



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

**TÍTULO: Registro helmintológico en *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 de la
Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA PRESENTA:**

Dulce Lizeth Witvrun-Labra

Director de Tesis: William Scott Monks Sheets

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO ENERO 2009



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
COORDINACIÓN DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR, UAEH

P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Biología **Dulce Lizeth Witvrun Labra** quien presenta el trabajo recepcional de tesis titulado “Registro helmintológico en *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo”, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE: **Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzún**

PRIMER VOCAL: **Dra. Griselda Pulido Flores**

SEGUNDO VOCAL: **Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark**

TERCER VOCAL: **Dra. Iriana Leticia Zuria Jordan**

SECRETARIO: **Dr. William Scott Monks Sheets**

PRIMER SUPLENTE: **Biol. Jorge Alberto Valdiviezo Rodríguez**

SEGUNDO SUPLENTE: **L. en B. Judith Berenice Alemán García**

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

A T E N T A M E N T E
“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 26 de noviembre de 2008

Biol. Ulises Iturbe Acosta
Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Biología

AGRADECIMIENTOS

De manera muy especial quiero agradecer al director de este trabajo, el Dr. William Scott Monks que dedico tiempo y esfuerzo para la realización de esta tesis. Gracias por su paciencia y por los buenos consejos que siempre tuvo a bien compartir conmigo.

Del mismo modo, quiero extender mi más sincero agradecimiento a la Dra. Griselda Pulido-Flores, quien estuvo al pendiente de mi trabajo, no sólo como parte del comité evaluador del mismo, sino también como parte del equipo de trabajo del Laboratorio de Morfología Animal.

Me es también grato agradecer a los investigadores que formaron parte del comité evaluador de este trabajo al: Dr. Juan Carlos Gaytán-Oyarzún, Dra. Iriana Zuria, Dr. Ignacio Castellanos-Sturemark y M. en C. Jorge Valdiviezo. Les agradezco por la disposición, esfuerzo y dedicación que emplearon para revisar este manuscrito. Gracias por sus comentarios, sugerencias y críticas.

Es también importante extender mi más sincero agradecimiento a las siguientes instituciones y proyectos que me brindaron su apoyo para la realización de este trabajo:

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, casa de estudios que me abrió sus puertas y me ofreció el apoyo para mi formación profesional.

A los directivos y administradores de la Comisión Nacional de Áreas Naturales
Protegidas Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán por su apoyo logístico y al señor
Andrés López por su apoyo en la colecta de los peces.

DEDICATORIA

A mi familia

A mis padres Alfredo Witvrun Rosales y Ma. De la Paz Labra por ser la base de quien soy, por su apoyo incondicional, paciencia, cariño y amor y por siempre creer en mí, gracias los adoro.

A mi hermano Hugo por los sabios consejos que nunca nadie me podía dar como el y sobre todo por aguantarme a mi y a mis locuras todos estos años, por confiar en mi y por el apoyo que siempre puedo encontrar en el y aunque creas que no también te adoro.

A mis amigos:

A Miriam Jiménez y Lorena Baños por todo el tiempo que compartimos juntas, su amistad incondicional y por su apoyo en todo momento. A Alan Reyes, Elvis Hernández y Antonio Álvarez por su amistad, apoyo y buenos momentos porque sin ellos la vida en la universidad hubiera sido aburrida.

A mis compañeros de Laboratorio, Rafa, Berenice, Ernesto y Gisela por haberme apoyado en el trabajo de laboratorio y sobre todo por las platicas buenos momentos que compartí con ustedes.

En general dedico este trabajo a la gente que conocí durante mi estancia en la UAEH y que tuvo una repercusión importante en mi vida.

Índice

Contenido	Páginas
Resumen	2
1. Introducción.....	4
2.- Antecedentes	6
• Estudios realizados en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán.....	7
• El Filo Platyhelminthes	8
• Clase Trematoda.....	8
• <i>Phyllodistomum</i> Braun, 1899	11
• <i>Xiphophorus</i> Heckel, 1848	17
3.- Justificación.....	21
4.- Objetivos	22
• Objetivo general	22
• Objetivos específicos.....	22
5.- Material y métodos.....	23
• Área de estudio	23
• Clima	23
• Hidrología	24
• Colecta del material biológico	26
• Revisión helmintológica	27
• Recolección, fijación y conservación de helmintos parásitos	28
• Medición de helmintos	29
• Parámetros ecológicos utilizados para el cálculo de la caracterización de la infección	32
6.- Resultados	34
• Diagnosis de la subfamilia Phyllodistominae (Nybelin,1926) Yamaguti, 1958 ...	34
• Diagnosis del género <i>Phyllodistomum</i> Braun, 1899	35
• Descripción.....	35

• Comparación con otras especies del género	39
• Caracterización de la infección	41
7.- Discusión.....	42
8.- Conclusión.....	45
9.- Literatura	47
10.- Apéndices	52
• Apéndice I. Especies de <i>Phyllodistomum</i> descritas en el continente Americano..	52
• Apéndice II. Técnicas de tinción de helmintos	54
• Apéndice III. Técnicas de preparación de reactivos	55
• Apéndice IV Preparaciones fijas de los helmintos colectados	57
• Apéndice V. Esquemas de las especies de <i>Phyllodistomum</i>	58

Índice de figuras

Figura	Página
Figura 1. Localización geográfica de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán en el Estado de Hidalgo	6
Figura 2. Ciclo de vida general de Digenea.....	10
Figura 3. Diagrama de la forma general de <i>Phyllodistomum</i> Braun, 1899	13
Figura 4. Fotomicrografía de una preparación total de <i>Phyllodistomum</i> sp.	14
Figura 5. Ciclo de vida típico de una especie de <i>Phyllodistomum</i> de agua dulce.	16
Figura 6. Ejemplares macho y hembra de peces de la especie <i>Xiphophorus helleri</i> Heckel, 1848	18
Figura 7. Fotos de la localidad de colecta	19
Figura 8. Mapa de la distribución de <i>Xiphophorus helleri</i> Heckel, 1848 en México	20
Figura 9. Zonas núcleo de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán y zona de estudio	25
Figura 10. Foto de ejemplar de <i>Xiphophorus helleri</i> Heckel 1848 y de la colecta de peces en la RBBM	27
Figura 11. Datos morfométricos del cuerpo y órganos medidos.....	30
Figura 12. Dibujo de <i>Phyllodistomum</i> sp.	38

Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla I. Especies de helmintos parásitos de <i>Phyllodistomum</i> Braun, 1899 descritos en México	12
Tabla II. Tabla de peces colectados por localidad	26
Tabla III. Tabla de helmintos colectados por año en cada localidad	28
Tabla IV Lista de abreviaturas de los datos morfométricos utilizados	30
Tabla V. Parámetros ecológicos para cada localidad de colecta con peces infectados con <i>Phyllodistomum</i> sp.	41

Resumen

Las especies de helmintos del género *Phyllodistomum* Braun, 1899 se encuentran dentro de la Subclase Digenea, Orden Plagiorchiida, Familia Gorgoderidae Looss 1901. Su distribución es cosmopolita y en estado adulto se encuentran alojados en la vejiga urinaria de animales vertebrados, principalmente peces y anfibios. Hasta la fecha, se han reportado aproximadamente unas 100 especies en el mundo, de las cuales aproximadamente 30 han sido encontrados en Norteamérica en peces de agua dulce, y en México han sido reportadas seis especies, las cuales han sido poco estudiadas. El objetivo del presente trabajo es realizar un estudio morfológico de *Phyllodistomum* sp. colectados de la vejiga urinaria de *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848, de la Reserva de la Biosfera Barranca de Meztitlán y describir a los ejemplares colectados con base en la comparación con otras especies del género *Phyllodistomum*.

La reserva reúne una serie de características sobresalientes, como varios ecosistemas que representan un corredor biológico entre la vegetación neártica de la zona norte del país y la vegetación tropical ubicada en el altiplano central de México y la presencia de corrientes superficiales de agua (ríos) y la Laguna de Metztitlán. En tres años de muestreo del 2003 al 2005 se colectaron 123 peces de la especie *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 mediante la pesca con atarraya en cuatro localidades de la zona núcleo 3 de la reserva, los cuales fueron fijados para su posterior revisión. Sólo se identificó al digenio *Phyllodistomum* sp. en estado adulto infectando principalmente la vejiga urinaria de los hospederos colectados. Con base en el estudio de estos helmintos, sus medidas y sus características, se determinó que ellos no pertenecen a ninguna especie descrita hasta la fecha.

De los peces colectados de cuatro localidades, sólo los de una localidad fueron infectados con esta especie de helminto. Se interpretó esto como evidencia de la falta de movimiento de los peces de una localidad a otra. Por lo cual, es sumamente importante en el manejo de la reserva proteger y conservar cada población porque si los peces de una localidad se pierden será difícil de iniciar otra población natural en el lugar.

Introducción

La Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán (RBBM) es la más grande e importante área natural protegida del estado de Hidalgo. Sin embargo, el número total de especies que habitan la región aún no es conocido y faltan muchos estudios sobre ellas. A la fecha, pocos estudios (Moreno-Flores, 2003, Zárate-Ramírez, 2003, Monks *et al.*, 2005, Pulido-Flores *et al.*, 2005b, Escoria-Ignacio, 2007) se enfocaron en los parásitos de la reserva y la publicación de Monks *et al.* (2005) es la única que se enfocó en los helmintos de peces. El presente trabajo contribuye a la ampliación del listado faunístico de la RBBM, dando a conocer el registro de una especie de helminto parásito, *Phyllodistomum* sp., especie nueva para la ciencia, encontrado en el pez de la especie *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 siendo ambos un nuevo registro para la reserva.

El género *Xiphophorus* fue descrito originalmente por Heckel en 1848, comprende especies de peces con cola en forma de espada y sin espada, pero es más conocido por los peces con cola de espada. Los machos, en su hábitat natural, pueden medir de cinco a seis centímetros de longitud más una espada de hasta tres centímetros. Hay muchos patrones de color; los peces con la cola de espada verde fueron los primeros reconocidos en el siglo XIX y son particularmente bien conocidos (Wischnath, 1993). Los miembros del género habitan principalmente en los sistemas de ríos del Atlántico del norte de México, pero una de las especies, *X.helleri* Heckel, 1848, cuenta con una distribución hasta Honduras y fue introducida en muchos de los sistemas dulceacuícolas del mundo (Wischnath, 1993).

Los tremátodos del género *Phyllodistomum* Braun, 1899 son de distribución cosmopolita y en estado adulto viven en la vejiga urinaria y/o uretra de peces y anfibios (Goodchild, 1943). El género se encuentra dentro de la Subclase Digenea y, se han descrito

aproximadamente 30 especies para peces de agua dulce de Norte América (Hoffman y Williams, 1999; Helt *et al.*, 2003). Son pocas de las que se conocen los ciclos de vida completos pero, en general, utilizan bivalvos como primer hospedero intermedio y en algunos casos un insecto como el segundo hospedero intermediario. La etapa adulta se desarrolla en un vertebrado (Wanson y Larson, 1972).

Las especies mencionadas anteriormente, *Xiphophorus helleri* y *Phyllocladostomum* sp., son el enfoque del presente trabajo en el cual se reportan como nuevos registros para la RBBM y una especie de *Phyllocladostomum* se reporta por primera vez para Hidalgo. Se incluye una descripción taxonómica completa de la misma y una comparación de ésta con otros miembros del género que se han descrito en México. Finalmente, la presencia y la distribución limitada de *Phyllocladostomum* sp. está presentada como justificación para recomendaciones de conservación y protección de las especies nativas de RBBM.

Antecedentes

La Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán fue decretada como Área Natural Protegida con la categoría de reserva de la biosfera en el año 2000. Esta área reúne una serie de características sobresalientes, como varios ecosistemas que representan un corredor biológico entre la vegetación neártica de la zona norte del país y la vegetación tropical ubicada en el altiplano central de México y la presencia de corrientes superficiales de agua (ríos) y la Laguna de Metztitlán. Se localiza al centro este del Estado de Hidalgo (Fig. 1) y está conformada por los municipios de Acatlán, Atotonilco el Grande, Eloxochitlán, Huasca de Ocampo, Metepec, Metztitlán, San Agustín Metzquititlán y Zacualtipán de Ángeles. Se encuentra ubicada en la región hidrológica número 26 del río Pánuco y presenta gradientes altitudinales que van desde los 1000 hasta los 2000 msnm. En ella se encuentra un conjunto de ecosistemas frágiles de zonas áridas que contienen una gran riqueza en flora y fauna silvestre de importancia biológica, científica, económica, social y cultural. La fauna se encuentra representada por diferentes especies de mamíferos, aves, reptiles y anfibios, en este último grupo, la mayoría endémicos de México (Anónimo, 2001).



Figura 1. Localización geográfica de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán en el Estado de Hidalgo

Estudios realizados en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán

Monks et al. (2005) realizaron el primer inventario de la biodiversidad de helmintos en los peces de la Barranca de Metztitlán, reportando seis especies de parásitos (*Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814, Diplostomidae gen. sp., *Posthodiplostomum minimum* MacCallum, 1921, *B.acheilognathi*, *Glossocercus* sp. y *Contracaemum* sp.) en siete especies de peces dulceacuícolas, de las cuales cinco son nativas de la laguna de Metztitlán. Éstos resultados fueron publicados posteriormente como parte de los productos del proyecto “Inventario de las helmintiasis en peces y su riesgo potencial zoonótico en comunidades indígenas de la Reserva de la Biosfera de Barrancas de Metztitlán, Hidalgo”, formando así, el primer estudio parasitológico detallado en el Estado (Monks-Sheets, et al., 2006). En la misma localidad, Gutiérrez-Cabrera (2004) y Gutiérrez-Cabrera et al. (2005) reportaron la presencia del céstodo *B.acheilognathi* en ocho especies de peces nativos e introducidos en Río Venados/Metztitlán y Laguna de Metztitlán. Los autores demostraron que la mayor prevalencia de este céstodo se presenta en peces nativos, como es el caso de *Chirostoma jordani* Woolman, 1894. Finalmente, Salgado-Maldonado (2006) publicó un listado de helmintos parásitos de peces mexicanos, en este trabajo, él registró 25 parásitos en 26 especies de peces del estado de algunas recolectas esporádicas.

El Filo Platyhelminthes

El filo Platyhelminthes incluye cerca de 20,000 especies, las cuales tienen simetría bilateral y un extremo anterior definido con sensores asociados y elementos de nervios motores. Los miembros del filo son triploblásticos, acelomados y se les denomina “gusanos planos” porque están aplanados en el eje dorsoventral. Típicamente los platelmintos tienen la forma general de una hoja oval, pero algunos son extremadamente alargados. Los platelmintos muestran una gran variedad de formas y son habitantes exitosos de una amplia gama de ambientes. Algunas especies son de vida libre y otros son parásitos, cuyos ciclos de vida incluyen una o dos especies diferentes, ocasionalmente más de dos hospederos intermediarios, incluyendo un invertebrado y generalmente, un vertebrado como hospedero definitivo que alberga al adulto. El filo comprende las Clases Turbellaria, Trematoda, Monogenea y Eucestoda (Roberts y Janovy, 2005; Schmidt y Roberts, 1985).

Clase Trematoda

La Clase Trematoda comprende a las subclases Aspidogastrea y Digenea, las cuales tienen el cuerpo cubierto por un tegumento y presentan una o dos ventosas. Ellos utilizan dos o tres especies de hospederos durante el ciclo de vida, y la mayoría son endoparásitos. Los miembros de Digenea presentan un ciclo de vida indirecto mediante una o dos especies de hospederos intermediarios que son moluscos, y su hospedero definitivo generalmente es un vertebrado. Los adultos poseen una ventosa oral y una ventral (acetáculo), las cuales son provistas con células de glándulas adhesivas. Como adultos, se encuentran parasitando toda clase de vertebrados, especialmente peces, alojándose en varios órganos de su cuerpo. Sin embargo, también parasitan vertebrados terrestres, aves, mamíferos marinos y al hombre. A pesar de que su desarrollo ocurre en al menos dos hospederos, muchas especies incluyen un

segundo o hasta un tercer hospedero intermediario en sus ciclos de vida. A veces, este segundo hospedero intermediario es otra especie de molusco, pero también puede involucrar insectos y/o peces (Roberts y Janovy, 2005).

