**	**Adults**	**Total**
Shannon index	0.86	0.78	0.38	0.82	0.93	0.84
Simpson index	0.53	0.48	0.20	0.53	0.55	0.52
Berger–Parker index	0.48	0.36	0.11	0.51	0.49	0.46
Shannon evenness index	0.44	0.40	0.34	0.46	0.45	0.40

Table 10. Diversity characteristics of the helminth community of *Microtus lusitanicus* from Asturias by season and year of capture.

	Season				Year		
	Winter	**Spring**	**Summer**	**Autumn**	**2011**	**2012**	**2013**
Shannon index	0.76	0.81	0.45	0.81	0.68	0.81	0.38
Simpson index	0.38	0.50	0.22	0.48	0.39	0.49	0.22
Berger–Parker index	0.23	0.41	0.12	0.35	0.25	0.38	0.13
Shannon evenness index	0.39	0.41	0.25	0.50	0.38	0.39	0.54

Tables 11 and 12 show the diversity characteristics of the helminth infracommunities, including the Brillouin index, according to host sex and age, and season and year of capture, which follow a similar trend as the helminth community diversity.

Table 11. Diversity characteristics of helminth infracommunities of *Microtus lusitanicus* (*M.l.*) from Asturias by host sex and age. SE—standard error.

		Sex		Age			
		Male	**Female**	**Juveniles**	**Sub-Adults**	**Adults**	**Total**
Mean species richness	X	0.86	0.81	0.79	0.80	0.88	0.84
	SE	0.04	0.04	0.08	0.04	0.05	0.03
Brillouin index		0.06	0.06	0.05	0.06	0.07	0.06
	SE	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
	Max	0.60	0.75	0.62	0.65	0.75	0.75
BI infected *M.l.* only	X	0.07	0.06	0.04	0.06	0.06	0.06
	SE	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
% of *M.l.* infected		62.5	64.3	68.3	61.1	64.9	63.38

Table 12. Diversity characteristics of helminth infracommunities of *Microtus lusitanicus* (*M.l.*) from Asturias by season and year of capture. SE—standard error.

		Season				Year		
		Winter	**Spring**	**Summer**	**Autumn**	**2011**	**2012**	**2013**
Mean species richness	X	0.78	1.01	0.92	0.62	0.83	0.86	0.38
	SE	0.07	0.06	0.05	0.05	0.04	0.04	0.14
Brillouin index	X	0.06	0.07	0.05	0.05	0.06	0.06	0.02
	SE	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
	Max	0.65	0.62	0.55	0.75	0.75	0.65	0.28
BI infected *M.l.* only	X	0.07	0.08	0.06	0.04	0.06	0.06	0.06
	SE	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
% of *M.l.* infected		56.8	73.8	71.4	49.5	65.0	62.7	38.5

The role extrinsic (season and year of capture) and intrinsic (host age and sex) factors play in the component species of the helminth community of *M. lusitanicus* is shown in Table 13 in relation to helminth prevalence, and in Table 14 with respect to helminth abundance. The analysis of these results shows that, in general, the helminth component species of the Lusitanian pine voles were significantly affected by host age, season and year of capture. Host sex did not have any important effect on helminth prevalence and abundance.

Table 13. Binary logistic regression models for the prevalence of the helminth component species of *Microtus lusitanicus* from Asturias by year and season of capture, host sex and age, expressed by χ^2 values with associated probabilities (p) for the model created, including independent variables. Only statistically significant models are reported.

Helminth Species/Independent Variables Included in the Model	df	χ^2	p
Global *M. lusitanicus* parasitation			
Season of capture	3	32.471	<0.0001
Hydatigera taeniaeformis larvae			
Host age	2	27.540	<0.0001
Trichuris arvicolae			
Host age	2	13.789	0.001
Carolinensis minutus			
Host age	2	13.333	0.001
Host age and sex	2	7.189	0.027
Season of capture	3	49.574	<0.0001
Year of capture	2	17.216	<0.0001
Heligmosomum costellatum			
Season of capture	3	11.074	0.011
Syphacia nigeriana			
Season of capture	3	8.711	0.033
Year of capture	2	23.797	<0.0001

Df—degree of freedom.

Table 14. Values of Mann–Whitney (U) and Kruskal–Wallis (χ^2) tests, with associated probabilities (p), applied in the analyses of the helminth component species abundances of *Microtus lusitanicus* from Asturias. The Mann–Whitney test was applied to host sex and the Kruskal–Wallis test was applied to host age, season and year of capture. Only significant results are reported.

Helminth Species/Independent Variables Included in the Model	df	U/χ^2	p
Hydatigera taeniaeformis larvae			
Host age	2	23.327	<0.0001
Trichuris arvicolae			
Host age	2	10.992	0.004
Carolinensis minutus			
Host age	2	23.558	<0.0001
Season of capture	3	68.329	<0.0001
Year of capture	2	21.101	<0.0001
Heligmosomum costellatum			
Season of capture	3	8.868	0.031
Syphacia nigeriana			
Season of capture	3	8.386	0.039
Year of capture	2	20.706	<0.0001

df—degree of freedom.

Spearman's correlation values between climate factors (temperature and rainfall) and diversity parameters (species richness and Brillouin index), prevalence and abundance of parasitation (Table 15) showed significantly positive correlations between prevalence and mean temperature (*T. arvicolae*) and abundance and mean temperature (*T. arvicolae* and *C. minutus*). However, the absence of any correlation between climate factors and diversity parameters stands out.

Table 15. Values of Spearman Correlation Coefficient (r_s), with associated probabilities (p), between climate variables (temperature and rainfall) and diversity (species richness and Brillouin index), prevalence and abundance. Only significant results are reported.

Correlations	r_s	p
Trichuris arvicolae prevalence and mean temperature	0.691	0.009
Trichuris arvicolae abundance and mean temperature	0.663	0.014
Carolinensis minutus abundance and mean temperature	0.698	0.008

4. Discussion

4.1. Remarks on the Helminth Species

4.1.1. *Hydatigera taeniaeformis* Larvae

This taenid tapeworm of cosmopolitan distribution has a diheteroxenous life cycle, having rodents as the intermediate host, with carnivores, such as felids, canids and mustelids, even domestic ones, as its definitive host [37].

