



00343
1
2005
10/10/05

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Algunos aspectos de la transmisión y
dispersión de *Centrocestus formosanus*
(Trematoda: Centrocestinae)
en el Estado de Morelos, México.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGIA ANIMAL)
P R E S E N T A
DELFINA AMAYA HUERTA

FALLA DE ORIGEN

1995

DIRECTOR DE TESIS: DR. GUILLERMO SALGADO MALDONADO



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.

Este trabajo fue financiado por el Departamento de Becas de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGPA) de la Universidad Nacional Autónoma de México.

DEDICATORIAS

A mis papás: Ricardo y Delfina

A mis hermanos: Paty, Ricardo, Amalia, Manuel y Angel

A mis sobrinas: Anaid y Danae

A mis cuñados: Lolis y Jesús

A Javier, con mucho amor

AGRADECIMIENTOS

A todas las siguientes personas deseo expresar mi agradecimiento más cumplido:

A Guillermo Salgado Maldonado por su asesoría, dirección y paciencia durante la realización de este trabajo.

Al H. Sinodo: Dr. Guillermo Salgado Maldonado, Dr. Rafael Lamothe Argumedo, Dr. Harry Brailowsky Alperowitz, M. en C. Ma. Teresa Castrejon Osorio, M. en C. Rosaura Mayen Estrada, Dra. Edna Naranjo García y M. en C. Patricia Fuentes Mata, quienes accedieron amablemente a formar parte del jurado, así como por su tiempo y valiosísimas críticas y correcciones realizadas.

Al Dr. Rafael Lamothe Argumedo, quien fue mi asesor de estudios y tesis de Maestría, confío en mí y me ayudó en los momentos en que se lo pedí. Muchas gracias Maestro.

Muy especialmente a Javier Almeyda Artigas por sus enseñanzas, estímulo, presión y paciencia en los momentos difíciles, su compañía y ayuda en el campo y laboratorio, pero sobre todo por su enorme cariño y apoyo en todo momento. Por orientarme en estadística circular. Además por permitirme hacer uso de las instalaciones y equipo del laboratorio de Sanidad Acuicola de la UAM-X. Muchas gracias Almeydita.

Al Dr. Raúl Pineda López por la revisión de este trabajo, así como por sus valiosas correcciones realizadas.

A los Drs. Gerardo Pérez Ponce de León y Héctor Quiróz Granados, quienes formaron parte de mi comité tutorial de Maestría y proporcionaron valiosos comentarios en el proceso de realización.

Al Dr. Antonio Lot Helgueras y Dr. Alfonso Delgado Salinas, ex-director y ex-secretario académico del Instituto de Biología, por su apoyo ante la DGPA y por permitirme hacer uso de las instalaciones del Laboratorio de Helmintología.

Al Dr. Jean Pierre Pointier del Centro de Biología y Ecología Tropical del Mediterráneo de Perpignan, Francia y a la Dra. Gloria Perera de Puga del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", de la Habana Cuba, por su valiosa asesoría en la planeación del muestreo y experimento de crecimiento de caracoles en el laboratorio. Así como por el envío de sobretiros.

Al Dr. Juan Madrid Vera de la Facultad de Ciencias y al M. en C. José Luis Gómez Márquez de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, de la UNAM por su valiosa asesoría en el procesamiento de datos y en la parte estadística.

Al Dr. Alejandro Cruz Reyes por su ayuda y motivación.

Al M. en C. Aurelio Ramírez del Laboratorio de Herpetología, del Instituto de Biología, por la identificación de los anuros.

Al M. en C. Luis García Prieto y a la Biól. Tony Arizmendi Espinosa, quienes me brindaron su ayuda y su amistad.

Muy especialmente a mis pápas por su enorme paciencia y cariño y sobre todo por soportar las consecuencias de tener una hija bióloga.

A mis hermanas Paty y Amalia que siempre me ayudaron económicamente y apoyaron con el prestamo de sus casas.

A mi hermano Angel quien innumerables veces me llevo a CU.

Especialmente a la Fís. Tita Pérez de Celis Herrero por su apoyo constante y ayuda que me ofrecio a lo largo de mi estudios de Maestría y tesis. Muchas gracias Tita.

A la Psic. Maricarmen Gómez Quintana quien no solo me ayudo en la revisión de la redacción para que este trabajo fuera mas entendible, sino que además me ayudo mucho en un problema familiar. Gracias por todo el tiempo que dispusiste en mi trabajo Mari.

A Isabel Jiménez García quien compartio conmigo una salida a "Las Estacas" muy valiosa, por la fuerte amistad que nos une y por su siempre disposición en ayudarme. Muchas gracias Isa.

A Mario Sousa Peña quien siempre me presto ayuda y apoyo, pero sobre todo por ser un gran amigo.

A Sergio Méndez Moreno, Daniel Navarrete, Virginia León, Sergio Guillén, Rocío Hernández, Alfredo Wong, Martín Sánchez por brindarme su ayuda y amistad.

A Enca Alcolea por su apoyo en el conteo de cercarias y a Alejandra Hernández quien me ayudo en la medición de conchas.

A mis compañeros del Museo: Isa, Tony, Rocío, Maricarmen, Maribel, Luciano, Lorena, Claudia, Cris, Griselda, Alejandra, Maricruz, Miguel, Leti, Tere, Sara y Zardel por su interés y amistad.

A Miguel A. Mosqueda Cabrera por su disposición en ayudarme, así como por permitirme utilizar el equipo y materiales del laboratorio de Sanidad Acuicola de la UAM-X. Además agradezco mucho su apoyo en la fase final de este trabajo.

A Victor Zárate por su enorme ayuda y paciencia en la realización de las figuras y por su tiempo brindado.

A Toño Acosta, Leonel Alonzo, Mario Castañeda y Victor Zárate por su compañerismo y amistad.

A Tere, Angel, Catalina y David, integrantes del laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias, por su ayuda.

Al personal del balneario "Sta Isabel" del Estado de Morelos, por su ayuda y por permitirme hacer uso de sus instalaciones.

Por último, debo reconocer que fue un placer trabajar con Javier Almeyda, quien hizo aligerar el trabajo con su entusiasmo y dedicación.

INDICE

RESUMEN

1. INTRODUCCION.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1. Sinopsis biológica de <i>Centrocestus formosanus</i>	5
3.1.1. Taxonomía.....	5
3.1.2. Ciclo de vida.....	6
3.1.3. Distribución geográfica.....	7
3.1.4. Registro de hospederos.....	8
4. ZONA DE ESTUDIO.....	12
4.1. Zona de estudio y localidades de muestreo.....	12
4.1.1. Manantial "Las Estacas", Morelos.....	12
4.1.2. Centro piscícola de Zacatepec, Morelos.....	13
5. BIOLOGIA GENERAL DE LOS HOSPEDEROS DE <i>Centrocestus formosanus</i> :	14
5.1. Primer hospedero intermediario: <i>Melanoides tuberculata</i> Müller, 1774.....	14
5.2. Segundos hospederos intermediarios	16
5.3. Hospedero definitivo: <i>Butorides striatus</i> (Aves: Ardeidae).....	18
6. MATERIALES Y METODOS.....	20
6.1. Generales.....	20
6.2. Recolección y examen de hospederos intermediarios naturales (moluscos, y peces).....	20
6.3. Recolección y examen de hospederos definitivos naturales.....	21
6.4. Análisis de datos.....	21
6.5. Infecciones experimentales en peces, anfibios, aves y mamíferos y obtención de parásitos (cercarias, metacercarias y adultos).....	22
6.6. Diagrama de flujo de la metodología empleada.....	24
7. RESULTADOS.....	25
7.1. Capítulo 1. Quetotaxia de la cercaria de <i>Centrocestus formosanus</i>	26
7.1.1. Introducción.....	27
7.1.2. Materiales y Métodos.....	27
7.1.3. Resultados.....	28
7.1.4. Discusión.....	32
7.2. Capítulo 2. Patrón de emergencia de las cercarias de <i>Centrocestus formosanus</i>	34
7.2.1. Introducción.....	35
7.2.2. Materiales y Métodos.....	36
i. Colecta y aislamiento de <i>Melanoides tuberculata</i> infectados.....	36
ii. Determinación del patrón de emergencia.....	36
iii. Análisis de datos.....	37
7.2.3. Resultados.....	37
i. Cronobiología de la emergencia de la cercaria de <i>Centrocestus formosanus</i> de <i>Melanoides tuberculata</i> en Morelos, México.....	37

ii. Análisis de resultados.....	41
• Prueba de Rayleigh: para demostrar periodicidad en la emergencia de las cercarias.....	41
• Prueba de Mardia-Watson-Wheeler: para demostrar diferencias en los patrones de emergencia de las cercarias de los caracoles estudiados.....	41
7.2.4. Discusión.....	42
7.3. Capítulo 3. Prevalencia de <i>Centrocestus formosanus</i> en relación con la densidad, estructura poblacional y edad de <i>M. tuberculata</i>	45
7.3.1. Introducción.....	46
7.3.2. Materiales y métodos.....	47
i. Area de estudio.....	47
ii. Muestreo de <i>Melanooides tuberculata</i>	47
iii. Estructura poblacional de <i>Melanooides tuberculata</i> y prevalencia de <i>Centrocestus formosanus</i>	48
iv. Curva de crecimiento de <i>Melanooides tuberculata</i>	48
v. Análisis de datos.....	49
7.3.3. Resultados.....	50
i. Densidad poblacional de <i>Melanooides tuberculata</i>	50
ii. Prevalencia de <i>Centrocestus formosanus</i> en <i>Melanooides tuberculata</i>	52
iii. Estructura poblacional de <i>Melanooides tuberculata</i>	56
iv. Curva de crecimiento.....	57
7.3.4. Discusión.....	60
7.4. Capítulo 4. Distribución de la infección de <i>Centrocestus formosanus</i> en peces. Infecciones experimentales en peces, anfibios, aves y mamíferos y hospedero definitivo natural.....	66
7.4.1. Introducción.....	67
7.4.2. Materiales y métodos.....	68
i. Recolección y examen de peces.....	68
ii. Infecciones experimentales en peces.....	68
iii. Infecciones experimentales en anfibios.....	69
iv. Infecciones experimentales en ratones y pollos.....	69
v. Recolección y examen de hospederos definitivos naturales.....	70
vi. Análisis de datos.....	70
7.4.3. Resultados.....	71
i. Distribución de la infección en peces.....	71
ii. Infección en relación a la talla del hospedero.....	74
iii. Infecciones experimentales en peces.....	76
iv. Infecciones experimentales en anfibios.....	79
v. Infecciones experimentales en ratones y pollos.....	80
vi. Hospedero(s) definitivo(s) natural(es).....	82
7.4.4. Discusión.....	82
8. DISCUSION GENERAL.....	91
9. CONCLUSIONES.....	97
10. LITERATURA CITADA.....	100
11. APENDICE. ESTADISTICA CIRCULAR.....	112

RESUMEN

Se analizan algunos aspectos de la transmisión y dispersión de *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932, en dos localidades del estado de Morelos, México. Este parásito es originario del sureste de Asia y en el continente americano sólo se ha registrado en México en cinco Estados (Hidalgo, Morelos, Veracruz, Michoacán y Tabasco). Como primer hospedero intermediario utiliza a *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Gastrópoda: Thiaridae), como segundos hospederos intermediarios a peces dulceacuícolas y de aguas salobres, así como a algunos anuros y, como hospederos definitivos, a las aves ictiófagas (principalmente Ardeidos) y los mamíferos (cánidos, félidos y muridos).

Se determina la quetotaxia (patrón de papilas nerviosas) de su cercaria, emergida de poblaciones infectadas naturalmente de *M. tuberculata*, la cual resulta idéntica a la de *C. formosanus* de Malasia y, por lo tanto, se confirma por medio de esta herramienta taxonómica la presencia de esta especie en México. Además, se considera que la introducción de este trematodo a nuestro país se realizó mediante caracoles (*M. tuberculata*) infectados con esporocistos o redias introducidas simultáneamente como fuente de alimento de la "carpa negra" *Mylopharyngodon piceus*, en 1979, en el Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo. El hallazgo del parásito en el estado de Morelos se debe a la dispersión de huevos por sus hospederos definitivos ("garzas"), los cuales cubren en su ruta migratoria ambos Estados.

Se realiza un análisis cronobiológico para establecer el patrón de emergencia de su cercaria, el cual resultó ser de tipo circadiano (cercaria de "día" con una alternancia de emisión "absoluta"), con una acrofase situada a las 10H 01' 21", la cual demuestra su valor adaptativo, al coincidir ésta, con el período de mayor actividad del siguiente hospedero intermediario (Pisces).

Se determina la densidad, estructura poblacional, curva de crecimiento y prevalencia de la infección con respecto a las tallas de *M. tuberculata*. Las mayores densidades corresponden al sustrato limoso donde se registraron las mayores prevalencias, mientras que la presencia de arena o grava está asociada con bajas densidades y las prevalencias menores de la infección. Sin embargo, la estructura poblacional de *M. tuberculata* se encuentra en su mayor parte compuesta de individuos pequeños (9.11 y 9.94 mm) y la infección por *C. formosanus* está distribuida en las tallas grandes mayores a 11.7 mm, con una edad de dos meses, mientras que las prevalencias más altas corresponden a las tallas de 19 y 25 mm, con una edad de cuatro a seis meses. Se encontró que la susceptibilidad de la infección por *C. formosanus* en *M. tuberculata* depende de la edad, densidad y comportamiento del tiarido y el miracidio. La tasa de crecimiento de *M. tuberculata* es lenta ($k = 0.162$), sin embargo el caracol obtiene la talla mínima más rápidamente para infectarse y, por lo tanto, muestra una infección patente en menor tiempo, en comparación con otros países. La longitud máxima teórica es de $L = 39.04$ mm, con una longevidad estimada de cinco años. Se encontró que las infecciones con cercarias de *C. formosanus* en *M. tuberculata* se presentan a lo largo de todo el año, lo cual permite un continuo reclutamiento de las cercarias en los segundos hospederos intermediarios. Este continuo reclutamiento, aunado a la alta longevidad de las metacercarias en los peces, explica las altas prevalencias en intensidades medias de la infección en condiciones silvestres.

Se señalan los parámetros ecológicos (prevalencia, intensidad promedio y abundancia) de la infección en *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus*, *Poecilia sphenops*, *P. latipinna*, *Heterandria bimaculata* y *Carassius auratus* en condiciones silvestres. Todos ellos, a excepción de *C. auratus* y *X. helleri*, constituyen nuevos registros de hospederos, tanto en el Estado de Morelos, como a nivel mundial. Se observó que no hay relación entre la prevalencia e intensidad promedio de la infección, con respecto a las tallas de los poecílidos: *H. bimaculata* y *P. sphenops*. Se determinó el patrón de distribución de las metacercarias sobre los arcos branquiales de todas las especies de peces infectados, natural y experimentalmente (*Oreochromis niloticus* y *C. auratus*). Se sugiere que este patrón está determinado por tres factores: las corrientes respiratorias, el comportamiento del parásito y el tamaño de cada arco branquial. Se estudió experimentalmente la susceptibilidad de la infección en *O. niloticus* (Cichlidae) y en *C. auratus* (Cyprinidae), y se demostró que los ciprínidos son más susceptibles a la infección por cercarias que los ciclidos. Así mismo se encontró que las metacercarias de *C. formosanus* son infectivas para el hospedero definitivo a partir de los 16 días de enquistamiento en el segundo hospedero intermediario, a una temperatura de 25 °C.

Se comprueba que las cercarias tienen una alta capacidad de infección en anuros (*Spea multiplicata*: Pelobatidae), lo cual pone en evidencia la capacidad de este tremátodo para parasitar a cualquier especie de anfibio en México. En consecuencia, algunas especies de ranas [que se consumen semi-cocidas comúnmente en algunas regiones del país, como la rana toro (*Rana catesbiana*)], podrían parasitarse fácilmente, constituyendo así una vía potencial de infección para el hombre.

Se registra, por primera vez en México, a *Butorides striatus* (Aves: Ardeidae) como el hospedero definitivo silvestre de *C. formosanus*, el cual constituye además, el primer registro de este hospedero a nivel mundial.

Se discuten brevemente algunas características por las que *C. formosanus* podría ser considerado como un "buen colonizador".

Se concluye que la baja especificidad hospedatoria y la rápida maduración que alcanza *C. formosanus* en sus segundos hospederos intermediarios (peces) y definitivos (aves y mamíferos), aunada a la densidad, distribución, longevidad y gran capacidad de dispersión de su primer intermediario (*M. tuberculata*), son factores que propician la dispersión y transmisión del parásito a otras localidades, convirtiendo a esta parasitosis en un problema sanitario para los cultivos de estanquería y en habitats silvestres, tanto en peces de importancia comercial, como de ornato. Lo anterior, propiciado además por el traslado o siembra de crías de ciprínidos y peces de ornato infectados a otros cuerpos de agua o centros piscícolas del país, ha favorecido subsecuentemente una diseminación más amplia del parásito a través de México.

1. INTRODUCCION

Dos aspectos fundamentales para el entendimiento de la biología, ecología, distribución geográfica y evolución de los parásitos, son los procesos de **transmisión** —transferencia de un hospedero a otro, tanto en tiempo como en espacio— y **dispersión** —repartición de un punto de origen en el espacio (un hospedero) con el propósito de asegurar la sobrevivencia de la especie a través de la colonización de nuevas áreas y de la prevención de la sobrepoblación—, los cuales constituyen la clave para la comprensión de las características biológicas de la relación parásito-hospedero (Kenneç' , 1975).

Los estudios sobre los procesos de transmisión y dispersión de parásitos son de gran importancia, dado que permiten conocer los mecanismos que éstos utilizan para establecerse, crecer y madurar en los hospederos apropiados; así como, entender las distintas formas en que los parásitos desarrollan estrategias conductuales adaptativas, que les permiten sobrevivir y reproducirse en diferentes condiciones, de acuerdo con sus estructuras morfológicas y su fisiología.

Centrocestus formosanus (Nishigori, 1924) Price, 1932 es un tremátodo cuya importancia en la producción comercial de peces de agua dulce en México, ha sido señalada recientemente (López-Jiménez, 1987a; Arizmendi, 1992). También se ha establecido su frecuencia y abundancia en poblaciones de peces dulceacuícolas silvestres (Salgado-Maldonado, Vargas-Rodríguez y Campos-Pérez, 1994; Almeyda-Artigas, Acosta, Alonzo, Castañeda y Zarate, 1994; Arévalo, Alvarez y Lamothe, 1994; Velázquez, Campos y Paez, 1994 y Pineda-López *com. pers.*), lo que sugiere que se trata de un parásito muy importante en condiciones silvestres. Sin embargo, esta especie no es originaria de México, ha sido introducida a nuestro país y se presume que su introducción se realizó como consecuencia de la importación de carpas de origen asiático, especialmente de la "carpa negra" *Mylopharyngodon piceus*, para ser cultivadas en el Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo (López-Jiménez, 1991a), siendo necesario, para el cultivo de esta carpa malacófaga, la importación paralela de caracoles de la especie *Melanooides tuberculata*, principal hospedero intermediario de este tremátodo. Así, el parásito fue registrado por primera vez en 1985, en la primera generación de crías de "carpa negra" cultivadas en dicho centro acuícola (López-Jiménez, 1987a, 1987b), y a las que, de acuerdo con este autor, las metacercarias del parásito causaban graves problemas respiratorios en infecciones masivas e incluso llego a causar la muerte de varios peces. Posteriormente el tremátodo se registró en todas las especies de carpas cultivadas en el mencionado centro (ver Tabla 1), constituyendo el principal problema sanitario, tanto por la diversidad de especies que parasita como por los elevados valores de prevalencia e intensidad promedio registrados en las diferentes especies de peces (Anónimo, 1990).

Aun cuando se han realizado ya algunos trabajos sobre este parásito, en ellos sólo se han señalado los parámetros ecológicos de la infección en peces y se han llevado al cabo infecciones experimentales en pollos y en ratones de laboratorio. En consecuencia, el estudio de la transmisión y la dispersión de *C. formosanus*, además de la importancia que reviste, se torna necesario ya que garantiza resultados útiles para el entendimiento de la biología de este parásito; además de proporcionar resultados de gran aplicación como modelo para el análisis de otros sistemas parasitarios. Cabe señalar que a la fecha no existen trabajos a este respecto. Por otro lado la relación del parásito con el caracol *M. tuberculata*, incrementa su interés puesto que este gasterópodo, introducido a nuestro territorio como a otras regiones en el mundo, ha demostrado ser un excelente hospedero intermediario de tremátodos, lo que ha facilitado el establecimiento y crecimiento de poblaciones de varias especies de estos parásitos. En este sentido, es de gran interés estudiar aspectos de la transmisión y la dispersión de esta especie tanto en sistemas silvestres como en cultivos de peces en estanquería.

En consideración a lo anterior, este trabajo de tesis pretende aportar datos para dar respuesta a los siguientes cuestionamientos:

Siendo *C. formosanus* una especie de origen asiático, es importante confirmar la identidad específica del tremátodo (cercarias) que se encuentra en nuestro país, pues en muchos casos el estudio taxonómico tradicional —basado en el estudio morfológico de los parásitos— resulta insuficiente para demostrar diferencias que pudieran indicar la presencia de especies distintas. De ahí que surge la pregunta, ¿Es realmente *C. formosanus* la especie que se ha encontrado en México? (López-Jiménez, 1987a; Arizmendi, 1992). En este caso es posible aplicar un estudio sobre la quetotaxia de la cercaria, que aporte datos adicionales sobre la taxonomía de la especie y haga más práctica la determinación específica de las formas larvarias, ya que el estudio de quetotaxia hace innecesaria la realización de infecciones experimentales para obtener el estado adulto. La aplicación de esta técnica esta sustentada en el hecho de que la cantidad y el arreglo de los receptores sensoriales, directamente conectados con el sistema nervioso, muestran ser constantes para cada especie y están menos sujetos a convergencias y a fenómenos adaptativos que la morfología general (Richard, 1971).

La elevada prevalencia de metacercarias de *C. formosanus* en las poblaciones silvestres y de cultivo de distintos peces de agua dulce en México (Arizmendi, 1989, 1992; Anónimo, 1990; Salgado-Maldonado *et al.* 1994), así como en otras partes del mundo (Madhavi, 1986; Madhavi y Rukmini, 1991), sugiere que los procesos de transmisión e infección además de ser de gran efectividad, en ellos existen algunos mecanismos que los facilitan y hacen eficientes. Por lo tanto, es de interés determinar el patrón de emergencia de la cercaria de *C. formosanus*, ya que esto permitirá examinar las adaptaciones del parásito para emerger en períodos íntimamente relacionados con los hábitos de los peces, para asegurar su transmisión, de tal forma que este puede ser un proceso que determine las altas prevalencias e intensidades promedio registradas en los peces.

Además, se ha observado que en las localidades donde los peces están fuertemente parasitados con metacercarias de *C. formosanus*, existe también una alta densidad de caracoles *M. tuberculata*. En otros estudios se ha demostrado que la prevalencia de infecciones patentes en los moluscos varía de acuerdo a su talla (Sousa, 1990) y que la altura de la concha de los caracoles se encuentra en íntima asociación con su edad (Heller y Farstay, 1989), siendo ambos factores importantes en estudios sobre la transmisión y la dispersión de tremátodos. Por lo que es importante conocer las tallas y/o edades de *M. tuberculata* más parasitadas por *C. formosanus*, la talla y/o edad mínima en la que pueden encontrarse caracoles parasitados por *C. formosanus*, la relación entre la densidad poblacional de *M. tuberculata* y la prevalencia de la infección por *C. formosanus*, los tipos de substratos que favorecen o posibilitan altas densidades poblacionales de *M. tuberculata* y la curva de crecimiento que presenta *M. tuberculata*.

Debido a que el cultivo comercial de ciprínidos, cíclidos y poecílidos en México constituye una de las más importantes pesquerías de consumo y ornato, y a que éstos se han encontrado parasitados por metacercarias de *C. formosanus* en varias localidades de nuestro país, es importante conocer cómo se encuentra distribuida la infección en los peces de las localidades que nos compete. De esta manera es de interés dilucidar cuestiones como la distribución de la infección de *C. formosanus* en poblaciones de poecílidos, —tanto en condiciones silvestres (*Heterandria bimaculata*, *Poecilia sphenops*, *Xiphophorus helleri*) como de cultivo (*X. maculatus* y *P. latipinna*)— y de ciprínidos, con fines acuaculturales (*Carassius auratus*); la existencia de alguna preferencia de las metacercarias de *C. formosanus* por invadir alguna branquia o algún arco branquial en particular, en comparación con el trabajo realizado por Madhavi (1986); la relación entre la cantidad de metacercarias de *C. formosanus* y la talla de las especies de peces que afecta; la potencialidad de infección que tiene *C. formosanus* en especies de consumo humano (*Oreochromis niloticus*) y de ornato (*C. auratus*); la potencialidad de infección de las cercarias de *C. formosanus* en anfibios (*Spea multiplicata*) y la edad a la cual es infectiva la metacercaria de *C. formosanus* en *Mus musculus*.

A pesar de los esfuerzos previos realizados (López-Jiménez, 1987a, 1987b; Arizmendi 1989, 1992; Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Almeyda-Artigas *et al.* 1994) en México, no se conoce el hospedero definitivo de esta especie, por lo tanto es de interés conocer la(s) especie(s) de vertebrado(s) que actúa(n) como hospedero(s) definitivo(s) natural(es) de *C. formosanus*, en la localidad de "Las Estacas".

Debido a que cada uno de los cuestionamientos planteados compete a aspectos específicos de la transmisión y de la dispersión de este parásito, la presentación de los resultados y la discusión de éstos en la tesis se presenta por capítulos.

2. OBJETIVOS

1. Confirmar la identidad específica de las cercarias emergidas de poblaciones naturales de *Melanoides tuberculata* de algunos cuerpos de agua del Estado de Morelos, México, por medio del estudio de su quetotaxia.

2. Establecer el patrón de emergencia de las cercarias de *Centrocestus formosanus* liberadas de poblaciones de *M. tuberculata* infectados naturalmente, siendo un evento de la transmisión de la cercaria de esta especie.

3. Determinar los siguientes aspectos de la dispersión de *Centrocestus formosanus*:
 - a) La relación entre la densidad, la estructura poblacional y la edad de *M. tuberculata* y la prevalencia de la infección de *C. formosanus* en condiciones naturales;
 - b) Describir los parámetros de la infección de *C. formosanus* en poblaciones silvestres de varios peces comunes en este tipo de ambientes: *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus*, *Heterandria bimaculata*, *Poecilia sphenops*, *Carassius auratus* y *P. latipinna* del manantial "Las Estacas", Centro Piscícola y una granja particular de Zacatepec, Morelos.
 - c) Determinar experimentalmente la infectividad de cercarias de *C. formosanus* y la susceptibilidad de la infección en dos especies de peces de importancia comercial —*Carassius auratus* y *Oreochromis niloticus*—, en sapos silvestres —*Spea multiplicata*—, en ratones de laboratorio —*Mus musculus*— y en pollos domésticos —*Gallus gallus*—.
 - d) Determinar los hospederos definitivos naturales de *C. formosanus*, en la localidad del manantial "Las Estacas", Morelos.

3. ANTECEDENTES

3.1. Sinopsis biológica de *Centrocestus formosanus*

3.1.1. Taxonomía

Los estudios sobre la taxonomía de *Centrocestus* spp. se iniciaron con el trabajo de Looss en 1899, quien propuso erigir al género *Centrocestus* con *C. cuspidatus* como especie típica, misma que había descrito en 1896 bajo el nombre de *Distomum cuspidatus* Looss, 1896 (según refiere Chen, 1942). Ransom (1921) revisó la Familia Heterophyidae y consideró válido al género *Centrocestus*. Un año después, Tanabe erigió un nuevo género, *Stamosoma*, en el que incluyó a un parásito de aves —*Nycticorax nycticorax* y *Ardea cinerea*—, y mamíferos —*Felis domesticus*— del Japón, denominándolo *S. armatum* (según refieren Faust y Nishigori, 1926; Morishita, Komiya y Matsubayashi, 1964). Posteriormente Nishigori (1924) describió a la especie *Stamosoma formosanus* registrándola para Taiwan (antes Formosa) y, que obtuvo experimentalmente en perros, a partir de infecciones naturales de metacercarias en peces (ver Tabla 1); también recolectó formas adultas de este tremátodo en *Nycticorax nycticorax* (Aves: Ardeidae) infectada de forma natural (ver Tabla 2). Price (1932) consideró al género *Stamosoma* como sinónimo de *Centrocestus*.

Entre las especies de *Centrocestus* descritas para aves y mamíferos, *C. cuspidatus* (Looss, 1896) Looss, 1899; *C. armatus* (Tanabe, 1922) Price, 1932 y *C. formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932 son consideradas taxonómicamente válidas (Chen, 1942; Premvati y Pande, 1974; Scholz, 1991). Los criterios taxonómicos propuestos para separar las especies se basan en el número de espinas que rodean la boca: 36 en *C. cuspidatus*, de 40 a 44 en *C. armatus* y de 30 a 36 (comúnmente de 32 a 34) en *C. formosanus* (Premvati y Pande, 1974; Scholz, 1991). Otros caracteres diagnósticos se refieren a la forma del borde de las gónadas (testículos y ovario), a la presencia de ornamentación en la cubierta de los huevos, al grado de maduración del embrión en el huevo y al número y tamaño de los huevos de los ejemplares completamente maduros (Chen, 1942; Premvati y Pande, 1974).

El número de espinas orales es un carácter importante, sin embargo se ha registrado cierta variación que debe ser considerada, las otras características carecen de valor taxonómico, ya que por ejemplo, el borde de las gónadas cambia de acuerdo a la solución en que se coloquen los ejemplares (Chen, 1942; Nath, 1972; Premvati y Pande, 1974). El número y el tamaño de los huevos y de los adultos recuperados están sujetos a variaciones, dependiendo de la susceptibilidad y la disponibilidad de la especie de hospedero y de la edad del parásito (Chen, 1942; Premvati y Pande, 1974). Solamente el diseño (ornamentación) de la cubierta de los huevos tiene importancia en la diagnosis de las especies. Así, por ejemplo los de *C. formosanus* la presentan en forma de rejilla (Chen, 1942; Nath, 1974; Pande y Sukhla, 1972; Premvati y Pande, 1974). Otra de las características de importancia diagnóstica es el patrón de las células en flama en la metacercaria (Premvati y Pande, 1974).

La especie *C. formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932 ha quedado bien establecida y ha sido aceptada taxonómicamente como válida por la mayoría de los autores (Vázquez-Colet y Africa (1938; 1939; 1940), Chen (1942; 1948), Martin (1958), Morishita *et al.* (1964), Pande y Sukhla (1972), Faust, Russell y Jung (1974), Premvati y Pande (1974),

Scholz (1991) y Scholz, Ditrich y Giboda (1991)]. En México, la especie fue registrada por primera vez por López-Jiménez (1987a). Su ciclo de vida parcial, así como la descripción del adulto y de los distintos estadios larvarios, fueron registrados por Arizmendi (1989, 1992).

3.1.2. Ciclo de vida

Las formas adultas de *C. formosanus*, parasitan el intestino de aves ictiófagas (principalmente ardeidos migratorios) y de algunos mamíferos (Tabla 2), siendo posible la infección experimental de patos, pollos, roedores, conejos, monos y del hombre (Premvati y Pande, 1974). Los huevos producidos por los parásitos, que presentan un embrión no desarrollado, salen con las heces del hospedero definitivo y al encontrarse en el medio acuático eclosionan en miracidios (Chen y Tung, 1990). Estos penetran al primer hospedero intermedio: gastrópodos prosobranquios de las especies *Melanoides tuberculata*, *Stenomelania newcombi* (Martin, 1958), *Thiara* sp. y *T. plicaria* (Chen y Tung, 1990). En los tejidos del caracol, el miracidio se transforma en esporocisto y produce una sola generación de redias, en su mayoría localizadas en el hepatopáncreas. Estas, dan lugar a las cercarias, las cuales al emerger del caracol pueden penetrar al segundo hospedero intermedio —peces— (Tabla 1), a través de la corriente respiratoria, llegan a las cavidades operculares y se alojan en los arcos y filamentos branquiales, ocasionalmente en el opérculo y muy raramente, en el músculo o en las escamas, para enquistarse y transformarse en metacercarias. Las cercarias pueden también invadir anfibios, dentro de los cuales se alojan en la pared del estómago y los músculos (Chen, 1942). Las metacercarias, al ser ingeridas, junto con el pez o el anfibio, por el hospedero definitivo, alcanzan el estado adulto en su intestino, donde maduran sexualmente, liberando huevos en el medio acuático (Fig. 1).

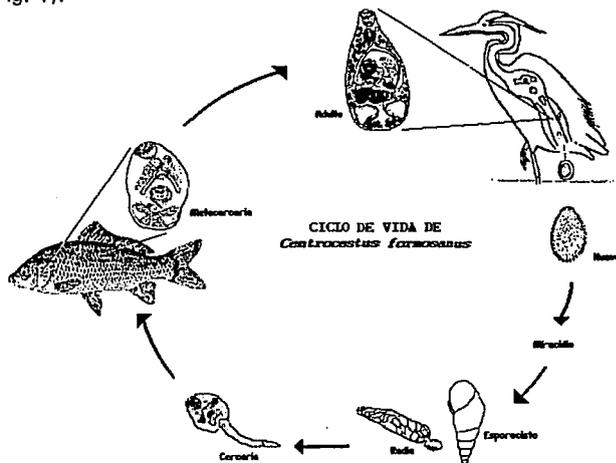


Fig. 1. Ciclo de vida de *Centrocestus formosanus* Nishigori, 1924 (Price, 1932).

3.1.3. Distribución geográfica

La distribución del trematodo es muy amplia, se ha registrado en Taiwan (antes Formosa) por Nishigori (1924); en Filipinas por Vázquez-Colet y Africa (1939, 1940); en China por Chen (1942); en Hawaii por Martín (1958); en Israel por Paperna *in* Yamaguti (1971); en India por Pande y Sukhla (1972), Premvati y Pande (1974), Madhavi (1986) y Madhavi y Rukmini (1991); en Malasia por Baysade-Dufour, Albaret y Ow-Yang (1982); en Japón por Asada *in* Yamaguti (1971) y por Yanohara (1985) y en Vietnam por Scholz (1991) y Scholz *et al.* (1991). En el continente americano sólo ha sido registrado en México y ha sido recolectado en los estados de Hidalgo (López-Jiménez, 1987a, 1987b; Arizmendi, 1989, 1992), Morelos (Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Caspeta, 1994), Veracruz (Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Almeyda-Artigas *et al.* 1994; Velázquez *et al.* 1994), Michoacán (Arévalo *et al.* 1994) y Tabasco (Pineda-López *com. per.*)(Fig. 2).

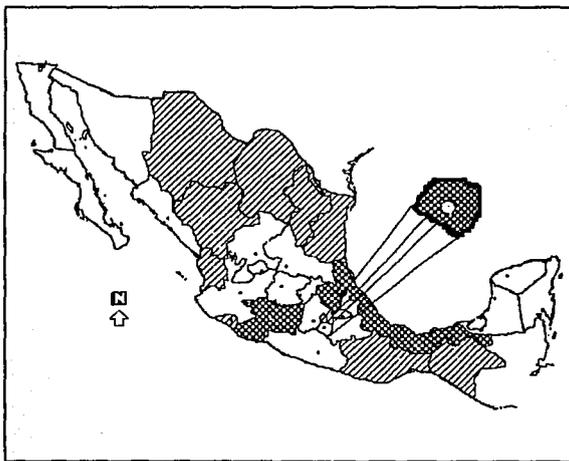


Fig. 2. Distribución actual de *Centrocestus formosanus* y *Melanoides tuberculata* en México [○: Manantial "Las Estacas", Edo. de Morelos —zona de estudio del presente trabajo—; ■ Estados en los cuales el caracol —primer hospedero intermedio— ha sido registrado; ▣ Estados en los cuales el hospedero (caracol) y el parásito (cercarias y metacercarias) han sido registrados naturalmente].

3.1.4. Registro de hospederos

El primer hospedero intermediario mas frecuente corresponde al molusco *Melanooides tuberculata* (Prosobranchia: Gastropoda) (Chen, 1948; Martin, 1958; Yamaguti, 1975; Yanohara, 1985; Madhavi y Rukmini, 1991), que también es el gasterópodo registrado para México (López-Jiménez, 1987a; Arizmendi, 1992); además se han registrado otras especies de caracoles como intermediarios de este tremátodo: *Stenomelania newcombi* (Martin, 1958) en Hawaii, *Thiara* sp. en Japón (Yanohara, 1985), *Thiara plicaria* y *Thiara* sp. (Chen y Tung, 1990) en China. Morishita *et al.* (1964, 1965) refirieron a otras cinco especies de tiáridos como primeros hospederos intermediarios de *C. formosanus*, que desde 1964 no han vuelto a ser registradas: *Semisulcospira libertina* en Japón (Nishigori, 1924); *S. l. subplicosa* y *S. reiniana* var. *hitachiensis* en Japón (Takahashi, 1928); *Melanooides obliquigranosa* en Japón y *M. hahajimae* en Hawaii (Chen, 1948). Los segundos hospederos intermediarios naturales (peces) se enlistan en la Tabla 1, a los que debemos añadir los registros de los anuros *Bufo melanostictus* y *Rana limnocharis* obtenidos en China (Chen, 1942). Los hospederos definitivos naturales (aves y mamíferos) registrados para *C. formosanus* en todo el mundo, se encuentran señalados en la Tabla 2.

Tabla 1. Registro de segundos hospederos intermediarios naturales (Peces duceacuícolas y de aguas salobres) parasitados con *Centrocestus formosanus*.

