

2919



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

“Contribución al conocimiento del ciclo de vida de
Centrocestus formosanus Nishigori, 1924 en la
carpa Mylopharyngodon piceus de Tezontepec
de Aldama, Hgo., México”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

Ma. Antonieta Arizmendi Espinosa

México, D. F.

FALLA DE ORIGEN

1989



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Con el presente trabajo, se contribuye al conocimiento del ciclo de vida del trematodo Centrocestus formosanus Nishigori, 1924 en México, al obtenerse de manera experimental las formas adultas de la especie, mediante infecciones en aves (Gallus gallus y Anas sp.) y roedores (Mus musculus), así como al estudio de los estadios larvarios (redias y cercarias) del primer hospedero intermediario natural, el caracol Melanoides tuberculata y de las metacercarias enquistadas en las branquias del pez Mylopharyngodon piceus, cultivado en el Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo; asimismo, se presentan las redescripciones de la redia, la cercaria, la metacercaria y la fase adulta de Centrocestus formosanus y se discute brevemente la situación taxonómica de la especie, sugiriéndose además, el posible esquema general del desarrollo del ciclo de vida del parásito en dicho Centro.

INDICE

DEDICATORIAS

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

| | |
|---|----|
| 1.0 INTRODUCCION | 1 |
| 1.1 Generalidades de Tremátodos | 1 |
| 1.2 Ciclos de Vida | 3 |
| 2.0 ANTECEDENTES | 8 |
| 2.1 Distribución | 11 |
| 2.2 Registro de Hospederos | 11 |
| 3.0 OBJETIVOS | 12 |
| 4.0 METODOLOGIA | 13 |
| 4.1 Procedencia del Material | 13 |
| 4.2 Primeros Hospederos Intermediarios: caracoles.. | 13 |
| 4.3 Segundos Hospederos Intermediarios: peces | 15 |
| 4.4 Hospederos Definitivos | 15 |
| 4.5 Infecciones Experimentales | 16 |
| 4.5.1 Segundos Hosp. Intermediarios: peces | 16 |
| 4.5.2 Hospederos Definitivos: aves y mamíferos | 17 |
| 4.6 Incubación de Huevos | 18 |
| 4.7 Procesamiento del Material | 18 |
| 4.7.1 Redias y Cercarias | 18 |
| 4.7.2 Metacercarias | 18 |
| 4.7.3 Adultos | 19 |

| | |
|---|----|
| 4.8 Estudio Morfológico | 20 |
| 5.0 RESULTADOS | 20 |
| 5.1 Infecciones Experimentales | 20 |
| 5.1.1 Segundos Hospederos Intermediarios: peces ... | 21 |
| 5.1.2 Hosp. Def. Exp.: aves y roedores | 21 |
| 5.1.3 Hospederos Definitivos Naturales | 22 |
| 5.2 Clasificación | 24 |
| 5.3 Redescrpciones | 25 |
| 5.3.1 Redia | 25 |
| 5.3.2 Cercaria | 25 |
| 5.3.3 Metacercarias Experimentales | 27 |
| 5.3.4 Adulto | 29 |
| 5.3.5 Discusión | 31 |
| 6.0 DISCUSION | 36 |
| 6.1 Aspectos Experimentales | 36 |
| 6.2 Ciclo de Vida | 37 |
| 6.2.1 Hospederos Intermediarios | 38 |
| 6.2.2 Hospederos Definitivos | 40 |
| 6.3 Etapas Larvarias | 41 |
| 7.0 DISCUSION GENERAL | 43 |
| 8.0 ANEXO | 45 |
| 9.0 LITERATURA CONSULTADA | 49 |

1.0 INTRODUCCION

Actualmente, el Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo, es uno de los más importantes en la producción de crías de ciprinidos en México. A partir de 1981, se inició aquí el cultivo de carpas de origen asiático, como la "herbívora" *Ctenopharyngodon idellus*, la "plateada" *Hypophthalmichthys molitrix* y la "barrigona" *Cyprinus carpio rubrofuscus* (Májica-Cruz, 1987). Posteriormente, se introdujeron otras especies, entre ellas la carpa "negra de China" *Myllopharyngodon piceus*, de la cual se obtuvo parte del material utilizado en este estudio.

En 1985, se detectó una parasitosis en las branquias de la carpa *M. piceus*, cultivada en dicho Centro, que de acuerdo con López-Jiménez (1987), causaba graves daños respiratorios a sus crías en casos de infecciones masivas. El mismo autor propuso que el agente causante de esa infección era la metacercaria enquistada de *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932, basándose en la morfometría de dicha larva. Sin embargo, el presente trabajo constituye el primer estudio taxonómico de algunas de las etapas larvarias, así como del estado adulto de este parásito para nuestro país.

A continuación se presentan dos subincisos que incluyen, el primero de ellos, la morfología general de los tremátodos y el segundo, la fisiología que comúnmente rige a los ciclos de vida de éstos.

1.1 Generalidades de Tremátodos.

Los tremátodos constituyen el grupo más numeroso de los platelmintos, ya que actualmente se conocen más de 6000 especies

en todo el mundo (Schmidt y Roberts, 1984).

Todos los tremátodos adultos son endoparásitos de vertebrados en los que pueden encontrarse parasitando aparatos como el digestivo y órganos accesorios, el excretor, el circulatorio, el reproductor y el sistema nervioso. Algunas de sus etapas larvarias están ampliamente distribuidas en invertebrados y vertebrados que actúan como hospederos intermediarios. Ambas propiedades les confieren una gran importancia desde el punto de vista médico, veterinario y biológico dado que causan severas enfermedades al hombre y a numerosos animales domésticos y silvestres. Estos helmintos son acelomados y bilateralmente simétricos; la mayoría son aplanados dorsoventralmente y con el cuerpo ovalado, redondeado o fusiforme. En general, los adultos poseen dos ventosas en la superficie del cuerpo: una localizada en la parte anterior (ventosa oral cuando en ella se abre la boca) y la otra en la parte ventral del cuerpo llamada acetábulo. El número y la disposición de estas estructuras han determinado la separación de grupos morfológicos: anfiestoma, distoma, monostoma, gasterostoma, holostoma y equinostoma. Poseen un aparato digestivo incompleto constituido por la boca, prefaringe, una faringe musculosa, esófago y uno o dos ciegos intestinales (que en algunas ocasiones se encuentran ramificados), en donde se lleva a cabo la digestión. El aparato excretor es protonefridial constituyendo un carácter de importancia taxonómica la posición de las células flamíferas que desembocan a los tubos colectores que a su vez éstos, terminan en una vesícula excretora que varía en su morfología según el grupo y que se abre al exterior en el extremo posterior y terminal del cuerpo a través de un poro.

Carecen de aparatos circulatorio y respiratorio. El sistema nervioso es simple, formado por un par de ganglios cerebroides situados debajo de la ventosa oral y conectados por comisuras supraesofágicas, con fibras que inervan todo al cuerpo. Existen órganos de los sentidos sencillos como receptores táctiles, aunque en las cercarias se presentan algunos ligeramente más complejos como cerdas sensoriales, papilas cuticulares y ocelos. Todos los tremátodos son hermafroditas, con excepción de los que integran la familia Schistosomidae y pueden presentar autofertilización o fertilización cruzada. El aparato reproductor masculino generalmente está formado por un par de testículos, pudiendo presentar muchos más (varias decenas). Estos se comunican por medio de sus conductos eferentes que se unen para formar uno deferente o espermaducto que desemboca en la bolsa del cirro y que contiene, además del cirro, glándulas prostáticas y una vesícula seminal que se abre en el poro genital. El aparato reproductor femenino cuenta sólo con un ovario ovalado, redondeado, lobulado o ramificado; de él sale un oviducto que se abre, por medio del oocapto, en el ootipo (cámara donde se lleva a cabo la fecundación y la formación de los huevos) rodeado por la glándula de Mehlis, cuya función concreta es aún incierta. El viteloducto y el receptáculo seminal desembocan en el ootipo, del cual salen el útero y el canal de Laurer (que probablemente representa una vagina vestigial). El útero se abre en el atrio genital a través del gonoporo (Schmidt y Roberts, loc. cit.).

1.2 Ciclos de Vida.

Los tremátodos se caracterizan por presentar ciclos de

vida muy complejos, dado que precisan de uno o más hospederos intermediarios (invertebrados y vertebrados) en los que se desarrollan asexualmente las formas larvarias (esporocisto, redias y cercarias) y un hospedero definitivo vertebrado en el que se lleva a cabo la reproducción sexual, además de presentar dos etapas de vida libre, miracidio y cercaria y una de "resistencia" llamada metacercaria, generalmente enquistada en el segundo hospedero intermediario.

Su ciclo se inicia al salir los huevos del hospedero definitivo, diseminándose en un medio acuático. Los huevos son ovoides, generalmente operculados y los de algunos grupos presentan ornamentaciones superficiales. En general, los huevos de los tremátodos sobreviven en medios acuáticos o húmedos, pero parecen rápidamente en condiciones de sequía.

Los tremátodos presentan dos variedades de huevos: a) aquellos cuyo miracidio eclosiona en el agua del medio y b) en los que el miracidio lo hace solo después de que el huevo ha sido ingerido por el hospedero intermediario. Una excepción a esta generalidad la constituyen los huevos de *Parorchis acanthus*, que liberan a la larva cuando se encuentran aún en el útero del parásito adulto (Smyth y Halton, 1983).

En el interior de los huevos, se forma una larva ciliada llamada miracidio, la cual puede ser ingerida por el primer hospedero intermediario (que generalmente es un molusco) aún dentro del huevo o bien, ser liberada y nadar libremente hasta encontrarlo, para penetrar a través de la pared del cuerpo. Existen evidencias de que muchas especies perciben y son atraídas por el moco de los caracoles (Noble y Noble, 1971). El miracidio sufre una serie de

transformaciones hasta diferenciarse en un saco simple (esporocisto), carente de aparatos digestivo, excretor y reproductor, así como de sistema nervioso, presentando solamente un poro por el cual salen las larvas formadas en su interior (redias); en algunos grupos el poro no existe y las redias salen al romperse la pared del saco; ocasionalmente, la aparición de las redias se retarda por el desarrollo de esporocistos hijos. Por último, en contadas ocasiones el esporocisto puede originar directamente cercarias (Pérez-Iñigo, 1976).

Las redias suelen alojarse en el hepatopáncreas del hospedero y presentan un cuerpo alargado, muchas veces con proyecciones gemiformes llamadas yenas ambulacrales. La boca se abre en el extremo anterior y se continúa con una faringe musculosa y ésta con un saco intestinal ciego. Todo el cuerpo de la redia está formado por una cámara de incubación donde se origina una nueva generación de redias (redias hijas) o bien, de cercarias (Pérez Iñigo, loc. cit.). La última generación de redias libera la etapa larvaria llamada cercaria, que generalmente tiene que abandonar al hospedero para continuar su ciclo de vida. Este estadio larvario tiene que seguir una ruta migratoria desde la redia, donde se desarrolló, hasta el sitio de emergencia en el molusco (generalmente a través de la cavidad del manto). Este aspecto del ciclo de vida ha recibido poca atención y ha sido estudiado en muy pocas especies, entre ellas *Fasciola hepatica* y algunas especies del género *Schistosoma* (Erasmus, 1972). Fuera del hospedero, las cercarias son libres nadadoras y se caracterizan por presentar movimientos muy activos.

