



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y
MOLECULAR DE SEIS ESPECIES DE LA FAMILIA
STRIGEIDAE Railliet, 1919 (DIGENEA) PARÁSITOS
DE AVES ACUÁTICAS EN MÉXICO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

DAVID IVÁN GUADALUPE HERNÁNDEZ MENA



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. JOSÈ MARTÍN GARCÍA VARELA
2010**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Caracterización morfológica y molecular de seis especies de la Familia Strigeidae Railleit, 1919 (Digenea) parásitos de aves acuáticas en México

realizado por **Hernández Mena David Iván Guadalupe** con número de cuenta **4-0508750-5** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. Ana Flisser Steinbruch

Propietario Dra. Angélica González Oliver

Propietario Tutor Dr. José Martín García Varela

Suplente Dr. Gerardo Pérez Ponce de León

Suplente Dr. Ulises Jesús Razo Mendivil

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, D. F., a 02 de marzo de 2010

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. PEDRO GARCÍA BARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

'nlm.

AGRADECIMIENTOS

A mis padre Félix y Gabriela por que me han enseñado a imaginar, por que día a día vale la pena vivir por ellos y ser libre **;;;Muchas gracias!!!**

A mis hermanos Josué y Diana por ser los mejores y por que me permiten alucinar **;;;Muchas gracias!!!**

Al Dr. Martín García Varela por ser el tutor del presente proyecto, por sus enseñanzas en la elaboración del mismo y por el apoyo económico otorgado **;;;Gracias!!!**

A la Dra. Ana Fliesser por formar parte del jurado, por tomarse tiempo para revisar el presente manuscrito y por sus comentarios al mismo.

A la Dra. Angélica Gonzáles Oliver por formar parte del jurado y por los comentarios y acertadas correcciones al presente trabajo.

Al Dr. Gerardo Pérez-Ponce de León por formar parte del jurado, por los comentarios y correcciones al presente manuscrito, por sus enseñanzas sobre los digéneos y por otorgarme el apoyo económico para poder terminar el presente proyecto.

Al Dr. Ulises Razo Mendevil por formar parte del jurado, por enriquecer el presente manuscrito con sus comentarios y correcciones al mismo.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por el apoyo económico otorgado en el proyecto IN215709-3.

A Luis García Prieto, por el préstamo de ejemplares de distintas especies de estrigeidos, por sus enseñanzas y comentarios en la elaboración del presente estudio, por su amistad y por sus consejos en el ámbito personal **;;;Muchas gracias!!!**

A David Osorio, Berenit, Toni por las enseñanzas sobre el grupo de helmintos parásitos.

Al Doc. Gerardo Rivas Lechuga por infundirme el interés en la investigación y particularmente en el grupo de los animales.

A la Dra. Ana Bertha Villaseñor Martínez por su amistad, por permitirme realizar el servicio social en el Laboratorio de Invertebrados, por infundirme el interés por la investigación y por el apoyo económico otorgado.

A Mónica por estar a mi lado en mi rara vida **;;;Muchas gracias!!!**

A Mariana por ser mi profesora y amiga. Gracias a ti no tire la toalla cuando mi vida era un desastre y me enseñaste que el mundo siempre es un lugar mejor. Gracias por significar mucho para mi **;;;Muchas gracias!!!**

A los cuates del laboratorio Rogelio (Raper), Miriam, Mirza y Manuel (el Mane), por brindarme su amistad, sus risas y palabras que enriquecen nuestras experiencias
!!!Gracias!!!

A los cuates de la CNHE, Andrés (Dragón, Chispo y derivados), Rodolfo (el Rodo ó el Pedrito Fernández), Ángeles, Rosario, Jorge (Jorgito), Guadalupe (Tocaya), Aline, Leti, Lupita, por ser siempre agradables conmigo, por soportar mis locuras, por confiarme su amistad y sus experiencias **!!!Gracias!!!**

A los amigos del Instituto de Geología, Iriliana, Pedro, Marco, Magi por regalarme su amistad y sus palabras que quedan en el corazón, por su apoyo y por salvarme la vida
!!!Muchas gracias!!!

A mis amigos de carrera: Sara, Yara, Sofia, Zuel, Marco, Alejandro (el Montufar), Susana, Oscar con los que me la pase muy bien durante la trayectoria de la carrera.

A la banda de mi pueblo José (Compadre Donas), los Cuajos, Guille, por su amistad y por sus experiencias en alma.

A mi familia por enseñarme a trabajar duro.

A la gente que ha estado conmigo en las más diversas situaciones y que han colaborado de manera directa o indirecta en la culminación del presente trabajo.

Al pueblo de México, que gracias a sus impuestos (que cada vez nos tienen más en la pobreza) he podido estudiar la licenciatura.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formarme en la licenciatura de Biología.

DEDICATORIA

Para toda mi gente a la que la vida me ha enseñado a llamarle familia.

La vida es mía, mírame a los ojos y comprenderás que el cielo es real, por que al correr puedes volar sumergido en los viajes de mi imaginación, puedes ser iluminado por los ojos de Luna mientras te abraza en la inmensidad del infinito universo. Escucha el redoblar de mi fuerte corazón que enaltece las banderas de la paz. Deja caer tus pesadillas en mi doblada espalda. Escupe las lágrimas en mi tierra y sonríe con el corazón, sonríele a los problemas del opaco mundo. Suéñalo, deséalo y átaló a mí. Vive libre.

Índice

I. INTRODUCCIÓN	1
I.I. Ciclo de vida.....	5
I.II. Registros de Strigeidos en México.....	7
I.III. Utilización de secuencias de DNA.....	11
I.III.I. DNA Ribosomal.....	11
II. OBJETIVOS	
II.I. Objetivo General.....	14
II.II. Objetivos Particulares.....	14
III. MATERIAL Y MÉTODOS	
III.I. Recolecta de los hospederos.....	15
III.II. Examen helmintológico.....	15
III.III. Caracterización morfométrica.....	17
III.IV. Caracterización molecular.....	17
III.V. Alineamientos múltiples y análisis filogenéticos.....	19
IV. RESULTADOS	20
IV.I. Caracterización morfológica	
Tribu: Cotylurini Dubois, 1936	
<i>Australapatemon burti</i> (Miller, 1923).....	22
<i>Cardiocephaloides medioconiger</i> Dubois & Viguera, 1949.....	27
<i>Cotylurus gallinulae</i> (Lutz, 1928) Dubois, 1937.....	32
<i>Cotylurus sp.</i>	41
Tribu: Strigeinae Railliet, 1919	
<i>Apharyngostrigea cornu</i> (Zeder, 1800) Ciurea, 1927.....	44
<i>Parastrigea cincta</i> (Brandes, 1888) Szidat, 1928.....	49
<i>Parastrigea diovadena</i> Dubois & Macko, 1972.....	53
IV.II. Análisis molecular.....	59
IV.II.I. Alineamiento de las secuencias.....	59
IV.II.II. Análisis filogenético.....	61

IV.II.III. Distancias genéticas.....	66
--------------------------------------	----

V. DISCUSIÓN

V.I. Caracterización morfológica.....	68
---------------------------------------	----

V.II. Análisis molecular.....	68
-------------------------------	----

VI. CONCLUSIONES.....	72
------------------------------	-----------

VII. LITERATURA CITADA.....	73
------------------------------------	-----------

VIII. ANEXOS.....	80
--------------------------	-----------

I. INTRODUCCIÓN

Los helmintos parásitos son organismos que se transmiten entre invertebrados y vertebrados alternativamente a través de complejos ciclos de vida. Las poblaciones de parásitos y sus comunidades interactúan cercanamente con sus hospederos y forman parte de un componente principal en los ecosistemas, por lo que los parásitos son considerados como parte integral de los programas de biodiversidad en todo el mundo (Brooks & Hoberg, 2000; Kennedy, 2006). Los helmintos son abundantes en la naturaleza y están ampliamente distribuidos, si consideramos que cualquier organismo de vida libre es un hospedero potencial para una o varias especies de parásitos, entonces es probable que existan más especies parásitas que organismos de vida libre y por lo tanto es muy difícil estimar el número de parásitos en el ecosistema (Price, 1980; Poulin, 1997). Se reconoce que los parásitos tienen un amplio potencial para regular las poblaciones y comunidades de hospederos, además de que pueden estabilizar las redes tróficas en los ecosistemas, juegan un papel importante en la evolución, historias de vida y en el comportamiento de sus hospederos (Poulin, 1997). Los digenéos son un grupo de parásitos del phylum Platyhelminthes, que se compone de aproximadamente 18000 especies, lo cual los ubica como uno de los grupos de metazoos endoparásitos más diverso (Cribb *et al.*, 2001). Son organismos de gran relevancia desde el punto de vista antropocéntrico, debido a que parasitan al ser humano, animales domésticos y pueden generar severas epizootias (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007).

Los miembros de la familia Strigeidae son endoparásitos del intestino e hígado de aves acuáticas, aunque solo el género *Duboisella* Baer, 1938 utiliza a mamíferos pequeños (tlacuaches y mapaches) como hospederos definitivos (Dubois, 1968). Morfológicamente los miembros de esta familia se caracterizan por presentar un cuerpo dividido en dos segmentos. El segmento anterior generalmente tiene forma de copa, de bulbo o semitubular y contiene la ventosa oral, el acetábulo, la faringe, una glándula proteólica y un órgano tribocítico formado por dos lóbulos, uno

ventral y otro dorsal. El segmento posterior contiene los órganos reproductores. Presentan dos testículos localizados en *tandem* que pueden ser bilobulados, trilobulados o multilobulados y carecen de bolsa del cirro. El útero es corto y contiene huevos no embrionados y operculados. La bursa copulatrix está más o menos desarrollada, con un cono o bulbo genital internamente y el poro genital está en posición dorsoterminal. El canal de Laurer está presente; el ovario es pretesticular y ovoide; las glándulas vitelógenas se encuentran distribuidas ampliamente por todo el cuerpo o pueden estar confinadas en la región posterior (Schell, 1985; Shoop, 1989; Niewiadomska, 2002), (Figura 1). El género *Strigea* fue descrito por Abildgaard en 1790; posteriormente, Railliet en 1919 erigió a Strigeidae denominando a *Strigea* como género tipo. Dubois en 1938, mencionó que los digeneos que pertenecen a ésta familia se distinguen por presentar las siguientes características morfológicas: 1) cuerpo bisegmentado, 2) segmento anterior en forma de copa, 3) órgano tribocítico bilobulado (ver a Niewiadomska, 2002). Dubois (1968), dividió a Strigeidae en dos subfamilias: Strigeinae (parásitos de aves) con 11 géneros y Duboisiellinae con un género. En la revisión morfológica más reciente de la familia, ésta incluye aproximadamente 110 especies, clasificadas en 13 géneros (Niewiadomska, 2002), (Tabla 1). Recientes análisis filogenéticos inferidos por caracteres moleculares demuestran que la subclase Digenea es un grupo monofilético. En dicha filogenia, la familia Strigeidae ocupa una posición basal con respecto a las demás familias de digéneos. Adicionalmente, se revela que la familia es parafilética (Olson *et al.*, 2003).

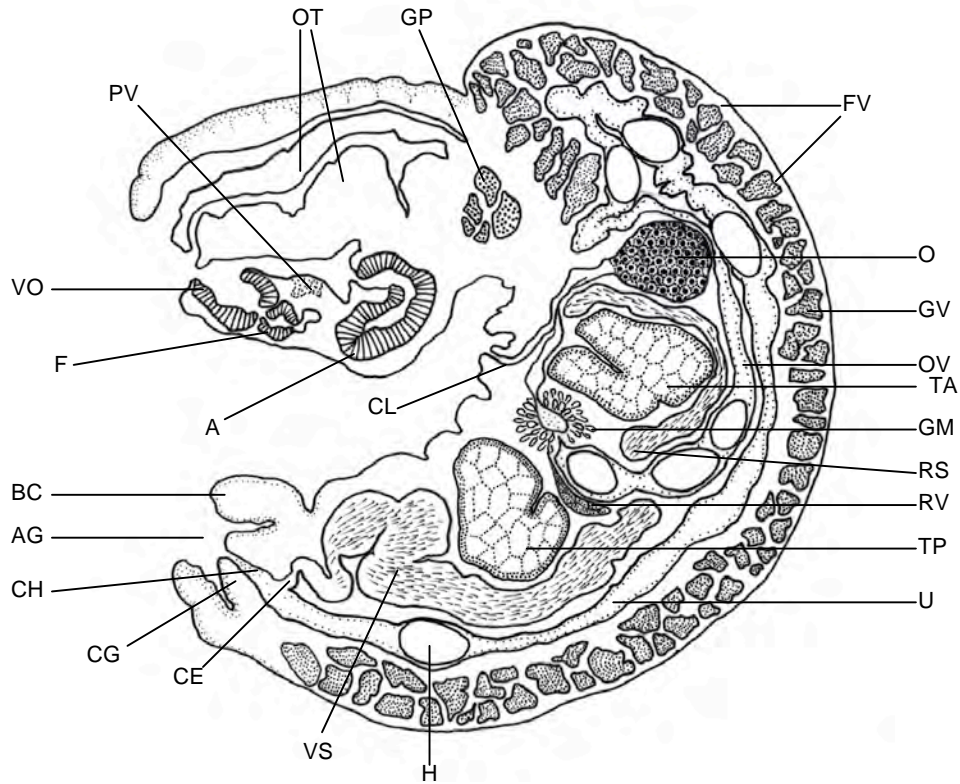


Fig. 1. Esquema general de la anatomía de un estrigeido (tomado de Dubois, 1968). *Abreviaturas:* acetábulo (A), atrio genital (AG), bursa copulatriz (BC), conducto eyaculador (CE), canal hermafrodita (CH), canal de Laurer (CL), cono genital (CG), faringe (F), folículos vitelinos (FV), glándulas de Mehlis (GM), glándula proteolítica (GP), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), pseudoventosa (PV), ovario (O), órgano tribocítico (OT), oviducto (OV), receptáculo seminal (RS), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), ventosa oral (VO), vesícula seminal (VS).

Tabla 1. Distribución geográfica y hospedatoria de los géneros que componen la familia Strigeidae (Niewiadomska, 2002).

GÉNERO	DISTRIBUCIÓN	H. I.	H. D.
Subfamilia Strigeinae			
<i>Apatemon</i> Szidat, 1928	Región Holártica, Brasil y Congo	Peces	Falconoides, Anatidae,
<i>Apharyngostrigea</i> Ciurea, 1927	Cosmopolita	Peces	Ardeidae
<i>Australapatemon</i> Sudarikov, 1959	Cosmopolita	Hirudineos	Aves anseriformes
<i>Cardiocephaloides</i> Sudarikov, 1959	Europa, África, Norte América subtropical, Australia y región Neotropical	Peces	Laridae y Spheniscidae
<i>Cotylurus</i> Szidat, 1928	Región Holártica, Neotropical y Oriental	Hirudineos y gasterópodos	Anatidae, Charadriidae
<i>Ichthyocotylurus</i> Odening, 1969	Región Holártica	Peces	Aves ictiófagas
<i>Nematostrigea</i> Sandground, 1934	Europa, Norte América y África	N.I.	Aves de presa
<i>Ophiosoma</i> Szidat, 1928	Región Holártica, Neotropical y Oriental	N.I.	Aves
<i>Parastrigea</i> Szidat, 1928	Cosmopolita	Anfibios	Aves
<i>Pseudapatemon</i> Dubois, 1936	Europa, Norte América y Filipinas	N.I.	Scolopacidae
<i>Schwartzitrema</i> Pérez-Vigueras, 1941	Estados Unidos y Cuba	N.I.	Pelacanidae
<i>Strigea</i> Abilgaard, 1790	Cosmopolita	Anfibios, reptiles, aves y mamíferos	Aves
Subfamilia Duboisellinae			
<i>Duboisella</i> Baer, 1938	Venezuela, Panamá y México	N.I.	Didelphidae

H.I.= hospedero intermediario en donde se aloja la metacercaria, H.D.= hospedero definitivo en donde se aloja el adulto, N.I.= no identificado.

1.1. Ciclo de vida

El ciclo biológico de los estrigeidos se inicia cuando los huevos operculados se liberan al ambiente acuático a través de las heces de sus hospederos definitivos. Posteriormente de los huevos eclosionan y se liberan los miracidios que infectan gasterópodos acuáticos que funcionan como los primeros hospederos intermediarios; en éste hospedero se desarrollan las cercarias, que son de tipo furcocerca. Las cercarias emergen del gasterópodo y nadan para penetrar al siguiente hospedero intermediario que pueden ser varias especies de invertebrados (hirudineos y gasterópodos) o de vertebrados (peces, anfibios y reptiles). Una vez en el interior de su segundo hospedero, las cercarias se enquistan en diferentes órganos, transformándose en metacercarias. La metacercaria es de tipo tetracotyle y en los peces se enquista en sitios como intestino, mesenterio, músculo, ojos, gónadas, riñones, cerebro e hígado. El ciclo se completa cuando las aves y mamíferos consumen al segundo hospedero intermediario infectado (Yamaguti, 1975; Schell, 1985; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007), (Figura 2).

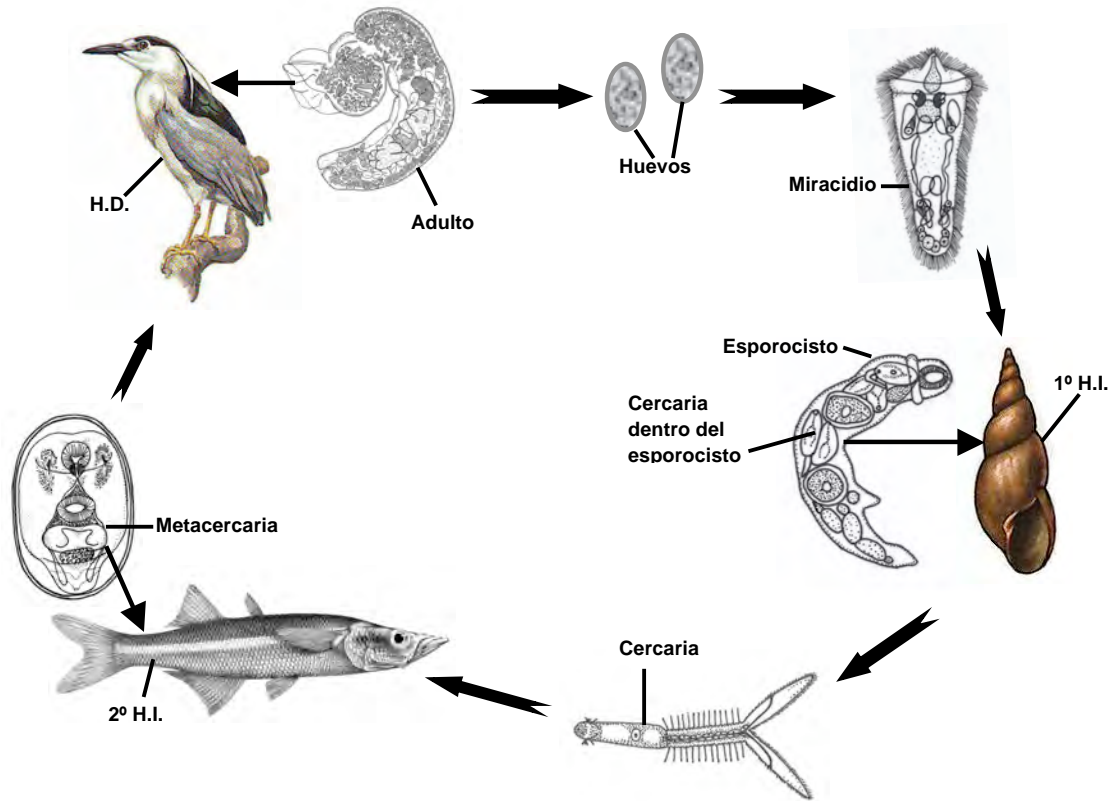


Fig. 2. Ciclo de vida general de la familia Strigeidae. El miracidio y la cercaria son estados de vida libre. H.I.= Hospedero intermediario; H.D.= Hospedero definitivo.

I.II. Registros de Strigeidos en México

Hasta el 2007 en México se habían registrado 624 especies de tremátodos pertenecientes a 311 géneros (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007) y 78 familias según la clasificación de Gibson *et al.* (2002). Particularmente dentro de la familia Strigeidae se han identificado siete géneros (siete como metacercaria y seis en estado adulto) que están parasitando diferentes órganos de peces (hospederos intermediarios) y el intestino de aves acuáticas silvestres (hospederos definitivos) en un total de 29 hospederos de 35 localidades de 12 estados de México. En los registros de 19 especies de peces la determinación taxonómica de los estrigeidos solo llega a nivel de género ya que por su estado larvario no se observan con claridad caracteres que permitan la asignación a especies; por otro lado, en 10 especies de aves y en dos de mamíferos se han registrado en estado adulto seis géneros con 11 especies de estrigeidos: *Apatemon gracilis*, *A. minor*, *Cardiocephaloides medioconiger*, *Cotylurus brevis*, *C. cornutus*, *C. gallinulae*, *C. magniacetabulus*, *C. strigeoides*, *Apharyngostrigea multiovata*, *Parastigea mexicanus* y *Duboisella proloba* (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007), (Tabla 2).