Especie y familia	País y referencia
<i>Carassius auratus</i> (Cyprinidae)	TAIWAN
<i>Pseudorasbora parva</i>	(Nishigori, 1924)
<i>Rhodeus ocellatus</i>	
<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	
<i>Zacco platypus</i>	
<i>Cyprinus carpio</i>	
<i>Clarias fuscus</i> (Clariidae)	
<i>Channa formosana</i> (Channidae)	
<i>Ophiocephalus tadius</i> (Ophiocephalidae)	
<i>Gambusia affinis</i> (Poeciliidae)	
<i>Polyacanthus opercularis</i> (Polyacanthidae)	
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i> (Cobitidae)	
<i>Parasilurus asotus</i> (Siluridae)	
<i>Hemiramphus dussumieri</i> (Exocoetidae)	ISLAS FILIPINAS
<i>Ophiocephalus striatus</i> (Ophiocephalidae)	(Vázquez-Colet y Africa, 1939;40)
<i>Glossogobius giurus</i> (Gobiidae)	
<i>Therapon plumbeus</i> (Teraponidae)	
<i>Anabas testudineus</i> (Anabatidae)	
<i>Ophiocephalus</i> sp. (Ophiocephalidae)	CHINA
<i>Glossogobius</i> sp. (Gobiidae)	(Kobayasi, 1941 in Premvati
<i>Therapon</i> sp. (Teraponidae)	y Pande, 1974)
<i>Anabas</i> sp. (Anabatidae)	
<i>Ophiocephalus maculatus</i> (Ophiocephalidae)	(Isla Hainan)
<i>Clarias fuscus</i> (Clariidae)	(Kobayasi, 1942)
<i>Carassius</i> sp. (Cyprinidae)	
<i>Misgurnus</i> sp. (Cobitidae)	
<i>Cyprinus carpio</i> (Cyprinidae)	
<i>Macropodus opercularis</i> (Osphronemidae)	HONG-KONG
<i>Puntius semifasciolatus</i> (Cyprinidae)	(Chen, 1942)
<i>Carassius auratus</i>	
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i> (Cobitidae)	
<i>Gambusia affinis</i> (Poeciliidae)	HAWAII
<i>Kuhlia sandvicensis</i>	(Martin, 1958)
<i>Xiphophorus helleri</i>	
<i>Mugil cephalus</i> (Mugilidae)	
<i>Acanthobrama</i> sp.	ISRAEL
<i>Telognathus</i> sp.	(Paperna, 1964 in Yamaguti, 1971)
<i>Varicorhinus</i> sp.	
<i>Tilapia</i> sp. (Cichlidae)	
<i>Tristramella</i> sp.	
<i>Gambusia</i> sp. (Poeciliidae)	
<i>Xiphophorus</i> sp.	
<i>Mugil</i> sp. (Mugilidae)	
<i>Leiognathus nuchall</i> (Leiognathidae)	JAPON
<i>Hyporhamphus sayori</i> (Hemiramphidae)	(Asada in Yamaguti, 1971)
<i>Lateolabrax japonicus</i> (Serranidae)	
<i>Acanthogobius flavimanus</i> (Gobiidae)	
<i>Glossogobius brunneus</i>	
<i>Salanx microdon</i>	
<i>Dorosoma thrissa</i> (Clupeidae)	

<i>Esomus danricus</i> (Cyprinidae)	INDIA
<i>Puntius sophore</i>	(Pande y Sukhla, 1972)
<i>P. chola</i>	
<i>P. ticto</i>	
<i>Osteobrama cotio</i>	
<i>Chela laubuca</i>	
<i>Nandus nandus</i> (Nandidae)	
<i>Xenentodon cancila</i> (Belontiidae)	
<i>Mastacembelus punctatus</i>	
<i>Channa punctatus</i> (Channidae)	
<i>Notopterus notopterus</i> (Notopteridae)	
<i>Oxygaster phulo</i> (Cobitidae)	
<i>O. bacaila</i>	
<i>Amblypharyngodon mola</i>	(Nath, 1974)
<i>Puntius sarana</i> (Cyprinidae)	
<i>Labeo bata</i> (Cyprinidae)	
<i>Cirrhina reba</i> (Cyprinidae)	
<i>Channa punctatus</i> (Channidae)	(Premvati y Pande, 1974)
<i>Mystus vittatus</i> (Bagridae)	
<i>Ompok bimaculatus</i> (Siluridae)	
<i>Colisa lalius</i> (Osphronemidae)	
<i>Cirrhinus reba</i> (Cyprinidae)	
<i>Nandus nandus</i> (Nandidae)	
<i>Chela laubuca</i>	
<i>Puntius chola</i> (Cyprinidae)	
<i>Aplocheilichthys panchax</i> (Cyprinodontidae)	(Madhavi, 1986 y Madhavi y Rukmini, 1991)
<i>Esomus longimana</i>	VIETNAM (Provincia de Laos)
	(Scholz, 1991; Scholz <i>et al.</i> 1991)
<i>Mylopharyngodon piceus</i> (Cyprinidae)	MEXICO
	(López-Jiménez, 1987a; Arizmendi, 1989; 1992)
<i>Cyprinus carpio specularis</i> (Cyprinidae)	(López-Jiménez, 1987a; Anónimo, 1990)
<i>Cyprinus carpio rubrofuscus</i>	
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	
<i>Aristichthys nobilis</i>	
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	
<i>Melagelobrema amblicephalo</i>	
<i>Mylopharyngodon piceus</i>	
<i>Gobiomorus dormitor</i> (Eleotrididae)	(Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 1994)
<i>Xiphophorus helleri</i> (Poeciliidae)	
<i>Gobiomorus dormitor</i> (Eleotrididae)	(Almeyda-Artigas <i>et al.</i> 1994)
<i>Petenia splendida</i> (Cichlidae)	
<i>Trichurus lepturus</i> (Trichuridae)	
<i>Chirostoma humboldtianum</i> (Atherinidae)	Arévalo <i>et al.</i> 1994
<i>Gobiomorus dormitor</i> (Eleotrididae)	Velázquez <i>et al.</i> 1994
<i>Ilyodon withei</i> (Goodeidae)	Caspeta, 1994
<i>Ophisternon aenigmaticum</i> (Synbranchidae)	Pineda-López, 1994 (<i>com. pers.</i>)

* Cercanos a las Costas (Asada *in* Yamaguti, 1971)

Tabla 2. Registro de hospederos definitivos (aves y mamíferos) naturales de *C. formosanus*, en el mundo.

Espece y familia	País y referencia
AVES	
<i>Nycticorax nycticorax</i> (Ardeidae)	TAIWAN (Nishigori, 1924),
<i>Pyreroides manilensis</i> (Pelecanidae)	ISLAS FILIPINAS (Vázquez-Colet y Africa, 1940)
<i>Bubulcus ibis coromandus</i> (Ardeidae)	(Vázquez-Colet y Africa, 1938;1940)
<i>Nycticorax nycticorax</i> (Ardeidae)	HAWAII (Martin, 1958)
<i>Ardeola grayii</i> (Ardeidae)	INDIA (Nath, 1971 in Pande y Sukhla, 1972)
<i>Platalea leucoradia major</i> (Tresquiornitidae)	JAPON
<i>Egretta intermedia</i> (Ardeidae)	(Yamaguti, 1971)
<i>Ardea purpurea</i> (Ardeidae)	INDIA
<i>Bubulcus ibis</i> (Ardeidae)	(Premvati y Pande, 1974)
<i>Egretta intermedia</i> (Ardeidae)	
<i>Nycticorax nycticorax</i> (Ardeidae)	
<i>Platalea leucoradia</i> (Tresquiornitidae)	
<i>Nycticorax nycticorax</i> (Ardeidae)	JAPON
<i>Egretta garzetta</i> (Ardeidae)	(Yanohara, 1985)
<i>Ixobrychus cinnamomeus</i> (Ardeidae)	
MAMÍFEROS	
<i>Rattus</i> sp. (Muridae)	HAWAII
<i>Felis catus</i> (Felidae)	(Martin, 1958)
<i>Canis familiaris</i> (Canidae)	
<i>Canis familiaris</i> (Canidae)	INDIA
<i>Felis catus</i> (Felidae)	(Premvati y Pande, 1974)
<i>Nyctereutes procyonoides</i>	
<i>Rattus norvegicus</i> (Muridae)	

4. ZONA DE ESTUDIO

4.1. Zona de estudio y localidades de muestreo

El estudio se desarrolló en el estado de Morelos, ubicado en la parte central de la República Mexicana, en la vertiente Sur de la serranía del Ajusco, situado entre los paralelos 18°22'5" y 19°07'10" de latitud Norte y 96°37'08" y 99°30'08" de longitud Oeste (Anónimo, 1988).

Desde el punto de vista hidrológico, el estado de Morelos pertenece a la Cuenca del Río Balsas y aloja a dos subcuencas: la del Río Amacuzac, que abarca la mayor parte del estado con una superficie de 4,303.39 Km² y la del Río Nexapa con una superficie de 653.17 Km² (Anónimo, 1988).

Con el propósito de llevar al cabo muestreos tanto en sistemas naturales (ríos) como en cultivos de estanquería de peces, se eligieron la zona del manantial de "Las Estacas" y el Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos (Fig. 3).

4.1.1. Manantial de "Las Estacas", Morelos

Se localiza en la subcuenca del Río Amacuzac, en el centro del estado de Morelos y en el Municipio de Tlaltizapán en la subregión de Jojutla. El manantial se ubica geográficamente entre los paralelos 18°43'30" latitud Norte y a los 99°06'45" longitud Oeste, a 940 msnm. El manantial de "Las Estacas" es considerado uno de los más importantes brotes de aguas subterráneas de la región. La dureza del agua es de 33 mg/l de CaCO₃, considerada de dureza suave, con un pH de 7.8 y el total de sólidos disueltos es de 94 mg/l por lo que se considera de agua dulce (Anónimo, 1980).

El clima es cálido subhúmedo. La época de sequía se presenta al final del otoño-invierno y principios de primavera. La temperatura media anual es de 23°C, con una precipitación media anual de 849 mm entre los meses de junio y octubre.

El Municipio de Tlaltizapán es atravesado por el río Yautepec, que llega hasta el pueblo Bonifacio García, de ahí en adelante toma el nombre de Río Verde, el cual recoge las aguas de los manantiales de "Las Estacas" y recibe las aguas del río Dulce en la zona de Tlaltizapán. Otro río localizado en la zona es el Cuautla o Chinameca, que entra a Tlaltizapán sirviendo de límite con el Municipio de Tepalcingo (Fig. 3).

La flora está constituida principalmente por selva baja caducifolia de clima cálido (Anónimo, 1988).

Este centro piscícola se dedica a la producción, distribución y siembra de crías de tilapias (*Oreochromis* spp.) y de juveniles de carpas (*Cyprinus* spp.). También se cultivan algunas especies de ornato como *Carassius auratus*, *Poecilia latipinna*, entre otras (com. pers. Arturo Castañeda-Jefe del Centro Piscícola de Zacatepec, Mor.).

5. BIOLOGIA GENERAL DE LOS HOSPEDEROS DE *Centrocestus formosanus*

5.1. Primer hospedero intermediario: *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774).

Melanoides tuberculata es una especie de gasterópodo introducida a México, perteneciente a la familia Thiaridae (Gastropoda: Prosobranchia). Es originaria del Medio Oriente y Este de Africa y se encuentra tanto en cuerpos de agua dulce como salobre, con temperatura tropical, subtropical y templada (Malek, 1962; Malek y Cheng, 1974; Livshits y Fishelson, 1983, Pointier y Guyard, 1992, Pointier, Guyard y Mosser, 1989).

Melanoides tuberculata se distribuye naturalmente en la mayor parte de Africa y en las ciudades del Este del Mediterráneo, en la India, Sureste de Asia, Malasia y Sur de China, Norte de las islas Ryukyu de Japón, a través del Sur y Este de islas del Pacífico, hasta el Norte de Australia y Nueva Hébridas (Burch 1980, 1982). El primer registro en América fue realizado en Texas por Murray en 1964, pero posiblemente su introducción se dio antes. En Puerto Rico fue registrado entre 1964 y 1966, en Florida en 1966, en Panamá en 1971, en Venezuela en 1972, en Louisiana en 1975, en Honduras en 1980 y más recientemente en Cuba en 1983 (Pointier, 1989a; Pointier y McCullough, 1989 y Pointier *et al.* 1989). Su introducción a las islas del Caribe se debe a su uso en programas de control biológico (ver más adelante). En México esta especie fue registrada por primera vez en 1973, en el estado de Veracruz (Abbott, 1973), posteriormente Pointier y McCullough (1989) la registran en 1980 en el estado de Coahuila. En Antillas Menores, su presencia fue registrada en la Isla Dominicana en 1975, en La Martinica y Guadalupe en 1979. Actualmente se ha dispersado en toda el área del Caribe y ha demostrado capacidad de colonizar rápida y densamente numerosos cuerpos de agua corriente o estancada (Pointier, 1989a y Pointier y McCullough, 1989) y una gran variedad de hábitats, incluyendo aguas poco profundas, manantiales, canales de irrigación, arroyos, ríos, lagos y ciénagas (Pointier, Delay, Toffart, Lefvre e Incani, 1992).

El tiarido *M. tuberculata* ha sido considerado comúnmente como una especie partenogenética. Sin embargo, Livshits y Fishelson (1983) y Hodgson y Heller (1990) encontraron en Israel poblaciones compuestas por un porcentaje de 20 a 30% de machos con gónadas maduras y esperma móvil, mientras que otras poblaciones consisten únicamente de hembras. *M. tuberculata* es una especie vivípara. En todas las poblaciones los embriones son incubados por la hembra en una bolsa de crianza que se forma en la región anterior dorsal. La cantidad de progenie en una cámara de cría puede llegar hasta 71 individuos. Cuando la liberación de los crías comienza, muchas de ellas tienden a acumularse sobre el material flotante (plantas, madera) a lo largo de la línea de agua. Estas crías miden de 1.5 a 2.0 mm y la concha consiste de una protoconcha grande y de las primeras dos vueltas. Los individuos adultos alcanzan su máxima capacidad reproductiva cuando la concha tiene una altura de 20 mm, después de ésta su fertilidad decrece (Livshits y Fishelson, 1983).

La dispersión de los tiáridos se puede facilitar accidentalmente con el transporte de plantas acuáticas, por motivos comerciales u otros fines (Madsen y Frandsen, 1989 y Pointier, 1989a). En México esta especie fue introducida accidental o intencionalmente en la década de los años sesenta, probablemente por acuaristas en diversas localidades, donde ha tenido un rápido establecimiento. Posteriormente ha adquirido una amplia distribución ocupando casi cualquier cuerpo de agua, registrándose a la fecha en más de 60 localidades de los estados de Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz (Contreras-Arquieta, Guajardo-Martínez y Contreras-Balderas, 1991) (Fig. 2). Abbott (1973) señala que *M. tuberculata* se está dispersando rápidamente desde el sureste de los Estados Unidos hacia América Central, por lo que también el hallazgo de este caracol en México, pudiera estar relacionado con el desplazamiento natural del tiárido.

Recientemente, *M. tuberculata* ha sido empleado en programas de control biológico, utilizándolo como competidor de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea*, *B. peregrina* y *B. prona* (Gastropoda: Planorbidae), que son hospederos intermediarios potenciales de *Schistosoma* spp. Estos programas se han llevado al cabo en la Isla de Santa Lucía (Prentice, 1983; Pointier, 1993a; Pointier y McCullough, 1989), en Brasil (Freitas, Bede, Marco-Junior, De-Rocha y Santos, 1987), en la Isla de La Martinica (Pointier *et al.* 1989; Pointier y McCullough, 1989 y Pointier y Guyard, 1992), en la Isla de Guadalupe (Pointier, 1989a), en la Isla Désirade (Antillas Francesas) (Pointier, Frederic y Mazille, 1991b), en el Lago Hanabanilla, Cuba (Perera, Yong y Sanchez, 1987) así como en Venezuela (Pointier, Balzan, Chrosiecchowski e Incani, 1991c) y en ellos se ha demostrado que *M. tuberculata* tiene capacidad de colonizar muchos tipos de habitats. Las poblaciones de *M. tuberculata* pueden permanecer a muy altas densidades por largo tiempo en habitats permanentes y estables (Pointier *et al.* 1991a, 1991), además de que limitan y frecuentemente excluyen a diferentes especies de *Biomphalaria*, logrando llegar a tener densidades poblacionales de hasta 13,388 ind/m² (Pointier y McCullough, 1989; Pointier *et al.* 1989; Pointier, Toffart y Lefvre, 1991a). En Texas y Florida se han registrado densidades de 51,650 ind/m² y de 7,000 a 37,500 ind/m² respectivamente (Murray y Wopschall, 1965 *in* Pointier, 1989a y Roessler *et al.* 1977 *in* Pointier *et al.* 1989). Sin embargo, existen factores limitantes para la presencia de poblaciones bien establecidas de *M. tuberculata*, como son: fluctuaciones en el nivel del agua, inundaciones en arroyos y ríos, presencia de macrofitas emergentes y sumergidas, cantidad de alimento y contaminación por aguas negras (Pointier *et al.* 1991c).

Melanooides tuberculata tiene una longevidad de 3.5 años en Malasia (Berry y Kadri, 1979 *in* Pointier, 1989a), de 2 a 2.5 años en Hong-Kong (Dudgeon, 1986 *in* Pointier, 1989a), cerca de 2 años en condiciones experimentales en la Isla Guadalupe (Antillas Francesas), por lo que se le puede catalogar como una especie de alta longevidad con bajas tasas de mortalidad (Pointier, 1989a y Pointier *et al.* 1991c). Es omnívora e incluye en su dieta microalgas, bacterias, hongos y materia orgánica vegetal y animal (Pointier y McCullough, 1989). Además, es una especie polimorfica de la cual se han reconocido cuatro morfos partenogenéticos en las Antillas francesas (Islas Guadalupe y Martinica) y no han sido registradas hasta la fecha formas intermedias de los morfos (Pointier, 1989b; Pointier *et al.* 1992 y Pointier 1993b).

El tíarido *M. tuberculata* ha sido registrado como hospedero intermediario de varios tremátodos por Malek (1962); Malek y Cheng (1974); Fahmy, Khalifa y Makhlouf (1986); Ismail y Abdel-Hafez (1987); Ismail, Nasher y Al-Madani (1988); Shameem y Madhavi (1988); Krishna (1987); Lomte y Godhamgaonkar (1988) y por Ismail y Arif (1991).

5.2. Segundos hospederos intermediarios

Es importante señalar la baja especificidad hospedatoria que muestra *C. formosanus* en sus segundos hospederos intermediarios (ver Tabla 1). A la fecha se ha registrado en 28 familias y en más de 80 especies de peces, varias de estas de importancia comercial, a nivel mundial. Sin embargo, en esta parte solo se hace referencia a algunas características biológicas de las principales familias y especies de peces estudiadas en este trabajo y en aquellas en donde se ha registrado la metacercaria del parásito en México.

Poeclíidos (Pisces: Poeciliidae): La familia Poeciliidae comprende 22 géneros y 12 subgéneros con cerca de 190 especies. La distribución natural de los poeclíidos es en aguas dulces, salobres y saladas del continente Americano, en zonas templadas y tropicales, principalmente. Se distribuyen desde el Noreste de los Estados Unidos hasta el Río de la Plata al norte de Argentina, con una gran diversificación taxonómica en México, América Central y Antillas del Este (Parenti y Rauchenberger, 1989).

La especie *Poecilia latipinna* ("topote de velo negro"), es típica del Lago Pontchartrain, Nueva Orleans, Louisiana. Se distribuye actualmente del Sureste de Carolina del Norte hacia las costas de Florida, a lo largo de la costa de Estados Unidos y México hasta la Laguna de Tampamachoco, Veracruz. Se le ha registrado como trasplantada en localidades de Sonora y Baja California. *Poecilia sphenops* ("topote mexicano") se distribuye en la vertiente atlántica, de cerca de Veracruz hacia la cuenca del río Coatzacoalcos; también en el río Grijalva en Chiapas y Guatemala. En la distribución de *Heterandria bimaculata* ("guatopote manchado") su límite norteño es incierto en la costa Atlántica de México, pero no se extiende a la cuenca del río Nautla y hacia el Sur llega a Nicaragua. Actualmente se le encuentra introducida artificialmente a la cuenca alta del río Balsas y en otros cuerpos de agua del país, como en los canales de Xochimilco, en el Valle de México. *Xiphophorus helleri* ("cola de espada") se distribuye en las cuencas del Atlántico del río Nautla, Veracruz, hacia el Sur en el Norte de Honduras. Actualmente se encuentra artificialmente distribuida en la cuenca del río Balsas y en el Valle de México. *Xiphophorus maculatus* ("espada del Sur") se distribuye de Veracruz, México al Norte de Belice. Artificialmente se encuentra distribuida en localidades de Nuevo León, Baja California Sur y Michoacán (Espinosa, Gaspar y Fuentes, 1993).

Los poeclíidos se encuentran en una gran variedad de habitats (arroyos fluctuantes pequeños y grandes, ríos rocosos y grandes ciénegas). Son tolerantes a las altas temperaturas y salinidades y es un grupo fuertemente adaptativo, además de ser excelentes colonizadores (Meffe y Snelson, 1989).

Los poeclíidos explotan una gran diversidad de alimentos, muchos son omnívoros, se alimentan de una mezcla de invertebrados terrestres y acuáticos, detritus, algas y plantas vasculares, sin embargo, existen algunas especies herbívoras, como por ejemplo: *Poecilia latipinna* y una especie piscívora: *Belonesox belizanus* (Meffe y Snelson, 1989).

Todos los poecílidos tienen una fertilización interna y la mayoría de ellos son ovovivíparos o vivíparos, solo existe una especie (*Tomeurus gracilis*) ovípara (las hembras ponen huevos fertilizados) o vivípara facultativa (Parenti y Rauchenberger, 1989). Tienen importancia económica debido a que se utilizan como peces de ornato, en el control biológico de insectos y en conservación (Meffe y Snelson, 1989).

Ciprinidos (Pisces: Cyprinidae): Uno de los peces cultivados más importantes actualmente en el mundo es la "carpa". Las especies que actualmente se cultivan y son explotadas comercialmente en México, son: *Cyprinus carpio communis* ("carpa común"), *C. c. specularis* ("carpa espejo" o "carpa de Israel"), *C. c. rubrofuscus* ("carpa barrigona"), *Hypophthalmichthys molitrix* ("carpa plateada"), *Ctenopharyngodon idellus* ("carpa herbívora"), *Mylopharyngodon piceus* ("carpa negra"), *Aristichthys nobilis* ("carpa cabezona") y *Megalobrama amblycephala* ("carpa brema") (Aguilera y Noriega, 1986). Todas estas especies, a excepción de *C. c. communis* fueron introducidas a México de la República Popular de China, en la década de los sesenta y setenta (Escárcega, 1990) y fueron confinadas al Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hgo., el cual posteriormente se encargo de la reproducción, traslado y siembra de crías a otros centros piscícolas y cuerpos de agua del país. La "carpa dorada" *Carassius auratus* es nativa de la región Eurásica, para México se desconoce la fecha de introducción, pero esta fue con fines ornamentales y posteriormente se ha utilizado en la acuicultura (Espinosa *et al.* 1993).

Las características del hábitat en donde se distribuyen son aguas templadas y cálidas, lénticas y lólicas, en un intervalo de temperatura de 12- 30 °C, sin embargo, su desarrollo óptimo se lleva al cabo de los 18 - 24 °C; particularmente *Carassius auratus* se desarrolla en aguas cálidas, lénticas en un intervalo de temperatura de 20 a 34 °C (Aguilera y Noriega, 1986).

Las carpas han sido utilizadas con éxito en el policultivo en México y representan una alternativa de producción, ya que por sus diferentes hábitos de alimentación, aprovechan todo el alimento disponible en una misma columna de agua. Algunas carpas se alimentan de plancton (larvas de insectos, rotíferos, *Tubifex*, pequeños crustáceos y algas), otras de detritus (materia orgánica degradada de origen animal y vegetal), macrofitas (plantas superiores como hortalizas, alfalfa, lirio acuático, etc.), moluscos (caracoles y almejas) y algunas son omnívoras (cualquier tipo de materia orgánica vegetal o animal). En particular *C. auratus* tiene hábitos alimenticios plantófagos (Martínez y Abrego, 1986). La reproducción de las carpas en México, se lleva a cabo una vez al año, a partir de los dos años de edad, en el período de abril a junio (Martínez y Abrego, 1986).

Cíclidos (Pisces: Cichlidae) Las "tilapias" o "mojarras" (como se les conoce comúnmente) son peces de aguas tropicales y la mayoría de las que se cultivan en México son originarias de África. El intervalo óptimo de temperatura para su desarrollo es de 25 a 30 °C. Todas son sensibles a las bajas temperaturas, con un límite letal de 9 a 13 °C, dependiendo de la especie (Hepher y Pruginin, 1991).

Las tilapias se introdujeron a México en el año de 1964, actualmente se han consolidado como la pesquería más importante de las aguas dulces mexicanas. Las especies presentes en nuestro país pertenecen a los géneros *Tilapia* (con una especie: *T. rendalli*) y *Oreochromis* (con cuatro especies: *O. niloticus*, *O. mossambicus*, *O. urolepis hornorum* y *O.*

aureus) (Lechuga y Velázquez, 1988). En el Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos se cultivan las cuatro especies del género *Oreochromis* mencionadas, principalmente *O. niloticus*.

La introducción de las tilapias a México se hizo con el propósito de repoblar cuerpos de aguas naturales y artificiales, fomentar el desarrollo de cultivos controlados de elevada densidad e iniciar las prácticas para la obtención de híbridos, sin embargo a la fecha el problema principal por el que atraviesa el cultivo de la tilapia, es la sobrepoblación del estanque y/o cuerpo de agua donde se cultiva debido a su inigualable potencial biológico (reproducción precoz, gran adaptación a condiciones adversas, etc.). El efecto de esta sobrepoblación generada por el entrecruzamiento de las especies derivan en una disminución de la talla de los organismos, escasa producción y detrimento comercial del cultivo (Lechuga y Velázquez, 1988). Actualmente se realizan estudios de reversión sexual e hibridación con el propósito de obtener un mejor rendimiento en el cultivo intensivo de estas especies.

En particular de la especie *O. niloticus*, en México ha existido un gran interés por su cultivo, tanto en la parte tropical como subtropical; por lo que este cíclido se encuentra distribuido en los estados de Baja California, Sinaloa, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Aguascalientes, Jalisco, Hidalgo, Morelos, Puebla, Guanajuato, Michoacán, Colima, Veracruz y Tabasco (SEPECSA, 1982; 1986).

Oreochromis niloticus se alimenta principalmente de fitoplancton (de la superficie o del fondo), del cual las diatomeas son un importante componente. Los alevines de *O. niloticus* también se alimentan de detritus macrofítico, rotíferos y otro tipo de zooplancton, larvas de insectos, copépodos y ácaros acuáticos (Hepher y Pruginin, 1991).

5.3. Hospedero definitivo: *Butorides striatus* (Aves: Ardeidae)

Los organismos de esta especie se localizan en charcos, ríos, lagos, lagunas, ciénagas, pantanos y manglares tanto salobres como de agua dulce; anidan en árboles de áreas boscosas de regiones tropicales (American Ornithologist' Union, 1983).

Se consideran dos grupos dentro de esta especie, el grupo "striatus" y el grupo "virescens", aunque algunos autores los describen como especies separadas, ocurriendo una intergradación de ambos grupos en Panamá.

Se reproducen desde el norte de Dakota, centro de Minesota, norte de Wisconsin, sur de Ontario, sur de Quebec y sur de Nueva Escocia hasta el desierto Tortugas de la costa del Golfo, Texas, México y Centro América y al oeste hacia el centro de Colorado y Nuevo México; la invernación la realizan desde Florida y suroeste de Texas hasta América Central y Colombia.

Existen colonias residentes en América (grupo "striatus") desde el este de Panamá, Colombia, sur de Venezuela, Perú, Chile, centro de Argentina y Uruguay, también en las Islas Galápagos y en el Hemisferio Occidental desde el Mar Rojo hasta el Golfo del Eden, en Africa en el Sur del Sahara, sobre las islas del Océano Índico y desde el norte de China, Japón y al Sur en todo Asia y las Filipinas hacia Australia y sur de Polinesia.

El grupo "virescens" realiza migraciones al norte hasta el este de Washington, centro de Ontario, Nueva Escocia y suroeste de Newfoundland, y al sur hasta Surinam y el grupo "striatus" al norte hasta Costa Rica y San Vicente y las Antillas menores (American Ornithologist' Union, 1983).

Se alimentan de peces, anfibios y animales acuáticos pequeños.

El registro helmintológico a nivel mundial de *B. striatus* es muy amplio, e indica un total de 32 especies de helmintos, de los cuales el 59.4% son tremátodos, el 18.75% son céstodos, el 18.75% corresponde a nemátodos y únicamente el 3.1% esta constituido por los acantocéfalos (Amaya, 1990).

Los ardeidos se cuentan entre las aves acuáticas más frecuentes y abundantes en los cuerpos de agua de México y esto podría explicar que sean una de las pocas familias de aves estudiadas con respecto a su helmintofauna. Es destacable también el carácter migratorio de sus especies, lo cual permite suponer la amplitud en la distribución geográfica de los parásitos que las afectan (Amaya, 1990).

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. Generales

A continuación se describe la metodología general del trabajo: **a)** la recolección y examen de hospederos intermediarios (moluscos y peces) naturales; **b)** la recolección y el examen de hospederos definitivos naturales y **c)** las infecciones experimentales en peces, anfibios, aves y mamíferos y la recolección de parásitos (cercarias, metacercarias y adultos), en tanto que en cada capítulo se detallan los aspectos metodológicos inherentes para cada parte del estudio. Además con el fin de facilitar la comprensión de la metodología empleada en este trabajo, se anexa un diagrama de flujo al final del inciso 6.5 (pág. 24).

6.2. Recolección y examen de hospederos intermediarios naturales (moluscos y peces).

En ambas localidades se recolectaron caracoles *Melanoides tuberculata* y algunas especies de peces como *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus*, *Heterandria bimaculata*, *Poecilia sphenops*, *P. latipinna* y *Carassius auratus*, para determinar la infección de *C. formosanus* en estos hospederos.

• Molusco: *Melanoides tuberculata*

En la localidad del manantial "Las Estacas", se desarrolló un muestreo para estimar la densidad de *M. tuberculata* por metro cuadrado, aplicando la metodología descrita por Freitas *et al.* (1987), Pointier (1989a) y Pointier *et al.* (1989) (ver capítulo 3 de este trabajo). En el Centro Piscícola de Zacatepec el muestreo se llevó al cabo con la ayuda de una red de 40 x 50 cm con una abertura de malla muy fina que no permitía el paso de caracoles pequeños. En esta localidad no se estimó la densidad por metro cuadrado, sólo se corroboró su presencia, así como la de prosobranquios infectados.

Los caracoles recolectados se transportaron al laboratorio en recipientes de plástico de 300 ml de capacidad, con agua procedente de la misma localidad de muestreo. En el laboratorio se mantuvieron en acuarios con agua de la localidad a una temperatura de 25°C ± 1°C, con aireación por medio de bombas para acuario, examinándose dentro de las 24 a las 48 h posteriores a su colecta. Para determinar si eran positivos a la infección, se colocaron individualmente en frascos transparentes con capacidad de 30 ml, con agua de clorinada y sobre una platina con la misma temperatura que tenían en el acuario, proporcionándoles alimento comercial en hojuelas ("TetraMin") *ad libitum* y exponiéndose a un fotoperiodo (luz/obscuridad de 12h/12h) y una fotofase 06:00 - 18:00 h. Al término de este lapso se examinó el contenido de cada frasco con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Mouchet, Théron, Brémond, Sellin E. y Sellin B., 1992). Los moluscos que liberaron cercarias se separaron en un acuario con las mismas condiciones descritas.

- Peces

En cada una de las dos localidades se colectaron 30 individuos de cada especie (*Heterandria bimaculata*, *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus*, *Poecilia sphenops*, *P. latipinna* y *Carassius auratus*), utilizando para tal propósito redes o trasmallos; su transporte se llevó a cabo en bolsas de plástico de 60 x 80 cm, con agua de la localidad de recolecta y se mantuvieron en acuarios apropiados con agua de clorinada y con aireación por medio de bombas. De cada pez se especificó la zona de colecta, fecha, especie y los datos merísticos convencionales: longitud total, longitud patrón, altura máxima y el peso. Posteriormente, se procedió a hacer su examen helmintológico, dentro de las 24 h después de su colecta. En virtud de que la prevalencia de *C. formosanus* en los peces de estudio fue siempre muy alta, se consideró que 30 peces es un buen tamaño de muestra, ya que los errores standard se van a distribuir normalmente y esto nos permite especificar límites de confianza más precisos.

En el laboratorio los peces se sacrificaron por punción cerebral y se disectaron las branquias, separando cada uno de los arcos branquiales, con el fin de determinar con precisión la cantidad de metacercarias enquistadas. Los arcos branquiales se colocaron en cajas de Petri con solución salina al 0.65% y se revisaron bajo un microscopio estereoscópico para contar el número de metacercarias enquistadas..

Algunas metacercarias se desenquistaron por punción con dos agujas de punta fina, bajo el microscopio estereoscópico, para hacer observaciones de sus estructuras *in vivo* y otras se emplearon para realizar infecciones experimentales (ver inciso 6.5).

6.3. Recolección y examen de hospederos definitivos naturales

Con el fin de confirmar y valorar la infección de hospederos definitivos en condiciones naturales, se recolectaron y analizaron dos ejemplares de la especie *Quiscalus mexicanus* (Passeriformes: Emberizidae), conocidos como "zanates" y uno de la especie *Butorides striatus* (Ciconiiformes: Ardeidae), conocido comúnmente como "garcita verde".

Los "zanates" y la "garcita verde" se cazaron en la localidad de "Las Estacas". En la misma localidad de colecta se procedió inmediatamente a disectarlos para revisar el intestino, bajo el microscopio estereoscópico, con el fin de encontrar la fase adulta.

6.4. Análisis de Datos

Para evaluar el grado de la infección causada por *C. formosanus*, en los distintos hospederos se calculó la prevalencia, la intensidad media y la abundancia (Margolis, Esch, Holmes, Kuris y Schad, 1982): **Prevalencia:** Porcentaje de hospederos parasitados en una muestra dada; **Intensidad promedio:** Cantidad total de parásitos entre la cantidad total de hospederos parasitados y la **Abundancia:** Cantidad total de parásitos entre la cantidad total de hospederos revisados (sanos e infectados).

6.5. Infecciones experimentales en peces, anfibios, aves y mamíferos y obtención de parásitos (cercarias, metacercarias y adultos).

- **Peces:** Con el propósito de valorar experimentalmente la infectividad de *C. formosanus* y la susceptibilidad en dos especies de peces (*Oreochromis niloticus* y *Carassius auratus*) se llevaron al cabo infecciones experimentales como a continuación se describe.

Las crías de tilapias (*O. niloticus*) fueron donadas por el Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, donde habían nacido, mientras que los ejemplares pertenecientes a *Carassius auratus* se obtuvieron de una granja particular que se localiza frente al Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos. Para el caso de estos últimos se aseguró que no presentaran previamente la infección, con el análisis de 30 de ellos y así se certificó la ausencia de metacercarias enquistadas. Los peces se expusieron a la infección con cercarias obtenidas de caracoles infectados naturalmente (determinados como se indica en la metodología descrita en el inciso 6.2). Estas infecciones se realizaron con cercarias recién emergidas, en cantidad conocida, colocándolas en cristalizadores donde se expuso individualmente a cada pez durante un período de 6 h. Después de este lapso, los peces se trasladaron a acuarios con las mismas condiciones descritas, siendo sacrificados a diferentes períodos, siguiendo la metodología del inciso 6.2.

- **Anfibios:** Con el fin de valorar experimentalmente la infectividad de cercarias de *C. formosanus* y la susceptibilidad en anuros de la especie *Spea multiplicata* (Pelobatidae) se realizaron infecciones experimentales en doce renacuajos, estos se recolectaron con la ayuda de una red de mano de charcos temporales, presentes en la época de lluvias (julio-septiembre), del parque "Los Coyotes" que se localiza en la delegación Coyoacán de la Ciudad de México.

Se revisaron los charcos del parque para observar la ausencia de moluscos, principalmente de la especie *Melanooides tuberculata*. Los renacuajos presentaban diferentes tallas de longitud, del extremo anterior al final de la cola, siendo estas de 26 a 36 mm (31.6 mm). Se expusieron a la infección con cercarias obtenidas de moluscos infectados naturalmente, siguiendo la metodología descrita en el inciso 6.2.

Las infecciones se realizaron de la misma forma que la señalada para los peces. Los renacuajos se alimentaron diariamente "ad libitum" con alimento artificial "TetraMin", adicionándoles algas filamentosas, recolectadas del mismo sitio de captura. Se mantuvieron a una temperatura de 25°C en promedio, con aireación por medio de bombas y un fotoperíodo natural constante de 12 h luz / 12 h oscuridad. Una vez que transcurrió la metamorfosis, que aproximadamente ocurrió de las 4 a las 6 semanas después de la infección, se trasladaron a un terrario donde ocho días después se sacrificaron para proceder a su disección.

Los sapos se sacrificaron por punción cerebral y se disectaron cuidadosamente separando la piel y los órganos internos, así como los músculos, se colocaron en solución salina al 0.65% y se revisaron bajo el microscopio estereoscópico. Una vez que se localizaron las metacercarias estas fueron puestas en una preparación temporal con solución salina al 0.65% para llevar al cabo el conteo de las mismas.

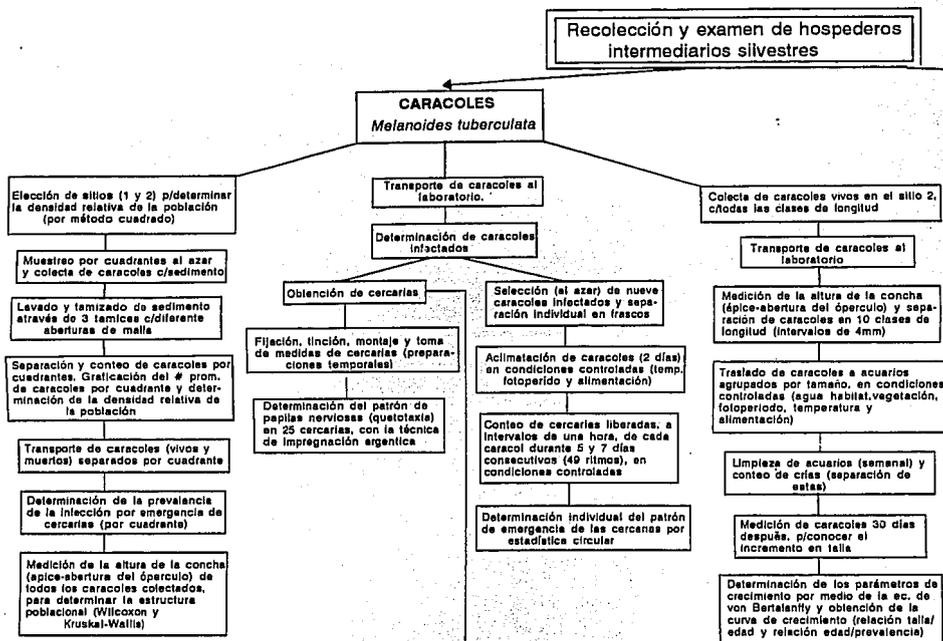
• **Aves y Mamíferos:** Para establecer la infectividad de *C. formosanus* en hospederos definitivos y obtener la fase adulta, se realizaron infecciones experimentales en pollos de granja *Gallus gallus*, obtenidos en un mercado del Centro de la Ciudad de México y en ratones de laboratorio *Mus musculus*, donados por los Bioterios de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco y de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Para esto, se utilizaron metacercarias obtenidas tanto de infecciones naturales como experimentales (ver inciso 6.2). Estos hospederos se sometieron a un período previo de ayuno de 12 h como mínimo, para facilitar la ingestión de las branquias recién disectadas con metacercarias vivas en cantidades conocidas, 12 h después se alimentaron con una fórmula comercial.

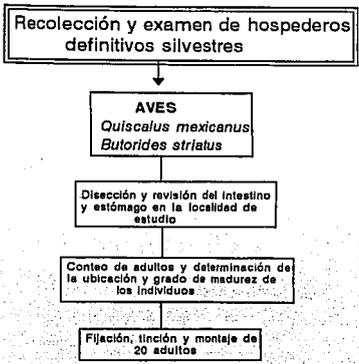
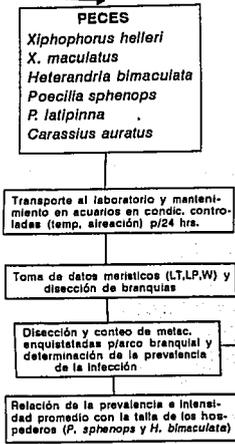
Posteriormente y a tiempos postinfección determinados (5, 10, 16 y 20 días), se procedió a revisar el intestino de cada hospedero. Los adultos recuperados fueron retirados con la ayuda de un pincel y colocados en solución salina al 0.85%. De cada hospedero experimental se registró la edad, la cepa, el peso y la cantidad de adultos obtenidos.

Algunos adultos se montaron en preparaciones temporales con el propósito de observar sus estructuras *in vivo*. Otros se mataron en agua caliente, posteriormente se fijaron en alcohol etílico al 70% y se sometieron a diversas tinciones (paracarmín de Mayer, hematoxilina de Ehrlich o tricrómica de Gomori), montándose en preparaciones permanentes con bálsamo de Canadá para su posterior estudio morfológico. A partir de otros adultos se obtuvieron huevos, destruyendo para ello sus cuerpos. Los huevos fueron incubados en agua destilada con gentamicina al 0.001%, en estufa a 27°C, con el fin de obtener la fase de miracidio.

Los adultos encontrados en la "garcita verde" (*Butorides striatus*) fueron retirados de la misma forma como la descrita para los ratones. La muerte, fijación y tinción de los ejemplares se realizó de igual manera que los obtenidos experimentalmente de ratones de laboratorio. A partir de algunos adultos se obtuvieron huevos, que fueron procesados como se menciona para los recuperados en los ratones.