Las cercarias se han clasificado, de manera descriptiva, de acuerdo al número y disposición de las ventosas: monostomas, anfistomas, gasterostomas y distomas; también de acuerdo a la morfología de la cola: leptocercas, microcercas, acercas, ropalocercas, pleurolofocercas, cisticercas, furcocercas, y tricocercas; finalmente atendiendo a la presencia de estructuras especiales: equinostoma, xifidicercarias y oftalmocercarias. En estas larvas, se han descrito estructuras propias como: cola, glándulas de penetración o cefálicas, glándulas cistógenas, manchas ocelares y estilete (Pérez Iñigo, loc. cit.).

Existen muchos factores que intervienen en los patrones de emergencia de las cercarias, tales como: temperatura, pH, periodos de luz-obscuridad, salinidad del agua, etc. Las cercarias presentan un cuerpo ligeramente aplanado en sentido dorsoventral y generalmente provisto de dos ventosas. Poseen un aparato digestivo constituido por una boca, faringe y dos ciegos intestinales que no son funcionales; el aparato excretor es protonefridial y su aparato reproductor está representado por primordios genitales.

Cuando las cercarias penetran en un segundo hospedero intermediario, que puede ser un invertebrado o un vertebrado, pierden la cola, generalmente se enquistan y desaparecen las estructuras que se mencionaron como propias y comienza entonces el desarrollo del aparato reproductor, transformándose en metacercarias. Esta es otra etapa larvaria más de muchos tremátodos, que generalmente se enquista en los tejidos del nuevo hospedero o bien sobre la vegetación y que se considera como una etapa de "reposo", lo que no implica una inactividad fisiológica

total, ni la discontinuidad en los procesos metabólicos y de desarrollo de la larva. La metacercaria representa una etapa en la que la potencialidad para continuar el ciclo y la capacidad para la infección de los hospederos se ve retenida y mantenida durante un largo periodo (Snyth y Halton, loc. cit.).

Aún no ha sido esclarecido el mecanismo mediante el cual se induce el enquistamiento, pero en términos generales debe estar dado por un componente del nuevo medio en el que el parásito se encuentra, incluso se han mencionado algunos factores como: pH, temperatura, enzimas del hospedero, etc. (Erasmus, loc. cit.).

El hospedero definitivo, al alimentarse de la vegetación o del hospedero intermediario, se infecta con las metacercarias que en ellos se encuentran. Posteriormente, se presenta el desenquistamiento de la metacercaria, que está regulado por las enzimas digestivas del hospedero, pero que puede ser estimulado por agentes reductores y un medio rico en bióxido de carbono (Noble y Noble, loc. cit.). En el hospedero definitivo se desarrolla el adulto y alcanza en él la madurez sexual.

Noble y Noble (loc. cit.) mencionan que los estadios larvarios de los tremátodos son altamente específicos, a diferencia de los parásitos adultos que pueden infectar numerosas especies de vertebrados. También comentan que no se conoce con certeza el efecto del parásito sobre el primer hospedero intermediario, pero que en este último se ha encontrado que se inhibe el crecimiento de las gónadas y de esta manera se imposibilita la reproducción; además de que en infecciones masivas, el hepatopáncreas se deteriora gravemente.

2.0 ANTECEDENTES

El estudio de los ciclos de vida de los tremátodos no es muy extenso, ya que se ha dirigido principalmente hacia las especies de importancia médica, así, el primer ciclo vital establecido para un tremátodo fue el de Fasciola hepatica, estudiado por Leuckart, 1882 (In: Faust et al., 1974). Particularmente, sobre los ciclos biológicos de las especies del género Centrocestus, existen algunos trabajos con los que se han llegado a describir, casi en su totalidad, las etapas larvarias que intervienen durante su desarrollo, así como estudios que contribuyen al conocimiento de los hospederos intermediarios de dicho parásito.

Los estudios sobre este género se iniciaron con Looss (1899), quien propuso la creación del mismo, para incluir en él a C. cuspidatus, descrito en 1896 bajo el nombre de Distomum cuspidatum y se continuaron posteriormente con estudios sobre diversos aspectos.

Ransom (1921) presentó una diagnosis de la familia Heterophyidae y una del género Centrocestus, haciendo mención de los hospederos definitivos, el hábitat y las localidades donde se recolectaron los parásitos de dicho género. Presentó además, una nota breve sobre C. cuspidatus, objeto del trabajo realizado por Leiper en 1913, en el que describió a este tremátodo encontrado en Taiwan (antes Formosa).

En 1929, Takahashi, redescubrió los estadios larvarios de C. arcuatus en Melania libertina y Carassius auratus estableciéndolos como primero y segundo hospederos intermediarios respectivamente (In: Yanaguti, 1975).

Faust, et al. (loc. cit.), realizaron una descripción de la superfamilia Heterophyioidea, mencionando los parásitos que se habían registrado en el hombre, entre los que señaló a Centrocestus armatus y Centrocestus formosanus. Además explicó las vías de infección y diversas lesiones producidas por algunas especies de la familia Heterophyidae.

En Filipinas, Vázquez-Colet y Africa (1938, 1939 y 1940) determinaron a los peces que intervienen como hospederos intermediarios de algunos tremátodos heterófidis mediante infecciones experimentales y estudios morfológicos, de incidencia, sitio y grado de infección de varias metacercarias, entre ellas la de C. formosanus.

Uno de los trabajos que en particular consideramos de mayor importancia es el que realizó Chen (1942), en el que redescubrió a la metacercaria y al adulto de C. formosanus y comparó morfométricamente a éste con los adultos de C. armatus y C. cuspidatus. El mismo autor en 1948, hizo la descripción de algunos estadios larvarios de C. formosanus, particularmente de redias y cercarias.

En 1958, Martín describió al esporocisto, la redia, la cercaria y la metacercaria de C. formosanus, obteniendo también el estado adulto mediante infecciones experimentales en pollos, ratas, ratones blancos y gatos. La importancia del trabajo de dicho autor es, fundamentalmente, por la descripción del esporocisto, que hasta ahora constituye el único registro de esta fase larvaria. En 1959, este mismo autor describió la metacercaria y el adulto de C. cuspidatus a partir de

metacercarias enquistadas en peces del género *Gambusia* en un canal cercano al lago Garum, en Egipto.

Un estudio importante fue el que realizaron Premvati y Pande en 1974, sobre *C. formosanus*, con el que infectaron experimentalmente aves (*Gallus gallus*) de la casta Leghorn, resultando de ello la descripción del adulto, el registro de los hospederos intermediarios, la dosis infectiva administrada, el número de especímenes recuperados y el número promedio de huevos por parásito adulto en cada grupo, separado por edades del mismo organismo.

Recientemente, Madhavi (1986), efectuó un estudio sobre la distribución espacial de las metacercarias de *C. formosanus* en las branquias de *Aplocheilichthys panchax* y concluyó que dicha distribución pudiera depender de: 1) las corrientes de agua; 2) una "respuesta conductual" del parásito y 3) la superficie de contacto que presenten las branquias.

En México, este tremátodo se conoce muy recientemente. De acuerdo con López-Jiménez (loc. cit.), las metacercarias enquistadas de *C. formosanus* se observaron por primera vez en 1985 en las branquias de la "carpa negra" de China *Mylopharyngodon piceus*, cultivada en el Centro Piscícola de Tezontepec y que posteriormente se les encontró en crías de otras especies de carpas como la "cabezona" *Aristichthys nobilis*, la "barrigona" *Cyprinus carpio rubrofasciatus*, la "espejo" *C. carpio specularis* y la "herbívora" *Ctenopharyngodon idellus*; éste constituye el primer registro del parásito en nuestro país. Cabe señalar que en 1979 se importaron a México cinco parejas de

ejemplares adultos de *M. piceus* de la República Popular China (Shangai) con objeto de lograr su reproducción y asimismo, su explotación comercial (Juárez-Palacios, et al., 1984), con lo que probablemente se haya efectuado la introducción del parásito a nuestro país, sin descartar la posibilidad de que ésta se haya llevado a cabo a través de los caracoles que se importaron paralelamente para la alimentación de estos peces.

2.1 Distribución

A nivel mundial, *C. formosanus* se ha registrado en los siguientes países: Taiwan (antes Formosa) (Nishigori, loc. cit.); Filipinas (Vázquez - Colet y Africa, 1938); China (Chen, 1942); Hawaii (Martin, 1958); India (Pande y Shukla, 1972 y Premvati, y Pande, loc. cit.); Malasia (Bayssade-Duffour, et al., 1982); Japón (Yanohara, 1985) y México (López-Jiménez, loc. cit.); cabe señalar que en este último no existe de manera natural, sino que *C. formosanus* es una especie introducida de origen asiático.

2.2 Registro de Hospederos.

En estado adulto, *C. formosanus* parasita aves y mamíferos, que constituyen sus hospederos definitivos (Cuadro 1). El primer hospedero intermediario corresponde a moluscos de las especies *Melanoides tuberculata* (Chen, 1948), que es el caracol registrado para México por López-Jiménez (Com. pers.) y *Stenomelania newcombi* (Martin, 1958), y el segundo a peces (Cuadro 2), aunque también se han registrado para este último caso algunos anfibios como *Bufo melanostictus* (Chen, 1942).

Cuadro 1.- Hospederos definitivos (aves y mamíferos) naturales de C. formosanus registrados en el mundo.

| Lugar de Recolección | Ave | Mamífero |
|--|--|--|
| Islas Filipinas (Vazquez y Africa, 1940) | <u>Pyrreroides manilensis</u> <u>Egretta</u> sp. | |
| Cantón, China (Chen, 1942) | | <u>Mus norvegicus</u> <u>Felis catus</u> |
| India (Fande y Shukla, 1972) | <u>Ardeola grayii</u> | |
| India (Premati, 1974) | <u>Ardea purpurea</u> <u>Bubulcus ibis</u> <u>E. intermedia</u> <u>N. nycticorax</u> <u>Platalea leucorodia</u> <u>Ardeola grayii</u> | <u>Canis familiaris</u> <u>Felis catus</u> <u>Nycteronyx</u> sp. <u>R. norvegicus</u> |
| Japón (Yanohara, 1985) | <u>N. nycticorax</u> <u>E. garzetta</u> <u>Ixobrychus cinnamomeus</u> | |

Cuadro 2.- Especies de peces dulceacuícolas registradas como segundos hospederos intermediarios naturales de *Centrocestus formosanus* en países asiáticos.

| | |
|--|---|
| <p>Taiwan (Nishigori, 1924)</p> | <p><u>Carassius auratus</u> (Cyprinidae) <u>Clarias fuscus</u> (Clariidae) <u>Channa formosana</u> (Ophicephalidae) <u>Pseudorasbora parva</u> (Cyprinidae) <u>Rhodeus ocellatus</u> (Cyprinidae) <u>Gambusia affinis</u> (Poeciliidae) <u>Polyacanthus operculatus</u> (Polyacanthidae) <u>Ctenopharyngodon idella</u> (Cyprinidae) <u>Ophicephalus tedianus</u> (Ophicephalidae) <u>Misgurnus anguillicaudatus</u> (Cobitidae) <u>Parasilurus asotus</u> (Siluridae) <u>Laccu platypus</u> (Cyprinidae) <u>Cyprinus carpio</u> (Cyprinidae)</p> |
| <p>Islas Filipinas (Vazquez y Africa 1940)</p> | <p><u>Hemiramphus dussumieri</u> (Hemiramphidae)</p> |
| <p>Hong-Kong (Chen, 1942)</p> | <p><u>Macropodus specularis</u> (Osphronemidae) <u>Puntius semifasciatus</u> (Cyprinidae) <u>Carassius auratus</u> (Cyprinidae) <u>Misgurnus anguillicaudatus</u> (Cobitidae)</p> |
| <p>Hawaii (Martin, 1958)</p> | <p><u>Gambusia affinis</u> (Poeciliidae) <u>Kuhlia sandvicensis</u> (Kuhliidae) <u>Mugil cephalus</u> (Mugilidae) <u>Xiphophorus helleri</u> (Poeciliidae)</p> |
| <p>India (Fande y Shukla, 1972)</p> | <p><u>Esomus danricus</u> (Cyprinidae) <u>Puntius sophore</u> (Cyprinidae) <u>Puntius chola</u> (Cyprinidae) <u>Puntius ticto</u> (Cyprinidae) <u>Nandus nandus</u> (Nandidae) <u>Osteobrama cotia</u> (Cyprinidae) <u>Renentodon cancella</u> (Belontiidae) <u>Channa punctatus</u> (Ophicephalidae) <u>Notopterus notopterus</u> (Notopteridae) <u>Chela labuca</u> (Cyprinidae) <u>Oxygaster phulo</u> (Cobitidae) <u>Oxygaster bacalla</u> (Cobitidae) <u>Mastacembelus punctatus</u> (Belontiidae)</p> |
| <p>(Nath, 1974)</p> | <p><u>Cirrhina reba</u> (Cyprinidae) <u>Labo bata</u> (Speridae) <u>Amblypharyngodon mola</u> (Cyprinidae) <u>Puntius sarana</u> (Cyprinidae)</p> |
| <p>(Freemati y Pande, 1974) (Mathavi, 1926)</p> | <p><u>Channa punctatus</u> (Ophicephalidae) <u>Mystus vittatus</u> (Bagridae) <u>Camp. binaculatus</u> (Siluridae) <u>Colisa latius</u> (Osphronemidae) <u>Spiocheilus panchax</u> (Cyprinodontidae)</p> |