El ciclo de vida (Fig. 2) inicia mediante una larva ciliada libre nadadora (el miracidio) que emerge del huevo y penetra en el primer hospedero intermediario, el caracol. Dentro del caracol el miracidio se desarrolla en forma de esporocisto, y dentro de éste un número de embriones se desarrollan asexualmente para originar a la redia u otra etapa, esta forma es algo más diferenciada que el esporocisto al poseer, por ejemplo una faringe y un intestino, ninguno de los cuales estaba presente en el miracidio o el esporocisto.

Embriones adicionales se desarrollan asexualmente dentro de la redia y éstos se convierten en cercarias. La cercaria emerge del caracol y algunas especies tienen una cola para ayudarse a nadar. Aunque muchas especies requieren de más desarrollo como las que cuentan con metacercarias antes de ser infectivos para el hospedero definitivo, la cercaria es propiamente considerada como un juvenil porque tienen órganos que se desarrollan en los adultos, por ejemplo, un tracto digestivo simple, ventosas y los genitales están a menudo presentes. El desarrollo completo enquistado de la metacercaria, cuando está presente en el ciclo de vida resulta en una etapa infectiva más desarrollada que la cercaria, y ésta es infectiva para el hospedero definitivo. En el hospedero final se desarrolla un tremátodo adulto que como hermafrodita, en la mayoría de los casos, se reproduce de manera asexual para producir huevos. Sin embargo, los digeneos evolucionaron una gran amplitud de variaciones para asegurar el éxito de su ciclo de vida (Roberts y Janovy, 2005).

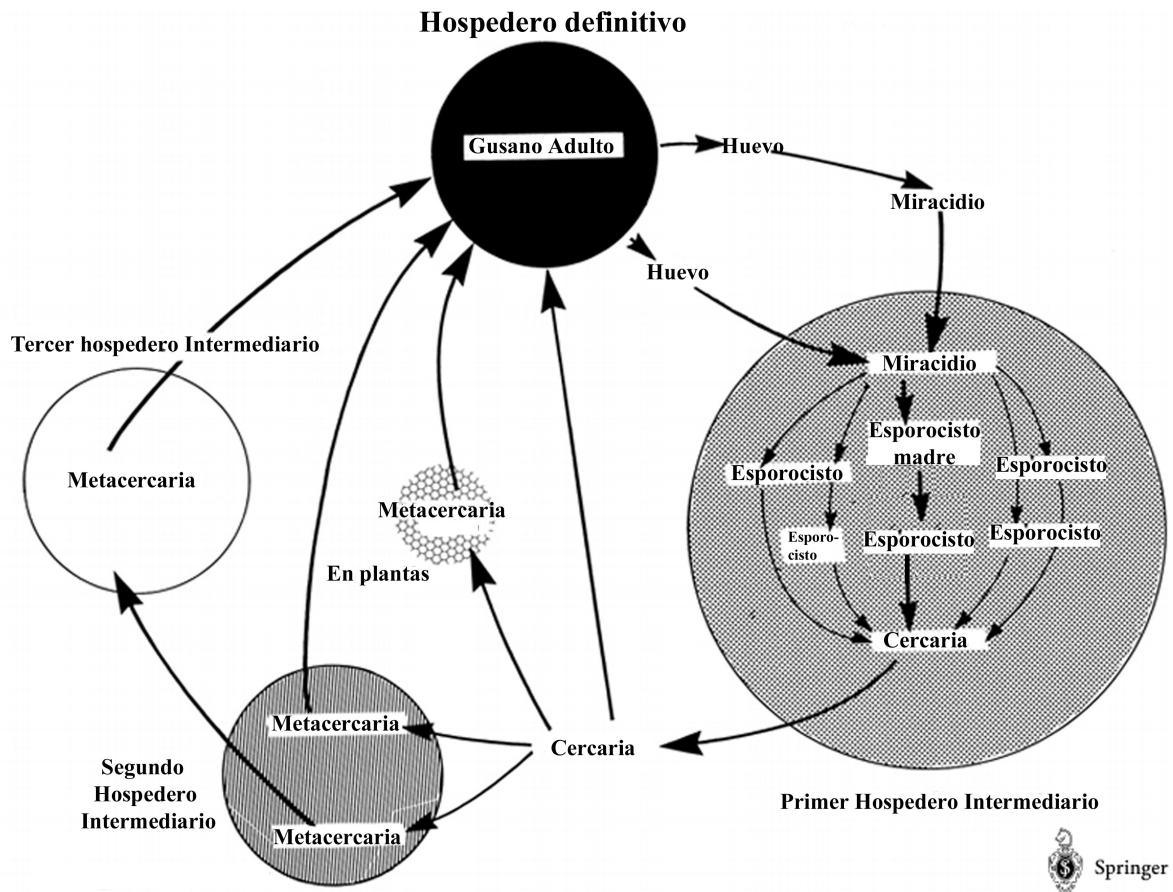


Figura 2. Ciclo de vida general de Digenea
[\(<http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006>\)](http://www.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2006)



La definición de un parásito incluye el aspecto de daño y costo metabólico a su hospedero; sin embargo, éstos pueden no ser tan obvios o fáciles de medir. Varias especies causan pérdidas económicas a la sociedad, a través de infecciones a animales domésticos y otros que son parásitos de humanos médicalemente importantes (Roberts y Janovy, 2005). Sin embargo, la infección con parásitos adultos en la mayoría de las especies no causan la muerte de su hospedero, excepto en casos excepcionales de infección con un número elevado de individuos.

***Phyllodistomum* Braun, 1899**

Las especies del género *Phyllodistomum* Braun, 1899 se encuentran dentro de la Subclase Digenea, Orden Plagiorchiida, Familia Gorgoderidae Looss 1901. Su distribución es cosmopolita y en estado adulto se encuentran alojados en la vejiga urinaria de animales vertebrados, principalmente peces y anfibios. El género fue propuesto por Braun, 1899 más tarde Pigulevskii, (1953), dividió al género en cuatro subgéneros basándose en la forma del cuerpo y las vitelógenas. Yamaguti, (1971) consideró que las diferencias encontradas en los subgéneros no eran claras, por lo cual consideró que dichas diferencias en la forma del cuerpo pueden cambiar debido a las técnicas de tinción que sean utilizadas, por lo que él no apoyó las subdivisiones. Hasta la fecha, se han reportado aproximadamente unas 100 especies en el mundo, de las cuales aproximadamente 30 han sido encontradas en Norteamérica en peces de agua dulce (Apéndice I). En México han sido reportadas seis especies, las cuales han sido poco estudiadas (Tabla I).

Los miembros del género *Phyllodistomum* (Fig. 3) se caracterizan por carecer de faringe y prefaringe y por presentar el acetáculo entre las dos regiones distintas del cuerpo (Yamaguti, 1971). Las especies tienen la parte anterior del cuerpo aplanada y angosta y la parte posterior del cuerpo es más ancha y puede tener un margen foliado y, más o menos, crenulado. La ventosa oral es anteroterminal con una abertura oral que es ventroterminal. Estos organismos no poseen una faringe, presentan una bifurcación cecal la cual puede ser algo sinuosa y termina cerca del extremo posterior. Ellos tienen un acetáculo preecuatorial de pequeño a mediano tamaño y presentan una vesícula excretoria que es tubular. Los testículos son intercecales (localizados en la región entre los dos ciegos), pueden estar posicionados en manera diagonal o simétricos y son extendidos en la parte más posterior del cuerpo. La vesícula seminal tiene forma de un saco y no hay una bolsa del cirro. El poro genital es

postbifurcal, es decir, localizado posterior a la bifurcación de los ciegos. El ovario es submediano (posterior al medio del cuerpo) y pretesticular (anterior a los testículos) y no presentan un receptáculo seminal.

La vitelaria se compone de estructuras glandulares que producen la “yema” de los huevos, es compacta o lobulada y se encuentra en par detrás del acetáculo. El útero ocupa la mayor parte posterior del cuerpo y se extiende en el espacio extracecal. Los huevos están embrionados. Los adultos son parásitos de la vejiga urinaria de peces de agua dulce, peces marinos y anfibios (Yamaguti, 1971) (Fig. 4).

Tabla I. Especies de *PhylloDISTOMUM* Braun, 1899 descritos en México

Especie	Autor	Hospedero	Tipo de Hospedero	Hábitat	Localidad
<i>P. carangis</i>	Manter, 1947	<i>Citula dorsalis</i>	P	V	Islas Marias, Nay.
	Winter, 1957	<i>Caranx ruber</i>	P		Mazatlán, Sin.
<i>P. lacustri</i>	(Loewen, 1929)	<i>Gobiomorus dormitor</i>	P	G	Río Tecolutla, Ver.
	Lewis, 1935			V	
	Lamothe, 1987	<i>Ictalurus dugesi</i>	P	I	Lago de Chapala, Jal.
<i>P. mirandai</i>	Lamothe, 1969	<i>Sphoeroides annulatus</i>	P	V	Salina Cruz, Oax.
<i>P. rhyacosiredonis</i>	Bravo-Hollis, 1943	<i>Rhyacosiredon altamirani</i>	S	V	Cd. de México
<i>P. marinae</i>	Bravo-Hollis y Manter, 1957	<i>Mycteroptera pardalis</i>	P	V	?
<i>P. centropomi</i>	Mendoza-Garfías y Perez-Ponce de León, 2005	<i>centropomus parallelus</i>	P	V	Río Papaloapan, Ver.

V = vejiga urinaria, G = gónadas, I = intestino, P = pez, S = salamandra.

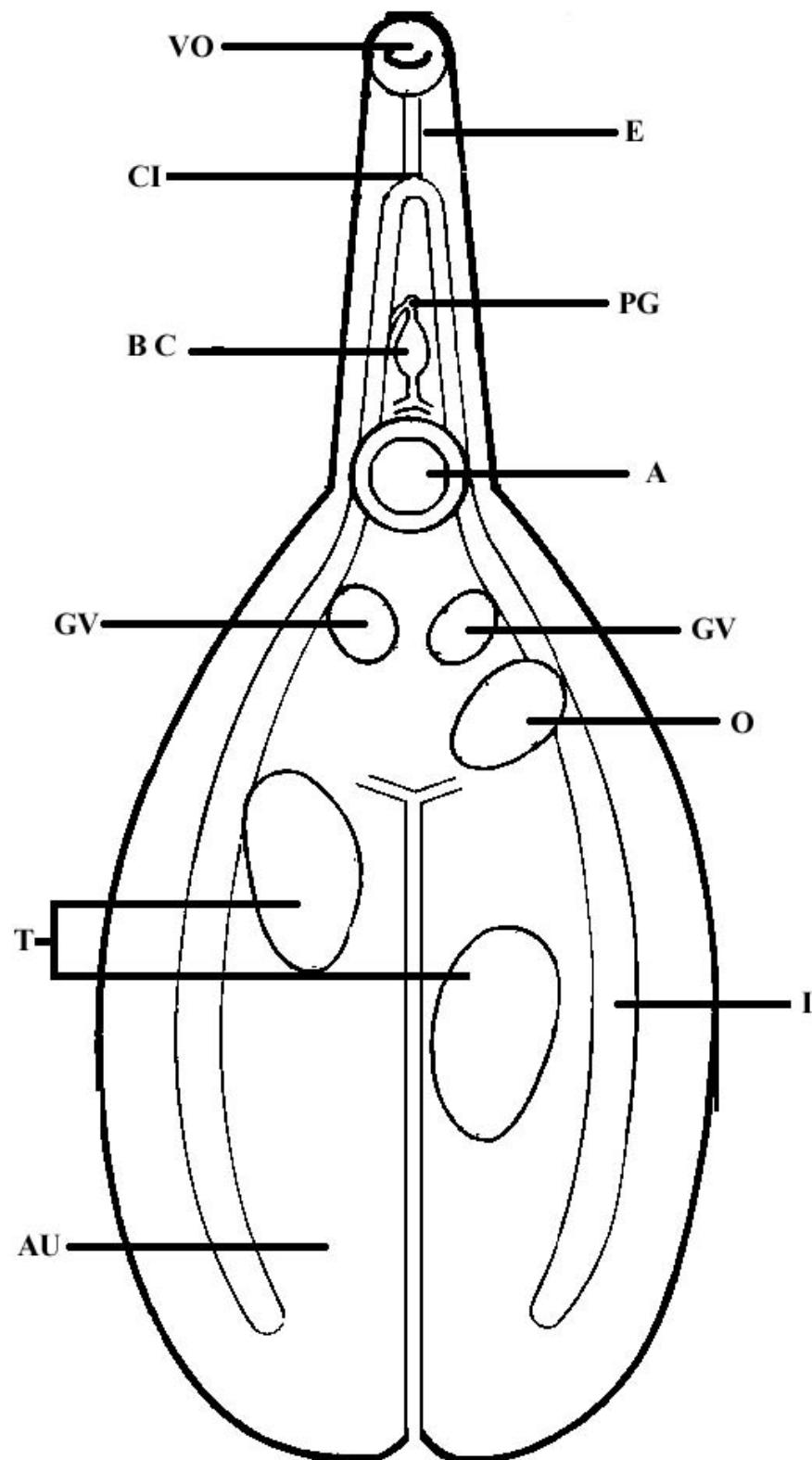


Figura 3. Diagrama de la forma general de *Phyllobothrium* Braun, 1899. VO = Ventosa oral, E = Esófago, CI = Ciego intestinal, PG = Poro genital, BC = Bolsa del cirro, I = Intestino, A = Acetábulo, O = Ovario, GV = Glándula vitelógena, T = Testículos, AU = Área del útero.