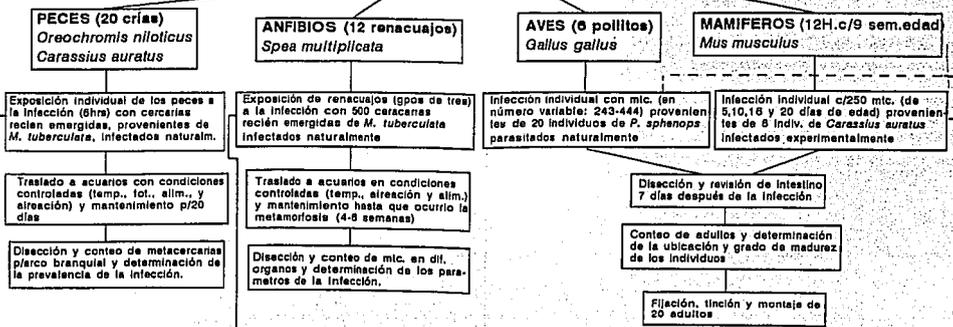
Diagrama de flujo de la metodología empleada en el presente trabajo:





Infecciones experimentales

Obtención de hosp. intermediarios y definitivos experimentales



RESULTADOS

7.1. Capítulo 1

**Quetotaxia de la cercaria de
*Centrocestus formosanus***

7.1.1. Introducción

La presencia de *Centrocestus formosanus* en México implica un problema de introducción de especies. La introducción de este tremátodo a nuestro país probablemente no se realizó junto con los segundos hospederos intermediarios, las "carpas chinas" (*Mylopharyngodon piceus*), sino con los caracoles (*Melanooides tuberculata*) que son los primeros hospederos intermediarios.

Siendo *C. formosanus* una especie asiática es válido cuestionar si la determinación de su presencia en México es precisa, debido a esto es importante corroborar la determinación específica del tremátodo. En la actualidad se conoce el estudio morfométrico comparado de cercarias y metacercarias naturales y de adultos recobrados experimentalmente (Arizmendi, 1989; 1992; Salgado-Maldonado *et al.* 1994). Sin embargo, la identificación del parásito puede confirmarse mediante el estudio quetotáxico (patrón de la distribución de papilas nerviosas) de su cercaria, el cual aporta datos adicionales útiles para la taxonomía de la especie y hace más práctica la determinación específica, debido a que resultan innecesarias las infecciones experimentales para obtener el estado adulto, sobre el que se basa la identificación. Además, el estudio de la quetotaxia ha demostrado tener una gran importancia desde los puntos de vista filogenético y taxonómico (Richard, 1971; Bock, 1983; Bušta, 1987).

El objetivo de esta parte del trabajo es determinar la identidad específica de la cercaria emergida de *M. tuberculata* por medio del estudio de su quetotaxia.

7.1.2. Materiales y Métodos

Las cercarias recién emergidas se obtuvieron con una pipeta Pasteur del agua de los frascos que contenían los ejemplares de *Melanooides tuberculata* infectados naturalmente, recolectados en el canal lateral al balneario "Las Estacas" [ver inciso 6.2. Metodología General y diagrama de flujo (pág. 24)].

Las cercarias se mataron con agua caliente, se fijaron en formol al 5%, se tiñeron con azul de nilo y se montaron en preparaciones temporales con Lactofenol de Amman. Posteriormente con un ocular micrométrico se midieron un total de 30 cercarias. Las medidas se dan en micras, indicando el mínimo, el máximo y, entre paréntesis, el promedio. No se ejerció presión con el cubreobjetos.

Para determinar el patrón de receptores sensoriales en las cercarias recién liberadas de dichos caracoles se llevó al cabo la técnica de impregnación argéntica, siguiendo el método descrito por Combes, Bayssade-Dufour y Cassone (1976), el cual se detalla a continuación.

Se colocaron cinco cercarias en un portaobjetos con la menor cantidad de agua destilada posible y se añadieron de dos a tres gotas de solución de nitrato de plata al 5%. Se expusieron durante diez minutos a una lámpara de luz ultravioleta; posteriormente se retiraron de la luz y se lavaron con agua destilada, eliminando el exceso con una pipeta Pasteur. Las larvas se montaron en una mezcla de líquido de Foure con Lactofenol de Amman, en una proporción de 1:1. Finalmente, la preparación se selló con barniz transparente. La quetotaxia se determinó en 25 cercarias como en Samnaliev, Dimitrov y Bušta, 1983.

El patrón de receptores sensoriales se describió de acuerdo con la nomenclatura propuesta por Richard (1968, 1971), basado en el arreglo de una cercaria primitiva hipotética, en la que la posición de las papilas nerviosas está determinada aproximadamente por la intersección de seis ejes nerviosos longitudinales (dos dorsales, dos laterales y dos ventrales) correspondientes a seis troncos del anillo nervioso y dos ciclos transversales (correspondientes a las comisuras del anillo). La cantidad de papilas es difícil de precisar; sin embargo, se admiten cuatro ciclos para la zona cefálica, tres para la zona postacetabular, 11 para el tronco caudal y 11 para cada bifurcación de la cola. A nivel del acetábulo, las papilas están dispuestas en círculos concéntricos, designados por la letra *S* (*S*/: ciclo interno y *S*//: ciclo externo). Para la designación de las papilas se utiliza una letra para cada zona (*C*: cefálica, *A*: anterior al acetábulo, *M*: media, *P*: posterior al acetábulo, *U*: caudal y *F*: para las ramas de la cola); cada número romano indica el intervalo de los ciclos de cierta región (de I a VI); las letras *V*, *D* y *L*, indican las posiciones ventral, dorsal y lateral, respectivamente. La simetría es bilateral, por lo que no se precisa si corresponde a la región izquierda o derecha.

A las cercarias estudiadas se les tomaron fotomicrográficas con una cámara Nikon FX-35DX adaptada a un microscopio óptico Nikon Optiphot-2. Las tomas se realizaron en campo claro.

7.1.3. Resultados

La cercaria es de tipo distoma, leptocerca, el cuerpo es cordiforme; mide 113 - 154 μ (140) de longitud total por 76 - 103 μ (83) de anchura máxima a nivel del acetábulo; la ventosa oral mide 28 - 36 μ (33) de largo y de 27 - 35 μ (30) de ancho. El diámetro de la faringe es de 21 - 26 μ (24); el largo de la cola es de 114 - 155 μ (131) y de ancho máximo de 18 - 24 μ (20).

Siguiendo la nomenclatura propuesta por Richard, (1968, 1971), el patrón de papilas nerviosas que mostraron las cercarias emergidas de *Melanoides tuberculata*, es el siguiente:

A.- Región cefálica

Consta de un total de 66 a 72 papilas, distribuidas en cinco ciclos, señalando sólo el plano sagital (Figs. 4-7).

C_I	=	1 C_{I1} , 11 a 12 C_{I2}
C_{II}	=	1 C_{II1} , 3 C_{II2} , 2 C_{II3} , 1 ó 2 C_{II4}
C_{III}	=	2 C_{III1} , 2 C_{III2} , 3 C_{III3}
C_{IV}	=	2 C_{IV1} , 1 C_{IV2}
C_V	=	2 C_{V1} , 0 ó 1 C_{V2} , 2 C_{V3}



Fig. 4. Fotomicrografía de la región cefálica, ventral, de la cercaria de *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932 liberada de *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) del manantial "Las Estacas" Mor., papilas nerviosas: A) 1 C_{I1} ; B) 3 C_{I2} ; C) 2 C_{II3} ; D) 2 C_{III1} ; E) 2 C_{III2} ; F) 2 C_{IV1} ; G) 2 C_{V1} (en parte). Escala de la barra = 6.5 μ .

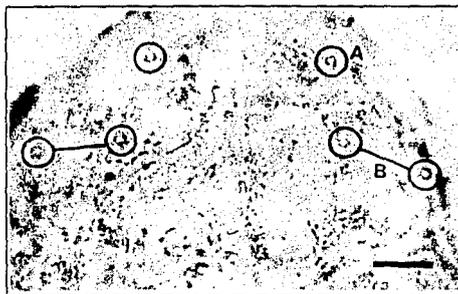


Fig. 5. Fotomicrografía del extremo anterior, dorsal, de la cercaria de *C. formosanus*, papilas nerviosas: A) 1 C_{V2} ; B) 2 C_{V3} . Escala de la barra: 6.5 μ .

B.- Región corporal

Consta de un total de 32 a 42 papilas; sólo se representa el plano sagital (Figs. 6 y 7).

Bi. Región ventral

A_I	=	2 $A_{I,V}$
A_{II}	=	1 $A_{II,V}$
A_{III}	=	1 $A_{III,V}$

Bii. Región lateral

A_I	=	3 a 4 $A_{I,L}$
A_{II}	=	1 a 2 $A_{II,L}$
M	=	1 M_L
P_{II}	=	1 $P_{II,L}$

Biii. Región dorsal

A_I	=	1 $A_{I,D}$
A_{II}	=	2 ó 3 $A_{II,D}$
A_{III}	=	1 ó 2 $A_{III,D}$
M	=	3 M_D

C.- Cola

Consta de dos pares (Fig. 7).

U D = 2 pares

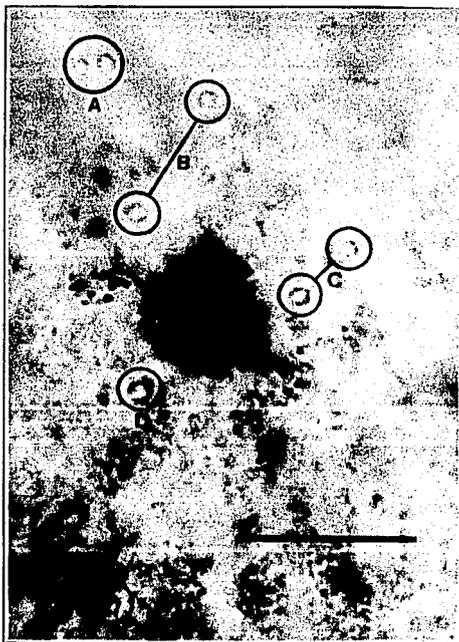


Fig. 6. Fotomicrografía del plano sagital derecho, ventral, de la cercaria de *C. formosanus*, papilas nerviosas: A) 2 $C_{V,1}$; B) 2 $C_{V,1}$; C) 2 $A_{I,V}$; D) 1 $A_{II,V}$; E) 1 $A_{III,V}$. Escala de la barra = 6.5 μ .

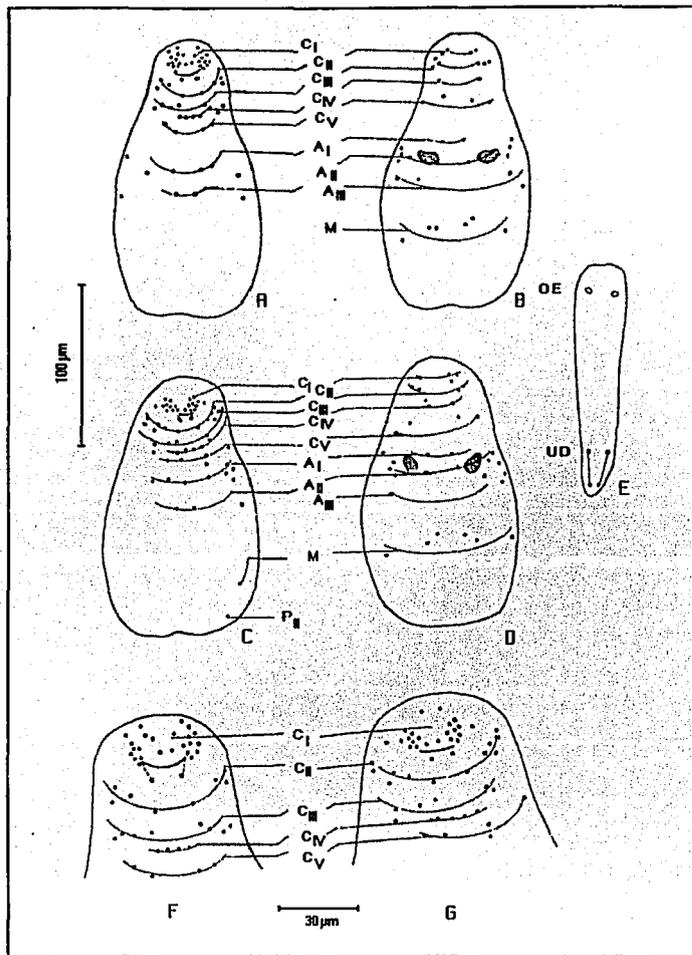


Fig. 7. Patrón quetotáxico de la cercaria de *C. formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932; A - C) Quetotaxia cefálica y corporal, ventral; B - D) Quetotaxia cefálica y corporal, dorsal; E) Quetotaxia caudal; F - G) Detalle de la quetotaxia cefálica ventral. (Tomado de Bayssade-Dufour *et al.* 1982).

7.1.4. Discusión

Las cercarias liberadas de *Melanoides tuberculata* y utilizadas para el estudio quetotáxico resultaron morfométricamente semejantes a las descritas por Chen (1948) para *Centrocestus formosanus* de China, aisladas de la misma especie de caracol. El patrón de papilas nerviosas mostrado por las cercarias emergidas de *M. tuberculata* de "Las Estacas", resultó prácticamente idéntico al establecido por Bayssade-Dufour *et al.* (1982) para las cercarias de *C. formosanus* de Malasia, liberadas de infecciones naturales de la misma especie de molusco, difiere exclusivamente en la cantidad de papilas observadas en ciclo $A_{III}V$, ya que las cercarias estudiadas siempre presentaron una papila, mientras que dichos autores mencionan que raras veces ésta se presenta (Figs. 6 y 7). Sin embargo, la presencia constante de la papila en el ciclo $A_{III}V$ de nuestros ejemplares no significa que se trate de otra especie, esto sugiere que posiblemente Bayssade-Dufour *et al.* (1982) no la observaron.

Las cercarias medidas fueron mas grandes que aquellas registrados por Arizmendi (1992), probablemente debido al tipo de medio —que causó la muerte— que empleo (formol caliente al 10%), al menor número de ejemplares que midió (12) y a la naturaleza de las larvas que examinó (aisladas inmaduras de caracoles disectados).

La quetotaxia ha demostrado ser una herramienta teórica esencial y debido a que la conservación de preparaciones con una solución de nitrato de plata es sencilla y eficaz, se pueden realizar comparaciones posteriores con ellas. Por lo tanto, la quetotaxia representa un método práctico y económico para realizar estudios taxonómicos (Richard, 1971; Bušta, 1987; Mouahid, Moné, Chaib y Théron, 1991).

La quetotaxia se ha estudiado en varios grupos de platelmintos; por ejemplo, en monogéneos ha sido abordada por Lambert (1976, 1977, 1978, 1979) y Lambert y Denis (1982) y en tremátodos, por Bayssade-Dufour *et al.* (1982), Bayssade-Dufour, Cabaret, Ngendahayo, Albaret, Carrat y Chabaud (1989a), Bayssade-Dufour, Grabda-Kazubska y Chabaud (1989b), Bock (1983, 1984), Bock y Jansen (1987), Bušta (1987), Grabda-Kazubska y Moczón (1981), Richard (1968, 1971), Samnaliev y Dimitrov (1980), Samnaliev, Dimitrov y Genov (1982), Samnaliev *et al.*, (1983), Théron (1976) y, por Vaucher (1972), entre otros. Estos autores están de acuerdo en que la quetotaxia posee importancia en sistemática, taxonomía y filogenia. Por ejemplo, el estudio llevado al cabo por Richard (1971) demostró la existencia de un patrón básico en la distribución de los receptores sensoriales permitiendo confirmar que todas las especies de una superfamilia difieren de las otras y señalo que la quetotaxia tiene un valor filogenético, ya que las especies mas evolucionadas muestran un decremento numérico de receptores sensoriales en la cola, un incremento de aquellos situados sobre el cuerpo y un fenómeno de cefalización en la región anterior. El valor taxonómico de la quetotaxia se presenta en diferentes niveles: en el específico, permite separar especies cercanamente relacionadas (Richard, 1968; Vaucher, 1972; Samnaliev *et al.* 1983; Bock, 1983; Bušta, 1987), proporcionando, además, una determinación de especies posible en cercarias, como el caso de dos especies de *Schistosoma*. En el genérico, la quetotaxia permite corroborar esquemáticamente la división establecida por diferentes autores y algunas veces permite una definición más precisa del género (ver Richard, 1971); a nivel de familia, la quetotaxia específica y simplifica definiciones y además, permite establecer semejanzas entre familias (Bušta, 1987); a nivel de superfamilia se ha observado que la

distribución de papilas sensoriales en la cola es altamente característica de cada superfamilia (Richard, 1971).

Aunado a lo anterior y considerando que hasta el presente la sistemática de la Clase Trematoda está fundamentada a nivel de especie, sobre caracteres morfológicos del adulto que son por lo general cuestionables [debido a que en algunas ocasiones no se toman en cuenta factores como: técnicas de fijación y preservación, variaciones intraespecíficas inducidas por diferentes hospederos, variabilidad geográfica, etc., los cuales pueden modificar los rasgos de importancia taxonómica] y a nivel supra-genérico y genérico sobre apreciaciones comúnmente subjetivas, la filogenia del grupo parece algo obscura (Richard, 1968). La cantidad y arreglo de los receptores sensoriales de las cercarias que están directamente conectados con el sistema nervioso, han demostrado ser constantes para cada especie (Samnaliiev *et al*, 1983) al igual que el aparato excretor y están menos sujetos a convergencias y fenómenos adaptativos que la morfología general (Richard, 1971). Richard (1968) ha argumentado que en consideración a que los tremátodos fueron originalmente parásitos de moluscos y no de vertebrados podría ser conveniente sentar las bases sistemáticas y filogenéticas de los tremátodos en sus formas larvarias, por ejemplo en las cercarias con base a su quetotaxia, más que en las formas adultas. Otros autores han propuesto que la quetotaxia facilita la comprensión de las tendencias evolutivas de algunos grupos (p.e. Plagiorchiata), característica esencial para su estudio cladístico (Bayssade-Dufour *et al*. 1989a).

De acuerdo con los resultados presentados se corrobora que la identidad específica de la cercaria emergida de *Melanoides tuberculata* de "Las Estacas", Morelos, México, pertenece a la especie *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924), Price, 1932; confirmándose así la presencia de esta especie, de origen asiático, en nuestro país.

7.2. Capítulo 2

**Patrón de emergencia
de las cercarias de
*Centrocestus formosanus***

7.2.1. Introducción

Varios autores han estudiado los patrones de emergencia de cercarias, por ejemplo en diferentes especies de *Schistosoma* (Schistosomatidae) (Valle, Pellegrino y Alvarenga, 1971; Théron, 1976; Combes y Théron, 1977; Raymond y Probert, 1987; Théron, 1989; Pagès y Théron, 1990a,b; Mouahid *et al.* 1991; Ferrer, Pointier, Théron y Moné, 1991 y Mouchet *et al.* 1992), en *Riberoia marini* (Cathemasiidae) (Combés y Théron, 1977), en *Plagiorchis neomidis* (Plagiorchiidae) (Webber, Rau y Lewis, 1986), en *P. noblei* y otras. Se ha observado que en condiciones naturales la liberación de cercarias se efectúa siguiendo un ritmo determinado y se ha demostrado que la luz y la temperatura desempeñan un papel importante en la sincronización de dichos ritmos (Valle *et al.* 1971; Combes y Théron, 1977, Combes, 1991b).

Combes y Théron (1977) han definido tres tipos de ritmos de emisión de cercarias, los cuales son: circadianos (cuando exhiben un pico o acrofase de emisión cada 24 h), ultradianos (con dos o varios picos cada 24 h) e infradianos (con picos de emisión con una periodicidad mayor a 24 h).

Los ritmos de emergencia de las distintas especies de cercarias, evidencian la existencia de una relación muy interesante entre la posición de la acrofase (período de máxima emisión de cercarias) y el comportamiento del hospedero al que están destinadas y poseen un valor adaptativo, estrechamente ligado a la realización exitosa de sus ciclos de vida. Puede pensarse que esta íntima adaptación es el resultado de una selección de los genes de los tremátodos, determinado por el comportamiento de sus hospederos, que coincide con las horas de emergencia más favorables (Combes y Théron, 1977).

Lo elevado de la prevalencia de metacercarias de *Centrocestus formosanus* en las poblaciones silvestres y de cultivo de distintos peces de agua dulce en México (Anónimo, 1990; Arizmendi, 1992; Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Almeyda-Artigas *et al.* 1994) y en el mundo (Madhavi, 1986; Madhavi y Rukmini, 1991), sugiere que el proceso de transmisión, así como el de infección (establecimiento) son muy efectivos y que pueden estar operando algunos mecanismos que faciliten o hagan eficientes estos procesos. Con base a lo expuesto, se considera importante estudiar el patrón de emergencia de las cercarias de *C. formosanus* liberadas de *Melanooides tuberculata*. A la fecha no existen en la literatura datos sobre el patrón de emergencia de las cercarias de *C. formosanus*.

Recientemente los estudios cronobiológicos se han visto apoyados con el uso de estadística circular para el análisis de los datos y su empleo ha resultado ser una herramienta muy útil en ritmos biológicos. En el Apéndice 1, se desarrolló un resumen de las bases de la Estadística Circular con algunos ejemplos de su aplicación en estudios cronobiológicos, así como las pruebas estadísticas para demostrar su significancia y su correspondiente interpretación (tomado de Batschelet, 1981; Mardia, 1972 y Chassé y Théron, 1988). Este apéndice nos permite ser más explícitos con los métodos que aplicamos en esta sección, para el análisis de los datos.

7.2.2. Materiales y Métodos

i. Colecta y aislamiento de *Melanooides tuberculata* infectados.

Para obtener caracoles infectados con cercarias de *C. formosanus* se realizó una colecta en un canal lateral al curso del río "Las Estacas", Mor., durante el mes de julio de 1992. El canal presenta una anchura máxima de tres metros y una profundidad promedio de un metro, las paredes y fondo del canal son de concreto, inicia en el brote del manantial "Las Estacas" (en el balneario del mismo nombre) y corre hasta llegar al pueblo Bonifacio García, municipio de Tlatizapan. Los tíaridos *M. tuberculata*, fueron recolectados manualmente del fondo del canal y posteriormente transportados al laboratorio, en donde se aislaron individualmente. Para tal efecto se trabajó con la misma metodología señalada en el inciso 6.2, de la Metodología General (ver diagrama de flujo).

La identificación del parásito fue confirmada con base en la quetotaxia de su cercaria (ver capítulo 1), así como también con la comparación morfométrica de las metacercarias (obtenidas de infecciones experimentales realizadas en *Carassius auratus*) y adultos (recuperados de infecciones experimentales practicadas en *Mus musculus*) (ver capítulo 4).

ii. Determinación del patrón de emergencia.

De 80 caracoles que resultaron infectados naturalmente, se seleccionaron al azar nueve (Webber *et al.* 1986; Pagès y Théron, 1990a; Mouahid *et al.* 1991). Fueron introducidos individualmente en frascos de plástico de 40 ml que contenían 25 ml de agua aireada a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ y sometidos a un período de aclimatación de dos días consecutivos, antes de llevar al cabo el análisis individual del ritmo emergencia (Mouchet *et al.* 1992). Estos nueve prosobranquios presentaron una talla de 15.6 - 21.0 mm de largo y una anchura máxima a nivel del óperculo de 4.4 - 5.9 mm.

Las condiciones experimentales para el análisis fueron: temperatura del agua constante ($26 \pm 1^\circ\text{C}$); se alimentaron con hojuelas de alimento comercial "TetraMin" en cada cambio de agua (de una hora); fotoperíodo balanceado (luz/obscuridad : 12 h/12 h) y una fotofase de 06:00 h a 18:00 h (2,000 lux), con un incremento gradual en la intensidad al comienzo de la fotofase y un decremento al final de ésta (Théron, 1989; Pagès y Théron, 1990a). La intensidad de luz se aplicó por medio de una fuente artificial y para lograr una fase de obscuridad total y constante, los moluscos se mantuvieron en una caja cerrada con las caras forradas de papel negro y colocada en un cuarto oscuro (Almeyda-Artigas, 1988).

El ritmo de emergencia de las cercarias de *C. formosanus* fue determinado experimentalmente para siete caracoles durante cinco días consecutivos y para otros dos caracoles durante siete días consecutivos.

Las cercarias emergidas se contaron directamente a intervalos de una hora con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Se registró el intervalo, la temperatura del agua, la temperatura del medio y el número de cercarias liberadas por caracol.

Con el fin de reconocer a las cercarias más fácilmente, éstas fueron teñidas con una solución de yodo al 5% diluida en alcohol al 70% (Giovannola, 1936).

iii. Análisis de datos

Los datos cronobiológicos obtenidos, fueron transformados para su análisis a variables circulares (Batschelet, 1981; Chassé y Théron, 1988. Ver Apéndice 1). Se calculó el vector promedio [hora promedio de liberación (\bar{x}), la desviación angular (ϕ) y la longitud del vector promedio (r)]; con el propósito de demostrar si existía una periodicidad en la emergencia de las cercarias y si dicha periodicidad presentaba diferencias estadísticamente significativas, a pesar de las variaciones diarias en las acrofases (picos) de cada molusco, se aplicó la prueba de Rayleigh (*ln*: Batschelet, 1981). Así mismo se aplicó la Prueba de Mardia-Watson-Wheeler con la finalidad de demostrar que, a pesar de las variaciones individuales en los picos de emergencia de cada caracol, se trata de la misma población de cercarias (Mardia, 1972; Batschelet, 1981).

7.2.3. Resultados

i. Cronobiología de la emergencia de la cercaria de *Centrocestus formosanus* liberada de *Melanoides tuberculata* en Morelos, México.

Considerando a los nueve caracoles que se mantuvieron en observación durante cinco y siete días consecutivos, se obtuvieron 49 picos (ritmos) de emisión individuales (Tabla 3).

Tabla 3. Ritmos de emergencia de las cercarias de *C. formosanus* emitidas de nueve *M. tuberculata*.

Intervalo (horas)	\bar{x}	n	ϕ	cos	$ncos$	sen	$nsen$
06:00-07:00	06:30	5	97.5	-0.1305	-0.6525	0.9914	4.9670
07:00-08:00	07:30	2	112.5	-0.3827	-0.7654	0.9239	1.8478
08:00-09:00	08:30	5	127.5	-0.6088	-3.0440	0.7934	3.9670
09:00-10:00	09:30	16	142.5	-0.7934	-12.694	0.6088	9.7408
10:00-11:00	10:30	5	167.5	-0.9239	-4.6195	0.3827	1.9135
11:00-12:00	11:30	8	172.5	-0.9914	-7.9312	0.1305	1.0440
12:00-13:00	12:30	3	187.5	-0.9914	-2.9742	-0.1305	-0.3915
13:00-14:00	13:30	5	202.5	-0.9239	-4.6195	-0.3827	-1.9135
Total		49			-35.3007		21.1651

\bar{x} = intervalo promedio, n = número de picos, ϕ = ángulo promedio, cos = coseno de ϕ , $ncos$ = número de picos por el coseno de ϕ , sen = seno de ϕ , $nsen$ = número de picos por el seno de ϕ .

Las cercarias de *C. formosanus* que emergieron de los caracoles se observaron en forma de "nubes" o "manchones" en los períodos de mayor emisión.

Las cercarias liberadas de *M. tuberculata* desplegaron un ritmo de emergencia de tipo circadiano, debido a que solamente se presentó un pico de emisión cada 24 h (Fig. 8).

La emisión de cercarias de los nueve caracoles se encontró limitada prácticamente a los períodos diurnos (fotofases) de los cinco y siete nictámeros (fotociclos de 24 hs.) muestreados, liberándose el 99.77 % de las cercarias durante este período. Por lo que, de acuerdo con la terminología propuesta por Combes y Théron (1977), el ritmo de emergencia de la cercaria de *C. formosanus* es del tipo de "día" (acrofase situada en la fotofase) con alternancia "absoluta" (emisión situada totalmente en la fotofase).

La liberación de cercarias se inició a las 06:00 h, inmediatamente después de que la luz fue encendida y rápidamente se incrementó durante las primeras cuatro horas (06:00 - 10:00 h). El decremento se presentó a una proporción menor al 7% a partir de las 12:00 h (Fig. 8).

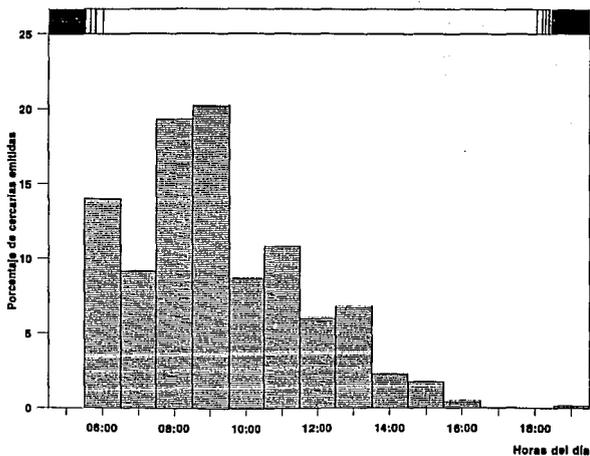


Fig. 8. Patrón de emergencia de la cercaria de *Centrocestus formosanus* a partir de *Melanoides tuberculata*, manantial "Las Estacas", Mor.

El pico (acrofase) promedio de emisión de cercarias fue localizado entre las 09:00 y 10:00 h (Fig. 5). Este pico representa el 20.21 % (SD = 2.57) de la producción diaria de cercarias (880 ± 122 C/D/M, cercarias por día por molusco). El número promedio de cercarias emergidas en el intervalo de mayor emisión fue de 178 ± 32 cercarias. La distribución de picos individuales de liberación se dio de la siguiente manera: cinco picos a las 06:00 h, dos a las 07:00 h, cinco a las 08:00 h, 16 a las 09:00 h, cinco a las 10:00 h, ocho a las 11:00 h, tres a las 12:00 h y cinco a las 13:00 h (Tabla 3).

La hora promedio de liberación, la desviación angular y la longitud del vector promedio para cada caracol, así como el promedio global para los nueve tíaridos, se muestran en las Tablas 4 y 5; y en la Fig. 9.

La hora promedio de liberación de las cercarias de *C. formosanus* fue a las 10H01'43" con una desviación angular de 1H 53'21" y una longitud del vector promedio de 0.877 (Tablas 4 y 5; Fig. 9).

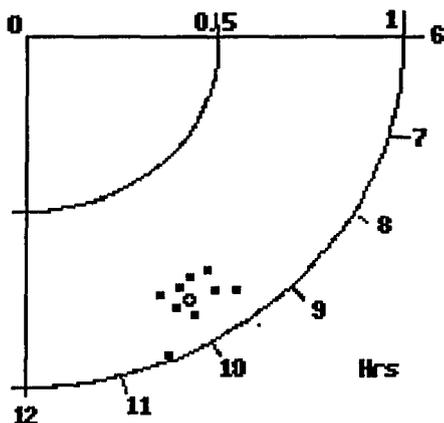


Fig. 9. Hora promedio de liberación de las cercarias de *Centrocestus formosanus*, longitud del vector promedio de los nueve (■) *Melanoides tuberculata* experimentales y promedio global para la población (○).

Tabla 4. Cálculo de algunos parámetros de estadística circular a partir de los datos de la Tabla 3. Se obtiene el vector promedio: la hora promedio de liberación (\bar{X}), la desviación angular (S) y la longitud del vector promedio (r). El factor de corrección es c . (ver Apéndice 1).

$$\bar{x} = n \cos l_n \quad \bar{x} = -0.7612$$

$$\bar{y} = n \sin l_n \quad \bar{y} = 0.4319$$

$$\phi = 180^\circ + \text{arc tg} (-0.5674)$$

$$= 180^\circ - 29.573$$

$$= 150.4297$$

$$\bar{X} = 10.0286 = 10\text{H } 01'43''$$

$$r = 0.5794 + 0.1865 = \sqrt{0.7659} = 0.8752$$

$$c = 1.0029 \text{ factor de corrección}$$

$$rc = 0.8777$$

$$Sc = \frac{180}{\pi} \sqrt{2(1-r)}$$

$$Sc = \frac{28.3368}{1.8891}$$

$$Sc = 1\text{H } 53'21''$$

Tabla 5. Resultados del análisis por estadística circular de la hora promedio de liberación, desviación angular y longitud del vector promedio de los nueve moluscos experimentales.

<i>M. tuberculata</i>	Hora promedio de emergencia (\bar{X})	Desviación angular con factor de corrección (Sc)	Longitud del vector promedio con factor de corrección (rc)
1	10H 29'59"	50'38"	0.9756
2	10H 16'15"	1H 58'29"	0.8665
3	10H 06'45"	2H 14'35"	0.8276
4	09H 52'37"	2H 19'45"	0.8141
5	10H 19'51"	2H 10'22"	0.8382
6	10H 04'08"	1H 00'17"	0.9654
7	09H 38'48"	2H 13'19"	0.8308
8	09H 32'37"	1H 38'38"	0.9074
9	09H 43'32"	1H 52'17"	0.8800
Total	10H 01'43"	1H 53'21"	0.8777

ii. Análisis de resultados.

- Prueba de Rayleigh- para demostrar periodicidad en la emergencia de las cercarias.

La comparación de los resultados con la prueba de Rayleigh (Batschelet, 1981) mostró que existe una periodicidad en la emergencia de las cercarias en todos los caracoles y que no hay diferencias significativas entre los picos de emergencia individuales, ($n = 49$, $rc = 0.877$, $Z = (nrc)^2/n$, $Z(\alpha) = 2.98$, $Z = 37.747$, $Z > Z(\alpha)$, con $\alpha = 0.05$), a pesar de las variaciones diarias.

- Prueba de Mardia-Watson-Wheeler, para demostrar diferencias en los patrones de emergencia de las cercarias los caracoles estudiados.

El análisis de los resultados con la Prueba de Mardia-Watson-Wheeler (Mardia, 1972; Batschelet, 1981) mostró que no hay diferencias estadísticamente significativas ($W = 11.7149$; $gI = 16$, $P > 0.05$), entre los patrones de emergencia de las cercarias de los nueve tíaridos analizados (Tabla 6). Este mismo resultado se obtuvo al realizar comparaciones entre parejas (36) de caracoles (Tabla 7). Esto implica que las variaciones individuales en los picos de emergencia de los diferentes moluscos deben ser consideradas como variaciones aceptables, normales en el comportamiento de una misma especie. Por lo que la especie de cercaria que se está liberando corresponde a una misma población. Así, determinamos que la cercaria de *C. formosanus* emergida de *M. tuberculata* presenta un patrón de liberación circadiano con dicha característica.

Tabla 6. Análisis de los resultados con la prueba de Mardia-Watson-Wheeler (ver Apéndice 1).

●	Cos	Cos ²	Sen	Sen ²	R ²	n	R ² n
1	-1.7245	2.9373	-0.4886	0.2388	3.2127	5	0.6425
2	0.6858	0.4703	1.0347	1.0705	1.5408	5	0.3082
3	0.7063	0.4889	0.3136	0.0983	0.5972	5	0.1194
4	1.8511	3.4268	0.5162	0.2665	3.6933	5	0.7387
5	2.8084	7.8868	1.5951	2.5442	10.431	7	1.4901
6	-2.7441	7.5301	-0.5940	0.3528	7.8829	7	1.1261
7	0.2887	0.0834	0.6985	0.488	0.5714	5	0.1143
8	-1.1669	1.3500	-1.4398	2.0731	3.4231	5	0.6846
9	-0.7079	0.5037	-1.6356	2.6752	3.1789	5	0.6358

● *M. tuberculata*

total: 5.9597

$n = 49$

$$B = r\delta$$

Valor obtenido = 26.296

$$C_i = \sum \cos B$$

de X^2

$$S_i = \sum \sin B$$

16 gI

$$\delta = \frac{360^\circ}{49} = 7.3459$$

$$R_i^2 = C_i^2 + S_i^2$$

$\alpha = 0.05$

$$W = 2 \sum_{i=1} R_i^2 / n = 11.7149$$

$P > \alpha$ Por lo tanto no hay diferencias estadísticamente significativas

Tabla 7. Análisis de los resultados con la prueba Mardia-Watson-Wheeler (comparación molusco-molusco).

●	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		10.47*	10.47*	10.47*	10.46*	10.46*	10.47*	10.47*	10.47*
2	4.618		10.47*	10.47*	10.46*	10.46*	10.47*	10.47*	10.47*
3	1.5279	6.8541		10.47*	10.46*	10.46*	10.47*	10.47*	10.47*
4	0.1459	1.0000	0.0000		10.46*	10.46*	10.47*	10.47*	10.47*
5	5.0000	1.0000	1.0000	5.0000		11.65*	10.46*	10.46*	10.46*
6	2.0000	8.4641	2.0000	1.0000	8.9390		10.46*	10.46*	10.46*
7	4.6180	2.6180	1.0000	2.6180	0.5359	1.5359		10.47*	10.47*
8	2.3820	0.3820	1.0000	1.0000	3.7321	0.0718	0.3820		10.47*
9	2.6180	0.3820	1.0000	0.3820	2.2679	1.5359	0.3820	0.0000	

● *M. tuberculata*, * = No hay diferencias significativas.

Las cercarias de *C. formosanus*, son fototácticas positivas: cuando se colocaron en una caja de petri en presencia de un punto de luz, producido por una fibra óptica, todas tendieron a concentrarse en torno a este.

7.2.4. Discusión

Se describe por primera vez el patrón de emergencia de las cercarias de *C. formosanus* liberadas de *M. tuberculata*. El ritmo es de tipo circadiano con un pico diurno entre las 09:00 y 10:00 h que se caracteriza por presentar una acrofase situada totalmente en la fotofase, indicando así que se trata de una cercaria de "dfa" con una alternancia de emisión "absoluta".

El pico máximo de emisión (09:00-10:00h) mostrado por la cercaria de *C. formosanus* le confiere una gran ventaja, ya que está relacionado con la máxima actividad de los peces a los cuales va a infectar y nos indica un valor adaptativo por parte del parásito. Además se ha registrado que los poecílidos y ciprínidos (segundos hospederos intermediarios del tremátodo) presentan un tipo de alimentación omnívora y bentónica constituida principalmente por algas, detritus orgánico y plantas vasculares (Dussault y Kramer, 1981; Kramer y Mehegan, 1981; Meffe y Snelson, 1989). Así que el hecho de que las cercarias de *C. formosanus* emerjan de los caracoles *M. tuberculata* durante la mañana, corresponde al tiempo de mayor actividad de los peces cuando éstos se están alimentando, ya sea removiendo el fango y detritus o ramoneando la vegetación que crece sobre las rocas de los ríos o las paredes de los canales o estanques. En estos mismos sitios coexisten los caracoles y las cercarias que emergen de éstos en "nubes", (como fue observado en condiciones experimentales), de tal manera que pueden penetrar más fácilmente a través de las corrientes respiratorias, llegar a las cavidades operculares, alojarse en los arcos o filamentos branquiales para enquistarse y transformarse en metacercarias.

En consecuencia, es oportuno considerar que si los hábitos alimenticios de los peces al igual que los de los caracoles, son bentónicos y que el mayor número de *M. tuberculata* parasitados se encontró en el substrato lodoso (donde abundan los recursos alimenticios tanto para los peces como para los tiáridos) (ver capítulo 3), la probabilidad de que la transmisión se lleve al cabo y se produzca el establecimiento de la cercaria es muy alta.

Por otra parte, debido a que las metacercarias de *C. formosanus* ocasionan graves problemas respiratorios a los peces que se manifiestan con un incremento en el ritmo respiratorio y por "boqueo" (López-Jiménez, 1987b); varios estudios realizados en poecílidos y ciprínidos en condiciones de poco oxígeno han demostrado que éstos peces tienden a subir a la superficie —para efectuar una respiración denominada de superficie acuática (ASR)—, donde pueden invertir de un 75 a un 90% de tiempo. Esto señala que el riesgo a la depredación por aves aumenta considerablemente (Kramer y Mehegan, 1981; Kramer, 1983; Kramer y McClure, 1982 y Kramer, 1987). Asimismo la hipoxia producida por las metacercarias puede ser dañina para los peces, ya que además de incrementarse el costo de respiración, se reduce el acceso al alimento y se amplía el riesgo a la depredación por aves (las cuales son básicamente los hospederos definitivos de este tremátodo).