3.0 OBJETIVOS

- 1.- Determinar la identidad específica del tremátodo parásito de las branquias de Mylopharyngodon piceus en el Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo.
- 2.- Establecer los hospederos intermediarios naturales del parásito que intervienen en su ciclo biológico en dicho Centro.
- 3.- Proponer un esquema general del desarrollo del ciclo de vida de este tremátodo en el Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo..

4.0 METODOLOGIA

4.1 Procedencia del Material Estudiado.

Las formas larvarias utilizadas para la realización de este trabajo, fueron recolectadas tanto de peces como de moluscos provenientes del Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo y los arroyos adyacentes a éste.

4.2 Primeros hospederos intermediarios: Caracoles.

Se recolectaron 300 caracoles de la especie Melanoides tuberculata Muller, 1774 (Prosobranchia: Thiaridae), en los canales adyacentes a los estanques del Centro Piscícola y en un arroyo que corre a lo largo del límite sur del mismo; esto último se hizo debido a que los estanques del centro fueron vaciados para ser encalados y eliminar de esta manera a los moluscos.

La recolecta se efectuó retirando los caracoles directa y manualmente de las paredes y del fondo de los canales y del arroyo. Posteriormente, fueron colocados en bolsas de polietileno con un poco de agua del medio para ser transportados al laboratorio.

Ya en el laboratorio, los caracoles se colocaron de dos en dos en pequeños frascos con un poco de agua corriente de clorinada y un trozo pequeño de lechuga fresca. Todos los frascos se cubrieron con una malla para evitar que los caracoles escaparan y se dejaron en condiciones naturales de temperatura, luz y oscuridad. Los frascos fueron revisados diariamente bajo el microscopio estereoscópico con la finalidad de determinar en cuáles de los hospederos había ocurrido la liberación de

cercarias; una vez emergidas, los órganos internos de los caracoles se examinaron mediante la disección de los mismos o bien, se aplastó su masa visceral entre dos vidrios, para obtener además de las cercarias, otras formas larvarias (redias), siendo el primer método el que resultó más efectivo.

Las cercarias obtenidas fueron utilizadas con tres fines diferentes:

a) Para estudiar y caracterizar estructuras "in vivo", como glándulas de penetración, células flamíferas y espinas orales, con ayuda de colorantes vitales como rojo neutro y sulfato azul de Nilo, diluidos en soluciones acuosas en concentraciones menores al 1% (Almeyda, 1988), agregados a una solución fisiológica de NaCl al 4% (Langeron, 1949), para lo cual, las cercarias se colocaron en una caja de Petri con la solución fisiológica. Posteriormente, en un portaobjetos, se colocó una gota del colorante, se dejó secar y sobre la mancha, se agregó una gota de la solución conteniendo las cercarias, se colocó el cubreobjetos y se observó al microscopio.

b) Para elaborar preparaciones permanentes mediante las técnicas helmintológicas convencionales, señaladas en el Anexo.

c) Para infectar peces experimentalmente (Inciso 4.5.1).

4.3 Segundos hospederos intermediarios: Peces.

Los segundos hospederos intermediarios examinados, corresponden al ciprinido *Mylopharyngodon piceus* conocido comúnmente como "carpa negra de China".

Los peces fueron recolectados por los piscicultores del Centro con ayuda de redes comunes para pesca en estanque y se transportaron al laboratorio en bolsas de polietileno con agua del medio saturada de oxígeno.

Los 50 hospederos revisados se sacrificaron por asfixia. Se extrajeron sus arcos branquiales con pinzas y tijeras de disección y se colocaron en una caja de Petri con solución salina al 0.6%. Cada arco branquial se revisó bajo el microscopio estereoscópico. Los filamentos que contenían metacercarias enquistadas se separaron con pinzas de punta fina y se colocaron en otra caja de Petri con solución Ringer, permaneciendo a una temperatura de 4° C, hasta el momento de ser utilizados (procurando no mantenerlos en estas condiciones por más de 48 horas).

El material obtenido fue utilizado para realizar infecciones experimentales de aves y mamíferos (Inciso 4.5.2).

4.4 Hospederos Definitivos.

Para establecer el posible hospedero definitivo natural de *G. ficosadus*, se procedió a colocar 30 trampas para roedores en el Centro y sus alrededores en dos ocasiones, dejándolas durante la noche. Como cebo, se utilizó una mezcla de avena con esencia de vainilla.

No se efectuó captura de aves.

Como hospederos definitivos experimentales se utilizaron aves y mamíferos. En el caso de las aves, se infectaron cuatro patos domésticos (*Anas sp.*) de 12 días de edad y tres pollos domésticos

(*Gallus gallus*) de cinco a ocho y 30 días de edad.

Los mamíferos empleados fueron 19 ratones blancos adultos de la especie *Mus musculus*.

4.5 Infecciones Experimentales

4.5.1 Segundos hospederos intermediarios: Peces.

Las cercarias vivas, emergidas de los caracoles, se colocaron en pequeños cristalizadores conteniendo agua corriente de clorinada, donde posteriormente se introdujo una "carpa" de la especie *C. idellus* por recipiente durante un lapso de seis horas.

Estas carpas procedían del Centro Acuícola de Zacapu, Mich., donde son cultivadas y se encuentran libres del parásito. Transcurrido este tiempo, los peces se trasladaron a un acuario, en el que permanecieron durante 35 días, de acuerdo con el tiempo requerido por las cercarias para su fijación y enquistamiento en el tejido (Yanaguti, 1971). Posteriormente, sus branquias fueron revisadas bajo el microscopio estereoscópico. En total se infectaron 12 peces con un número indefinido de cercarias.

Las metacercarias enquistadas recuperadas fueron utilizadas para infecciones experimentales de mamíferos, y algunas otras fueron liberadas del quiste (rompiendo éste mecánicamente con alfileres entomológicos) para ser procesadas y montadas en preparaciones permanentes.

4.5.2 Hospederos definitivos: Aves y Mamíferos.

Para realizar la infección experimental tanto de aves como de

mamíferos, se siguió el procedimiento citado a continuación:

A los hospederos se les suspendió el agua y el alimento 12 horas antes y 12 horas después de la infección. Para llevar a cabo ésta, se procedió a colocar los filamentos branquiales con los quistes adheridos, directamente en la boca de los hospederos, con ayuda de una pipeta Pasteur, conteniendo además, una pequeña cantidad de solución salina, de acuerdo con la técnica propuesta por Vázquez-Colet y Africa, (1938). El número de quistes administrados a los hospederos del grupo "A" varió de 50 a 200, mientras que el del grupo "B" fue de 75 a 100 y el del grupo "C" fue siempre 100. Transcurrido un tiempo determinado, que osciló de seis a 18 días, los hospederos fueron sacrificados mediante inhalaciones prolongadas de cloroformo, para después revisar cuidadosamente el intestino de cada uno bajo el microscopio estereoscópico.

Los tremátodos encontrados, fueron recolectados del intestino con pinceles finos y pipetas Pasteur y se colocaron posteriormente en cajas de Petri con solución salina al 0.6%. Este material fue procesado mediante las técnicas de fijación, tinción y montaje utilizadas en helmintología (Ver Anexo). Posteriormente los parásitos fueron medidos y esquematizados para realizar su descripción morfométrica y para su identificación se consultó la bibliografía especializada. Algunos de los ejemplares que no fueron procesados, se desgarraron con alfileres entomológicos para obtener los huevos.

4.6 Incubación de huevos.

Los huevos fueron colocados en cajas de Petri con agua corriente y de tres a cinco gotas de formol al 1% para evitar la proliferación de hongos. El mismo procedimiento se llevó a cabo pero con agua destilada. Posteriormente se utilizaron ambos medios sin agregar formol. Los huevos se dejaron en dichas condiciones y a temperatura ambiente durante 45 días, revisándose diariamente.

4.7 Procesamiento del material.

4.7.1 Redías y Cercarias.

Las larvas se fijaron colocándolas en una caja de Petri con solución salina y agregando Formol al 10% caliente en la misma proporción (Almeyda, loc. cit.).

Una vez fijadas, las larvas se tizaron con acetocarmin de Semichón diluido (consultar Anexo).

4.7.2 Metacercarias.

Las metacercarias vivas, fueron desenquistadas y se colocaron en un portaobjetos conteniendo unas gotas de solución salina, al que se agregaron otras tantas de líquido de Berland con el objeto de matarlas y que quedaran completamente extendidas; posteriormente se colocó un cubreobjetos sobre las metacercarias y se añadió el fijador (líquido de Bouin), por capilaridad a través de uno de los lados de la preparación y simultáneamente por el lado contrario, se retiraron la solución salina y el

líquido de Berland por absorción, colocando tiras de papel filtro a lo largo del margen del cubreobjetos. Una vez que el fijador hubo cubierto totalmente la preparación, ésta se dejó en tales condiciones por 24 horas dentro de una caja de Petri tapada, cuidando de no dejar secar el fijador, añadiendo para ésto, unas gotas del mismo alrededor del portaobjetos para contrarrestar la evaporación. Transcurrido este tiempo, los ejemplares se lavaron en alcohol al 70%, haciendo varios cambios hasta hacer desaparecer el color amarillento del cuerpo.

Posteriormente, se efectuó la tinción de las larvas con hematoxilina de Delafield (consultar Anexo).

4.7.3 Adultos.

Para la fijación y el aplanamiento de los adultos, se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente para las metacercarias. Su tinción se llevó a cabo con hematoxilina de Delafield, paracarmin de Mayer y tricrómica de Gomori (ver Anexo).

4.8 Estudio morfométrico.

Este se llevó a cabo con el material procesado (cercarias, metacercarias y adultos) y consistió en la medición de los ejemplares y estructuras importantes con un ocular calibrado milimétricamente, además de la esquematización de sus principales rasgos mediante la utilización de una cámara clara adaptada a un microscopio óptico. Posteriormente se efectuó la descripción

morfométrica de los organismos.

Todas las medidas tomadas que aparecen en el texto, están dadas en milímetros y se señala el tamaño mínimo y máximo de cada estructura, con el promedio entre paréntesis.

La descripción morfológica de las cercarias y las reñas se realizó "in vivo".