4.1.2. *Paranoplocephala omphalodes*

This anoplocephalan tapeworm has a Holarctic distribution with its adult stage parasitizing the small intestine of several species of the genus *Microtus*, which act as its definitive host, while some mite species act as its intermediate host [38].

4.1.3. *Rodentolepis asymmetrica*

Adults of this hymenolepidid cestode parasitizes mainly the small intestine of arvicolines, also having a Holarctic distribution. Its life cycle is diheteroxenous, with some arthropod species acting as its intermediate host [34].

4.1.4. *Trichuris arvicolae*

This Trichurinae nematode has been reported in some Arvicolinae species, having a Holarctic distribution, similar to their hosts. Its life cycle is monoxenous, a so-called pseudogeohelminth (the infective form for the wood mouse is not a free larva but an egg embryonating in the soil) [35,39,40].

4.1.5. *Carolinensis minutus*

This heligmosomid nematode also has a Holarctic distribution and parasitizes the small intestine of some Arvicolinae species. Its life cycle is monoxenous, a so-called geohelminth (the infective form is a free larval stage, which must be ingested by the host) [36,41].

4.1.6. *Heligmosomum costellatum*

This other heligmosomid nematode mainly parasitizes the small intestine of some *Microtus* species, also having a Holarctic distribution and a monoxenous geohelminth life cycle [36,42].

4.1.7. *Syphacia nigeriana*

This oxyurid nematode mainly parasitizes the caecum of some Arvicolinae species, also having a Holarctic distribution. Its life cycle is monoxenous, a so-called ageohelminth, with eggs shed being infective after only a few hours.

4.2. Helminth Community Analysis

The helminthfauna of the *M. lusitanicus* population from Asturias shows a similar structure to other Arvicolinae, i.e., helminth species with low specificity at is host level (eurixens and oligoxens) are dominant [18,43]. Moreover, the species richness at infracommunity level is poor. The semi-fossorial life and the vegetarian diet could explain the low

parasite diversity found in *M. lusitanicus* when compared to other arvicolines of the Iberian Peninsula [18,44].

Comparing the current results with previous studies [18,19,43], some differences in the helminth community composition have been found. The absence of *Notocotylus neyrai* (Trematoda), other adult cestodes, such as *Anoplocephaloides dentata* and *Arostrilepis horrida*), and *Heligmosomoides laevis* (Nematoda), as well as the presence of *R. asymmetrica* (Cestoda) and *C. minutus* (Nematoda) are the main differences observed. The lack of helminths with an indirect life cycle, which have *M. lusitanicus* as definitive host, could be explained by the use of pesticides in some crops that negatively affect the survival of intermediate hosts (arthropods and snails). Another fact to be considered is the small size of the crop fields that may increase the stochastic extinction of helminth species, while recolonization is difficult due to the poor connectivity of the habitats [45]. Indeed, a recent landscape genetics study showed that this agricultural landscape affects successful dispersal and colonization of voles at local scale [46].

The low values of helminth prevalence and mean species richness agree with the values of the diversity indices. Previous studies also obtained low prevalence [19], with *S. nigeriana* being the most prevalent helminth species. The semi-hypogea life and the herbivore diet of the Lusitanian pine vole may explain its low helminth diversity when compared to other epigean Arvicolinae from the Iberian Peninsula [18,44]. Six of the eight helminth species have an FES biological cycle, helminths which have a free-environmental infectious stage for the vole. Moreover, only five voles were parasitized after the ingestion of an infected arthropod.

The analysis of the frequency distribution of helminths revealed that dominant and co-dominant species, namely *C. minuts*, *S. nigeriana* and *H. costellatum*, showed a high level of aggregation. However, *T. arvicolae* and *H. taeniaeformis* were close to a random distribution. A high-level aggregation of parasites is associated with the stability of the host–parasite relationship, whereas low-level aggregation is associated with destabilization [47–49]. Consequently, according to the current results, only *T. arvicolae* and *H. taeniaeformis* might be responsible for the destabilization of the Lusitanian pine vole population in the study area.

The high aggregation of all dominant and co-dominant helminth species may be caused by various factors, such as heterogeneities in host populations and/or infection pressure [50]. The aggregation level does not seem to be affected by the helminth transmission mode or route, revealing the optimal distribution of helminths, and the co-evolutionary adaptative processes between parasites and their hosts [51]. *Hidatygera taeniaeformis* and *T. arvicolae* showed the lowest aggregation among the main helminth species found. In both cases, the infection of voles occurs after the ingestion of the egg, after its embryonation in the case of *T. arvicolae*. Both species have an FES biological cycle, the same as the other three helminth species with a high level of aggregation.

Diversity and species richness increase from younger to older hosts. According to the Kruskal–Wallis test and binary logistic regression, the species showing an age effect are *H. taeniaeformis*, *T. arvicolae* and *C. minutus.* For *H. taeniaeformis* and *T. arvicolae*, the likelihood of infection increases with age, although in *C. minutus* it decreases. In *H. taeniaeformis*, the results are the expected ones: juveniles are protected from the eggs by the IgA they ingest by the colostrum and the transplacental IgA and IgG. Adults present a partial protection from them, i.e., some eggs develop into cysts in the host liver [52]. Moreover, older animals are more likely to be infected given their age and having covered more territory to come into contact with infective forms [53]. Prevalence and intensity of helminth parasites increase with host age in other studies with wild rodents [19,54–68]. In *C. minutus*, the results were those to be expected. Survival of parasites decreases with age through the development of an acquired partial immunity in hosts [58]. According to the life cycle of *M. lusitanicus*, juveniles spend more time in galleries, so they are more likely to come into contact with larval forms of *C. minutus*. The acquired immunity developed against this parasite reduces the number of parasites in older individuals. Unexpected results were obtained in the case of *T. arvicolae*. This helminth is a pseudogeohelminth,

whose eggs develop outside the body where they become infective forms. Younger hosts spend more time in galleries than older ones, so they have a greater likelihood to be infected. Younger animals would be expected to be more parasitized than older ones that have undergone the development of acquired immunity. However, our results showed a clear increase of infection with host age, with the absence of this helminth species in the juvenile host subpopulation.