El ritmo de emergencia de la cercaria de *Centrocestus formosanus* es muy similar al patrón de emergencia mostrado por las cercarias de *Schistosoma bovis* (de España, Italia y Nigeria) y de *S. curassoni* (de Nigeria) (los cuales son parásitos de ungulados —bovinos, caprinos y ovinos—) que presentan su pico de emisión entre las 08:00 y 09:00 h (Pâges y Théron, 1990a; Mouahid *et al.* 1991; Mouchet. *et al.* 1992), en tanto difiere de las especies *S. mansoni* (de Nigeria), *S. haematobium* (de Nigeria y Marruecos) y *S. intercalatum* (de Zaire y Camerun) (-parásitos del hombre-) que presentan su pico entre las 11:00 y las 14:00 h (Pâges y Théron, 1990b; Mouahid *et al.* 1991; Mouchet *et al.* 1992). Si bien éstas cercarias parasitan a otros vertebrados, demuestran que existe una adaptación del parásito a emerger a tiempos correlacionados con los hábitos del hospedero al cual infectan (Cable, 1972). Así por ejemplo, *Schistosoma mansoni*, presenta una acrofase en la fotofase (donde la densidad de cercarias es más elevada) que coincide exactamente con el momento en que la actividad del hombre en el agua es la máxima, es decir, al bañarse, lavar la ropa y sacar agua. Por el contrario, *Plagiorchis vespertilionis parorchis*, *P. micracanthos*, *P. neomidis* y *P. noblei* son cercarias del tipo de "noche"; con ello, la probabilidad de encontrarse con las larvas de insectos cuya actividad y dispersión es principalmente nocturna y a las que debe penetrar una vez que las han alcanzado, aumenta significativamente. (Théron, 1976; Combes y Théron, 1977; Webber *et al.* 1986, 1989).

Otros estudios llevados al cabo con *Schistosoma* spp. también demuestran que existe una preferencia marcada de las cercarias por emerger de los gastrópodos en tiempos muy definidos del día y se ha sugerido que están relacionados con la óptima disponibilidad del hospedero definitivo. Las cercarias de *S. mattheei*, *S. mansoni*, *S. haematobium* y *S. bovis* tienden a emerger durante la primera parte del día, mientras *S. japonicum*, *S. rhodhaini* y *S. douhthitti* demuestran una preferencia de emergencia durante las primeras horas de la tarde y la noche. La emergencia de cercarias de *S. japonicum* en la noche sugiere que esta cercaria pudo haberse desarrollado como parásito de mamíferos nocturnos y el hecho de que el hombre se parasite es quizá accidental, además de que este parásito se ha registrado en un amplio número de hospederos con más de 30 especies (Cable, 1972; Combes, 1991a).

Sin embargo, es importante resaltar que existe una adaptación del parásito a las condiciones ecológicas de transmisión relacionadas con su origen geográfico (Théron, 1984; Combes, 1990, 1991a). Así, en algunos sitios de transmisión, diferentes poblaciones de *S. mansoni* de la Isla Guadalupe, presentan un polimorfismo en el ritmo de emergencia de sus cercarias, con picos de emergencia a las 11:00 h en focos urbanizados, favoreciendo la infección hacia los humanos más que a ratas, a las 14:00 h en focos pantanosos donde la infección se ve favorecida hacia las ratas más que hacia el hombre y a las 16:00 h en focos silvestres, favoreciendo la infección a ratas silvestres, las cuales forrajeaban principalmente en el crepúsculo.

En tanto, es interesante hacer notar que cuando el hospedero a quien va destinada la cercaria no tiene un ritmo de actividad (como en *Fasciola hepatica*, cuyas cercarias se enquistan en pasto o hierbas), las cercarias no tienen un ritmo definido de emergencia (Combes, 1991b).

Por otra parte, la importancia de los estudios cronobiológicos con la aplicación de estadística circular, realizados en especies de importancia epidemiológica (por ejemplo, *Schistosoma* spp.), han resultado de gran interés y utilidad, ya que han hecho posible la caracterización de híbridos, la diferenciación de razas cronobiológicas, el análisis de infecciones mezcladas con especies del mismo género que se encuentran en simpatría en sus sitios, la caracterización de diferentes poblaciones de la misma especie, el análisis de diferentes cepas geográficas de una misma especie y la comparación de especies simpátricas en sus sitios de transmisión. Además, han permitido distinguir poblaciones genéticamente diferentes (Théron, 1989; Pagès y Théron, 1990a, 1990b; Mouhaid *et al.* 1991; Mouchet *et al.* 1992) (ver Apéndice 1).

La comparación tradicional de histogramas que muestran la distribución de la emergencia como una función del tiempo del nictámero, ha permitido la definición de tipos cronobiológicos y la diferenciación de poblaciones de parásitos. La aplicación de la estadística circular a esos mismos datos ha permitido el mejoramiento de dicho análisis. El método y las pruebas propuestas permiten: confirmar resultados previos sobre una base estadística, establecer la homogeneidad de los grupos cronobiológicos a los cuales pertenecen las distintas poblaciones (principalmente), así como demostrar la existencia de una correlación entre la desviación angular y la hora del día en la que se presenta la acrofase (Chassé y Théron, 1988).

Debido a que los estudios efectuados sobre la caracterización y comparación en varias poblaciones animales, a través de un carácter etológico periódico, reflejan un tipo de fenómeno hallado con mucha frecuencia en otros modelos de estudio (puestas, eclosión, ritmos de actividades locomotrices, etc.), se considera que la transformación de datos cronobiológicos a variables circulares (que puedan ser tratadas estadísticamente), se convierte en una herramienta analítica potencial en este campo, aunque muy poco empleada (Chassé y Théron, 1988).

7. 3. Capítulo 3

**Prevalencia de *Centrocestus formosanus*
en relación con la densidad, estructura
poblacional y edad de *Melanoides tuberculata***

7.3.1. Introducción

Un factor de gran importancia en la dinámica de la transmisión de los tremátodos, lo constituyen los patrones de crecimiento del molusco (gastropodos o bivalvos), como primer hospedero intermediario, así también son importantes la vagilidad tanto de los hospederos intermediarios como definitivos, su distribución espacial y temporal, su talla o tamaño y la densidad de sus poblaciones, entre otras variables en el microhabitat (Williams y Esch, 1991).

La disponibilidad de estadios infectivos de los tremátodos (huevos, miracidios, cercarias) está determinada principalmente, por la densidad y el uso de habitat por los hospederos definitivos y también por las características físicas del microhabitat (como flujo y química del agua, temperatura, turbidez, etc.); estas características pueden influir en el movimiento y en la sobrevivencia de estadios infectivos (Sousa, 1990).

Por otra parte, la prevalencia de infecciones patentes en los moluscos varía de acuerdo a su talla (Sousa, 1990); se asume que la altura de la concha de los caracoles tiene una correlación con la edad de los mismos (Heller y Farstay, 1989) y esta puede determinarse por curvas de crecimiento, de esta forma es posible relacionar la edad de los caracoles con la prevalencia de la infección (Woolhouse y Chandiwana, 1990).

Es importante considerar estos factores en estudios de transmisión y dispersión de tremátodos. En el caso del presente trabajo, se ha observado que la intensidad y prevalencia de las infecciones por metacercarias de *Centrocestus formosanus* en poecílidos y otros peces dulceacuícolas en algunas localidades es muy alta; en estas localidades se observa una alta densidad de los caracoles de la especie *Melanooides tuberculata*. Con base en lo anterior, el objetivo de esta parte del trabajo consiste en determinar la relación entre la estructura y densidad poblacional de *M. tuberculata* y la prevalencia de infección por *C. formosanus* en condiciones naturales, así como determinar en el laboratorio la curva de crecimiento de *M. tuberculata* con el fin de relacionar talla de los caracoles con su edad. Este análisis permitirá dilucidar cuestiones como las tallas y/o edades de *M. tuberculata* más parasitadas por *C. formosanus*, la talla y/o edad mínima en la que pueden encontrarse caracoles parasitados por *C. formosanus*, la relación entre la densidad poblacional de *M. tuberculata* y la prevalencia de la infección por *C. formosanus*, los tipos de substratos que favorecen o posibilitan altas densidades poblacionales de *M. tuberculata* y la curva de crecimiento que presenta *M. tuberculata*.

7.3.2. Materiales y Métodos

i. Area de estudio

El área de estudio se localiza en el balneario "Santa Isabel", el cual pertenece al manantial "Las Estacas" (ver área de estudio en general).

Se eligió un arroyo, alimentado por dos manantiales pequeños. El arroyo se dividió en dos sitios, los cuales se denotaron como **sitios 1 y 2**. La elección de los dos sitios se debió a que existía la presencia comprobada tanto del molusco como del tremátodo y a que permitían el estudio comparativo en diferentes substratos, además de que el muestreo fue accesible. El **sitio 1** se muestreo en noviembre de 1992 y el **sitio 2** en enero de 1993, con 77 días de diferencia, sin embargo, las condiciones del manantial y las climáticas no variaron, ya que ambos muestreos se realizaron en la época de sequía (noviembre - mayo), donde la temperatura ambiental es de 23.5 °C y la precipitación pluvial de 840 mm (Anónimo, 1988).

Las características de los dos sitios de muestreo fueron las siguientes:

Sitio 1.- Arroyo natural, con substrato lodoso; longitud total 16.7 m., anchura promedio 1.15 m; profundidad homogénea de 5 cm. Tiene su origen a partir de un manantial pequeño, con un flujo de corriente muy débil, por lo que el agua casi se encontraba estancada. La temperatura del agua durante el muestreo fue de 24 °C y la conductividad de 1,105 μ mhos.

Sitio 2.- Es la continuación del sitio 1, pero se encuentra alimentado por otro manantial que le suministra mayor cantidad de agua. Con substrato rocoso y arenoso en su mayor parte; longitud total de 150 m; profundidad promedio de 24 cm. La temperatura del agua durante el muestreo fue de 23 °C y la conductividad de 1,105 μ mhos.

ii. Muestreo de *Melanoides tuberculata*

En ambos sitios se muestreó aplicando la técnica de cuadrantes al azar, que es la forma más aceptable para obtener muestreos comparables (Freitas, *et al.* 1987; Pointier, 1989a y Pointier, *et al.* 1989). Este tipo de muestreo permitió recuperar tíaridos de todas las clases de talla, sin desestimar las tallas más pequeñas, que por otras técnicas de muestreo pasan desapercibidos. Se emplearon cuadrantes de metal de 20 X 20 cm (400 cm²). Los caracoles fueron colectados con una red de 15 X 15 cm. provista de un mango de 50 cm. de largo y una malla de abertura muy fina que no permitía el paso de ninguno de ellos. El sedimento recogido se lavó y pasó a través de tres tamices con abertura de malla de 3.36 mm, 1.54 mm y 1 mm; a partir de estos los caracoles se separaban y contaban en el mismo sitio de colecta, determinándose el total de capturados por cuadrante.

Para estimar la densidad relativa promedio de la población se consideraron solamente a los organismos vivos; en el campo se fue graficando el número promedio de caracoles por cuadrante (ver fig 10 y tabla 8), que se obtenía de la suma del total de caracoles capturados dividido por el número de cuadrantes muestreados y, donde se estabilizó se concluyó con el muestreo, asumiendo que si se muestreaban más cuadrantes el número promedio no variaba. (Fig. 10).

El área de muestreo para los dos sitios fue la siguiente:

Sitio 1.- A lo largo y ancho del arroyo pudieron señalarse 480 cuadrantes, dado que la estructura (velocidad de corriente y profundidad) y topografía era muy homogénea, al muestrear se decidió elegir los cuadrantes de la parte media y el muestreo de los 12 primeros (al azar) demostró la estabilización de la curva de captura, lo que indicó que este fuera el número mínimo de cuadrantes a estudiar.

Sitio 2.- El arroyo tenía cuatro tipos de sustrato, y en el área elegida se señalaron 708 cuadrantes, sin embargo en este sitio no se estratificó por tipos de sustrato, se consideraron el muestreo y los resultados del sitio 1, por lo que se eligieron de la misma manera los primeros 12 cuadrantes al azar.

Los caracoles vivos y muertos de cada cuadrante se separaron en recipientes de plástico de 300 ml. de capacidad y se transportaron al laboratorio.

iii. Estructura poblacional de *Melanooides tuberculata* y prevalencia de *Centrocestus formosanus*

En el laboratorio, se estimó la prevalencia de la infección de *C. formosanus* en todos los caracoles capturados de cada cuadrante, por emergencia de cercarias, siguiendo la misma metodología empleada en el inciso 6.2, de la metodología general (ver diagrama de flujo). De todos y cada uno de los caracoles recolectados se determinó la longitud de la concha (del ápice a la abertura del opérculo) con un vernier (precisión de 0.01 mm).

iv. Curva de crecimiento de *Melanooides tuberculata*

Se determinó experimentalmente en el laboratorio la curva de crecimiento de *M. tuberculata* para conocer como está relacionada la edad de los moluscos y la prevalencia de la infección (Woolhouse y Chandiwana, 1990).

La curva de crecimiento se estableció de la siguiente manera: se realizó una colecta de caracoles vivos en el sitio 2, tratando de coleccionar todas las clases de longitud. En el laboratorio se midió la altura de la concha de cada caracol y éstos se separaron en 10 clases de longitud con intervalos de 4 mm, cada una.

Los caracoles vivos agrupados por tamaño se colocaron en 10 acuarios de 8 lt de capacidad, con agua del mismo hábitat de la muestra y vegetación acuática (*Cambomba* sp., conocida comúnmente como "cola de zorro") para proveerles de un soporte, manteniéndolos en condiciones óptimas de aireación (ver diagrama de flujo de metodología general). Se expusieron a un fotoperíodo natural (luz/obscuridad: 12h/12h, aproximadamente) y una fotofase de 06:00 a 18:00 h. La temperatura del agua fue mantenida constante a 25 °C. No se colocó lodo o arena como sustrato, en los acuarios.

Todos los grupos se mantuvieron en condiciones similares. Se alimentaron diariamente con hojuelas de alimento comercial para peces tropicales "TetraMin", aprox. 0.5 g, por cada acuario.

Las tres primeras clases de longitud se formaron de 60 individuos debido a la alta mortalidad que se presenta en las tallas pequeñas (*com. pers.* Dra. Gloria Perera—Inst. Pedro Kouri, La Habana Cuba) y las siete restantes se conformaron de 30 individuos. Las medidas de crecimiento de cada caracol fueron tomadas al inicio del experimento y 30 días después (tiempo idóneo para prosobranquios), con el propósito de conocer el incremento de talla que presentaban. Las medidas se realizaron con un vernier (precisión de 0.01 mm). Las tallas de los caracoles se dan en milímetros, mas menos la desviación standard. Durante el experimento semanalmente los acuarios se limpiaban y las crías se contaban y retiraban de cada uno de éstos para evitar la sobrepoblación.

v. Análisis de datos

La densidad relativa promedio se determinó como el número promedio de caracoles presentes en 12 cuadrantes muestreados y se extrapoló a un metro cuadrado. La prevalencia fue calculada como el porcentaje de caracoles que liberaron cercarias. Se utilizó la prueba de G, para comparar las prevalencias entre ambos sitios y entre los diferentes tipos de substrato del sitio 2 (Sokal y Rohlf, 1981). Para probar si existían diferencias en la estructura de tallas de ambos sitios y entre los moluscos parasitados y no parasitados, se empleó una prueba de Wilcoxon. Se aplicó también un análisis de Kruskal-Wallis, para comparar la estructura de tallas en los diferentes substratos del sitio 2.

Para determinar los parámetros de crecimiento, se utilizó la ecuación de von Bertalanffy:

$$L(t) = L_{\infty} (1 - e^{-kt})$$

- donde: $L(t)$: es la talla del animal al tiempo t después del nacimiento,
 L_{∞} : es el valor de Lt cuando la tasa de crecimiento es = 0 ó la longitud máxima teórica a la cual puede llegar un organismo;
 k : es la constante característica de crecimiento y
 t : es la edad del animal.

Los parámetros k y L_{∞} fueron calculados por el método de Ford-Walford, 1949 (*in* Leveque y Pointier, 1976), donde Lt al tiempo t a lo largo de la abscisa es graficado contra $Lt + 1$ al tiempo $t + 1$ a lo largo de la ordenada, usando como unidad de tiempo el intervalo entre dos medidas sucesivas (1 mes). La sobreposición de la línea de regresión entonces da e^k y el valor de las coordenadas donde la línea de regresión cruza la línea $y = x$ es L_{∞} (Leveque y Pointier, 1976).

La ecuación de von Bertalanffy, permitió obtener la curva de crecimiento, y a partir de ésta, se relacionó la talla de los caracoles con su edad. Se realizó una comparación de los resultados con los obtenidos para *M. tuberculata* por otros autores como Leveque (1971), Perera *et al.* (1987); Pointier (1989a); Pointier *et al.* (1989, 1991a).

Despejando la edad (t) a partir de la ecuación de von Bertalanffy, tenemos: $t = - [1/k \ln (1 - Lt / L_{\infty})]$, y a partir de esta se relacionó la edad a la cual los caracoles alcanzan la talla donde muestran una infección patente.

7.3.3. Resultados

i. Densidad poblacional de *Melanoïdes tuberculata*

El número promedio de caracoles vivos por cuadrante, en el sitio 1 se estabilizó a partir del cuadrante número 12, equivalente a una área muestreada de 0.48 m². En el sitio 2 muestreé 12 cuadrantes también (Fig. 10).

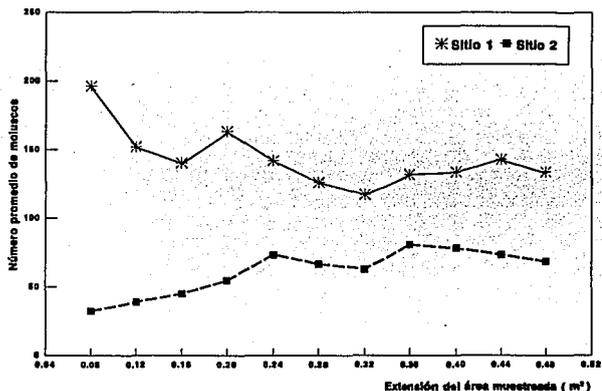


Fig. 10. Número promedio de *Melanoïdes tuberculata* por cuadrante en dos sitios de muestreo, en el Edo. de Morelos, México.

La densidad relativa estimada de *M. tuberculata* para el sitio 1: fue de 3,339 individuos/m² y la densidad promedio por cuadrante fue de 133.58 ind. (Tabla 8).

Tabla 8. Densidad de *M. tuberculata* y prevalencia de *C. formosanus*, en el sitio 1.

Cuadrante	<i>M. tuberculata</i> total de caracoles vivos	número promedio (*)	Prevalencia de <i>C. formosanus</i>
1	234	-	4.27
2	159	196.5	0
3	63	152	0
4	105	140.25	4.76
5	255	163.2	1.57
6	35	141.83	8.57
7	31	126	0
8	55	117.12	0
9	249	131.77	0
10	151	133.7	2.65
11	233	142.63	2.58
12	100	133.58	4
Total 12	1,603	133.58	2.24%

(*) Se obtiene de la suma total de caracoles vivos capturados entre el número de cuadrantes muestreados.

Para el sitio 2, la densidad relativa fue de 1,626 ind/m² y la promedio por cuadrante de 68.67 ind. (Tabla 9).

Tabla 9. Densidad de *M. tuberculata* y prevalencia de *C. formosanus*, en el sitio 2.

Cuadrante	<i>M. tuberculata</i> total de caracoles vivos	número promedio (*)	Prevalencia de <i>C. formosanus</i>
1	65	-	0
2	10	32.5	0
3	52	39	3.85
4	63	45	3.17
5	93	54.6	0
6	168	73.5	1.79
7	18	66.75	16.67
8	45	63	0
9	224	80.89	1.34
10	55	78.3	0
11	25	73.45	4
12	16	68.67	0
Total 12	824	68.67	1.7%

(*) Se obtiene de la suma total de caracoles vivos capturados entre el número de cuadrantes muestreados.

En los dos sitios se cuantificó el número de caracoles muertos, representándose como un porcentaje de la población. Para el sitio 1, el 25.89% (560 individuos) de la población estaba representada por caracoles muertos, siendo la proporción entre vivos y muertos de 2.86 : 1; en el sitio 2, el 45.90% (699 individuos) de éstos, estaban muertos, la relación de vivos y muertos fue de 1.18 : 1.

En ambos sitios los caracoles muertos fueron organismos jóvenes, con una talla promedio de 6.06 ± 4.07 mm en el sitio 1 y 9.56 ± 7.21 mm en el sitio 2.

ii. Prevalencia de *Centrocestus formosanus* en *Melanooides tuberculata*

Sitio 1.- De un total de 1,603 *M. tuberculata* colectados, 36 resultaron parasitados (prevalencia del 2.24%). La prevalencia más alta dentro de un cuadrante fue de 8.57% (Tabla 8). Si se toman en cuenta ambos sitios, la talla mínima encontrada parasitada fue de 11.7 mm, y en el sitio 1, se presentan 333 moluscos con una talla mayor o igual a 11.7, por lo que si se consideran solamente a estos caracoles la prevalencia es del 10.81%.

En la Tabla 8 se muestran las prevalencias de *C. formosanus* y el número de caracoles parasitados por cuadrante, considerando a toda la población y en la Tabla 10, se anota la prevalencia cuando se estratifica la muestra de acuerdo con la talla mínima encontrada parasitada (11.7 mm).

Tabla 10. Porcentaje de *M. tuberculata* con tallas menores y mayores a 11.7 mm y prevalencia de *C. formosanus*, en los dos Sitios de colecta.

Sitios	<i>Melanooides tuberculata</i>				
	Talla (mm)	Nº Total de caracoles		Nº Caracoles parasitados	
		n	%	n	%
1	< 11.7	1,270	79.23	0	0
	≥ 11.7	333	20.77	36	10.81
Total		1603		36	2.24
2	< 11.7	523	63.47	0	0
	≥ 11.7	301	36.53	14	4.65
Total		824		14	1.7

En el sitio 1, la tallas mínima y máxima parasitadas fueron de 13.5 y 42.8 mm (22.82 ± 5.59) y las mayores prevalencias se encontraron en las tallas de 19 y 22 mm (Fig. 11).

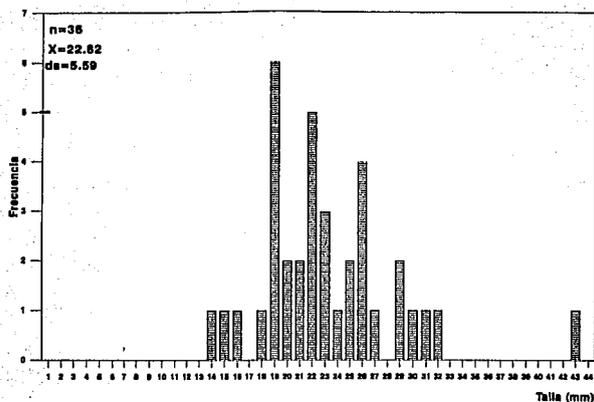


Fig. 11. Distribución de frecuencias de la cantidad de *M. tuberculata* parasitados con *C. formosanus* de acuerdo a su talla, en el Sitio 1. n, cantidad de caracoles parasitados en el Sitio 1; X, talla promedio (mm) de los individuos parasitados; ds, desviación standard

Sitio 2.- De un total de 824 *M. tuberculata* colectados, 14 liberaron cercarias (prevalencia del 1.7%). La prevalencia más alta dentro de un cuadrante fue de 16.67% (Tabla 9). De 301 caracoles que presentaron una talla mayor o igual a 11.7 mm, la prevalencia que se obtuvo fue de 4.65%.

En la Tabla 9, se muestra la prevalencia de *C. formosanus* y el número de caracoles parasitados por cuadrante, considerando a toda la población y en la Tabla 10, se anota la prevalencia cuando se estratifica la muestra de acuerdo con la talla mínima encontrada parasitada (11.7 mm).

En el **sitio 2**, las tallas mínima y máxima parasitadas fueron de 11.7 y 31.3 mm (21.09 ± 4.87) y las mayores prevalencias se encontraron en las tallas de 19, 21 y 25 mm (Fig. 12).

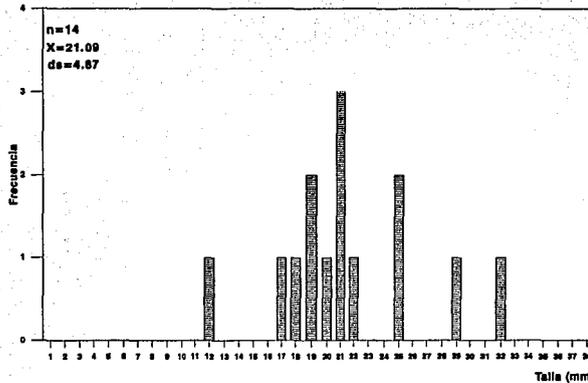


Fig. 12. Distribución de frecuencias de la cantidad de *M. tuberculata* parasitados con *C. formosanus* de acuerdo a su talla, en el Sitio 2. n, cantidad de caracoles parasitados en el Sitio 2; X, talla promedio (mm) de los individuos parasitados; ds= desviación standard

La diferencia entre la prevalencia (considerando el total de caracoles) de *C. formosanus* entre los dos sitios de muestreo, no fue significativa ($G = 0.822$, $gl = 1$, $P > 0.05$). Sin embargo, al comparar las prevalencias mostradas en ambos sitios, tomando en cuenta solamente a los moluscos que presentan una talla mayor o igual a 11.7 mm, existen diferencias significativas ($G = 8.49$, $gl = 1$, $P < 0.01$)

La prevalencia varió muy poco atendiendo a las muestras recolectadas en los diferentes tipos de substrato en el sitio 2 (Tabla 11) y estas variaciones no fueron estadísticamente significativas ($G = 2.53$, $gl = 3$, $P > 0.05$) considerando el total de los caracoles de todas las tallas (Fig. 13) y de igual manera cuando se consideran solamente a los moluscos con tallas \geq a 11.7 mm, presentes en ambos sitios ($G = 5.61$, $gl = 3$, $P > 0.05$).

Tabla 11. Densidad de *M. tuberculata* en el sitio 2, clasificados por el tipo de sustrato en que fueron recolectados y la prevalencia de *C. formosanus*.

Su	Cu	<i>Melanoides tuberculata</i>				Nº de caracoles parasitados	Prevalencia de <i>C. formosanus</i>
		Nº Total de caracoles	Nº Promedio de caracoles	Talla promedio-caracoles (mm)	Porcentaje de caracoles con tallas ≥ 11.7 mm		
R	2	65	32.5	13.62	70.76 %	0	0
L	3	132	44	8.59	27.27 %	3	2.27
RL	5	235	47	9.43	34.89 %	5	2.13
AL	2	392	196	10.09	34.69 %	6	1.53
Total	12	824	68.67	9.94	36.53 %	14	1.7

Su: Tipo de Sustrato- R. Roca, L. Lodo, RL. Roca+Lodo, AL. Arena+Lodo. Cu: Número de cuadrantes muestreados.

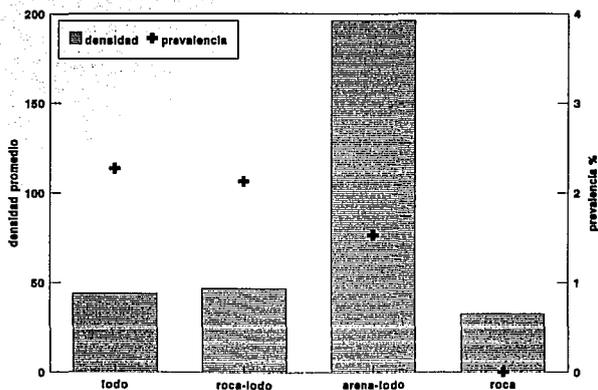


Fig. 13. Comparación de la distribución de *M. tuberculata* parasitados con *C. formosanus* en el Sitio 2, con respecto al sustrato.

iii. Estructura poblacional de *Melanooides tuberculata*

Considerando los datos merísticos de las conchas de 2,427 caracoles, se observó que en ambos sitios la población de *M. tuberculata*, se encuentra en su mayor parte compuesta por individuos pequeños, con una talla promedio de 9.11 ± 4.60 ., en el **sitio 1** y 9.94 ± 6.46 , en el **sitio 2**. La estructura poblacional para ambos sitios se muestra en las Figs. 14 y 15. Las tallas mínima y máxima, encontradas en el campo son de 1.2 mm y 42.8 mm para el **sitio 1**, y 1.4 mm y 37 mm para el **sitio 2**, respectivamente.

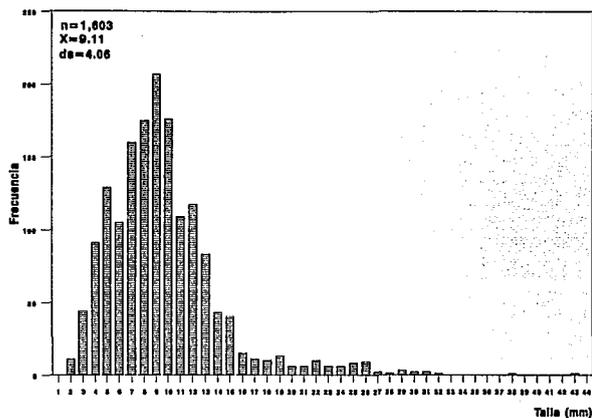


Fig. 14. Estructura de tallas de *M. tuberculata* en el Sitio 1, "Las Estacas", Morelos. n, número de caracoles en el Sitio 1; X, talla promedio (mm) de los individuos, ds, desviación standard.

Al comparar la estructura de tallas en ambos sitios, se observó que existen diferencias estadísticamente significativas (Wilcoxon: $Z = 5.57981$, $Z = 2.4142E-8$, $p < 0.001$) entre los dos sitios. Si bien los caracoles inmaduros predominaron en ambos sitios, en el **sitio 2** se presentó un mayor porcentaje de adultos sexualmente maduros, con tallas promedio ≥ 14.1 mm.

Ahora bien, el **sitio 2** fue heterogéneo en cuanto a sus tipos de sustrato y se determinó que existen diferencias significativas en la estructura de tallas entre los 4 tipos de sustratos presentes (Kruskal-Wallis: $H = 44.4188$, $n = 824$, $P < 0.001$), siendo en el sustrato rocoso donde se presenta un mayor porcentaje de tallas grandes (Tabla 11).

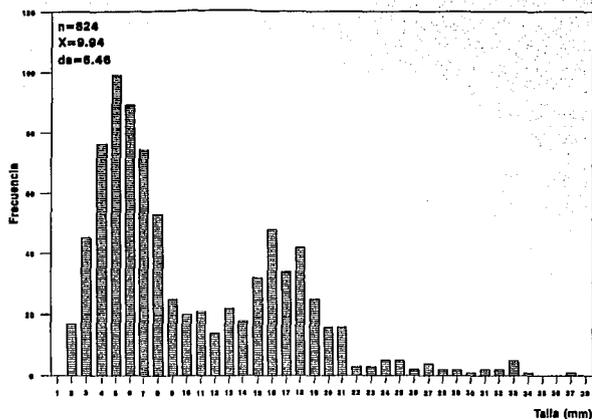


Fig. 15. Estructura de tallas de *M. tuberculata* en el Sitio 2, "Las Estacas", Mor, n, número de caracoles en el Sitio 2; X, talla promedio (mm) de los Individuos; ds, desviación standard.

La talla promedio para los caracoles parasitados y no parasitados con *C. formosanus* difiere en 14.03 mm para el sitio 1 y en 11.32 mm para el sitio 2 (Fig. 16). Al realizar una prueba de Wilcoxon, se obtuvo que hay diferencias significativas entre éstas (Sitio 1: $Z = 5.83333$, $Z = 5.45038E-9$, $P < 0.001$; Sitio 2: $Z = 3.4744$, $Z = 5.12096E-4$, $P < 0.001$), e indica que los organismos parasitados en ambos sitios son de tallas mayores a los caracoles no parasitados.

La infección en los dos sitios estuvo distribuida de igual manera en las tallas grandes (Fig. 16) y los caracoles parasitados de ambos sitios no mostraron diferencias significativas en su talla ($Z = 2.93987$, $Z = 3.28359E-3$, $p > 0.01$).

iv) Curva de crecimiento de *Melanoides tuberculata*

Los valores de k y L_{∞} fueron calculados para *M. tuberculata* en condiciones experimentales y la curva de crecimiento fue graficada (Fig. 17)

M. tuberculata tuvo una tasa de crecimiento lenta ($k = 0.162$), le toma 19 meses llegar a una talla de 37.090 mm, la cual corresponde al 95% de su tamaño máximo teórico (L_{∞}). La longevidad estimada para *M. tuberculata*, en el manantial "Las Estacas", de acuerdo a su $L_{\infty} = 39.04252$, es de 5 años.

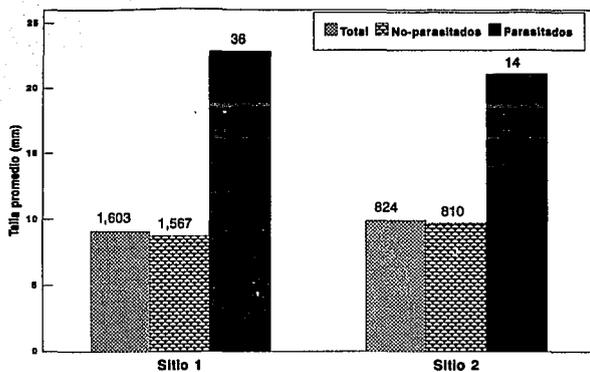


Fig. 16. Tallas promedio de *M. tuberculata*, población total, no parasitados y parasitados con *C. formosanus*. El número arriba de las barras indica el número total de moluscos.

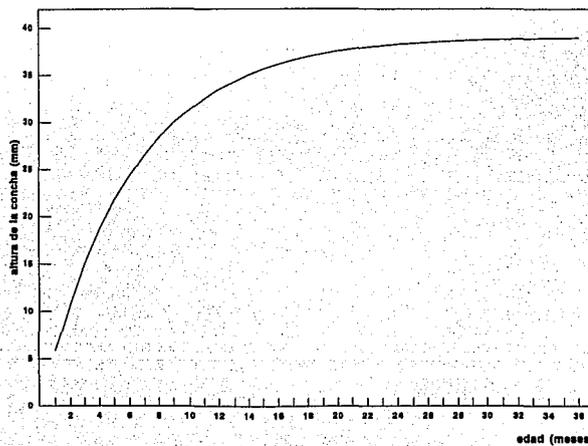


Fig. 17. Curva de crecimiento de *Melanoides tuberculata* del manantial "Las Estacas", Mor.

La talla mínima parasitada, encontrada en este estudio en condiciones naturales fue de 11.7 mm (esta es la talla mínima con infección patente, de un total de 5,760 caracoles revisados en todos los muestreos), que corresponde a una edad de 2 meses 6 días, aproximadamente, de acuerdo con los cálculos hechos con base a la ecuación de von Bertalanffy. Por lo tanto, esta es la edad a la cual *M. tuberculata* comienza a liberar cercarias al medio.

Con respecto a las tallas donde se encontraron las mayores prevalencias para los dos sitios de colecta, corresponden aproximadamente a una edad de 4 meses 3 días para la talla de 19 mm (sitios 1 y 2), de 4 meses 22 días para la talla de 21 mm (sitio 2), de 5 meses 3 días para la talla de 22 mm (sitio 1) y de 6 meses 9 días para la talla de 25 mm (sitio 2).

Las tallas máximas parasitadas para los dos sitios de colecta, corresponden aproximadamente a una edad de 9 meses 29 días para la talla de 31.3 mm (sitio 2) y de 14 meses 13 días para la talla de 42.8 mm (sitio 1) (Fig. 17).

La reproducción de *M. tuberculata* en condiciones de experimentación de este estudio, comenzó a darse a una talla promedio de 14.146 mm (12.3 - 16) que representa una edad de 2 meses 23 días aproximadamente, y corresponde a las primeras tallas que presentan infección patente de cercarias de *C. formosanus* en condiciones naturales, sin embargo, el mayor número de crías se obtuvo en los caracoles de 18.69 mm (16.4 - 20) con 4 meses de edad y de 22.02 mm (20.3 - 24) con 5 meses 4 días de edad. Los tíaridos continuaron reproduciéndose hasta una talla promedio de 29.78 mm (28.4 - 32) con 8 meses 26 días de edad, en tanto que a partir de la talla de 33.89 mm (32.6 - 35.9) con una edad de 12 meses 15 días la liberación de crías fue mínima (Tabla 12).

Tabla 12. Cantidad de caracoles juvenes de *Melanooides tuberculata* liberados en condiciones experimentales.

Talla Promedio* (mm)	S e m a n a				Total
	1era.	2da.	3era.	4a.	
3.24	0	0	0	0	0
6.17	0	0	0	0	0
9.20	0	0	0	0	0
14.15	10	15	19	26	70
18.69	108	108	118	114	448
22.03	71	76	136	116	399
25.94	47	40	36	36	159
29.78	31	40	37	8	116
33.89	3	2	2	1	8
39.6	0	0	0	0	0

* Tallas al inicio del experimento.

De los 390 caracoles utilizados en el experimento de crecimiento solo cinco de ellos resultaron parasitados dando una prevalencia del 1.28%. La mortalidad fue del 1.79% (7 individuos) y solo ocurrió en el acuario número dos, donde la talla promedio al final del experimento fue de 9.083 mm (7.7 - 10.5). Las conchas alrededor del opérculo se notaban bastante frágiles, al final del experimento, y esto denotó que a lo largo del estudio hubo bajo suministro de calcio.

7.3.4. Discusión

i. Relación entre la densidad poblacional de *Melanooides tuberculata* y prevalencia de *Centrocestus formosanus*.

Las estimaciones de densidad de *M. tuberculata*, llevadas al cabo en "Las Estacas" demuestran diferencias significativas de acuerdo al Sitio, estas van de 1,626 ind/m² a 3,339 ind/m². La densidad más alta fue observada en el sitio 1 con sustrato lodoso, mientras que la presencia de arena o grava estuvo asociada con bajas densidades, al igual que lo demostrado por Pointier y Guyard (1992).

Nuestras observaciones y datos de densidad y mortalidad sugieren que los factores que están regulando la distribución de *M. tuberculata* en ambos sitios son el tipo de sustrato y la velocidad de la corriente. El sitio 1 es el habitat más favorable para el desarrollo del tiárido, debido a que el sustrato es lodoso, y en él abundan los recursos alimenticios que constituyen la dieta del caracol (materia orgánica vegetal y animal, microalgas y bacterias) (Pointier *et al*, 1989) y a que la velocidad de la corriente fue menor. Por otra parte, en el sitio 2 el sustrato en su mayoría estaba compuesto por rocas y arena, en el que existe poco alimento y la velocidad de corriente fue mayor. En el sitio 2, se confirma esta cuestión ya que se realizó una clasificación más minuciosa de los distintos tipos de sustrato que fueron muestreados y se observó éste mismo patrón: en el sustrato compuesto de arena y lodo se presentó el mayor número de individuos (Tabla 11).

En lo que respecta a la relación que existe entre la densidad de caracoles y la prevalencia de la infección se puede notar en terminos generales, que la proporción de caracoles que pueden parasitarse es muy similar en los dos sitios (ver tabla 10); sin embargo al considerar solamente a estos moluscos ≥ 11.7 mm, se obtuvo que existen diferencias significativas en las prevalencias de infección entre ambos sitios, lo que indica que la distribución de caracoles infectados esta relacionada con las mayores densidades y que éstas a su vez se ven favorecidas por el tipo de sustrato (lodo), ya que ahí se encuentran los recursos alimenticios del caracol.