Tabla 2. Especies y distribución de la familia Strigeidae en México.

Especie	Estado de desarrollo	Hospedero	Localidad	Referencia
Subfamilia: Strigeinae				
Tribu: Cotylurini				
<i>Apatemon gracilis</i> (Rudolphi, 1819) Szidat, 1928	Adulto	<i>Ardea alba</i>	Guerrero: Coyuca, Tres Palos	CNHE
		<i>Bucephala albeola</i>	Chihuahua: Ojo Caliente	CNHE
<i>Apatemon minor</i> Yamaguti, 1933	Adulto	<i>Anas diazi</i>	Estado de México: Chiconahuapan	Soto-Méndez, 2006
<i>Cardiocephaloides medioconiger</i> (Dubois & Pérez-Vigeras, 1949)	Adulto	<i>Rynchops niger</i>	Veracruz: Tecolutla	Hernández-Rodríguez, 1995
<i>Cardiocephaloides</i> sp.	Metacercaria	<i>Epinephelus morio</i>	Quintana Roo: Chiquila Yucatán: Celestún, Chelém, Chuburná y Progreso	Moravec <i>et al.</i> , 1997
		<i>Strongylura notata</i>	Yucatán: Lagartos	Tello-Osalde, 1999
		<i>Sphoeroides testudineu</i>	Yucatán: Lagartos	Tello-Osalde, 1999
<i>Cotylurus brevis</i> Dubois & Rausch, 1950	Adulto	<i>Anas clypeata</i>	Estado de México: Chiconahuapan	Soto-Méndez, 2006
<i>Cotylurus cornutus</i> (Rudolphi, 1808)	Adulto	<i>Anas clypeata</i>	Estado de México: Chiconahuapan	Soto-Méndez, 2006
<i>Cotylurus gallinulae</i> (Lutz, 1928)	Adulto	<i>Gallinula chloropus</i>	Estado de México: Lerma	León-Règagnon, 1992
<i>Cotylurus magniacetabulus</i> Dubois & Angel, 1972	Adulto	<i>Anas acuta</i>	Estado de México: Chiconahuapan	Soto-Méndez, 2006
<i>Cotylurus</i> sp.	Metacercaria	<i>Dormitator maculatus</i>	Veracruz: Tlacotalpan	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 2005

Tabla 2. Especies y distribución de la familia Strigeidae en México (continuación).

Espece	Estado de desarrollo	Hospedero	Localidad	Referencia
<i>Cotylurus</i> sp.		<i>Thorichthys helleri</i>	Chiapas: Cedros, Lacanjá; Tabasco: Yumká	CNHE; Vidal-Martínez <i>et al.</i> , 2001
		<i>Thorichthys meeki</i>	Campeche: Nuevo Becal (La Abundancia), Zoh Laguna	Vidal-Martínez <i>et al.</i> , 2001
		<i>Vieja intermedia</i>	Chiapas: Cedros, Lacanjá	Vidal-Martínez <i>et al.</i> , 2001
<i>Cotylurus strigeoides</i> Dubois, 1958	Adulto	<i>Bucephala albeola</i>	Chihuahua: Ojo Caliente	CNHE
Tribu: Strigeini <i>Apharyngostrigea multiovata</i> (Pérez-Vigueras, 1944)	Adulto	<i>Ardea alba</i> <i>Egretta thula</i> <i>Nycticorax nycticorax</i>	Michoacán: Pátzcuaro	Ramos-Ramos, 1994
<i>Apharyngostrigea</i> sp.	Metacercaria	<i>Astyanax fasciatus</i>	Yucatán: Noc-Choncunchey Quintana Roo: Hondo	Scholz <i>et al.</i> , 1995; Scholz & Vargas-Vázquez, 1998
		<i>Bramocharax caballeroi</i>	Veracruz: La Palma	CNHE
		<i>Cichlasoma geddesi</i>	Campeche: El Vapor	Aguirre-Macedo & García-Magaña, 1994
		<i>Cichlasoma mayorum</i>	Yucatán: Xtoloc	Manter, 1936
		<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Tabasco: Camellones-Chontales, Espino	Aguirre-Macedo & García-Magaña, 1994
		<i>Dormitator maculatus</i>	Veracruz: Tlacotalpan	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 2005

Tabla 2. Especies y distribución de la familia Strigeidae en México (continuación).

Especie	Estado de desarrollo	Hospedero	Localidad	Referencia
<i>Apharyngostrigea</i> sp.		<i>Herichthys labridens</i>	Hidalgo: San Pedro (Orizatlán)	CNHE
		<i>Herichthys pearsei</i>	Campeche: El Vapor	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 1997
		<i>Petenia splendida</i>	Tabasco: Chiribital	Osorio-Sarabia <i>et al.</i> , 1987
		<i>Poecilia mexicana</i>	Hidalgo: Candelaria (Huejutla)	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 2004
		<i>Poeciliopsis gracilis</i>	Hidalgo: Candelaria (Huejutla)	Aguilar-Castellanos, 2002
		<i>Thorichthys helleri</i>	Tabasco: Teapa Tucta	Aguirre-Macedo & García-Magaña, 1994; Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 1997
		<i>Thorichthys meeki</i>	Quintana Roo: Hondo	Scholz & Vargas-Vázquez, 1998
		<i>Vieja argentea</i>	Tabasco: San Pedro	López-Jiménez, 2001
		<i>Vieja synspila</i>	Campeche: El Vapor Tabasco: Camellones-Chontales	Aguirre-Macedo & García-Magaña, 1994; Salgado-Maldonado <i>et al.</i> , 1997
<i>Parastrigea mexicanus</i> Coil, 1957	Adulto	<i>Recurvirostra americana</i>	Oaxaca: Salina Cruz	Coil, 1957
<i>Strigea</i> sp.	Metacercaria	<i>Cichlasoma urophthalmus</i> <i>Petenia splendida</i>	Yucatán: Lagartos Campeche: El Vapor	Vidal-Martínez, 1995 Vidal-Martínez, 1995
Subfamilia : Duboisiiellinae				
<i>Duboisiiella proloba</i> Baer, 1938	Adulto	<i>Didelphis virginiana</i>	Veracruz: Escondida	Monet-Mendoza <i>et al.</i> , 2005
		<i>Philander opossum</i>	Tabasco: Oxolotlán	CNHE

CNHE: Colección Nacional de Helmintos de México, Instituto de Biología, UNAM

I.III. Utilización de secuencias de DNA

La identificación de las especies en digéneos se basa principalmente en los rasgos morfológicos de los adultos y en características ecológicas (tipo de hospedero definitivo y distribución). Sin embargo, la incertidumbre sobre la validez de los caracteres morfológicos, la plasticidad fenotípica, la limitación de los caracteres morfológicos que permitan asociar los distintos estados larvarios con el estado adulto y la similitud morfológica entre especies estrechamente relacionadas, son factores que han generado controversias y que dificultan la determinación taxonómica correcta de las especies (León-Regagnon *et al.*, 1999; Nolan & Cribb, 2005). Estos problemas de diagnóstico en los taxones motivaron a usar herramientas alternas como marcadores moleculares basados en el análisis del ácido desoxirribonucleico (DNA) para generar las secuencias específicas de cada individuo analizado. Las secuencias del DNA ofrece varias ventajas que se enumeran a continuación: 1) Diferentes regiones del genoma pueden ser usadas para identificar a las poblaciones, especies, géneros etc. 2) La generación de secuencias de DNA es relativamente rápida 3) El número de sitios variables de la secuencia de DNA que se analizan es mucho mayor que el de los caracteres morfológicos 4) La variación en las secuencias de DNA no está influenciada por el fenotipo ni por el ambiente (McManus & Bowles, 1996).

I.III.I. DNA ribosomal

En el genoma de los eucariontes, los genes ribosomales del RNA se encuentran en gran número de copias, arregladas en *tandem*, las cuales a través de la recombinación homogenizan sus secuencias nucleotídicas (evolución concertada). La unidad de transcripción de los genes ribosomales se conforma de tres genes (18S, 5.8S y 28S) y de dos espaciadores transcritos internos (ITS-1, ITS-2). Las regiones que separan a estas unidades son conocidas como espaciadores no transcritos (NTS). Los genes ribosomales del RNA y sus regiones espaciadoras (transcritas y no transcritas) son llamadas colectivamente DNA ribosomal (rDNA) (Figura 3).

El rDNA es ampliamente utilizado en estudios filogenéticos a distintos niveles taxonómicos, debido a que presenta regiones conservadas y variables que pueden ser usadas para separar a los taxones (Hillis & Dixon, 1991). Particularmente los espaciadores transcritos internos son regiones pequeñas de aproximadamente 1000 pares de bases (pb) que tienen una alta tasa de mutación; esta característica los convierte en marcadores moleculares muy buenos para separar poblaciones, especies y géneros e incluso para definir complejos de especies crípticas (Luton *et al.*, 1992; Adlard *et al.*, 1993; Deprés *et al.*, 1995; Jousson *et al.*, 1998; Bell & Sommerville, 2002, León-Régagnon & Brooks, 2003; Razo-Mendivil *et al.*, 2004, 2008, 2010; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2008). Estudios recientes en sistemática molecular sugieren que el espaciador transcrito interno 1 (ITS-1) es más variable en su extremo 5' que en el extremo 3' debido a que contiene múltiples fragmentos repetidos en *tandem* (Kane & Rollinson, 1994; van Herwerden *et al.*, 1999). El espaciador transcrito interno 2 (ITS-2), generalmente no contiene elementos repetidos, es relativamente conservado entre especies congénicas, pero es variable en su longitud entre géneros y entre familias de digéneos (Nolan & Cribb, 2005; Vilas *et al.*, 2005). Para estrigeidos, sólo se han realizados dos trabajos utilizando secuencias de ITS para diferenciar especies y géneros (Bell *et al.*, 2001; Bell & Sommerville, 2002).

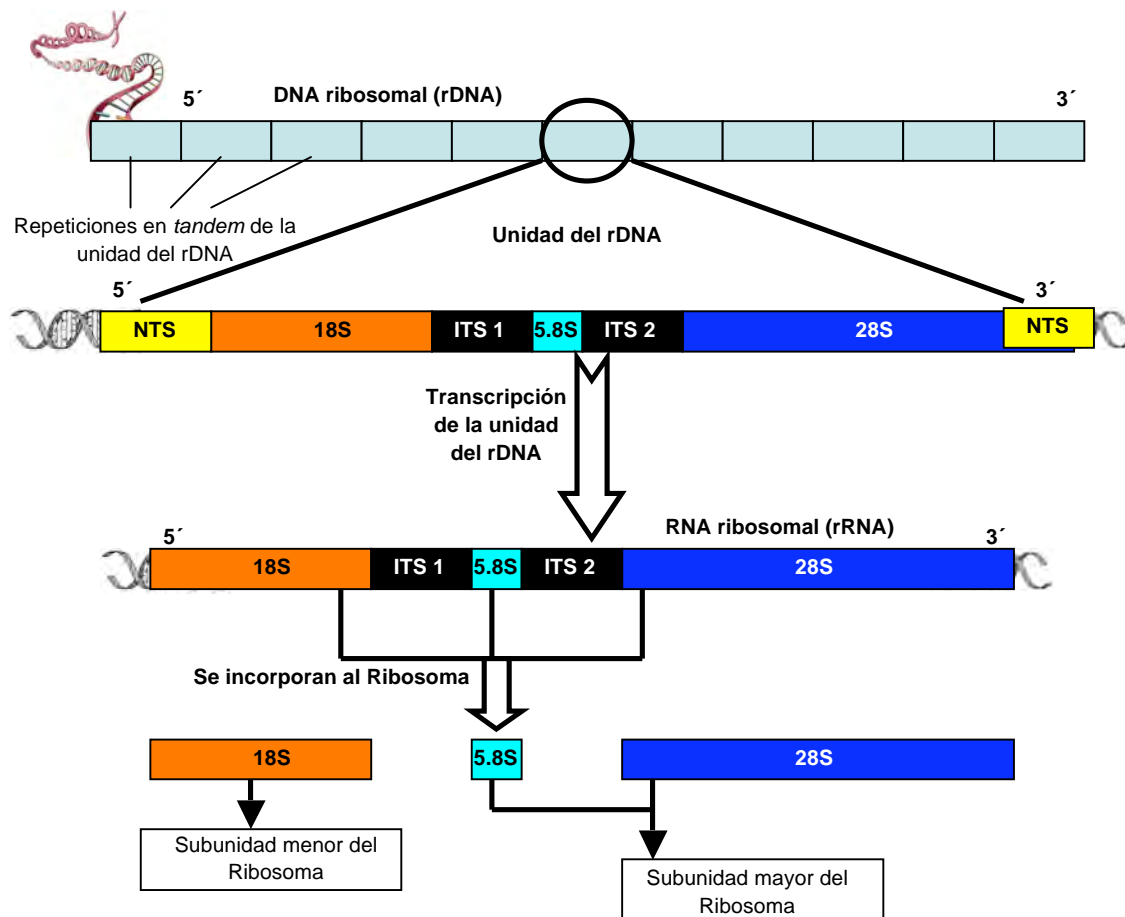


Fig. 3. Unidad de transcripción de DNA ribosomal en eucariontes que incluye las regiones: espaciadores no transcritos (NTS), espaciadores transcritos internos (ITS1, ITS2) y los genes 18S, 5.8S y 28S.

II. OBJETIVOS

II.I. Objetivo General:

Caracterización morfológica y molecular de algunas especies de la familia Strigeidae que parasitan aves de México.

II.II. Objetivos Particulares:

1. Realizar la descripción morfológica de las especies recolectadas.
2. Secuenciar las regiones de los espaciadores transcritos internos ITS1, ITS2 y 5.8S del DNA ribosomal nuclear.
3. Estimar las divergencias genéticas entre poblaciones, especies y géneros.
4. Proponer una hipótesis filogenética para los géneros de la familia Strigeidae basados en secuencias de los espaciadores transcritos internos ITS1, ITS2 y 5.8S del DNA ribosomal nuclear.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.I. Recolecta de los hospederos

Las aves que fungen como hospederos definitivos se colectaron del 2006 al 2008 en nueve localidades de nueve estados de la República Mexicana, Estado de México, Durango, Tamaulipas, Veracruz, Baja California Sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit y Guerrero. Los hospederos colectados pertenecen a nueve especies de aves que representan a cuatro familias (Tabla 3).

III.II. Examen helmintológico

El intestino de cada ave fue extraído y colocado en cajas de Petri con solución salina al 0.75 %. Posteriormente, el intestino se desgarró con la ayuda de agujas de disección y se examinó bajo el microscopio estereoscópico en busca de digéneos. Algunos ejemplares se preservaron directamente en etanol al 100%, ya que este método permite la adecuada fijación de los organismos y del material genético. Para llevar a cabo el estudio morfológico, otros ejemplares se fijaron con formol al 4% en estado de ebullición, el cual se vació directamente sobre ellos.

Tabla 3. Hospederos y localidades de colecta del presente estudio.

Hospedero	Familia	Nombre común	Localidad	Estado	Coordenadas
<i>Ardea alba</i>	Ardeidae	Garza blanca real	Chiconahuapan	Estado de México	19°11'20''N; 99°29'30''O
<i>Ardea alba</i>	Ardeidae	Garza blanca real	Tres Palos	Guerrero	16°47'47'' N 99°44'30'' O
<i>Anas americana</i>	Anatidae	Pato cabeza roja	Guerrero Negro	Baja California Sur	27°57'32'' N 114° 03'22''O
<i>Anas cyanoptera</i>	Anatidae	Cerceta canela	Chiconahuapan	Estado de México	19°11'20''N; 99°29'30''O
<i>Anas diazi</i>	Anatidae	Pato mexicano	Chiconahuapan	Estado de México	19°11'20''N; 99°29'30''O
<i>Aythya affinis</i>	Anatidae	Pato boludo chico	La Esperanza	Sonora	27°35'40''N; 109°55'48''O
<i>Oxyura jamaicensis</i>	Anatidae	Pato tepalcate	Guatimape	Durango	24°49'45''N; 104°53'16''O
<i>Larus occidentalis</i>	Laridae	Gaviota	Guerrero Negro	Baja California Sur	27°57'32'' N 114°03'22''O
<i>Larus sp.</i>	Laridae	Gaviota	Laguna de Términos	Campeche	18°37'54'' N 91°46'07''O
<i>Eudocimus albus</i>	Threskiornithidae	Ibis blanco	El Huizache	Sinaloa	23°05'28''N; 106°15'57''O
<i>Eudocimus albus</i>	Threskiornithidae	Ibis blanco	Punta de Piedra	Tamaulipas	24°29'00'' N 97°45'00'' O
<i>Eudocimus albus</i>	Threskiornithidae	Ibis blanco	San Blas	Nayarit	21°32'00''N 105° 17'22'' O

III.III. Caracterización morfológica

Los ejemplares preservados para el estudio morfológico se tiñeron usando la técnica de tinción de Paracarmín de Mayer (Apéndice 1). Posteriormente éstos se montaron en preparaciones permanentes usando bálsamo de Canadá. Los organismos se observaron, dibujaron y midieron en el microscopio óptico equipado con una cámara de campo claro y con un ocular micrométrico calibrado. Se realizó un esquema de la morfología general de los individuos de cada especie de estrigeido, en el cual se resaltaron las características diagnósticas de cada género y especie, además se efectuó la medición (expresadas en milímetros) de las estructuras para la caracterización morfológica. Para la identificación de los ejemplares a nivel de género y especie se utilizaron las claves taxonómicas de Dubois (1968), McDonald (1981) y Niewiadomska (2002). El material helmintológico se depositó en la Colección Nacional de Helminthos (CNHE), del Instituto de Biología, UNAM.

III.IV. Caracterización molecular

Los parásitos colectados y preservados en etanol absoluto en el campo, se transfirieron a tubos de 0.5 ml que contenían 100 µl de la solución de digestión (100 mM Tris-HCl pH 7.6, 200 mM NaCl, 0.5 M EDTA pH 8.0, 10% Sarkosil, 0.1 mg/ml de proteinasa K y agua ultrapura) y se incubaron 12 horas a 56°C. Posteriormente los tubos se incubaron a 95°C durante 15 min, para degradar la proteinasa K. El DNA genómico se extrajo del sobrenadante usando el reactivo DNAzol (Invitrogene, CA, USA). La amplificación de los ITS se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los siguientes oligonucleótidos. forward BD1 (5'-GTCGTAACAAGGTTTCCGTA-3') (Bowles & McManus, 1993), reverse BD2 (5'-ATCTAGACCGGACTAGGCTGTG-3') (Bowles *et al.*, 1995). La mezcla de reacción, contenía en volumen final de 25 µl: 2.5 µl de Buffer Platinum 10X, 1.5 µl de MgCl₂, 0.5 µl de dNTP's, 0.5 µl de cada oligonucleotido, 0.125 µl (equivalente a 0.6 unidades) de Taq polimerasa Platinum (Invitrogene, CA, USA), 17.375 µl de agua bidestilada y 2 µl del DNA genómico. Las muestras se incubaron en un termociclador modelo PTC100, MJ

Research Inc. El programa de amplificación consistía en los siguientes pasos:

1. desnaturalización, 2. alineación y 3. extensión (ver abajo).

1.- 94°C 5 min

2.- 94°C 1 min

3.- 50°C 1 min

4.- 72°C 1 min

5.- Repetir tres veces a partir del paso dos

6.- 72°C 5 min

Los productos amplificados se separaron y observaron en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Boratos-EDTA (TBE 1X). La purificación de los productos de PCR, se efectuó en columnas millipore, adicionando 375 µl de agua megapura y se centrifugo a 4000 rpm durante 15 minutos. Finalmente el producto de PCR se recuperó en un volumen final de 20 µl de agua bidestilada. El producto purificado se utilizó para la reacción de secuenciación, basada en el método de Sanger *et al.* (1977), cuya mezcla de reacción es de 10 µl por muestra, que contenía: 3.5 µl de agua bidestilada, 2 µl de Buffer de secuenciación 2.5X, 1 µl de los oligonucleótidos forward BD1, reverse BD2, interno BD3 (5'-GAACATCGACATCTTGAACG-3'), o el interno BD4 (5'-ATAAGCCGACCCTCGGC-3'), 2 µl de Big Dye y 1.5 µl del producto amplificado. Las reacciones de secuenciación, se analizaron en un secuenciador automático ABI Prism modelo 310 (Perkin Elmer). Los electroferogramas derivados de las reacciones de secuenciación se exportaron al programa de cómputo Codoncode (versión 3.0.1) en donde cada pico correspondiente a un nucleótido fue evaluado. Finalmente se ensamblaron las 4 secuencias del DNA en una secuencia consenso.