No differences by host sex were detected in diversity and richness values. No effect in any helminth species was detected by binary logistic regression and the Mann–Whitney test. However, previous studies documented the host sex effect. Usually, males are more infected than females [69], which can be explained by different reasons [70]. Males are usually larger than females and, hence, not only provide more resources to parasites but are also more susceptible to them. Immunocompetence against infections in males is reduced as a consequence of steroid hormones, but this mechanism is not clear. Furthermore, behavioural aspects benefit infection, such as fights, reduced grooming in the mating season, covering larger territories, are all factors that increase their exposure to infective forms. However, some studies found a female bias [70]. In these cases, the reproductive state and hormone levels can affect their immunity levels and they are more susceptible to parasitic diseases. This effect increases during pregnancy and lactation. Additionally, the fact that females share nests with other females could increase the probability of infection by parasites [69]. Nevertheless, the lack of a sex bias has been reported in various small mammal species [52,59,61,68,70,71]. Some results support the idea that the influence of sex on the parasite load may depend largely on the parasite taxa and/or host-parasite associations [72–75]. Another study [70] suggests the hypothesis that a sex bias is related to a seasonally dependent sexual dichotomy in reproductive behaviour.

Analysing the effects of season, the lowest values of diversity indices are reached in summer and the highest in spring and autumn, while species richness reaches its lowest values in winter and its highest in spring. As winter is likely the season with the lowest outside activity of Lusitanian pine voles, they have fewer occasions to come into contact with parasite infective forms, which is then the reason to explain these values. According to binary logistic regression and Kruskal–Wallis test results, prevalence and abundances of *C. minutus*, *H. costellatum* and *S. nigeriana* were significantly influenced by the season of capture. *Heligmosomum costellatum* and *C. minutus* are geohelminths requiring high humidity conditions for larval survival in the environment [76]. In *H. costellatum*, higher prevalence values are linked with the reproductive stage in hosts [42]; as *M. lusitanicus* reproduces along the entire year [3], the low prevalence and intensity values in autumn are more related to environmental conditions that influence the survival of dispersal stages [77]. Summer could affect larvae survival negatively and, hence, fewer hosts are infected in autumn. So far, no data concerning the seasonal effect on *C. minutus* have been reported in the scientific literature. As with other geohelminth species, external conditions are essential for infective forms to survive. According to our results, summer and spring are the most favourable seasons for *C. minutus*. In the case of *S. nigeriana* females, when they are gravid, they migrate from the intestine to the anus. Then, they emerge and leave eggs in the perianal region, which, as an ageohelminth, become infective in a short time. These eggs can infect the same individual or other ones by grooming or sharing nests and helminths can spread among the rest of the group [77]. As *M. lusitanicus* reproduces along the year [3], the high values of *S. nigeriana* in winter could be due to the higher aggregation between individual hosts as a consequence of adverse climate conditions, spending more time in the tunnels, increasing their density and, consequently, the likelihood to be parasitized. These results agree with previous studies, which also reported positive correlations between helminth prevalence and abundances and host densities [68,78–80].

Concerning the year of capture, diversity index and species richness values are similar between both years, showing the medium-term stability of the Lusitanian pine vole helminth community. Among the helminth species, only the prevalence and abundance

of *C. minutus* and *S. nigeriana* are influenced by the year of capture, due to the annual variability of the environmental conditions and the abundance of the host.

Although the absence of correlations between climate variables and diversity (species richness and Brillouin index) stands out, the prevalence and/or the abundance of some helminth species, such as *T. arvicolae* and *C. minutus*, with a pseudogeohelminth, respectively, and a geohelminth life cycle, correlate positively with mean temperature values of the year before capture, which influence the survival of the infective forms.

4.3. The Use of the Helminths of Microtus lusitanicus in Pest Control

Nowadays, the impact of parasites on reproduction and survival of wild animal populations has been recognised [81–85]. Moreover, parasites may play a key role in driving population regulation in vertebrates [81,86,87].

Concerning helminth species present in the helminth community of *M. lusitanicus*, Deter et al. [88,89] demonstrated that *T. arvicolae* affects the fecundity of its host, and proposed that this intestinal nematode could control population growth in several rodent species, representing an in-built pest control [90]. Likewise, it has been demonstrated that rodents infected with *H. taeniaeformis* have lower levels of leptin and higher levels of neuropeptide-Y in plasma than uninfected ones [91]. Accordingly, parasites stimulate appetite in their hosts and they become hungry. Models predict that hungry animals tend to be more willing to take risks than satiated individuals [92,93]. Therefore, infected animals as intermediate hosts are likely to be preyed upon by the final hosts of this parasite [91]. *Hydatigera taeniaeformis* larvae could play a role in population control resulting in a decrease in the number of rodents. According to our results, *T. arvicolae* and *H. taeniaeformis* might have a potential destabilization effect on the *M. lusitanicus* population, and considering their role in host population control, both species can be proposed as potential pest control in the Lusitanian pine vole population in Asturias and elsewhere in this geographic distribution.

5. Conclusions

The current analysis on the helminth community of the Lusitanian pine vole in Asturias provides further information on this vole pest reported in previous studies throughout its Iberian distribution, with the most remarkable difference being the near complete absence of adult cestodes parasitizing the population studied.

The influence of extrinsic factors, such as climate variables and the season and year of capture, confirms the more fragile life cycles of psedudogeohelminths, i.e., *T. arvicolae*, and geohelminths, i.e., *C. minutus*, species, while the influence of the host population density seems to affect the ageohelminth species, *S. nigeriana*, more significantly. The influence of host age was expected as it has been reported in several previous studies in various host populations, but the absence of host sex influence is surprising and remains without any convincing explanation.

An increase in the mean temperature seems to favour the transmission of these pseudogeohelminth and geohelminth species, a fact that could be of great interest considering the potential increase of mean temperatures due to global warming and climate change. Moreover, the potential destabilization effect that *H. taeniaeformis* and *T. arvicolae* could exercise on the Lusitanian pine vole population, due to their low-level aggregation, should be considered in the control programs of this studied rodent pest, even in the case of the cestode introducing its definitive hosts, carnivores which spread infective eggs and also predate the voles.