5.0 RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en las infecciones experimentales realizadas en el segundo hospedero intermediario y en los hospederos definitivos de Centrocestus formosanus, así como las redescripciones y los esquemas de las formas larvianas y adulta de la especie, obtenidas en el desarrollo del trabajo.

Asimismo, se sugieren las posibles vías que sigue C. formosanus a lo largo de su ciclo de vida en el Centro Acuicola de Tezontepec.

5.1 Infecciones experimentales

5.1.1 Segundos hospederos intermediarios: peces

Las 12 carpas herbívoras C. idellus revisadas 35 días después de haber sido infectadas, se encontraron parasitadas masivamente tanto en los arcos como en los filamentos branquiales; una de las carpas que murió accidentalmente a los 25 días de la infección, presentó un gran número de pequeños quistes en las branquias que contenían larvas en las que aún se

apreciaban manchas ocelares (que es uno de los rasgos que caracteriza a las cercarias), evidenciando así una infección exitosa aunque con un desarrollo incompleto de las larvas.

5.1.2 Hospederos definitivos experimentales: aves y roedores

El Cuadro 3, muestra los resultados de las infecciones experimentales de los hospederos definitivos con quistes obtenidos de *Mylopharyngodon piceus* y de *Ctenopharyngodon idellus*.

Los hospederos experimentales utilizados fueron: 19 ratones blancos (*Mus musculus*), tres pollos y cuatro patos domésticos (*Gallus gallus* y *Anas* sp., respectivamente).

En el caso de las infecciones del grupo "A", el número mínimo de quistes administrados fue de 50 y el máximo de 200. Para el grupo "B", el número mínimo fue de 75 y el máximo de 100 y al "C" siempre se le administraron 100 quistes.

El tiempo que transcurrió desde el momento de la infección hasta el de revisión varió, para los ratones de cuatro a 18 días, para los pollos entre cuatro y cinco días y para los patos fue de seis y 11 días.

El número de parásitos adultos recuperados por grupo de hospederos fue variable. En las infecciones de los ratones blancos, hubo una variación de dos hasta 44 ejemplares, recolectándose parásitos maduros y grávidos. Sin embargo, de cuatro de los 19 hospederos, no se obtuvo ningún parásito y en uno de ellos, se encontraron cinco tremátodos muertos. En las infecciones de los pollos, solo en un caso no se recuperaron

ejemplares y en los otros dos se obtuvieron cuatro y seis parásitos, todos ellos grávidos. La variación en el número de tremátodos recuperados de las infecciones realizadas en los patos fue de 10 a 17, también grávidos.

El número de hospederos positivos a la infección fue: 15 para el caso de los ratones (que representa un 78.9% de eficiencia de infección), dos para el de los pollos (66.6%) y cuatro para los patos (100%).

5.1.3 Hospederos definitivos naturales

El trapeo realizado en el Centro y sus alrededores, para la recolección de hospederos definitivos naturales, resultó negativo en las dos ocasiones en que se llevó a cabo.

Ciclo de Vida

De acuerdo con lo observado en el Centro Piscícola de Tezontepec, el ciclo biológico de *Centrocestus formosanus* se inicia con la presencia de formas adultas, sexualmente maduras, que parasitan el intestino de aves y mamíferos que se alimentan de peces, así, los huevos producidos por los parásitos y que presentan un embrión no desarrollado, salen con las heces del hospedero definitivo y al encontrarse en un medio acuático y ser ingeridos por el primer hospedero intermedio, un caracol (Faust *et al.*, loc. cit.), liberan al miracidio, que no fue observado en el presente estudio. De acuerdo con López-Jiménez (com. pers.), el molusco hospedero de *C. formosanus*, corresponde a la especie *Melanoides tuberculata*. Ya dentro de los tejidos del

molusco, el miracidio se transforma en esporocisto, fase que tampoco detectamos, que a su vez origina a la única generación de redias observada, cuya mayoría encontramos alojada en el hepatopáncreas y sus vecindades y que asexualmente, por embriogenia en serie, dan lugar a las cercarias, larvas que se encontraron distribuidas en todos los tejidos del caracol.

Al emerger las cercarias, penetran al segundo hospedero intermedio (*Mylopharyngodon piceus*), a través de la corriente respiratoria, llegan a las cavidades operculares y se alojan en los arcos y los filamentos branquiales, en un tiempo experimental de 6 horas, para posteriormente enquistarse y transformarse en metacercarias en un periodo que oscila entre 35 y 40 días, de acuerdo con nuestras observaciones. Las metacercarias, al ser ingeridas junto con el pez por el hospedero definitivo, alcanzan el estado adulto en su intestino, donde maduran sexualmente; cuando alcanzan el estado adulto y maduran sexualmente (en hospederos experimentales, lo logran en un periodo no mayor de cinco días), liberan huevos, cerrándose así el ciclo de vida del parásito (Fig. 5).

CLASIFICACION

Schmidt y Roberts, 1984

PHYLUM: Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE: Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE: Digenea Van Beneden, 1858

SUPERORDEN: Epitheliocystidia La Rue, 1957

ORDEN: Opisthorchiata La Rue, 1957

SUPERFAMILIA: Opisthorchioidea Faust, 1929

FAMILIA: Heterophyidae (Leiper, 1909) Odhner, 1914

SUBFAMILIA: Centrocestinae Looss, 1899

GENERO: Centrocestus Looss, 1899

ESPECIE: C. formosanus (Nishigori, 1924) Price, 1932

5.3-Redescripciones

5.3.1 Redia

La siguiente redescrípción se elaborò de acuerdo con las medidas tomadas a 10 ejemplares vivos, obtenidos de la disección de 20 caracoles (Melanoides tuberculata).

La redia presenta un cuerpo sacciforme, elongado y frecuentemente con yemas gemiformes en los extremos, que mide 0.322-0.515 (0.442) de largo por 0.032-0.096 (0.065) de ancho.

La boca se abre en el ápice del extremo anterior, para continuarse con una faringe musculosa que mide 0.011-0.018 (0.015) de diámetro. Presenta un ciego intestinal (Chen, 1948), que en los ejemplares fue imposible observar por la gran cantidad de masas germinales y de cercarias contenidas en su interior. El poro de puesta se sitúa lateralmente, a la altura de la faringe (Fig. 1).

5.3.2 Cercaria.

La presente redescrípción se basa en las medidas obtenidas de 12 ejemplares fijados y montados en preparaciones permanentes provenientes de la disección de 20 caracoles de la especie M. tuberculata.

La larva, de tipo distoma y leptocerca, presenta un cuerpo cordiforme, cuya morfología se altera al someterlo a la presión ejercida por el aplanamiento entre porta y cubreobjetos, adquiriendo formas alargadas o redondeadas, y cuyas medidas son: 0.06-0.112 (0.077) de largo por 0.033-0.056 (0.043) de ancho y está provisto de pequeñas espinas que se hacen conspicuas sólo en

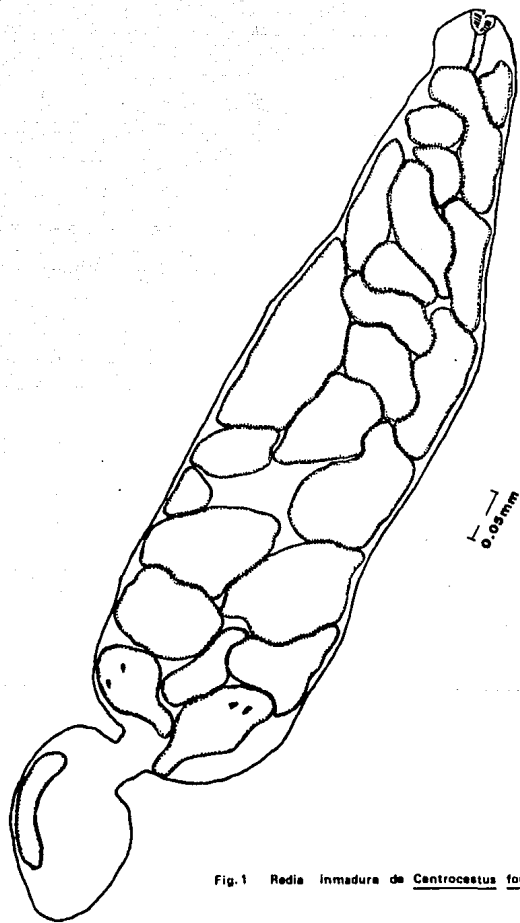


Fig.1 Redia inmadura de Centrocestus formosanus

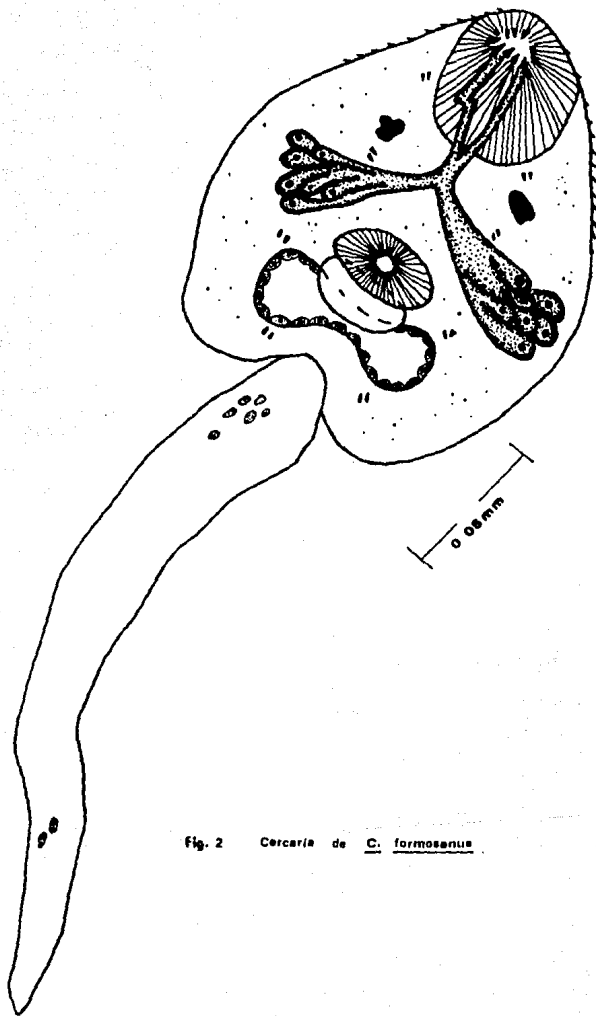


Fig. 2 Cercaria de C. formosensis

la porción anterior, abarcando desde el extremo apical hasta el nivel posterior de la ventosa oral. Dorsalmente y en posición pre-ecuatorial se encuentran situadas dos manchas ocelares de color pardo oscuro.

La cercaria presenta una cola simple que mide 0.063-0.110 (0.093) de largo por 0.007-0.015 (0.012) de ancho.

La ventosa oral está situada en la región anterior del cuerpo, mide 0.015-0.022 (0.018) de diámetro y se encuentra rodeada por nueve espinas pequeñas. El acetábulo es musculoso y ligeramente ovalado; está situado posteriormente a la línea media ecuatorial del cuerpo y mide 0.011-0.022 (0.016) de diámetro.

Las glándulas de penetración están dispuestas en dos racimos formados individualmente por siete células y situados uno a cada lado del cuerpo; éstos se proyectan desde la ventosa oral en dos cordones que convergen a nivel de las manchas ocelares, para separarse nuevamente justo por arriba del acetábulo, constituyendo dos ramas de células piriformes.

El aparato digestivo está formado por una boca que se abre en medio de la ventosa oral y que se continúa con una faringe muscular cuya imagen se pierde frecuentemente por detrás de las glándulas de penetración, que también impiden la observación del esófago y de los ciegos intestinales.