III.V. Alineamiento múltiple y análisis filogenético

Las secuencias de los ITS generadas en el trabajo de tesis se alinearon con 11 secuencias de otros estrigeidos y de especies de la familia Diplostomidae que fueron usados como grupos externos (ver tabla 11), formando una base de datos de 25 taxa. Las secuencias obtenidas se alinearon en el programa ProAlign, y se obtuvieron dos tipos de bases de datos: uno en donde se eliminaron del alineamiento los extremos manualmente y otro en donde se eliminaron estadísticamente las regiones hipervariables. Los análisis de las dos bases de datos se llevaron a través de los métodos de Máxima Parsimonia (MP) y Máxima Verosimilitud (ML) con el programa de computo PAUP (versión 4.0b10 Swofford, 2002). El mejor modelo de evolución que se ajustaba a la base de datos fue estimado utilizando el criterio Akaike Information Criterion (AIC) con el programa Modeltest versión 3.0 (Posada & Crandall, 1998). El mejor modelo de evolución fue usado para realizar el análisis filogenético con el algoritmo de ML. Las búsquedas del mejor árbol fue adicionando las secuencias al azar, con 100 búsquedas usando el modelo tree-bisection-reconnection (TBR). Para el método de MP la búsqueda del mejor árbol fue a través del algoritmo de Branch and Bound. El soporte de los clados fue evaluado con 10000 réplicas de bootstrap. La divergencia genética entre los taxa fue estimada con las distancias no corregidas " p " usando el programa PAUP.

IV. RESULTADOS

Los resultados del presente estudio se dividen en dos secciones. En la primera sección se muestran las caracterizaciones morfológicas de seis especies: *Australapatemon burti* lo cual se identificó en cuatro especies de anátidos de tres localidades; *Cardiocephaloides medioconiger* en dos especies de hospederos y en dos localidades; *Cotylurus gallinulae* en un anátido de una localidad; *Apharyngostrigea cornu* en un hospedero de una localidad; *Parastrigea cincta* en un hospedero de una localidad y *Parastrigea diovadena* en un hospedero de tres localidades. Adicionalmente un ejemplar colectado en una ave (gaviota), se determinó como *Cotylurus* sp. (Tabla 4). También se presenta una comparación morfométrica con las descripciones originales y con especies previamente registradas en México. En la segunda sección del trabajo se presentan los resultados del análisis molecular.

Tabla 4. Lista de especies de la familia Strigeidae descritas en el presente estudio.

Parásito	No. ejemplares	Hospedero	Localidad	*CNHE
Tribu: Cotylurini				
<i>Australapatemon burti</i>	6	<i>Anas americana</i>	Guerrero Negro, B. C. S.	7178
	5	<i>Anas cyanoptera</i>	Chiconahuapan, Edo Méx.	7177
	2	<i>Anas diazi</i>	Chiconahuapan, Edo Méx.	7176
	3	<i>Oxyura jamaicensis</i>	Guatimape. Dgo.	7179
<i>Cardiocephaloides mediocniger</i>	3	<i>Larus occidentalis</i>	Guerrero Negro, B.C. S.	7175
	2	<i>Larus</i> sp.	Laguna de Términos, Cam.	7174
<i>Cotylurus gallinulae</i>	5	<i>Aythya affinis</i>	La Esperanza, Son.	7173
<i>Cotylurus</i> sp.	1	<i>Larus occidentalis</i>	Guerrero Negro, B.C. S.	7180
Tribu: Strigeini				
<i>Apharyngostrigea cornu</i>	4	<i>Ardea alba</i>	Tres Palos, Gro.	7172
<i>Parastrigea cincta</i>	3	<i>Eudocimus albus</i>	San Blas, Nay.	7168
<i>Parastrigea diovadena</i>	4	<i>Eudocimus albus</i>	El Huizache, Sin.	7169
	3	<i>Eudocimus albus</i>	San Blas, Nay.	7170
	11	<i>Eudocimus albus</i>	Punta de Piedra, Tams.	7171

*Número de catalogo del material depositado en la Colección Nacional de Helmintos (CNHE) del Instituto de Biología, UNAM

IV.I. Caracterización morfológica

Familia: Strigeidae Railleit, 1919

Subfamilia: Strigeinae Railleit, 1919

Tribu: Cotylurini Dubois, 1936

Género: *Australapatemon* Sudarikov, 1959

Australapatemon burti (Miller, 1923)

La siguiente redescrición está basada en 16 colectados del intestino de cuatro especies de anatidos (*Anas cyanoptera*, *Anas diazi*, *Anas americana* y *Oxyura jamaicensis*) de tres localidades (Laguna de Chiconahuapan, Estado de México; Guerrero Negro, Baja California Sur; y Guatimape, Durango) respectivamente (Figura 4). La longitud total de los parásitos es de 1.014 a 2.100mm (1.548 ± 0.459). El cuerpo se divide en dos segmentos. El segmento anterior tiene forma de copa o es semiglobular, ligeramente más largo que ancho y mide 0.320 a 0.770mm (0.565 ± 0.173) de largo por 0.345 a 0.602mm (0.457 ± 0.082) de ancho. Tiene una abertura muy notoria en el borde anterior por donde se proyecta el órgano tribocítico al exterior; en este segmento se encuentra la ventosa oral, el acetábulo e internamente la faringe y la glándula proteolítica. El segmento anterior está contraído ventralmente hacia el segmento posterior. El segmento posterior es subcilíndrico, curvado dorsalmente; mide 0.558 a 1.400mm (0.956 ± 0.308) de largo por 0.263-0.602mm (0.433 ± 0.117) de ancho y contiene los órganos reproductores. La relación de longitud del segmento posterior entre el segmento anterior es de 1:1.260 a 2.016 (1.767 ± 0.265). El órgano tribocítico está conformado por dos lóbulos, el dorsal que es más alargado que el ventral; en su base se localiza la glándula proteolítica. La ventosa oral es ovoide, musculosa y subterminal; mide 0.078-0.126mm (0.100 ± 0.016) de largo por 0.067-0.133mm (0.096 ± 0.020) de ancho. El acetábulo es un poco más grande que la ventosa oral, tiene 0.068-0.183mm (0.125 ± 0.027) de longitud por 0.090-0.170mm (0.128 ± 0.018) de

anchura; se localiza en posición subecuatorial, es redondo y muscular. La relación del acetábulo entre la ventosa oral es de 1:1.038-1.769 (1.283 ± 0.228). La faringe se continua después de la ventosa oral y mide 0.035-0.086mm (0.056 ± 0.016) de largo por 0.030-0.076mm (0.050 ± 0.013) de ancho y representa el 58.6% del tamaño de dicha ventosa. Los testículos son postováricos, lobulados y están dispuestos en tandem. El testículo anterior tiene dos lóbulos mide 0.127-0.364mm (0.247 ± 0.082) de largo por 0.117-0.322mm (0.215 ± 0.071) de ancho. El testículo posterior mide 0.107-0.434mm (0.253 ± 0.102) de largo por 0.120-0.378mm (0.243 ± 0.086) de ancho y presenta dos lóbulos principales. La relación de la longitud total del cuerpo entre el diámetro medio de los testículos es de 1:5.432-10.076 (6.564 ± 1.253). La vesícula seminal relativamente grande y post-testicular, se extiende desde la base del testículo posterior; de ella surge el conducto eyaculador. El ovario es redondo y mide 0.079-0.140mm (0.103 ± 0.016) de largo por 0.072-0.168mm (0.118 ± 0.027) de ancho y se ubica a 9.638/100-22.616/100 (16.801 ± 3.390) de la longitud total del segmento posterior. El oviducto se origina en la base del ovario y se curva por la zona ventral del testículo anterior. El canal de Laurer es delgado y se dirige hacia la superficie ventral, cerca de la constricción que separa a los segmentos anterior y posterior. Las glándulas vitelógenas agrupadas en folículos amorfos se localizan solamente en el segmento posterior del organismo y se extienden desde la unión intersegmentaria hasta el conducto hermafrodita; son muy densas en la zona dorsal del digéneo y van disminuyendo en cantidad conforme se acercan al borde ventral. Entre ambos testículos se ubica el receptáculo vitelino. El útero se extiende dorsal a los testículos y dentro de él se pueden localizar huevos ovoides que miden 0.084-0.132mm (0.100 ± 0.014) de largo por 0.057-0.074mm (0.064 ± 0.006) de ancho. La unión del conducto eyaculador con la porción distal del útero conforma un conducto hermafrodita musculoso y plegado, que está contenido en el cono genital. El cono genital mide 0.130-0.262mm (0.158 ± 0.044) de longitud por 0.073-0.129mm (0.093 ± 0.016) de anchura y desemboca en un atrio genital poco profundo; la bursa copulatrix presenta dos anillos musculares.

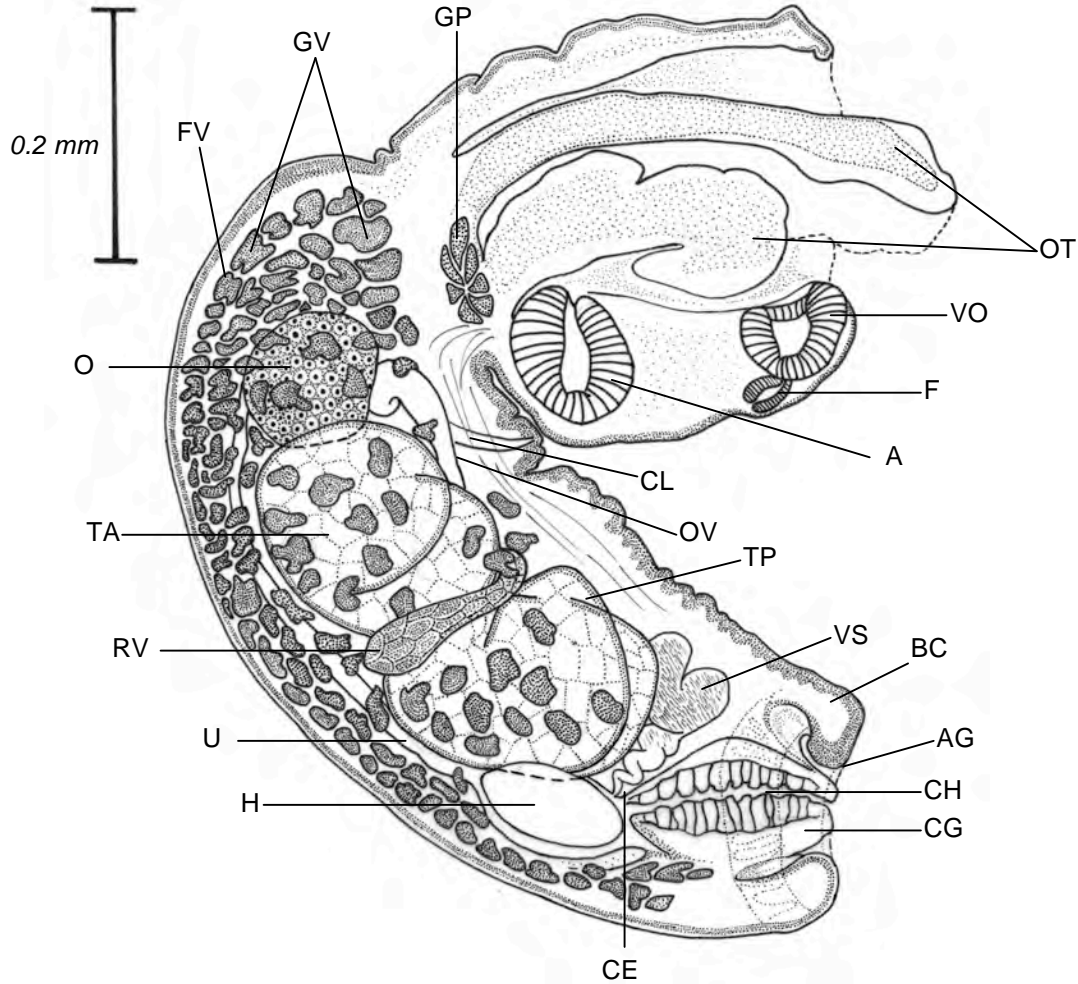


Fig. 4. Esquema general de *Australapatemon burti* (Miller, 1923). Vista lateral. *Abreviaturas:* acetábulo (A), atrio genital (AG), bursa copulatriz (BC), conducto eyaculador (CE), canal hermafrodita (CH), canal de Laurer (CL), cono genital (CG), faringe (F), foliculos vitelinos(FV), glándula proteolítica (GP), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovário (O), órgano tribocítico (OT), oviducto (OV), receptáculo seminal (RS), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), ventosa oral (VO), vesícula seminal (VS).

Discusión

Los ejemplares colectados fueron asignados al género *Australapatemon* por presentar un canal hermafrodita largo y muscular dentro de un cono genital muy musculoso, con paredes plegadas (Niewadomska, 2002). Los ejemplares colectados presentan la faringe y el cono genital pequeños, rasgos morfológicos que comparten *A. burti* y *A. minor* al igual que otras medidas de estructuras morfológicas. Sin embargo, al evaluar la relación de la longitud total del parásito entre el diámetro medio de los testículos, los ejemplares se identificaron como *A. burti*, especie ampliamente distribuida en Norteamérica (Dubois, 1968). Soto-Méndez (2006) mencionó a *Apatemon (Australapatemon) minor* como parásito de *Anas diazi* en la laguna de Chiconahuapan, Estado de México. Por lo tanto para confirmar la determinación taxonómica de *Apatemon (Australapatemon) minor*, los ejemplares depositados en la CNHE (No cat. 5703) se revisaron nuevamente. Concluimos que dichos ejemplares pertenecen a la especie *A. burti*, por que la relación de la longitud total del parásito entre el diámetro medio de los testículos concuerda con el intervalo propuesto por Dubois (1968) para la especie *A. burti*, además de que *A. minor* tiene una distribución exclusivamente Euroasiática (Dubois, 1968), (ver Tabla 5). En el presente trabajo registramos por primera vez *A. burti* para México y al pato tepalcate (*Oxyura jamaicensis*) como un nuevo hospedero.

Tabla 5. Comparación de los ejemplares clasificados como *Australapatemon burti* (Miller, 1923). Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS, 1968	SOTO-MENDEZ, 2006	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	1.9	0.99-1.36 (1.21)	1.014-2.100(1.548±0.459)
Segmento anterior (SA)	0.30-0.69/ 0.28-0.51	0.35-0.50(0.44)/ 0.38-0.50 (0.46)	0.320-0.770(0.565±0.173)/ 0.345-0.602(0.457±0.082)
Segmento posterior (SP)	0.66-1.30/ 0.33-0.57	0.62-0.88(0.77)/ 0.37-0.52 (0.44)	0.558-1.400(0.956±0.308)/ 0.263-0.602(0.433±0.117)
Relación SP/SA	1:1.10-2.36	1:1.73-1.78(1.76)	1:1.260-2.016(1.767±0.265)
Ventosa oral	0.090-0.135/ 0.065-0.135	0.08-0.1(0.09)/ 0.06-0.09 (0.07)	0.078-0.126(0.100±0.016)/ 0.067-0.133(0.096±0.020)
Acetábulo	0.090-0.170	0.08-0.17(0.11)/ 0.08-0.12 (0.1)	0.068-0.183(0.125±0.027)/ 0.090-0.170(0.128±0.018)
Faringe	0.036-0.055	0.037-0.04(0.039)	0.035-0.086(0.056±0.016)/ 0.030-0.076(0.050±0.013)
Ovario	0.070-0.120/ 0.090-0.165	0.10-0.019(0.13)/ 0.06-0.1 (0.08)	0.079-0.140(0.103±0.016)/ 0.072-0.168(0.118±0.027)
Testículo anterior	0.153-0.260/ 0.200-0.305	0.18-0.25(0.20)/ 0.09-0.17 (0.13)	0.127-0.364(0.247±0.082)/ 0.117-0.322(0.215±0.071)
Testículo posterior	0.215-0.260/ 0.215-0.315	0.19-0.25(0.21)/ 0.12-0.22 (0.17)	0.107-0.434(0.253±0.102)/ 0.120-0.378(0.243±0.086)
Huevos	0.090-0.120/ 0.060-0.081	0.096-0.112/ 0.04-0.05	0.084-0.132(0.100±0.014)/ 0.057-0.074(0.064±0.006)
Cono genital	0.145-0.200/ 0.110-0.155	0.150-0.175/ 0.120	0.130-0.262(0.158±0.044)/ 0.073-0.129(0.093±0.016)
Situación del ovario	7-26/100	16/100-20/100	9.638/100-22.616/100 (16.801±3.390)
Longitud total/diámetro medio de los testículos	4.8-7	5.3-7.7	5.432-10.076(6.564±1.253)
Localidad	Nueva York, Wisconsin, Michigan	Chiconahuapan, Estado de México	Chiconahuapan, Estado de México; Guerrero Negro, Baja California Sur; y Guatimape, Durango
Hospederos	<i>Anas americana</i> , <i>A. platyrhynchos</i> , <i>A. discors</i>	<i>Anas diazi</i>	<i>Anas cyanoptera</i> , <i>Anas diazi</i> , <i>Anas americana</i> y <i>Oxyura jamaicensis</i>

Género: *Cardiocephaloides* Sudarikov, 1959

Cardiocephaloides medioconiger Dubois & Viguera, 1949

La siguiente redescrición se basa en tres ejemplares colectados del intestino de la gaviota *Larus occidentalis*, en la Laguna de Guerrero Negro, Baja California Sur y en dos ejemplares del ave *Larus* sp. proveniente de la Laguna de Términos, Campeche (Figura 5). *Cardiocephaloides medioconiger* es un estrigeido con el cuerpo dividido en dos segmentos separados por una constricción bien marcada. La longitud total del parásito es de 8.634 a 9.504mm (9.001 ± 0.451). El segmento anterior, con forma de bulbo, es más ancho en la base debido a las extensiones laterales del órgano tribocítico; mide 1.463 a 1.689mm (1.549 ± 0.122) de largo por 1.121 a 1.354mm (1.202 ± 0.132) de ancho. El segmento posterior es subcilíndrico, su anchura máxima es al nivel de los testículos, mide 7.171 a 7.815mm (7.452 ± 0.330) de largo por 0.928 a 1.144mm (1.053 ± 0.112) de ancho. La relación del segmento posterior entre el anterior es de 1:4.627- 4.927 (4.818 ± 0.166). Los órganos reproductores se localizan a partir de la segunda mitad del segmento posterior. Los testículos, en *tándem* y más anchos que largos, son multilobulados. El testículo anterior mide 0.546 a 0.590mm (0.565 ± 0.023) de largo por 0.626 a 0.700mm (0.658 ± 0.038) de ancho. El testículo posterior mide 0.299 a 0.592mm (0.490 ± 0.166) de longitud por 0.421 a 0.713mm (0.594 ± 0.154) de ancho y tiene dos lóbulos principales que a su vez están lobulados. La relación de la longitud de la zona testicular entre la distancia del ovario al extremo posterior del cuerpo es de 0.374-0.434(0.403 ± 0.269). El ovario es reniforme y se encuentra anterior a los testículos; su situación en el segmento posterior es de 55.309/100 a 58.908/100 ($57.543/100 \pm 1.950$) y mide 0.215 a 0.536mm (0.358 ± 0.163) de largo por 0.312 a 0.624mm (0.446 ± 0.161) de ancho. Las glándulas vitelógenas están restringidas al segmento posterior y se extienden en hileras desde el cuello de dicho segmento hasta la base de la bursa copulatrix. El receptáculo vitelino es intertesticular. Los huevos ovoides y de cáscara amarillenta, miden 0.118 a 0.128mm (0.123 ± 0.005) de largo por 0.071 a 0.084mm (0.076 ± 0.007) de ancho. La bursa copulatrix es

muy grande, con paredes musculosas muy plegadas, mide 1.140 a 1.227mm (1.197 ± 0.049) de largo por 0.526 a 0.707mm (0.622 ± 0.091) de ancho. La relación del segmento posterior entre la bursa copulatriz es de 5.847-6.463 (6.231 ± 0.335). El atrio genial es sinuoso y largo, siendo bastante ancho en la parte final del cuerpo. La relación de la longitud de la bursa copulatriz entre la distancia del ovario al extremo posterior del cuerpo es de 0.377-0.383(0.379 ± 0.251). Algunas estructuras no pudieron ser observadas (ventosa oral, acetábulo, faringe, glándula proteolítica y cono genital), (Tabla 6).