Considerando lo anterior y debido a que encontramos las mayores prevalencias de *C. formosanus* en donde existen mayores densidades de *M. tuberculata* (sustrato lodoso) nos permite suponer que los sitios de mayor riesgo en la transmisión del parásito, corresponde a los sitios con elevadas densidades, sin embargo, hay que considerar que también existe la posibilidad de que los peces se estén parasitando en cualquier sitio con cualquier densidad de caracoles, debido a la capacidad de dispersión de ambos hospederos (peces y tiáridos) y,

además si consideramos que la cantidad de cercarias que emergen por día por caracol es de alrededor de 880 (ver Cap. 2) y que en condiciones de laboratorio, caracoles capturados en el campo y que ya mostraban una infección patente estuvieron liberando cercarias a lo largo de 16 meses, nos hace suponer que no es necesario que exista un gran número de caracoles infectados, sino que con un número bajo de individuos, las intensidades de metacercarias en los peces serán considerables (ver Cap.4). Además los segundos hospederos intermediarios (Poecílidos y Ciprinidos, principalmente) remueven el sustrato (lodo) cuando se alimentan, lo que permite suponer que en los sitios de mayor densidad de caracoles existe una mayor probabilidad de transmisión del parásito hacia el segundo hospedero intermediario.

Williams y Esch (1991), mencionan que los estudios recientes han reconocido la importancia de la densidad del hospedero, la disponibilidad temporal y cantidad de estadios infectivos, la variabilidad genética dentro de las poblaciones del hospedero y del parásito, los factores espaciales y el intervalo de factores abióticos presentes en un hábitat, como elementos importantes tanto en los procesos de colonización como en los de la dinámica de transmisión de tremátodos.

Pointier (1989a); Pointier *et al.* (1989); Perera *et al.* (1987); Kruatrachue, Suchart-Upatham, Vichasri y Baidikul, (1990), establecen que *M. tuberculata* presenta un crecimiento muy lento demostrado por su tasa de crecimiento, con una larga vida que puede ser de 2 a 3 años o hasta 5 años y que además son capaces de mantenerse en altas densidades por largo tiempo con una producción continua de caracoles jóvenes durante todo el año, al igual que lo que se obtuvo en el experimento de Crecimiento (inciso iv de resultados) y lo que se observó en el campo.

ii. Estructura poblacional de *Melanoides tuberculata* y prevalencia de *Centrocestus formosanus*.

La talla mínima parasitada (11.7 mm) encontrada en condiciones naturales de este estudio, concuerda con la señalada en Japón por Yanohara (1985), donde no registra ningún caracol parasitado con tallas \leq a 12 mm, sin embargo las prevalencias mas altas las asocia con tíaridos de tallas \geq a 30 mm, mientras que las prevalencias mayores obtenidas en los dos sitios muestreados en "Las Estacas" se dan en los caracoles con tallas de 19 - 25 mm.

Los caracoles de tallas \geq a 21 mm (que corresponde a la talla promedio de caracoles parasitados), son escasos en ambos sitios, conformando tan solo del 3.24% (n = 51) al 4.61% (n = 52) de la población.

La estructura poblacional de *M. tuberculata* en ambos sitios se encuentra formada por organismos pequeños, jóvenes, lo cual explica las bajas prevalencias registradas en los muestreos. Asimismo la mayoría de estos organismos son muy pequeños para soportar una infección, o bien, se debe a que su exposición a los estadios infectivos ha sido limitada por su relativa corta edad (Woolhause y Chandiwana, 1990; Williams y Esch, 1991), ya que se encontró que las prevalencias de infección de *C. formosanus*, son mayores en los caracoles grandes (22.82 ± 5.59 mm y 21.09 ± 4.87 mm) en los sitios 1 y 2, respectivamente, lo cual concuerda con Yanohara (1985), quién también señala que la tasa de infección en *M. tuberculata* se incrementa con la talla de los mismos, esto es de 9-18 mm, registra una

prevalencia del 0.71%, de 18-30 mm una de 10.38% y moluscos con tallas \geq a 30 mm presentan una prevalencia del 60%.

Lo anterior nos llevaría a pensar que donde existan mayores densidades de caracoles con tallas por arriba de los 11.7 mm, encontraremos las mayores prevalencias. Sin embargo, al comparar en términos generales a los sitios 1 y 2, encontramos que a pesar de que en el sitio 2 existe un mayor porcentaje de moluscos que sobrepasa los 11.7 mm (36.56%), en comparación al sitio 1 (20.76%), los valores de prevalencia mostrada en el sitio 2 son menores (1.7 %) que en el sitio 1 (2.27 %).

Por otra parte, si se considera que el sitio 2 es heterogéneo en cuanto al tipo de sustrato, el punto de vista anterior sería erróneo. Sin embargo, al llevar al cabo el mismo análisis de prevalencias en el sitio 2 tomando en cuenta solamente a los caracoles con tallas \geq a 11.7 mm, se observa que a pesar de que en los sustratos compuestos por arena-lodo, roca-lodo y roca se encuentra el mayor número de tíaridos que sobrepasa esa talla, las prevalencias son menores que en el sustrato lodoso en donde existe un menor número de caracoles con tallas \geq a 11.7 mm (Tabla 11).

Por lo tanto, se puede decir que la estructura poblacional del caracol, como único factor a considerar, no determina la prevalencia de la infección en los distintos sitios, sino que aunada a factores como la densidad y comportamiento de los caracoles, así como la densidad y comportamiento de los miracidios y factores abióticos que prevalecen en el ambiente (sustrato, temperatura, etc), son los que en conjunto favorecen las altas prevalencias en los caracoles. Se puede establecer entonces que la susceptibilidad de la infección es dependiente de la edad, hábitat, densidad y comportamiento del caracol y el miracidio (Yanohara, Nojima y Sato, 1987).

Por lo tanto, se considera necesario estimar la densidad y estructura poblacional del caracol, además de los factores físicos del hábitat para dar una idea clara de la dinámica de transmisión del parásito, ya que no se puede estar hablando de dinámica estacional parásito-hospedero, si el tipo de muestreo es erróneo y se están obviando tallas de moluscos que puedan desestimar o subestimar las prevalencias de infección en alguna localidad.

iii) Curva de crecimiento de *Melanooides tuberculata*

Los valores de los parámetros de crecimiento (k y L_{∞}) obtenidos para *M. tuberculata*, difieren de aquellos registrados para la misma especie en el área del Caribe por Perera *et al.* (1987), Pointier (1989a), Pointier *et al.* (1989, 1991a) (Tabla 13). Los valores fueron mayores de k y L_{∞} , lo que indica que el ambiente en donde se desarrolló el estudio es muy favorable para el crecimiento de *M. tuberculata*. Se considera, por lo tanto que los valores de crecimiento obtenidos se deben a que el manantial "Las Estacas" es un hábitat estable con un flujo de agua constante, abundantes recursos alimenticios (materia orgánica en descomposición, microalgas, etc.) que propician el buen desarrollo de la especie. Además, esto fué corroborado con especímenes encontrados en el campo que medían hasta 45 mm. Por otra parte hay que considerar que los tamaños de tallas (mínima y máxima) o de validez utilizados en los experimentos realizados en el Caribe y aquellos empleados en este estudio son diferentes (Tabla 13).

La tasa de crecimiento (k) obtenida, es semejante a la registrada por Pointier *et al.* (1989) en Martinica (cultivo de berros), sin embargo, la longitud máxima teórica (L_{∞}) resultó muy diferente a la señalada en el Caribe por otros autores, por lo que comparativamente la curva de crecimiento es muy distinta a la obtenida por los autores antes mencionados (Tabla 13, Fig. 15).

Tabla 13. Valores de los parámetros k y L_{∞} de la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy para *Melanoides tuberculata*.

Habitat y localidad	k	L_{∞}	Intervalo de validez (mm)	Temp. Agua (°C)	Tipo de alimento	Autor
Lago Chad (Africa)	0.31	15.9	—	26-32	<i>Potamogeton</i>	Leveque, 1971*
Presa de Hanabaniilla (Cuba).	0.13	22.10	4.0-23.5	25-27	<i>Eichornia crassipes</i> <i>Elodea densa</i> y arena	Perera, <i>et al.</i> 1987
Laguna, Isla Guadalupe (Antillas Francesas)	0.04	28.7	6.3-27.3	25-30	<i>Hymenachne amplexicaulis</i> <i>Nymphæa ampla</i> y lodo	Pointier, 1989a
Cultivo de berros, Isla Martinica (Antillas Francesas)	0.14	23.73	3.7-24.1	24-27	<i>Nasturtium</i>	Pointier, <i>et al.</i> 1989
Cultivo Experimental, Isla Guadalupe (Antillas Francesas)	0.04	31.8	Cultivo de Laboratorio	25	<i>Hydrohypnum</i> Lechuga seca	Pointier, <i>et al.</i> 1991a
Cultivo Experimental, "Las Estacas" (Morelos, México)	0.16	39.04	2.0-39.6	25	Alimento comercial "TetraMin"	Presente trabajo

* Datos parciales obtenidos durante una estación cálida con temperaturas muy altas, entre 26°C y 32°C (in Pointier, 1989a).

En la curva de crecimiento experimental de *M. tuberculata* de "Las Estacas" (Fig. 17), se puede notar que la tasa de crecimiento es mucho más rápida en los caracoles de una talla de 5 a 25 mm, en comparación a la registrada para el área del Caribe (Fig. 18), a pesar de que la temperatura en los experimentos es muy semejante, sin embargo, la diferencia en el tipo de alimento artificial utilizado por nosotros pudo repercutir en su crecimiento ya que todos los autores antes mencionados han utilizado alimento natural. Considerando la baja tasa de mortalidad registrada en el presente experimento, es posible que los resultados hayan sido mas influenciados por el tipo de alimento que por la calidad del agua (*com. pers.* Jean-Pierre Pointier-Centro de Biología y Ecología Tropical del Mediterráneo, Perpignan, Francia).

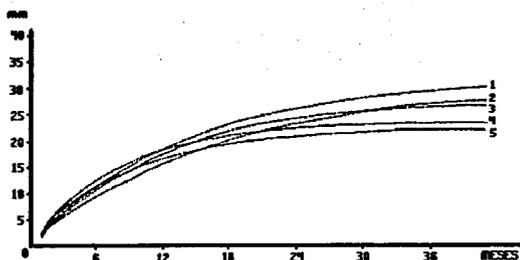


Fig. 18. Curvas de crecimiento calculadas para el tiárido de la India del Este *Melanoides tuberculata* (Thiaridae: Prosobranchia) utilizando la ecuación de Von Bertalanffy. 1. Cultivos de laboratorio de la Isla Guadalupe (datos no publicados); 2. Cultivos de laboratorio de la Isla Martinica (datos no publicados); 3. Estanque de Cóligny, Isla Guadalupe; 4. Cultivos de barro, Isla Martinica; 5. Lago Hanabanilla, Cuba (Tomado de Pointier *et al.*, 1991b).

Los resultados de crecimiento obtenidos en Malasia para *M. tuberculata* por Berry y Kadri (1974) in Pointier, 1989a, también difieren de los nuestros, mientras que ellos estiman que el tiárido llega a una talla de 8 mm en 100 días y a una de 15 mm en 500 días, en este estudio se obtuvo que estas tallas se alcanzan a los 42 y 90 días, respectivamente, debido probablemente a que el habitat de la localidad de "Las Estacas", los factores físicos y el tipo de alimento son mas favorables para el crecimiento del caracol.

Por otra parte, es importante considerar que la tasa de crecimiento y la talla máxima de los organismos depende de las condiciones ecológicas del ambiente, de la población y de las características de la población las cuales varían de un lugar a otro (Leveque, 1971; Leveque y Pointier, 1976). Así el resultado obtenido sugiere que los individuos de "Las Estacas" presentan el máximo potencial de crecimiento señalado para esta especie, y por lo tanto se considera así que el habitat es muy favorable para el desarrollo de *M. tuberculata*.

La liberación de crías de *M. tuberculata* se inició a una talla promedio de 14.146 mm (12.3 - 16), la cual concuerda con la obtenida por Livshits y Fishelson (1983) en una población de la localidad "Ein Musa" en Israel, donde registran que la especie llega a ser fértil a una altura de 15 a 16 mm, sin embargo, ellos obtienen esta longitud a una edad de 6 meses de acuerdo a su curva de crecimiento, en tanto que en el experimento de crecimiento (llevado al cabo en este trabajo) esa talla la obtienen en dos meses 23 días aproximadamente. La máxima capacidad reproductiva se obtuvo en los individuos adultos con una talla de 18.69 y 22 mm en promedio, al igual que la que registran éstos autores para la especie (20 mm), después de esta talla su fertilidad decrece gradualmente (Tabla 12). Lo que hace evidente para el caso de la infección con *C. formosanus*, es que la talla donde se muestra la infección patente (producción de cercarias) se alcanza en menos tiempo en la localidad de "Las Estacas", Mor.

Pointier *et al.* (1992) demuestran que la reproducción de todos los morfos de *M. tuberculata* en el laboratorio, se presenta a lo largo de todo el año. Del mismo modo Borel (1990) *in* Pointier *et al.* (1992) observó que el reclutamiento de crías en diferentes habitats de la Isla Guadalupe, ocurre a través de todo el año con un aumento en la época de lluvias. En los Sitios 1, 2 y en el canal de alimentación de agua del Centro Piscícola de Zacatepec, siempre encontramos crías a lo largo de los muestreos realizados en diferentes meses del año (enero, mayo, junio, julio, octubre y noviembre) lo que demuestra que la reproducción del caracol en estas localidades también es continua a lo largo de todo el año. Con lo anterior se considera que en las localidades de estudio siempre va a ver caracoles disponibles para infectarse y caracoles posiblemente infectados, como fue observado en los diferentes muestreos en las distintas épocas del año y por lo tanto la transmisión y dispersión de la cercaria en la localidad se realiza a través de todo el año.

En relación a la longevidad de *M. tuberculata*, se ha evaluado que en Malasia puede llegar a vivir 3.5 años (Berry y Kadri, 1974 *in* Pointier, 1989a) y en Hong Kong de 2 a 2.5 años (Dudgeon, 1986 *in* Pointier 1989a). Por otra parte Pointier *et al.* (1991a, 1992) han estimado que en condiciones de laboratorio ésta puede exceder a los 5 años, lo cual concuerda con la estimada experimentalmente en este estudio, sin embargo, la longevidad en condiciones naturales puede ser más corta (Pointier *et al.* 1992). De acuerdo a lo anterior y con base a que caracoles recolectados en las localidades de estudio, que ya mostraban una infección patente estuvieron liberando cercarias por un largo tiempo (16 meses), se puede considerar que un caracol infectado en la zona de estudio, aunado a su alta longevidad, puede estar liberando cercarias durante mucho tiempo.

7.4. Capítulo 4

**Distribución de la infección de *Centrocestus formosanus* en peces.
Infecciones experimentales en peces, anfibios, aves y mamíferos y hospedero definitivo natural.**

7.4.1. Introducción

El cultivo de ciprínidos, cíclidos y poeclidos en México constituye una de las pesquerías más importantes en los estados sin litoral (Morales, 1991), a nivel de peces de consumo y de ornato. En el estado de Morelos las tilapias son las principales especies cultivadas en los Centros Piscícolas y los poeclidos y ciprínidos son los peces de mayor importancia en el acuarismo del Estado.

Debido a que el cultivo de estos peces constituye una actividad acuícola y pesquera sobresaliente, la evaluación del impacto de *C. formosanus* en estas áreas es de gran interés y debe tomar en consideración dos aspectos importantes: la intervención de los moluscos *Melanoides tuberculata* en el ciclo de vida de este parásito y la infección de especies silvestres de peces como *Heterandria bimaculata*, *Poecilia sphenops*, además de otros pequeños poeclidos como *Xiphophorus helleri*, entre otros. Dada la relevancia de ambos factores es importante considerar la alta probabilidad de una rápida y amplia dispersión del parásito, propiciada por las características biológicas y ecológicas de sus hospederos, capaz de provocar graves repercusiones en el desarrollo de la piscicultura.

Los estudios realizados en los Estados de Hidalgo (López-Jiménez, 1987a, 1987b; Anónimo, 1990; Arizmendi, 1992), Morelos (Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Caspeta, 1994), Veracruz (Salgado-Maldonado *et al.* 1994; Almeyda-Artigas *et al.* 1994; Velázquez *et al.* 1994), Michoacán (Arévalo *et al.* 1994) y Tabasco (Pineda-López *com. pers.*) han registrado la presencia de este parásito afectando tanto a peces de cultivo (ciprínidos), como a poblaciones naturales de poeclidos (*X. helleri*), eleotridos (*Gobiomorus dormitor*), cíclidos (*Petenia splendida*), triquiúridos (*Trichurus lepturus*), aterfínidos (*Chirostoma humboldtianum*), godeidos (*Ilyodon withe*), synbranquidos (*Ophisternon aenigmaticum*) y a los caracoles *Melanoides tuberculata* como transmisores de la infección, siendo estos últimos localizados en estanquerías, canales de alimentación o aledaños a éstos y en cuerpos de agua naturales incluyendo manantiales de agua dulce, como sucede en "Las Estacas", Morelos. Es importante señalar que el hospedero definitivo natural de este tremátodo aún no había sido registrado en nuestro país.

De esta manera el estudio de la infectividad y susceptibilidad de la infección de este tremátodo, en especies con importancia comercial y de ornato, resulta útil para el mejor conocimiento de la transmisión, dispersión y biología de este parásito, cuyo impacto en el campo de la sanidad piscícola deberá ser valorado.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente y a la importancia de este sistema parasitario, es de interés dilucidar cuestiones como la distribución de la infección de *C. formosanus* en poblaciones de poeclidos, tanto en condiciones naturales (*Heterandria bimaculata*, *Poecilia sphenops*, *Xiphophorus helleri*) como de cultivo (*X. maculatus* y *P. latipinna*) y de ciprínidos con fines acuaculturales (*Carassius auratus*); la existencia de alguna preferencia de las metacercarias de *C. formosanus* por invadir alguna branquia o algún arco branquial en particular; la relación entre la cantidad de metacercarias de *C. formosanus* y la talla de las especies de peces que afecta; la potencialidad de infección que tiene *C. formosanus* en especies de consumo humano (*Oreochromis niloticus*) y de ornato (*C. auratus*); la potencialidad de infección de las cercarias de *C. formosanus* en anfibios; la edad a la cual es

infectiva la metacercaria de *C. formosanus* en *Mus musculus*; la especie(s) de vertebrado(s) que actúa(n) como hospedero(s) definitivo(s) natural(es) de *C. formosanus*, en la localidad de "Las Estacas".

7.4.2. Materiales y Métodos

i. Recolección y examen de peces

La recolección y examen de peces se llevó a cabo siguiendo el procedimiento que se indica en el inciso 6.2, de la Metodología General (ver diagrama de flujo).

La muestra fue conformada con 6 especies colectadas en diferentes épocas del año como se puede observar en la siguiente tabla.

Tabla 14. Número y datos merísticos de peces examinados en cada uno de los muestreos.

Localidad de colecta	Especie de pez	Número de individuos	Intervalo de peso y promedio (g)	Intervalo de longitud total y promedio (cm)
Manantial "Las Estacas"	<i>Heterandria bimaculata</i>	78	0.7 - 5.1 (1.8)	3.3 - 7.5 (4.24)
	<i>Xiphophorus helleri</i>	8	0.6 - 3.0 (1.4)	3.0 - 4.7 (3.5)
	<i>Poecilia sphenops</i>	58	0.6 - 11.7 (8.0)	3.2 - 10.0 (7.68)
Centro Piscícola de Zacatepec	<i>Carassius auratus</i>	27	0.8 - 1.9 (1.6)	2.9 - 4.8 (3.3)
Granja particular de Zacatepec	<i>C. auratus</i>	26	0.9 - 1.8 (1.4)	3.2 - 4.5 (3.8)
	<i>X. maculatus</i>	7	2.0 - 2.9 (2.4)	3.7 - 4.8 (4.3)
	<i>P. latipinna</i>	26	0.8 - 4.2 (1.8)	2.4 - 7.2 (3.84)

ii. Infecciones experimentales en peces

Las infecciones experimentales se realizaron con crías de tilapias de la especie *Oreochromis niloticus* y carpas de ornato de la especie *Carassius auratus*. Las tilapias fueron donadas por el Laboratorio de Reproducción de la Facultad de Ciencias de la UNAM, donde habían nacido, mientras que las carpas se obtuvieron de una granja particular localizada frente al Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos (ver inciso 6.5, de la Metodología General).

Para realizar las infecciones, se obtuvieron cercarias recién emergidas de caracoles *Melanoides tuberculata* que se recolectaron en el sitio 2 de muestreo (ver Cap. 3). Para la obtención de cercarias a partir de moluscos infectados, se siguió la misma metodología empleada en el inciso 6.2, del apartado de Metodología General.

Las infecciones se realizaron en 20 peces: diez crías de tilapias (*O. niloticus*) de 4 - 7 cm (5.47) de longitud total y de 4 - 6 (5) g de peso y diez crías de carpas doradas "variedad cola de abanico" (*C. auratus*) de 3.4 - 7.3 cm (4.7) de longitud total y de 0.9 - 2.9 (1.9) g de

peso. Ambas especies se colocaron individualmente en cristalizadores de 10 cm de diámetro, con 150 - 200 ml de agua de clorinada a 25 °C, en los que previamente se habían colocado 2,000 cercarias recién liberadas de *M. tuberculata*, emergidas a la misma temperatura (25 °C). Los cristalizadores se mantuvieron sobre una platina caliente por espacio de 6 h, a fin de mantener constante la temperatura. Todos los peces se mantuvieron por espacio de 6 h en los dispositivos con oxigenación. Se realizaron observaciones con el microscopio estereoscópico para detectar la cantidad de cercarias presentes en el agua. Una vez transcurridas las 6 h, las tilapias y carpas, se trasladaron por separado en dos acuarios de 70 lt de capacidad, mantenidos en las mismas condiciones: agua de clorinada, temperatura constante de 25 °C, filtro externo, aireación por medio de bombas y piedra de airear y un fotoperíodo natural constante de 12 h luz/12 h oscuridad (aproximadamente). Se proporcionó alimentación "ad libitum", dos veces al día, con alimento comercial en hojuelas para peces tropicales "TetraMin".

Veinte días después de haber sido infectados, los peces fueron sacrificados y revisados. La revisión y conteo de metacercarias enquistadas se realizó siguiendo la misma metodología descrita en el inciso 6.2, de la Metodología General.

iii. Infecciones experimentales en anfibios

Las infecciones se llevaron al cabo con doce renacuajos de anuros de la especie *Spea multiplicata* Cope, 1863 (Pelobatidae), como se encuentra señalado en el inciso 6.5, de la metodología general (ver diagrama de flujo).

Los renacuajos se colocaron, de tres en tres, en cristalizadores de 10 cm de diámetro con 100 ml de agua de clorinada a 25°C, en los que previamente se habían colocado 500 cercarias recién liberadas de caracoles *M. tuberculata* emergidas a la misma temperatura (25 °C). Los cristalizadores se mantuvieron sobre una platina caliente para mantener la temperatura por espacio de 10 - 14 h. Una vez transcurrido ese tiempo los renacuajos se trasladaron a un acuario con 7 cm de nivel de agua donde se mantuvieron hasta que ocurrió la metamorfosis, en las condiciones especificadas en el inciso 6.5, de la Metodología General.

La disección y revisión de los sapos se realizó de la misma manera que la especificada en el inciso 6.5, de la metodología general.

iv. Infecciones experimentales en ratones y pollos.

Con el propósito de determinar la edad a la cual es infectiva la metacercaria de *C. formosanus*, se realizaron infecciones experimentales en pollos domésticos *Gallus gallus* y en ratones de laboratorio *Mus musculus*.

Ratones: Las infecciones se llevaron al cabo en 12 hembras de *Mus musculus* de 30 - 35 g de peso, de la cepa CD₁, con una edad promedio de nueve semanas.

Las metacercarias se obtuvieron de ocho individuos de carpa dorada *C. auratus*, infectados experimentalmente como se detalló en el punto ii de este mismo capítulo. Las infecciones se realizaron con metacercarias de 5, 10, 16 y 20 días de edad, siguiendo la metodología propuesta por Huffman y Fried (1990). Los ratones fueron sometidos a un período de ayuno de 12 h, como mínimo, para facilitar la ingestión de las branquias, recién disectadas, que contenían las metacercarias vivas. 12 h después se alimentaron con una fórmula de alimento comercial. Para cada infección se utilizaron tres ratones, suministrándoles 250 metacercarias a cada uno de ellos, obtenidas de dos carpas recién disectadas. Las metacercarias se suministraron directamente en la boca de los hospederos con la ayuda de unas pinzas y en algunos casos con una pipeta Pasteur, conteniendo solución salina, para facilitar su ingestión (Vázquez-Colet y Africa, 1938) (ver diagrama de flujo en la metodología general).

Siete días después de cada infección, los ratones se sacrificaron por intoxicación, sometiéndolos a una inhalación prolongada de éter o cloroformo (Arizmendi, 1989). El examen se realizó inmediatamente. De cada hospedero se separó el intestino, colocándolo en solución salina al 0.08 %, para ser disectado con tijeras finas. El intestino fue seccionado en tres partes: anterior, medio y posterior, con el propósito de determinar una ubicación más exacta de los adultos. La revisión se realizó cuidadosamente, removiendo el epitelio con ayuda de agujas finas de disección.

Los adultos de *C. formosanus* fueron retirados con un pincel de cerdas finas y se colocaron en solución salina al 0.08 %. Se registró el sitio donde se encontraban adheridos los adultos, así como el número de gusanos recobrados y el grado de maduración de éstos. Las observaciones y procesamiento de los adultos y huevos se llevaron a cabo conforme al inciso 6.5, de la Metodología General.

Pollos: Se realizaron infecciones experimentales en seis pollos de granja (*Gallus gallus*) de 8-15 días de edad, adquiridos en un mercado del Centro de la Ciudad de México. Las metacercarias se obtuvieron de diez individuos de *Poecilia sphenops* parasitados naturalmente en el arroyo del balneario "Santa Isabel". La cantidad de metacercarias administradas fue variable. El proceso de infección, revisión y recolección de adultos de *C. formosanus*, se llevó a cabo de la misma manera que en el caso de los ratones. Sin embargo, no se pudo precisar la edad de las metacercarias debido a su origen.

v. Recolección y examen de hospederos definitivos naturales.

La recolección y examen de hospederos definitivos naturales se encuentra señalada en el inciso 6.3, de la Metodología general (ver diagrama de flujo en metodología general).

vi. Análisis de datos

Los parámetros de la infección, utilizados para los peces, fueron: prevalencia, intensidad promedio y abundancia, los cuales se encuentran definidos en el inciso 6.4, de la Metodología general.

7.4.3. Resultados

i. Distribución de la infección en peces

Los parámetros de la infección mostrados por las diferentes especies de peces, en distintos muestreos aparecen en la Tabla 15.

Tabla 15. Distribución de la infección por metacercarias de *C. formosanus* en las diferentes especies de peces muestreados.

Especie de pez (fecha de colecta)	Número peces revisados	Número de metacercarias	Prevalencia (%)	Intensidad Promedio	Abundancia
<i>P. sphenops</i> ¹ (julio,91)	28	1,530	100	54.64	54.64
(agosto,91)	18	1,056	100	58.66	58.66
(nov,91)	12	417	91.6	37.90	34.75
<i>H. bimaculata</i> ¹ (julio,91)	25	1,084	52	83.38	43.36
(enero'93)	53	356	64.1	10.47	6.72
<i>X. helleri</i> ¹ (julio,91)	8	984	100	123	123
<i>C. auretus</i> (febrero'94) ²	27	223	96.3	8.57	8.25
(enero '94) ³	26	9	30.8	60.88	0.34
<i>X. maculatus</i> ³ (febrero,94)	7	727	100	103.8	03.8
<i>P. latipinna</i> ³ (febrero,94)	26	13	23.1	2.16	0.5

1. Manantial "Las Estacas", Morelos; 2. Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos; 3. Granja particular de peces de ornato (localizada en frente del Centro Piscícola de Zacatepec).

Como se puede observar en la tabla 15 en *X. helleri* y *P. sphenops*, en dos de las tres especies de peces muestreadas en los arroyos del manantial "Las Estacas" se registraron los valores más altos en cuanto a prevalencias e intensidades medias, en comparación con *H. bimaculata*. Sin embargo, esta última presentó una mayor intensidad en el mes de julio en comparación con *P. sphenops*. En cuanto a la prevalencia se encontró que sólo existen diferencias significativas entre *H. bimaculata* y *P. sphenops* ($G = 32.90$, $gl = 1$, $P < 0.05$). En las demás especies de peces únicamente se realizó un muestreo para cada una de ellas, en diferentes épocas del año, por lo cual no fue posible establecer comparaciones. Así los valores de prevalencia e intensidades de la infección más altos fueron registrados en las especies de: *X. helleri* y *X. maculatus* colectadas en el manantial "Las Estacas" y la granja particular de peces de ornato, respectivamente, en tanto que los más bajos correspondieron a *P. latipinna* de la granja particular.

Las metacercarias de *C. formosanus* en todas las especies de peces infectados naturalmente, se encontraron enquistadas en los filamentos branquiales y muy raramente fijadas a la base del arco branquial.

Para determinar si existían diferencias significativas entre la época de muestreo y la prevalencia en *H. bimaculata* y *P. sphenops* (especies que se recolectaron en diferentes meses) se aplicó una prueba de G, cuyos resultados indican que no existe dependencia entre estos dos parámetros (*H. bimaculata*: $G = 1.013$, $gl = 1$, $P > 0.05$; *P. sphenops*: $G = 0.647$, $gl = 2$, $P > 0.05$), por lo que de acuerdo con estos resultados el estudio de la distribución de metacercarias en las branquias se realizó con el total de peces de la muestra revisados en las diferentes colectas, para cada una de las especies.

La distribución espacial de las metacercarias de *C. formosanus* sobre las branquias fue examinada desde dos enfoques diferentes (Madhavi, 1986). Primero la distribución fue estudiada sobre las branquias del lado derecho e izquierdo, para determinar si existía alguna asimetría en la implantación. Los datos para todas las especies de peces recolectados se presentan en la Tabla 16. Los resultados demuestran que los quistes se distribuyen de igual manera entre las branquias del lado derecho e izquierdo, con ligeras variaciones, sin llegar a presentar diferencias estadísticamente significativas al aplicar la prueba de Wilcoxon (Tabla 17).

Tabla 16. Distribución de metacercarias de *C. formosanus* sobre los filamentos de los arcos branquiales del lado derecho e izquierdo, en peces con infecciones naturales.

Especie de hospedero	No. de peces examinados	No. total de quistes	No. de quistes sobre las branquias	
			Branquia derecha (%)	Branquia izquierda (%)
<i>P. sphenops</i> ¹	58	3,003	1,496 (49.81)	1,507 (50.18)
<i>H. bimaculata</i> ¹	78	1,440	713 (49.51)	727 (50.48)
<i>X. helleri</i> ¹	8	984	486 (49.39)	498 (50.60)
<i>C. auratus</i> ²	27	223	106 (47.53)	117 (52.47)
<i>C. auratus</i> ³	26	9	6 (66.66)	3 (33.33)
<i>X. maculatus</i> ³	7	727	375 (51.58)	352 (48.42)
<i>P. latipinna</i> ³	26	13	6 (46.15)	7 (53.84)

1. Manantial "Las Estacas", Morelos; 2. Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos; 3. Granja particular de peces de ornato (localizada en frente del Centro Piscícola de Zacatepec).

Desde otro enfoque diferente, la distribución de quistes fue estudiada sobre los cuatro arcos branquiales. El análisis de los datos recabados durante los diferentes muestreos en las distintas especies se muestra en la Tabla 18. Los resultados demuestran que la distribución de metacercarias sobre los cuatro pares de arcos branquiales no es uniforme. Sin embargo, en la única especie donde se encontraron diferencias significativas fue *P. sphenops*, de acuerdo con los datos arrojados por la prueba de Kruskal-Wallis (Tabla 17). No obstante, es importante señalar que en la mayoría de las especies el cuarto par branquial alberga una menor cantidad de quistes en relación a los tres pares restantes. Los porcentajes más altos de distribución corresponden al segundo par branquial, en las especies con infecciones más severas, seguido por el tercero y primer arcos branquiales, en orden descendente.

Tabla 17. Resultados de la Pruebas de Wilcoxon para la distribución de metacercarias sobre el lado derecho e izquierdo de las branquias y prueba de Kruskal-Wallis para la distribución sobre los arcos branquiales, de las seis especies de peces estudiados.

Espece de pez	Wilcoxon	Kruskal-Wallis
<i>P. sphenops</i> ¹	Z = 0.9354; Z = 0.3495	H = 10.04, gl = 3, P < 0.05
<i>H. bimaculata</i> ¹	Z = 0.5422; Z = 0.6510	H = 2.94, gl = 3, P > 0.05
<i>X. helleri</i> ¹	Z = 0.3535; Z = 0.7236	H = 1.77, gl = 3, P > 0.05
<i>C. auratus</i> ²	Z = 0 ; Z = 1	H = 4.83, gl = 3, P > 0.05
<i>C. auratus</i> ³	Z = 0.7559; Z = 0.4496	H = 2.20, gl = 3, P > 0.05
<i>X. maculatus</i> ³	Z = 1.5118; Z = 0.1305	H = 5.48, gl = 3, P > 0.05
<i>P. latipinna</i> ³	Z = -0.4082; Z = 0.6830	H = 1.55, gl = 3, P > 0.05

1. Manantial "Las Estacas", Morelos; 2. Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos; 3. Granja particular de peces de ornato (localizada en frente del Centro Piscícola de Zacatepec).

Tabla 18. Distribución espacial de metacercarias de *C. formosanus* sobre los arcos branquiales de peces con infecciones naturales.

Especie de hospedero	Arcos branquiales							
	Branquia derecha				Branquia izquierda			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
<i>P. sphenops</i> ¹	339 (22.66)	455 (30.41)	397 (26.54)	305 (20.38)	337 (22.36)	477 (31.65)	424 (28.13)	269 (17.85)
<i>H. bimaculata</i> ¹	173 (24.26)	194 (27.21)	214 (30.01)	132 (18.51)	183 (25.17)	189 (25.99)	203 (27.92)	152 (20.90)
<i>X. helleri</i> ¹	83 (17.07)	163 (33.54)	151 (31.07)	89 (18.31)	133 (26.71)	149 (29.91)	128 (25.70)	88 (17.67)
<i>C. auratus</i> ²	32 (30.18)	30 (28.30)	28 (26.41)	16 (15.09)	32 (27.35)	32 (27.35)	37 (31.62)	16 (13.67)
<i>C. auratus</i> ³	3 (50)	0 (0)	2 (33.33)	1 (16.16)	1 (33.33)	1 (33.33)	0 (0)	1 (33.33)
<i>X. maculatus</i> ³	108 (28.8)	111 (29.6)	114 (30.4)	42 (11.2)	91 (25.85)	125 (35.51)	100 (28.41)	36 (10.23)
<i>P. latipinna</i> ³	3 (50)	1 (16.16)	2 (33.33)	0 (0)	2 (28.57)	2 (28.57)	1 (14.28)	2 (28.57)

* El número entre paréntesis debajo de cada valor indica el porcentaje de metacercarias enquistadas en cada arco branquial, de cada lado; 1. Manantial "Las Estacas", Morelos; 2. Centro Piscícola de Zacatepec, Morelos; 3. Granja particular de peces de ornato (localizada en frente del Centro Piscícola de Zacatepec).

ii. Infección en relación a la talla del hospedero

Para el análisis de las prevalencias e intensidades de la infección en las especies *P. sphenops* y *H. bimaculata*, se establecieron 14 y 9 clases de talla (longitud patrón), respectivamente, de acuerdo con los datos registrados en los muestreos de ambas especies. En las especies de —*X. maculatus*, *X. helleri*, *P. latipinna* y *C. auratus*— no fue posible proceder en la misma forma debido a la reducida cantidad de hospederos y en algunos casos por las bajas intensidades de infección que presentaron.

En la especie *P. sphenops* en las diez clases de talla la prevalencia se mantiene constante —100%—, mientras que la intensidad promedio tiende a incrementarse con el aumento de talla, a pesar de que se observa un decremento en las tres últimas clases de talla (Fig. 19); sin embargo al realizar una prueba de correlación de Spearman entre la talla de los peces y el número de metacercarias, indica que no existe relación entre estas dos variables ($r = 0.1250$; $n = 58$; $P < 0.05$). La prevalencia en la especie *H. bimaculata* presenta un incremento proporcional a la talla de los peces, en tanto que la intensidad media no muestra ningún patrón establecido a pesar de que se observa en las primeras cuatro clases de talla una tendencia a disminuir conforme aumenta la talla del pez (Fig. 20); sin embargo al aplicar una prueba de correlación de Spearman se observa que no existe una relación entre la talla de los peces y el número de metacercarias ($r = 0.131$; $n = 78$; $P < 0.05$).

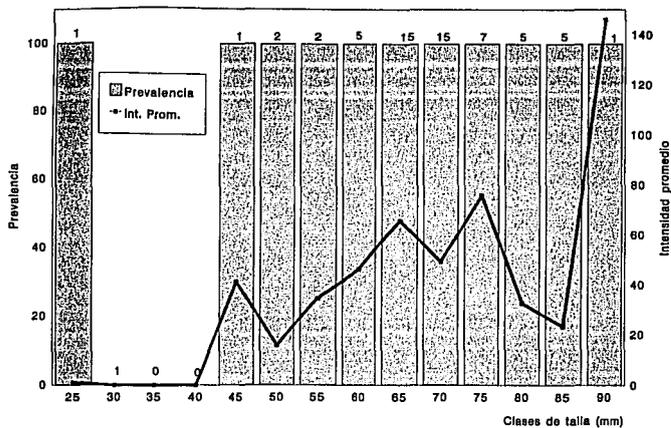


Fig. 19. Prevalencia e intensidad promedio de *C. formosanus* en diferentes longitudes de talla de *Poecilia sphenops*. El número arriba de las barras indica el número de peces revisados de cada clase de talla.

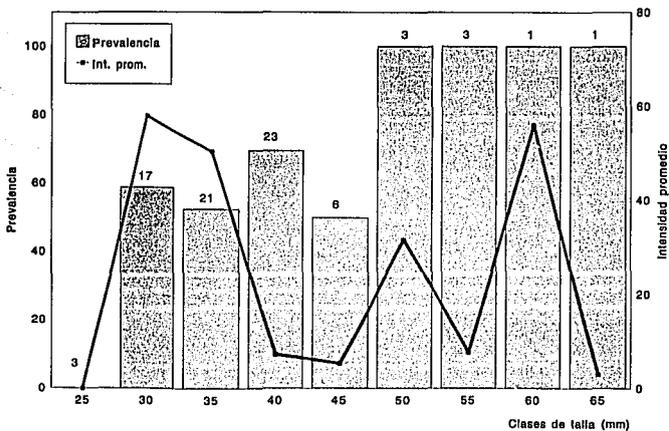


Fig. 20. Prevalencia e intensidad promedio de *C. formosanus* en diferentes longitudes de talla de *Heterandria bimaculata*. El número arriba de las barras indica el número de peces revisados de cada clase de talla.

iii. Infecciones experimentales en peces

Las metacercarias recobradas de manera experimental resultaron ser morfológicamente idénticas a las obtenidas de infestaciones naturales en peces, tanto del manantial "Las Estacas" como del Centro Piscícola de Zacatepec.

En los peces *O. niloticus* y *C. auratus*, la gran mayoría de las cercarias penetraron por la boca a través de las corrientes respiratorias. Sin embargo, algunas de ellas lo hicieron por los opérculos, en dirección opuesta a la corriente, cuando éstos se abrían y cerraban durante la respiración. La penetración de las cercarias en ambas especies ocurrió en un período de seis horas, en un porcentaje del 95 al 100%, observándose que el 70% de ellas penetraron durante las primeras dos a tres horas de exposición. Nunca se observó que las cercarias que entraban por la boca salieran por los opérculos.

Durante el período de exposición (6 horas) con las cercarias, se observó en la gran mayoría de los peces una abundante secreción de mucosidad branquial, como reacción al enquistamiento. Se obtuvieron muestras de la secreción y se colocaron en un porta-objetos con solución salina al 0.06% para ser observadas en un microscopio óptico, registrándose una gran cantidad de cercarias carentes de cola. La cuantificación de estas cercarias se realizó en mucosidades de dos *C. auratus* encontrándose de 300 a 400 cercarias, de cada una de las carpas, con estas características.

El comportamiento de los peces durante toda la etapa de experimentación fue normal en comparación con otros que se encontraban libres de la infección en otros acuarios con las mismas condiciones. La mortalidad durante este período fue nula.