El aparato excretor está constituido por una vesícula excretora ovalada en sentido horizontal, que se localiza en la región posterior del cuerpo y que abarca casi la totalidad de su anchura. Presenta además ocho pares de células flamíferas dispuestas de la siguiente forma: dos pares laterales situados al nivel del límite posterior de la ventosa oral; dos pares justo

por debajo de las manchas ocelares; por arriba de los brazos de la vesícula excretora se encuentran dos pares más y los dos últimos se localizan en la región más posterior del cuerpo, laterales a la vesícula excretora.

No fue posible observar el primordio genital que teóricamente se sitúa transversalmente entre el acetábulo y la vesícula excretora (Chen, 1948).

Las glándulas cistógenas se observaron dispuestas en pequeñas masas a todo lo largo y ancho del cuerpo (Fig. 2).

5.3.3 Metacercaria

La siguiente redescrición está basada en 10 quistes montados en preparaciones permanentes y que fueron obtenidos de los arcos y filamentos branquiales de Stenopharyngodon idellus.

Son de forma ovalada, con la pared transparente y miden 0.177-0.209 (0.190) de largo por 0.128-0.161 (0.140) de ancho. Fuera del quiste, la metacercaria presenta un cuerpo ovalado que mide 0.187-0.206 (0.196) de largo por 0.097-0.108 (0.103) de ancho. La cutícula está provista de espinas en todo el cuerpo; la ventosa oral se encuentra situada en el extremo anterior del mismo y mide 0.018-0.026 (0.021) de largo por 0.026-0.030 (0.029) de ancho. Justo en medio de la ventosa oral se abre la boca, que se encuentra rodeada por una doble hilera de 16 ganchos cada una, correspondiendo los ganchos más grandes a la hilera interna, los cuales miden 0.007 de largo por 0.003 de ancho, y los más pequeños a la externa, que miden 0.005 de largo por 0.003 de ancho. El acetábulo es musculoso, ovalado y está

situado sobre la línea media ecuatorial del cuerpo y mide 0.022-0.030 (0.025) de largo por 0.030-0.037 (0.033) de ancho. El aparato digestivo se inicia en la boca y se continúa con una prefaringe muy corta, que a su vez se comunica con la faringe, que es musculosa, ovalada y mide 0.022-0.026 (0.024) de largo por 0.015-0.018 (0.016) de ancho; a continuación se encuentra el esófago, que también es muy corto; éste se continúa con un par de ciegos intestinales, situados uno a cada lado del cuerpo y que se extienden a nivel del acetábulo.

El aparato reproductor masculino está constituido por dos testículos, ovalados, que están dispuestos uno frente a otro en la región posterior del cuerpo. El testículo derecho mide 0.030-0.033 (0.031) de largo por 0.037-0.045 (0.042) de ancho y el izquierdo 0.026-0.033 (0.029) de largo por 0.037-0.045 (0.041) de ancho. El aparato reproductor femenino se encuentra muy poco desarrollado, el ovario se localiza anteriormente al testículo derecho y mide 0.015-0.018 (0.015) de largo por 0.018-0.022 (0.021) de ancho. El poro genital está situado en la región inmediata anterior al acetábulo.

El aparato excretor está representado por una vesícula excretora con forma de "X", en cuyo interior se observan numerosos gránulos y desemboca en el poro excretor, el cual se abre en el extremo posterior del cuerpo (Fig. 3).

Las metacercarias recuperadas experimentalmente en este trabajo resultaron ser morfológicamente iguales a las metacercarias obtenidas de manera natural (según datos proporcionados por López-Jinénez), excepto en sus dimensiones corporales, ya que las primeras son de menor tamaño.

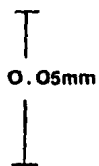
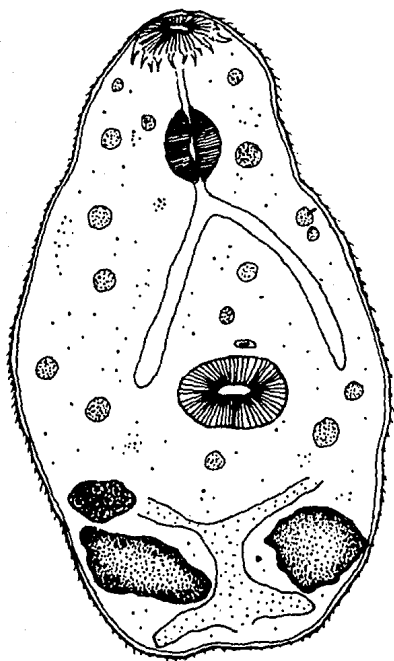


Fig. 3 C. formosanus. Metacercaria.

5.3.4 Tremátodo adulto.

A continuación se presenta la redescrición de los parásitos adultos obtenidos experimentalmente, la cual está basada en 10 ejemplares grávidos recuperados de pollos, patos y ratones blancos.

Estos organismos presentan un cuerpo ovalado y aplanado dorsoventralmente, que mide 0.240 - 0.326 (0.248) de largo por 0.101 - 0.146 (0.119) de ancho. La cutícula es espinosa en toda su superficie, presentando las espinas de mayor tamaño en la mitad anterior del cuerpo. La ventosa oral se encuentra rodeada por 32 ganchos curvos, con la base considerablemente más ancha que la punta, dispuestos en una doble corona; las puntas de los ganchos de ambas hileras están dirigidas posteriormente, siendo los ganchos de la hilera interna más grandes (0.008 - 0.009 (0.008) de largo por 0.003 - 0.005 (0.004) de ancho) que los de la externa (0.003 - 0.005 (0.004) de largo por 0.003 - 0.003 (0.003) de ancho). La ventosa oral se localiza en el extremo anterior del cuerpo y mide 0.030 - 0.037 (0.032) de largo por 0.033 - 0.048 (0.040) de ancho. El acetábulo es musculoso, ligeramente ovalado y un poco más grande que la ventosa oral; se encuentra situado sobre la línea media ecuatorial del cuerpo y mide 0.030 - 0.041 (0.034) de largo por 0.033 - 0.048 (0.040) de ancho. La relación entre las ventosas es de 1:1.06 de largo y 1:1.42 de ancho. El aparato digestivo está representado por una boca que se abre en medio de la ventosa oral en el extremo anterior del cuerpo, a la que sigue una prefaringe pequeña que mide 0.005 - 0.018 (0.011) de largo; ésta se continúa con una

faringe musculosa, muy conspicua, ovalada y que mide 0.022 - 0.037 (0.030) de largo por 0.018 - 0.030 (0.022) de ancho, que se comunica con el esfago generalmente muy corto, el cual mide 0.007 - 0.022 (0.012) de largo y se conecta con dos ciegos intestinales tubulares que descienden a lo largo de las partes dorsolaterales del cuerpo llegando hasta la mitad del ovario, miden 0.086 - 0.123 (0.102) de largo.

El aparato reproductor masculino está representado por un par de testiculos ovalados, ligeramente lobulados, situados en la parte posterior del cuerpo, uno frente al otro. El derecho mide 0.026 - 0.048 (0.034) de largo por 0.022 - 0.056 (0.032) de ancho y el izquierdo 0.020 - 0.048 (0.035) de largo por 0.026 - 0.056 (0.039) de ancho. Los conductos eferentes que salen de cada testiculo no fueron observados. La vesicula seminal presenta una constricción media que la divide en dos regiones: una anterior que se dirige hacia la ventosa oral rodeando al acetábulo por su borde derecho y que mide de 0.086 - 0.112 (0.099) de largo por 0.018 - 0.026 (0.022) de ancho y una posterior dispuesta transversalmente por arriba del receptáculo seminal, la cual mide 0.033 - 0.041 (0.037) de largo por 0.015 - 0.024 (0.019) de ancho.

La vesicula seminal se estrecha considerablemente hacia su parte distal, constituyendo la región prostática. La porción terminal de esta última, desemboca en el atrio genital común, donde se abre el poro genital, el cual se encuentra situado sobre la línea media del cuerpo e inmediatamente anterior al borde del acetábulo.

El aparato reproductor femenino consta de un ovario ovalado,

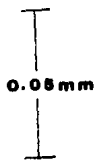
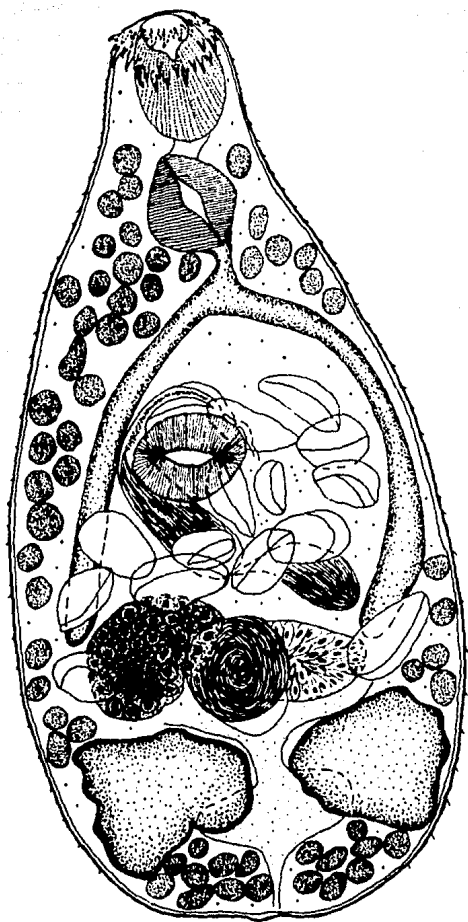


Fig .4 C. formosanus. Adulto

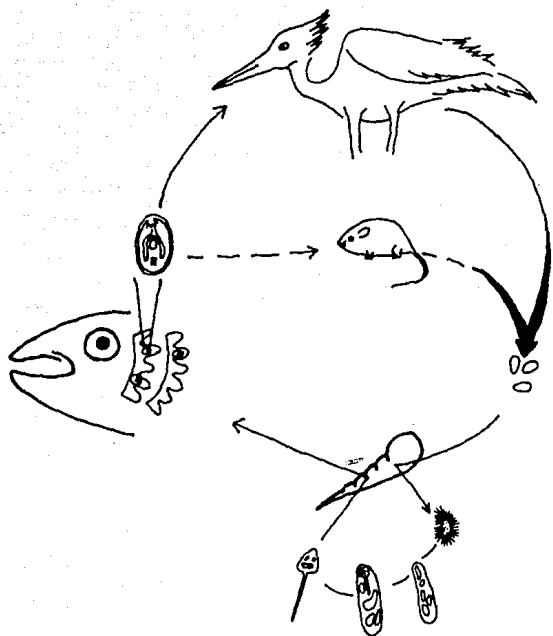


Fig. 5 Ciclo de vida de C. formosanus en la Piscifactoría de Tezontepec de Aldama, Hgo.

ligeramente lobulado, localizado en la región inmediata anterior al testículo derecho, que mide 0.022-0.045 (0.030) de largo por 0.022-0.045 (0.034) de ancho. El oviducto atraviesa transversalmente al cuerpo y llega hasta el ootipo, que se encuentra rodeado por la glándula de Mehlis, la cual es muy conspicua y se dispone por arriba del testículo izquierdo. El canal de Laurer y el conducto vitelino no fueron observados. Del ootipo sale el útero, que en su inicio corre paralelamente al oviducto, para ascender sinuosamente y llegar al atrio genital donde se abre también el poro genital.

Los huevos son ovoides, de color pardo amarillento, con una superficie de aspecto reticular y operculados. Miden 0.022-0.033 (0.028) de largo por 0.015-0.022 (0.017) de ancho y carecen de una larva desarrollada en su interior.