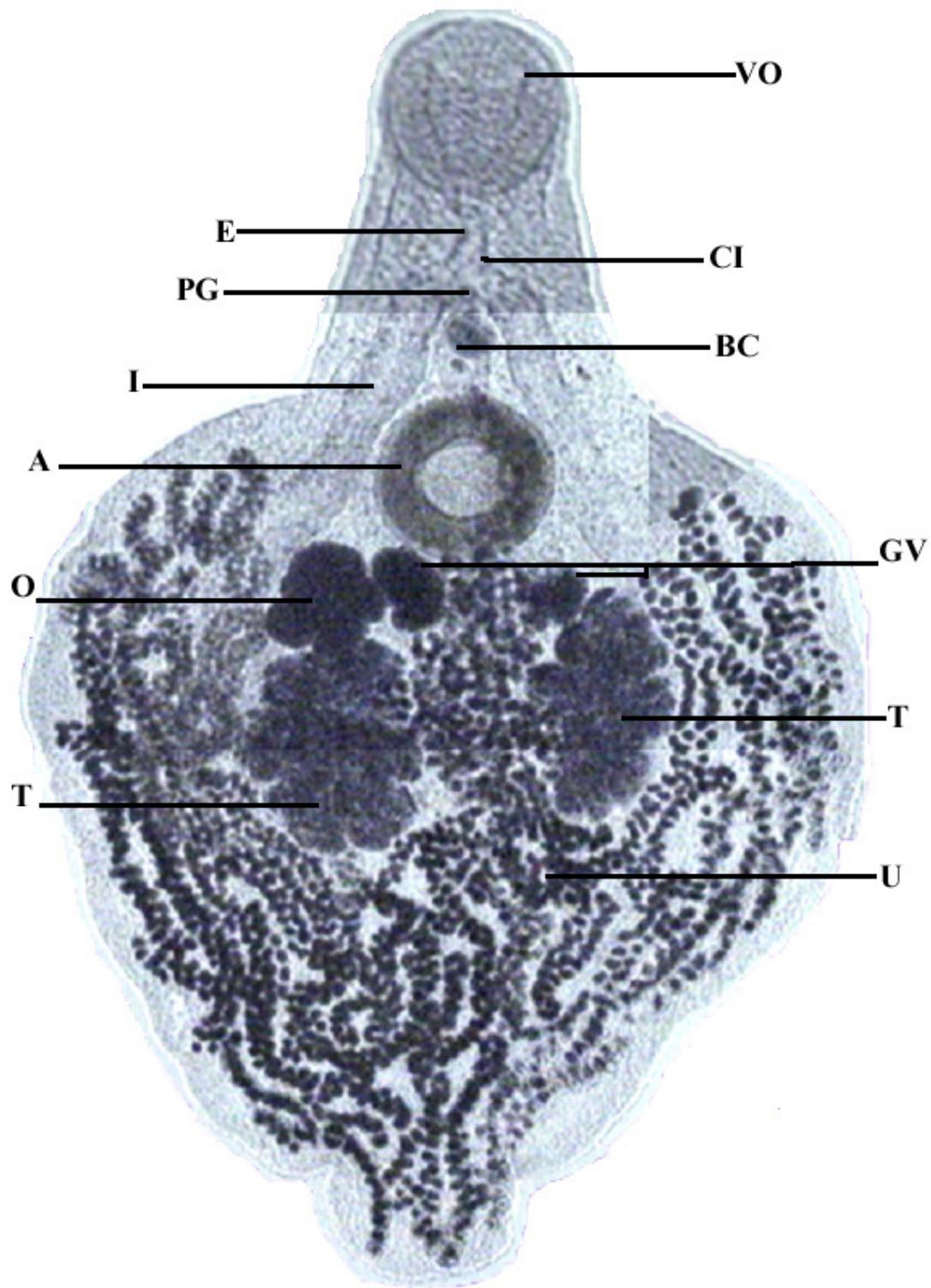


Figura 4. Fotomicrografía de una preparación total de *Phyllodistomum* sp. Vista ventral. VO = Ventosa oral, E = Esófago, CI = Ciego intestinal, PG = Poro genital, BC = Bolsa del cirro, I = Intestino, A = Acetáculo, O = Ovario, GV = Glándula vitelógena, T = Testículos, AU = Área del útero.

Para las especies de *Phyllodistomum* Braun 1899, el ciclo de vida (Fig. 5) se lleva a cabo de forma indirecta, ya que necesita de dos o más hospederos para llevar a cabo todas las etapas de desarrollo. En el primer hospedero intermediario se llevan a cabo las etapas asexuales y posteriormente se libera un estado de transferencia, en el cual el parásito se encuentra en su etapa de cercaria, el hospedero definitivo es un vertebrado en el cual se lleva a cabo la etapa sexual del parásito (Goodchild, 1943).

Han sido reportados dos ciclos de vida completos y otros incompletos para los miembros de este género. Uno de los ciclos de vida completos bien estudiados es el de *Phyllodistomum solidum* Rankin, 1937. La etapa de miracidio se encuentra dentro de los huevos maduros en el metatremo del útero del parásito. Cuando el parásito es sexualmente maduro los huevos pasan a través del poro genital y salen con la orina del pez. El miracidio emerge del huevo inmediatamente en el agua para buscar su hospedero intermediario. El miracidio, después de introducirse en la cavidad del manto del bivalvo que utiliza como primer hospedero, penetra en las branquias y se desarrolla un esporocisto madre dando origen a esporocistos hijas que se alojan en el exterior de las branquias. Dentro de la esporicosta hija las cercarias se desarrollan. Las cercarias salen de la esporista hija y penetran en las células glandulares del segundo hospedero intermediario, en el cual se enquistan para pasar un tiempo de desarrollo al estado infectivo de metacercaria. Las metacercarias se ubican encapsuladas en un quiste en las gónadas del segundo hospedero intermediario, que en este estudio fueron larvas de odonatos, el cual cuando es ingerido por el hospedero definitivo que es un vertebrado, se desenquista en el intestino de dicho hospedero y se desarrolla la etapa adulta. Ya en la etapa adulta en el hospedero definitivo el tiempo necesario de *Phyllodistomum solidum* Rankin, 1937 para alcanzar la madurez sexual está relacionado con el tiempo que la

metacercaria pasó en el segundo hospedero intermediario. Todo el desarrollo del cuerpo del parásito tiene lugar en la región postacetabular. Esta región incrementa en largo y ancho (Goodchild, 1943).

Según el estudio antes mencionado, las metacercarias han sido encontradas en crustáceos aunque existen excepciones como *P. loherenzi* Loewen 1935 y *P. straffordii* Pearse, 1924 que se enquistan en larvas de tricópteros. Otra excepción es *P. dogielii* Pigulewsky, 1953 que se desarrolla de forma indirecta en el esporocisto abreviando su ciclo de vida. Las cercarias correspondientes al género *Phyllodistomum* se desarrollan a partir de esporocistos, principalmente en moluscos bivalvos (Lunaschi y Martorelli, 1990).

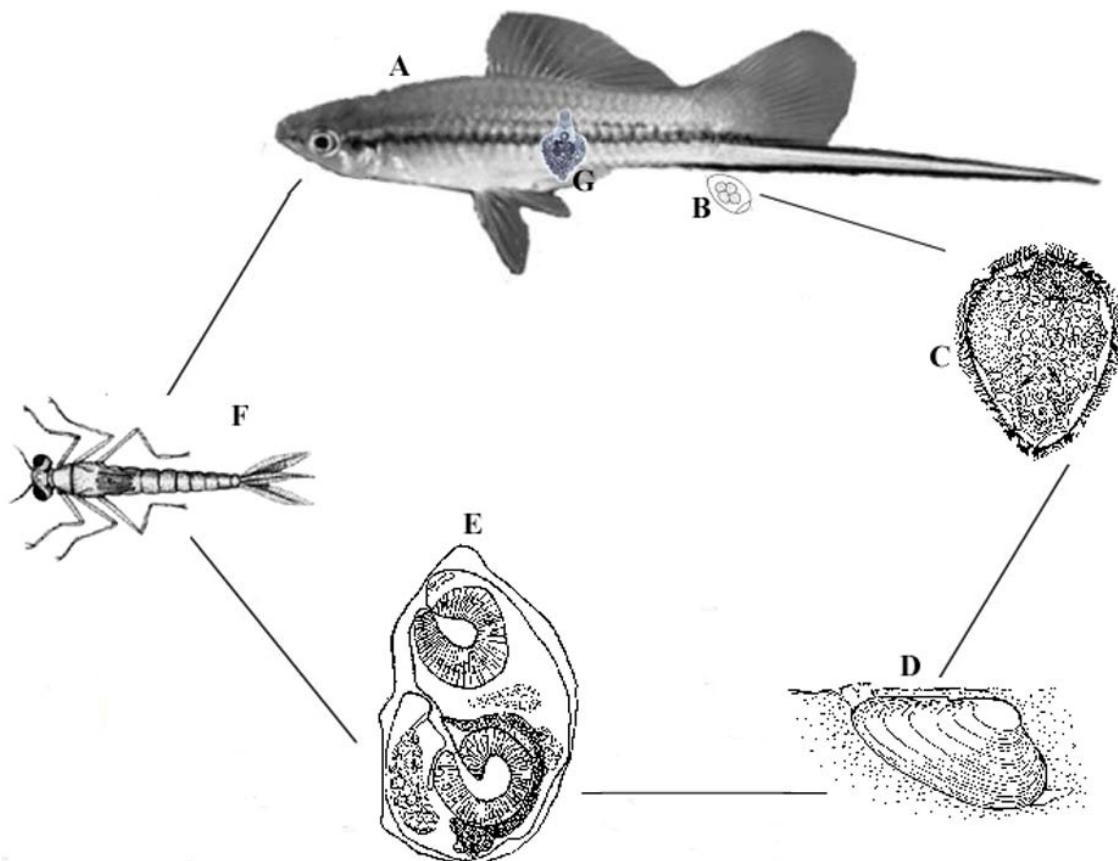


Figura 5. Ciclo de vida típico de una especie de *Phyllodistomum* de agua dulce.
A = Hospedero definitivo, *Xiphophorus* sp.; B = Huevo; C = Miracidio, D = Primer hospedero intermediario E = Cercaria, F = Segundo hospedero intermediario G = Etapa adulta de *Phyllodistomum*

***Xiphophorus* Heckel, 1848**

Los peces son el grupo de vertebrados más abundante del planeta, son acuáticos, de sangre fría (no pueden directamente regular la temperatura de su cuerpo), respiran por medio de branquias y se desplazan mediante aletas. Además, son el grupo de vertebrados más diversos en cuanto a número de especies. La familia Poeciliidae Garman, 1895 pertenece al grupo de los peces óseos y está compuesta por peces en los cuales la aleta caudal de los machos está modificada en un órgano copulatorio, conocido como gonopodio (Wischnath, 1993).

El género *Xiphophorus*, miembro de la familia Poeciliidae, es comúnmente conocido como pez con cola de espada y se encuentra frecuentemente en tiendas de mascotas. Las especies que pertenecen a este género pueden ser identificadas debido a que los ejemplares masculinos presentan una elongación en la parte baja (ventral) de su aleta caudal con forma de espada (Fig. 6). La “espada” está formada por una extensión de los rayos de la parte inferior de su cola y puede alcanzar una longitud casi igual a la del resto de su cuerpo en algunas especies.

Sin embargo, no todos cuentan con una espada tan larga. En cuanto a su género, se encuentran 21 especies con algunas variedades en la forma de la espada cada una. Un carácter importante, para distinguir entre las especies es la forma y longitud de la espada (Rosen, 1960, Rauchenberger *et al.*, 1990. , Marcus y McCune, 1999; Morris *et al.*, 2001). La especie hospedero en este estudio es identificada “tentativamente” como *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848, ya que en apariencia general se parece mucho a *X. helleri*, pero los ejemplares de la RBBM tienen un color más azul que los del sureste de México, que son de color más verde y no es conocida formalmente en Hidalgo. Hay otras regiones en donde se encuentran las especies de un clado (especies del norte), clado hermano de las especies del sur. Sin embargo,

debido al conocimiento escaso de las distribuciones actuales de los miembros de *Xiphophorus*, tentativamente asignamos los peces que se encuentran en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán a *X. helleri* mientras se terminan los estudios moleculares para verificar su identidad. En el resto de este documento, se refiere a estos peces de *Xiphophorus* de la reserva como *X. helleri* Heckel, 1848. El hábitat de *X. helleri* es en sectores acuáticos con agua limpia y de abundante vegetación preferentemente (Fig. 7).



Figura 6. Ejemplares macho y hembra de peces de la especie *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848



Figura 7. Fotos de la localidad de colecta

La distribución de *X. helleri* (Fig. 8), como está reportada en la literatura, va desde el Río Nautla en Veracruz hasta Belice y Honduras, en las corrientes de los ríos principalmente.

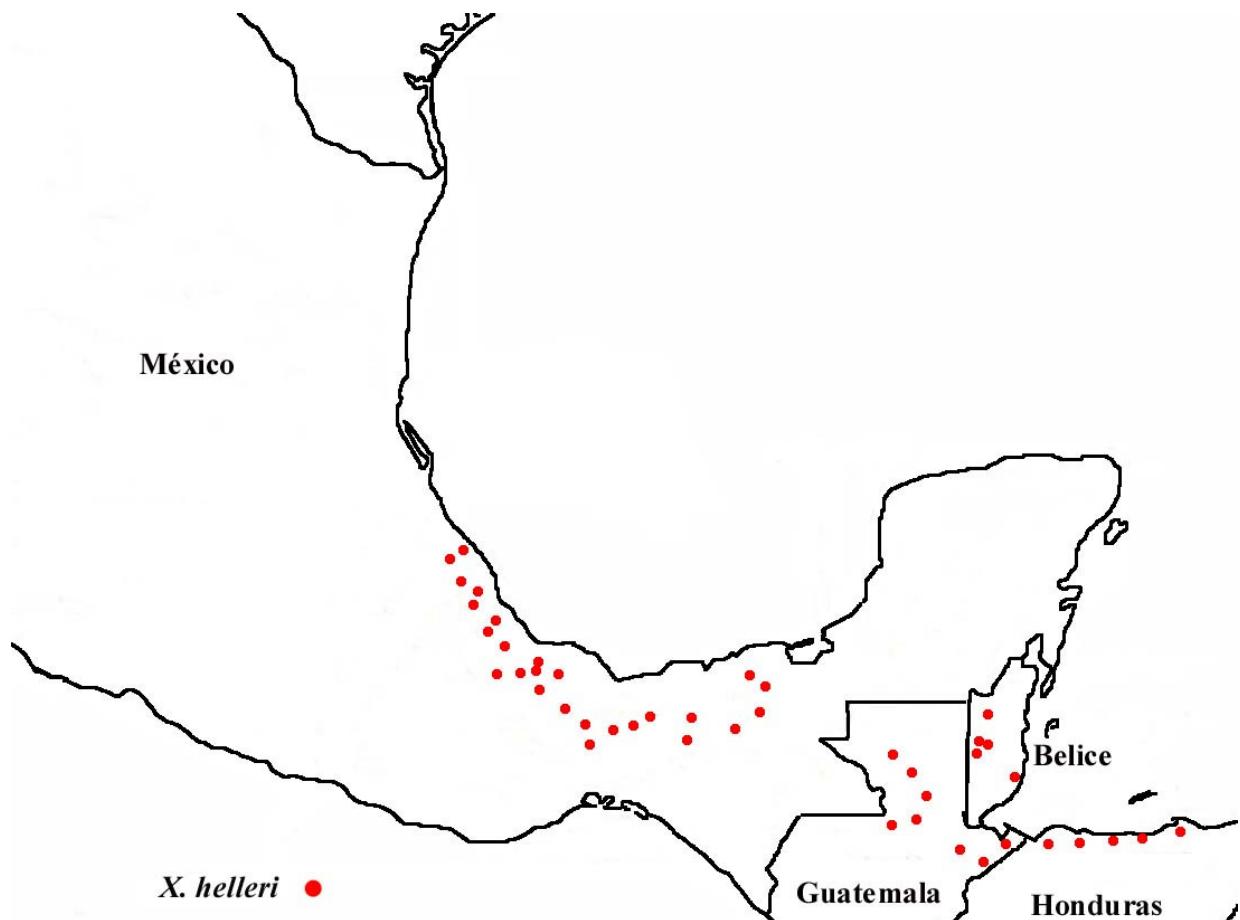


Figura 8. Mapa de distribución de *X. helleri* en México

Este pez puede también ser encontrado en áreas inundadas y en aguas residuales durante las estaciones secas (Wischnath, 1993). En la RBBM, se encuentra casi únicamente en los arroyos donde el agua es limpia, y no en el Río Metztitlán.

Justificación

El conocimiento de la biodiversidad de helmintos en el estado de Hidalgo aún es escaso por lo que es de suma importancia tener un conocimiento de la diversidad presente en el estado, así como la distribución de las especies ya estudiadas en el país, ya que al conocer esta información se pueden observar los cambios y efectos directos de los parásitos sobre los peces de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán.

Este estudio como parte del conocimiento de la biodiversidad de Hidalgo, que se está realizando en el laboratorio de Morfología Animal (Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo), brinda información sobre el descubrimiento y registro de una especie de digeneo en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán perteneciente al género *PhylloDISTOMUM* Braun, 1899, como una nueva aportación a la ciencia colectada en peces de la especie *X. helleri*, contribuyendo a la ampliación del listado faunístico de la reserva para el conocimiento de esta especie y su hospedero, como componente de la biodiversidad de especies que se encuentran en nuestro estado y país.