Author Contributions: Conceptualization, C.F., A.S., M.M., J.V., J.T., J.M.; Methodology, R.A., C.F., A.S., M.M., J.V., J.T., J.M., M.V.F.; Formal Analysis, R.A., C.F., A.S., M.M., J.V., J.T., J.M., M.V.F.; Investigation, R.A., C.F., J.T., J.M., M.V.F.; Data Curation, R.A., J.T., J.M.; Statistical Analysis, R.A., M.V.F. Writing—Original Draft Preparation, R.A., C.F., A.S., M.M., J.V., J.T., J.M., M.V.F.; Writing—Review & Editing, R.A., C.F., J.M., M.V.F.; Project Administration, C.F., J.T., J.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study has been supported by Gobierno del Principado de Asturias, FEDER, Caja Rural de Gijón, CADAE, and AACOMASI (Project FICYT PC10-52). DOC-INIA Program granted to M.M.; FPI-INIA Program granted to A.S.

Institutional Review Board Statement: All vole specimens included in the study were obtained from the collection of SERIDA (Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario, Asturias). The sample was collected during a population peak, for two consecutive years (January 2011 to January 2013), in apple orchards of Asturian localities where the Lusitanian pine vole was a great pest. The recommendations of the Directive of the European Parliament and of the Council on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes were followed in the field work. Moreover, captures of the Lusitanian pine voles are in agreement with Royal Decree 409/2008 of the Spanish Government, published in the BOE (Boletín Oficial del Estado) No. 86, of 28 March, which establishes the national pest control program for field voles, and obliges the owners of plantations affected by, among other species, *Microtus lusitanicus*, to use trapping systems for the pest in areas where their activity is detected.

Data Availability Statement: The database used to carry out the present study is not publicly available due to internal policy of our departments. However, the database could be available, after a justification of its use, upon request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have not conflict of interest.

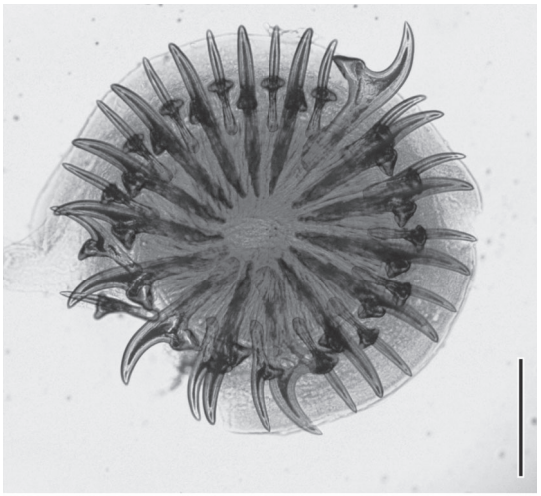
References

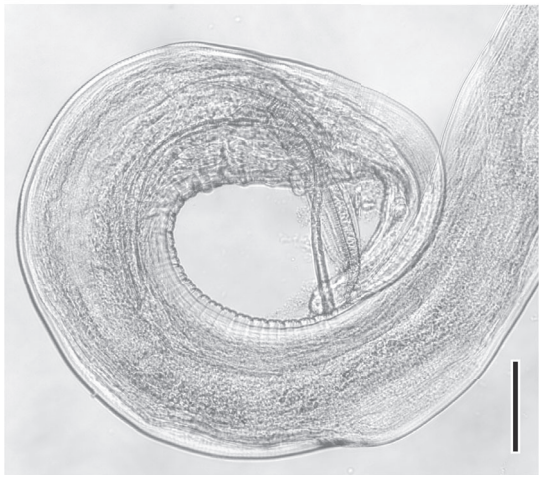
1. Mira, A.; Mathias, M. *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879). In *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*; Gisbert, J., Palomo, J.L., Eds.; Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU: Madrid, Spain, 2007; pp. 418–442.
2. Santos, S.M.; Lourenço, R.F.; Mathias, M.L.; Mira, A.P. Spatial and temporal ecology of the Lusitanian pine vole (*Microtus lusitanicus*) in a Mediterranean polyculture. *Anim. Biol.* **2010**, *60*, 209–227. [CrossRef]
3. Miñarro, M.; Somoano, A.; Ventura, J. Intra-annual continuous reproduction of the apple pest *Microtus lusitanicus*: Implications for management. *Crop Prot.* **2017**, *96*, 164–172. [CrossRef]
4. Ventura, J.; Jiménez, L.; Gisbert, J. Breeding characteristics of the Lusitanian pine vole, *Microtus lusitanicus*. *Anim. Biol.* **2010**, *60*, 1–14. [CrossRef]
5. Duarte, M.A.; Mathias, M.D.L.; Bastos-Silveira, C. Pair-bonding behaviour of the sister species *Microtus lusitanicus* and *M. duodecimcostatus*. *J. Ethol.* **2015**, *33*, 213–223. [CrossRef]
6. Somoano, A.; Ventura, J.; Miñarro, M. Continuous breeding of fossorial water voles in northwestern Spain: Potential impact on apple orchards. *Folia Zool.* **2017**, *66*, 37–49. [CrossRef]
7. Ribeiro, J.N. Colony Social Structure and Burrow Architecture of the Lusitanian Pine Vole, *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879). Master's Thesis, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2019.
8. Miñarro, M.; Montiel, C.; Dapena, E. Vole pests in apple orchards: Use of presences signs to estimate the abundance of *Arvicola terrestris cantabriae* and *Microtus lusitanicus*. *J. Pest. Sci.* **2012**, *85*, 477–488. [CrossRef]
9. BOE. Royal decree 409/2008, of 28 March, that established national program for controlling pests of field voles. *Boletín Oficial del Estado* **2018**, *86*, 19217–19219. (In Spanish)
10. EU. Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products Text with EEA relevance. *OJEU* **2012**, *167*, 1–123.
11. Jacob, J. Vertebrate pest management: Science and application. *Pest. Manag. Sci.* **2013**, *69*, 321–322. [CrossRef] [PubMed]
12. Ranchelli, E.; Barfknecht, R.; Capizzi, D.; Riga, F.; Mazza, V.; Dell'Agnello, F.; Zaccaroni, M. From biology to management of Savi's pine vole (*Microtus savii*). *Pest. Manag. Sci.* **2016**, *72*, 857–863. [CrossRef] [PubMed]
13. Bernot, R.J. Parasite-host elemental content and the effects of a parasite on host-consumer-driven nutrient recycling. *Freshw. Sci.* **2013**, *32*, 299–308. [CrossRef]
14. Anderson, R.M. The regulation of host population growth by parasitic species. *Parasitology* **1978**, *76*, 119–157. [CrossRef]
15. Anderson, R.M.; May, R.M. Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory processes. *J. Anim. Ecol.* **1978**, *47*, 219–247. [CrossRef]
16. Begon, M.; Harper, J.L.; Townsend, C.R. *Ecology: Individuals, Populations and Communities*; Blackwell Sci.: Oxford, UK, 1996.
17. Leirs, H.; Singleton, G.R. Parasites and pest population management. In *Micromammals and Macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*; Morand, S., Krasnov, B.R., Poulin, R., Eds.; Springer: Tokyo, Japan, 2006; pp. 565–591.