El aparato excretor está representado por una vesícula excretora característicamente con forma de "X", que desemboca en el poro excretor el cual se abre en el extremo posterior del cuerpo. No se observaron túbulos colectores ni ninguna otra estructura relacionada (Fig. 4).

5.3.5 Discusión

A partir de la descripción original del género *Centrocestus* (Looss, 1899) hasta las caracterizaciones de las siete especies establecidas a la fecha, han existido discrepancias con respecto a la validez tanto del género como de las especies entre sí.

Looss (loc. cit) estableció el género *Centrocestus* para incluir en él a *Centrocestus cuspidatus*, especie que describió en

1896 bajo el nombre de Distomum cuspidatus. Posteriormente, Tanabe (1922) creó un género nuevo, Stamnosoma, en el que incorporó a S. arnatus de Japón, aun cuando este género resultó ser muy similar a Centrocestus. Siguiendo el mismo criterio genérico, Nishigori (loc. cit.) describió a S. formosanus para Taiwan (antes Formosa).

Faust y Nishigori (1926) consideraron que ambos géneros debían establecerse de manera independiente por las siguientes razones: Stamnosoma presentaba un esófago muy bien desarrollado, a diferencia de Centrocestus, así como una prefaringe mucho más corta, además de que Centrocestus estaba provisto de sacos prefaringeos. También señalaron que Stamnosoma poseía testículos y ovarios lobulados y una distribución más particular de las vitelógenas que la observada en Centrocestus.

Sin embargo, Price (loc. cit.) llegó a la conclusión de que los sacos prefaringeos eran resultado de la contracción del extremo anterior del cuerpo. Punto por punto, la comparación entre los dos géneros hizo concluir a dicho autor que las diferencias mencionadas tenían valor meramente específico y que el género Stamnosoma debía considerarse como sinónimo de Centrocestus.

Incluso Faust et al., (loc. cit.), adoptaron el nombre de Centrocestus para referirse al género en cuestión. La opinión de Price fue compartida por otros autores como Witenberg (1929) y Kobayasi (1942 y 1970).

La diferenciación de las especies se ha venido realizando principalmente con base en el número de espinas orales que presentan los ejemplares; considerando este carácter, Kobayasi

(1942) describió dos especies nuevas: *C. polyspinosus* y *C. yokogawai* y los comparó morfométricamente con *C. armatus* y *C. formosanus* y estableció que los organismos que presentaran 26, 28 y 30 espinas orales, debían incorporarse a la especie *C. yokogawai* Kobayasi, 1942; con 32 y 34 a *C. formosanus* Nishigori, 1924; con 42, 44, 46 y 48 a *C. armatus* Tanabe, 1922 y con 50 a 60 a *C. polyspinosus* Kobayasi, 1942. Por otro lado, Chen (1942) señaló que *C. cuspidatus* estaba provisto de 36 espinas orales y con el mismo número Mishina (1959) describió a *C. asadae* (In: Yanaguti, 1971) y Yanaguti (1975) estableció que *C. nycticoracis* Izumi, 1935, se encontraba armado con 42 espinas.

Dentro de las características que se han utilizado en la taxonomía de este género, se encuentran: dimensiones generales del cuerpo y de diversas estructuras, el tipo de margen de los testículos y ovarios, número de huevos y presencia o ausencia de ornamentaciones en ellos, grado de maduración del embrión dentro del huevo, grupos de hospederos definitivos y características de las etapas larvarias; por ejemplo, Bayssade-Dufour *et al.*, (1982), realizaron un trabajo sobre la quetotaxia de las cercarias de *Centrocestus* sp., y *C. formosanus*, concluyendo que: a) la quetotaxia de la subfamilia Centrocestinae concuerda con la de otros opisthorquidos y b) que existe una diferencia importante entre la quetotaxia de los organismos de la subfamilia Centrocestinae y la de otros heterófidios, lo cual sugiere una heterogeneidad dentro de la familia Heterophyidae.

Los ejemplares redescritos en este trabajo corresponden a *Centrocestus formosanus*, especie en la que los incluimos, con

base en algunos de los principales rasgos citados anteriormente.

Con respecto al número de espinas orales, nuestros ejemplares adultos presentaron constantemente 32, distribuidas en una doble corona de 16 espinas cada una, número incluido en el intervalo establecido por autores como Chen (1942), Kobayasi (1970) y Premvati y Pande (loc. cit.), quienes señalaron la existencia de una doble corona, con una variación de 30 a 36. No obstante, coincidimos con Chen (loc. cit.), al considerar con poca validez taxonómica este carácter, ya que las espinas se desprenden fácilmente de los ejemplares al ser manipulados durante su procesamiento, por lo que se sugiere que su conteo se realice con ejemplares vivos.

Asimismo, presentan una vesícula excretora con forma de "X" que característicamente se ha descrito para esta especie (Pande y Shukla, loc. cit.; Chen, 1942 y Premvati y Pande, loc. cit.). Con relación a los bordes de los testículos y del ovario, los ejemplares que hemos revisado los presentan ligeramente lobulados; sin embargo, Chen (1942) recomienda tener cuidado en las observaciones de estas estructuras, ya que sus márgenes pueden modificarse de acuerdo al medio en el que se encuentren (agua corriente o solución salina) y a la presión ejercida durante el aplanamiento.

Por otro lado, los huevos de *C. formosanus* que obtuvimos carecen de larvas desarrolladas, lo cual coincide con lo señalado para esta especie por Faust y Nishigori, (loc. cit.) y Chen (1942); en cuanto a su número, estamos de acuerdo con Premvati y

Pande (loc. cit.), con respecto a que éste no es un carácter taxonómico importante dado que varía aún en tremátodos recuperados de un grupo de la misma edad y hospedero. Asimismo, es importante considerar las características de los estadios larvarios, principalmente de las cercarias. Al comparar nuestras cercarias con algunas de las redescripciones de las de *C. formosanus*, encontramos diferencias en ciertos rasgos, por ejemplo, en el número de células flamígeras; nuestros ejemplares presentan ocho pares, cuya fórmula es $2[(2+2) + (2+2)] = 16$, dato que coincide con lo señalado por Martin (1958), pero difiere de lo registrado por Chen (1948), quien describió únicamente dos pares e incluso Nishigori (loc. cit.) en la descripción original, no mencionó su presencia (Id: Chen, 1948).

Además del número de espinas orales que discutimos anteriormente, *Centrocestus formosanus* difiere de las demás especies descritas para el género, por lo siguiente: de *C. cuspidatus* principalmente porque éste presenta una vesícula excretora con forma de "Y" y porque sus huevos están embrionados; de *C. armatus* (y por lo tanto de su sinónimo *C. nycticoracis*), por sus dimensiones corporales, ya que mientras esta especie alcanza una talla de 0.600 mm de largo, nuestros ejemplares tienen una talla máxima de 0.326 mm; de *C. yokogawai*, por presentar una vesícula excretora con forma de "H" (rasgo por el que también se distingue de *C. asadai*) y un ovario triangular, característica que a su vez permite diferenciarlo de *C. polyspinosus*.

El Cuadro 4 concentra los rasgos taxonómicos sobresalientes

Cuadro 4. Características taxonómicas importantes para la diferenciación de las especies del género Centrocestus.

| Especie | Núm. espinas orales | Tamaño cuerpo | Forma y margen gónadas | Medida huevos | Maduración de embrión en huevo | Vesícula excretora |
|---|---------------------|------------------|------------------------|------------------|--------------------------------|--------------------|
| <u>C. formosanus</u> (Nishigori, 1924) | 32 | 0.362 X 0.167 | Ovalados y lobulados | 0.033 X 0.016 | No embrionado | X |
| <u>C. cuspidatus</u> (Looss, 1896) | 36 | 0.500 X 0.350 | Ovalados y lisos | 0.033 X 0.20 | Embrionado | Y |
| <u>C. armatus</u> (Tanabe, 1922) | 44 | 0.456 X 0.236 | Ovalados y lobulados | 0.031 X 0.017 | No embrionado | Y |
| <u>C. nycticoracis</u> (Izumi, 1935) | 42 | 0.397 X 0.224 | | | | |
| <u>C. asadai</u> (Mishima, 1959) | 36 | 0.400 X 0.235 | | 0.040 X 0.019 | | H |
| <u>C. polyspinosus</u> Kobayasi, 1942 | 50 - 60 | 0.286 X 0.180 | Globulados y lobulados | 0.029 X 0.015 | | H |
| <u>C. yokogawai</u> Kobayasi, 1942 | 26 - 30 | 0.338 X 0.160 | Globulados y lobulados | 0.031 X 0.017 | | |
| <u>C. formosanus</u> (Tezontepec, Méx) | 32 | 0.248 X 0.119 | Ovalados y lobulados | 0.028 X 0.017 | No embrionado | X |

de las siete especies del género, incluyendo además las de los ejemplares obtenidos en el presente trabajo.

6.0 DISCUSION

6.1 Aspectos Experimentales

En este trabajo se señala que el segundo hospedero intermediario utilizado para la obtención de metacercarias fue Mylopharyngodon piceus. Sin embargo, en el Cuadro 3 se puede observar que además de estas carpas, se revisaron otras de la especie Stenopharyngodon idellus (carpa herbívora).

En el mismo Cuadro, se aprecia la diferencia existente en el número de parásitos recuperados de cada uno de los hospederos experimentales, aún cuando éstos estuvieron sometidos a condiciones similares (igual número de quistes administrados y revisión en igual número de días posteriores a la infección); esto probablemente es debido a que las metacercarias (provenientes de hospederos naturales) con las que fueron infectados se encontraban en diferentes etapas de desarrollo, ya que los peces estaban expuestos a infecciones continuas debido a la presencia constante de caracoles en los estanques debiendo considerar, además, las condiciones digestivas, fisiológicas e inmunológicas particulares de cada hospedero, así como la viabilidad de los quistes.

En el grupo "A" se presentaron cuatro casos en los que no se recuperaron ejemplares. Los dos primeros corresponden a hospederos que fueron infectados con material obtenido de un pez muerto accidentalmente a los 25 días de haber sido infectado en

el laboratorio, tiempo que no corresponde al mínimo requerido para la maduración de las metacercarias, que es de 30 a 40 días de acuerdo con Yamaguti (1975). Los otros dos casos corresponden a ratones revisados 18 días después de haber sido infectados, lo que representa el tiempo máximo de infección transcurrido en este trabajo; probablemente este período resultó demasiado prolongado para la sobrevivencia de los tremátodos, aunque en la literatura no existen datos al respecto.

El último caso en el que no se recuperaron ejemplares adultos, fue en un pollo de 30 días de nacido (hospedero del grupo "B"), lo cual pudo deberse al estado fisiológico del hospedero determinado por su edad, o bien a que éste se alimentaba ya de granos de maíz completos o semitriturados, por lo que el material almacenado en la molleja resultó ser grueso y duro, a diferencia del que encontramos en pollos de menor edad (5 a 8 días), ocasionando, posiblemente, la destrucción de los parásitos.

6.2 Ciclos de Vida

Uno de los aspectos fisiológicos más interesantes de los ciclos de vida de los tremátodos es la continuidad de habitats tan diferentes entre sí en que se desarrollan las distintas etapas larvarias de estos parásitos, que lleva implícita modificaciones morfológicas y adaptaciones fisiológicas que deben efectuarse rápidamente para permitir la sobrevivencia de los organismos hasta su estado adulto (Schmidt y Roberts, loc. cit.).