A través de la disección de las branquias, a diferentes períodos, se registró el desarrollo de las metacercarias. Se observó que el desarrollo de la doble corona de espinas circumorales en las metacercarias de 5 días, aún era incompleto, alcanzando su desarrollo total (de 32 a 34 espinas, la mayoría con 32) hasta los 10 días, mientras que el aparato excretor era rudimentario. En las de 16 y 20 días de edad, el acetábulo y la vesícula excretora en forma de "X" se observaron bien desarrollados y las gónadas aún rudimentarias. Los quistes de 16 y 20 días, presentaban una capa externa muy delgada, fuerte y transparente, cubierta por una externa más gruesa (con 7 bandas de células), debida a una reacción del tejido del hospedero.

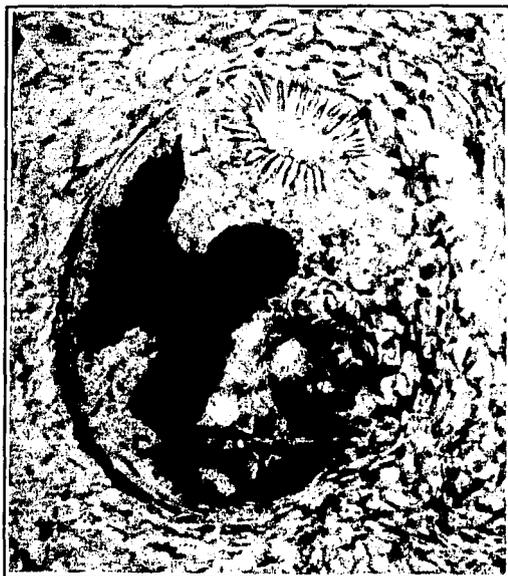
La gran mayoría de las metacercarias fue localizada en los filamentos y la base de los arcos branquiales, sin embargo en algunos "peces dorados" se observaron de tres a diez metacercarias vivas, enquistadas en la parte interna del óperculo. El registro de metacercarias enquistadas en filamentos y base de los arcos branquiales se presenta en la Tabla 19.

Tabla 19. Distribución espacial de metacercarias de *C. formosanus* en los arcos branquiales de diez *Carassius auratus* y diez *Oreochromis niloticus* infectados experimentalmente con 2,000 cercarias, cada uno.

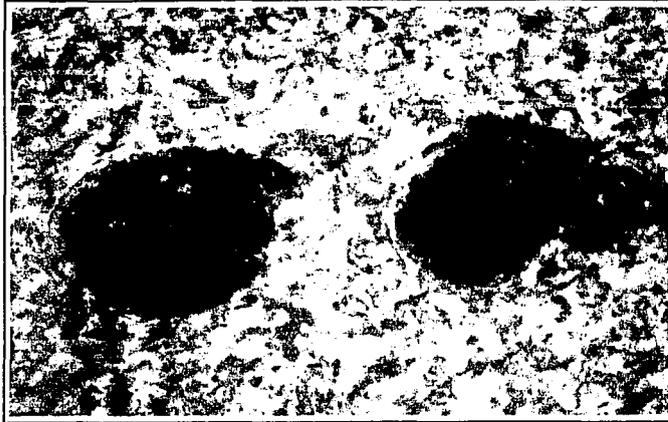
Especie de hospedero	A r c o s b r a n q u i a l e s									
	Branquia derecha					Branquia izquierda				
	I	II	III	IV	Total	I	II	III	IV	Total
<i>C. auratus</i>	1,515 (26.62)	1,678 (29.48)	1,449 (25.46)	1,049 (18.43)	5,691	1,507 (27.52)	1,629 (29.75)	1,319 (24.09)	1,021 (18.64)	5,476
<i>O. niloticus</i>	41 (17.74)	96 (41.56)	64 (27.70)	30 (12.98)	231	43 (16.35)	103 (39.16)	86 (32.69)	31 (11.78)	263

* El número entre paréntesis debajo de cada valor indica el porcentaje de metacercarias enquistadas en cada arco branquial, por lado.

En las diez carpas doradas, todas las metacercarias se encontraron vivas. Las características de la larva en el interior del quiste fueron: apariencia transparente, con movimiento, concreciones del sistema excretor con movimiento y espinas circumorales visibles (Fotografía 1). En algunas tilapias los quistes branquiales se observaron con apariencia opaca y granular (Fotografía 2), signo de que las metacercarias estaban muertas (Huffman y Fried, 1990).



Fotografía 1. Metacercaria viva de *C. formosanus* enquistada en filamento branquial de *Carassius auratus*.



Fotografía 2. Metacercarias muertas de *C. formosanus* enquistadas en filamento branquial de *Oreochromis niloticus*.

El total de metacercarias recuperadas en los peces fue de 11,555, de las cuales 11,167 corresponden a diez individuos de la especie *C. auratus* y 388 a ocho *O. niloticus*. En el caso de los ciprínidos éstas se enquistaron en los filamentos y en la base de los arcos branquiales, con un 100 % de sobrevivencia. En los cíclidos sólo se presentaron en los filamentos branquiales, con una mortalidad de 12.8 %. En *C. auratus*, tanto la intensidad promedio como la abundancia arrojaron un valor de 1,117, mientras que en *O. niloticus* la intensidad promedio fue de 55.42 y la abundancia de 43.11. El porcentaje de efectividad de la infección en las carpas fue de 39.8 a 69.8 (55.8 %) y de 0.15 a 10.3 (2.4 %) en las tilapias, tomando en cuenta la cantidad de cercarias administradas a cada pez (2,000).

El análisis de los resultados para detectar diferencias significativas en la cantidad de metacercarias enquistadas sobre las branquias de ambos lados (derecho e izquierdo), en las dos especies de peces infectados experimentalmente, mostró que al igual que en infestaciones naturales, hay simetría en la implantación de metacercarias en ambas branquias (*C. auratus*: $Z = 0.320, 0.748$; *O. niloticus*: $Z = 0.000, 1.000$), de acuerdo con los datos aportados por la prueba de Wilcoxon.

En la Tabla 19 se muestra la cantidad de metacercarias alojadas en los cuatro arcos branquiales por lado. En ambas especies el segundo arco branquial albergó una mayor cantidad de metacercarias en comparación con los otros pares, siendo el cuarto par el que menor cantidad contenía. En la especie *C. auratus* el primer par contenía mayor cantidad que el tercero; mientras que en *O. niloticus* sucedió lo contrario. Sin embargo, al aplicar la Prueba de Kruskal-Wallis, se observó que sólo existen diferencias estadísticamente significativas en *C. auratus* ($H = 26.14, gl = 3, P < 0.001$), lo cual indica que la distribución de metacercarias en sus cuatro pares branquiales no es uniforme en esta especie, tal como sucede en infecciones naturales en *Poecilia sphenops*. En relación a la implantación no se registraron diferencias significativas en la especie *O. niloticus* ($H = 2.2683, gl = 3, P > 0.05$).

iv. Infecciones experimentales en anfibios.

En los sapos de la especie *Spea multiplicata*, las metacercarias que se recuperaron resultaron ser morfológicamente idénticas a las obtenidas de infecciones naturales y experimentales de peces, en las localidades de muestreo y en el laboratorio.

En los renacuajos las cercarias penetraron en su gran mayoría por la boca a través de las corrientes respiratorias, sólo algunas de ellas lo hicieron a través de la piel. En esta especie se observó que la penetración de las cercarias fue mas lenta que en peces, por lo que se aumentó el tiempo de exposición a la infección (10 - 14 h). El comportamiento de los renacuajos durante la etapa de experimentación no presentó diferencias, en comparación con aquellos que se encontraban libres de la infección, en acuarios con las mismas condiciones.

La mortalidad fue de tres renacuajos los cuales no fueron sometidos a revisión debido a que fueron devorados por otros renacuajos.

El número de metacercarias recuperadas de nueve sapos fue de 664, resultando una prevalencia del 100 % y una intensidad promedio de 73.77. Todas las metacercarias se encontraron vivas. La edad de las metacercarias cuando los sapos se disectaron fue de 30 a 50 días, por lo que se observaron fácilmente dada su morfología característica. Las características de la larva en el interior del quiste fueron idénticas a las observadas en los filamentos y en la base de los arcos branquiales de los peces (ver Fotografía 1).

Las metacercarias se detectaron en piel, ganglios paladar superior y parte externa de la pared del intestino. Ninguna metacercaria fue localizada en músculos. Los datos de la cantidad y distribución de metacercarias en los nueve sapos se muestra en la Tabla 20.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 20. Distribución de metacercarias de *C. formosanus* en *Spea multiplicata* (Pelobatidae), infectados experimentalmente.

No. de hospedero	Cantidad de metacercarias por habitat					Total de metacercarias
	Ganglios izquierdo	Ganglios derecho	Paladar superior	Pared del intestino	Piel	
1	24	16	4	0	0	44
2	15	18	4	2	0	39
3	33	52	5	2	0	92
4	39	18	5	0	0	62
5	59	59	4	1	6	129
6	40	31	3	0	0	74
7	35	29	2	0	0	66
8	28	31	1	0	0	60
9	38	58	2	0	0	98
Total	311	312	30	5	6	664

El porcentaje de efectividad de la infección en *Spea multiplicata* fue del 23.35 - 77.24 % (44.18), considerando que la cantidad de cercarias administradas en promedio a cada renacuajo fue de 167.

v. Infecciones experimentales en ratones y pollos.

Ratones

Las infecciones experimentales llevadas al cabo con metacercarias de 5 y 10 días de edad (provenientes de infecciones experimentales en *C. auratus*) en ratones (*Mus musculus*) resultaron negativas, en tanto que las infecciones positivas se registraron sólo en aquellos a los que se les administraron metacercarias de 16 y 20 días (provenientes del mismo hospedero). En consecuencia se puede afirmar que las metacercarias de *C. formosanus* son infectivas a partir de los 16 días de edad, a una temperatura de 25°C. En los tres ratones infestados con metacercarias de 16 días se registró un total de 181 adultos, todos grávidos; por otro lado, en los tres infestados con metacercarias de 20 días de edad, se obtuvo un total de 188 adultos, siendo también todos grávidos y con huevos viables (Tabla 21). Los adultos recuperados de *Mus musculus* fueron indistinguibles de los obtenidos del intestino de *Butorides striatus* (Aves: Ardeidae), hospedero definitivo natural de *C. formosanus* en "Las Estacas", Morelos.

Tabla 21. Diferencias en la cantidad de adultos obtenidos de *C. formosanus* en *Mus musculus* (30 - 35 grs; 6 hembras; cepa CD₁), infectados experimentalmente con 250 metacercarias de 16 y 20 días de edad provenientes de *C. auratus* (25 °C)

Metacercarias de 16 días		Metacercarias de 20 días	
Ratón	No. de adultos	Ratón	No. de adultos
1	14	1	16
2	64	2	6
3	103	3	142
Total	181	Total	188

En los tres ratones infectados con metacercarias de 16 días de edad, el porcentaje de efectividad de la infección por *C. formosanus* (de acuerdo a la cantidad de metacercarias administradas y de adultos recobrados) fue de 5.6, 25.6 y 41.2 %, respectivamente y del 2.4, 16.0 y 56.8 % para aquellos infectados con metacercarias de 20 días de edad. De acuerdo con estos resultados, el 100 % de los ratones infectados con metacercarias de 16 y 20 días de edad resultaron positivos a la infección. Los adultos de *C. formosanus* en los ratones se localizaron únicamente en el intestino anterior (n = 319) y medio (n = 50). La gran mayoría de los gusanos se encontraron solos o en pares, nunca agrupados en mayor proporción. Todos se encontraban fuertemente adheridos con su boca, provista de espinas, a las vellosidades intestinales. Cuando los helmintos eran removidos de éstas últimas, la mayoría liberaba huevos.

Pollos

La cantidad de gusanos adultos de *C. formosanus* recobrados de pollos domésticos (*Gallus gallus*) infectados experimentalmente con metacercarias de *Poecilia sphenops* (infecciones naturales) del manantial "Las Estacas", se presentan en la Tabla 22.

Tabla 22. Cantidad de adultos recobrados de *G. gallus* infectados experimentalmente con metacercarias de *P. sphenops* (infecciones naturales).

Cantidad de metacercarias administradas	Días/infección	Cantidad de adultos recobrados	grávidos (*) maduros (-)
263	7	0	
271	7	3	*
255	6	3	*
267	15	58	*
342	5	40	* (+)
444	9	0	* (+)

+ El hospedero murió.

El periodo que transcurrió desde el momento de la infección hasta la revisión, varió entre 5 y 15 días. El número de adultos recuperados por hospedero fue de 3 a 58, siendo todos ellos grávidos. Los pollos domésticos que se infectaron con una gran cantidad de metacercarias (342 y 444) murieron a los 5 y 9 días postinfección, recobrando sólo en uno de ellos 40 adultos y ningún gusano en el otro. En la infección con 263 metacercarias, después de 7 días no se recuperó ningún adulto, mientras que en las infecciones con 255 y 271 metacercarias, después de 5 y 7 días de infección, respectivamente, se recuperaron 3 adultos de cada hospedero. El porcentaje promedio de efectividad de la infección de *C. formosanus*, de acuerdo al número de metacercarias administradas y de adultos recobrados fue variable de 0 a 21.7 % (5.6). La ubicación de adultos en el intestino de los pollos fue muy similar al patrón observado en los ratones, estos ocuparon principalmente el intestino anterior (n = 80) y medio (n = 24).

vi. Hospedero(s) definitivo(s) natural(es).

Los dos "zanates" *Quiscalus mexicanus* recolectados en la localidad de estudio, resultaron negativos a la infección por *C. formosanus*, en tanto que de la "garcita verde" *Butorides striatus*, se obtuvieron 207 adultos de *C. formosanus* localizados en su intestino, 20 de los cuales eran grávidos y 187 maduros. La mayoría de los gusanos grávidos tenían cuatro huevos, solo en uno de ellos se observaron diez. El intestino de la garza fue seccionado en seis partes. En las primeras cinco se encontraron los adultos, siendo más numerosos en la primera y segunda parte del intestino. Todos los gusanos se encontraban adheridos al epitelio intestinal, cubiertos con la mucosidad.

Los adultos recobrados del intestino de la garza resultaron ser morfológicamente idénticos a aquellos recuperados de infecciones experimentales en *Mus musculus* y *Gallus gallus* y coinciden con las descripciones realizadas por Chen (1942), Premvati y Pande (1974) y Arizmendi (1992).

7.4.4. Discusión

i. Distribución de la infección en peces infectados natural y experimentalmente

Los datos acerca de las prevalencias mostrados por las especies de peces revisados en los arroyos del manantial "Las Estacas", revelan diferencias estadísticamente significativas entre *Heterandria bimaculata* y *Poecilia sphenops*, lo cual podría deberse únicamente a la diferente susceptibilidad que muestran los peces a la infección por cercarias, ya que ambas especies se recolectaron del mismo sitio y por lo tanto las condiciones de la infección fueron muy similares. No obstante, podría deberse además a que *P. sphenops* tienen hábitos alimenticios, reproductivos o de comportamiento diferentes a los que muestra *H. bimaculata*, y, que el primero por lo tanto, tienen mayor probabilidad de contacto con las cercarias que el segundo, sin embargo no existe información en la literatura sobre patrones de comportamiento y de alimentación de estas especies, que aporten elementos para la discusión de este

supuesto. Por otro lado, si consideramos que la distribución de cercarias en el ambiente no es aleatoria, debido a que éstas son fotopositivas y tienden a acumularse en regiones iluminadas del hábitat, esta agregación de cercarias podría incrementar la probabilidad de contacto con el hospedero potencial que permanecería mayor tiempo (ver patrón de emergencia, Cap. 3) en lugares iluminados o en las cercanías de los caracoles (con hábitos bentónicos) y en consecuencia elevando la incidencia de las infecciones y favoreciendo la transmisión del trematodo (Kennedy, 1975).

Anderson (1982) establece que el tiempo de exposición a la infección, la densidad de estadios infectivos y la distribución de la población de hospederos, también influyen al éxito de la infección a un hospedero. De tal manera que existe la posibilidad de que hospederos de la misma o de diferentes especies estén expuestos a diferentes niveles de infección (Madhavi y Rukmini, 1991).

Los niveles de infección en las poblaciones de peces mantenidos en los estanques en condiciones de cultivo, a diferencia de las silvestres, dependieron de la densidad de los caracoles *M. tuberculata*, determinada a su vez por las características físicas del ambiente. De tal forma que en los arroyos naturales del manantial "Las Estacas" la densidad de los caracoles es de 1,626 a 3,339 individuos/m², mientras que en los estanques del Centro Piscícola de Zacatepec y de la granja particular (localizada frente al mencionado Centro piscícola) es muy baja o nula (com. pers. del dueño de la granja), ya que en estos el paso de los caracoles es controlado por medio de mallas y el sustrato de los estanques (concreto) no favorece su proliferación y en consecuencia las prevalencias e intensidades de la infección son menores, en estos. Por el contrario en el Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hgo, donde a pesar de que el método de control del caracol es el secado y posterior enclamiento de los estanques, la presencia de *M. tuberculata* durante el tiempo que permanecen los estanques llenos, es constante (Arizmendi, 1989). Asimismo autores como Madhavi y Rukmini (1991), sostienen que las elevadas intensidades de infección en peces se deben a las altas densidades de caracoles en el hábitat.

Por otra parte, a pesar de que las diferentes especies de peces recolectadas en los arroyos del manantial "Las Estacas" no se muestrearon mensualmente, se realizaron colectas en las dos épocas del año marcadas para la localidad (de lluvias y sequía), observándose que las condiciones físicas del ambiente son muy homogéneas en estos dos períodos y que por lo tanto el "manantial" es un hábitat muy estable (flujo de agua constante, abundantes recursos alimenticios para los primeros y segundos hospederos intermediarios, poca variación en la temperatura del agua, etc.) para que las infecciones en los caracoles se presenten durante todo el año (ver Cap. 3) y esto a su vez favorezca las infecciones hacia los peces en cualquier época del año, aunado también a la presencia constante de aves piscívoras. Paralelamente se observó que algunos caracoles recolectados en este sitio y mantenidos en el laboratorio a temperatura ambiente (18 - 20 °C) liberaron cercarias continuamente durante más de un año (16 meses). Estos eventos nos permiten suponer que existe un reclutamiento continuo del parásito durante todo el año dentro de la población de hospederos en condiciones silvestres, al igual que lo observado en *Lebistes reticulatus* ("guppies") en Japón por Yanohara (1985) y en el ciprínido *Aplocheilichthys panchax* en la India por Madhavi y Rukmini (1991). Este continuo reclutamiento junto con la alta longevidad de las metacercarias en los peces, podría explicar las altas prevalencias e intensidades medias de la infección en condiciones naturales.

Es importante mencionar que Madhavi y Rukmini (1991) hacen una comparación de lo que sucede con infecciones de metacercarias en peces, en regiones tropicales y templadas. Mencionan que en regiones templadas la temperatura es el factor extrínseco más importante que gobierna los ciclos estacionales de los helmintos y que el reclutamiento de las metacercarias en la población de hospederos se encuentra comúnmente confinado a un período corto durante la primavera o el verano, debido a que las cercarias no emergen de los caracoles durante el invierno por las bajas temperaturas que prevalecen. De esta manera muchas infecciones por metacercarias en peces muestran distintos ciclos estacionales con picos de infección al final de la primavera o verano, lo cual no ocurre así en regiones tropicales (p.e. en la India o en el caso particular del Estado de Morelos), donde la temperatura fluctúa sólo ligeramente en el curso de todo el año y por lo tanto no es un factor de gran importancia en regulación de ciclos estacionales y por ende en la dinámica poblacional de los parásitos. Además si se considera que el manantial de "Las Estacas", específicamente es una habitat muy estable, permite suponer que las condiciones son muy favorables para que la infección en los peces se presente durante todo el año. Por lo tanto, debido a las temperaturas favorables de regiones tropicales, el caracol, hospedero intermediario y los estadios infectivos de *C. formosanus* se presentan a lo largo de todo el año, a diferencia de regiones templadas, donde muchos caracoles también son estacionales, posibilitando que las metacercarias de los gusanos que utilizan estos caracoles como hospederos intermediarios, puedan exhibir distintos patrones de ciclos estacionales (Wetzel, 1975 *in* Shostak y Esch, 1990).

Por otro lado, en las infecciones experimentales realizadas en peces, la "carpa dorada" demostró ser la especie más susceptible a la infección, con valores que oscilan entre 39.8 y 69.8 (55.8 %), mientras que en la "tilapia" varían de 0.15 a 10.3 (2.4 %), lo cual indica que existe mayor peligro de que *C. formosanus* infeste los cultivos de ciprínidos que los de cíclidos, cuestión que se ha corroborado en centros piscícolas del Estado de Hidalgo (López-Jiménez, 1987a; Arizmendi, 1989, Anónimo, 1990) y Morelos (presente estudio), aun cuando en ambos existe una gran cantidad de caracoles parasitados. Además la familia Cyprinidae cuenta con el mayor número de representantes registrados con infecciones por metacercarias de *C. formosanus* (ver Tabla 1). En las infecciones experimentales realizadas en Hawaii por Martin (1958) con ciprínidos, poeclidos, cíclidos y mugílidos mencionó que las diferencias en la susceptibilidad se deben a que los terceros y cuartos (*Tilapia mossambica* y *Mugil cephalus*) presentan filamentos branquiales muy delgados, lo que le impide a la cercaria enquistarse, mientras que los primeros y segundos presentan filamentos más gruesos (*C. auratus*, *X. helleri* y *Gambusia affinis*) en los cuales se observan grandes cantidades de metacercarias. Lo anterior también fue observado durante esta investigación, sin embargo, suponemos que la susceptibilidad de los hospederos a la infección no sólo se debe al grosor de sus filamentos branquiales sino que además, el parásito se encuentra más adaptado a las carpas, ya que ambos son originarios del sureste de Asia, mientras que el cíclido es de origen africano, continente en el que no existe registro alguno del heterófito.

Sin embargo, debemos considerar que a pesar de que los cíclidos son menos susceptibles a la infección y que trabajos como los de Martin (1958) mencionan que estos no se parasitan, es necesario que también existan medidas de control en el cultivo de estas especies ya que existen antecedentes del parásito en estos, en Israel en *Tilapia* sp. (Paterna 1964 *in* Yamaguti 1971) y en Veracruz, México en *Petenia splendida* (Almeyda-Artigas *et al.* 1994).

En los peces con infecciones naturales y experimentales la mayoría de las metacercarias de *C. formosanus* mostraron preferencia por los filamentos branquiales y no por la base de los arcos, al igual que lo observado en cuatro especies de peces de Hong-Kong (Chen, 1942) (ver Tabla 1). Lo anterior puede deberse a que los filamentos están más irrigados que la base de los arcos, debido a que en los primeros es donde se lleva al cabo el intercambio gaseoso y las metacercarias se encuentran en íntima asociación con sus capilares, que les proveen requerimientos o estímulos esenciales para su crecimiento y organogénesis (Madhavi, 1986). Por lo anterior puede decirse que existe una selección activa por preferir el hábitat y tal selección podría ocurrir, además, en todos los casos en donde el grado de desarrollo de la metacercaria es muy avanzado que le permite transformarse en muy poco tiempo en adulto en el hospedero definitivo. Así la metacercaria de *C. formosanus* es muy desarrollada y una vez ingerida por el hospedero definitivo, en un día se transforma en adulto (Chen, 1942) y en dos o tres días es capaz de producir huevos (Premvati y Pande, 1974; Chen y Tung, 1990; Arizmendi, 1989; Salgado-Maldonado *et al.* 1994).

Chen y Tung (1990) demostraron por otra parte que histopatológicamente la metacercaria de *C. formosanus* se encuentra casi siempre parasitando el eje medio de los filamentos branquiales, causando deformidad a la branquia, hiperplasia y fusión del epitelio branquial, al igual que lo observado por Ramírez-Lezama (*com. pers.*- Fac. Veterinaria, UNAM) en carpas del Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama Hidalgo.

Los quistes están distribuidos uniformemente sobre las branquias derecha e izquierda en todas las especies de peces revisados, al igual que lo registrado en el ciprínido *Aplocheilichthys panchax* en la India (Madhavi, 1986). Sin embargo, la distribución de las metacercarias de *C. formosanus* en los arcos branquiales de peces con infecciones naturales y experimentales no fue uniforme, sólo en *Poecilia sphenops* (infectado naturalmente) y en *C. auratus* (infectado experimentalmente) se encontraron diferencias significativas, al igual que lo observado en *A. panchax* (Madhavi, 1986). Las metacercarias demostraron preferencia por los filamentos de los primeros tres arcos branquiales, especialmente por el segundo y tercer par, independientemente de la densidad de la infección y la talla del pez.

Madhavi (1986), señala que los factores involucrados en la distribución espacial de las metacercarias sobre las branquias, puede ser explicado de manera diferente a lo que se ha mencionado acerca del sitio-específico en el caso de los monogéneos, pero que existe muy poca información al respecto. Se ha observado que varias especies de monogéneos también muestran preferencia por el segundo arco branquial, que puede ser debida a la dirección y fuerza de ventilación de las corrientes durante las diferentes fases de la actividad respiratoria y a la selección del sitio por parte del parásito (Llewellyn 1956 *in* Kennedy, 1975; Rohde, 1982 *in* Lester, 1989). La cercaria de *C. formosanus* es muy pequeña y es llevada pasivamente a la cámara branquial a través de las corrientes respiratorias del hospedero, con un inicial establecimiento sobre un arco branquial particular, que pueda esperarse que dependa del volumen y la velocidad del flujo de agua sobre éste. Asimismo la única información disponible indica que la mayoría de las corrientes respiratorias en los teleosteos pasan sobre las branquias anteriores, particularmente sobre el segundo arco branquial, lo cual podría explicar la preferencia de las cercarias en *A. panchax* (Madhavi, 1986) y en todas las especies de peces con infecciones naturales y experimentales revisados en este trabajo. Así la preferencia de las metacercarias por los arcos branquiales anteriores puede solamente ser explicado con base a las corrientes respiratorias. Sin embargo, el mismo autor menciona que

la preferencia por el segundo par branquial podría deberse además, a que éste par presenta mayor tamaño ofreciendo una área de superficie mayor lo cual permite el establecimiento de una gran cantidad de cercarias a diferencia de los otros arcos que presentan menor tamaño.

De acuerdo a los planteamientos de Madhavi (1986) podemos considerar que la distribución de metacercarias observada de *C. formosanus* sobre la superficie branquial de todas las especies de peces revisados tanto de los arroyos del manantial "Las Estacas" como del Centro Piscícola y granja particular de Zacatepec, Morelos es debida a los mismos factores: a) las corrientes branquiales, b) el comportamiento del parásito y c) el tamaño del arco branquial. Sin embargo se requieren más estudios, enfocados desde otros puntos de vista, para apoyar este supuesto.

ii. Infección en relación a la talla del hospedero - peces.

Las repetidas exposiciones del pez a las cercarias y la longevidad de la metacercaria aumenta la tendencia a acumular parásitos a lo largo de toda su vida. Estas condiciones pueden explicar las mayores intensidades de la infección en peces de mayor edad (Madhavi y Rukmini, 1991), sin embargo en *P. sphenops* y en *H. bimaculata* no se obtuvo ninguna relación entre la talla de los peces y la cantidad de metacercarias en las branquias, lo cual indicaría que las metacercarias se distribuyen indistintamente entre las diferentes tallas de los peces, a pesar de que se observa un incremento en la intensidad promedio en *P. sphenops* y un incremento en la prevalencia en *H. bimaculata*, en relación al aumento de talla. A pesar de esto, consideramos que debido a la gran variabilidad que se presenta en la intensidad promedio de la infección en *H. bimaculata* para las diferentes tallas no es posible asumir alguna relación entre ambos factores. Las razones podrían ser que las distintas tallas muestran una probabilidad muy diferente de infectarse y que por lo tanto la intensidad de la infección es independiente de la talla del hospedero, o bien que el tamaño de muestra es muy pequeño en las últimas clases de talla, condiciones que no permiten ser concluyentes a este respecto.

En relación a lo anterior Kennedy (1975) menciona que los hospederos más viejos han permanecido más tiempo en contacto con el parásito. Así la incidencia y el nivel de infección de muchas especies de parásitos cambian y se incrementan con la edad del hospedero. Sin embargo, los cambios en la edad, frecuentemente también significan cambios en la estructura, comportamiento o dieta y por lo tanto cambios en la probabilidad de infectarse.

Sin embargo, tanto en *H. bimaculata* como en *P. sphenops* no podemos sugerir lo que plantea Kennedy (1975) debido a que no se encontró relación entre la talla y la cantidad de metacercarias en las branquias y por lo tanto consideramos que las probabilidades de la infección en las distintas tallas de los peces son muy diferentes, siendo además necesario realizar más estudios sobre esta relación.

iii. Infecciones experimentales en anfibios

En 1948 Chen realizó infecciones experimentales en varias ranas adultas de *Rana limnocharis*, en las que la infección fue negativa, indicando que posiblemente los renacuajos, más que los adultos de los anuros, eran susceptibles a la infección. Así llevó al cabo infecciones en solo dos renacuajos, sin precisar a qué especie pertenecían y en uno de ellos encontró una metacercaria de *C. formosanus* en la pared del intestino, siendo este el único trabajo de referencia que permite establecer comparaciones de infecciones experimentales en anuros. Por otro lado los únicos registros de infecciones naturales en anfibios son los realizados por Chen (1942) quien encontró metacercarias de *C. formosanus* en la pared del estómago y los músculos de la rana *Rana limnocharis* y en el sapo *Bufa melanostictus*. En las infecciones experimentales realizadas en los renacuajos de la especie *Spea multiplicata*, no encontramos las metacercarias en los hábitats registrados por este autor.

Chen (1942) menciona que el hecho de encontrar metacercarias de *C. formosanus* en ranas es de considerable importancia. Desde el punto de vista biológico, demuestra que la metacercaria del heterófito, la cual hasta esas fechas se conocía que sólo parasitaba peces en este estado, puede también infectar otros hospederos de un grupo totalmente diferente. El descubrimiento hizo necesario que se modificara la diagnosis de la familia Heterophyidae Odhner, 1914 y la subfamilia Centrocestinae Looss, 1899. Desde el punto de vista de salud pública el hallazgo es de adicional interés debido a que se puede demostrar que cualquier especie de rana comestible, tal como *Rana rugulosa*, puede estar involucrada en la infección en la región de Canton en Hong Kong (Chen, 1942). Nishigori había anteriormente demostrado que esta especie es transferible al hombre, ingiriendo metacercarias del tremátodo (Faust y Nishigori, 1926).

Además Chen (1942), enunció que los únicos peces infectados en la región de Canton son muy pequeños y ordinariamente no son usados como alimento, sin embargo las ranas si son comestibles y pueden estar involucradas como otra posible fuente de infección para el hombre. Asimismo consideró que las ranas son más deliciosas cuando se cocinan "ligeramente" y que por lo tanto se puede fácilmente predecir el peligro potencial, señalando que *Centrocestus* en el hombre quizá pasa desapercibido debido a que los parásitos son muy pequeños y los huevos son muy similares a especies de gusanos comunes en el hombre como *Clonorchis sinensis* o *Heterophyes heterophyes*.

A diferencia de lo que sucede en Canton, en México las especies de peces a las que se ha encontrado parasitadas con *C. formosanus* constituyen la segunda familia (Cyprinidae) de mayor importancia en pesquerías de agua dulce, sin embargo la infección hacia humanos por esta vía es muy difícil, ya que la metacercaria se ha encontrado enquistada únicamente en filamentos branquiales, los cuales no consume el hombre, y no se ha observado en músculo. Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos por nosotros en las infecciones realizadas en los sapos (*Spea multiplicata*) consideramos que este tremátodo es capaz de parasitar cualquier especie de anfibio en México y, que especies de ranas que se consumen comúnmente poco cocidas en algunas regiones del país como la rana toro (*Rana catesbiana*) podrían parasitarse fácilmente por cercarias de este tremátodo, de existir las condiciones para que se dé la infección, constituyendo así una vía potencial de infección para el hombre como lo argumenta Chen (1942) con las especies de ranas que se consumen en Hong Kong.

iv. Infecciones experimentales en ratones y pollos.

El 100% de las hembras de *Mus musculus*, de la cepa CD₁ llegaron a infectarse con metacercarias de 16 y 20 días de edad y el promedio de gusanos recuperados fue del 24.6% (2.4 - 56.8), en tanto que solo el 66.6% de los pollos fueron positivos a la infección y el promedio de gusanos recuperados fue del 5.64% (0 - 21.7). Estos resultados concuerdan con Martin (1958) quien establece que las ratas y ratones de laboratorio son hospederos más favorables, debido a que un gran porcentaje de metacercarias administradas llegaron a desarrollarse en adultos con una mayor cantidad de huevos en el útero, en comparación con aquellos que se desarrollaron en pollos. Sin embargo, por otra parte, Premvati y Pande (1974) mencionan que los hamsters (*Crisetus crisetus*) y los monos rhesus (*Macaca mulata*) actúan como hospederos definitivos más favorables para esta especie en la India. Esto hace recomendable realizar mayor número de experimentos tendientes a determinar el hospedero óptimo y que además tenga una mayor relación con los hospederos definitivos que puedan actuar en la naturaleza.

En la infecciones realizadas en pollos (*Gallus gallus*) se obtuvo una cantidad variable de adultos de cada uno de los hospederos, ya que las metacercarias con las que fueron infectados se encontraban en diferentes etapas de desarrollo debido a que los peces (*Poecilia sphenops*) estuvieron expuestos a infecciones continuas a causa de la presencia constante de caracoles en los arroyos, debiendo considerar además, las condiciones digestivas, fisiológicas e inmunológicas de cada hospedero, así como la viabilidad de los quistes, al igual que lo observado por Arizmendi (1989) en estos hospederos. Sin embargo en las infecciones con ratones también se obtuvo una cantidad muy variable de gusanos adultos (ver Tabla 20) a pesar de que las metacercarias con las que se infestaron estos, tenían igual edad y provenían de la misma especie de hospedero experimental, asimismo los ratones pertenecían a la misma cepa, sexo, grupo de edad y peso, de tal modo que podemos considerar que la cantidad de adultos recobrados depende únicamente de la susceptibilidad y condición fisiológica e inmunológica de cada individuo (hospedero). De la misma forma Premvati y Pande (1974) argumentan que la tasa de recuperación de adultos de *C. formosanus* obedece solo a disponibilidad y susceptibilidad del hospedero. En otros estudios se ha observado que el establecimiento de los parásitos, la sobrevivencia y la fecundidad están afectados por factores relacionados únicamente con el hospedero, como la susceptibilidad, la cepa genética y la edad (Huffman, Sabol y Fried, 1991).

En las infecciones severas con 342 y 444 metacercarias, los pollos se murieron a los 5 y 9 días postinfección, sin embargo no podemos considerar que esta cantidad de metacercarias sea letal para estos hospederos debido a que no realizamos un análisis minucioso (autopsia) para argumentarlo. Por otra parte, en los pollos en los que se obtuvo igual número de adultos después de 5 y 7 días postinfección y en los de mayor número de adultos recobrados después de 5 y 15 días postinfección, se observó también que las metacercarias administradas estaban en diferentes etapas de desarrollo y los hospederos tenían diferente condición fisiológica e inmunológica.

Al comparar la localización de los gusanos adultos en pollos y ratones de laboratorio concuerda ampliamente con los resultados obtenidos por Martin (1958) en estos mismos hospederos.

Con respecto a la observación realizada por Arizmendi (1989) de que en los ratones infectados experimentalmente con metacercarias de 25 días de edad provenientes de *Ctenopharyngodon idellus* (hospedero que resultó muerto accidentalmente a los 25 días de haber sido infectado) no se recuperaron adultos, argumentando que este tiempo no corresponde al mínimo requerido para la maduración de las metacercarias de *C. formosanus*, el cual es de 30 a 40 días de acuerdo con Yamaguti (1971), no concuerda con nuestros resultados ni con los de Chen y Tung (1990), ya que nosotros encontramos que la metacercaria es madura e infectiva a partir de los 16 días de edad a una temperatura de 25 °C, en el mismo hospedero (*Mus musculus*) y Chen y Tung (1990) registran que esto sucede a partir de los 21 días a una temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$. Asimismo Chen (1948) observa que es madura a partir de los 28 días y Nishigori (1924) lo observa que es a partir de los 18 a 21 días.

En relación a otros trabajos, Nishigori (1924), Chen (1948), Yamaguti (1971) y Arizmendi (1989) no mencionan las temperaturas en las cuales se mantuvieron a los peces, por lo que comparando los resultados obtenidos en este trabajo con los de Chen y Tung (1990), la edad a la cual la metacercaria es infectiva depende en gran medida de la temperatura a la cual se mantiene el segundo hospedero intermediario y es evidente que este factor es de gran importancia para la maduración de esta fase (Faust y Nishigori, 1926; Anderson, 1982), siendo necesario reforzar esta aseveración cuando contemos con los elementos suficientes para hacer tal comparación.

Arizmendi (1989) menciona que los ratones revisados 18 días después de haber sido infectados no resultan positivos debido probablemente a que este período es demasiado prolongado para la sobrevivencia de los tremátodos, sin embargo, Chen (1942) en el mismo hospedero recuperó cuatro y 31 adultos grávidos después de 24 y 26 días de infección, respectivamente y Martin (1958) recuperó 25 gusanos después de 29 días, en tanto que en otros hospederos (pollos, conejos, hamsters, cachorros de perros,) se han recuperado gusanos adultos de esta especie después de 20, 45, 52 y 58 días (Chen, 1942; Pande y Shukha, 1972; Premvati y Pande, 1974), por lo que el argumento de Arizmendi (1989) no puede ser concluyente y resulta necesario realizar un mayor número de experimentos tendientes a determinar el período de sobrevivencia del parásito en hospederos experimentales.

v. Hospedero definitivo natural.

La localización de los gusanos adultos en la "garcita verde" *Butorides striatus*, difiere de lo encontrado en infecciones experimentales en ratones y pollos, ya que en la garza ocuparon casi toda la longitud del intestino, sin embargo la mayoría de los gusanos se encontraron al igual que en los ratones y pollos en la primera parte del intestino. El hecho de que la distribución espacial de gusanos adultos en el intestino de la garza fuera mayor se debe a que encontramos mayor cantidad de gusanos en esta, que en las infecciones experimentales. Este efecto es muy frecuente en los parásitos y puede ser producto del amontonamiento "crowding" de los gusanos facilitado por alguna forma de competencia intraespecífica (Huffman y Fried, 1990).

Es importante mencionar que a nivel mundial el registro de *C. formosanus* en aves solo se encuentra en representantes de la familia Ardeidae y Tresquiornitidae (Orden: Ciconiiformes), sin embargo las infecciones experimentales en pollos y patos son exitosas, lo que podría indicar que existe una baja especificidad hospedatoria del heterófito en la naturaleza en garzas y en representantes afines a esta familia de aves.

Butorides striatus (Ardeidae) constituye el primer registro de hospedero definitivo natural de *C. formosanus* para México y para el mundo, sin embargo creemos que esta garza no solo actúa como hospedero definitivo de este tremátodo en la localidad de "Las Estacas", sino además otras especies como *Ardea* spp., *Egretta* spp., *Nycticorax nycticorax*, *Ixobrychus exilis* y *Bubulcus ibis*, las cuales se encuentran presentes en la región y han sido registradas como hospederos definitivos del heterófito en otras países. Además es probable que las aves migratorias como *Nycticorax nycticorax* están ayudando a la dispersión del parásito en otras localidades del Estado de Morelos. Sin embargo la captura de estas aves es muy difícil en la zona debido a la restricción que hay de la caza y la baja densidad que pudimos observar. A pesar de esto y debido a que el número de gusanos adultos que fueron recuperados de la "garcita verde" es considerable, nos permite suponer que la transmisión del parásito hacia el hospedero definitivo es exitosa en las localidades de estudio.

8. DISCUSION GENERAL

A continuación se desarrolla una discusión breve de los factores encontrados a lo largo de este estudio, que contribuyen a la dispersión y transmisión de *Centrocestus formosanus* en el estado de Morelos, México, en virtud de que al final de cada capítulo se incluye la discusión correspondiente en forma detallada.