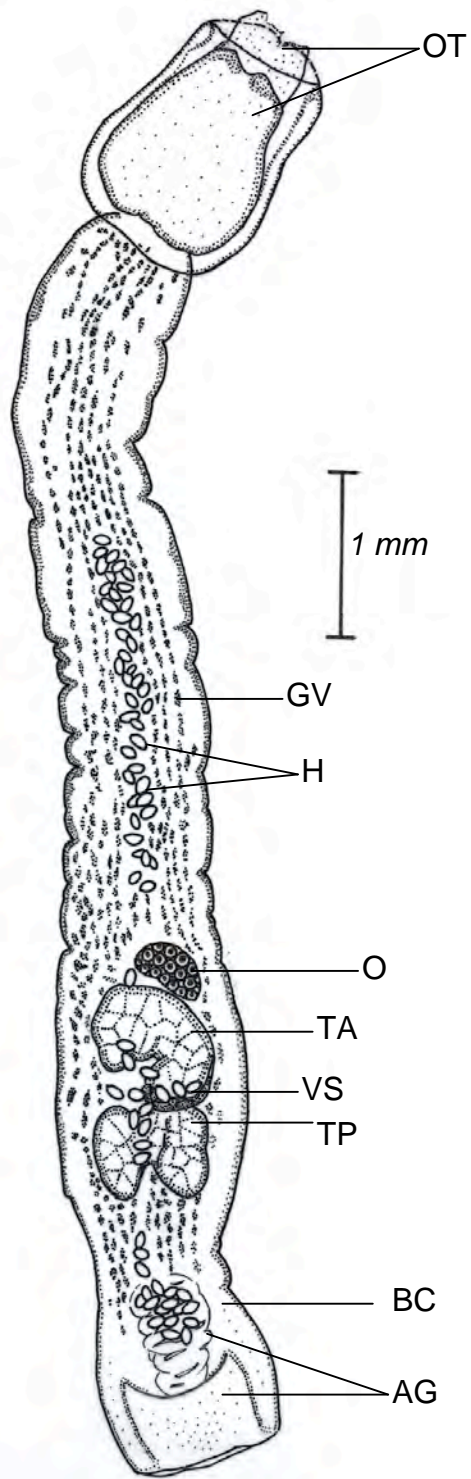


Fig. 5. Esquema general de *Cardiocephaloides medioconiger* Dubois & Viguera, 1949 Vista lateral. Abreviaturas: atrio genital (AG), bursa copulatriz (BC), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovario (O), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), vesícula seminal (VS).

Discusión

El género *Cardiocephaloides* se caracteriza por tener el segmento posterior muy largo, de 4 a 8.5 veces más grande que el segmento anterior, con las glándulas vitelógenas restringidas al segmento posterior y por tener una bursa copulatriz protusible (Niewadomska, 2002). Con base en lo anterior, nuestros ejemplares se incorporaron a dicho género. Asimismo, pertenecen a *C. medioconiger* porque sus medidas y en especial las relaciones de longitud entre los órganos y segmentos coinciden con el intervalo de medidas diagnósticas de la especie dadas por Dubois (1968); no obstante, los ejemplares colectados en Guerrero Negro, difieren en el ancho máximo del atrio genital al final del segmento posterior, diferencia que puede atribuirse al manejo de los ejemplares durante su fijación, tinción y montaje o a la plasticidad fenotípica en esta estructura. La asignación de importancia taxonómica a este carácter solo podrá realizarse mediante el estudio de un mayor número de ejemplares. Los digéneos de este género son parásitos específicos de las familias de aves Laridae y Spheniscidae. La especie *C. medioconiger* se distribuye en las Antillas, América Central, el Golfo de México y en la costa este de Estados Unidos de América (Dubois & Macko, 1972). En México se ha registrado *C. medioconiger* en el intestino de *Rhynchops niger* en el Río Tecolutla, Veracruz (Hernández-Rodríguez, 1995). Este nuevo registro representa la primera descripción de la especie en la costa del Pacífico.

Tabla 6. Comparación de los ejemplares clasificados como *Cardiocephaloides medioconiger* Dubois & Viguera, 1949. Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS, 1968	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	9	8.634-9.504(9.001±0.451)
Segmento anterior (SA)	0.63-1.50/ 0.45-1.36	1.463-1.689(1.549±0.122)/ 1.121-1.354(1.202±0.132)
Segmento posterior (SP)	2.13-7.50/ 0.50-1.40	7.171-7.815(7.452±0.330)/ 0.928-1.144(1.053±0.112)
Relación SP/SA	1:2.5-5	1:4.627-4.927(4.818±0.166)
Ovario	0.150-0.278/0.217-0.300	0.215-0.536(0.358±0.163)/ 0.312-0.624(0.446±0.161)
Testículo anterior	0.240-0.560/0.410-0.707	0.546-0.590(0.565±0.023)/ 0.626-0.700(0.658±0.038)
Testículo posterior	0.285-0.578/0.500-0.750	0.299-0.592(0.490±0.166)/ 0.421-0.713(0.594±0.154)
Huevos	0.096-0.131/0.063-0.078	0.118-0.128(0.123±0.005)/ 0.071-0.084(0.076±0.007)
Bursa Copulatriz (BC)	0.6-1.6	1.140-1.227(1.197±0.049)/ 0.526-0.707(0.622±0.091)
Situación del ovario	50/100	55.309-58.908/100 (57.543±1.950)
Relación SP/ BC	4.6-5.5	5.847-6.463(6.231±0.335)
Relación longitud zona testicular/ distancia OV- extremo del cuerpo	0.32-0.38	0.374-0.434(0.403±0.269)
Relación longitud BC/distancia OV- extremo del cuerpo	0.35-0.58	0.377-0.383(0.379±0.251)
Localidad	Habana, Cuba	Guerrero Negro, B. C. S. y Laguna de Terminos, Campeche
Hospedero	<i>Larus argentatus</i>	<i>Larus occidentalis</i> y <i>Larus</i> sp.

Género: *Cotylurus* Szidat, 1928

Cotylurus gallinulae (Lutz, 1928) Dubois, 1937

La redescrición de esta especie es basada en cinco ejemplares maduros que fueron localizados en el intestino del pato *Aythya affinis*, colectado en la Esperanza, Sonora (Figura 6 y 7). La longitud total del parásito va desde 1.848 a 2.156mm (2.055 ± 0.123). Los dos segmentos en los que se divide el cuerpo están separados por una constricción. El segmento anterior mide 0.658 a 0.756mm (0.734 ± 0.043) de largo por 0.504 a 0.749mm (0.662 ± 0.096) de ancho, tiene forma globular o esférica con una pequeña abertura oblicua en la zona anterior, que conecta con el órgano tribocítico; presenta además una pseudoventosa preacetabular, ovoide, muy grande y visible que mide 0.322-0.490mm (0.409 ± 0.078) de largo por 0.350-0.420mm (0.378 ± 0.038) de ancho. El segmento posterior es subcilíndrico y está ligeramente curvado dorsalmente; mide 1.190 a 1.400mm (1.322 ± 0.084) de largo por 0.504 a 0.700mm (0.647 ± 0.083) de ancho. La relación entre el segmento posterior y el segmento anterior es de 1:1.704-1.852 (1.802). La glándula proteolítica no se observa. La ventosa oral se localiza en el segmento anterior en posición terminal; es elíptica y mide 0.117 a 0.135mm (0.129 ± 0.008) de largo por 0.093 a 0.114mm (0.107 ± 0.009) de ancho. Es ligeramente más pequeña que el acetábulo, el cual es muscular, redondo y subecuatorial, mide 0.117 a 0.174mm (0.143 ± 0.024) de largo por 0.114 a 0.132mm (0.124 ± 0.008) de ancho. La relación entre el acetábulo y la ventosa oral es 1:1.023 a 1:1.318 (1:1.136). La boca se abre en el centro de la ventosa oral, conectando con una faringe ovoide relativamente pequeña de 0.072 a 0.126mm (0.103 ± 0.028) de largo por 0.057 a 0.125mm (0.0983 ± 0.036) de ancho. Los aparatos reproductores se localizan en el segmento posterior. Los testículos son postováricos, trilobulados, con lóbulos profundos dirigidos hacia la parte posterior del cuerpo; el testículo anterior mide de 0.266 a 0.392mm (0.333 ± 0.048) de longitud máxima por 0.280 a 0.406mm (0.330 ± 0.050) de anchura, mientras que el testículo posterior mide 0.294 a 0.406mm (0.364 ± 0.042) de largo por 0.266 a 0.322mm (0.297 ± 0.023) de ancho. En la zona posterior de los lóbulos del testículo

posterior se ubica la vesícula seminal que es pequeña y conspicua; de ella surge el conducto eyaculador. El ovario se sitúa anterior a los testículos, es ovoide, mide 0.090 a 0.135mm (0.113 ± 0.017) de longitud por 0.096 a 0.114mm (0.104 ± 0.009) de anchura, y se localiza entre 7.000/100 y 9.412/100 (7.675/100) de la longitud total del segmento. El oviducto sale posterior al ovario y se dirige por el borde ventral del testículo anterior; el canal de Laurer está situado ventralmente. El receptáculo seminal es globular y se ubica entre el testículo anterior y el testículo posterior. Las glándulas vitelógenas están muy desarrolladas, formando folículos vitelinos muy densos que se localizan dorsalmente a lo largo de todo el segmento posterior y se extienden en el segmento anterior llegando hasta el nivel del borde posterior del acetábulo, con algunos folículos sobrepuestos al órgano tribocítico. El receptáculo vitelino es alargado y se localiza al final del extremo posterior del testículo anterior, junto al receptáculo seminal. Los huevos (de cuatro hasta 18 por ejemplar), miden 0.081 a 0.090mm (0.086 ± 0.003) de longitud por 0.048 a 0.060mm (0.056 ± 0.005) de ancho. El útero se une con el conducto eyaculador formando el conducto hermafrodita, el cual se abre al exterior por un poro genital subterminal que está rodeado dorsalmente por un bulbo genital globular (0.090-0.135mm (0.117 ± 0.016) de longitud por 0.063-0.090mm (0.076 ± 0.010) de anchura), protusible y muscular, dentro de una bursa copulatrix que abre ventralmente. El atrio genital es poco profundo.

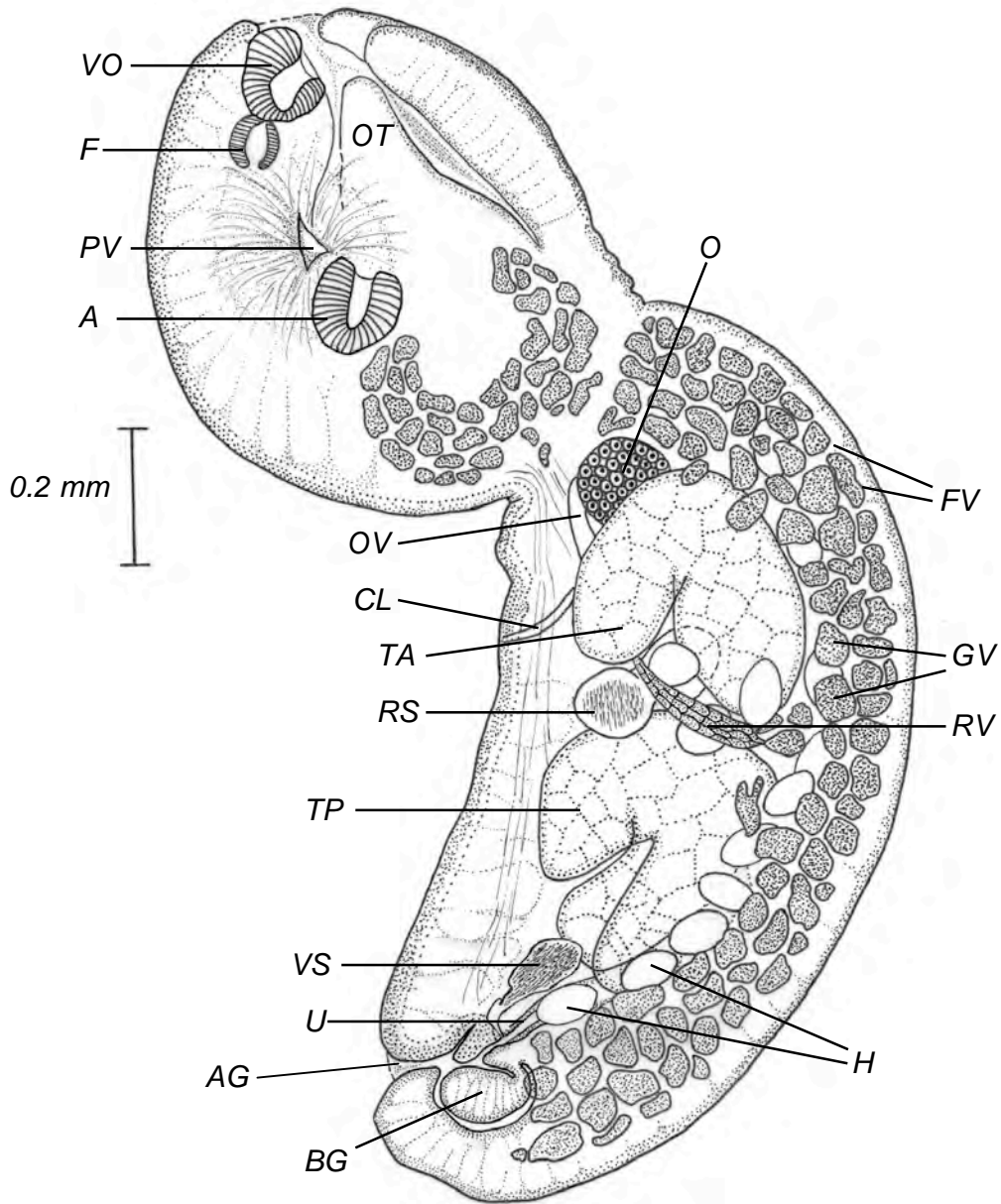


Fig. 6. Esquema general de *Cotylurus gallinulae* (Lutz, 1928) Dubois, 1937. Vista lateral. *Abreviaturas:* acetábulo (A), atrio genital (AG), bulbo genital (BG), canal de Laurer (CL), faringe (F), folículos vitelinos (FV), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), pseudoventosa (PV), ovário (O), órgano tribocítico (OT), oviducto (OV), receptáculo seminal (RS), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), ventosa oral (VO), vesícula seminal (VS).

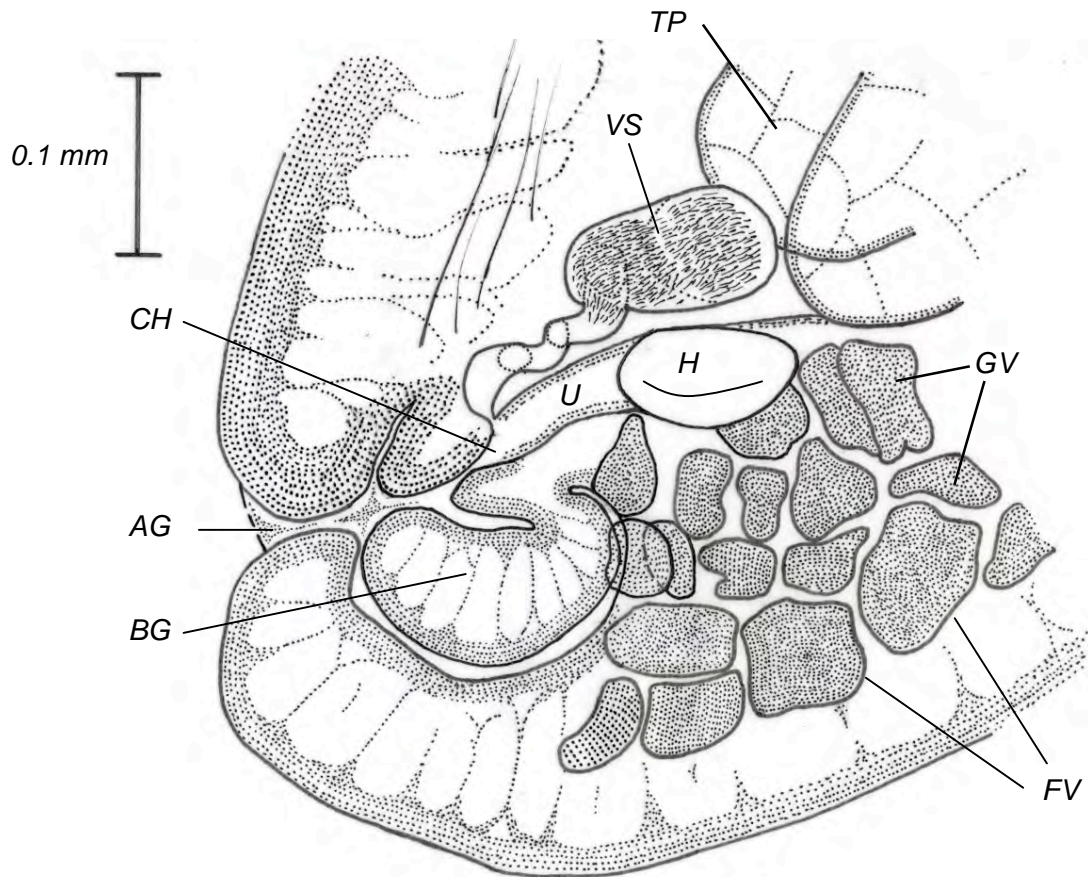


Fig. 7. Extremo posterior de *Cotylurus gallinulae* (Lutz, 1928) Dubois, 1937. Vista lateral. *Abreviaturas:* atrio genital (AG), bulbo genital (BG), canal hermafrodita (CH), folículos vitelinos(FV), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), testículo posterior (TP), útero (U), vesícula seminal (VS).

Discusión

Los ejemplares estudiados pertenecen al género *Cotylurus* Szidat, 1928, debido a que presentan un bulbo genital protusible en la región posterior del cuerpo (McDonald, 1981). La composición del género ha sido objeto de controversias; Dubois (1968) reconoció 12 especies y seis subespecies en el género, cuatro para *C. gallinulae* y dos para *C. platycephalus*. Sin embargo, Yamaguti (1971) las consideró como especies válidas e incluyó siete especies más. Posteriormente se describieron *C. magniacetabulus* Dubois & Angel, 1972, y *C. sullivanii* Palmieri, 1972. No obstante, algunas especies han sido transferidas a *Ichthyocotylurus* Odening, 1969 debido a diferencias en el segundo hospedero intermediario que interviene en su ciclo de vida (peces en *Ichthyocotylurus* vs. sanguijuelas y gasterópodos en *Cotylurus*) y con base en la morfología de los testículos (multilobulados y trilobulados, respectivamente; Niewadomska, 2002). Zazornova & Sysoev (1993), en su análisis filogenético del género también consideraron separar al complejo de subespecies de *C. gallinulae* en cuatro especies, por lo que el género se compone, de acuerdo con estos autores, por 17 especies. Las especies incluidas actualmente en el género se identifican con base en los siguientes caracteres: 1) la distribución de las vitelógenas en los segmentos anterior y posterior, 2) el tamaño de la faringe, 3) la posición del ovario con respecto a la longitud total del segmento posterior, 4) el número y la longitud de los huevos, 5) la forma y tamaño de los testículos 6) la forma de los segmentos posterior y anterior así como la relación entre éstos, y 7) la posición de las ventosas y la relación entre el acetábulo y la ventosa oral (Dubois, 1968; MacDonald, 1981). Nuestros ejemplares difieren en 12 de las 17 especies del género por la extensión de las glándulas vitelógenas hasta el segmento anterior; sin embargo, esta característica la comparten con *C. hebraicus*, *C. gallinulae*, *C. magniacetabulus*, *C. rabeii* y *C. strigeoides*. No obstante, *C. rabeii* tiene una abertura en el segmento anterior paralela al eje de dicho segmento y las glándulas vitelógenas se extienden en las paredes y dentro de los lóbulos del órgano tribocítico hasta el nivel de la faringe, rasgo que también se aprecia en *C. magniacetabulus*, la cual posee además un acetábulo significativamente más

grande que la ventosa oral (Dubouis & Angel, 1972; MacDonald, 1981). Al igual que en los ejemplares que analizamos, en *C. hebraicus* y *C. strigeoides* la distribución de los folículos vitelinos dentro del segmento anterior es posterior al acetábulo, sin embargo estas especies no presentan pseudoventosas y la forma del segmento posterior no es globular. Por lo tanto, considerando la distribución de las glándulas vitelógenas y la presencia de pseudoventosas en nuestros ejemplares, así como la forma del segmento anterior, los asignamos a la especie *C. gallinulae* de acuerdo con los criterios establecido por Dubois (1968). Al comparar las medidas de nuestros ejemplares con las descritas por Dubois (1968), (Tabla 7), encontramos que son similares. Sin embargo, presentan algunas variaciones en el tamaño de los ejemplares, en el ancho de los segmentos posterior y anterior, en el ancho de la ventosa oral y del acetábulo, así como también en el diámetro del bulbo genital. Dichas diferencias se pueden atribuir a que nuestros ejemplares son más pequeños que los descritos anteriormente (en donde los que no se refiere el intervalo de la longitud total), así como también a la posición de los ejemplares al obtener las medidas (ventral en el trabajo de Dubois y lateral en el nuestro). Las diferencias morfométricas pueden ser el resultado de la variación intraespecífica debido a que este parásito se encuentra asociado a diferentes hospederos o a la fijación de los ejemplares. Por lo tanto, concluimos que nuestros ejemplares pertenecen a *C. gallinulae*. Para *C. gallinulae* se tienen registros previos en América del Sur (Brasil y Venezuela) y en Cuba (Dubois, 1968). En México, León-Régagnon (1990), registró a *C. gallinulae* parasitando al ave *Gallinula chloropus* (Rallidae), colectada en la ciénaga del río Lerma en San Pedro Tlaltizapan, Estado de México. Sin embargo, dicha autora no clasificó su material en alguna de las cuatro subespecies sugeridas por Dubois (1968). Al re-examinar los ejemplares de León-Régagnon (1990) depositados en la CNHE con número de catálogo 1502 (Figura 8), encontramos que estos ejemplares se caracterizan por presentar folículos vitelinos distribuidos de manera errática por el segmento anterior, el cual es cupuliforme; tienen una longitud total de 2.4mm; el órgano tribocítico posee dos lóbulos muy prolongados que sobresalen de los bordes del segmento anterior; carecen de pseudoventosa; y finalmente, la

relación de la ventosa oral y la faringe es de 45%. Con base en las características anteriores y las descritas con más precisión en el trabajo de León-Régagnon (1990), es posible reasignar los ejemplares colectados en el río Lerma a la subespecie *C. gallinulae hebraicus* según Dubouis (1968), es decir a la especie *C. hebraicus* siguiendo los criterios de Yamaguti (1971) y Zazornova & Sysoev (1993). Por lo tanto, en este trabajo se registra por primera vez a *C. gallinulae* en México, ampliando su distribución a Norte América y además se registra un nuevo hospedero.