18. Feliu, C.; Renaud, F.; Catzeflis, F.; Hugot, J.P.; Durand, P.; Morand, S. A comparative analysis of parasite species richness of Iberian rodents. *Parasitology* **1997**, *115*, 453–466. [CrossRef] [PubMed]
19. Feliu, C.; Ventura, J.; Segovia, J.M.; Jiménez, L.; Ribas, A.; Gisbert, J. Helminths of *Microtus lusitanicus* (Gerbe, 1879) (Rodentia: Cricetidae) in the Iberian Peninsula: Faunistic and ecological considerations. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* **2009**, *68*, 159–166.
20. Díaz-González, T.E.; Fernández-Prieto, J.A. Prados y pastos cantábricos: Origen y diversidad. In *Producciones Agroganaderas: Gestión Eficiente y Conservación del Medio Natural. XLV Reunión Científica de la SEEP*; De la Roza, B., Martínez, A., Carballal, A., Eds.; SERIDA: Gijón, Spain, 2005; Volume 2, pp. 699–730.
21. Miñarro, M. Weed communities in apple orchards under organic and conventional fertilization and tree-row management. *Crop. Prot.* **2012**, *39*, 89–96. [CrossRef]
22. EU Directive 2010/63/EU horizontal legislation on the protection of animal used for scientific Purposes. *OJEU* **2010**, *276*, 33–79.
23. Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *J. Parasitol.* **1997**, *83*, 575–583. [CrossRef]
24. Bush, A.O. An Ecological Analysis of the Helminth Parasites of the White Ibis in Florida. Master's Thesis, University of Florida, Gainesville, FL, USA, 1973.
25. Pence, D.B.; Eason, S. Comparison of the helminth faunas of two sympatric top carnivores from the Rolling Plains of Texas. *J. Parasitol.* **1980**, *66*, 115–120. [CrossRef] [PubMed]
26. Lefkovitch, L.P. An index of spatial distribution. *Res. Popul. Ecol.* **1966**, *8*, 89–92. [CrossRef]
27. Pielou, E.C. *Ecological Diversity*; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 1975.
28. Magurran, A.E. *Ecological Diversity and Its Measurement*; Croom Helm: London, UK, 1998.
29. Simpson, E.H. Measurement of diversity. *Nature* **1949**, *163*, 688. [CrossRef]
30. Berger, W.H.; Parker, F.L. Diversity of planktonic Foraminifera in deep sea sediments. *Science* **1970**, *168*, 1345–1347. [CrossRef]
31. May, R.M. Patterns of species abundance and diversity. In *Ecology and Evolution Communities*; Cody, M.L., Diamond, J.M., Eds.; Harvard University Press: Cambridge, MA, USA, 1975; pp. 81–120.
32. Pielou, E.C. *An Introduction to Mathematical Ecology*; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 1969.
33. Murai, É. Taeniid species in Hungary (Cestoda: Taeniidae). II. Larval stages of taeniids parasitizing rodents and lagomorphs. *Misc. Zool. Hung.* **1981**, *1*, 27–44.
34. Murai, É. Review of Tapeworms in Microtinae from Hungary. *Parasitol. Hung.* **1974**, *7*, 111–141.
35. Feliu, C.; Spakulová, M.; Casanova, J.C.; Renaud, F.; Morand, S.; Hugot, J.P.; Santalla, F.; Durand, P. Genetic and morphological heterogeneity in small rodent whipworms in southwestern Europe: Characterization of *Trichuris muris* and description of *Trichuris arvicolae* n. sp. (Nematoda: Trichuridae). *J. Parasitol.* **2000**, *86*, 442–449. [CrossRef]
36. Mészáros, F. Parasitic Nematodes of *Microtus arvalis* (Rodentia) in Hungary. *Parasitol. Hung.* **1977**, *10*, 67–83.
37. Rossin, A.; Malizia, A.I.; Denegri, G.M. The role of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae) in the life cycle of *Taenia taeniaeformis* (Cestoda: Taeniidae) in urban environments. *Vet. Parasitol.* **2004**, *122*, 27–33. [CrossRef] [PubMed]
38. Haukisalmi, V.; Wickström, L.M.; Henttonen, H.; Hantula, J.; Gubányi, A. Molecular and morphological evidence for multiple species within *Paranoplocephala omphalodes* (Cestoda, Anoplocephalidae) in *Microtus* voles (Arvicolinae). *Zool. Scr.* **2004**, *33*, 277–290. [CrossRef]
39. Deter, J.; Chaval, Y.; Galán, M.; Berthier, K.; Salvador, A.R.; Casanova Garcia, J.C.; Morand, S.; Cosson, J.F.; Charbonnel, N. Linking demography and host dispersal to *Trichuris arvicolae* distribution in a cyclic vole species. *Int. J. Parasitol.* **2007**, *37*, 813–824. [CrossRef]
40. Callejón, R.; De Rojas, M.; Feliu, C.; Balao, F.; Marrugal, Á.; Henttonen, H.; Guevara, D.; Cutillas, C. Phylogeography of *Trichuris* populations isolated from different Cricetidae rodents. *Parasitology* **2012**, *139*, 1795–1812. [CrossRef] [PubMed]
41. Torres, J. Sobre las Helmintofaunas de las Especies de Insectívoros y Roedores del Delta del Ebro (NE de la Península Ibérica). Ph.D. Thesis, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, 1988.
42. Janova, E.; Skoric, M.; Heroldova, M.; Tenora, F.; Fictum, P.; Pavlik, I. Determinants of the prevalence of *Heligmosomum costellatum* (Heligmosomidae: Trichostrongyloidea) in a common vole population in southern Moravia, Czech Republic. *J. Helminthol.* **2010**, *84*, 410–414. [CrossRef]
43. Feliu, C.; Torres, J.; Miquel, J.; Gisbert, J.; Garcia-Perea, R. Helmintofauna of *Microtus (Microtus) cabrerae* (Thomas, 1906) (Rodentia: Arvicolidae) in the Iberian Peninsula: Faunistic and ecological considerations. *Ann. Parasit. Hum. Comp.* **1991**, *66*, 121–125. [CrossRef]
44. Feliu, C.; Torres, J.; Casanova, J.C.; Miquel, J. Consideraciones sobre el binomio helmintofauna-modo de vida de los roedores ibéricos. In *In Memoriam al Profesor Doctor D.F. de Martínez Gómez*; Hernández Rodríguez, S., Ed.; Universidad de Córdoba: Córdoba, Spain, 1992; pp. 351–366.
45. Diamond, J.M. The islands dilemma: Lessons of modern biogeographic studies for the design of natural reserves. *Biol. Conserv.* **1975**, *7*, 129–146. [CrossRef]
46. Somoano, A.; Bastos-Silveira, C.; Ventura, J.; Miñarro, M.; Heckel, G. Bocage landscape restricts the gene flow of pest vole populations. Manuscript in preparation.
47. Dobson, A.P. The population biology of parasite induced changes in host behaviour. *Q. Rev. Biol.* **1988**, *63*, 139–165. [CrossRef] [PubMed]