Objetivos

Objetivo general: Estudiar la distribución de *Phyllodistomum* sp. en los sitios en que se ha registrado la presencia de *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán.

Objetivos específicos:

1. Realizar un estudio morfológico de *Phyllodistomum* sp. colectados en los peces de la especie *Xiphophorus helleri* Heckel, 1848 de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán.
2. Describir a los ejemplares colectados con base en la comparación de otras especies del género *Phyllodistomum* Braun, 1899.
3. Establecer la distribución de *Phyllodistomum* sp. en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán.

Materiales y métodos

Área de estudio

La RBBM tiene una extensión de 96,042.94 ha, de las cuales 12,474.13 ha se han definido en zonas núcleo. La zona 1 cubre una superficie de 9,029.57 ha es denominada Cordón Cerro Alto. La segunda, la zona 2, con una superficie de 1,257.76 ha, se localiza en las cercanías de la comunidad de Tesisco. La zona 3 es próxima a la comunidad de Tecruz de Anáhuac y comprende una superficie de 1,375.26 ha y la Zona 4 se encuentra localizada cerca de Carrizal Chico con una superficie de 811.54 ha.

Clima

Varios factores determinan el clima en la reserva. En términos generales, es seco y semiseco cálido en diferentes partes, lo que se determina por el efecto de sombra de lluvia que la Sierra Madre Oriental ejerce sobre esta región. El carácter cálido del clima se relaciona con la altitud, mientras que las montañas al Este y Noreste se yerguen entre 1,800 a 2,600 msnm. En la vega la altitud es del orden de 1,200 a 1,300 msnm en las cercanías de Laguna de Metztitlán. En la porción Norte y en la Norte-centro predomina el clima seco semicálido, con régimen de lluvias en verano y un porcentaje de precipitación invernal de 5 a 10% e invierno fresco. En la parte centro-Sur y en la Sur, predomina el clima semiseco templado, con lluvias en verano con solo 5 a 10 % de las lluvias anuales ocurriendo durante el invierno, y el verano es cálido.

Hidrología

La Reserva corresponde a la Región Hidrológica 26 Río Pánuco, igual que la mayor parte del estado de Hidalgo. Dicha región hidrológica ha sido dividida en dos: Alto Pánuco y Bajo Pánuco; la cuenca de la reserva se encuentra en la primera. La cuenca de Metztitlán, junto con la cuenca de Amajac, origina el río Amajac.

El principal rasgo hidrológico superficial de la RBBM lo conforma un río que a lo largo de sus 100 Km. en la reserva; toma el nombre de acuerdo a la región, identificándose tres tramos importantes. El primero, a su entrada al sur de la Barranca, con el nombre de Río Grande Tulancingo. El segundo tramo, en región de la unión con Río San Sebastián, es conocido como Río Venados y el tercer tramo, donde inicia el Distrito 08 Metztitlán, es conocido como Río Metztitlán en el Norte de la Reserva. Este río corre de SE a NO y al N de la reserva, desembocando en la Laguna de Metztitlán; el cual es formado por una presa natural (Suter, 2004). A lo largo de este río desemboca un gran número de pequeños arroyos que contienen aguas de los manantiales de las montañas.

Los organismos que son el enfoque de este estudio se concentran en la zona núcleo 3; denominada Tecruz de Anáhuac (Fig.9) la cual integra una superficie de 1,375.26 ha. Se ubica en la parte central de la reserva, en exposición oriental sobre la barranca cerca de la orilla de la vega del Río Venados ya que en esta zona es donde se encontraron los peces de *Xiphophorus helleri* en colectas hechas para otros estudios. Por la seguridad de estas poblaciones en riesgo de sobre explotación no se incluyen detalles exactos de su ubicación en este trabajo; se refiere a las localidades como localidades A, B, C y D. Las coordenadas exactas de cada población son registradas con la administración de la RBBM y están disponibles a investigadores científicos con permiso de colecta oficial y autorización del personal de dicha administración.

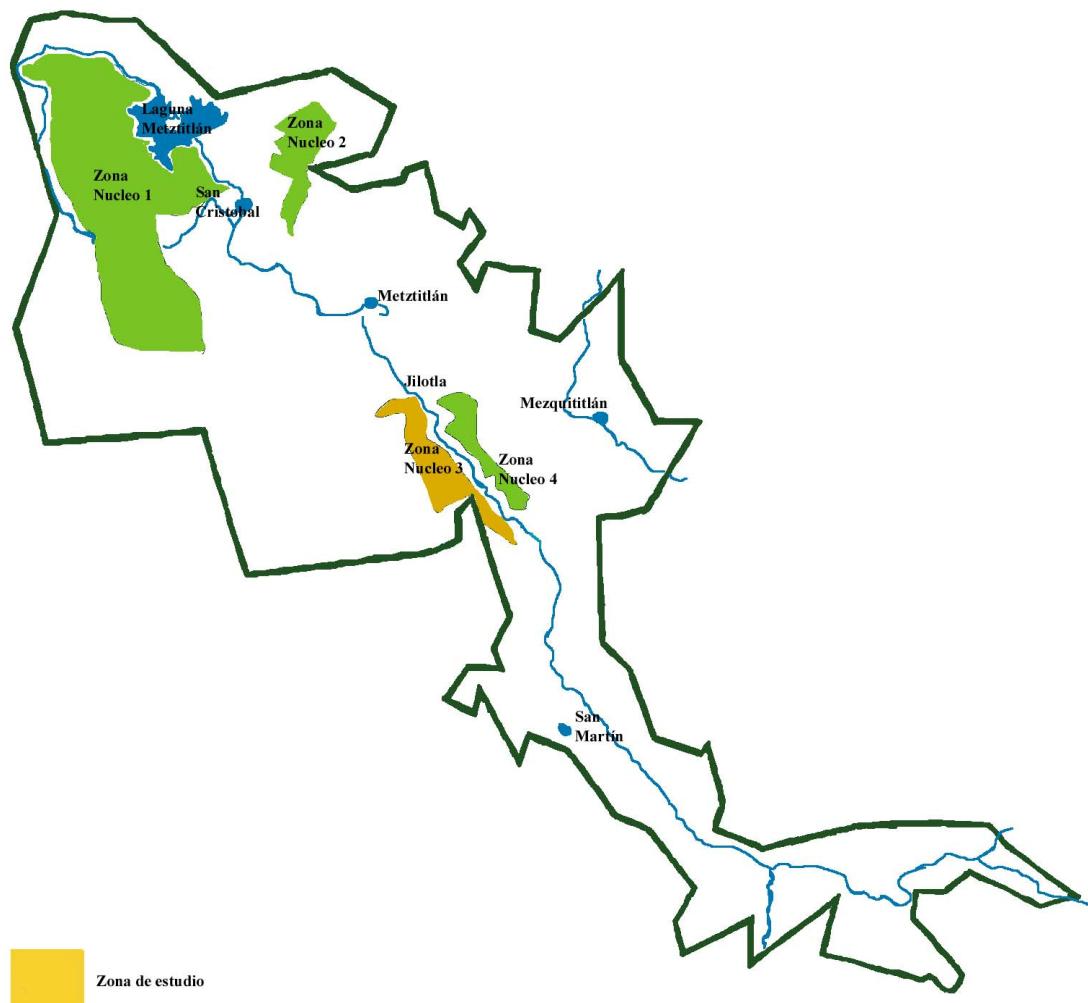


Figura 9. Zonas núcleo de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán y zona de estudio.

Colecta del material biológico

Para la realización del presente trabajo se colectaron un total de 123 hospederos, de la especie *Xiphophorus helleri* en 3 colectas anuales del 2003 al 2005 (Tabla II). Las colectas de los hospederos se realizaron mediante la pesca con atarraya hecha por un residente de la reserva que conoce este método de pesca (Fig. 10).

Tabla II. Tabla de peces colectados por localidad

Localidad	Año de colecta	Peces revisados	Peces parsitados
A	2003	12	0
B	2003	21	7
A	2004	21	0
B	2004	39	11
C	2004	1	0
B	2005	24	11
D	2005	5	0

Los ejemplares colectados se trataron de conservar vivos en una hielera con agua del río para que los peces no resintieran el cambio de temperatura y composición del agua. Los peces fueron trasladados al Laboratorio de Morfología Animal, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) para su posterior revisión helmintológica, ahí fueron colocados en un acuario con agua de su localidad hasta el momento de su revisión. Los peces fueron preservados con comida comercial marca Wardley que proviene de una tienda de mascotas. La mayoría de los peces fueron revisados el día de su colecta o al día siguiente. Sin embargo algunos murieron durante el traslado por lo que se procedió a fijarlos en alcohol etílico (EtOH) al 96%,



Figura 11. Foto de ejemplar de *Xiphophorus helleri* Heckel 1848 y de la colecta de peces en la RBBM

Revisión helmintológica

Cada uno de los peces fue sometido a un examen helmintológico, en el momento de la revisión de los peces, se determinó el sexo, longitud total y longitud patrón y se anotaron estos datos en una hoja de necropsia para cada individuo, datos que pueden servir para un estudio a futuro. Posteriormente, se realizó una revisión externa para verificar la presencia de ectoparásitos revisando ojos, piel, aletas, boca y opérculos así como una revisión interna para buscar endoparásitos. Mediante un corte sagital que va de la cloaca a las aletas pectorales, se extrajeron las vísceras y la vejiga urinaria del pez. Las vísceras fueron separadas en regiones (estómago, intestino, hígado) y cada región se colocó en una caja de petri aparte en solución salina al 0.6% con el objetivo de conservar los tejidos y mantener vivos a los parásitos además de identificar la región de hábitat de cada tipo de parásito. Asimismo, se colocó la vejiga urinaria en una caja de petri en solución salina al 0.6%. Se realizó la revisión de las vísceras desgarrando el tejido de cada región con agujas de disección finas para la búsqueda de helmintos parásitos usando un microscopio estereoscópico.

Recolección, fijación y conservación de helmintos parásitos

Los helmintos encontrados (Tabla III) estaban vivos y se colectaron con una pipeta, se colocaron en cajas de petri con solución salina al 0.6%. Posteriormente, se colocaron en frascos viales con agua y se sacrificaron calentando el agua un poco con un encendedor para relajar el cuerpo del parásito, se aplanaron ligeramente entre un portaobjeto y un cubreobjeto y se fijaron con solución de AFA (Ácido acético glacial 10%, Formol 10% y Alcohol 80%). Transcurridas de 8 a 24 horas se retiró la solución AFA y se añadió el EtOH al 70% para su conservación. (Apéndice II). Todos los frascos ocupados durante el proceso del examen de hospederos fueron debidamente etiquetados y guardados hasta el momento de iniciar el proceso de tinción (Pritchard y Kruse, 1982).

En la etapa de tinción se utilizaron los colorantes Hematoxilina de Delafield, Carmalum dMayer y Tricromo de Gomori, posteriormente los helmintos fueron montados en portaobjetos y cubreobjetos con bálsamo de Canadá (Pritchard y Kruse, 1982) (Apéndice III).

Tabla III. Helmintos colectados por año en cada localidad

Localidad	Año de colecta	Helmintos colectados
A	2003	0
B	2003	21
A	2004	0
B	2004	27
C	2004	0
B	2005	17
D	2005	0

Medición de helmintos

Las medidas de los ejemplares colectados fueron realizadas con un micrométrico ocular montado al microscopio óptico y se utilizaron diferentes aumentos (40X, 100X y 400X) de acuerdo al tamaño de las estructuras de los ejemplares y están dadas en micras.

Se midieron los ejemplares maduros, los cuales se diferencian de los juveniles por ser de mayor tamaño, por la presencia de huevos y por poseer órganos genitales bien desarrollados (Fig.11).

Se realizaron dibujos de los helmintos colectados con la ayuda de un tubo de dibujo integrado al microscopio óptico. Con las medidas de las estructuras obtenidas se calculó el promedio, desviación estándar, el valor mínimo y el máximo de cada estructura para compararlas con las medidas de las especies ya descritas para México y determinar si era una especie ya descrita o no.

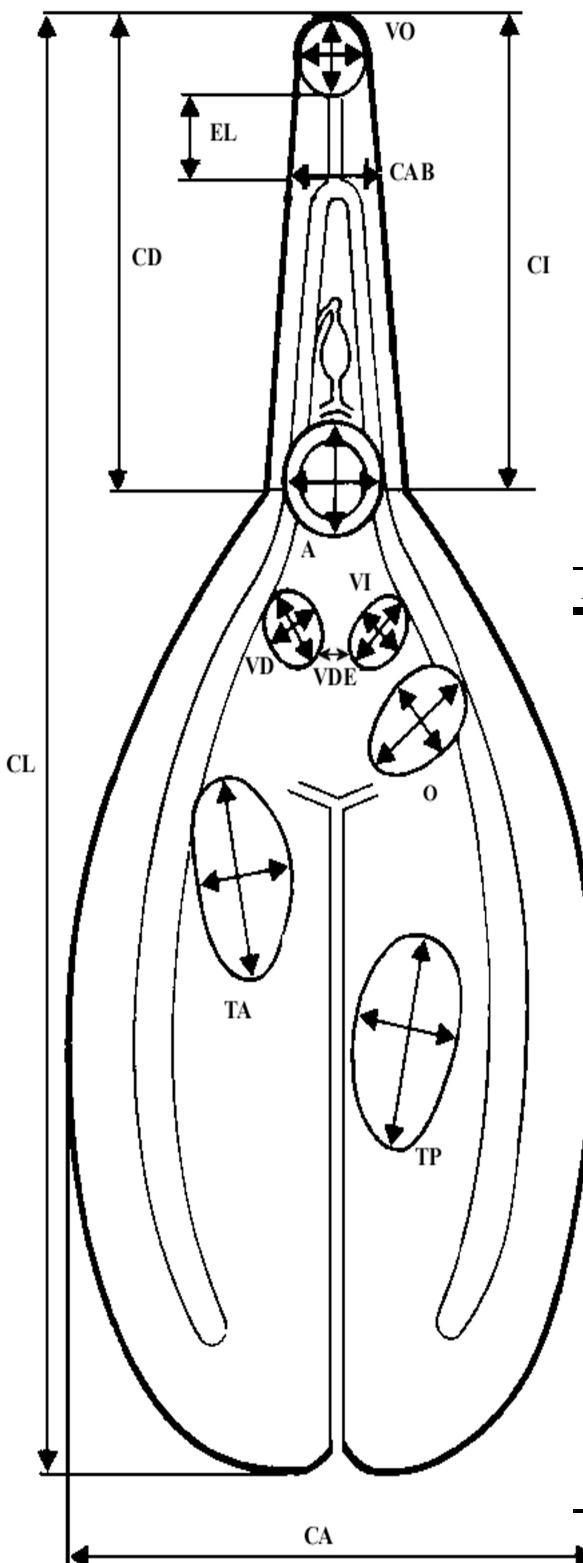


Tabla IV A Lista de abreviaciones usadas en la figura

Abreviaturas	Estructura
CAH	Cuerpo: ancho al nivel de los hombros
EA	Esófago: ancho
A	Acetáculo
VD	Vitelógena derecha
VI	Vitelógena izquierda
O	Ovario
OD	Ovario: distancia entre el ovario y el lado derecho del cuerpo
OI	Ovario: distancia entre el ovario y el lado izquierdo del cuerpo
TA	Testículo anterior
TP	Testículo posterior
TAI	Testículo: distancia entre el testículo anterior y el lado izquierdo del cuerpo
TAD	Testículo: distancia entre el testículo anterior y el lado derecho del cuerpo
TPI	Testículo: distancia entre el testículo posterior y el lado izquierdo del cuerpo
TPD	Testículo: distancia entre el testículo posterior y el lado derecho del cuerpo
TDE	Testículo: distancia entre los testículos
LC	Ceca: longitud