Tabla 7. Comparación de los ejemplares clasificados como *Cotylurus gallinulae* (Lutz, 1928) Dubois, 1937. Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS, 1968	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	3	1.848-2.156(2.055±0.123)
Segmento anterior	0.69-1.15/0.84-1.09	0.658-0.756(0.734±0.043)/ 0.504-0.749(0.662±0.096)
Segmento posterior	0.84-1.96/0.54-0.84	1.190-1.400(1.322±0.084)/ 0.504-0.700(0.647±0.083)
Relación SP/SA	1:1.4-1.8	1:1.704-1.852(1.802)
Ventosa oral	0.110-0.154/ 0.130-0.165	0.117-0.135(0.129±0.008)/ 0.093-0.114(0.107±0.009)
Acetábulo	0.130-0.207/ 0.175-0.228	0.117-0.174(0.143±0.024)/ 0.114-0.132(0.124±0.008)
Faringe	0.060-0.070	0.072-0.126(0.103±0.028)/ 0.057-0.125(0.0983±0.036)
Ovario	N.D.	0.090-0.135(0.113±0.017)/ 0.096-0.114(0.104±0.009)
Testículo anterior	N.D.	0.266-0.392(0.333±0.048)/ 0.280-0.406(0.330±0.050)
Testículo posterior	N.D.	0.294-0.406(0.364±0.042)/ 0.266-0.322(0.297±0.023)
Huevos	0.080-0.110/0.053-0.70	0.081-0.090(0.086±0.003)/ 0.048-0.060 (0.056±0.005)
Bulbo genital	0.150	0.090-0.135(0.117±0.016)/ 0.063-0.090(0.076±0.010)
Situación del ovario	N.D.	7-9/100
Localidad	Lago de Valencia, Venezuela	La Esperanza (Sonora)
Hospedero	<i>Gallinula chloropus galeata</i>	<i>Aythya affinis</i>

N.D.= No descrito.

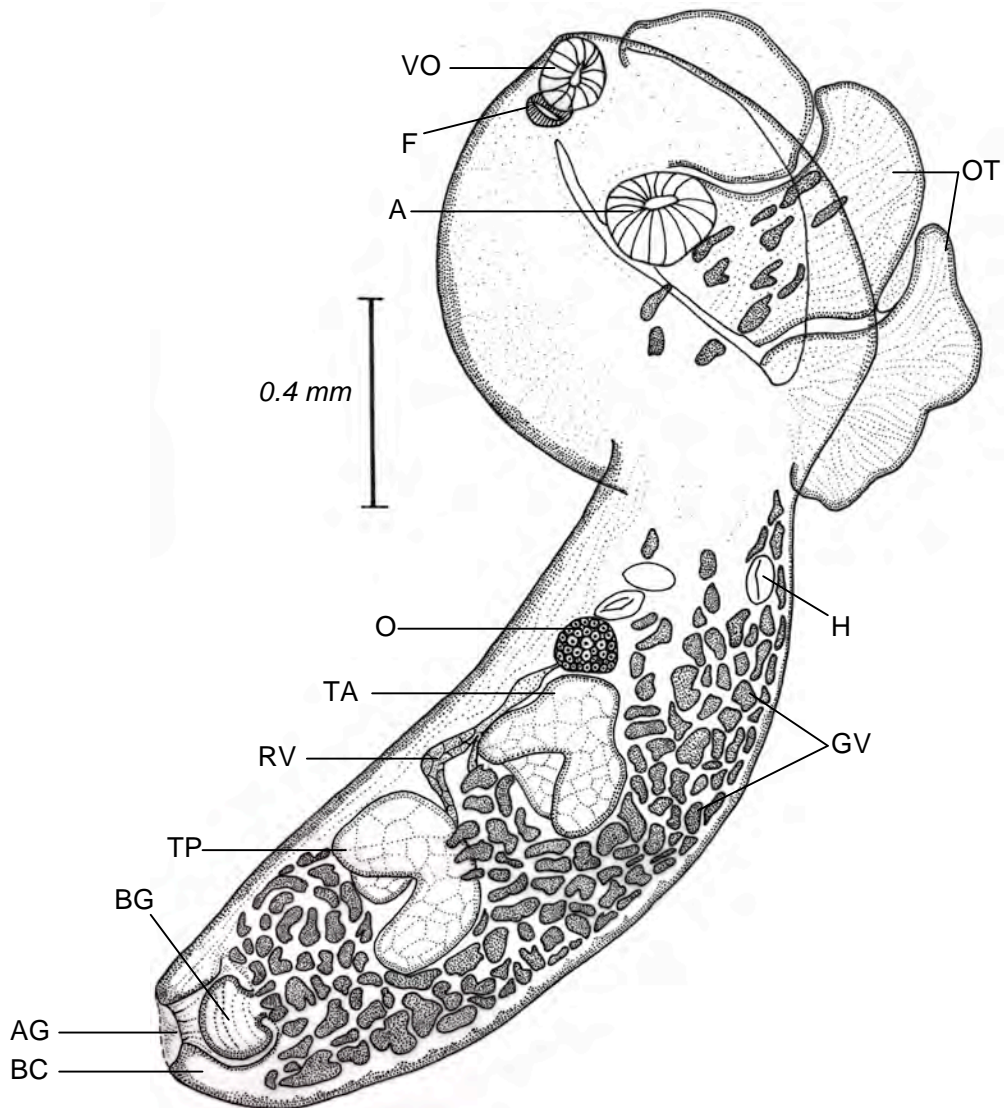


Fig. 8. Esquema general de *Cotylurus hebraicus*. Vista lateral. Abreviaturas: acetábulo (A), atrio genital (AG), bursa copulatrix (BC), bulbo genital (BG), faringe (F), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovário (O), órgão tribocítico (OT), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), ventosa oral (VO).

Género: *Cotylurus* Szidat, 1928

Cotylurus sp.

El único ejemplar utilizado para esta descripción fue colectado en el intestino de la gaviota *Larus occidentalis*, de Guerrero Negro, Baja California Sur (Figura 9). La longitud total de su cuerpo bisegmentado es de 2.099mm. El segmento anterior con forma de copa, mide 0.804mm de largo por 0.699mm de ancho. El órgano tribocítico es bilobulado y no se observó evertido del segmento anterior. El segmento posterior es ligeramente más angosto que el anterior, cilíndrico y contiene los órganos reproductores; mide 1.296mm de largo por 0.609mm de ancho. La relación entre ambos segmentos es de 1:1.612. Los dos testículos en *tandem* son multilobulados. El testículo anterior mide 0.357mm de largo por 0.489mm de ancho. El testículo posterior mide 0.379mm de largo por 0.396mm de ancho. El receptáculo seminal es globular y se conecta con un conducto eyaculador largo, el cual pasa dorsal y a la izquierda del testículo posterior. El ovario pretesticular y redondo mide 0.127mm de longitud por 0.135mm de anchura. La situación del ovario con respecto a la longitud del segmento que lo contiene es de 20.772/100. Las glándulas vitelógenas se extienden por todo el cuerpo, desde la región ecuatorial del segmento anterior hasta el bulbo genital en el segmento posterior y se agrupan con mayor densidad en el dorso del parásito. El receptáculo vitelino es intertesticular, alargado y conspicuo, se posiciona hacia el lado izquierdo del cuerpo. El útero se extiende hasta la mitad del segmento anterior y lleva 19 huevos que miden 0.092 a 0.097mm (0.095 ± 0.004) de largo por 0.075 a 0.078mm (0.077 ± 0.002) de ancho. El bulbo genital mide 0.135mm de largo por 0.147mm de ancho. No se pudieron observar la ventosa oral, la faringe y el acetábulo, lo que dificultó su asignación taxonómica.

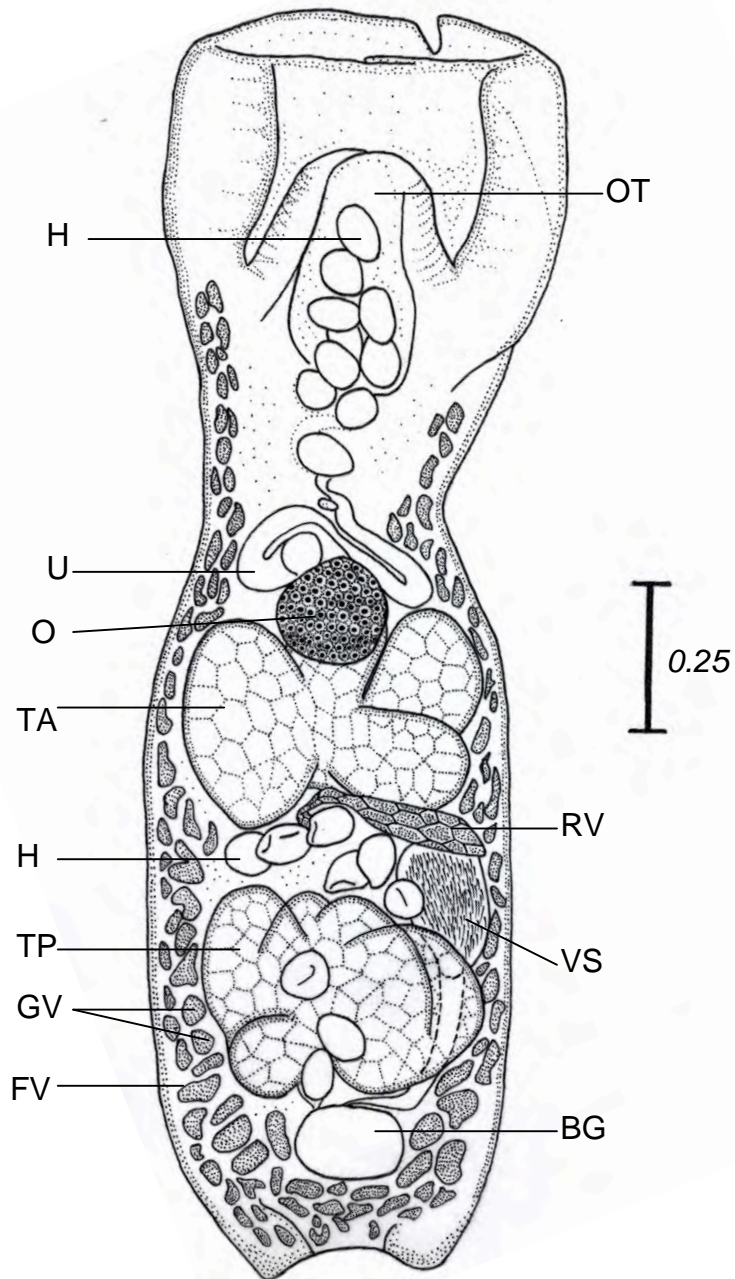


Fig. 9. Esquema general de *Cotylurus* sp. Vista dorso-ventral. *Abreviaturas:* bulbo genital (BG), folículos vitelinos (FV), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovário (O), órgão tribocítico (OT), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), vesícula seminal (VS).

Discusión

El parásito encontrado en la gaviota (*Larus occidentalis*), pertenece al género *Cotylurus* por presentar un bulbo genital en el extremo posterior del cuerpo, al final del conducto hermafrodita (Niewadomska, 2002). Sin embargo, no fue posible asignado a alguna especie, debido a que solo se colectó un ejemplar. Se requiere contar con más ejemplares en los que se aprecien los caracteres diagnósticos que permita su determinación taxonómica. Sin embargo, observamos que las glándulas vitelógenas se extiende hasta el segmento anterior, rasgo morfológico permite relacionar a nuestro ejemplar con especies como: *Cotylurus hebraicus*, *C. gallinulae*, *C. magniacetabulus*, *C. rabeii* y *C. strigeoides*. No obstante, en *C. magniacetabulus* y en *C. rabeii* las glándulas vitelógenas se distribuyen a través de las paredes y dentro de los lóbulos del órgano tribocítico hasta el nivel de la faringe. Dado que no está provisto de una pseudoventosa visible y por la forma de copa del segmento anterior, se descarta que sea *C. gallinulae*. En *C. hebraicus* los folículos vitelinos se extienden esporádicamente por el segmento anterior. Al igual que en el digéneo que analizamos en *C. strigeoides* la distribución de dichos folículos es subecuatorial posterior al acetábulo. Es importante resaltar que la presencia de huevos y por lo tanto la extensión del útero hasta el segmento anterior, es una característica que no se había observado antes en miembros de Strigeidae, por lo que queda en duda si este es un nuevo carácter diagnóstico para el ejemplar o si es una alteración en la morfología atribuible a la manipulación del digéneo al momento de ser montado para su observación.

Familia: Strigeidae Railliet, 1919

Subfamilia: Strigeinae Railliet, 1919

Tribu: Strigeini Railliet, 1919

Género: *Apharyngostrigea* Ciurea, 1927

Apharyngostrigea cornu (Zeder, 1800) Ciurea, 1927

La siguiente redescrición se basa en cuatro ejemplares que fueron colectados en la garza blanca *Ardea alba* en la laguna Tres Palos, Guerrero (Figura 10). El cuerpo es bisegmentado y su longitud total es de 1.862 a 2.826mm (2.401 ± 0.454). El segmento anterior tiene forma semiglobular o de copa; mide 0.587 a 0.801mm (0.721 ± 0.094) de largo por 0.617 a 0.739mm (0.665 ± 0.053) de ancho y está fuertemente flexionado ventralmente hacia el segmento posterior. El segmento posterior cilíndrico, alargado y curvado dorsalmente en la región pre-ovárica, es siempre más estrecho que el segmento que le antecede del cual está separado por una constricción notoria; mide 1.275 a 2.025mm (1.680 ± 0.384) de largo por 0.402 a 0.478mm (0.436 ± 0.032) de ancho. La relación del segmento posterior entre el segmento anterior es de 1:1.876-2.718 (2.324 ± 0.374). Los dos lóbulos del órgano tribocítico sobresalen en el margen superior del segmento anterior. No se observa la glándula proteolítica. La ventosa oral subterminal, ovoide y muscular mide 0.116-0.137mm (0.129 ± 0.011) de largo por 0.097-0.128mm (0.110 ± 0.016) de ancho. El acetábulo muscular y elíptico, se localiza en posición ecuatorial y mide 0.166 a 0.215mm (0.198 ± 0.022) de longitud por 0.111 a 0.128mm (0.120 ± 0.007) de anchura. La relación entre las ventosas es de 1:1.508-1.795 (1.622 ± 0.152). Carecen de faringe. Los dos testículos dispuestos en *tandem* son multilobulados. El testículo anterior mide 0.231 a 0.283mm (0.251 ± 0.025) de longitud por 0.155 a 0.236mm (0.203 ± 0.035) de ancho. El testículo posterior mide 0.197 a 0.331mm (0.238 ± 0.063) de longitud por 0.166 a 0.234mm (0.203 ± 0.029)

de anchura. La vesícula seminal es lobulada y se ubica por debajo del borde posterior de los lóbulos del testículo posterior. El ovario pretesticular es reniforme, su longitud va de 0.132 a 0.220mm (0.177 ± 0.047) mientras que su anchura es de 0.127 a 0.169mm (0.145 ± 0.020) y su posición con respecto al segmento en donde se localiza es de 28.132/100 a 52.687/100 (37.883 ± 11.393). Las glándulas vitelógenas son escasas o ausentes en la región testicular y del ovario, en la zona ventral del segmento posterior y entre la unión de los dos segmentos, pero son muy densas en el resto del cuerpo del digéneo; en el segmento anterior se introducen desde la base del órgano tribocítico y su distribución supera el borde anterior de la ventosa oral, mientras que en el segmento posterior se extienden desde la constricción intersegmentaria hasta la bursa copulatrix. El receptáculo vitelino es intertesticular. El útero se ubica dorsalmente transporta numerosos huevos ovoides que miden 0.084-0.102mm (0.095 ± 0.009) de largo por 0.060-0.073mm (0.065 ± 0.006) de ancho. La bursa copulatrix es relativamente pequeña y el atrio genital profundo.

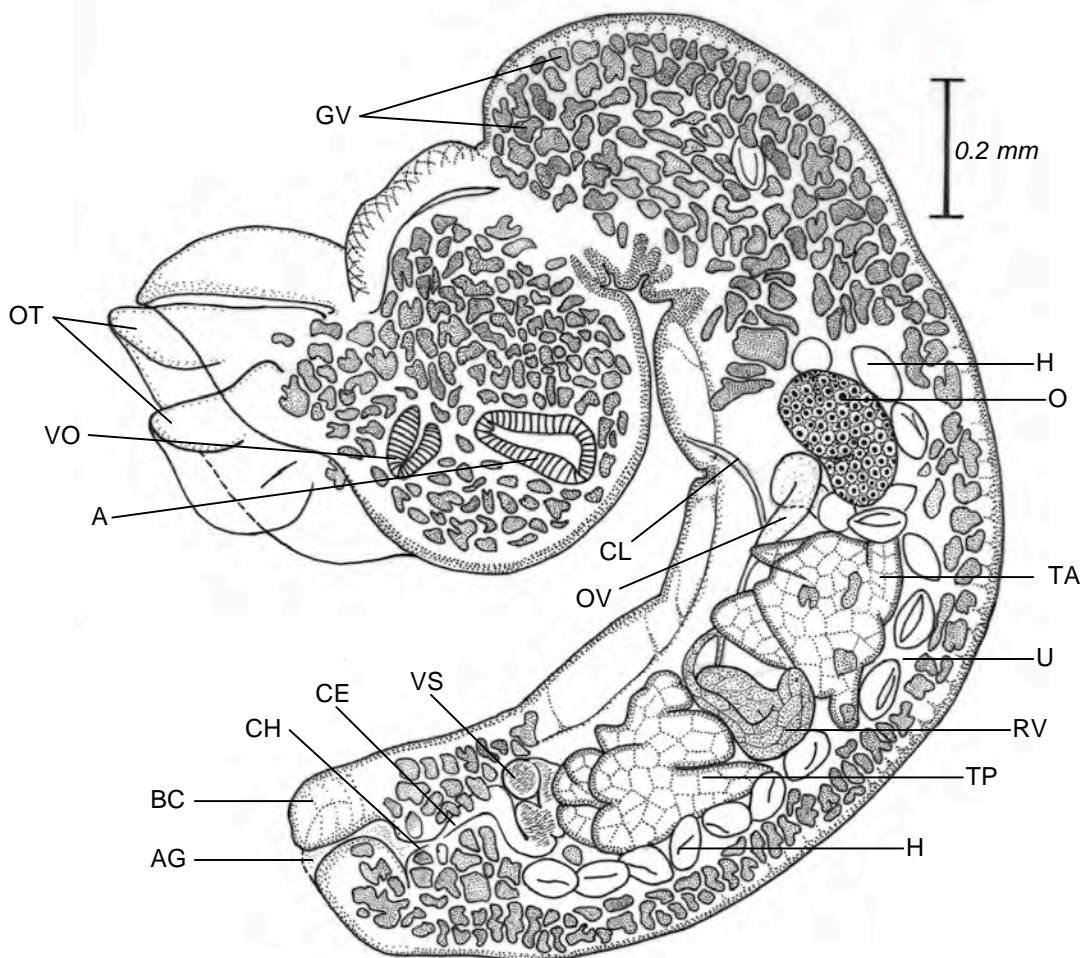


Fig. 10. Esquema general de *Apharyngostrigea cornu* (Zeder, 1800) Ciurea, 1927. Vista lateral. *Abreviaturas:* acetábulo (A), atrio genital (AG), bursa copulatrix (BC), conducto eyaculador (CE), canal hermafrodita (CH), canal de Laurer (CL), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovário (O), órgano tribocítico (OT), oviducto (OV), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), ventosa oral (VO), vesícula seminal (VS).