El estudio de los ciclos de vida de este grupo ha sido de gran

Cuadro 3. Resultado de las infecciones experimentales con metacercarias de *C. formosanus* en los hospederos definitivos

| Hospederos Definitivos Experimentales | Obtención de metacercarias | Núm. de quistes admin. | Días/ infecc. | Parásitos recuperados | Notas (#) |
|---------------------------------------|----------------------------|------------------------|---------------|-----------------------|-----------|
| <u>M. musculus</u> | <u>M. piceus</u> | 50 | 6 | 8 | c/h |
| | | 100 | 7 | 23 | " |
| | | 60 | 8 | 16 | " |
| | | 60 | 8 | 2 | " |
| | | 75 | 9 | 4 | " |
| | | 100 | 10 | 10 | " |
| | | 60 | 11 | 11 | " |
| | <u>C. idellus</u> | 200 | 4 | -- | -- |
| | | 200 | 5 | -- | -- |
| | | 100 | 6 | 15 | c/h |
| | | 200 | 6 | 38 | c/h |
| | | 100 | 7 | 5 | o/m |
| | | 100 | 7 | 11 | c/h |
| | | 200 | 9 | 44 | c/h |
| | | 200 | 10 | 27 | s/h |
| | | 200 | 13 | 17 | s/h |
| | | 200 | 14 | 30 | p/h |
| 200 | 18 | -- | -- | | |
| 200 | 18 | -- | -- | | |
| <u>G. gallus</u> | <u>M. piceus</u> | 75 | 4 | -- | -- |
| | | 100 | 5 | 4 | c/h |
| | | 100 | 5 | 6 | c/h |
| <u>Anas sp.</u> | <u>M. piceus</u> | 100 | 6 | 17 | c/h |
| | | 100 | 6 | 10 | " |
| | | 100 | 6 | 14 | " |
| | | 100 | 11 | 11 | " |

(#) Notas:

c/h: con huevos
o/m: organismos muertos
p/h: pocos huevos
s/h: sin huevos

interés como parte fundamental de su conocimiento integral. Gracias a él, ha sido posible establecer algunos de los factores que influyen, por ejemplo, en la relación parásito-hospedero y todas las implicaciones de tipo ecológico, fisiológico y morfológico que de ella se desprenden, además de aportar información valiosa para la taxonomía y filogenia del grupo en cuestión.

En particular, los ciclos de vida de las especies del género Centrocestus han sido poco estudiados, como los procesos que regulan la emergencia del miracidio. También es poco conocido el mecanismo que controla la diferenciación del esporocisto o de la redia. Y por último, casi nada se conoce sobre neurosecreción, endocrinología y neurofisiología del grupo, aunque sí existen trabajos aislados sobre algunos de sus aspectos, como el presentado por Ito y Watanabe en 1958, en el que estudian la fisiología de las glándulas mucosas de las cercarias de Centrocestus acmatus.

En los últimos años, se ha dado mayor importancia al estudio de los procesos fisiológicos que intervienen en el desarrollo de las diferentes etapas larvianas, particularmente de las especies de importancia médica, veterinaria o económica.

6.2.1 Hospederos Intermediarios

- Moluscos

El caracol que interviene como primer hospedero intermediario

en el ciclo de vida de *C. formosanus* en el Centro Piscícola de Tezontepec, Hidalgo, es *Melanoides tuberculata*. Este caracol tiene una distribución mundial (Malek, 1980), aunque se sabe que es un molusco de origen asiático. En México se encuentra en otros estados como Tamaulipas, Colima, Morelos, Oaxaca y Chiapas (López-Jiménez, com. pers.), lo que los convierte en sitios potenciales para la propagación y desarrollo de este parásito, dado que existe un constante traslado de crías de peces cultivables entre este Centro y algunos otros del país. Cabe señalar que periódicamente los caracoles son retirados de los estanques para evitar que actúen como fuente de infección para los peces, sin embargo, existen grandes cantidades de este molusco infectado en el depósito y arroyos de agua que surten a dicho Centro, por lo que los caracoles tienen acceso continuo a los estanques; incluso, en el río Tula que corre por enfrente del Centro, hemos encontrado caracoles y peces pequeños infectados por *C. formosanus*.

- Peces

De acuerdo con el Cuadro 2 y con la bibliografía consultada, *Mylopharyngodon piceus* no ha sido registrado como segundo hospedero intermediario de *Centrocestus formosanus* en ningún país asiático, región de donde proviene dicha carpa; por esta razón no se tiene la certeza de que éste haya sido el medio de introducción del parásito a nuestro país, mencionándose anteriormente la posibilidad de que los caracoles hayan sido los introductores del trematodo.

6.2.2 Hospederos Definitivos

C. formosanus ha sido registrado como parásito de aves y mamíferos en varios países asiáticos, tal como lo muestra el Cuadro I; sin embargo, en nuestro país no se conoce el hospedero definitivo natural de este tremátodo; no obstante, podemos suponer que las aves ictiófagas que frecuentemente llegan a alimentarse a los estanques del Centro son las que han mantenido la infección en el mismo; de hecho, el personal del Centro utiliza ocasionalmente redes, que son colocadas sobre los estanques con la finalidad de proteger a los peces de los depredadores, particularmente de las aves; por otra parte, no podemos descartar la posibilidad de que el ciclo también pueda cerrarse con la intervención de roedores, que de alguna manera tengan contacto con los desechos del Centro o con los que dejan los pobladores de la zona, después de preparar el pescado para su consumo.

El poder establecer el hospedero definitivo natural de este parásito, implica la recolecta y revisión de numerosos ejemplares tanto de aves como de roedores en la localidad, aspecto que se contempló en este trabajo solo parcialmente, ya que únicamente se trabajó sobre la recolecta de roedores. Sin embargo, podemos establecer algunas relaciones en cuanto a las aves registradas en los municipios cercanos a Tezontepec de Aldana, principalmente las piscívoras y el mantenimiento del ciclo en la piscifactoría. Desafortunadamente, hasta la fecha no existe ningún registro ornitológico para este lugar en especial, aunque si lo hay, de manera general, para algunos municipios del mismo estado cercanos

a la localidad (Pichardo-Díaz, 1987), trabajo que hemos utilizado de referencia y del cual obtuvimos la siguiente lista, en la que se incluyen algunas de las especies piscívoras que pudieran estar cerrando el ciclo biológico del parásito: *Phalacrocorax olivaceus* (cormorán), *Pelecanus erythrorhynchos* (pelicano blanco), *Larus argentatus* (gaviota), *Ceryle alcyon* (Martin pescador), *Chloroceryle americana* (Martin pescador), *Ardea herodias* (garza azul), *Butorides striatus* (garcita verde), *Bubulcus ibis* (garza garrapatera), *Casmerodius albus* (garzón blanca) y *Egretta thula* (garza blanca).

6.3 Etapas Larvarias

En la parte correspondiente a resultados, se señala que tanto el miracidio como el esporocisto no fueron observados durante la realización de este trabajo.

Hasta el momento, ninguna de estas fases larvarias ha sido descrita detalladamente, ya que Martin (1958), en su trabajo presentó solo un breve comentario acerca de algunas observaciones hechas sobre el esporocisto, e incluso Nishigori (loc. cit.) mencionó que las redias de *C. formosanus* se originaban directamente del miracidio, sin pasar por la etapa de esporocisto. Por esta razón, proponemos a futuro y consideramos importante realizar un mayor número de observaciones de las larvas que se encuentran en los caracoles, así como definir el estado de desarrollo que han alcanzado.

Con relación al miracidio, podemos señalar que esta fase larvaria no ha sido estudiada por ningún autor, por lo que desafortunadamente no se tiene información sobre su desarrollo, existiendo diversas opiniones sobre este último punto. Nishigori

(1924 In: Chen, 1948), señaló que el miracidio emerge del huevo y posteriormente penetra en el caracol, mientras que de acuerdo con Faust et al., (loc. cit.), el miracidio emerge únicamente después de que el molusco ha ingerido el huevo. Con base en lo observado en nuestros organismos, en los que los huevos carecían de una larva desarrollada y dado que no se logró la obtención de miracidios al incubar los huevos, podemos suponer que el miracidio solo es capaz de emerger del huevo, al encontrarse en los tejidos del caracol. Sin embargo, la corroboración de lo anterior, requiere de cierta metodología especial y prolongada, como es el obtener generaciones de caracoles en el laboratorio; libres de la infección, así como grandes cantidades de huevos, lo cual resulta difícil, ya que el número de organismos adultos recuperados es reducido y en cada uno de ellos el número de huevos va de dos a rara vez 15.

7.0 DISCUSION GENERAL

A nivel nacional, la piscicultura se ha caracterizado principalmente por el manejo de especies que han sido importadas de otros países, como es el caso de las carpas. En los últimos años, la ciprinicultura ha experimentado un gran desarrollo gracias al dominio técnico obtenido por la experiencia de aproximadamente 20 años en el cultivo de carpas chinas en el Centro Acuicola de Tezontepec. Este Centro es uno de los más importantes a nivel nacional, en los aspectos de reproducción, alevinaje y cría de ciprinidos asiáticos. Esto se ha logrado gracias a que dichos peces, particularmente las carpas chinas, se han adaptado a las condiciones de cultivo, a pesar de que difícilmente se reproducen fuera de su Área de distribución original (Arredondo y Juárez, 1986).

Sin embargo, el hecho de introducir especies exóticas de peces al país no trae consigo beneficios únicamente, empezando porque ello implica fuertes inversiones de capital por parte del importador, incluyendo los recursos necesarios para la capacitación de personal y la infraestructura adecuada para albergar a dichas especies, que generalmente requiere materiales provenientes del extranjero. En el caso de que estas especies sean introducidas a cuerpos de agua, la estabilidad de dicho ecosistema puede dañarse severamente; por otro lado, también debe destacarse que este tipo de importaciones desplaza la explotación y comercialización de las especies nativas.

Otro aspecto muy importante es que paralelamente a la importación de los peces, pueden introducirse parásitos que se

distribuyen rápida y ampliamente a otras especies, como ocurrió en el caso de *Centrocestus formosanus*, especie asiática que ya se encuentra parasitando a las crías de varias especies de peces en México, a las que de acuerdo con López-Jiménez (loc. cit.), causa severos problemas respiratorios.

Consideramos que el conocimiento de los ciclos de vida de organismos parásitos que se encuentran interactuando con especies de peces cultivadas, tiene como finalidad fundamental encontrar el mejor momento para interrumpir dicha interacción y permitir con ésto la explotación óptima del recurso, que es el principal objetivo que persiguen las instituciones dedicadas a la piscicultura, sin embargo, en muchas ocasiones se ha perdido la atención sobre los aspectos biológicos y ecológicos que deben regir el manejo de esta práctica, los cuales son sumamente importantes para poder aplicar medidas sanitarias efectivas para el bienestar de dicho recurso.

El estudio de organismos como *Centrocestus formosanus*, además de tener importancia desde el punto de vista biológico, lo tiene de tipo médico, dado que, aunque no existen registros de infecciones naturales en el hombre, sí los hay de infecciones experimentales (Nishigori, loc. cit.). Incluso Faust et al (loc. cit.), mencionaron que todas las especies que integran la familia Heterophyidae pueden llegar a parasitar al hombre, entre ellas: *Centrocestus armatus*, *C. formosanus*, *Monocotylema taihokui*, *M. microrchia*, *Haploporchis taichui*, *Metagonimus minutus* y *M. yokogawai*.

8.0-ANEXO

Acetocarmin de Semichon diluido

Preparación del Colorante:

- Agua destilada 25 ml.
- Acido Acético Glacial 25 ml.
- Carmin en polvo seco en exceso.

Mezclar el ácido lentamente con el agua, agitando. Añadir el colorante seco a la mezcla y calentar hasta 95-100 °C durante 15 minutos; dejar enfriar y filtrar. El filtrado corresponde a la solución madre, la cual se diluye (por lo menos) con una cantidad idéntica de alcohol al 70% antes de ser utilizada.