Figura 11 B. Datos morfométricos del cuerpo y órganos medidos

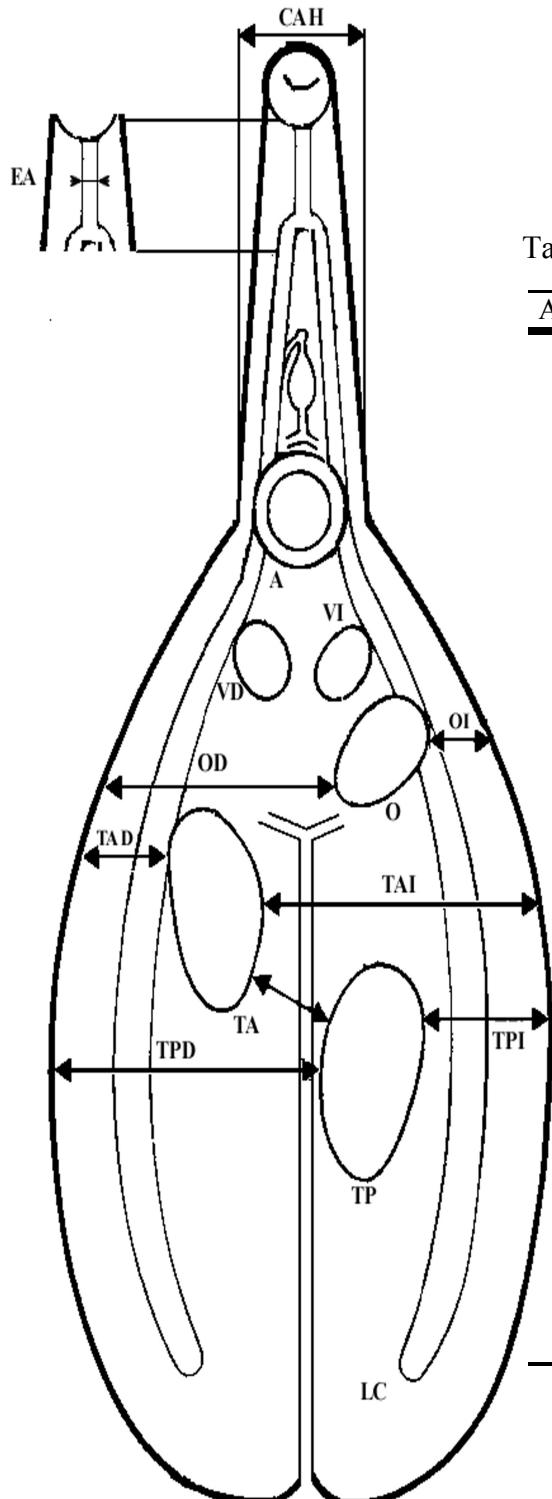


Tabla IVA' Lista de abreviaciones usadas en la figura

Abreviaturas	Estructura
VOL	Ventosa oral: longitud
VOA	Ventosa oral: ancho
EL	Esófago: longitud
CAB	intestinal
CD	Cuerpo: longitud del lado derecho de la porción anterior del cuerpo
CI	Cuerpo: ancho del lado derecho de la porción anterior del cuerpo
AL	Acetáculo: Longitud
AA	Acetáculo: ancho
VLI	Glándula vitelógena: largo de la glándula vitelógena del lado izquierdo
VLD	Glándula vitelógena: largo de la glándula vitelógena del lado derecho
VAI	Glándula vitelógena: ancho de la glándula vitelógena del lado izquierdo
VAD	Glándula vitelógena: ancho de la glándula vitelógena del lado derecho
VDE	Glándula vitelógena: distancia entre las glándulas vitelógenas
OL	Ovario:longitud
OA	Ovario: ancho
TAL	Testículo: longitud del testículo anterior
TAA	Testículo: ancho del testículo anterior
TPL	Testículo: longitud del testículo posterior
TPA	Testículo: ancho del testículo posterior
CL	Cuerpo: longitud
CA	Cuerpo: ancho

Figura 12 B'. Datos morfométricos del cuerpo y órganos medidos

Parámetros ecológicos utilizados para el cálculo de la caracterización de la infección

Para caracterizar la infección de helmintos parásitos de *X.helleri*, en las cuatro localidades de colecta se calcularon los parámetros ecológicos recomendados por Margolis et al.(1982), Bush et al. (1997) y Bautista-Hernández (2008)

1. Prevalencia: El número de individuos de una especie de hospedero que está infectado con un número de individuos de una especie particular de parásitos, dividido entre el número total de hospederos revisados, este número incluye tanto a los hospederos infectados como a los no infectados. Este parámetro es expresado en porcentaje.

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No. Peces parasitados}}{\text{No. Peces examinados}} \times 100$$

2. Abundancia: El número total de parásitos de una especie en particular, dividido entre el número de hospederos de la misma especie examinados. La abundancia nos indica como se dispersa la especie de parásito en la muestra de la especie de hospedero.

$$\text{Abundancia} = \frac{\text{No. Parásitos de una especie}}{\text{No. Peces examinados}}$$

3. Intensidad promedio: El número total de parásitos de una especie entre el número de hospederos parasitados. El resultado que arroja este parámetro nos indica el número de parásitos de una especie encontrados en la muestra de hospederos.

$$\text{Intensidad Promedio} = \frac{\text{No. Parásitos de una especie}}{\text{No. Peces parasitados}}$$

4. Intervalo de intensidad: Número mínimo y máximo de individuos de una especie de parásito en una especie de hospedero. Indica el rango de organismos parásitos en una muestra de hospederos infectados.

Intervalo de intensidad = No. Mínimo a No. Máximo

Los ejemplares de peces y todos los helmintos parásitos se depositaron en la Colección de Helmintos, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México (Apéndice V).

Resultados

Del total de hospederos revisados (123 individuos) sólo se aisló e identificó una especie de helminto parásito, un digeneo, *Phyllodistomum* sp. en estado adulto los parásitos colectados durante la revisión de los hospederos se encontraron alojados en la vejiga urinaria.

A continuación, los resultados de este trabajo se presentan en dos fases: en la primera se marca la caracterización morfológica y morfometría del helminto con un corto comentario taxonómico; y la segunda parte consiste en la caracterización de la infección basada en el cálculo de los parámetros ecológicos.

Diagnosis de la subfamilia Phyllodistominae (Nybelin,1926) Yamaguti, 1958

La parte anterior del cuerpo es de forma alargada, la parte posterior del cuerpo es foliado. La faringe está ausente, el ciego no está unido posteriormente. El acetáculo se encuentra entre la unión de las dos regiones del cuerpo, poseen dos testículos divididos en un número de folículos intercecales cerca de la parte anterior del cuerpo. El ovario es de tamaño submediano, es pretesticular, el receptáculo seminal está ausente. La vitelaria es compacta de forma más o menos lobulada, se encuentra a una distancia postacetabular intercecal. El útero ocupa la mayor parte del lado posterior del cuerpo puede o no extenderse al espacio extracecal. La vesícula excretora es de forma tubular. Son parásitos de la vejiga urinaria de peces y anfibios.

Diagnosis del genero *Phyllodistomum* Braun, 1899

La parte anterior del cuerpo es aplanada anteriormente, la parte posterior del cuerpo es foliada con margen más o menos crenulado. La ventosa oral es terminal con una abertura oral ventroterminal. Sin faringe, el ciego es simple, puede ser algo sinuoso, cerca del extremo posterior. El acetáculo es preecuatorial, de tamaño pequeño a mediano. Los testículos son intercecales, diagonales o simétricos más extendidos en la parte posterior del cuerpo. La vesícula seminal tiene forma de saco. No presenta bolsa del cirro.

El poro genital es postbifurcal, el ovario es submediano pretesticular, no hay receptáculo seminal, la vitelaria es de compacta a lobulada, pareada y detrás del acetáculo. El útero ocupa la mayor parte posterior del cuerpo. Pero no se extiende a la parte extracecal. Los huevos están embrionados, la vesícula excretora es tubular. Habitán en la vejiga urinaria de peces de agua dulce, marinos y anfibios.

Descripción

La descripción y morfometría está hecha con base en 65 ejemplares (Figuras 11 A, 11 A' y 12). El cuerpo mide de 722 a 2116 mm (1173 ± 261 , n = 29) de largo por 413 a 1135 mm (680 ± 174 , n=29) de ancho en la región más amplia a nivel del testículo anterior. El cuerpo de los ejemplares maduros es más estrecho en la parte anterior y más amplio y redondeado en la parte posterior. Al nivel de la bifurcación intestinal, mide de ancho de 139 a 381 mm (224 ± 55 , n=29) y de ancho a los hombros mide de 227 a 525 mm (400 ± 82 , n=29). El largo de la porción anterior del cuerpo (ABP) del lado derecho mide de 258 a 587 mm (411 ± 92 , n=29) y el largo de la porción anterior del cuerpo (ABP) del lado izquierdo de 278 a 597 mm (408 ± 91 , n=29). Los márgenes del cuerpo están finamente papilados sin margen plegado.

La ventosa oral es terminal y levemente oval, la boca se encuentra abierta ventralmente con una papila poco notable en la ventosa oral. La ventosa oral es más larga que el acetáculo, mide de largo de 139 a 242 mm (185 ± 26 , n=29) y de ancho de 116 a 239 mm (175 ± 28 , n=29), el acetáculo mide de largo de 77 a 229 mm (171 ± 34 , n=29) y de ancho de 123 a 221 mm (173 ± 28 , n=29). La proporción de las ventosas es: largo de la ventosa oral al acetáculo de 0.3 a 2.6 mm (1.1 ± 0.4 , n=29) y el ancho de los mismos órganos es de 0.2 a 1.2 mm (1.0 ± 0.2 , n=29).

El esófago es relativamente estrecho y delgado mide de largo de 13 a 103 mm (54 ± 22 , n=26) y de ancho de 13 a 67 mm (54 ± 22 , n=25). No presenta faringe muscular, presenta una bifurcación intestinal preacetabular, los ciegos intestinales no se extienden más allá del útero.

Presenta glándulas vitelógenas pareadas que se encuentran en posición posterolateral al acetáculo; los folículos son de forma oval, raramente lobuladas y están situadas cerca del acetáculo, el largo de la glándula vitelógena derecha mide de 38 a 131mm (84 ± 23 , n=27) y de ancho mide de 31 a 129 mm (58 ± 20 , n=27) el largo de la glándula vitelógena izquierda mide de 13 a 149 mm (82 ± 27 , n=27) y de ancho mide de 31 a 113 mm (58 ± 19 , n=27) la distancia entre glándulas vitelógenas es de 21 a 162 mm (71 ± 31 , n=27). La glándula de Mehlis se encuentra posterior al acetáculo entre las vitelogenas. El ovario es amfitípico, a veces ligeramente lobulado mide de ancho 72 a 192.8 mm (116 ± 30.4 , n=27) y de largo 67 a 208 mm (110 ± 31 , n=27). El útero es extenso, cubre la mayor parte posterior del cuerpo y con muchos lazos extracecales. Los huevos miden de largo de 18 a 27 mm (23 ± 7 , n=27) y de ancho miden de 11 a 18 mm (15 ± 1 , n=27)

Los testículos están localizados a lo largo de la parte posterior del cuerpo, son oblicuos y lobulados. El testículo anterior se encuentra usualmente en posición lateral al ovario. El largo del testículo anterior es de 90 a 927 mm (208 ± 166 , n=23) y de ancho de 46 a 536 mm

(123±96, n=23). El testículo posterior es de forma más regular y ligeramente más largo que el testículo anterior. El largo del testículo posterior es de 64 a 280 mm (191±49, n=24) y de ancho 67 a 213 mm (121±44, n=24). La vesícula seminal es preacetabular con apariencia de saco. El ancho al ovario mide de 133.9 a 1133 mm (339±207.5, n=23) a la izquierda y de 82 a 1236 mm (331±183, n=27) a la derecha. El ancho al testículo anterior mide de 134 a 1133 mm (339±208, n=23) a la izquierda y de 82 a 1236 mm (307±260, n=23) a la derecha. El ancho al testículo posterior es de 103 a 1009 mm (305±216, n=24) a la izquierda y 103 a 876 mm (315±160, n=24) a la derecha. La distancia entre testículos es de 33 a 185 mm (105±48, n=23).

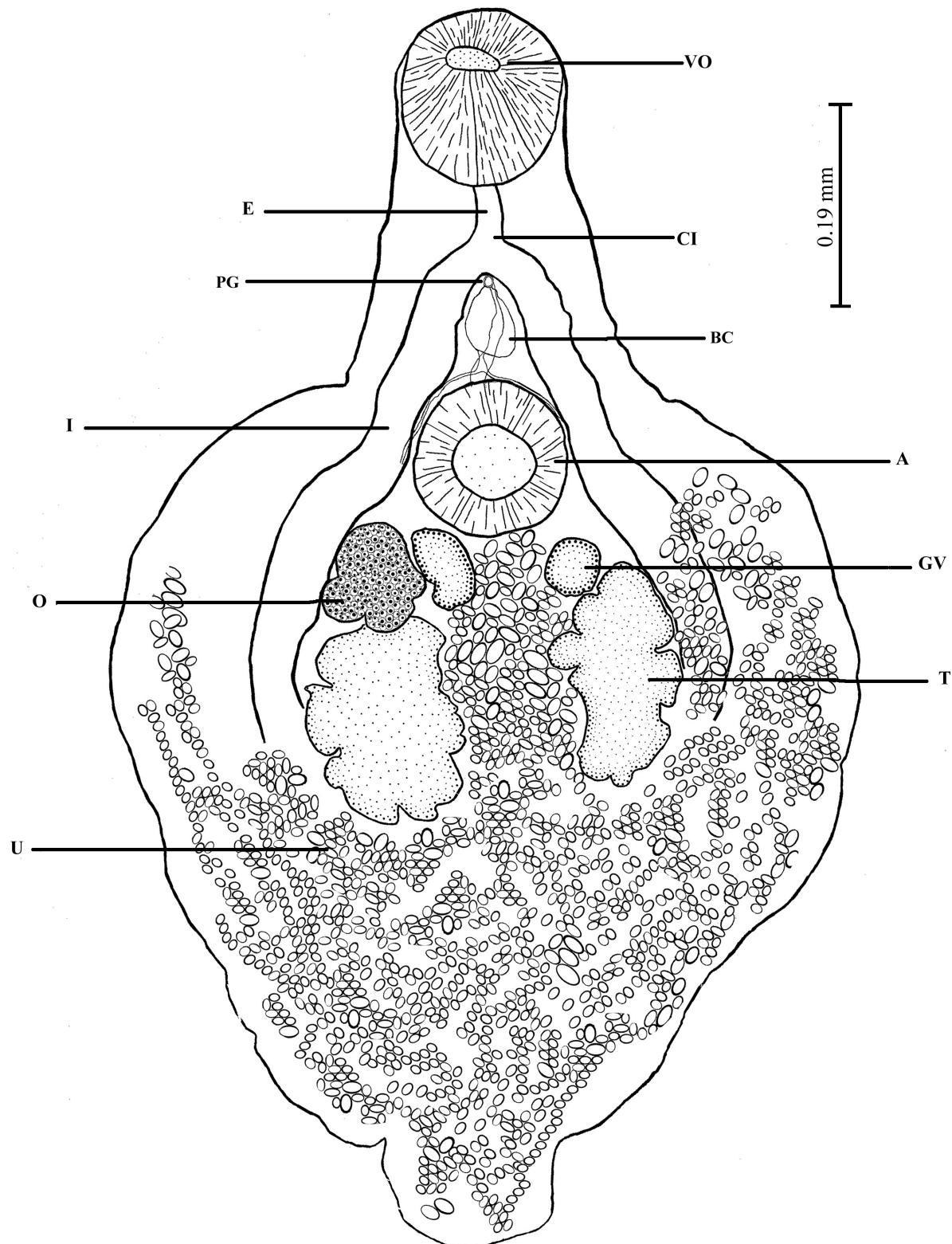


Figura 12. *Phyllodistomum* n.sp. VO = Ventosa oral, E = Esófago, CI = Ciego intestinal, PG = Poro genital, BC = Bolsa del cirro, I = Intestino, A = Acetáculo, O = Ovario, GV = Glándula vitelógena, U = Útero, T = Testículos.