Discusión

Apharyngostrigea se caracteriza por carecer de faringe, siendo un género con una alta especificidad hospedatoria en aves de la familia Ardeidae (garzas) (Dubois 1938). Las especies del género se separan tomando en cuenta las siguientes características: 1) distribución de las glándulas vitelógenas, 2) longitud total del parásito, 3) situación del ovario, 4) posición y forma de la glándula proteolítica (Dubois, 1968). Los ejemplares analizados se clasifican como *A. cornu* porque sus glándulas vitelógenas son muy abundantes en los dos segmentos corporales y porque el ovario se ubica en el intervalo de 27-49/100 del segmento posterior con respecto a su longitud. Además, el resto de los caracteres morfométricos de los ejemplares del presente estudio, concuerdan con los mencionados para esta especie por Dubois (1968), (Tabla 8). Para México se cuenta con el registro de *Apharyngostrigea multiovata* en el Lago de Pátzcuaro en tres aves de la familia Ardeidae (*Ardea alba*, *Egretta thula* y *Nycticorax nycticorax*) (Ramos-Ramos, 1994). Sin embargo, la revisión y comparación de los ejemplares identificados como *A. multiovata* (CNHE 1403, 1404 y 1405), permitió reasignarlos a la especie *Apharyngostrigea cornu*, debido a que las glándulas vitelógenas que se extienden hasta el segmento anterior son muy densas por todo el segmento llegando hasta el nivel del borde anterior de la ventosa oral, así como la coincidencia del resto de la morfometría con la de *A. cornu*. Previamente el Dr. Juan Violante depositó ejemplares identificados como *Apatemon gracilis* en la CNHE (no de catálogo 5004), de la misma localidad y hospedero de los ejemplares colectados en el presente estudio. Una revisión morfológica de este material permitió reidentificarlos como *A. cornu* ya que las glándulas vitelógenas se distribuyen ampliamente dentro del segmento anterior, estado de carácter que no se presenta en la especie *A. gracilis*. Por lo tanto se concluye que el único estrigeido específico de ardeidos que se distribuye en México, hasta ahora registrado, es *A. cornu* y se confirma la especificidad hospedatoria de este género para aves de la familia Ardeidae en la Laguna de Tres Palos.

Tabla 8. Comparación de los ejemplares clasificados como *Apharyngostrigea cornu* (Zeder, 1800) Ciurea, 1927. Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS, 1968	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	6.3	1.862-2.826(2.401± 0.454)
Segmento anterior (SA)	0.60-2.20/ 0.63-1.70	0.587-0.801(0.721±0.094)/ 0.617-0.739(0.665±0.053)
Segmento posterior (SP)	1.40- 4.50/ 0.27-1.32	1.275-2.025(1.680±0.384)/ 0.402-0.478(0.436±0.032)
Relación SP/SA	1:1.6-5.2	1:1.876-2.718(2.324±0.374)
Ventosa oral	0.100-0.260/ 0.095-0.260	0.116-0.137(0.129±0.011)/ 0.097-0.128(0.110±0.016)
Acetábulo	0.180-0.340/ 0.180-0.360	0.166-0.215(0.198±0.022)/ 0.111-0.128(0.120±0.007)
Ovario	0.100-0.460/ 0.150-0.640	0.132-0.220(0.177±0.047)/ 0.127-0.169(0.145±0.020)
Testículo anterior	0.130-0.720/ 0.220-1.160	0.231-0.283(0.251±0.025)/ 0.155-0.236(0.203±0.035)
Testículo posterior	0.160-0.880/ 0.220-1.200	0.197-0.331(0.238± 0.063)/ 0.166-0.234(0.203±0.029)
Huevos	0.080-0.118/ 0.050-0.075	0.084-0.102(0.095±0.009)/ 0.060-0.073(0.065±0.006)
Situación del ovario	27-49/100	28.132/100 a 52.687/100 (37.883±11.393)

Género: *Parastrigea* Szidat, 1928

Parastrigea cincta (Brandes, 1888) Szidat, 1928

La siguiente descripción está basada en la observación de tres ejemplares colectados del intestino de *Eudocimus albus*, en San Blas, Nayarit (Figura 11). La longitud total de los parásitos es de 4.711-6.030mm (5.309 ± 0.668). El segmento anterior periforme, mide 2.222-2.516mm (2.389 ± 0.151) de largo, por 2.664-2.876mm (2.735 ± 0.122) de ancho; es angosto en la zona anterior ampliándose hacia la base, debido a las expansiones laterales muy prolongadas del lóbulo ventral del órgano tribocítico; dichas expansiones forman dos lóbulos secundarios que se dirigen hacia el segmento posterior. La glándula proteolítica es relativamente pequeña y se ubica en medio de las expansiones laterales del órgano tribocítico, en la unión intersegmentaria. El segmento posterior es subcilíndrico u ovoide y tiene una longitud de 2.938-3.471mm (3.145 ± 0.286) por 1.855-2.295mm (2.096 ± 0.223) de ancho. La relación entre estos dos segmentos es de 1:1.168-1.562(1.325 ± 0.209). Debido a la gran cantidad de glándulas vitelógenas concentradas en el segmento anterior, la ventosa oral, el acetábulo y la faringe son difíciles de observar. Los testículos son multilobulados y casi rectangulares, más anchos que largos. El testículo anterior mide 0.590-0.988mm (0.754 ± 0.208) de largo por 1.296-1.804mm (1.588 ± 0.263) de ancho y el posterior 0.649-0.998mm (0.795 ± 0.181) de largo por 1.258-1.944mm (1.614 ± 0.343) de ancho. El ovario claviforme y alargado transversalmente; tiene una longitud de 0.372-0.475mm (0.426 ± 0.051) y una anchura de 0.788-0.876mm (0.824 ± 0.046). Las glándulas vitelógenas son muy abundantes, recubren las expansiones laterales del órgano tribocítico y se extienden hasta el final del segmento posterior, distribuyéndose desde el dorso, en donde son muy densas, hacia la región ventral del parásito. El receptáculo vitelino es intertesticular y alargado. El útero asciende por detrás del ovario y antes de la unión intersegmentaria vuelve a descender dorsal a los testículos, transporta hacia el exterior numerosos huevos ovoides que miden 0.091-0.108mm (0.099 ± 0.009)/ 0.058-0.074mm (0.067 ± 0.009).

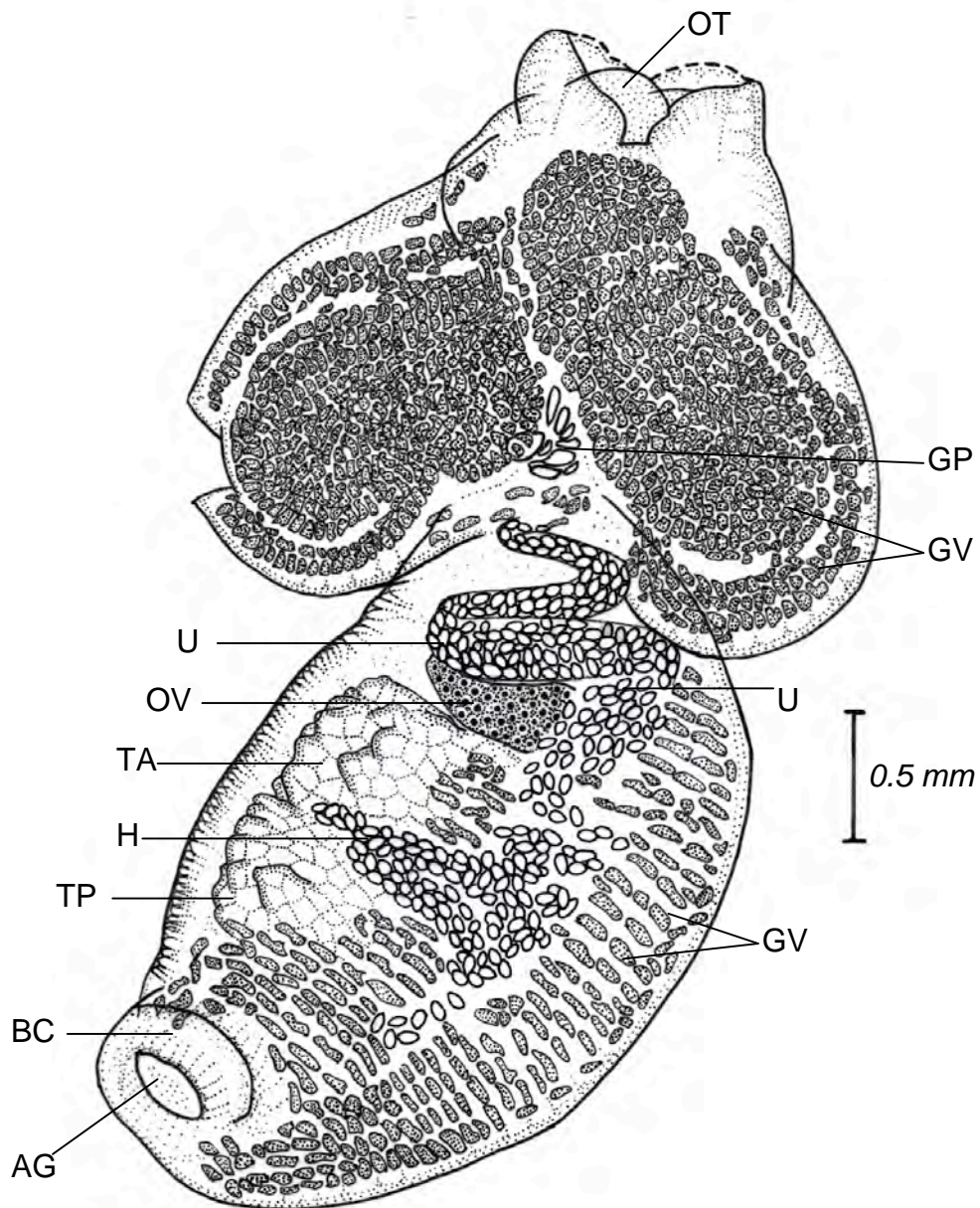


Fig. 11. Esquema general de *Parastrigea cincta* (Brandes, 1888) Szidat, 1928. Vista lateral. *Abreviaturas:* atrio genital (AG), bursa copulatrix (BC), glándulas vitelógenas (GV), huevos (H), ovário (O), órgano tribocítico (OT), oviducto (OV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), vesícula seminal (VS).

Discusión

Los ejemplares colectados en este trabajo se clasificaron como miembros del género *Parastrigea* dado que los folículos vitelinos se acumulan en dos masas simétricas en el segmento anterior (Niewadomska, 2002) y son determinados como *P. cincta* debido a que varias características observadas concuerdan con la descripción de dicha especie presentada por Dubois (1968): 1) el segmento anterior está muy ensanchado debido al gran desarrollo de las expansiones laterales del órgano tribocítico; 2) las glándulas vitelógenas se extienden hasta la bursa copulatriz, son muy densas en el segmento anterior y en la región anterior a la zona testicular; 3) los testículos son multilobulados, y 4) la longitud total del organismo (Tabla 9). Previo a este registro, la especie se distribuía exclusivamente en el sur de América (Brasil y Venezuela), como parásito intestinal de la garza *Ardea* sp. y del ibis de cara roja *Phimosus infuscatus berlepschi* (Dubois, 1968). La presencia de *P. cincta* representa el primer registro para México y se amplía su distribución geográfica y hospedatoria.

Tabla 9. Comparación de los ejemplares clasificados como *Parastrigea cincta* (Brandes, 1888) Szidat, 1928. Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS, 1968	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	7	4.711-6.030(5.309±0.668)
Segmento anterior (SA)	3 (ancho máximo)	2.222-2.516(2.389±0.151)/ 2.664-2.876(2.735±0.122)
Segmento posterior (SP)	2.3 (ancho máximo)	2.938-3.471(3.145±0.286)/ 1.855-2.295(2.096±0.223)
Relación SP/SA	N.D.	1:1.168-1.562(1.325±0.209)
Ovario	N.D.	0.372-0.475(0.426±0.051)/ 0.788-0.876(0.824±0.046)
Testículo anterior	800-1500	0.590-0.988(0.754±0.208)/ 1.296-1.804(1.588±0.263)
Testículo posterior	800-1500	0.649-0.998(0.795±0.181)/ 1.258-1.944(1.614±0.343)
Huevos	80/50	0.091-0.108(0.099±0.009)/ 0.058-0.074(0.067±0.009)
Localidad	Colombia	San Blas, Nayarit
Hospedero	<i>Phimosus infuscatus</i>	<i>Eudocimus albus</i>

N. D.= no descrita

Género: *Parastrigea* Szidat, 1928

Parastrigea diovadena Dubois & Macko, 1972

Se colectaron 18 ejemplares del intestino de *Eudocimus albus* provenientes de varias localidades: 11 de Punta de Piedra, Laguna Madre, Tamaulipas; tres del canal San Cristobal, Nayarit, y cuatro del Huizache, Sinaloa los cuales son inmaduros (Figura 12 y 13). Los parásitos están curvados dorsalmente y la longitud total del cuerpo es de 1.224 a 2.088mm (1.535 ± 0.282). Los segmentos se separan por una constricción. El segmento anterior es sacciforme, puede ser muy alargado y en la base se observan las expansiones simétricas y laterales del órgano tribocítico (Figura 13), mide 0.462 a 0.773mm (0.598 ± 0.113) de largo por 0.362 a 0.561mm (0.462 ± 0.065) de ancho. El segmento posterior subcilíndrico, se adelgaza al nivel de la bursa copulatrix y mide 0.717 a 1.138mm (0.965 ± 0.204) de largo por 0.306 a 0.684mm (0.463 ± 0.113) de ancho. La relación entre ambos segmentos es de 1:1.244-1.849 (1.577 ± 0.180). La ventosa oral subterminal y muscular, mide 0.050 a 0.085mm (0.061 ± 0.014) de largo por 0.041 a 0.078mm (0.058 ± 0.010) de ancho. El acetábulo es ligeramente subecuatorial y muscular; mide 0.071 a 0.132 (0.097 ± 0.021) de longitud por 0.057 a 0.106 (0.084 ± 0.016) de anchura. La relación entre las ventosas es de 1: 1.201-2.175 (1.537 ± 0.318). La faringe está localizada por debajo de la ventosa oral después de la boca; mide 0.036 a 0.061mm (0.048 ± 0.008) de largo por 0.028 a 0.055mm (0.042 ± 0.007) de ancho y representa el 93% del tamaño de dicha ventosa. El órgano tribocítico evertible, es bilobulado; el lóbulo ventral, en general, es más alargado que el dorsal y tiene expansiones laterales. La glándula proteolítica es ovoide, poco visible y se sitúa en la base del órgano tribocítico, cerca de la unión intersegmentaria. Los testículos contiguos, lobulados y postováricos, son más anchos que largos. El testículo anterior mide 0.085-0.193mm (0.137 ± 0.029) de largo por 0.169-0.357mm (0.238 ± 0.069) de ancho y el posterior 0.117-0.255mm (0.167 ± 0.050) de largo por 0.148-0.459mm (0.263 ± 0.090) de ancho. El receptáculo seminal posttesticular es amplio y globoso. El ovario reniforme mide

0.055-0.159mm (0.103 ± 0.031) de largo por 0.085-0.259mm (0.150 ± 0.050) de ancho, su posición en el segmento posterior es de 17.750/100 a 29.302/100 (23.338 ± 3.796) con respecto al extremo anterior del mismo. Las glándulas vitelógenas se distribuyen uniformemente por toda la zona dorsal del cuerpo, desde el nivel del acetábulo hasta la bursa copulatrix. En el segmento anterior, se acumulan en dos masas simétricas localizadas en las expansiones laterales del lóbulo dorsal del órgano tribocítico y en el segmento posterior, son poco densas en la parte ventral y en la zona testicular del parásito. El receptáculo vitelino es intertesticular y alargado transversalmente. El útero se extiende por la región dorsal de los testículos, llevando huevos ovoides que miden 0.073 a 0.091mm (0.083 ± 0.006) de largo por 0.044 a 0.064mm (0.056 ± 0.006) de ancho. El atrio genital es poco profundo.

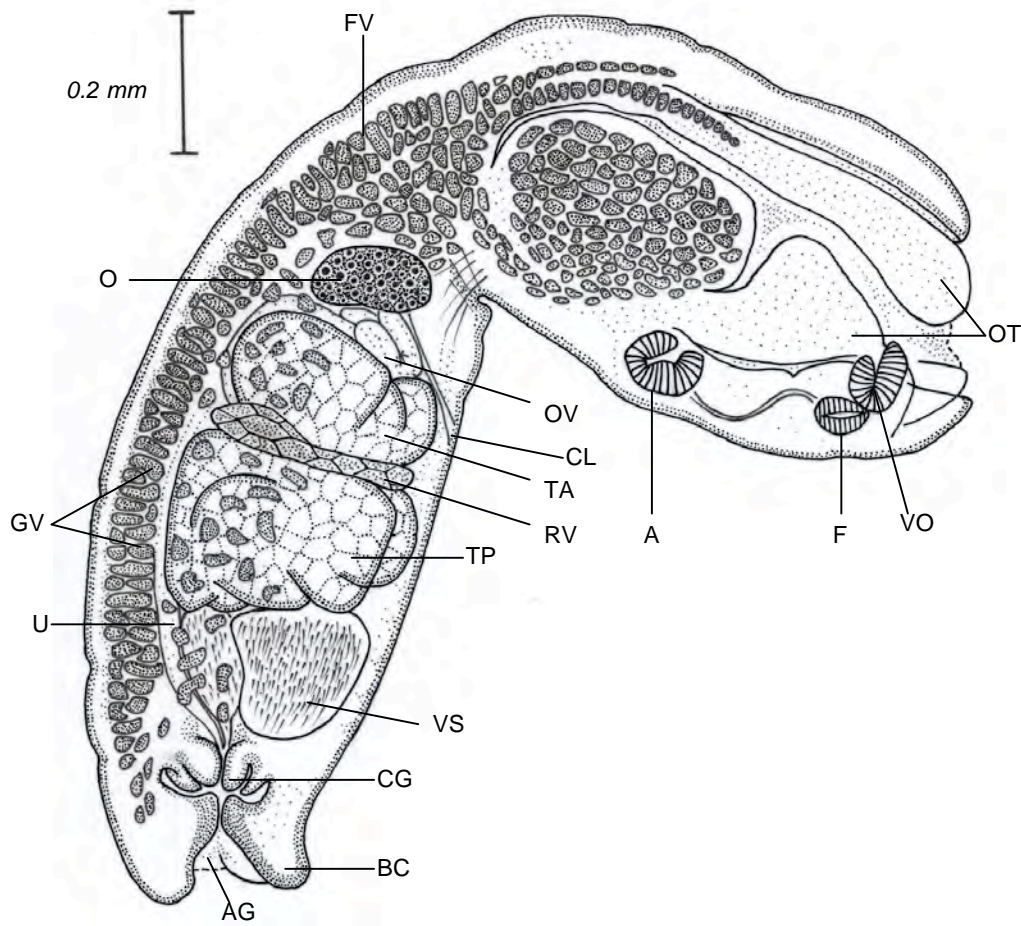


Fig. 12. Esquema general de *Parastrigea diovadena* Dubois & Macko, 1972. Vista lateral. *Abreviaturas:* acetábulo (A), atrio genital (AG), bursa copulatriz (BC), canal de Laurer (CL) cono genital (CG), faringe (F), folículos vitelinos(FV), glándulas vitelógenas (GV), ovário (O), receptáculo vitelino (RV), testículo anterior (TA), testículo posterior (TP), útero (U), ventosa oral (VO), vesícula seminal (VS).

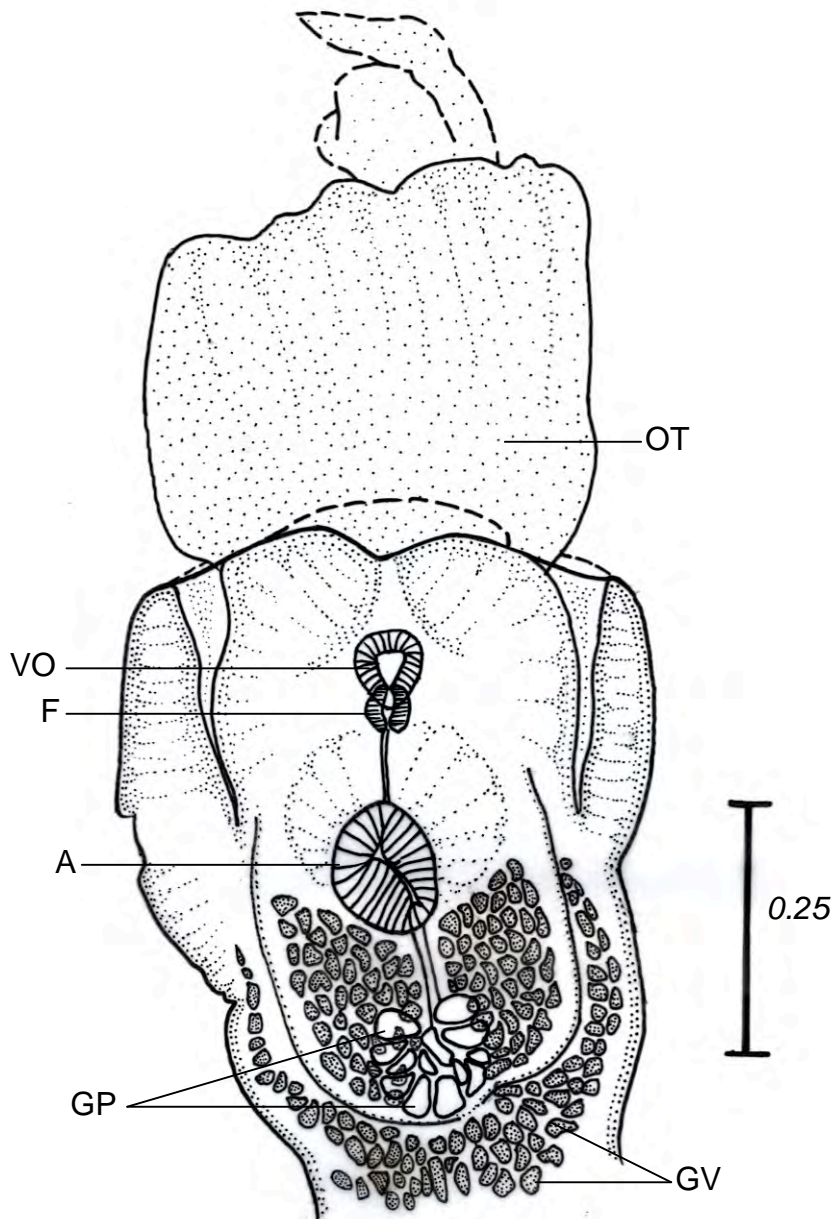


Fig. 13. Extremo posterior de *Parastrigea diovadena* Dubois & Macko, 1972. Vista dorso-ventral. Abreviaturas: acetábulo (A), faringe (F), glándula proteolítica (GP), glándulas vitelogenas (GV), órgano tribocítico (OT), ventosa oral (VO).