Procedimiento:

- Ya fijadas, pasar las larvas con una pipeta Pasteur a una caja de Petri con alcohol al 70% durante 10 minutos.
- Una vez retirado el alcohol, cubrir las ligeramente con el colorante diluido con dos a tres volúmenes de alcohol al 70%, hasta que tomen un color rojo oscuro.
- Lavarlas una vez con alcohol al 70% durante 5 minutos.
- Diferenciarlas con alcohol al 70% acidulado con HCl al 1%, agitando la solución ligeramente hasta que tomen un color rosa pálido.
- Lavarlas en alcohol al 70%, utilizando de uno a tres cambios, sustituyendo el último con alcohol al 80%.
- Deshidratarlas en alcoholes al 96% y absoluto durante 30 minutos en cada uno.
- Aclararlas en Carbol-Xilol, Creosota neutra de la Haya o en

Xilol. Otros, como el salicilato de metilo, son menos tolerantes al agua remanente, por lo que el tratamiento debe hacerse de manera gradual: Alcohol 100%-Salicilato de Metilo 2:1; 1:1; 1:2 y finalmente Salicilato puro, dejándolas en cada dilución por lo menos hasta que las larvas se noten mas claras que en la mezcla precedente, pudiéndolas dejar indefinidamente en el Salicilato puro, sin que se vuelvan quebradizas como sucede con el Xilol y sin que se decoloren.

- Montarlas en Bálsamo de Canadá o Resina sintética directamente del aclarante.
- Colocar las preparaciones permanentes en una estufa de secado a 60o C durante una semana.
- Etiquetar.

Hematoxilina de Delafield

- Fijar en Bouin durante 24 horas.
- Lavar en alcohol etílico al 70% .
- Conservar en Alcohol etílico al 70%
- Hidratar gradualmente en alcoholes sucesivos de 50%, 30%, hasta agua destilada (10 minutos en cada uno).
- Tefir con Hematoxilina de Delafield durante uno o dos minutos, utilizando la solución madre.
- Lavar en agua destilada para eliminar el exceso de colorante.
- Diferenciar con agua acidulada con HCl al 2% hasta que tome un color rosa pálido.
- Lavar con agua destilada
- Virar con agua de la llave a color azul o violeta.

- Deshidratar con alcoholes graduales sucesivos de 30, 50, 70 y 96%, 10 minutos en cada uno.
- Completar la deshidratación con Alcohol etílico absoluto (15 minutos).
- Aclarar en Salicilato de Metilo
- Montar en Bálsamo de Canadá.
- Etiquetar la preparación.

Paracarmin de Mayer

- Fijar durante 24 horas en Bouin.
- Lavar en alcohol etílico al 70%.
- Conservar en Alcohol etílico al 70%
- Lavar en Alcohol del 96% (cinco minutos)
- Tefir en Paracarmin de Mayer (tres a cinco minutos)
- Lavar en Alcohol del 96% para eliminar el exceso de colorante.
- Diferenciar con Alcohol del 96% acidulado al 2% con HCl.
- Lavar en Alcohol del 96%.
- Terminar la deshidratación en Alcohol etílico absoluto, durante 15 minutos.
- Aclarar en Salicilato de Metilo
- Montar en Bálsamo de Canadá
- Etiquetar.

Tricrómica de Gomori (solución acuosa)

- Fijar en Bouin durante 24 horas
- Lavar en alcohol etílico al 70%.
- Conservar en Alcohol etílico del 70%
- Hidratar gradualmente con alcoholes de 50%, 30%, hasta agua destilada, permaneciendo 10 minutos en cada uno.

- Tefir en una solución acuosa diluida del colorante (una gota de solución madre en 3 ml., de agua destilada), de cinco minutos a 24 horas.
- Lavar en agua destilada para eliminar el exceso de colorante.
- Diferenciar con agua acidulada al 2% con HCl.
- Lavar en agua destilada
- Deshidratar con alcoholes graduales del 30, 50, 70 y 96%, 10 minutos en cada uno.
- Completar la deshidratación con Alcohol etílico absoluto, durante 15 minutos.
- Aclarar con Salicilato de Metilo
- Montar en BALSAMO de Canadá
- Etiquetar.

9.0-LITERATURA CONSULTADA

- ALMEYDA-ARTIGAS, R.J. 1988. "Ciclo de vida experimental y ritmo circádico de emergencia de la cercaria de Plagiorchis maculosus Rudolphi, 1802 (Trematoda: Plagiorchiidae). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM. México: 72 pp.
- ARREDONDO, J. Y R. JUAREZ. 1986. Manual para el cultivo de carpas. Ciprinicultura. Secretaría de Pesca. México: 121 pp.
- BAYSSADE-DUFOUR, C.; ALBARET, J. AND OW-YANG, C. 1982. Sensillae and Flame cells of cercariae of Centrocestus formosanus and Centrocestus sp., (Centrocestinae: Heterophyidae). Annales de Parasitologie Humaine et Comparée. 52(6): 565-572.
- CHEN, H. 1942. The metacercaria and adult of Centrocestus formosanus (Nishigori, 1924), with notes on the natural infection of rats and cats with C. armatus (Tanabe, 1922). J. Parasitol. 28(4): 285-298.
- , 1948. Some early larval stages of Centrocestus formosanus (Nishigori, 1924). Lignan Sci. J. 22 (1-4): 93-104.
- ERASMUS, D. 1972. THE BIOLOGY OF TREMATODES. Edward Arnold Pub. Ltd. London: 312 pp.
- FAUST, E., RUSSELL, P. Y JUNG, R. 1974. PARASITOLOGIA CLINICA. Salvat Eds. Barcelona: 888 pp.
- AND NISHIGORI, M. 1926. The life cycles of two new species of Heterophyidae. J. Parasitol. 13(2): 91-128.
- ITO, J. AND WATANABE, K. 1958. On the cercaria of C. armatus (Tanabe, 1922) Yamaguti, 1933; specially on its mucoid gland (Heterophyidae). Jap. J. Med. Sci. and Biol. 11(1-2): 21-29.
- JUAREZ, P.; M. PALOMO Y C. FLORES. 1984. La acuicultura en México. Antecedentes y estado actual en 1982. In: Pedini Fernando (edit.). Informes Nacionales sobre el desarrollo de la acuicultura en América Latina. EAQ Inf. Pesca. (294) Supl. 1: 138 pp.
- KOBAYASI, H. 1942. Studies on trematodes in Hainan Island. II. Trematoda found in the intestinal tract of dogs by experimental feeding with certain fresh and brackish water fish. Jap. J. Med. Sci. 6(3): 187-227.

- , 1970. Proposition to find more reasonable classification and unifiable nomenclature of the flukes belonging to the subfamily Centrocestinae Looss, 1899. *J. Parasitol.* 52(14): 19-20.
- LANGERON, M. 1949. PRECIS DE MICROSCOPIE. TOME II. Masson et Cie., Editeurs. Paris: 936-941.
- LOOSS, A. 1899. Weitere beitrage zur kenntniss der Trematoden - Fauna Aegyptens. *Zool. Jahrb. Syst.* 12: 521-784.
- LOPEZ-JIMENEZ, S. 1987. Enfermedades más frecuentes de las carpas cultivadas en México. *Acuavisión. Revista Mexicana de Acuicultura* 9: 11-13.
- , 1987. Comunicación Personal.
- MALEK, E. 1980. SNAIL-TRANSMITTED PARASITIC DISEASES. Vol. II. CRC Press, Inc. Florida, U.S.A.: 324 pp.
- MADHAVI, R. 1986. Distribution of metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) on the gills of *Aplocheilus panchar*. *J. Fish Biol.* 29: 685-690.
- MARTIN, W. 1958. The life histories of some Hawaiian Heterophyid trematodes. *J. Parasitol.* 44(3): 305-318.
- , 1959. Egyptian Heterophyid Trematodes. *Trans. Amer. Micr. Soc.* 28(2): 172-181.
- MUJICA-CRUZ, E. 1987. Los cuerpos de agua continentales, adecuados para el cultivo de la carpa. *Acuavisión. Revista Mexicana de Acuicultura.* 9: 7-10.
- NATH, D. 1974. A note on the metacercarial fauna encountered in Indian fresh water fishes. *Indian Vet. J.* 51(6): 481-483.
- NISHIGORI, M. 1924. On a new trematode *Stamposoma formosanum* n. sp., and its life history. *Jaiwan Igakkai Zasshi.* 234: 181-238.
- NOBLE, E. AND NOBLE, G. 1971. PARASITOLOGY: THE BIOLOGY OF ANIMAL PARASITES. Third Ed. Lea and Febriger. Philadelphia: 617 pp.
- PANDE, B. AND SHUKLA, R. 1972. Metacercarial cyst of *Aplocchis dumilia*, its development in experimental mammals and two other Heterophyid infections of fresh water fishes and their zoonotic significance. *Indian J. Anim. Sc.* 42(11): 971-978.
- PEREZ-IRIGO, C. 1976. PARASITOLOGIA. H. Blume Ediciones. Madrid: 422 pp.

- PICHARDO-DIAZ, J. 1987. Estudio ornitológico en el municipio de Alfajayucan y Areas adyacentes, Estado de Hidalgo. Tesis de Licenciatura. ENEP. Iztacala. U.N.A.M.: 115 pp.
- PREMATHI, G. AND PANDE, V. 1974. On *C. formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932 and its experimental infection in withe Leghorn chicks. *Jap. J. Parasitol.* 22(3): 79-84.
- PRICE, E. 1932. On the genera *Centrocestus* Looss and *Stamnosoma* Tanabe. *J. Parasitol.* 18: 309.
- RANSOM, B. 1920. Synopsis of Heterophyidae with descriptions of a new genus and five new species. *Proc. U.S. Natl. Mus.* 52: 527-573.
- SCHMIDT, G. Y L. ROBERTS. 1964. FUNDAMENTOS DE PARASITOLOGIA. Mosby Co. St. Louis: 604 pp.
- SMYTH, V. AND HALTON, D. 1933. THE PHYSIOLOGY OF TREMATODES. 2nd Ed. Cambridge University Press: 446 pp.
- TANABE, H. 1922. Studien über die trematoden mit Suesswasserfischer als Zwischenwirt. I. *Stamnosoma armatum* n.g., n. sp. *Kyoto Igaku Zasshi.* 19: 1-14.
- VAZQUEZ-COLET, A. AND AFRICA, C. 1938. Determination of the Piscine intermediate hosts of Philippine Heterophyid trematodes by feeding experiments. *Philipp. J. Sc.* 65(4): 293-302.
- , 1939. Determination of the Piscine intermediate host of Philippine Heterophyid trematodes by feeding experiments. *Philipp. J. Sc.* 20(2): 201-215.
- , 1940. Morphological studies on various Philippine Heterophyid metacercarie with notes on the incidence, site and degree of metacercarial infection in three species of marine fish. *Philipp. J. Sc.* 22(4): 395-419.
- WITENBERG, G. 1929. Studies on the trematode family Heterophyidae. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 23: 131-239.
- YAMAGUTI, S. 1971. SYNOPSIS OF DIGENETIC TREMATODES OF VERTEBRATES. Vol. 1. Keigaku Pub. Co. Tokyo, Jap.: 1074 pp.
- , 1975. A SYNOPTICAL REVIEW OF LIFE HISTORIES OF DIGENETIC TREMATODES OF VERTEBRATES. Keigaku Pub. Co. Tokyo, Jap.: 590 pp.
- YANOHARA, Y. 1985. Analysis of Transmission dynamics of trematode infection. I. *Centrocestus formosanus* infection in Miyakojima, Okinawa. *Jap. J. Parasitol.* 34(2): 55-70.