A partir del estudio de la quetotaxia de las cercarias emergidas de poblaciones naturales de *Melanoides tuberculata* Müller, 1774, se confirma en México la presencia de *Centrocestus formosanus* Nishigori, 1924 (Price, 1932), de origen asiático. El empleo del patrón de papilas nerviosas en las cercarias demostró ser un método práctico, económico y de gran utilidad por su importancia filogenética y taxonómica, además de que permitió una identificación rápida del parásito.

Se considera que la introducción de este tremátodo a nuestro país se realizó mediante caracoles (*M. tuberculata*) infectados, los cuales son los primeros hospederos intermediarios, contrariamente a lo que se había argumentado con anterioridad (López-Jiménez, 1987a) en relación a que el parásito había sido introducido en 1979 junto con reproductores de la "carpa negra" (*Mylopharyngodon piceus*) provenientes de Shangai. Si esto último fuera cierto, habría que asumir tácitamente la existencia de hospederos (primeros, segundos intermediarios y definitivos) potenciales preexistentes, necesarios para completar su ciclo de vida exitosamente y establecerse permanentemente en el área. De acuerdo con las observaciones de campo en zonas contiguas al Centro Piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo (donde se registró por primera vez al heterófito), se ha observado la presencia de varias aves (Ardeidae) que pueden actuar como hospederos definitivos y que han sido señaladas en otros países (Chen, 1942; Martín, 1958; Premavti y Pande, 1974 y Yanohara, 1985) y confirmado en este estudio en el Estado de Morelos. No obstante, resulta poco probable que alguna de estas aves haya consumido las "carpas negras" de 1.5 metros (vivas o muertas). Además, este ciprínido nunca ha sido registrado de forma autóctona como segundo hospedero intermediario de *C. formosanus*.

Aun considerando la existencia previa del prosobranquio en Tezontepec, Hidalgo, cientos de caracoles *M. tuberculata* fueron introducidos simultáneamente como alimento del ciprínido malacófago (López-Jiménez, *com. pers.*), lo cual nos permite disentir con la hipótesis referida en anteriormente y consideramos que el parásito arribó en estado de esporocisto o redia. La rápida colonización hacia otros cultivos de carpas —donde cinco especies fueron introducidas desde 1965 para ser cultivadas— permitió la emergencia de la cercaria y la invasión de los filamentos branquiales de los peces para, como consecuencia, facilitar su posterior desarrollo.

Como ya se ha establecido, *M. tuberculata* ha demostrado su capacidad de colonizar rápida y densamente muchos tipos de habitats (Pointier, 1989a). En México, esta especie fue colectada por primera vez en las proximidades de la ciudad de Veracruz por Abbot (1973), quien relacionó su presencia con el rápido patrón de dispersión hacia el sur, desde el sureste de los Estados Unidos de América hasta Centro y Sudamérica. Cabe mencionar que, a pesar

de su actual distribución, dicha especie nunca ha sido registrada como primer hospedero de *C. formosanus* en otro país neotropical. Del mismo modo, es improbable que la presencia de este heterófito en México (en los estados de Hidalgo, Morelos, Veracruz, Michoacán y Tabasco) esté directa y causalmente asociada con introducciones previas accidentales de moluscos, migraciones y/o patrones de distribución del tíaído.

Es probable que *M. tuberculata* haya llegado al estado de Morelos debido a su rápida expansión hacia el sur. Sin embargo, consideramos que la presencia de *C. formosanus* en las localidades de estudio del estado de Morelos, está íntimamente relacionada con la dispersión de huevos por aves ictiófagas (posiblemente de ardeidos naturalmente infectados en Tezontepec, Hgo.), cuya ruta migratoria incluye seguramente los estados de Hidalgo y Morelos. El papel de otras "garzas", "egretas" y "aves toro" (*Nycticorax nycticorax*, *Ardea* spp., *Egretta* spp., *Bubulcus ibis* y *Ixobrychus exilis*, entre otros) como hospederos definitivos naturales en México es presumible; sin embargo, es necesario que se realicen más estudios a este respecto.

La distribución del tíaído, aunada a la extensiva trasplatación de carpas a diferentes ambientes acuáticos (centros piscícolas, cultivos rústicos, presas, ríos, lagos, etc.) y la baja especificidad exhibida por *C. formosanus* dentro de sus segundos hospederos intermediarios y definitivos, así como la falta de control sanitario, son factores que facilitan su dispersión, y por ende, es muy probable que colonice el territorio nacional casi por completo en muy pocos años. Como se estableció anteriormente, la diseminación de huevos por aves migratorias puede jugar un papel importante en la dispersión del parásito. La alta densidad de caracoles en una zona dada puede permitir una invasión masiva de miracidios, así como el incremento en la densidad de estadios infectivos y el reclutamiento de la cercaria en casi cualquier población de peces. De igual forma, podría ocurrir un incremento en la intensidad de la infección en peces (Madhavi y Rukmini, 1991). Finalmente, el establecimiento de las metacercarias dentro del intestino de aves piscívoras y mamíferos carnívoros podría desarrollarse fácilmente en áreas recientemente invadidas.

De acuerdo con lo anterior, es de interés reconocer si *Centrocestus formosanus* puede ser considerado un buen colonizador. McArthur y Wilson (1967) in Kennedy (1994) mencionan que los atributos deseables de un invasor exitoso o un buen colonizador son: poseer una buena habilidad de dispersión (capacita a la especie a cruzar barreras más fácilmente para dispersarse); tener un alto potencial reproductivo (construye una nueva población rápidamente después de una introducción a una nueva localidad); ser hermafrodita o tener reproducción asexual [capacita a la especie a establecer una nueva población con una densidad (propágulo) inicial pequeña, sin embargo las densidades iniciales de los propágulos colonizadores deben ser tales, que la colonia resultante pueda tener un "pool" genético amplio para tener un buen potencial adaptativo] y poseer una amplia especificidad hospedatoria [las especies generalistas pueden ser colonizadores o invasores más exitosos que las especies especialistas]. En tanto, Kennedy (1994) menciona que, de acuerdo a los trabajos de Bauer y Hoffman (1976) y Bauer (1991), se pueden hacer ciertas generalizaciones con respecto a las habilidades de colonización de los parásitos, las cuales son: 1) la habilidad de colonización es inversamente proporcional a la complejidad del ciclo de vida del parásito. Entre más hospederos requiera, es menos probable que sea un buen colonizador, ya que las condiciones necesarias para sobrevivir son más complejas y demandantes y es menos probable que sean reunidas. Así, los parásitos con ciclo de vida directo son invasores más exitosos; 2) si el parásito requiere un

hospedero intermediario, la amplia especificidad a este nivel podría ser una gran ventaja. Los parásitos que utilizan invertebrados cosmopolitas como algunas especies de copépodos, podrían ser colonizadores más exitosos y 3) la probabilidad de una colonización exitosa podría ser directamente proporcional a la similitud de las condiciones bióticas y abióticas que hay entre la localidad fuente y la localidad a ser invadida. Si las condiciones son idénticas, esto es, que los ambientes (factores físico-químicos) sean congruentes, las únicas barreras para la colonización podrían ser las estocásticas. Mientras que las barreras para una invasión exitosa podrían ser: a) las condiciones físico-químicas, especialmente la temperatura del agua y la composición iónica en el nuevo habitat, b) las condiciones bióticas, esto es, los factores asociados a los hospederos: la nueva localidad puede contener hospederos (intermediarios y definitivos) potenciales adecuados, en densidades apropiadas con una correcta ecología, así como una cadena alimentaria y comportamiento alimenticio que permitan la transmisión del parásito. La existencia de densidades iniciales bajas de hospederos puede provocar que la transmisión del parásito decline y que la población llegue a extinguirse y c) los factores y atributos del parásito, incluyen su especificidad y su habilidad para infectar hospederos diferentes a aquellos preferidos, dominando las defensas e inmunidad de los hospederos potenciales. De manera tal que, si el ambiente es compatible y estas tres barreras están "abiertas", entonces hay una alta probabilidad de que el parásito introducido pueda ser capaz de establecerse y colonizar una nueva localidad. Además, el tiempo preciso de la introducción es particularmente importante para determinar la probabilidad de éxito. Muy relacionado al tiempo es el concepto de ventana de transmisión que es el tiempo disponible que tiene un parásito para infectar a uno o más hospederos en su ciclo de vida, p. e. este puede ser un periodo de únicamente dos o tres semanas, cuando el pez susceptible está disponible y los estadios infectivos del parásito sean liberados de su hospedero intermediario y la duración de este periodo puede variar año con año. Las condiciones óptimas para una invasión exitosa son, cuando las ventanas de transmisión están abiertas todo el año o en la mayor parte de éste. Un último factor importante es el estocástico, ya que puede ser un asunto de azar cuando el invasor arriba y éste puede ser un elemento responsable de las fallas de muchas introducciones. Muchos parásitos con potencial para colonizar una nueva localidad, simplemente llegan a ésta por azar, en un tiempo erróneo, en condiciones erróneas, o cuando las ventanas de transmisión son demasiado "estrechas" o están cerradas.

Tomando en cuenta las generalizaciones anteriores, para el caso particular de *Centrocestus formosanus* en México, además de los resultados obtenidos en este trabajo y los recientes registros del parásito en otras localidades del país, podemos considerar que éste posee características que lo hacen un buen colonizador. A continuación se enunciarán los aspectos que, a nuestro juicio, hacen posible dicha consideración:

1) Posee una buena habilidad de dispersión, por una parte la intrínseca o natural del parásito [como es el caso de su cercaria, ya que una gran cantidad de éstas (880 ± 122) es liberada diariamente de cada uno de los caracoles infectados, durante periodos muy extensos que pueden llegar a ser de hasta 16 meses o más, en condiciones silvestres] y por otra parte, aquella que le ofrecen sus hospederos intermediarios secundarios y definitivos, ya que puede ser diseminado e introducido por los movimientos de éstos, p. e. los peces poseen habilidades de dispersión naturales debido a que pueden desplazarse fácilmente a través de los ríos y las aves (ardeidos principalmente) son migratorias, por lo que la dispersión de huevos, a través de ellas es presumible. Sin embargo, si se considerase que los propios mecanismos de dispersión son pobres, un factor importante que podría suplirla sería la antropogenia¹, la cual fue la vía

de introducción del parásito a México. Así, la antropogenia podría ser el factor más importante para la diseminación del parásito, facilitándole cruzar las barreras más rápidamente y propiciando su introducción hacia otras localidades del territorio nacional. Por otra parte, es importante señalar que el lugar (Centro piscícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo) donde se introdujo al parásito por primera vez, resultó ser la ruta más idónea para su dispersión, ya que, como se mencionó anteriormente, este Centro es el principal productor de crías de ciprínidos en México y es el que se encarga del traslado y siembra de carpas a otros cuerpos de agua del país. Por lo tanto, es probable que muchas de las características bióticas (presencia de hospederos potenciales en densidades adecuadas) y abióticas (clima, química del agua, etc.) de las localidades a donde se trasladaron crías infectadas, fueron muy similares a las condiciones del centro piscícola de Tezontepec, lo cual facilitó la invasión del parásito, propiciando el establecimiento y colonización en esas nuevas localidades. Este proceso ha sido demostrado por los altos valores de intensidad y prevalencia registrados en poblaciones de peces silvestres de 13 localidades del país (Arizmendi, 1989; Anónimo, 1990; Salgado Maldonado *et al.*, 1994; Arévalo *et al.* 1994; Caspeta *et al.* 1994; Velázquez *et al.* 1994; Pineda-López *com. pers.* y resultados del presente trabajo);

2) De acuerdo con Kennedy (1994), la habilidad de colonización de los parásitos es inversamente proporcional a la complejidad de su ciclo de vida. Sin embargo, *C. formosanus* tiene un ciclo de vida indirecto, lo que haría suponer que su habilidad es pobre. A pesar de lo anterior, este trematodo es una especie "alogénica"² y compensa lo anterior con el hecho de que es una especie "generalista"³ con respecto a sus segundos hospederos intermediarios y definitivos. Un factor en contra que podría suponerse es que es "especialista"⁴ con respecto a su primer hospedero intermediario (*M. tuberculata*), a pesar de esto, el caracol tiene una amplia distribución (ver Fig. 2), así como una gran adaptabilidad y presenta altas densidades en las localidades donde se distribuye actualmente (Contreras-Arquieta, *com. pers.*). De este modo, el parásito, a pesar de poseer un ciclo de vida indirecto, suple su habilidad colonizadora por los factores asociados a sus hospederos, ya que por un lado, su primer intermediario tiene una dispersión eficiente, con una distribución amplia y es muy abundante en las localidades donde se localiza, y por otro, tiene una baja especificidad hospedatoria en peces, aves y mamíferos, ya que puede infectar una gran variedad de especies de peces de familias muy diferentes (ver Tabla 1), así como mamíferos tan comunes como gatos, perros y ratas, además de diferentes especies de garzas, por lo que la probabilidad de una colonización exitosa en otras localidades de México es muy elevada.

1. Antropogenia: es la acción que se ejerce, por la influencia del hombre, en la introducción o desaparición de especies. 2. Son parásitos cuyo ciclo de vida involucra a peces como hospederos intermediarios y a otros vertebrados como hospederos definitivos, los cuales pueden moverse fácilmente entre localidades. Estos parásitos han demostrado tener una gran habilidad y potencial de colonización, y su dispersión se ve favorecida debido a que sus hospederos definitivos (aves o mamíferos) tienen una mayor vagilidad y habilidad para cruzar barreras terrestres o marinas (Esch *et al.* 1988). 3. Son especies que pueden encontrarse parasitando a un amplio intervalo de hospederos no relacionados filogenéticamente entre sí (Esch y Fernández, 1993). 4. Son especies que normalmente se restringen a una sola especie de hospederos o a un grupo de especies muy relacionadas entre sí (Esch y Fernández, 1993).

3) Las ventanas de transmisión en la localidad de "Las Estacas", permanecen abiertas todo el año o gran parte de éste, ya que hay hospederos potenciales (caracoles, peces y aves) disponibles todo el año y las condiciones climáticas no varían mucho en la región. Además, por tratarse de un "manantial" con características muy homogéneas, las condiciones son propicias para el establecimiento, transmisión y dispersión del parásito durante todo el año. Consecuentemente, los peces a lo largo de todo el año pueden estar parasitándose continuamente, debido a que la emergencia de cercarias de los caracoles también es continua durante todo el año.

A continuación se mencionarán otras características particulares, registradas en las localidades estudiadas, que determinan que los procesos de transmisión y dispersión de *C. formosanus* se faciliten :

A partir de este estudio se reconoce que existen ciertas características fisiológicas y etológicas que facilitan el ciclo de vida, la transmisión y la dispersión de *C. formosanus* en las localidades de estudio. Lo anterior se confirma con los recientes hallazgos del parásito en poblaciones de peces silvestres y de cultivo en otros estados de nuestro país (Salgado-Maldonado, *et al.* 1994; Almeyda-Artigas, *et al.* 1994; Arévalo, *et al.* 1994; Velázquez, *et al.* 1994; Caspeta, 1994; Pineda-López, *com. pers.*).

La transmisión y dispersión de *C. formosanus* es muy eficiente en las localidades de estudio, debido a que existe una gran cantidad de gusanos adultos en los hospederos definitivos en forma natural e igualmente existe una gran cantidad de peces parasitados con una elevada cantidad de metacercarias. Asimismo, la prevalencia, intensidad promedio y abundancia de la infección de *C. formosanus* en peces son muy elevadas, a pesar de que la prevalencia de la infección en caracoles es muy baja, siendo las dos primeras características las que demuestran que el proceso de transmisión de *C. formosanus* de caracol a pez es muy eficaz. De pez a ave es obvio debido a la gran cantidad de peces parasitados, lo que consecuentemente incrementa la intensidad de infección en las aves.

Por lo tanto, dadas esas condiciones, los factores que facilitan la transmisión y dispersión del heterófito en los ambientes estudiados son los siguientes: una gran cantidad de cercarias (880 ± 122) es liberada diariamente de cada uno de los caracoles infectados, durante periodos muy extensos que pueden llegar hasta 16 meses o más en condiciones naturales. Adicionalmente, el patrón de emergencia de las cercarias de *C. formosanus* es de tipo circadiano, en el que coinciden el periodo de máxima emisión de cercarias y las horas de mayor actividad de los peces a los cuales va infectar. Esto hace suponer que los hábitos y comportamiento de ambos hospederos (caracol y pez) hacen eficiente el encuentro de las cercarias con el pez, penetrando pasivamente a los peces por medio de las corrientes respiratorias. Por otra parte, las temperaturas de la región no varían considerablemente, propiciando una liberación de cercarias durante todo el año. Asimismo, la reproducción de caracoles *M. tuberculata* se lleva al cabo a lo largo de todo el año, permitiendo la presencia de tíaridos disponibles para ser infectados, durante todas las épocas del año. Debido a esto, el periodo de las infecciones patentes en los caracoles es muy prolongado en las localidades de estudio, en comparación con otras zonas del mundo donde se presentan ciclos estacionales de infección, debido a las temperaturas que prevalecen (Madhavi y Rukmini, 1991).

Otro factor importante que favorece la transmisión del tremátodo es el periodo durante el cual el caracol es potencialmente susceptible a la infección, el cual puede ser bastante considerable, dada la alta longevidad del caracol. Dicho periodo puede iniciar desde los dos meses de vida hasta los cuatro años, aproximadamente, de acuerdo con la curva de crecimiento obtenida del prosobranquio. Por último, las altas densidades poblacionales de los caracoles se ven muy favorecidas por ciertos factores como la disponibilidad de alimento, las temperaturas que se presentan en las localidades de estudio y la homogeneidad del ambiente. La alta densidad poblacional propicia una prevalencia o susceptibilidad de infección mayor hacia los peces. De igual forma, la alta capacidad de dispersión del caracol y su elevada capacidad competitiva con la malacofauna regional, ha propiciado que este tórax se encuentre ya distribuido en más de 13 estados de nuestro país (Contreras-Arquieta *et al.* 1991), sin que hasta la fecha existan medidas eficaces de control en centros piscícolas.

Por otro lado, resultó obvio que no existe una especificidad hospedatoria en segundos intermediarios debido a que, tanto poblaciones de peces silvestres como en cultivo, se encontraron parasitadas sin haber registrado metacercarias muertas ni quistes calcificados, con elevados valores de prevalencia e intensidad promedio en cada una de las especies. Asimismo, se determinó experimentalmente que la cercaria es capaz de infectar a algunas de las principales especies de cultivo comercial en México y a algunas de importancia ornamental. Esto, aunado al traslado o siembra de crías de ciprínidos y peces de ornato infectados, a otros cuerpos de agua o centros piscícolas — que constituyen una práctica común en México—, potencia la dispersión e introducción del parásito a otras regiones. Además, se determinó, por primera vez en México, que los anfibios son altamente susceptibles a la infección por cercarias de *C. formosanus*. En infecciones experimentales con hospederos definitivos, se demostró que la metacercaria es infectiva en periodos muy cortos (16 días) y que los adultos grávidos se presentan a los 2 ó 3 días postinfección con una gran cantidad de huevos, con una baja especificidad en hospederos definitivos.

Es de fundamental importancia considerar el registro, por primera vez en México, del hospedero definitivo natural de *Centrocestus formosanus*: *Butorides striatus* (Ardeidae), ya que constituye, además, un nuevo registro de hospedero a nivel mundial. Sin embargo, creemos que no sólo la "garcita verde" actúa como hospedero definitivo en la región, sino que también lo hacen otras especies, como se mencionó anteriormente, que se encuentran registradas en el estado de Morelos y que han sido señaladas como hospederos definitivos en otros países del mundo.

Cabe señalar la importancia de los estudios de transmisión y dispersión de los tremátodos, indispensables para el mejor conocimiento de la biología poblacional de los parásitos y cuyos beneficios a la postre redundarán en el control de parásitos que afectan a organismos de importancia comercial, como es el caso de los peces.

9. CONCLUSIONES

1.- Se confirma la presencia de *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924), Price, 1932 (Trematoda: Heterophyidae) en México, por medio del estudio quetotáxico de su cercaria liberada de poblaciones silvestres de *Melanooides tuberculata* Müller, 1774 (Gastropoda: Thiariidae).

2.- Se considera que la introducción de este tremátodo a México se realizó mediante caracoles (*M. tuberculata*) infectados con esporocistos o redías, que se introdujeron simultáneamente como fuente de alimento de la "carpa negra" *Mylopharyngodon piceus* en 1979, en el centro piscícola de Tezontepec, Hidalgo. El hallazgo del parásito en el Estado de Morelos se debe a la dispersión de huevos por algunos de sus hospederos definitivos (principalmente aves representantes de la familia Ardeidae), los cuales cubren en su ruta migratoria ambos estados.

3.- El patrón de emergencia de la cercaria de *C. formosanus* liberada de *M. tuberculata* es de tipo circadiano. La acrofase de emisión de las cercarias coincide con el periodo de mayor actividad de los peces a los cuales va a infectar. Este factor, conjuntamente con las 880 cercarias liberadas diariamente, en promedio, por caracol parasitado, durante periodos de 16 meses o más, es lo que determinan las altas prevalencias e intensidades promedio registradas en los peces. De esta manera se asegura la transmisión y la continuación del ciclo de vida del parásito.

4.- Las densidades de *M. tuberculata* más altas corresponden al substrato limoso (lodo), mientras que la presencia de arena o grava está asociada con bajas densidades. Los factores que regulan la distribución de *M. tuberculata* son el tipo de substrato y la velocidad de corriente. El haber encontrado una prevalencia mayor en los sitios de mayor densidad de caracoles, permite suponer que existe una mayor probabilidad de transmisión del parásito hacia el segundo hospedero intermediario y que el substrato lodoso (limo) favorece las altas densidades de los caracoles, así como la prevalencia de la infección en los mismos. Sin embargo, debido a la capacidad de desplazamiento de *M. tuberculata* los caracoles infectados se pueden encontrar en diferentes substratos, siendo posible que la infección hacia el segundo hospedero intermediario se lleve a cabo en cualquier tipo de substrato, lo cual se ve favorecido por la gran movilidad de los peces.

5.- La estructura poblacional de *M. tuberculata* en las localidades de estudio, se encuentra en su mayor parte compuesta por individuos pequeños y la infección por *C. formosanus* está distribuida en las tallas grandes, mayores a 11.7 mm, lo cual explica las bajas prevalencias registradas en los caracoles.

6.- La prevalencia de infección en los caracoles *M. tuberculata* varía de acuerdo a su talla y/o edad. A partir de una edad de dos meses, con una talla de 11.7 mm, los caracoles pueden presentar infección por cercarias de *C. formosanus*. Las prevalencias más altas corresponden a las tallas de 19 a 25 mm, con una edad de 4 a 6 meses y las máximas tallas parasitadas (31 a 42.8 mm) tienen una edad de 9 a 14 meses. Estos datos ponen en evidencia que la susceptibilidad de la infección por *C. formosanus* en *M. tuberculata* depende de la edad, densidad y comportamiento del tíarido y el miracidio.

7.- Aun cuando la tasa de crecimiento de *M. tuberculata* es lenta en las localidades de estudio, el caracol obtiene la talla mínima más rápidamente para infectarse y en consecuencia muestra una infección en menor tiempo, en comparación con otros países. La longevidad estimada del tíarido en el manantial "Las Estacas" es de 5 años.

8.- Las infecciones con cercarias de *C. formosanus* en *M. tuberculata* se presentan a lo largo de todo el año, lo cual permite un continuo reclutamiento de las cercarias en los segundos hospederos intermediarios. Este hecho, aunado a la alta longevidad de las metacercarias en los peces, explica las elevadas prevalencias e intensidades promedio de la infección en condiciones silvestres.

9.- Las especies *Xiphophorus maculatus*, *Poecilia sphenops*, *P. latipinna*, y *Heterandria bimaculata* (Pisces), constituyen nuevos registros de hospedero para *C. formosanus* en el estado de Morelos, México y a nivel mundial.

10.- El patrón de distribución de las metacercarias de *C. formosanus* sobre los arcos branquiales de *Carassius auratus* y *Oreochromis niloticus* obedece a tres factores: a) las corrientes respiratorias, b) el comportamiento del parásito y c) el tamaño de cada arco branquial.

11.- Al no haberse encontrado relación entre la talla de los peces (*H. bimaculata* y *P. sphenops*) y la cantidad de metacercarias en las branquias, se concluye que la intensidad de la infección es independiente de la talla de los peces.

12.- La diferencia de susceptibilidad a la infección con cercarias entre la "carpa dorada" (*Carassius auratus*) y la "tilapia" (*Oreochromis niloticus*), se debe a la diferencia de grosor de los filamentos branquiales entre ambas y a que el parásito está mejor adaptado a las carpas por ser, al igual que éstas, originario del sureste de Asia, mientras que el cíclido es de origen africano, continente en el que no existe registro alguno del heterófilo.

13.- La metacercaria de *C. formosanus* exhibe una considerable progénesis en el segundo hospedero intermediario, portando casi todas las características del adulto, de manera que la producción de huevos comienza a los 2 ó 3 días después de la ingestión y de su establecimiento en el intestino del hospedero definitivo.

14.- Las metacercarias de *C. formosanus* son infectivas para el hospedero definitivo a partir de los 16 días de enquistamiento, en el segundo hospedero intermediario, a una temperatura de 25°C.

15.- La alta capacidad de infección que mostraron las cercarias de *C. formosanus* en los sapos —*Spea multiplicata*— sugiere que este tremátodo es capaz de parasitar cualquier especie de anfibio en México, por lo que algunas especies de ranas —que se consumen semi-cocidas comúnmente en algunas regiones del país, como la rana toro (*Rana catesbiana*)—, podrían parasitarse fácilmente, constituyendo así una vía potencial de infección para el hombre.

16.- Se registra por primera vez en México a *Butorides striatus* (Aves: Ardeidae) como el hospedero definitivo silvestre de *Centrocestus formosanus*, el cual constituye, además, el primer registro de este hospedero a nivel mundial.

17.- La baja especificidad hospedatoria de *C. formosanus* en sus segundos intermediarios (peces) y la rápida maduración en sus hospederos definitivos (aves y mamíferos), en conjunción con la densidad, la distribución, la longevidad y la gran capacidad de dispersión de su primer hospedero intermediario (*M. tuberculata*), son factores que propician la dispersión del parásito a otras localidades, convirtiendo a esta parasitosis en un problema sanitario potencial, tanto para peces de importancia comercial, como de ornato. Lo anterior, propiciado además por el traslado o siembra de crías de ciprínidos y peces de ornato infectados a otros cuerpos de agua o centros piscícolas del país, ha favorecido subsecuentemente una diseminación más amplia del parásito a través de México.

10. LITERATURA CITADA

- ABBOTT, R. T. 1973. Spread of *Melanoïdes tuberculata*. *Nautilus*, **87**(1): 29.
- AGUILERA, H. P. y NORIEGA, C. P. 1986. ¿ *Qué es la acuicultura* ?. Secretaría de Pesca, México. 57 pp.
- ALMEYDA-ARTIGAS, R. J. 1988. Ciclo de vida experimental y ritmo circadiano de emergencia de la cercaria de *Plagiorchis maculosus* Rudolphi, 1802 (Trematoda: Plagiorchiidae). *Tesis Profesional, Fac. Ciencias, U.N.A.M.* 172 pp.
- ALMEYDA-ARTIGAS, R. J.; ACOSTA, H. V. A., ALONZO, D. L., CASTAÑEDA, S. M, Y ZARATE, R. V. M. 1994. Nuevos registros helmintológicos en vertebrados de la parte baja de la cuenca del Papaloapan, Veracruz. I. Pisces. *Memorias del IV Congreso Nacional de Ictiología*, Morelia, Michoacán, México. (Resumen 137) Noviembre 1994.
- AMAYA, H. D. 1990. Estudio taxonómico de algunos tremátodos y nemátodos parásitos de aves de Teapa, Tabasco. , México. *Tesis Profesional, Fac. Ciencias, U.N.A.M.* 110 pp.
- ANDERSON, 1982. Epidemiology. In: Cox. F. E. *Modern Parasitology*. Blackwell Scientific Pub., Oxford. 345 pp.
- AMERICAN ORNITHOLOGIST' UNION, 1983. *Check-list of North American Birds. The Committee on classification and nomenclature of the American Ornithologists'*. The American Ornithologists' Union. , 6th. ed., 811 pp.
- ANONIMO, 1980. *Carta hidrológica de aguas superficiales-Cuernavaca (Tlaltizapan-Zacatepec)*. Escala: 1:250,000. Sec. Agric. Rec. Hidr. (SARH), México.
- ANONIMO, 1988. *Los municipios de Morelos*. Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Morelos. 134 pp.
- ANONIMO, 1990. *Informe del proyecto: sanidad integral del centro acuícola de Tezontepec de Aldama, Hgo.* Secretaría de Pesca-Universidad Nacional Autónoma de México.
- ARÉVALO, G. A., ALVAREZ, R. M. T. y LAMOTHE, A. R. 1994. Dinámica poblacional de la helmintofauna de *Chirostoma humboldtianum* (Pisces: Atherinidae) de la laguna de Zacapu Michoacán, México. *Memorias del IV Congreso Nacional de Ictiología*, Morelia, Michoacán, México. (Resumen 139) Noviembre 1994.
- ARIZMENDI, E. M. A., 1989. Contribución al conocimiento del ciclo de vida de *Centrocestus formosanus* Nishigori, 1924 en la carpa *Mylopharyngodon piceus* de Tezontepec de Aldama, Hgo., México. *Tesis Profesional, Fac. Ciencias, U.N.A.M.*, 51 pp.

- ARIZMENDI, E. M. A., 1992. Descripción de algunas etapas larvarias y de la fase adulta de *Centrocestus formosanus* de Tezontepec de Aldama, Hidalgo. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autn. México, Ser. Zool.* **63**(1):1-11.
- BATSCHELET, E. 1981. *Circular Statistics in Biology*. Academic Press., London. 371pp.
- BAYSSADE-DUFOUR, CH.; ALBARET, J. L. et OW-YANG, C. K. 1982. Sensilles et protonéphridies des cercaires de *Centrocestus formosanus* et *Centrocestus* sp. (Centrocestinae, Heterophyidae). *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **57** (6): 565-572.
- BAYSSADE-DUFOUR, CH., CABARET, J., ALBARET, J. L. NGENDAHAYO, L., CARRAT, C. and CHABAUD, A. G. 1989a. Identification of *Schistosoma haematobium*, *S. bovis* and *S. curassoni* by multivariate analysis of cercarial papillae indices. *Int. J. Parasitol.*, **19**: 839-846.
- BAYSSADE-DUFOUR, CH., GRABDA-KAZUBSKA, B. and CHABAUD, A. G. 1989b. Nomenclature proposée pour la chétotaxie des cercaires de Plagiorchiata. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **64**(6): 426-432.
- BAYSSADE-DUFOUR, CH. and OW-YANG, C. K. 1975. The sensory receptors of two cercariae from Malaysia: *Trichobilharzia brevis* (Schistosomatidae) and *Haplorchis pumilio* (Heterophyidae). *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth.*, **6** (3): 338-342.
- BOCK, D. 1983. The chetotaxy of the cercaria of *Opisthioglyphe locellus* Kossack, 1910 (Trematoda, Plagiorchiidae). *Z. Parasitenkd.*, **69**: 35-39.
- BOCK, D. 1984. The life cycle of *Plagiorchis spec. 1*, a species of the *Plagiorchis elegans* group (Trematoda, Plagiorchiidae). *Z. Parasitenkd.*, **70**: 359-373.
- BOCK, D. and JANSEN, O. 1987. The life cycle of *Plagiorchis maculosus* (Rudolphi, 1802) Braun, 1902 (Trematoda: Plagiorchiidae), a parasite of swallows (Hirundinidae). *Syst. Parasitol.*, **9**: 203-211.
- BURCH, J. B. 1980. *North American Freshwater Snails Species List, Ranges and Illustrations*. Society for Experimental and Descriptive Malacology. pp.
- BURCH, J. B. 1982. *Freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of North America*. (Environmental monitoring and support laboratory office of research and development). U. S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio. 249 pp.
- BUŠTA, 1987. Chaetotaxy of the cercaria of *Plagiorchis maculosus* (Rudolphi, 1802) Braun, 1902 (Trematoda: Plagiorchiidae). *Folia Parasitol.*, **34**: 219-224.
- CABLE, R. M. 1972. Behaviour of digenetic trematodes: 1 - 18 pp. En: *Behavioural aspects of parasite transmission*. Canning, E. U. and Wright, C. A. (eds.) Acad. Press. Linnean Soc. of London, 219 pp.

- CASPETA, M. J. M. 1994. Hallazgo de *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) en *Ilyodon withei* (Goodeidae) en el estado de Morelos. *Memorias del IV Congreso Nacional de Ictiología*, Morelia, Michoacán, México. (Resumen 142) Noviembre 1994.
- CASTAÑEDA, A. 1994. Comunicación personal. Jefe del Centro piscícola de Zacatepec, Morelos, México.
- COMBES, C. 1990. Where Do Human Schistosomes Come From? An Evolutionary Approach. *Trends in Ecol. and Evol.* 5(10): 334-337.
- COMBES, C. 1991 a. *Evolution of parasite life cycles.* in Toft, A. C., Aeschlimann, A. and Bolis, L. (eds.). *Parasite-Host Associations. Coexistence or Conflict.* Oxford Science Publications. pp. (62-82).
- COMBES, C. 1991 b. Ethological aspects of parasite transmission. *Am. Nat.*, 138(4): 866-880.
- COMBES, C., BAYSSADE-DUFOUR, C. et CASSONE, J. 1976. Sur l'impregnation et le montage des cercaries pour l'étude chetotaxique. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 51(3): 399-400.
- COMBES, C. et THÉRON, A. 1977. Rythmes d'émergence des cercaires de trematodes et leur intérêt dans l'infestation de l'homme et des animaux. En: *Excerta Parasitológica en memoria del Dr. Eduardo Caballero y Caballero. Instituto de Biología. U.N.A.M. Publ. Especiales.* No. 4: 141-150.
- CONTRERAS-ARQUIETA, A., GUAJARDO-MARTINEZ, G. y CONTRERAS-BALDERAS, S. 1991. *Thiara (Melanoides) tuberculata* Müller, 1774 (Gastropoda: Thiariidae) introducida en México y su probable impacto ecológico. *Memorias del XI Congreso Nacional de Zoología.* Mérida, Yuc., México.
- CHASSÉ J. L. AND THÉRON, A. 1988. An example of circular statistics in chronobiological studies: analysis of polymorphism in the emergence rhythms of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Chronobiology Internat.*, 5(4):433-439.
- CHEN, H. T. 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.
- CHEN, H. T. 1948. Some early larval stages of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924). *Lignan Sc. J.*, 22(1-4): 93-104.
- CHEN, S. C. and TUNG, M. C. 1990. Infestation of cercaria and metacercaria of *Centrocestus formosanus* in loach, mouse and duckling. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.*, 16: 153-162.
- DUSSAULT, V. G. AND KRAMER, D. L. 1981. Food and feeding behavior of the guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces:Poeciliidae). *Can. J. Zool.*, 59: 684-701.

- ESCÁRCEGA, R. S. 1990. Panorama actual de la reproducción inducida de ciprínidos en China. *Acuavisión. Rev. Mex. de Acuicultura*, Año IV (18): 11-14.
- ESCH, G. W. and FERNANDEZ, J. C. 1993. *A functional biology of parasitism. Ecological and evolutionary implications*. Chapman and Hall. London. 337 pp.
- ESCH, G. W., KENNEDY, C. R., BUSH, A. O. and AHO, J. M. 1988. Patterns in helminth communities of freshwater fish in Great Britain: alternative strategies for colonization. *Parasitol.*, **96**: 519-532.
- ESPINOSA, P. H., GASPAR, D. M. T. y FUENTES, M. P. 1993. *Listados faunísticos de México. III. Los peces dulceaculcolas mexicanos*. Inst. Biol., Universidad Nacional Autónoma de México. 99 pp.
- FAHMY, M. A., KHALIFA, R. and MAKHLOUF, L. M. 1986. Studies on heterophyid cercariae from Assiut Province. II The life cycle of *Haplorchis yokowai* (Katsuta, 1936) (Trematoda=Heterophyidae). *Assiut Veterinary Med. J.*, **16**(31): 119-132.
- FAUST, E. C. and NISHIGORI, M. 1926. The life cycles of the two new species of Heterophyidae, parasitic in mammals and birds. *J. Parasitol.*, **13**(2): 91-128.
- FAUST, E., RUSSELL, P. and JUNG, R. 1974. *Parasitología Clínica*. Salvat Eds., Barcelona., 88 pp.
- FERRER, J. R., POINTIER, J. P. THÉRON, A. and MONÉ, H. 1991. Influence of the nontarget mollusc *Marisa cornuarietis* on the hourly cercarial production of *Schistosoma mansoni* from *Biomphalaria glabrata*. *J. Parasitol.*, **77**(5): 798-800.
- FREITAS, J. R., BEDE, L. C., MARCO JUNIOR, P., DE-ROCHA, L. A. and SANTOS, M. B. L. 1987. Population dynamics of aquatic snails in Pampulha reservoir. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **82** (suppl. 4): 299-305.
- GIOVANNOLA, A. 1936. Some observations on the emission of cercariae of *Schistosoma mansoni* (Trematoda:Schistosomatidae) from *Australorbis glabratus*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* **3**(1): 60-61.
- GRABDA-KAZUBSKA and MOCZÓN, 1981. Nervous system and chaetotaxy in the cercaria of *Haplometra cylindracea* (Zeder, 1800) (Digenea, Plagiorchiidae). *Z. Parasitenkd.*, **65**: 53-61.
- HELLER, J. and FARSTAY, V. 1989. A field method to separate males of females of the freshwater snail *Melanooides tuberculata*. *J. Moll. Stud.*, **55**: 427-429.
- HEPHER, B. y PRUGININ, Y. 1991. *Cultivo de peces comerciales. Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel*. Limusa, México. 316 pp.

- HODGSON, A. N. and HELLER, F. 1990. Spermatogenesis and sperm structure of the normally parthenogenetic freshwater snail *Melanooides tuberculata*. *Israel J. Zool.*, **37**: 31-50.
- HUFFMAN, J. E. and FRIED, B. 1990. *Echinostoma* and Echinostomiasis. *Adv. in Parasitol.*, **29**: 215-269.
- HUFFMAN, J. E., SABOL, Ch. and FRIED, B. 1991. Infectivity, growth, survival, and pathogenicity of *Zygoctylo lunata* (Trematoda) in experimental rodent hosts. *J. Parasitol.*, **77**(2): 280-284.
- ISMAIL, N. S. and ABDEL-HAFEZ, S. K. 1987. Seasonal variation in infection rates of *Melanooides tuberculata* (Müller) snails with larval trematodes in Azraq, Jordan. *Helminthologia.*, **24**(4): 293-301.
- ISMAIL, N. S. and ARIF, M. S. A. 1991. Larval trematodes of *Melanooides tuberculatus* (Müller, 1774) (Gastropoda: Prosobranchia) in a brackish spring, United Arab Emirates. *Jpn. J. Parasitol.*, **40**(2): 157-169.
- ISMAIL, N. S., NASHER, A. K., and AL-MADANI, A. K. 1988. Larval trematodes of some freshwater snails from Asir Province, Saudi Arabia. *Jap. J. Parasitol.* **37** (3): 169-177.
- KENNEDY, C. R. 1975. *Ecological Animal Parasitology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 163 pp.
- KENNEDY, C. R. 1994. The ecology of introductions. *In Parasitic diseases of fish* (eds.) pp.189- 208.
- KRAMER, D. L. 1983. The evolutionary ecology of respiratory mode in fishes: an analysis based on the costs of breathing. *Env. Biol. Fish.*, **9**(2): 145-158.
- KRAMER, D. L. 1987. Dissolved oxygen and fish behavior. *Env. Biol. Fish.*, **18**(2): 81-92.
- KRAMER, D. L. and MEHEGAN, J. P. 1981. Aquatic surface respiration, an adaptive response to hypoxia in the guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces, Poeciliidae). *Env. Biol. Fish.*, **6**(3/4): 299-313.
- KRAMER, D. L. and McCLURE, M. 1982. Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. *Env. Biol. Fish.*, **7**(1): 47-55.
- KRISHNA, G. V. R. 1987. Variation in the nitrogenous excretory production of *Limnaea luteola* and *Melanooides tuberculatus* during different larval trematode infections. *Riv. di Parassitologia.*, **1**(1): 240-244.
- KOBAYASI, H. 1942. Studies on Trematoda in Hainan Island. II. Trematoda found in the intestinal tracts of dogs by experimental feeding with certain fresh and brackish water fishes. *Jap. J. Med. Sci., V. Pathology.* **6**: 187-227.