Discusión

Los digéneos analizados son asignados a *Parastrigea*, ya que el género se distingue por presentar en el segmento anterior dos acumulaciones simétricas de glándulas vitelógenas en las prolongaciones laterales del lóbulo ventral del órgano tribocítico, rasgo presente en todo el material (Niewadomska, 2002). Se les clasifica como *P. diovadana*, debido a que las relaciones entre distintos órganos y segmentos así como las medidas de las ventosas y la faringe, coinciden con los intervalos reportados en la descripción original de la especie (Dubois & Macko, 1972) (Tabla 10). Sin embargo, el resto de las medidas de los caracteres son ligeramente menores a las registradas por Dubois & Macko (1972), ya que en general, nuestro material es de menor tamaño. Esta especie es específica de *Eudocimus albus*, (Ibis blanco) ya que sólo se ha encontrado en esta ave; antes de este estudio, su distribución geográfica incluía Cuba (Dubois & Macko, 1972) y la costa de Florida, Estados Unidos (Forrester & Spalding, 2003 *in* Dronen & Blend, 2008). Por lo tanto estos registros amplian su distribución a la costa del océano Pacífico y del Golfo de México, representando los primeros reportes de la especie en México.

Tabla 10. Comparación de los ejemplares clasificados como *Parastrigea diovadena* Dubois & Macko, 1972. Las mediciones están expresadas en milímetros.

CARACTERES	DUBOIS & MACKO, 1972	PRESENTE ESTUDIO
Longitud total	2-3.7	1.224-2.088(1.535± 0.282)
Segmento anterior (SA)	0.80-1.47/0.66-1.13	0.462-0.773(0.598± 0.113)/ 0.362-0.561(0.462± 0.065)
Segmento posterior (SP)	1.29-2.24/0.70-1.10	0.717-1.138(0.965± 0.204)/ 0.306-0.684(0.463±0.113)
Relación SP/SA	1:1.4-1.8	1:1.244-1.849(1.577± 0.180)
Ventosa oral	0.070-0.100/0.095-0.110	0.050-0.085(0.061± 0.014)/ 0.041-0.078(0.058±0.010)
Acetábulo	0.115-0.150/0.115-0.160	0.071-0.132(0.097± 0.021)/ 0.057-0.106(0.084± 0.016)
Faringe	0.045-0.055	0.036-0.061(0.048± 0.008)/ 0.028-0.055(0.042± 0.007)
Ovario	0.170-0.320/0.230-0.450	0.055-0.159(0.103± 0.031)/ 0.085-0.259(0.150±0.050)
Testículo anterior	0.380-0.420/0.670-0.820	0.085-0.193(0.137± 0.029)/ 0.169-0.357(0.238± 0.069)
Testículo posterior	0.400-0.450/0.690-0.870	0.117-0.255(0.167± 0.050)/ 0.148-0.459(0.263±0.090)
Huevos	0.090-0.100/0.062-0.068	0.073-0.091(0.083± 0.006)/ 0.044-0.064(0.056±0.006)
Situación del ovario	16-23/100	17.750-29.302/100 (23.338± 3.796)
Localidad	Península de Zapata, Santo Tomas, Canal de Zapata (Cuba)	Punta de Piedra, Tamaulipas, Canal San Cristóbal, Nayarit, y Huizache, Sinaloa
Hospedero	<i>Eudocimus albus</i>	<i>Eudocimus albus</i>

IV.II. Análisis molecular

En la presente tesis se identificaron seis especies de la familia Strigeidae con base en sus características morfológicas. Para la extracción del DNA genómico se usaron cuatro ejemplares de *Australapatemon burti*, tres de *Cardiocephaloides medioconiger*, uno de *Cotylurus gallinulae*, cuatro de *Parastrigea diovadena*, uno de *Parastigea cinta* y uno de *Apharingostrigea*. El DNA genómico se utilizó como molde para amplificar la región de los espaciadores transcritos internos ITS-1 e ITS-2 del DNA ribosomal. En total se obtuvieron 14 secuencias de ITSs incluyendo el gen 5.8S. La longitud de las secuencias obtenidas varió de 975 a 1229 pares de bases (pb). Las secuencias más cortas corresponden a *A. burti* (de 975 a 1070 pb) mientras que la secuencia más larga corresponde a *C. gallinulae* debido a una región intermedia compuesta por varios elementos repetidos.

IV.II.1. Alineamiento de las secuencias

Las 14 secuencias generadas en este proyecto se alinearon con otras cinco secuencias de especies congénéricas y seis especies de la familia Diplostomidae, que se usaron como grupos externos obtenidas de la base de datos del Genbank (Tabla 11). El alineamiento inicial, que incluía el ITS-1, el gen 5.8S y el ITS-2, se conformó de 25 secuencias con una longitud total de 1297 pb. Debido a que algunas secuencias alineadas (las obtenidas del Genbank) estaban incompletas en los extremos, se eliminaron los sitios sobrantes manualmente para formar una segunda base de datos compuesta por 1,186 pb de longitud (Denominado A1). Por otro lado, a partir del alineamiento inicial, se conformó una tercera base de datos de 918 pb (A2) con el programa ProAlign el cual eliminó sitios hipervariables con una probabilidad menor al 60%. El análisis filogenético se llevó a cabo con los alineamientos A1 (1,186 pb) y A2 (918 pb) y contenía especies representantes de seis de los 12 géneros de la familia Strigeidae.

Tabla 11. Taxa usados en el presente trabajo.

Especie	Hospedero	Localidad	L. S.*	No. acceso
<i>Australapatemon burti</i>	<i>Anas americana</i>	Guerrero Negro, B. C.S.	1034	Presente estudio
	<i>Anas cyanoptera</i>	Chiconahuapan, Edo. Méx.	1065	Presente estudio
	<i>Anas diazi</i>	Chiconahuapan, Edo. Méx.	975	Presente estudio
	<i>Oxyura jamaicensis</i>	Guatimape. Dgo.	1070	Presente estudio
<i>Cardiocephaloides medioconiger</i>	<i>Larus occidentalis</i>	Guerrero Negro, B.C. S.	1084	Presente estudio
	<i>Larus sp.</i>	Laguna de Términos, Cam.	1110	Presente estudio
	<i>Larus sp.</i>	Laguna de Términos, Cam.	1115	Presente estudio
<i>Cotylurus gallinulae</i>	<i>Aythya affinis</i>	La Esperanza, Son.	1229	Presente estudio
<i>Apharyngostrigea cornu</i>	<i>Ardea alba</i>	Chiconahuapan, Edo. Méx.	1109	Presente estudio
<i>Parastirgea cincta</i>	<i>Eudocimus albus</i>	San Blas, Nay.	1092	Presente estudio
<i>Parastrigea diovadena</i>	<i>Eudocimus albus</i>	El Huizache, Sin.	1090	Presente estudio
	<i>Eudocimus albus</i>	San Blas, Nay.	1113	Presente estudio
	<i>Eudocimus albus</i>	Punta de Piedra, Tams.	1063	Presente estudio
	<i>Eudocimus albus</i>	Punta de Piedra, Tams.	1110	Presente estudio
<i>Apatemon gracilis</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	Inglaterra	993	AJ314761,
<i>Ichthyocotylurus erraticus</i>	N.D.	N.D.	1073	AJ301887
<i>Ichthyocotylurus pileatus</i>	N.D.	N.D.	1073	AJ301886
<i>Ichthyocotylurus platycephalus</i>	N.D.	N.D.	1073	AJ301885
<i>Ichthyocotylurus variegatus</i>	N.D.	N.D.	1073	AJ301884
<i>Bolbophorus damnificus</i>	N.D.	N.D.	1023	AF470610
<i>Diplostomum baeri</i>	N.D.	N.D.	1074	AY123042
<i>Austrodiplostomum compactum</i>	<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Teapa, Tab.	1056	Presente estudio
<i>Austrodiplostomum compactum</i>	<i>Phalacrocorax brasilianus</i>	Tres Palos, Gro.	1047	Presente estudio
<i>Diplostomum huronense</i>	N.D.	N.D.	1074	AY123044
<i>Tylodelphys scheuringi</i>	N.D.	N.D.	1057	FJ469596

*L.S.= Longitud de la secuencia en pares de bases (p.b.). N.D.= no descritos.

IV.II.II. Análisis filogenético

El análisis de máxima parsimonia (MP) con el alineamiento A1 (longitud de 1,186 pb), genero dos árboles igualmente parsimoniosos. El árbol consenso estricto (Fig. 14) muestra que la familia Strigeidae no es monofilética ya que una especie de la familia Diplostomidae (familia hermana) se agrupo dentro de Strigeidae. En esta hipótesis filogenética la familia Strigeidae está formada por dos clados los cuales denominamos A y B. El primero mostró un soporte de bootstrap del 88% y en su posición más basal está *Bolbophorus damnificas*, *Cardiocephaloides* (tres ejemplares) es el grupo hermano del clado conformado por *Cotylurus* (un ejemplares) más *Ichthyacotylurus* (cuatro especimenes). El clado B mostró un soporte de bootstrap del 100% y se divide en dos subclados: el primero está formado por los géneros *Apatemon* (un ejemplar) más *Australapatemon* (cuatro ejemplares) con un soporte de bootstrap del 99%; el segundo subclado contiene a los géneros *Apharingostrigea* (un ejemplar) más *Parastrigea* con un soporte de bootstrap del 100%. El análisis de máxima verosimilitud (ML) con el alineamiento A1 mostró un sólo árbol (-ln = 5990.8271), (Fig. 15) con una topología idéntica al árbol de MP mostrado en la figura 14. Interesantemente los análisis de MP (Fig. 16) y ML (Fig. 17) inferidos con la base de datos A2 (longitud de 918 pb) mostraron hipótesis filogenéticas casi idénticas a los árboles anteriormente descritos para MP y ML (ver figuras 14 y 15 respectivamente), sin embargo en el análisis de MP de la figura 16, muestra una politomia en la base del árbol dentro de la familia Strigeidae (Tabla 13 en Anexos).

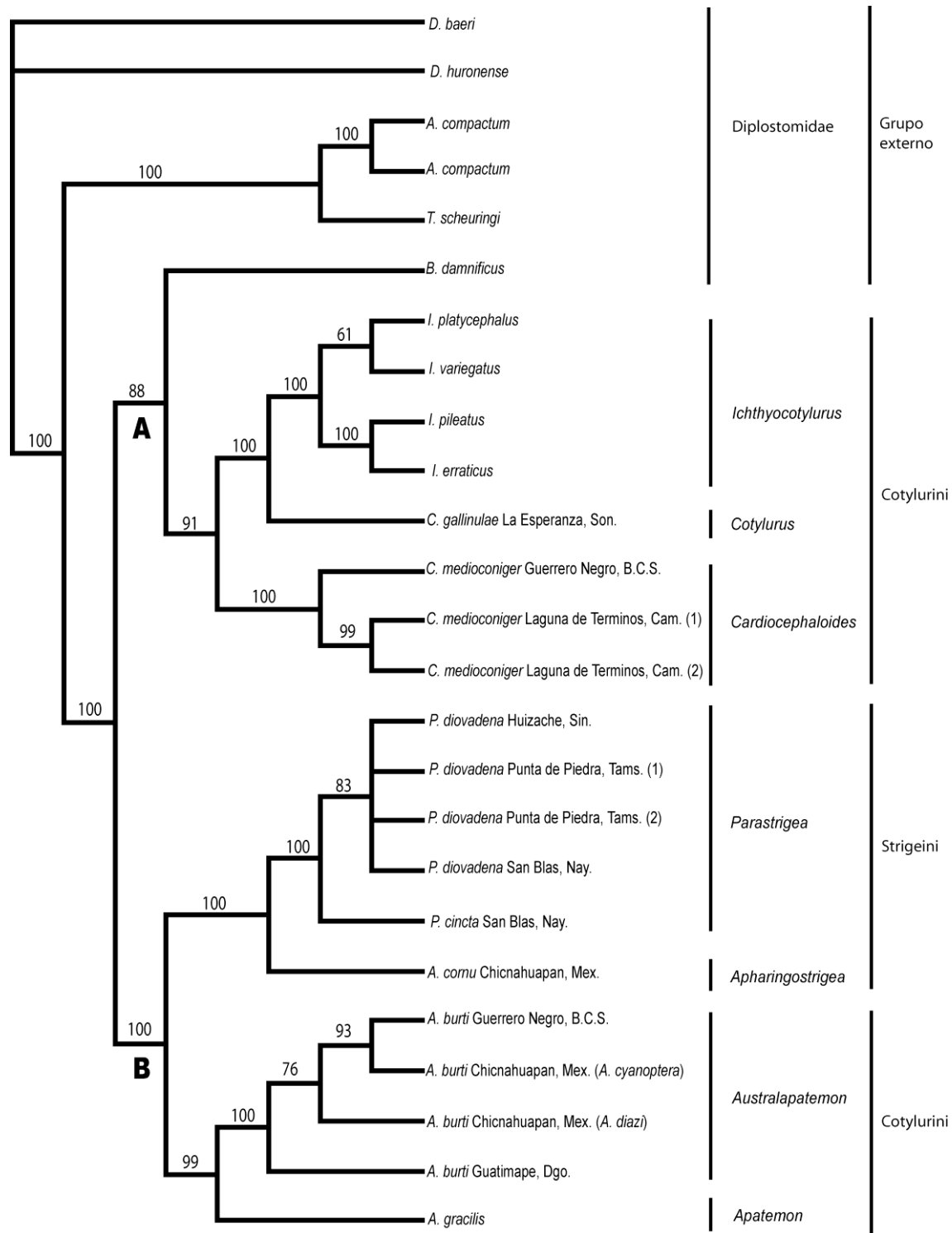


Fig. 14. Árbol consenso estricto de dos árboles igualmente parsimoniosos (longitud= 880 pasos) obtenido con el alineamiento A1 (1,186 pb), que incluyen los ITS y el gen 5.8S. Los números por encima de los nodos representan los valores de bootstrap.

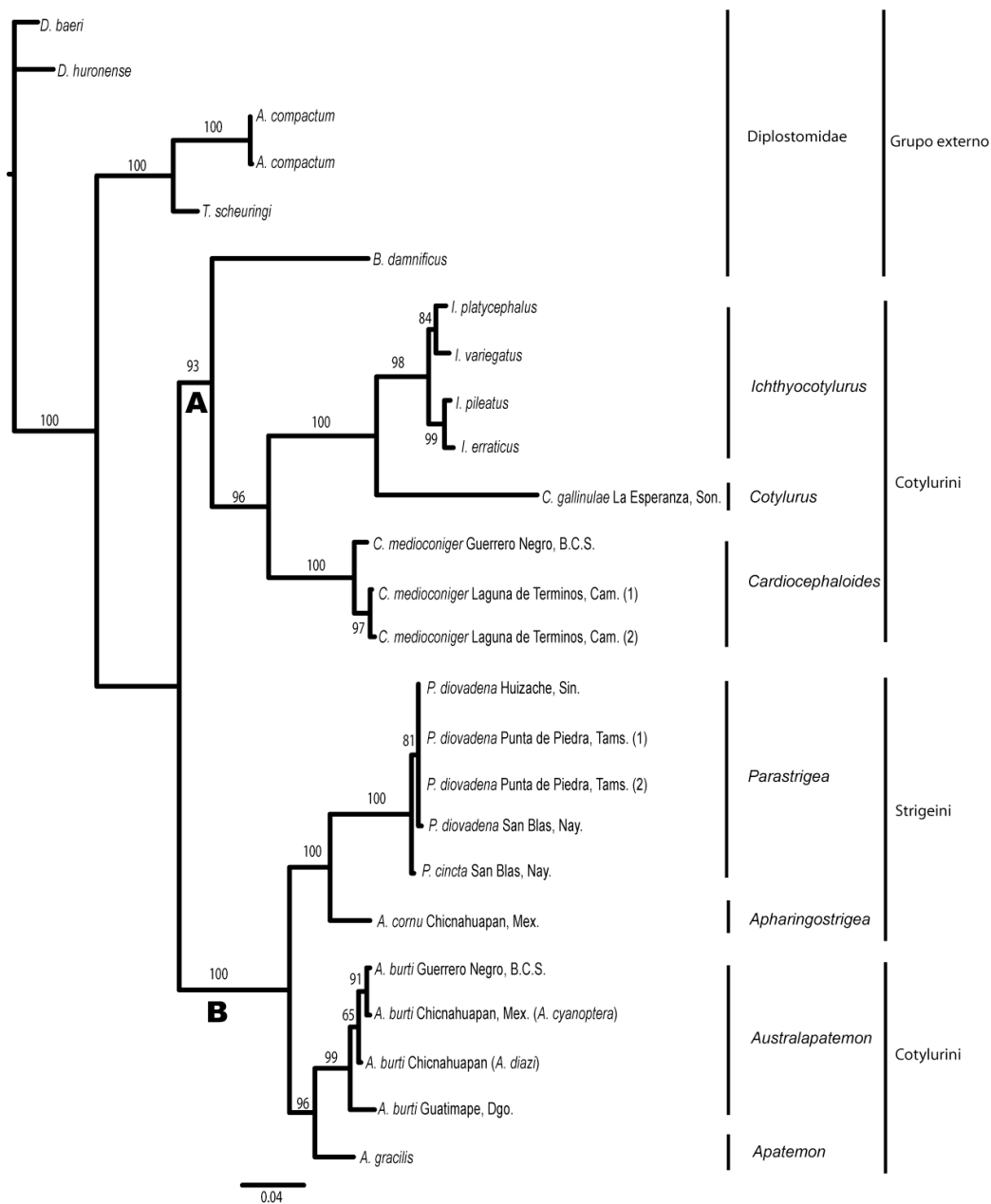


Fig. 15. Árbol de máxima verosimilitud (-ln = 5990.8271) obtenido con el alineamiento A1 (1,186 pb), que incluyen los ITSs y el gen 5.8S. Los números por encima de los nodos representan los valores de bootstrap.