Comparación con otras especies del género

La comparación está hecha con base en ejemplares de la CNHE y en la cual se observó que a pesar que *P. lacustri* y la especie de Metztitlán son miembros del mismo género, cada especie es muy distinta. Una característica importante para distinguir las especies del género es la posición de la vitelaria en relación al ovario. También, la forma (redonda, ovalada y/o lobulada) de la vitelaria y la forma del margen posterior del cuerpo son importantes para distinguir las especies (Mendoza-Garfias y Pérez-Ponce de León, 2005). La especie de Metztitlán se distingue de *P. lacustri* en la posición de la vitelaria; anterior del ovario en *P. lacustri* y lateral al ovario en la especie de Metztitlán (Apéndice VI; Figs. A y B).

Las proporciones del cuerpo de los miembros de cada especie son distintas: la proporción anterior hasta los hombros de *P. lacustri* es más larga que la parte ancha del posterior del cuerpo (Apéndice VI; Fig. A) y la parte posterior del cuerpo de la especie de Metztitlán. Así mismo, la porción posterior de *P. lacustri* es más ancha en la porción media (posterior tercio del cuerpo), formando esta porción casi redonda, y la porción posterior de la especie de Metztitlán es más ancha inmediatamente posterior de los hombros, formando esta porción casi triangular (Apéndice VI; Fig. B). El margen de la porción posterior de *P. lacustri* es ondulado, y con pequeños procesos papiliformes y el de la especie de Metztitlán es liso y regular sin procesos. Finalmente, las masas vitelarias *P. lacustri* son moderadamente lobuladas y las de la especie de Metztitlán no son lobuladas.

Mendoza-Garfias y Pérez-Ponce de León, (2005) identificaron únicamente a *P. mayesi*, Brooks y MacDonald, (1986), parásito del pez marino *Centropomus parallelus* Poey, (1860) y *P. centropomi* Mendoza-Garfias, 2005 como especies americanas con las masas vitelarias en una posición posterolateral al ovario. Sin embargo, miembros de *P. rhamdiae* Amato y Amato, 1993, parásito del pez de agua dulce, *Rhamdia quelen* (Quoy y Gaimard, 1824),

también comparten esta característica (Amato y Amato, 1993). Las masas vitelarias de la especie de Metztitlán y *P. centropomi* son similares; relativamente ovaladas y no lobuladas (Apéndice VI; Fig. D). Se distingue *P. centropomi* de la especie de Metztitlán por la forma del margen de la porción posterior del cuerpo; la porción posterior del cuerpo de *P. centropomi* tiene 3-4 undulaciones musculares y la de la especie de Metztitlán es lisa, regular y sin regiones musculares. Además, la especie de Metztitlán cuenta con un ovario más lobulado que lo de *P. centropomi* y el útero se extiende anteriormente en los lados del cuerpo hasta el acetáculo y en *P. centropomi* sólo extienden hasta el nivel de medio del testículo (Apéndice VI; Figs. D y B). La especie de Metztitlán y *P. rhamdiae* son similares en muchos aspectos generales, pero las masas vitelarias de la segunda especie están ubicadas más posterior que las de la especie de Metztitlán, la bolsa del cirro de *P. rhamdiae* es curvada y la de la primera especie es recta, los hombros de la especie de Metztitlán son más robustos que los de *P. rhamdiae* y el extremo posterior del cuerpo de *P. rhamdiae* es más ancho y redondeado que el de la especie de Metztitlán. La porción posterior del cuerpo de *P. mayesi* es oval con hombros no bruscos (Brooks y MacDonald, 1986) y la de la especie de Metztitlán es casi triangular con hombros bruscos (Apéndice VI; Figs. C y B). También, se distingue a las dos especies por la forma de las masas vitelarias; en *P. mayesi* las masas son extremadamente lobuladas y las de la especie de Metztitlán son ovales y no lobuladas. Finalmente, igual que *P. centropomi*, el útero de *P. mayesi* sólo llega anteriormente hasta la mitad del testículo y en la especie de Metztitlán extiende hasta el acetáculo (Apéndice VI; Figs. C y B).

Material examinado (Ver apéndice V)

Localización: Vejiga urinaria

Número de la colección del CIB: HGO-03-820-01-02 (Ejemplar principal)

Caracterización de la infección

De acuerdo con los resultados arrojados por el cálculo de los parámetros ecológicos para cada una de las localidades de colecta de *X. helleri* en la RBBM (Tabla V), *Phyllodistomum* sp. tiene los valores más altos en prevalencia (34.5%) para la localidad No. 2, con mayor número de helmintos colectados (65).

Tabla V. Parámetros ecológicos para cada localidad de colecta con peces infectados con *Phyllodistomum*. sp

Localidad	Peces revisados	Peces parasitados	Número de parásitos	%	Ab	I. P.	I. I.
No. 1	33	0	0	0.0	0.00	0	0
No.2	84	29	65	34.5	0.77	2.24	1--7
No.3	5	0	0	0.0	0.00	0	0
No.4	1	0	0	0.0	0.00	0	0

% = Prevalencia; Ab.= Abundancia; I. P. = Intensidad promedio; I. I. = Intervalo de intensidad.

De igual manera, esta especie tiene el valor de abundancia más alto con 0.77 parásitos por pez revisado. Las demás localidades tienen valores de cero debido a que no se encontraron helmintos en los peces colectados. Con base en los valores obtenidos por los parámetros ecológicos, la infección del parásito *Phyllodistomum* sp. es importante para *X. Helleri* como indicador del movimiento de las poblaciones de estos peces en la reserva y probablemente también como indicador de contaminantes debido a que cerca de las demás zonas de colecta donde *Phyllodistomum* no se encontró hay lugares de sembradíos y ahí utilizan pesticidas que se van hacia los ríos y por lo tanto es posible que no sobreviva alguno de los hospederos intermediarios que este parásito necesita para llevar acabo su ciclo de vida.

Discusión

Los parásitos colectados en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán fueron identificados como especies pertenecientes al género *Phyllostrongylus* Braun, 1899 debido a las características propias que presentan, tales como la forma espatuliforme, la parte anterior del cuerpo aplanada anteriormente, el cuerpo dividido en dos porciones con la anterior delgada y la posterior ancha, no presentan faringe, el acetáculo preecuatorial, los testículos intercecales, y por parasitar la vejiga urinaria de sus hospederos.

Varios miembros de este género han sido reportados en todo el mundo tanto en peces de agua dulce como marinos así como también en anfibios. Como se mencionó, el género cuenta aproximadamente con 100 especies descritas. En México, han sido reportadas seis especies de *Phyllostrongylus*. Cuatro de éstas son parásitos de peces marinos (Winter, 1953, Bravo-Hollis y Manter, 1957, Mendoza-Garfias y Pérez-Ponce de León, 2005), una es parásito de una salamandra, *P. rhyacosiredonis* Bravo-Hollis, 1943 en *Rhyacosideron altamirani* Dugès, 1895, ahora reconocido como *Ambystoma altamirani* Dugès, 1895, pero hasta ahora, sólo *P. lacustri* (Loewen, 1929) Lewis, 1935 se ha reportado en peces de agua dulce, *Ictalurus dugesii* (Bean, 1880) de Lago de Chapala, Jalisco (Lamothe-Argumedo, 1987).

La observación de los ejemplares de *P. rhyacosiredonis*, debido a su morfología general, sugirió que dicha especie no pertenece a este género ya que no presenta las características del género, como los hombros, además de ser de forma alargada (Bravo-Hollis, 1943). Sin embargo, para este trabajo, se le realizaron las medidas conforme a las que se tomaron en cuenta para el resto de las especies para que pudieran ser comparadas con los ejemplares de Metztitlán.

La especie de parásito descrito en este trabajo sólo se encuentra en una localidad de las cuatro donde se colectaron los peces, lo cual nos podría sugerir que en las localidades donde el parásito no se encuentra quizá no habite alguno de los hospederos intermediarios que el parásito requiere para completar su ciclo de vida (Fig. 5). Los digéneos como se ya se mencionó necesitan de dos o más hospederos intermediarios y al no existir alguno de éstos el ciclo de vida no se completa. No existen estudios de la calidad del agua de estas localidades como los de Monks *et al.*, (2003), Pulido-Flores *et al.*, (2005a), Monks *et al.*, (2005) y Lozada-Zarate *et al.*, (2007) para otras regiones de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán. Sin embargo, especies de *Xiphophorus* generalmente habitan aguas relativamente no contaminadas y esto indica que existe otro factor como la contaminación provocando la falta de un hospedero intermediario, como se mencionó. Sin datos concretos del ciclo de vida de esta especie como cuáles son sus hospederos intermediarios, etc., no es posible ofrecer una hipótesis más precisa sobre las razones para la restricción en la distribución del parásito.

Otro factor que puede intervenir en la distribución del parásito hacia las demás localidades es que las poblaciones de estos peces están aisladas. Es decir, que los peces no se muevan a otras localidades y es por eso que este parásito sólo se ha encontrado en una sola localidad. La evidencia para apoyar esta conclusión con esta especie todavía no existe. Para evaluar el aislamiento de las poblaciones es necesario un estudio de la genética de poblaciones. Estudios realizados con otras especies de *Xiphophorus* del norte de Hidalgo (Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2007, Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2008) indicaron aislamiento entre poblaciones en el mismo río. Por lo cual, este podría ser el caso con estas poblaciones. Podría interpretar los datos de la presencia y ausencia como un apoyo para la hipótesis de aislamiento de las poblaciones. Si los peces infectados estaban migrando entre localidades debemos encontrar al menos unos pocos peces infectados en las poblaciones cercanas, es

decir, los que llevaran sus helmintos a este lugar. Pero, el número de peces positivos debía ser muy bajo. Si todas las clases de hospederos intermediarios no estaban presentes no se podría establecer una población local de los parásitos y, por lo cual, no hay gusanos jóvenes en estos peces. Sin embargo, durante los años de estudios parasitológicos de los peces de la región (desde 2001), sólo esta única población fue descubierta. Por los argumentos y evidencia del anterior, los datos solamente apoyan la hipótesis de que, a pesar de que la región se inunda periódicamente, los peces de las poblaciones de *X. helleri* estudiados aquí no sufren dispersión fuera de sus localidades restringidas.

La razón que los peces no están migrando de una localidad a otra, es un foco rojo para la Administración de la RBBM. La evidencia descubierta por este proyecto indica que la protección de cada población local de peces es importante. La extinción local de algunas especies de organismos de manera temporal no es un problema para algunas especies por la gran movilidad de los individuos. Si una población está extinta, miembros de las poblaciones aledañas colonizarán el lugar temporalmente vacío y, como resultado, se fundará una población nueva. Pero esto solo ocurre con las especies que tienen la característica de migración y movimiento continuos. Con base en la evidencia de este proyecto, los *Xiphophorus* no realizan una migración constante y, por lo tanto, en este caso es esencial proteger cada población local.

Conclusión

Mediante el estudio morfológico realizado en esta de tesis, se logró precisar la identidad taxonómica de la especie previamente descrita del género *Phyllodistomum* presente en la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán. En este estudio se tomaron, 31 medidas pertenecientes a 9 estructuras.

La caracterización morfológica de la especie *Phyllodistomum* se llevó a cabo con las descripciones de las especies que han sido reportadas para México. Los ejemplares medidos para realizar las comparaciones son procedentes de la Colección Nacional de Helmintos (CNHE), Instituto de Biología, UNAM con número de colección 001523, 248-2-1523, 248-2 bis-1524, 1112, 1798, 3109, 001214 21-3, y 001374 21-3bis. Considerando las medidas de la publicación de (Helt *et al.*, 2003) para realizar un cuadro comparativo entre las medidas del autor y las medidas obtenidas con la realización de esta tesis.

Esta especie de helminto se determinó como una especie nueva a la ciencia, por lo cual, está sujeta a una descripción formal en un trabajo en el futuro. La especie de helminto encontrada e identificada como *Phyllodistomum sp.* fue registrada en sólo una localidad parasitando únicamente a los peces de la especie *Xiphophorus helleri* de la RBBM.

Lo anterior nos indicó que las poblaciones de estos peces están aisladas y no se mueven a otras localidades, y por tal motivo los parásitos no fueron encontrados en los peces de las demás localidades que fueron muestreadas. Por el momento, no es posible explicar la restricción del parásito a sólo una localidad, pero las hipótesis incluyen que es por algún contaminante no identificado en el agua que afecta a alguno de los hospederos intermediarios o al parásito mismo impidiéndole desarrollarse en las demás localidades por una causa no identificada.

Finalmente, con este trabajo se dieron a conocer los nuevos registros de las dos especies, *Xiphophorus helleri* y *Phyllodistomum* sp., en la RBBM, ampliándose el área de distribución de ambas especies. *Phyllodistomum* sp. es un nuevo registro para Hidalgo y como se mencionó, es una especie nueva a la ciencia, por lo cual, es una candidata para una descripción formal.

Los datos generados permitirán plantear a los administradores de la reserva un programa para la conservación de *Xiphophorus helleri*, sin embargo la distribución restringida del parásito no dio información apta para afinar el plan de manejo de la reserva.

Literatura Citada

- Amato, S. B. y J. F. R. Amato. 1993. A new species of *Phyllodistomum* Braun, 1899 (Digenea: Gorgoderidae) from *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) (Siluriformes: Pimelodidae). Memorias do Instituto Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 88:557-559.
- Anonimo. 2001. Descripción geográfica, programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán. 1:203.
- Bautista-Hernández, C. E. 2008. Helmintofauna de un Goodeidae del Lago de Tecocomulco, Hidalgo, México. Licenciatura, Área Académica de Biología, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo. 68 pp.
- Braun, M. 1899. Trematoden der Dhl'schen Sammlung aus Neu-Guinea nebst Bermerkungen über endoparasitische Trematoden der Chelonier. Centralblatt f. Bacteriol. 25:717-725.
- Bravo-Hollis, M. 1943. Estudio sistemático de los tremátodos parásitos de los "ajolotes" de México. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México 14:141-159.
- Bravo-Hollis, M. y H. W. Manter. 1957. Trematodes of marine fishes of Mexican waters. X. Thirteen Digenea, including nine new species and two new genera, from the Pacific Coast. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 24:35-48.
- Brooks, D. R. y C. A. MacDonald. 1986. A new species of *Phyllodistomum* Braun, 1899 (Digenea: Gorgoderidae) in a neotropical catfish, with discussion of the generic relationships of the Gorgoderidae. Canadian Journal of Zoology 64:1326-1330.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty., J. M. Lotz. y A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology 83:575-583.