- KOBAYASI, H. 1970. Proposition to find more reasonable classification and unifiable nomenclature of the flukes, belonging to the subfamily Centrocestinae Looss, 1899. *Int. Congr. Parasitol.* (2nd), Washington, D. C. Sept. 6-12, Proceedings Part 4: 19-20
- KRUATRACHUE, M., SUCHART-UPATHAM, E., VICHASRI, S. and BAIDIKUL, V. 1990. Culture method for the thiarid snail *Brotia costula costula*, *Tarebia granifera* and *Melanooides tuberculatus* (Prosobranchia: Mesogastropoda). *J. Med. and Appl. Malacol.*, 2: 93-99.
- LAMBERT, A. 1976. Mise en evidence et importance de la chetataxia chez les Monogenes Monopisthocotylea. *C. R. Acad. Sc. Paris.*, Ser.-D: 1109-1112.
- LAMBERT, A. 1977. Recherches sur les affinites phyletiques des Polystomatidae (Monogenea). *C. R. Acad. Sc. Paris.*, Ser.-D: 231-233.
- LAMBERT, A. 1978. Recherches sur les stades larvaires des Monogenes de Poissons. *Ann. Parasitol.*, 53(6): 551-559.
- LAMBERT, A. 1979. Recherches sur les affinites phyletiques des vers parasites Gyrodactylidae (Monogenea). *C. R. Acad. Sc. Paris.*, Ser.-D: 231-233.
- LAMBERT, A. and DENIS, D. 1982. Etude de L'oncomiracidium de *Diplozon nipponicum* Goto, 1891. Hapteur larvaire d'un type nouveau pour le genre *Diplozoon* (Monogenea, Discocotylidae). *Ann. Parasitol.*, 57(6): 533-542.
- LECHUGA, P. J. S. y VELÁZQUEZ, E. M. A. 1988. La Tilapia. *Serie: Sinopsis biotécnica del cultivo de las especies*. Sec. Pesca. Dir. Gral. Acuacul. No. 2., 6 pp.
- LESTER, J. G. R. 1989. *Ecology of marine parasites. In Current Concepts in Parasitology.*, R. C. Ko, (Ed.). Hong Kong University Press, 165-184 (267 pp.)
- LEVEQUE, C. 1971. Équation de von Bertalanffy et croissance des mollusques benthiques du Lac Tchad. *Cahiers ORSTOM, sér. Hydrobiologie.*, V(3-4): 263-283.
- LEVEQUE, C. and POINTIER, J. P. 1976. Study of the growth of *Biomphalaria glabrata* (Say) and other Planorbidae in Guadeloupe (West Indies). *Ann. of Trop. Med. and Parasitol.*, 70(2): 199-204.
- LIVSHITS, G. and FISHELSON, L. 1983. Biology and reproduction of the freshwater snail *Melanooides tuberculata* (Gastropoda: Prosobranchia) in Israel. *Israel J. of Zool.*, 32: 1-35.
- LOMTE, V. S. and GODHAMGAONKAR, V. 1988. Impact of parasitism on nitrogen excretion in *Thiara tuberculata* (Müller). *Riv. di Parassitologia.*, 3 (47)(2): 203-206.
- LOOSS, A. 1899. Weitere beitrage zur kennntniss der Trematoden Fauna Aegyptens. *Zool. Jahrb. Syst.*, 12: 521-784.

- LÓPEZ-JIMÉNEZ, S. 1987a. Parasitosis branquial producida por *Centrocestus* sp., en algunos peces del Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo. *Memorias del IX Congreso Nacional de Zoología, Villahermosa, Tabasco, México.*
- LÓPEZ-JIMÉNEZ, S. 1987b. Enfermedades más frecuentes de las carpas cultivadas en México. *Acuavisión Rev. Mex. de Acuacul., Año II(9): 11-13*
- MADHAVI, R. 1986. Distribution of metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) on the gills of *Aplocheilichthys panchax*. *J. Fish. Biol., 29: 685-690.*
- MADHAVI, R. and RUKMINI, C. 1991. Population biology of the metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) on the gills of *Aplocheilichthys panchax*. *J. Zool., Lond. 223: 509-520.*
- MADSEN, H. and FRANDBSEN, F. 1989. The spread of freshwater snails including those of medical and veterinary importance. *Acta Tropica., 46: 139-146.*
- MALEK, A. E. 1962. *Laboratory Guide and notes for Medical Malacology.* Burgess Pub. Comp. 154 pp.
- MALEK, A. E. and CHENG, T. C. 1974. *Medical and Economic Malacology.* Academic Press. 398 pp.
- MARDIA, K. V. 1972. *Statistics of Directional Data.* Academic Press Inc., London, LTD. 357 pp.
- MARGOLIS, L., ESCH, G. W., HOLMES, J. C., KURIS, A. M. and SCHAD, G. A. 1982. The use of ecological terms in Parasitology. *J. Parasitol., 68(1): 131-133.*
- MARTIN, W. E. 1958. The life histories of some Hawaiian Heterophyid trematodes. *J. Parasitol., 44(3): 305-318.*
- MARTINEZ, T. Z. y ABREGO, A. J. O. 1986. *Modelo mexicano de policultivo. Una alternativa de desarrollo rural.* Secretaría de Pesca, Dir. Gral. Acuicultura, México. 105 pp.
- MEFFE, G. K. and SNELSON, F. F., 1989. An ecological overview of poeciliid fishes. In. Meffe, G. K. and Snelson, F. F. (eds.) *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae).* Prentice Hall, New Jersey. pp . 13-31.
- MONTES, A. J. A. 1987. *Los centros de acopio: una alternativa para controlar la producción pesquera en los Estados interiores.* Secretaría de Pesca. 53 pp.
- MORISHITA, K., KOMIYA, Y. and MATSUBAYASHI, H. 1964. *Progress of Med. Parasitol. in Japan.* Vol. I., 753 pp., Meguro Parasitological Museum, Tokyo.
- MORISHITA, K., KOMIYA, Y. and MATSUBAYASHI, H. 1965. *Progress of Med. Parasitol. in Japan.* Vol. II., 390 pp. Meguro Parasitological Museum, Tokyo.

- MOUAHID, A., MONÉ, H., CHAIB, A. and THÉRON, A. 1991. Cercarial shedding patterns of *Schistosoma bovis* and *S. haematobium* from single and mixed infections of *Bulinus truncatus*. *J. Helminthol.*, **65**: 8-14.
- MOUCHET, F., THÉRON, A., BRÉMOND, P., SELLIN, E. and SELLIN, B. 1992. Pattern of cercarial emergence of *Schistosoma curassoni* from Niger and comparison with three sympatric species of schistosomes. *J. Parasitol.*, **78**(1): 61-63.
- NATH, D. 1972. Experimental development of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) in Indian domestic poultry with notes on natural infection. *Indian J. Anim. Sci.*, **42**(10): 862-868.
- NATH, D. 1974. A note on the metacercarial fauna encountered in Indian freshwater fishes. *Indian Vet. J.*, **51**(6): 481-483.
- NISHIGORI, M. 1924. On a new trematode *Stamnosoma formosanum* n. sp., and its life history. *Taiwan Igakkai: Zasshi.*, **234**: 181-228.
- PAGÈS, J. R. and THÉRON, A. 1990a. *Schistosoma intercalatum* from Cameroon and Zaïre: Chronobiological differentiation of cercarial emergence. *J. Parasitol.*, **76** (5): 743-745.
- PAGÈS, J. R. and THÉRON, A. 1990b. Analysis and comparison of cercarial emergence rhythms of *Schistosoma haematobium*, *S. intercalatum*, *S. bovis*, and their hybrid progeny. *Internat. J. Parasitol.*, **20**(2): 193-197.
- PANDE, B. P. and SHUKHLA, R. P. 1972. Metacercarial cyst of *Haplorchis pumilio*, its development in experimental mammals and two other heterophyid infections of freshwater fishes and their zoonotic significance. *Indian. J. Anim. Sci.*, **42**(11): 971-978.
- PARENTI, L. R. and RAUCHENBERGER, M. 1989. Systematic Overview of the Poeciliines. In Meffe, G. K. and Snelson, F. F. (eds.) *Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae)*. Prentice Hall, New Jersey. pp . 3-12.
- PERERA, G. 1993. Comunicación personal (Inst. Pedro Kouri, La Habana, Cuba).
- PERERA, G., YONG, M., FERRER, J.R., ARRIANDA, C. and AMADOR, O. 1990. Effectiveness of three biological control agents against intermediate hosts of snail-mediated parasites in Cuba. *Malacol. Review.*, **23**: 47-52.
- PERERA, G., YONG, M. and SÁNCHEZ, R. 1987. First record of and ecological studies on *Melanoides tuberculata* in Cuba. *Walkerana, Trans. POETS Soc.*, **2**(8): 165-171
- POINTIER, J. P. 1989a. Comparison between two biological control trials of *Biomphalaria glabrata* in a pond in Guadeloupe, French West Indies. *J. Med. Appl. Malacol.*, **1**: 83-95.

- POINTIER, J. P. 1989b. Conchological studies of *Thiara (Melanoides) tuberculata* (Mollusca: Gastropoda: Thiariidae) in the French West Indies. *Walkerana*, **3**(10): 203-209.
- POINTIER, J. P. 1993. Comunicación personal (Centro de Biología y Ecología Tropical del Mediterráneo, Perpignan, Francia).
- POINTIER, J. P. 1993a. The introduction of *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiariidae) to the island of Saint Lucia (West Indies) and its role in the decline of *Biomphalaria glabrata*, the snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Acta Trop.*, **54**: 13-18.
- POINTIER, J. P. 1993b. Invasion of the Martinique island by the parthenogenetic snail *Melanoides tuberculata* and the succession of morphs. *Acta Ecologica*, **14**(1): 33-42.
- POINTIER, J. P. and McCULLOUGH, F. 1989. Biological control of the snail hosts of *Schistosoma mansoni* in the Caribbean area using *Thiara* spp. *Acta Trop.*, **46**: 147-155.
- POINTIER, J. P. and GUYARD, A. 1992. Biological control of the snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Martinique, French West Indies. *Trop. Med. Parasitol.*, **43**: 98-101.
- POINTIER, J. P., GUYARD, A. and MOSSER, M. 1989. Biological control of *Biomphalaria glabrata* and *B. straminea* by the competitor snail *Thiara tuberculata* in a transmission site of schistosomiasis in Martinique, French West Indies. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **83**(3): 263-269.
- POINTIER, J. P., TOFFART, J. L. and LEFVRE, M. 1991a. Life tables of freshwater snails of the genus *Biomphalaria* (*B. glabrata*, *B. alexandrina*, *B. straminea*) and of one of its competitors *Melanoides tuberculata* under laboratory conditions. *Malacologia*, **33**(1-2): 43-54.
- POINTIER, J. P., FREDERIC, M. and MAZILLE, V. 1991b. Biological control of *Biomphalaria glabrata* by *Melanoides tuberculata* on Désirade Island, French West Indies. *J. Med. Appl. Malacol.*, **3**: 49-52.
- POINTIER, J. P., BALZAN, C., CHROSCIECHOWSKI, P. and INCANI, R. N. 1991c. Limiting factors in biological control of the snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Venezuela. *J. Med. Appl. Malacol.*, **3**: 53-67.
- POINTIER, J. P., DELAY, B., TOFFART, J. L., LEFVRE, M. and ROMERO-ALVAREZ, R. 1992. Life-history traits of three morphs of *Melanoides tuberculata* (Gastropoda: Thiariidae), an invading snail in the French West Indies. *J. Moll. Stud.*, **58**: 415-423.
- PREMVATI, A. and PANDE V. 1974. On *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) Price, 1932 and its experimental infection in white Leghorn chicks. *Jap. J. Parasitol.*, **23**(3): 79-84.

- PRENTICE, M. A. 1983. Displacement of *Biomphalaria glabrata* by the snail *Thiara granifera* in field habitats in St. Lucia, West Indies. *Ann. Trop. Med. Paras.*, **77**: 51-59.
- PRICE, E. 1932. On the genera *Centrocestus* Looss and *Stamnosoma* Tanabe. *J. Parasitol.*, **18**: 309.
- RAMÍREZ-LEZAMA, J. 1992. Comunicación personal (Lab. Histopatología, Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Nal. Autón. Méx.).
- RANSOM, B. 1921. Synopsis of trematode family Heterophyidae with descriptions of a new genus and five new species. *Proc. U.S. Nat. Mus.*, **57**: 527-573.
- RAYMOND, K. M. and PROBERT, A. J. 1987. The effect of light and darkness on the production of cercariae of *Schistosoma haematobium* from *Bulinus globosus*. *J. Helminthology.*, **61**(4): 291-296.
- RICHARD, J. 1968. La chétotaxie des cercaries. Valeur systématique. *C. R. Acad. Sc. Paris, T.*, **266**: 371-374.
- RICHARD, J. 1971. La chétotaxie des cercaries. Valeur systematique et phylétique. *Mem. Mus. Nat. Hist., Sér. A, Zool.*, **67**: 1-179.
- SALGADO-MALDONADO, G., VARGAS-RODRIGUEZ, M. I. and CAMPOS-PÉREZ, J. J. 1994. Metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) (Trematoda) in freshwater fishes in Mexico and its transmission by the thiarid snail *Melanoides tuberculata*. *Stud. Neotropical Fauna and Environment*, **29**(3): 1-6
- SAMNALIEV, P. and DIMITROV, V. 1980. Chaetotaxy of *Psilotrema spiculigerum* (Mühling, 1898) Odhner, 1913 (Trematoda: Psilostomidae) cercariae. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, **55**: 665-669.
- SAMNALIEV, P., DIMITROV, V. and BUŠTA, J. 1983. Argentophilic integumentary structures of *Plagiorchis laticola* Skrjabin, 1924 cercariae. *Folia Parasitol.*, **30**(4): 329-334.
- SAMNALIEV, P., DIMITROV, V. and GENOV, T. 1982. Chaetotaxy of *Plagiorchis elegans* (Rud., 1802) cercariae. *Helminthologia.*, **19**: 107-114.
- SCHOLZ, T. 1991. Metacercariae of trematodes from fish in Vientiane Province, Laos. *Acta Soc. Zool. Bohemoslov.*, **55**: 130-145.
- SCHOLZ, T., DITRICH, O. and GIBODA, M. 1991. Larval stages of medically important flukes (Trematoda) from Vientiane Province, Laos: Part I. Metacercariae. *Ann. Parasit. Hum. Comp.*, **65**(5-6): 238-243.
- SEPESCA, 1982. *Manual técnico para el cultivo de la Tilapia*. Secretaría de Pesca, México, 115 pp.

- SEPESCA, 1986. *Piscicultura de agua dulce. Manual recetario (Bagre, Tilapia, Carpa, Trucha)*. Secretaría de Pesca, México, 461 pp.
- SHAMEEM, V. and MADHAVI, R. 1988. The morphology, life-history and systematic position of *Haplorchoides mehrai* Pande and Sukhla, 1976 (Trematoda: Heterophyidae). *Syst. Parasitol.*, 11(1): 73-83.
- SHOSTAK, A. W. and ESCH, G. W. 1990. Temperature effects on survival and excystment of cercariae of *Halipegus occidualis* (Trematoda). *Int. J. Parasitol.*, 20 (1): 95-99.
- SOKAL, R. R. and ROHLF, F. J. 1981. *Biometry.*, 2nd edition. W. H. Freeman, New York. 859 pp.
- SOUSA, W. P. 1990. Spatial scale and the processes structuring a guild of larval trematode parasites. In *Parasite communities: Patterns and processes*, G. W. Esch, A. O. Bush, and J. M. Aho (eds.). Chapman and Hall, London, p. 41-67 (335pp.).
- THÉRON, A. 1976. Le cycle biologique de *Plagiorchis neomidis* Brendow, 1970, Digené parasite de *Neomys fodiens* dans les Pyrénées. Chronobiologie de l'émission cercarienne. *Ann. Parasitol.*, 51(3): 329-340.
- THÉRON, A. 1984. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae: Ecological significance in transmission to human and murine hosts. *J. of Parasitol.*, 4: 652-655
- THÉRON, A. 1985. Polymorphisme du rythme d'émission des cercaires de *Schistosoma mansoni* et ses relations avec l'écologie de la transmission du parasite. *Vie et Milieu* 35: 23-31.
- THÉRON, A. and COMBES, C. 1988. Genetic analysis of cercarial emergence rhythms of *Schistosoma mansoni*. *Behavior Genetics* 18: 201- 209.
- THÉRON, A. 1989. Hybrids between *Schistosoma mansoni* and *S. rodhaini*: characterization by cercarial emergence rhythms. *Parasitology.*, 99: 225-228.
- VALLE, C., PELLEGRINO, J. et ALVARENGA, N. 1971. Ritmo circadiano de emergência de cercárias (*Schistosoma mansoni* - *Biomphalaria glabrata*). *Rev. Brasil. Biol.*, 31(1): 53-63.
- VAUCHER, C. 1972. Chétotaxie de la cercaire de *Opisthioglyphe megastomus* Baer, 1943 (Trematoda, Plagiorchidae). *Rev. Suisse de Zool.*, 79: 1164-1169.
- VÁZQUEZ-COLET, A. and AFRICA, C. M. 1938. Determination of the piscine intermediate hosts of Philippine Heterophyid trematodes by feeding experiments. *Philipp. J. Sci.*, 65(4): 293-302.

- VÁZQUEZ-COLET, A. and AFRICA, C. M. 1939. Determination of the piscine intermediate hosts of Philippine Heterophyid trematodes by feeding experiments. *Philipp. J. Sc.*, **70**(2): 201-215.
- VÁZQUEZ-COLET, A. and AFRICA, C. M. 1940. Morphological studies on various Philippine Heterophyid metacercariae with notes on the incidence, site, and degree of metacercarial infection in three species of marine fish. *Philipp. J. Sc.*, **72**(4): 395-417.
- VELÁZQUEZ, S. M. G., CAMPOS, P. J. J. y PAEZ, R. M. 1994. Parásitos del "guavino" *Gobiomorus dormitor* en tres localidades del estado de Veracruz, México. *Memorias del IV Congreso Nacional de Ictiología*, Morelia, Michoacán, México. (Resumen 146) Noviembre 1994.
- WEBBER, R. A., RAU, M.E. and LEWIS, D. J. 1986. The effects of various light regimens on the emergence of *Plagiorchis noblei* cercariae from the molluscan intermediate host, *Stagnicola elodes*. *J. Parasitol.*, **72**(5): 703-705.
- WEBBER, R. A., RAU, M.E. and LEWIS, D. J. 1989. The effects of host distributional patterns on parasite transmission: *Aedes aegypti* larvae and *Plagiorchis noblei* cercariae. *J. Parasitol.*, **75**(5): 810
- WILLIAMS, J. A. and ESCH, W. 1991. Infra and component dynamics in the pulmonate snail *Helisoma anceps*, with special emphasis on the hemiurid trematode *Halipegus occidualis*. *J. Parasitol.*, **77**(2): 246-253.
- WOOLHOUSE, M. E. J. and CHANDIWANA, S. K. 1990. The epidemiology of schistosome infections of snails: taking the theory into the field. *Parasitol. Today.*, **6**(3): 65-70.
- YAMAGUTI, S. 1971. *Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates*. Vol I. Keigaku Pub. Co. Tokyo, Japan., 1074 pp.
- YAMAGUTI, S., 1975. *A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates. With special reference to the morphology of their larval forms*. Keigaku Pub. Co. Tokyo, Japan., 590 pp.
- YANOHARA, Y. 1985. On analysis of transmission dynamics of trematode infection. 1. *Centrocestus formosanus* infection in Miyakojima. Okinawa. *Jpn. J. Parasitol.*, **34**(2): 55-70.
- YANOHARA, Y., NOJIMA, H. and SATO, A. 1987. Incidence of *Centrocestus formosanus* infection in snails. *J. of Parasitol.*, **73**(2): 434-436.

11. APENDICE 1. ESTADÍSTICA CIRCULAR

En este apéndice se desarrolla un resumen de las bases de la Estadística Circular con algunos ejemplos de su aplicación en estudios cronobiológicos, así como las pruebas estadísticas para demostrar su significancia y su correspondiente interpretación (tomado de Batschelet, 1981; Mardia, 1972 y Chassé y Théron, 1988).

1.- Bases de la Estadística circular.

La estadística circular se ocupa del análisis de puntos distribuidos alrededor de un círculo. Tales datos pueden obtenerse como direcciones u orientaciones en un solo plano, por ejemplo en estudios biológicos, tales como la orientación y la navegación de los animales, relacionadas con la migración, el regreso al hogar, el escape y la actividad exploratoria. Estas direcciones u orientaciones son medidas por ángulos que fluctúan entre 0° y 360° y pueden por lo tanto, ser representadas por puntos alrededor de un círculo.

Además, los análisis circulares tienen aplicaciones más allá de las fronteras de la Biología, en áreas tales como la Geología, la Paleontología, la Geografía, la Meteorología, la Astronomía, la Física, la Economía y la Medicina.

Las variables circulares también se observan en el área de los ritmos biológicos. Un período de 24 horas corresponde a una vuelta completa de 360° . Así, se puede comparar una hora con un ángulo de 15° y medio día con 180° , etc. Igualmente, un mes, un año o cualquier otro período de un evento cíclico puede ser representado por una rotación de 360° , de manera que se pueda obtener un tipo similar de representación (Fig. 21). Cuando un evento ocurre repetidamente al mismo tiempo dentro de un período, le es asignado un ángulo de fase. Los patrones de frecuencia diarios o estacionales tienen mucho en común con las distribuciones circulares, por lo que no es sorprendente que los métodos estadísticos empleados para los ritmos biológicos se asemejen a aquéllos que se aplican a direcciones.

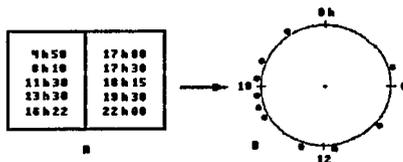


Fig. 21. Instantes de tiempo de accidentes graves de tráfico, registrados en una ciudad, a lo largo de varios días (A). La variable es una variable circular (B) (Tomado de Batschelet, 1981).

2.- Aspecto estadístico.

i. Definición del vector promedio

Los datos circulares no pueden ser estudiados por métodos estadísticos clásicos, básicamente debido a que la media aritmética carece de significado para este tipo de datos. Por ejemplo, ¿cómo podría ser definido el ángulo promedio de una muestra de tres valores $\phi_1 = 50^\circ$, $\phi_2 = 90^\circ$ y $\phi_3 = 340^\circ$? La media aritmética [$m = (\phi_1 + \phi_2 + \phi_3)/3 = 160^\circ$] nos conduce a un resultado inaceptable (Fig. 22A). La idea fundamental es la de representar cada ángulo por medio de un vector unitario (e_1 , e_2 y e_3), para después calcular el vector promedio: $m = (e_1 + e_2 + e_3)/3$. (Fig. 22B).

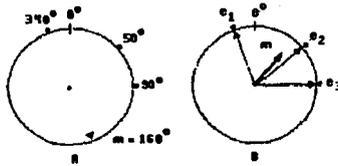


Fig. 22. Cálculo del vector promedio para una muestra de tres valores: (A) media aritmética; (B) vector promedio.

Si se tiene una muestra de n vectores unitarios e_i ($i = 1, 2, \dots, n$) que corresponden a n ángulos observados ϕ_i . El vector promedio $m = (1/n) \sum e_i$ puede ser definido por sus coordenadas polares (modulus $r = \|m\|$, argumento ϕ),

siendo $x_i = \cos \phi_i$

$$y_i = \text{sen } \phi_i$$

$$\bar{x} = (1/n) \sum x_i$$

$$\bar{y} = (1/n) \sum y_i$$

entonces $r = (1/n) [(\sum \cos \phi_i)^2 + (\sum \text{sen } \phi_i)^2]^{1/2}$

y el $\text{arc tg } (\bar{y}/\bar{x})$ si $\bar{x} > 0$

$$180^\circ + \text{arc tg } (\bar{y}/\bar{x}) \text{ si } \bar{x} < 0$$

$$\phi = 90^\circ \text{ si } \bar{x} = 0 \text{ y } \bar{y} > 0$$

$$270^\circ \text{ si } \bar{x} = 0 \text{ y } \bar{y} < 0$$

$$\text{Indeterminado si } \bar{x} = 0 \text{ y } \bar{y} = 0.$$

En el ejemplo anterior, $\bar{r} = 0.798$ y $\phi = 41^\circ 12'$. Además, la longitud del vector promedio es una función de la concentración de los ángulos alrededor del ángulo promedio. El vector promedio es, por lo tanto, un parámetro tanto de la posición como de la dispersión. Por analogía con la estadística lineal, es posible definir una varianza angular $s^2 = 2(1-r) \approx (1/n) \sum (\phi_i - \phi)^2$. Al considerar a la desviación angular $s = 2[(1-r)]^{1/2}$ en radianes o $s = 180^\circ / \pi [2(1-r)]^{1/2}$ en grados), es posible hacer una representación gráfica de esta dispersión (Fig. 23).

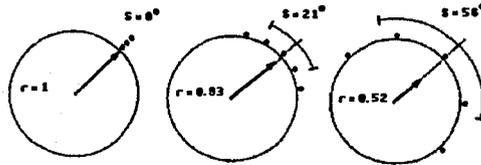


Fig. 23. Representación gráfica de la dispersión. La longitud del vector promedio disminuye a medida que la dispersión se incrementa. s : Desviación estándar angular; r : longitud del vector promedio

ii. Corrección para agrupamientos

El agrupamiento de datos circulares se da cuando el círculo se subdivide en arcos de la misma longitud y se cuentan los puntos de la muestra en cada arco. No es necesario efectuar una corrección en el ángulo promedio, pero sí para la longitud del vector promedio (r), ya que de otra manera estaría sesgado. Sin corrección, r tiende a ser menor, por lo que debe multiplicarse por un factor $c > 1$. El valor corregido es $rc = cr$. Si la longitud de clase es medida en grados, el factor de corrección tendrá un tamaño:

$$c = (\delta / 360^\circ) / \text{sen} (\delta/2)$$

iii. Significado del vector promedio

Una vez que ha sido calculado el vector promedio, surgen las siguientes preguntas: ¿Cuál es su significado? ¿Tiene algún sentido la expresión de un ángulo promedio?. Por lo menos intuitivamente no, si la dispersión es muy grande. Así que es necesario probar esta dispersión. Un modelo de referencia sería aquél en el que se involucrara una distribución angular uniforme; la prueba de Rayleigh, basada en la longitud del vector promedio, permite determinar su significancia.

iv. Comparación de una muestra (Prueba de Rayleigh).

El propósito de esta prueba (Mardia, 1972; Batschelet, 1981) es probar si la población de la que se obtuvo la muestra difiere significativamente del azar. En otras palabras, si existe evidencia estadística de unimodalidad o direccionalidad. La idea central de esta prueba es que la longitud del vector promedio (r) da cierto indicio de unimodalidad. La hipótesis nula (H_0) es que la población original está distribuida uniformemente (al azar). El estadístico empleado es $r =$ longitud del vector promedio. La Tabla H en Batschelet, (1981) enlista el valor crítico (P) en relación al tamaño de la muestra (n) y la longitud del vector promedio (r). Si el valor crítico (P) obtenido de la Tabla H es menor al nivel preasignado (α), la H_0 es rechazada. En este caso, la longitud del vector promedio difiere significativamente de cero. Para $P > \alpha$, sin embargo, no existe evidencia estadística de que la H_0 sea falsa; es decir, no puede excluirse una distribución uniforme.

Para valores mayores de n no incluidos en la Tabla H, se emplea la estadística $z = nr^2$. En general, para $n > 30$ (hasta el infinito), con un nivel de significancia de 0.05, el valor crítico [$z(\alpha)$] fluctúa entre 2.97 y 3.00 (Tabla 4.2.1. en Batschelet, 1981). En este caso existe significancia cuando $z \geq z(\alpha)$ y por lo tanto, la H_0 se rechaza.

Si existe una buena razón para asumir que la distribución original es unimodal, esta prueba también hace patente una concentración de las direcciones alrededor del ángulo promedio; es decir, que existe una "dirección preferida".

Esta prueba es de las más empleadas en el caso de estadística circular, ya que el cálculo de la estadística (r o z), también ofrece medidas de la concentración (r), la dirección promedio (ϕ) y la dispersión (s).

Interpretando la idea central de esta prueba y aplicándola al análisis para el caso particular de los ritmos circadianos de emergencia de distintas especies de cercarias, permitiría demostrar si los picos individuales arrojados por un caracol en días consecutivos y/o los picos de un grupo de caracoles en días consecutivos son periódicos o no, independientemente de las variaciones individuales mostradas en la aparición de los picos durante los días que durase el experimento.

v. Comparación de dos o más muestras (Prueba de Mardia-Watson-Wheeler).

El objetivo de esta prueba (Mardia, 1972; Batschelet, 1981) es probar si dos o más muestras difieren significativamente entre sí. En las situaciones más simples, las muestras pueden diferir en su ángulo promedio, en su varianza o en ambos. La prueba es no-paramétrica y esto evita suposiciones restrictivas sobre la naturaleza de las poblaciones originales. Sólo se observa el orden en el que se distribuyen los ángulos promedio de ambas muestras. Se alteran los espacios entre los puntos sucesivos de las muestras, de tal manera que todos los espacios se vuelvan del mismo tamaño, es decir $\delta = 360^\circ/n$ (donde $n = n_1 + n_2$). Así, la idea central es distribuir los puntos representativos de las dos muestras uniformemente alrededor del círculo (Fig. 24). Si los puntos de una muestra están separados suficientemente de los puntos de la otra, se espera que exista una diferencia significativa entre ambas. Tal separación de los puntos de las muestras está indicado por la magnitud de los vectores resultantes. Si "sumamos" las dos muestras, el vector resultante se vuelve cero, debido a la distribución

uniforme de los puntos de las muestras alrededor del círculo. Por lo tanto, los vectores resultantes se cancelan, ya que son de la misma longitud ($R_1 = R_2$). Mientras más grande sea R_1 (o R_2), las muestras están más separadas entre sí y el vector resultante se incrementa con las diferencias entre ellas. Así, la estadística puede basarse en R_1 .

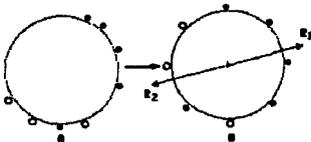


Fig. 24. Los puntos de las dos muestras (A) se encuentran distribuidos uniformemente alrededor del círculo (B). La longitud del vector promedio es calculada posteriormente para una de las muestras ($R_1 = R_2$), cuyo cuadrado representa la estadística.

La hipótesis nula es: H_0 = las poblaciones originales de las dos muestras son idénticas. La hipótesis alternativa, H_a = las poblaciones difieren en su ángulo promedio y/o en su varianza angular.

Una vez que se han espaciado uniformemente los puntos alrededor del círculo, las nuevas direcciones (c) son clasificadas con los números 1, 2, ..., n , comenzando en una dirección arbitraria (en sentido de las manecillas del reloj o viceversa). Para la primera muestra, las clases son: c_1, c_2, \dots, c_{n_1} . Los ángulos de los puntos de ambas muestras se convierten en $\beta = c_i \delta$ ($i = 1, 2, \dots, n_1$), donde $\delta = 360^\circ/n$ y $n = n_1 + n_2$. El vector resultante de la primera muestra tiene los componentes $c_1 = \sum \cos \beta_i$ y $s_1 = \sum \sin \beta_i$. La longitud del vector resultante es $R_1 = (c_2^2 + s_2^2)^{1/2}$.

En la práctica, se emplea el estadístico $B = (R_1)^2$. Los valores críticos de $B(\alpha)$ para $n_1 + n_2 \leq 17$, para los niveles de significancia $\alpha = 0.001, 0.01, 0.05$ y 0.10 , están tabulados en la Tabla Q del apéndice de Batschelet (1981). La H_0 es verdadera si $n_1 = n_2 > 17$ y la cantidad es $2(n_1 + n_2 - 1)(R_1)^2 / n_1 n_2$ está distribuida aproximadamente como una X^2 con dos grados de libertad. En este caso, puede emplearse la Tabla G (Batschelet, 1981) para encontrar los valores críticos (P) de la distribución X^2 .

Si $B > B(\alpha)$, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que las dos muestras difieren entre sí de manera significativa. Sin embargo, si $B < B(\alpha)$, no es posible excluir que las dos muestras fueron obtenidas de la misma población. En el caso de $n > 17$, la Tabla G indica si el valor crítico (P) está por debajo o no de nuestra (α) preasignada.

Esta prueba puede generalizarse para k muestras, en donde el tamaño de la muestra combinada es $n = n_1 + n_2 + \dots + n_k$. Se asume que no existen "empates" (ángulos promedio de las diferentes muestras con valores idénticos). En caso de haberlos, no debe existir objeción alguna en romperlos.

En este caso, la estadística utilizada es:

$$W = 2 \sum_{i=1}^k (R_i)^2 / n_i$$

Para valores críticos se emplea la Tabla R (Batschelet, 1981) para $k = 3$ y $n_i \leq 5$. Para otros valores de k y n_i , si la H_0 es verdadera, se puede demostrar que la W se encuentra distribuida aproximadamente como una X^2 con $2(k-1)$ grados de libertad.

Una interpretación de esta prueba y su aplicación para el análisis de los patrones cronobiológicos de emisión de cercarias, permitiría demostrar si los moluscos muestreados al azar, de una o varias poblaciones, se encuentran parasitados con la misma especie de cercaria (mediante la obtención de las acrofases de los ritmos exhibidos), independientemente de las variaciones individuales mostradas en las acrofases, a lo largo del experimento.

3.- Un ejemplo de la aplicación de la estadística circular en estudios cronobiológicos: análisis del polimorfismo de los ritmos de emergencia de la cercaria de *Schistosoma mansoni*.

Los primeros investigadores que utilizaron la estadística circular para analizar los patrones de emergencia de cercarias fueron Chassè y Théron (1988). Los autores transformaron a variables circulares 222 ritmos de emergencia de la cercaria de *Schistosoma mansoni*, liberada de nueve poblaciones de moluscos recolectados en tres ambientes: urbano, manglar pantanoso y selvático. La estadística circular permitió distinguir tres patrones cronobiológicos para las poblaciones estudiadas del parásito. Para tal efecto, se probaron la homogeneidad de las muestras para cada grupo y las diferencias significativas entre ellos.

La aplicación de esta metodología ha permitido, en trabajos posteriores, la caracterización de los híbridos de *Schistosoma mansoni* con *S. rodhani* (Théron, 1989), así como la diferenciación entre dos razas geográficas de *S. intercalatum* de Zaire y Cameron (Pagès y Théron, 1990a) y el análisis y comparación de tres especies de *Schistosoma* (*S. haematobium*, *S. intercalatum* y *S. bovis*) incluyendo sus híbridos (Pagès y Théron, 1990b). La caracterización de *S. curassoni* de Nigeria y la comparación con tres especies simpátricas de *Schistosoma* (*S. haematobium*, *S. bovis* y *S. mansoni*) han sido establecidas mediante la estadística circular (Mouchet *et al.* 1992).

Los patrones etológicos, en particular con un componente cronobiológico, son utilizados cada vez más en estudios biológicos y genéticos de poblaciones animales. En un trabajo reciente, relacionado con los ritmos de emergencia de la cercaria de *S. mansoni*, Théron (1985) demostró la existencia de una variabilidad cronobiológica, lo que permitió distinguir fácilmente a las poblaciones de esquistosomas genéticamente distintas, en una misma región endémica. A partir de este ejemplo de polimorfismo cronobiológico y con el empleo de la estadística circular para el análisis de los datos, se ha resaltado la importancia de esta herramienta en el estudio de los ritmos biológicos.

Con respecto al foco de esquistosomiasis en la Isla Guadalupe, las poblaciones parásitas de *S. mansoni* pueden distinguirse por los ritmos de liberación de sus cercarias. Desde un punto de vista biológico, esta variabilidad cronobiológica, cuya constitución genética

ha sido demostrada con anterioridad (Théron y Combes, 1988), se ha relacionado con: (a) el contexto eco-epidemiológico de los distintos tipos de transmisión estudiados (urbano, manglar pantanoso y selvático) y (b) los respectivos grados de participación del hombre y/o de un hospedero reservorio múdo (*Rattus rattus*) en la dinámica de la transmisión del parásito (Théron, 1985).

Las poblaciones estudiadas fueron divididas empleando histogramas promedio, de la emergencia diaria de las cercarias, en tres tipos cronobiológicos: temprano, intermedio y tardío. Los patrones de emergencia tardíos muestran una adaptación a la infestación del hospedero reservorio múdo, cuyo comportamiento es preferentemente crepuscular. Dicha distribución está basada, principalmente, en la hora del día en la que se presentan los picos de emergencia de las cercarias (acrofases).

Este método permitió definir la tipología de los ritmos, sin embargo, demostró ser insuficiente para un análisis más profundo de los datos, por lo cual deja sin respuesta las siguientes preguntas: ¿Es homogéneo cada grupo? ¿Son estadísticamente diferentes los grupos? En un intento por resolver dichas interrogantes, propusieron un método basado en el uso de la estadística circular.

i. Datos

A partir de nueve poblaciones de esquistosomas, se obtuvieron 222 ritmos diarios de emergencia de cercarias, que representaban los distintos sitios de transmisión existentes en el foco de la Isla Guadalupe (1, 2 y 3 para el urbano; 4, 5a, 5b, 6a, 6b, 7 y 8 para el manglar pantanoso y 9a y 9b para el selvático).

ii. Cálculos

El primer paso fue calcular el vector promedio correspondiente a cada ritmo diario de emergencia (variable circular). Cada ritmo, inicialmente representado por un histograma, es ahora "convertido" en un punto que representa tanto la hora promedio de liberación como la dispersión de la emergencia de las cercarias.

El segundo paso fue calcular el promedio global para cada población del parásito, así como las elipses de confianza (con un nivel de significancia de 0.05). El examen de los resultados sugirió indicar la existencia de tres grupos de poblaciones (temprana, intermedia y tardía), tal y como fue descubierta al comparar los histogramas.

El tercer paso fue probar la homogeneidad de los grupos y la existencia de una diferencia real entre ellos (aunque a primera vista pueda parecer obvio). Para lo anterior, se aplicó la prueba de Mardia-Watson-Wheeler.

Se encontró que el grupo de las tres poblaciones 1, 2 y 3 fue heterogéneo y que la población 3 difiere de las otras dos por su acrofase más temprana (11H 24' vs. 12H 01' y 12H 08', respectivamente), mientras que los otros dos grupos de poblaciones son homogéneos. Las comparaciones llevadas a efecto entre las poblaciones 5a y 8 y entre las 1 y 5b, mostraron que existe una diferencia significativa entre los tres grupos previamente descritos. La inspección del diagrama muestra que tales diferencias entre los grupos involucran

tanto al ángulo promedio como a la longitud de sus vectores promedio. El resultado de la prueba de Kruskal y Wallis (ANOVA no paramétrica) confirma dicha suposición ($H = 9.346$ para los ángulos promedio y $H = 8.692$ para la longitud; 5.991 , nivel crítico).

Al igual que para la longitud del vector promedio, los resultados graficados muestran una correlación entre la dispersión de la emergencia y la hora promedio de las acrofases: mientras más tarde se da la emergencia, mayor es su dispersión (para la población 3, la hora promedio de liberación fue 11H 24' y su desviación angular 1H 03'; para la 9, 16H 08' y 2H 38'). El coeficiente de Spearman, que relaciona el tiempo promedio de liberación con su varianza angular, es de hecho altamente significativo ($p = 0.916$ para un valor crítico de 0.587).