48. Dobson, A.P.; Hudson, P.J. Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trychostrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. *J. Anim. Ecol.* **1992**, *61*, 487–498. [CrossRef]
49. Shaw, D.J.; Dobson, A.P. Patterns of microparasite abundance and aggregation in wildlife populations: A quantitative review. *Parasitology* **1995**, *111*, S111–S133. [CrossRef]
50. Wilson, K.; Bjørnstad, O.N.; Dobson, A.P.; Merler, S.; Poglayen, G.; Randolph, S.E.; Read, A.F.; Skorping, A. Heterogeneities in macroparasite infections: Patterns and processes. In *The Ecology of Wildlife Diseases*; Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H., Dobson, A.P., Eds.; Oxford University Press: Oxford, UK, 2001; pp. 6–44.
51. Morand, S.; Krasnov, B. Why apply ecological laws to epidemiology? *Trends Parasitol.* **2008**, *24*, 304–309. [CrossRef]
52. Theis, J.H.; Schwab, R.G. Seasonal prevalence of *Taenia taeniaeformis*: Relationship to age, sex, reproduction and abundance of an intermediate host (*Peromyscus maniculatus*). *J. Wildl. Dis.* **1992**, *28*, 42–50. [CrossRef] [PubMed]
53. Hudson, P.J.; Cattadori, I.M.; Boag, B.; Dobson, A.B. Climate disruption and parasite-host dynamics: Patterns and processes associated with warming and the frequency of extreme climatic events. *J. Helminthol.* **2006**, *80*, 175–182. [CrossRef] [PubMed]
54. Elton, C.; Ford, E.B.; Baker, J.R.; Gardiner, A.D. The health and parasites of a wild mouse population. *Proc. Zool. Soc. Lond.* **1931**, *1931*, 453–466. [CrossRef]
55. Kisielewska, K. Intestinal helminths as indicatory of the age structure of *Microtus arvalis* Pallas, 1778 population. *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.* **1971**, *19*, 275–282.
56. Montgomery, S.S.J.; Montgomery, W.I. Spatial and temporal variation in the infracommunity structure of helminths of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae). *Parasitology* **1989**, *98*, 145–150. [CrossRef] [PubMed]
57. Gregory, R.D. On the interpretation of host-parasite ecology: *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in the wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations. *J. Zool.* **1992**, *226*, 109–121. [CrossRef]
58. Gregory, R.D.; Montgomery, S.S.J.; Montgomery, W.I. Population biology of *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda) in the wood mouse. *J. Anim. Ecol.* **1992**, *61*, 749–757. [CrossRef]
59. Behnke, J.M.; Lewis, J.W.; Mohd Zain, S.N.; Gibert, F.S. Helminth infections in *Apodemus sylvaticus* in Southern England: Interactive effects of host age, sex and year on the prevalence and abundance of infections. *J. Helminthol.* **1999**, *22*, 861–907. [CrossRef]
60. Eira, C.; Torres, J.; Vingada, J.; Miquel, J. Ecological aspects influencing the helminth community of the wood mouse *Apodemus sylvaticus* in Dunas de Mira, Portugal. *Acta Parasitol.* **2006**, *51*, 300–308. [CrossRef]
61. Fuentes, M.V.; Sáez, S.; Trelis, M.; Galán-Puchades, M.T.; Esteban, J.G. The helminth community of the wood mouse, *Apodemus sylvaticus*, in the Sierra Espuña, Murcia, Spain. *J. Helminthol.* **2004**, *78*, 219–223. [CrossRef] [PubMed]
62. Fuentes, M.V.; Sainz-Elipe, S.; Galán-Puchades, M.T. Ecological study of the wood mouse helminth community in a burned Mediterranean ecosystem in regeneration five years after a wildfire. *Acta Parasitol.* **2007**, *52*, 403–413. [CrossRef]
63. Fuentes, M.V.; Sainz-Elipe, S.; Sáez-Durán, S.; Galán-Puchades, M.T. The helminth community of the wood mouse *Apodemus sylvaticus* in a Mediterranean ecosystem in regeneration ten years after a wildfire. *J. Helminthol.* **2010**, *84*, 39–48. [CrossRef]
64. Jackson, J.A.; Friberg, I.M.; Bolch, I.; Lowe, A.; Ralli, C.; Harris, P.D.; Behnke, J.M.; Bradley, J.E. Immunomodulatory parasites and toll-like receptor-mediated tumour necrosis factor alpha responsiveness in wild mammals. *BMC Biol.* **2009**, *7*, 16. [CrossRef] [PubMed]
65. Jackson, J.A.; Hall, A.J.; Friberg, I.M.; Ralli, C.; Lowe, A.; Zawadzka, M.; Turner, A.K.; Stewart, A.; Birtles, R.J.; Paterson, S.; et al. An immunological marker of tolerance to infection in wild rodents. *PLoS Biol.* **2014**, *12*, e1001901. [CrossRef] [PubMed]
66. Friberg, I.M.; Little, S.; Ralli, C.; Lowe, A.; Hall, A.; Jackson, J.A.; Bradley, P.J. Macroparasites at peripheral sites of infection are major and dynamic modifiers of systematic antimicrobial patterns recognition responses. *Mol. Ecol.* **2013**, *22*, 2810–2826. [CrossRef] [PubMed]
67. Sáez-Durán, S.; Debenedetti, A.L.; Sainz-Elipe, S.; Galán-Puchade, M.T.; Fuentes, M.V. The helminth community component species of the wood mouse as biological indicator tags of a ten post-fire-year regeneration process in a Mediterranean ecosystem. *Parasitol. Res.* **2018**, *117*, 2217–2231. [CrossRef] [PubMed]
68. Behnke, J.M.; Rogan, M.T.; Craig, P.S.; Jackson, J.A.; Hide, G. Long-term trends in helminth infections of wood mice (*Apodemus sylvaticus*) from the vicinity of Malhalm Tarn in North Yorkshire, England. *Parasitology* **2021**, *148*, 451–463. [CrossRef]
69. Sanchez, A.; Devevey, G.; Bize, P. Female-biased infection and transmission of the gastrointestinal nematode *Trichuris arvalis* infecting the common vole, *Microtus arvalis*. *Int. J. Parasitol.* **2011**, *41*, 1397–1402. [CrossRef] [PubMed]
70. Grzybek, M.; Bajer, A.; Bednarska, M.; Al-Sarraf, M.; Behnke-Borowczyk, J.; Harris, P.D.; Price, S.J.; Brown, G.S.; Osborne, S.J.; Siński, E.; et al. Long-term spatiotemporal stability and dynamic changes in helminth infracommunities of bank voles (*Myodes glareolus*) in NE Poland. *Parasitology* **2015**, *142*, 1722–1743. [CrossRef] [PubMed]
71. Milazzo, C.; Di Bella, C.; Casanova, J.C.; Ribas, A.; Cagnin, M. Helminth communities of wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) on the river Avena (Calabria, southern Italy). *Hystrix* **2010**, *21*, 171–176. [CrossRef]
72. Klein, S.L. Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunol.* **2004**, *26*, 247–264. [CrossRef]
73. Krasnov, B.R.; Morand, S.; Hawlena, H.; Khokhlova, I.S.; Shenbrot, G.I. Sex biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia* **2005**, *146*, 209–217. [CrossRef] [PubMed]
74. Krasnov, B.R.; Bordes, F.; Khokhlova, I.S.; Morand, S. Gender-biased parasitism in small mammals: Patterns, mechanisms, consequences. *Mammalia* **2012**, *76*, 1–13. [CrossRef]