- Escoria-Ignacio, R. 2007. Descripción de una nueva especie de *Spauligodon* (Nematoda: Pharyngodonidae) en algunas especies de *Sceloporus* (Sauria: Phrynosomatidae) y la caracterización de su infección de algunas localidades de la Reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura, Área Académica de Biología, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo. 55 pp.
- Goodchild, C. G. 1943. The life history of *Phyllodistomum solidum* Rankin, 1937, with observations on the morphology, development and taxonomy of the Gorgoderinae (Trematoda, Digenea). Biological Bulletin 84:59-86.
- Gutierrez-Rodriguez, C., M. R. Morris, N. S. Dubois y K. de Queiroz. 2007. Genetic variation and phylogeography of the swordtail fish *Xiphophorus cortezi* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). Molecular Phylogenetics and Evolution 43:111-123.
- Gutierrez-Rodriguez, C., A. E. Shearer, M. R. Morris y K. de Queiroz. 2008. Phylogeography and monophyly of the swordtail fish species *Xiphophorus birchmanni* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). Zoologica Scripta 37:129-139.
- Helt, J., J. J. Janovy, Jr. y J. Ubelaker. 2003. *Phyllodistomum funduli* n. sp. (Trematoda: Gorgoderidae) from *Fundulus sciadicus* Cope from Cedar Creek in western Nebraska. Journal of Parasitology 89:346-50.
- Hoffman, G. L. y J. Williams, Ernest H. 1999. Parasites of North American Freshwater Fishes. Ed. Cornell University Press. 539 pp.
- Lamothe-Argumedo, R. 1987. Tremátodos de peces VIII. Primer registro de *Phyllodistomum lacustri* (Loewen, 1929), parásito de *Ictalurus dugesii*, en México. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México 58:487-496.
- Lozada-Zarate, E. J., S. Monks, G. Pulido-Flores, A. J. Gordillo-Martínez y F. Prieto-García. 2007. Determinación de metales pesados en *Cyprinus carpio* de la Laguna de

- Metztitlán, Hidalgo, México. En: Pulido-Flores, G. y A. L. López-Escamilla (Eds). IV Foro de Investigadores por la Conservación y II Simposio de Áreas Naturales Protegidas del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. pp. 91-94.
- Lunaschi, L. I. y S. R. Martorelli. 1990. Presencia de *Phyllodistomum spatula* Odhner (Trematoda-Gorgoderidae) en dos especies de pimelodídos capturados en la provincia de Buenos Aires, Argentina aportes al conocimiento de su ciclo biológico. Neotropica 36:55-63.
- Marcus, J. M. y A. R. McCune. 1999. Ontogeny and phylogeny in the northern swordtail clade of *Xiphophorus*. Systematic Biology 48:491-522.
- Margolis, L., G. W. Esch, J. C. Holmes, A. M. Kuris y G. A. Schad. 1982. The use of ecological terms in parasitology (Report of an *ad hoc* committee of The American Society of Parasitologists). Journal of Parasitology 68:131-133.
- Mendoza-Garfias, B. y G. Pérez-Ponce de León. 2005. *Phyllodistomum centropomi* sp. n. (Digenea: Gorgoderidae), a parasite of the fat snook, *Centropomus parallelus* (Osteichthyes: Centropomidae), in the Papaloapan River at Tlacotalpan, Veracruz State, Mexico. Zootaxa 1056:43-51.
- Monks, S., V. R. Zárate-Ramírez y S. Moreno-Flores. 2003. Helmintos bioindicadores de la calidad del agua en la Reserva de Barranca de Metztitlán. Memorias del Foro Sobre la Problemática del Agua: un Desafío para las IES en la Región Centro-Sur de la República Mexicana, Foro Consultivo Científico y Tecnológico, A.C. y la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES), A.C. CL-10:1-10.

- Monks, S., V. R. Zárate-Ramírez y G. Pulido-Flores. 2005. Helminths of freshwater fishes from the Metztitlán Canyon Reserve of the Biosphere, Hidalgo, Mexico. Comparative Parasitology 72:212-219.
- Moreno-Flores, S. 2003. Algunos helmintos de posible riesgo zoonótico en Metztitlán, Hidalgo, México. Maestría en Ciencias, El Colegio de la Frontera Sur, Chetumal, Quintana Roo. 76 pp.
- Morris, M. R., K. de Queiroz y D. C. Morizot. 2001. Phylogenetic relationships among populations of northern swordtails (*Xiphophorus*) as inferred from allozyme data. Copeia 2001:65-81.
- Pigulevskii, S. V. 1953. The family Gorgoderidae Loos, 1901 (Subfamily Phyllostomatinae Pigulevsky, 1952 and Plesiochorinae Pigulevsky, 1952). En: Skrjabin, K. I. (Eds). Trematodes of animals and man. Akademii Nauk. Moscow. pp.
- Pritchard, M. H. y G. O. W. Kruse 1982. The collection and preservation of animal parasites. Lincoln, Nebraska, University of Nebraska Press
- Pulido-Flores, G., S. Monks y A. J. Gordillo-Martínez. 2005a. Monitoreo de bajo costo en la evaluación de la calidad ambiental. Revista Internacional de Ciencias Ambientales 21(suppl. 1):578-583.
- Pulido-Flores, G., S. Moreno-Flores y S. Monks. 2005b. Helminths of Rodents (Rodentia: Muridae) from Metztitlán, San Cristóbal and Rancho Santa Elena, Hidalgo, Mexico. Comparative Parasitology 72:186-192.
- Rauchenberger, M., K. D. Kallman y D. C. Morizot. 1990. Monophyly and geography of the Río Pánuco Basin swordtails (genus *Xiphophorus*) with descriptions of four new species. American Museum Novitates 2975:1-41.

- Roberts, L. S. y J. J. Janovy, Jr. 2005. Foundations of Parasitology. Ed. McGraw-Hill Education. 702 pp.
- Rosen, D. E. 1960. Middle-American poeciliid fishes of the genus *Xiphophorus*. Bulletin of the Florida Museum of Natural History. Biological sciences 5:58-242.
- Schmidt, G. D. y L. S. Roberts. 1985. Foundations in Parasitology. Ed. Times Mirror/Mosby College Publishing. St. Louis, Missouri. 775 pp.
- Suter, M. 2004. A neotectonic–geomorphologic investigation of the prehistoric rock avalanche damming Laguna de Metztitlán (Hidalgo State, east–central Mexico). Revista Mexicana de Ciencias Geológicas 21:397-411.
- Wanson, W. W. y O. R. Larson. 1972. Studies on helminths of North Dakota. V. Life history of *Phyllodistomum nocomis* fischthal, 1942 (Trematoda: Gorgoderidae). Journal of Parasitology 58:1106-9.
- Winter, H. A. 1953. Presencia de *Spirocammallanus spiralis* (Baylis, 1923) Olsen, 1952 (Nematoda) en peces marinos de aguas Mexicanas. Ciencia 13:137-140.
- Wischnath, L. 1993. Atlas of Livebearers of the World. Ed. T. F. H. Publications, Inc. New Jersey, New Jersey. 336 pp.
- Yamaguti, S. 1971. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Ed. Keigaku Publishing Co. Tokyo, Japan. 1074 pp.
- Zárate-Ramírez, V. R. 2003. Evaluación de la biodiversidad de helmintos en peces de la reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán, Hidalgo, México. Maestría en Ciencias, El Colegio de la Frontera Sur, Chetumal, Quintana Roo. 75 pp.

Apéndice I. Especies de *Phyllodistomum* descritas en el continente Americano

Espece	Autor	Estado	País	Región	Hospedero	Tipo de hospedero
<i>P. brevicecum</i>	Steen, 1938		EUA	NA	<i>Umbra limi</i>	Pez
<i>P. carangis</i>	Manter, 1947	Florida, Sinaloa	M	NA	<i>Caranx ruber</i>	Pez
	Winter, 1958				<i>Citula dorsalis</i>	Pez
	Holl, 1929	Norte de Carolina,				Pez
	Pearse, 1924	Kansas	EUA	NA	<i>Ameiurus natalis</i>	Pez
<i>P. carolini</i>	Wu, 1938				<i>Chaenobrittus gulosus</i>	Pez
					<i>Ictalurus melas</i>	Pez
<i>P. caudatum</i>	Steelman, 1938	Oklahoma Kansas	EUA	NA	<i>Ameiurus melas</i>	Pez
					<i>Ameiurus natalis</i>	Pez
						Salamandria
<i>P. coatneyi</i>	Meserve, 1943	Wisconsin	EUA	NA	<i>Ambystoma maculatum</i>	Pez
<i>P. etheostomae</i>	Fischthal, 1942	Michigan	EUA	NA	<i>Etheostoma b. blennoides</i>	Pez
					<i>Hadropterus maculatus</i>	Pez
					<i>Percina caprodes</i>	Pez
					<i>semifasciata</i>	
					<i>Catostomus commersonii</i>	Pez
					<i>Boleosoma nigrum</i>	Pez
					<i>Cottus hardii</i>	Pez
<i>P. fausti</i>	Pearse, 1924			NA	<i>Aplidinotus grunniens</i>	Pez
					<i>Semotilus atromaculatus</i>	Pez
<i>P. hunteri</i>	Arnold, 1934	Nueva York	EUA	NA	<i>Ameiurus nebulosus</i>	Pez
	Wu, 1938					
	Steen, 1947					
<i>P. lachancei</i>	Choquette, 1947	Mississippi	C	NA	<i>Salvelinus fontinalis</i>	Pez
<i>P. lacustri</i>	Loewen, 1929	Kansas	EUA	NA	<i>Ameiurus lacustris</i>	Pez
					<i>Ictalurus anguilla</i>	Pez
					<i>Ictalurus punctatus</i>	Pez
					<i>Notorus flavus</i>	Pez
					<i>Ameiurus natalis</i>	Pez
					<i>Ameiurus melas</i>	Pez
					<i>Opladelus olivarisi</i>	Pez
<i>P. lohrenzi</i>	Loewen, 1935		EUA	NA	<i>Apomotis cyanellus</i>	Pez
	Bhalerao, 1937				<i>Hurosalmides</i>	Pez
					<i>Micropterus dolomieu</i>	Pez
					<i>Helicoperca macrochira</i>	Pez

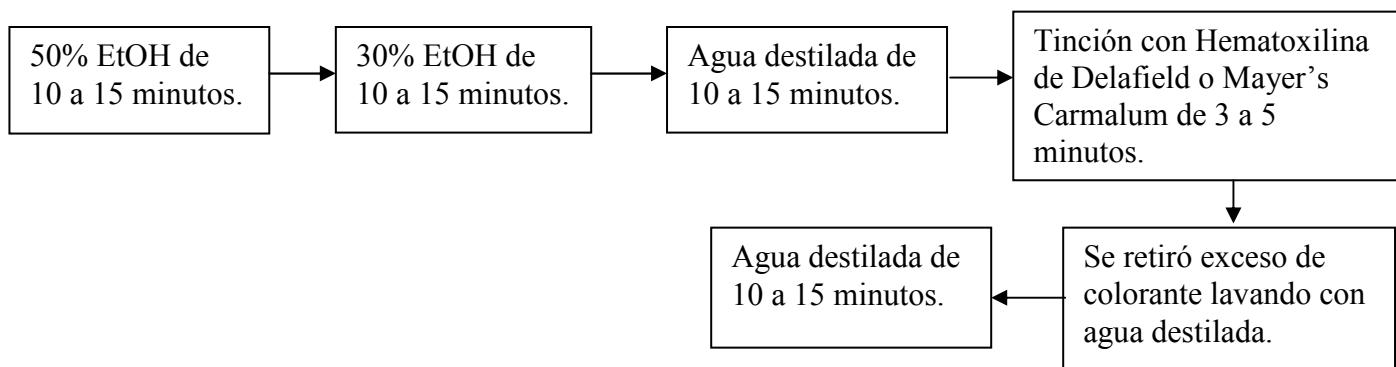
Especie	Autor	Estado	País	Región	Hospedero	Tipo de hospedero
<i>P. lohrenzi</i>	Bhalerao, 1937				<i>Eupomotis microlopus</i> <i>Lepomis humilis</i> <i>Lepomis gibbosus</i>	Pez
<i>P. lysteri</i>	Miller, 1940			NA	<i>Catostomus commersonii</i>	Pez
<i>P. marinae</i>	Bravo-Hollis y Manter, 1957	Baja California	M	NA	<i>Mycteropterus pardalis</i>	Pez
<i>P. nocomis</i>	Fischthal, 1942		EUA	NA	<i>Nocomis biguttatus</i> <i>Notropis cornutus</i> <i>chryscephalus</i>	Pez
<i>P. notropidus</i>	Fischthal, 1942		EUA	NA	<i>Notropis cornutus frontalis</i>	Pez
<i>P. pearsei</i>	Holl, 1929		EUA	NA	<i>Enneacanthus gloriosus</i> <i>Micropterus salmoides</i> <i>Lepomis gibbosus</i> <i>Aphredoderus sayanus</i>	Pez
<i>P. pomacanthi</i>	Nahnas y Cable, 1964	Travassos, Freitas y Mendoca, 1964	J	CA	<i>Pomacanthus arcuatus</i>	Pez
<i>P. ruschii</i>		Travassos, Kohn y Silva Motta, 1964	B	SA	<i>Cichlaurus facetus</i>	Pez
<i>P. sampaioi</i>	1963	Michigan	EUA	NA	<i>Cynoscion leiarchus</i>	
<i>P. semotili</i>	Fischthal, 1942	Michigan	EUA	NA	<i>Semotilus atromaculatus</i>	Pez
<i>P. staffordi</i>	Pearse 1924			NA	<i>Ameiurus nebulosus</i> <i>Ameiurus melas</i> <i>Esox masquigongy</i>	Pez
<i>P. superbum</i>	Stafford, 1904		C	NA	<i>Ameiurus nebulosus</i> <i>Perca flavescens</i> <i>Stizostedion vitreum</i> <i>Salmo</i> <i>Salvelinus</i> <i>Esox</i> <i>Catostomus</i> <i>Micropterus</i> <i>Micripogon</i> <i>Percina</i> <i>Percopsis</i>	Pez
<i>P. trinectes</i>	Corkum, 1961	Louisiana	EUA	NA	<i>Trinectes maculatus</i>	Pez

EUA = Estados Unidos de América, M = México, C = Canadá B = Brasil, J = Jamaica, NA = Norte América, CA = Centro América, SA = Sudamérica

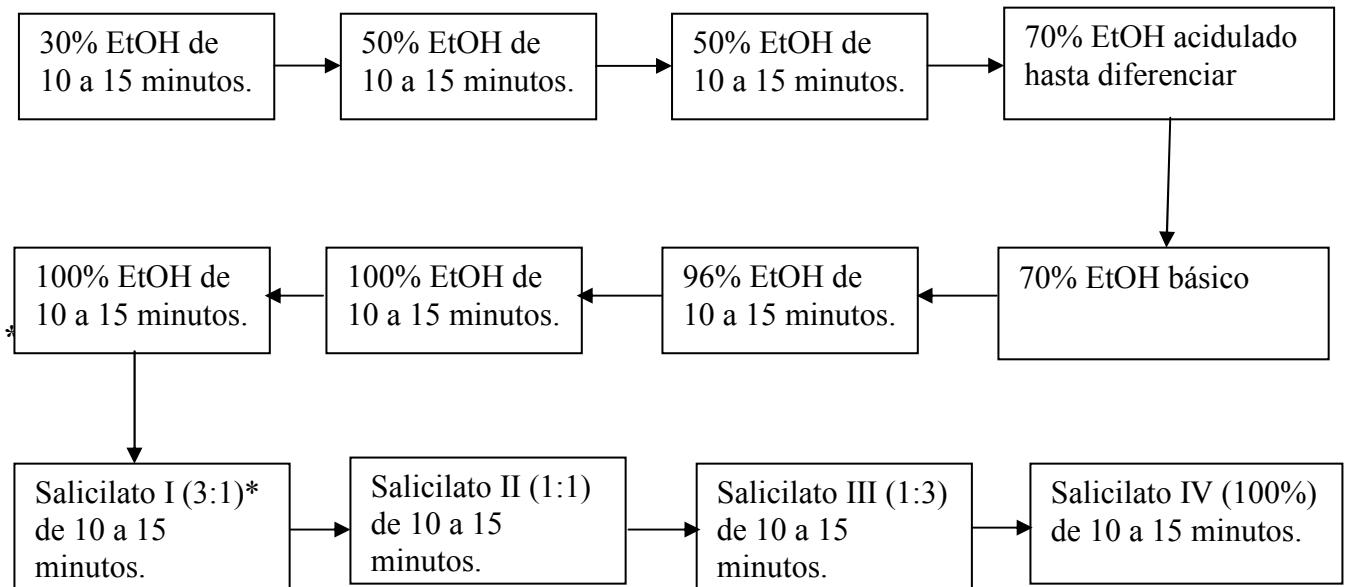
Apéndice II. Técnicas de tinción de helmintos

Los ejemplares digéneos que fueron guardados y conservados en frascos homeopáticos en alcohol 70%, se iniciaron en el proceso de tinción recomendado por Pritchard y Kruse, 1982, de la siguiente manera:

1. Hidratación en alcoholes graduales



2. Deshidratación en alcoholes graduales



*3 unidades de Alcohol por una unidad de Salicilato de metilo.