75. Bordes, F.; Ponlet, N.; Göuy de Bellocq, J.; Ribas, A.; Krasnov, B.R.; Morand, S. Is there sex-biased resistance and tolerance in Mediterranean wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations facing multiple helminth infections? *Oecologia* **2012**, *170*, 123–135. [CrossRef]
76. Anderson, R.C. *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission*, 2nd ed.; CABI Publishing: Wallingford, UK, 2000.
77. Bajer, A.; Behnke, J.M.; Pawelczyk, A.; Kuliś, K.; Sereda, M.J.; Siński, E. Medium-term temporal stability of the helminth component community in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) from the Mazury Lake District region of Poland. *Parasitology* **2005**, *130*, 213–228. [CrossRef] [PubMed]
78. Arneberg, P.; Shorping, A.; Grenfell, B.; Read, A.F. Host-densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proc. R. Soc. Lond. B* **1998**, *265*, 1283–1289. [CrossRef]
79. Abu-Madi, M.A.; Behnke, J.M.; Lewis, J.W.; Gilbert, F.S. Seasonal and site variation community structure of intestinal helminths in *Apodemus sylvaticus* from three contrasting habitats in south-east England. *J. Helminthol.* **2000**, *74*, 7–15. [CrossRef] [PubMed]
80. Behnke, J.M.; Bajer, A.; Harris, P.D.; Newington, L.; Pidgeon, E.; Rowlands, G.; Sheriff, C.; Kuliś-Malkowska, K.; Siński, E.; Gilbert, F.S.; et al. Temporal and between-side variation in helminth communities of bank voles (*Myodes glareolus*) from N.E. Poland. 1. Regional fauna and component community levels. *Parasitology* **2008**, *135*, 985–997. [CrossRef] [PubMed]
81. Gulland, F.M.D. The impact of infectious diseases on wild animal populations: A review. In *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*; Grenfell, B.T., Dobson, A.P., Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1995; pp. 20–51.
82. Albon, S.D.; Stein, A.; Irvine, R.J.; Langvatn, R.; Ropstad, E.; Halvorsen, O. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proc. R. Soc. Lond. B* **2002**, *269*, 1625–1632. [CrossRef] [PubMed]
83. Hudson, P.J.; Rizzoli, A.; Grenfell, B.T.; Heesterbeek, H.; Dobson, A.P. *The Ecology of Wildlife Diseases*; Oxford University Press: Oxford, UK, 2002.
84. Stien, A.; Irvine, R.J.; Langvatn, R.; Ropstad, E.; Halvorsen, O.; Albon, S.D. The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: Experimental and cross-sectional studies. *J. Anim. Ecol.* **2002**, *71*, 937–945. [CrossRef]
85. Newey, S.; Thirgood, S.J. Parasite-mediated reduction in fecundity of mountain hares. *Proc. R. Soc. Lond. B* **2004**, *271*, S413–S415. [CrossRef]
86. Grenfell, B.; Wilson, K.; Finkenstädt, B.F.; Coulson, T.N.; Murray, S.; Albon, S.D.; Pemberton, J.M.; Clutton-Brock, T.H.; Crawley, M.J. Noise and determinism in synchronised sheep dynamics. *Nature* **1998**, *394*, 674–677. [CrossRef]
87. Redpath, S.M.; Mougeot, F.; Leckie, F.L.; Elston, D.A.; Hudson, P.J. Testing the role of parasites in driving the cyclic population dynamics of a gamebird. *Ecol. Lett.* **2006**, *9*, 410–418. [CrossRef] [PubMed]
88. Deter, J.; Cosson, J.F.; Chaval, Y.; Charbonnel, N.; Morand, S. The intestinal nematode *Trichuris arvicolae* affects the fecundity of its host, the common vole *Microtus arvalis*. *Parasitol. Res.* **2007**, *101*, 1161–1164. [CrossRef]
89. Deter, J.; Charbonnel, N.; Cosson, J.F.; Morand, S. Regulation of vole populations by the nematode *Trichuris arvicolae*: Insights from modelling. *Eur. J. Wildl. Res.* **2008**, *54*, 60–70. [CrossRef]
90. Mair, I.; Else, K.J.; Forman, R. *Trichuris muris* as a tool for holistic discovery research: From translational research to environmental bio-tagging. *Parasitology* **2021**, 1–13. [CrossRef]
91. Lõhmus, M.; Moalem, S.; Björklund, M. Leptin, a tool of parasites? *Biol. Lett.* **2012**, *8*, 849–852. [CrossRef] [PubMed]
92. Krebs, J.R.; Kacelnik, A. Decision-making. In *Behavioural Ecology and Evolutionary Approach*; Krebs, J.R., Davies, N.B., Eds.; Blackwell Scientific: Oxford, UK, 1991; pp. 105–136.
93. Lhmus, M.; Sundström, L.F. Leptin and social environment influence the risk-taking and feeding behaviour of Asian blue quail. *Anim. Behav.* **2004**, *68*, 607–612. [CrossRef]





RESUMEN

Se realiza un estudio multidisciplinar relacionado con los helmintos parásitos de *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus* y *Talpa occidentalis*, procedentes de diferentes localidades de Asturias (España). Este estudio consiste en el análisis faunísitico y ecológico de las comunidades de helmintos hallados en cada especie hospedadora, el estudio ecotoxicológico del binomio *T. occidentalis* / *Ityogonimus* spp. y el estudio ultraestructural del espermatozoide de *Ityogonimus ocreatus*.

Se analizaron 815 ejemplares de *A. scherman,* hallándose un total de 6 especies de helmintos, 1 cestodo y 5 nematodos. Las especies fueron *Hydatigera taeniaeformis* larvae, *Aonchotheca wioletti*, *Eucoleus bacillatus*, *Trichuris arvicolae*, *Carolinensis minutus* y *Syphacia nigeriana*. De todas ellas, únicamente las 4 especies más prevalentes (*H. taeniaeformis* larvae*, T. arvicolae*, *C. minutus* y *S. nigeriana*) se consideraron para el estudio ecológico. Las prevalencias, los valores de la riqueza de especies y los índices de diversidad calculados fueron bajos. Los factores analizados para el estudio ecológico fueron la edad y el sexo del hospedador y la estación y el año de captura. *Hydatigera taeniaeformis* larvae, *T. arvicolae* y *C. minutus* únicamente se vieron influenciadas por la edad del hospedador, mientras que *S. nigeriana* lo estuvo por la edad del hospedador y por el año y la estación de captura.

Los ejemplares analizados de *M. lusitanicus* fueron 710 y se hallaron 8 especies de helmintos parásitos, 4 cestodos (larva cisticercoide, *H. taeniaeformis* larvae, *Paranoplocephala omphalodes* y *Kontrimavichusia asymmetrica*) y 4 nematodos (*T. arvicolae*, *C. minutus, Heligmosomum costellatum* y *S. nigeriana*). Las prevalencias de las especies halladas, así como los valores de riqueza de especies y los índices de diversidad calculados fueron bajos. Se analizaron los mismos factores que en *M. lusitanicus* para el estudio ecológico con las especies más prevalentes (*H. taeniformis* larvae, *T. arvicolae, C. minutus, H. costellatum* y *S. nigeriana*). *Hydatigera taeniaeformis* larvae y *T. arvicolae* se vieron influenciadas por la edad del hospedador, *C. minutus* por la edad del hospedador y por el año y la estación de captura y *S. nigeriana* por la estación y el año de captura.

De *T. occidentalis* se analizaron 104 ejemplares, hallándose un total de 10 especies: 2 trematodos (*Ityogonimus lorum* e *Ityogonimus ocreatus*), 6 nematodos (*Capillaria talpae*, *Liniscus incrasatus*, *Trichuris feliui*, *Tricholinstowia* sp., *Spirura talpae* y *Porrocaecum* sp. larvae) y 2 acantocéfalos (*Monliliformis* sp. y *Plagiorhynchus* sp. larvae). Las prevalencias obtenidas, así como los valores de riqueza de especies y los índices de diversidad fueron bajos. Para el estudio ecológico se analizaron los mismos factores que en los hospedadores anteriores con las especies más prevalentes (*Ityogonimus* spp., *C. talpae* y *L. incrasatus*). No se hallaron influencias de dichos factores sobre las especies.

El estudio ecotoxicológico consistió en analizar las concentraciones de 3 metales pesados: mercurio, plomo y cadmio en muestras de tejidos de *T. occidentalis* y de sus parásitos *Ityogonimus* spp. Los tejidos analizados del hospedador fueron hígado y riñón de ejemplares parasitados y no parasitados por estos digénidos. No se detectaron diferencias significativas entre las concentraciones de estos metales entre las diferentes muestras. Los valores de bioconcentración indican que este binomio es un buen modelo como bioindicador de contaminación por mercurio y plomo.

En cuanto al estudio ultraestructural, el espermatozoide de *I. ocreatus* está formado por 2 axonemas desiguales con la estructura típica 9+'1' de los platelmintos Trepaxonemata, 2 haces de microtúbulos corticales, con un número máximo de 45 microtúbulos, una mitocondria filiforme, ornamentación externa asociada a microtúbulos corticales, cuerpos espinosos y el núcleo. Además, presenta gránulos de glucógeno. La secuencia de desaparición de caracteres hacia el extremo posterior es la siguiente: primer axonema, mitocondria, microtúbulos corticales, núcleo y segundo axonema.

Palabras clave: *Arvicola scherman*, *Microtus lusitanicus*, *Talpa occidentalis*, helmintofauna, ecología parasitaria, ecotoxicología, parasitología ambiental, ultraestructura, espermatozoide, Asturias