Apéndice III. Técnicas de preparación de los reactivos empleados en la fijación y tinción de los helmintos.

FIJACIÓN

- **Solución AFA**

	100 ml	500 ml	1 lt
Ácido acético glacial	10 ml	50 ml	100 ml
Formaldehído	10 ml	50 ml	100 ml
Alcohol	80 ml	400 ml	800 ml

COLORANTES

- **Mayer Carmalum**

	~ 100 ml	~ 250 ml	~ 500 ml
Sulfato de aluminio y potasio	6 gr	15 gr	30 gr
Carmín	5 gr	12.5 gr	25 gr
Ácido acético glacial	25 ml	62.5 ml	125 ml
Agua destilada	100 ml	250 ml	500 ml

1. Disolver el Carmín y el Sulfato de aluminio y potasio en un vaso de precipitado con agua destilada. Para mezclar, hervir a fuego lento por una hora en un recipiente que este ligeramente cubierto para evitar la evaporación.
2. Retirar la solución del calor y dejar enfriar
3. En una botella con tapón, colocar el colorante y agregar ácido acético glacial, para curar la solución por aproximadamente 10 días.

4. Filtrar el colorante en una botella limpia con tapón. Agregar algunos cristales de “thymol” para prevenir el crecimiento de hongos y bacterias.

- **Hematoxilina de Delafield**

Solución de aluminio

Al NH₄ (SO₄)₂ - aproximadamente 10 gr.

Agua destilada – 100 ml

1. Agregar el aluminio en el agua destilada caliente, continuamente hasta que los cristales se disuelvan.
2. Dejar enfriar la solución.
3. Poner la solución en un frasco limpio y etiquetado

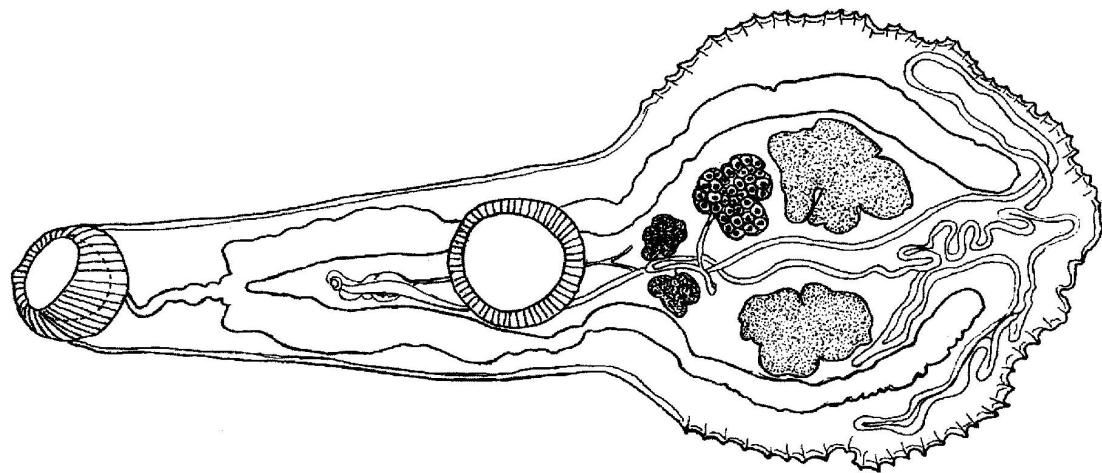
	~ 100 ml	~ 250 ml	~ 500 ml
Cristales de Hematoxilina	1 gr	2.5 gr	5 gr
EtOH 95%	6 ml	15 ml	30 ml
Solución de aluminio	100 ml	250 ml	500 ml
Metil-alcohol (Acetona)	25 ml	62.5 ml	125 ml
Glicerol	25 ml	62.5 ml	125 ml

1. Disolver la Hematoxilina en el alcohol 95% y lentamente agregar a la solución de aluminio.
2. Cubrir el recipiente con una gasa o tela de algodón y dejarlo en un lugar donde quede expuesto a la luz del sol por dos semanas hasta que el colorante se torne de color oscuro.
3. Mezclar la solución con el glicerol y el metil-alcohol.
4. Filtrar la solución antes de usar.

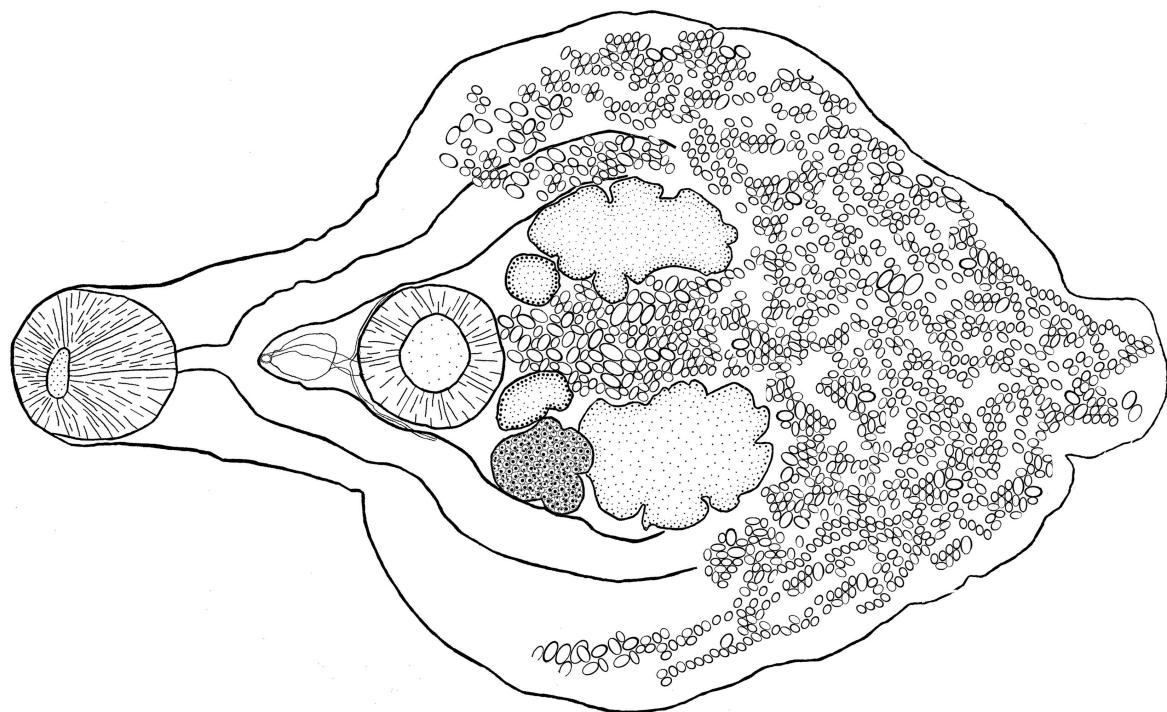
Apéndice IV. Preparaciones fijas de los helmintos colectados

No. De Parásito	Tipo de parásito	Especie de Parásito		Familia	Especie de Hospedero	Autor	Familia	Fecha de Colecta
		(genus)	(sp.)					
Hgo-03-820-01-03	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-03-820-01-04	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-03-820-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-03-820-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-03-788-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-03-106-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	29-agosto-03
Hgo-04-211-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-211-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-188-01-04	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-188-01-03	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-188-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-188-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-201-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-04-207-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	12-septiembre-04
Hgo-05-02-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-07-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-07-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-014-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-011-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-011-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-011-01-03	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-013-01-02	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-013-01-04	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05
Hgo-05-016-01-01	Digeneo	<i>Phyllodistomum</i>	n.sp.	Gorgoderidae	<i>Xiphophorus helleri</i>	Heckel 1848	Poecilidae	26-febrero-05

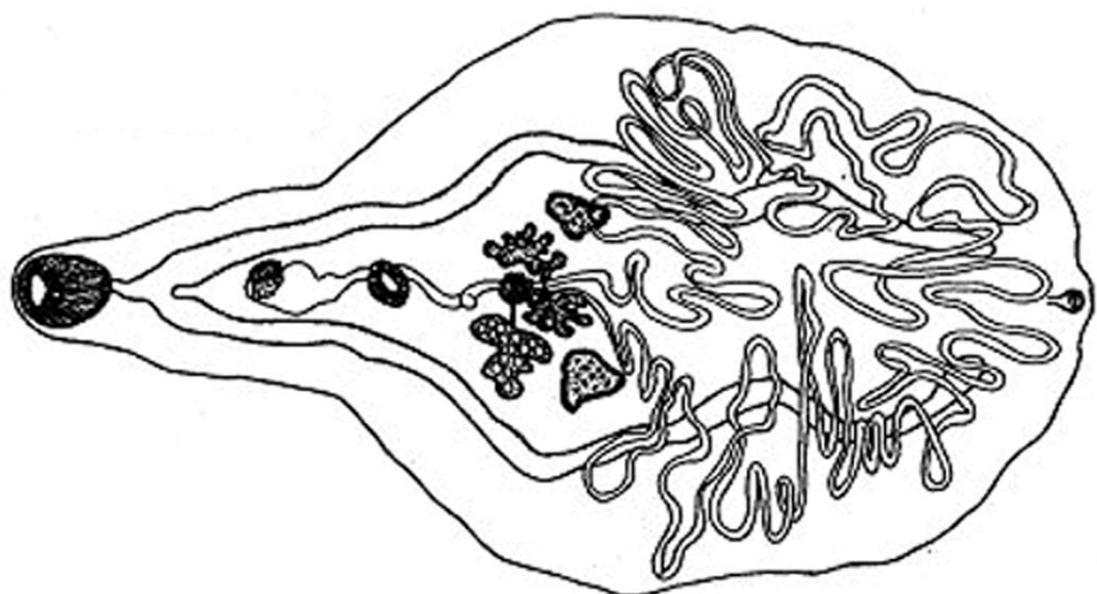
Apéndice V. Esquemas de las especies de *Phyllodistomum* A. *Phyllodistomum lacustri* (Loewen, 1929); B *Phyllodistomum* sp., C *Phyllodistomum mayesi* Brooks y MacDonald, (1986), D *Phyllodistomum centropomi* Mendoza-Garfias, 2005, E *Phyllodistomum rhamiae* Amato y Amato, 1993 (Nota: tamaño de las imágenes ajustado para su comparación)



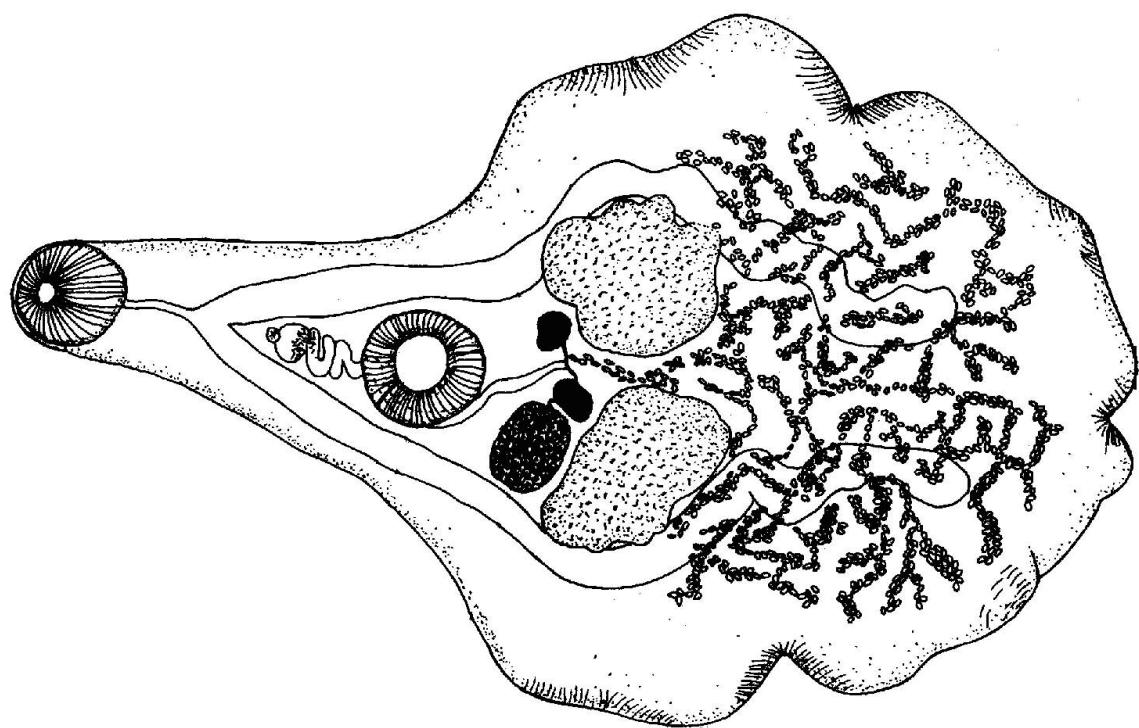
Phyllodistomum lacustri A



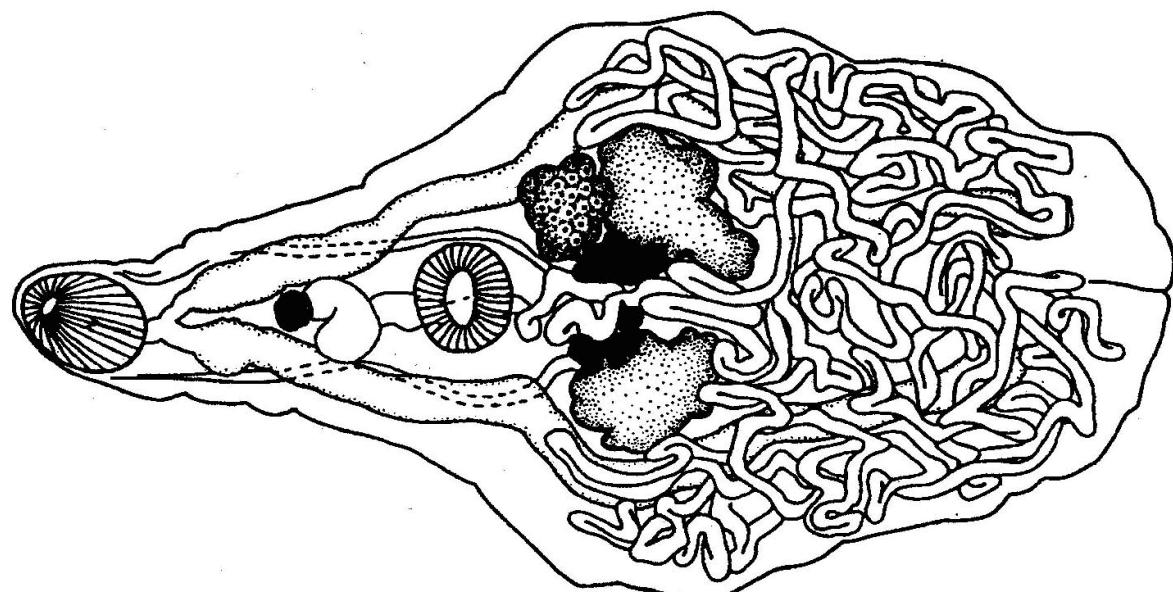
Phyllodistomum sp. B



Phyllodistomum mayesi C



Phyllodistomum centropomi D



Phyllodistomum rhamdiae

E