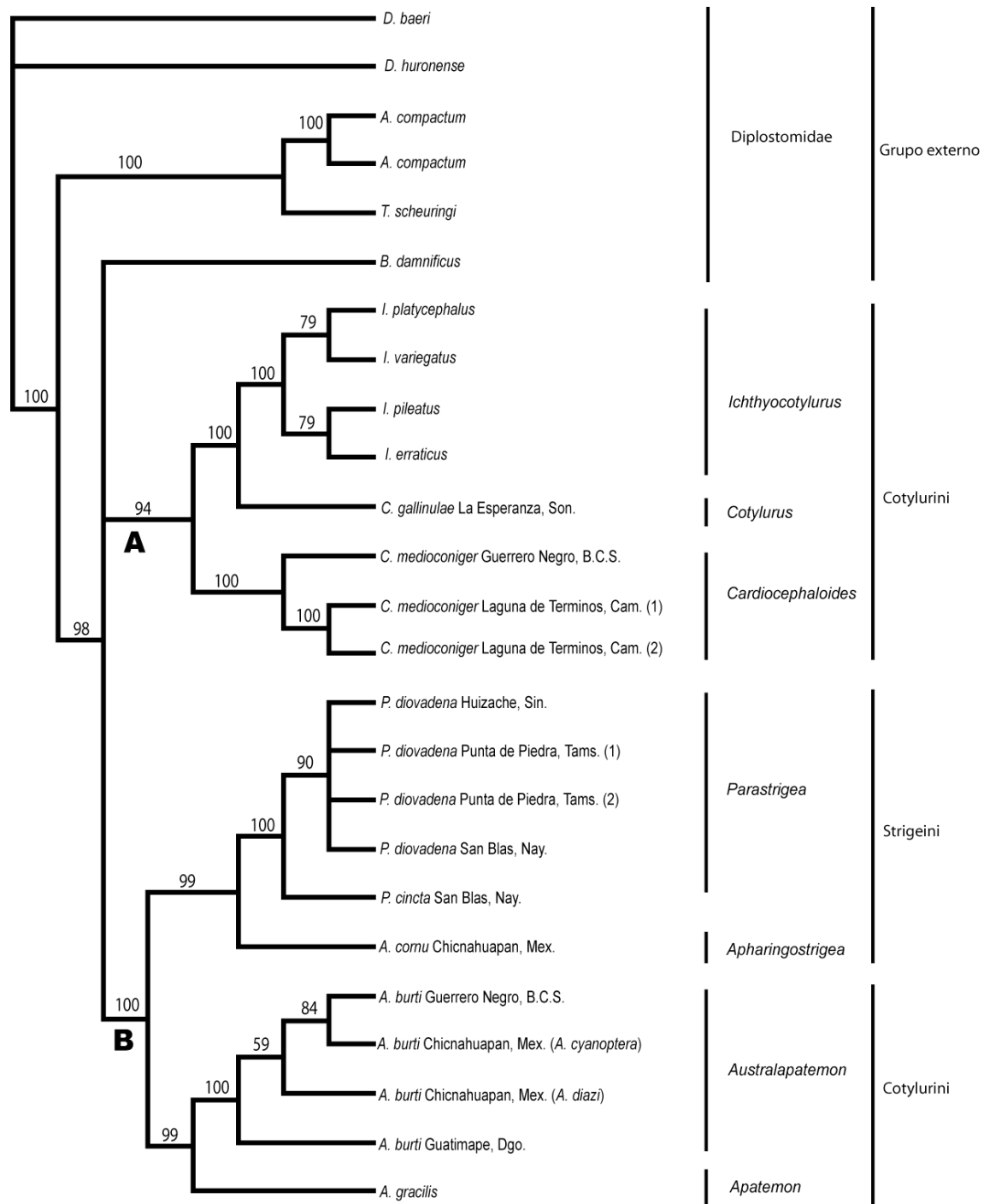


Fig. 16. Árbol consenso estricto de dos árboles igualmente parsimoniosos (longitud= 627 pasos) obtenidos con el alineamiento A2 (918 pb), que incluyen los ITSs y el gen 5.8S. Los números por encima de los nodos representan los valores de bootstrap.

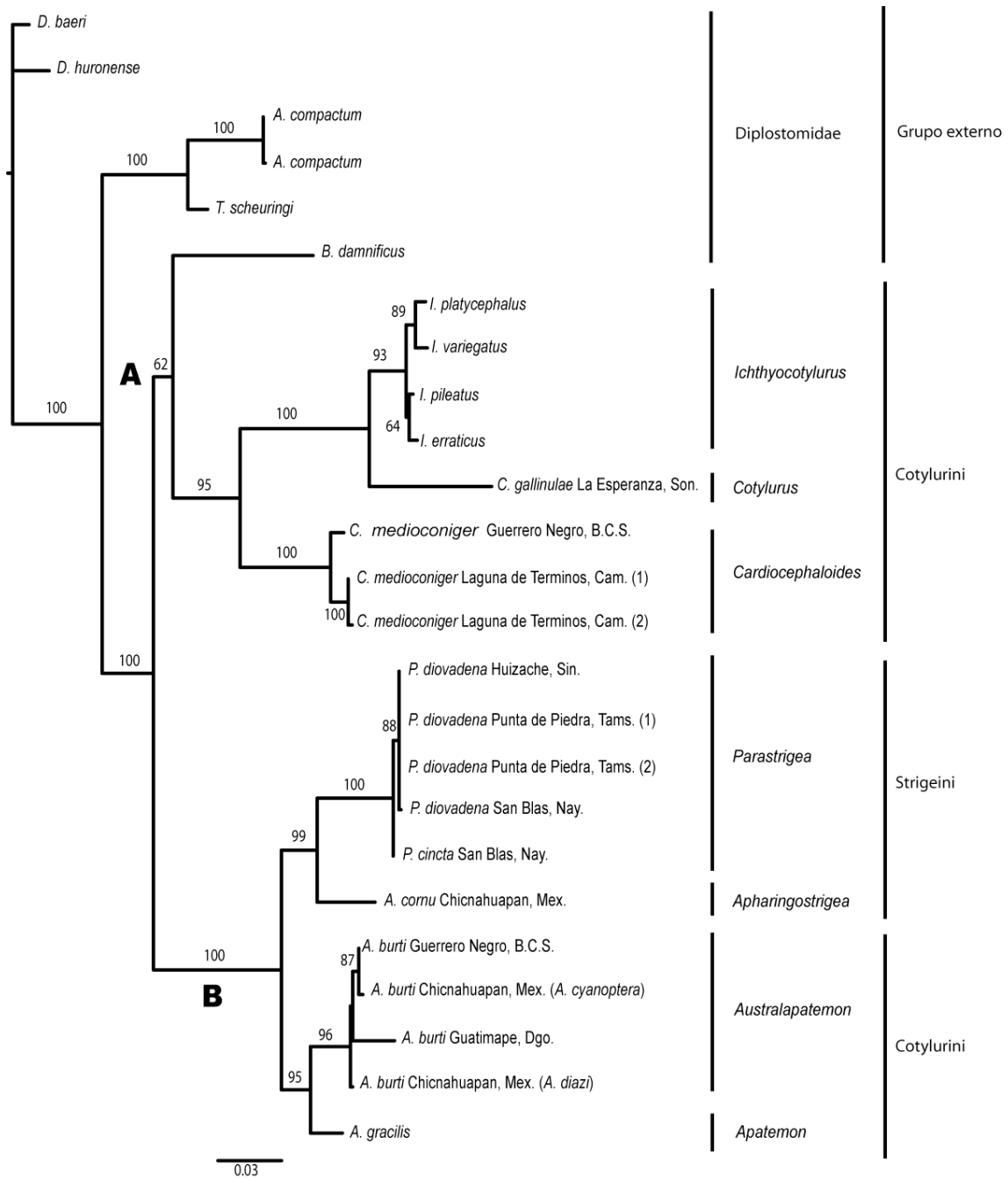


Fig. 17. Árbol de máxima verosimilitud ($-\ln = 4439.7021$) obtenido con el alineamiento A2 (918 pb), que incluyen los ITSs y el gen 5.8S. Los números por encima de los nodos representan los valores de bootstrap.

IV.II.III. Distancias genéticas

Las distancias genéticas estimadas entre los taxones fueron calculadas usando el método de distancias no corregidas (distancias p) con el alineamiento A1 (1,186 sitios) que incluye los dos espaciadores internos más el gen 5.8S del RNA Ribosomal. Los rangos de divergencia genética estimados entre géneros del mismo clado oscilaron del 4.5% (*Australapatemon* vs *Apatemon*) al 6.9% (*Apharingostrigea* vs *Parastrigea*) y entre géneros de los clados A y B oscilaron hasta el 20.8% (*Parastrigea* vs *Cotylurus*), (Tabla 12); entre especies ésta osciló del 0.6 al 0.8% y entre individuos del 0 al 2.5% (Anexos 4a). En digéneos el ITS-1, e ITS-2 tienen diferentes tasas de mutación, por tal motivo las distancias genéticas también se calcularon para cada ITS por separado. La distancia genética para el ITS-1 entre géneros osciló entre el 4.4% (*Australapatemon* vs *Apatemon*) al 23.9% (*Parastrigea* vs *Cotylurus*), entre especies es de 0.7% al 1.0%, y entre individuos osciló entre el 0 al 2.8% (Anexos 4b). Para el ITS-2 la divergencia genética intergenérica osciló del 4.0% (*Australapatemon* vs *Apatemon*) al 19.2% (*Apharingostrigea* vs *Ichthyocotylurus*), interespecífica es del 0.3% e intraespecífica osciló del 0 al 2.7 % (Anexos 4c).

Tabla 12. Distancias genéticas entre los géneros de la familia Strigeidae analizados en este trabajo.

Géneros	Distancia génica		
	ITS-1 %	ITS-2 %	ITSs %
<i>Cotylurus-Ichthyocotylurus</i>	14.0-14.5	7.6-7.9	12.1-12.5
<i>Apatemon –Cotylurus</i>	17.6-18.8	15.5	16.5-16.7
<i>Cardiocephaliodes-Ichthyocotylurus</i>	14.0-15.0	11.4-12.4	13.3-14.0
<i>Apharingostrigea-Parastrigea</i>	7.5-7.8	6.1-6.5	6.8-6.9
<i>Apharingostrigea-Australapatemon</i>	7.8-8.4	7.6-9.6	7.2-8.2
<i>Apharingostrigea-Apatemon</i>	7.1	8.6	7.7
<i>Australapatemon-Apatemon</i>	4.4-5.9	4.0-5.8	4.5-5.8
<i>Australapatemon-Parastrigea</i>	9.4-11.3	8.3-11.1	8.5-10.4
<i>Apatemon-Parastrigea</i>	9.4-9.7	9.9-10.3	9.7-10.0
<i>Apatemon-Ichthyocotylurus</i>	17.2-18.5	16.4	17.0-17.8
<i>Apatemon-Cotylurus</i>	20.6	16.4	19.3
<i>Apatemon-Cardiocephaliodes</i>	14.6-14.7	16.7-17.0	15.4
<i>Australapatemon-Ichthyocotylurus</i>	16.8-19.1	14.8-18.4	16.2-18.8
<i>Australapatemon-Cotylurus</i>	20.6-22.2	15.5-18.4	17.7-19.3
<i>Australapatemon-Cardiocephaliodes</i>	15.3-16.7	14.4-16.5	14.3-15.2
<i>Parastrigea-Ichthyocotylurus</i>	19.2-21.3	17.8-18.5	19.0-20.3
<i>Parastrigea-Cotylurus</i>	23.3-23.9	18.1-18.5	20.4-20.8
<i>Parastrigea-Cardiocephaliodes</i>	17.5-18.6	17.3-18.0	16.7-17.3
<i>Apharingostrigea-Ichthyocotylurus</i>	17.4-19.0	18.9-19.2	17.9-18.8
<i>Apharingostrigea-Cotylurus</i>	22.0	18.5	19.4
<i>Apharingostrigea-Cardiocephaliodes</i>	16.3-16.6	16.9-17.7	15.6-16.0

V. DISCUSIÓN

V.I. Caracterización morfológica

Frecuentemente existen problemas en la determinación taxonómica del grupo Strigeidae utilizando caracteres morfológicos. En dicha familia la identificación de las especies se basa en la medición, posición y forma de las estructuras internas, las cuales son extremadamente difíciles de observar debido: a) por la gran cantidad de glándulas vitelógenas que existen en el cuerpo del parásito b) la dificultad metodológica para realizar la fijación del ejemplar en las preparaciones permanentes y c) la tinción de las muestras es difícil, ya que generalmente se sobretienen por la acumulación de tejido muscular. A pesar de las dificultades mencionadas en el presente estudio se lograron caracterizar seis especies: *Australapatemon burti*, *Cardiocephaloides medioconiger*, *Cotylurus gallinulae*, *Apharyngostrigea cornu*, *Parastrigea cincta* y *Parastigea diovadena*. Sin embargo, el único ejemplar identificado como *Cotylurus* sp. se determinó solamente a nivel de género por que presenta huevos dentro del segmento anterior, caracter que no ha sido reportado para especies de la familia Strigeidae.

V.II. Análisis molecular

Árboles filogenéticos

Los análisis filogenéticos derivados de los dos alineamientos que incluían a los ITSs del RNA ribosomal sugieren que la familia Strigeidae no es monofilética ya que la especie *Bolbophorus damnificus* de la familia Diplostomidae se agrupó dentro de Strigeidae. Olson *et al.*, (2003), estimaron las relaciones filogenéticas de 77 familias de digéneos empleando los genes de la subunidad menor (18S) y subunidad mayor (28S) de los genes ribosomales como marcadores moleculares, sugiriendo que la familia Strigeidae es parafilética, ya que en ella se agruparon especies de Diplostomatidae, sin embargo en dicho trabajo se incluyeron solo tres especies de estrigeidos y dos de diplostomidos, por lo que es necesario generar el mayor número de datos posible de las especies y géneros de ambas familias para resolver dicha controversia.

Taxonómicamente la familia Strigeidae esta subdivida en dos tribus (Strigeini y Cotylurini), diferenciadas por la distribución de las glándulas vitelógenas a lo largo del cuerpo (Dubois, 1968; Zazornova & Sysoev, 1993). En el presente estudio dos géneros de la tribu Strigeini (*Parastrigea* y *Apharingostrigea*) y cinco de la tribu Cotylurini (*Cardiocephaloides*, *Cotylurus*, *Ichthyocotylurus*, *Apatemon* y *Australapatemon*) se analizaron. Los resultados del análisis sugieren que la tribu Cotylurini no representa un grupo monofilético como anteriormente fue propuesto por Dubois (1968), puesto que los géneros de ésta tribu están agrupados en dos clados denominados A y B en los árboles filogenéticos de las Figuras 14, 15, 16 y 17. El resultado filogenético sugiere que utilizar la distribución de las glándulas vitelógenas de los segmentos del cuerpo de los estrigeidos es inadecuado para diferenciar a las dos tribus, ya que probablemente representa una homoplasia morfológica (paralelismo).

Distancias genéticas entre géneros

Las distancias genéticas entre géneros obtenidas en el presente proyecto son muy variables; por ejemplo, entre géneros cercanamente relacionados, *Cotylurus* vs *Ichthyocotylurus* las distancias genéticas son altas, en ITS-1 es del 14.0 al 14.5%, en ITS-2 del 7.6 al 7.9% y en ITSs es del 12.1 al 12.5% mientras que *Australapatemon* vs *Apatemon* muestran con los valores de divergencia más bajos, en ITS-1 osciló entre 4.4-5.9%, en ITS-2 del 4.0-5.8% y en ITSs del 4.5-5.8%. Los bajos valores de divergencia genética estimados entre *Australapatemon* vs *Apatemon* puede sugerir la sinonimia, ya que en otros grupos de digéneos, valores similares han sido suficientes para diferenciar especies del mismo género (Razo-Mendivil *et al.*, 2004, 2008, 2010). Por otro lado, los valores de divergencia genética más altos se registraron en *Parastrigea* vs *Cotylurus*, (géneros pertenecientes a dos clados ver Figuras 14, 15, 16 y 17) los cuales oscilan entre 23.3-23.9% en ITS-1, 18.1-18.5% en ITS-2 y del 20.4-20.8% en ITSs. Un estudio previo en estrigeidos, indicó que la divergencia genética entre especies congénicas (*Ichthyocotylurus* vs *Apatemon*) fue del 24.7% en ITS-1 (Bell *et al.*, 2001). La

evidencia mencionada anteriormente indica que no existe un patrón de mutación constante en los ITSs a nivel de género dentro de Strigeidae.

Distancias genéticas entre especies

Las especies de *Parastrigea cincta* y *P. diovadena* se encuentran parasitando el intestino medio y posterior respectivamente del Ibis blanco *Eudocimus albus*. La divergencia genética estimada entre ambas especies de parásitos es baja (osciló entre el 0.7 y 1% en ITS-1, del 0.3% en ITS-2 y entre 0.6 y 0.8% en toda la región de ITSs), en comparación con valores citados por Bell *et al.* (2001) para especies del género *Ichthyocotylurus* (1.9 a 3.1% en ITS-1; 0.3 a 1.0% en ITS-2). Los bajos valores de distancia genética entre *Parastrigea cincta* y *P. diovadena*, sugieren que aunque ambas especies comparten un ancestro común de divergencia reciente, sin embargo morfológicamente ambas especies son muy diferentes (ver descripciones). Por lo tanto, el siguiente paso en el proyecto, es obtener un mayor número de secuencias de ITSs y de genes mitocondriales, de individuos de varias poblaciones de cada especie para obtener intervalos de divergencia genética intraespecífica.

Distancias genéticas entre poblaciones

Las distancias genéticas obtenidas en el presente estudio para las poblaciones de *P.diovadena*, *A. burti* y *C.medioconiger*, oscilaron del 0- 2.8% en ITS-1; 0 – 2.7% en ITS-2 y de 0 -2.5% en ITSs (Anexo 4) Nolan & Cribb (2004) en su revisión de divergencia genéticas en ITS's en digéneos parásitos, se detectaron que la variación intraespecifica en ITS-1 es menor al 1.0%, en ITS-2 el intervalo oscila del 0.3 a 3.5% y en ITS's es menor al 1.0%, Sin embargo también se han reportado valores de divergencia genética en ITS's de hasta 3.2% (Overstreet, 2002).

En resumen, en el presente estudio, las caracterizaciones morfológicas de las especies de la familia Strigeidae en México representan nuevos registros y aportan nueva información sobre la distribución geográfica y hospedatoria. Por lo que la correcta identificación de éstas es crucial y relevante en los estudios

de Ecología, Biología Comparada, Biología Evolutiva, entre otros. Por otro lado, el uso de marcadores moleculares es una herramienta importante en la identificación de las especies de estrigeidos y puede ayudar a resolver controversias taxonómicas de este grupo. Con los resultados obtenidos del análisis molecular se sugiere que la familia y la tribu Cotylurini no representan taxa monofiléticos, además con el análisis de las distancias genéticas se cita un caso contrario a las especies cripticas ya que se registran dos especies que morfológicamente son distinguibles y genéticamente son casi idénticas.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- En el presente proyecto de tesis se identifican morfológicamente cinco géneros y seis especies de parásitos pertenecientes a la familia Strigeidae: *Australapatemon burti*, *Cardiocefaloides medioconiger*, *Cotylurus gallinulae*, *Apharyngostrigea cornu*, *Parastrigea cincta* y *Parastigea diovadena*.
- 2.- Los estrigeidos de las especies *A. burti*, *C. gallinulae*, *A. cornu*, *P. cincta* y *P. diovadena* se describen por primera vez en México.
- 3.- Las localidades y hospederos analizados en el presente estudio son registros nuevos y amplían la distribución geográfica y hospedatoria de las especies.
- 4.- Los análisis filogenéticos inferidos con los métodos de ML y MP indican que la familia Strigeidae no es monofilética y que está compuesta por dos subclados denominados A y B.
- 5.- Los resultados de nuestro análisis reflejan que la tribu Cotylurini no representa un grupo monofilético.
- 6.- Los altos valores de divergencia genética estimado entre algunos géneros de Strigeidae, más su posición sistemática en los árboles de ML y MP sugieren que estos géneros son válidos.

VII. LITERATURA CITADA

- Adlard, R.D., S.C. Barker, D. Blair & T. H. Cribb. 1993. Comparison of the second internal transcribed spacer (ribosomal DNA) from populations and species of Fasciolidae (Digenea). *International Journal for Parasitology*, 23 : 423–425.
- Bell, A. & C. Sommerville. 2002. Molecular evidence for the synonymy of two species of *Apatemon* Szidat, 1928, *A. gracilis* (Rudolphi, 1819) and *A. annuligerum* (von Nordmann, 1932) (Digenea: Strigeidae) parasitic as metacercariae in British fishes. *Journal of Helminthology*, 76: 193-198.
- Bell, A., C. Sommerville & E. Valtonen. 2001. A molecular phylogeny of the genus *Ichthyocotylurus* (Digenea, Strigeidae). *International Journal for Parasitology*, 31: 833-842.
- Bowles, J. & D. P. McManus. 1993. Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a PCR-based method. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 57: 231–239.
- Bowles, J., D. Blair & D. P. McManus. 1995. A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Molecular and Phylogenetics Evolution*, 4: 103–109.
- Brooks, D. R. & E. P. Hoberg. 2000. Triage for the Biosphere: The need and rationale for taxonomic inventories and phylogenetic studies of parasites. *Comparative Parasitology*, 67:1-25.
- Cribb, T.H., R. A. Bray, D. T. J. Littlewood, S. P. Pichelin, & E. A. Herniou. 2001. The Digenea. In: Littlewood, D.T.J. & R. A. Bray (Eds.),

Interrelationships of the Platyhelminthes, Taylor and Francis, London, pp. 168–185.

Deprés, L., F. J. Kruger, D. Imbert-Establet, & M. L. Adamson. 1995. ITS2 ribosomal RNA indicates *Schistosoma hippopotami* is a distinct species. *International Journal for Parasitology*, 25: 1509–1514.

Dronen, N. O. & C. K. Blend. 2008. *Patagifer lamothei* n. sp. (Digenea: Echinostomatidae: Nephrostominae) from the white ibis *Eudocimus albus* (Threskiornithidae) from Texas, USA. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79: 23-32.

Dubois, G. 1938. Monographie des Strigeida. *Memories de la Societe Neuchateloise des Sciences Naturelles*, 6, 535 pp.

Dubois, G. 1968. Sinopsis des Strigeidae et Diplostomidae (Trematoda). *Mémoire Société Neuchateloise des Sciences Naturalles. Tome x. Premier Fascicule. Société Neuchateloise des Sciences Naturalles.*

Dubois, G. & M. L. Angel. 1972. Strigeata (Trematoda) of Australian birds and mammals from helminthological Collection of the University of Adelaide. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 96: 197-215.

Dubois, G. & J. K. Macko. 1972. Contribution à l'étude des *Strigeata* La Rue, 1926 (Trematoda: Strigeida).

Gibson, D.I., A. Jones & R. A. Bray (Eds). 2002. *Keys to the Trematoda, Volume I*. CABI Publishing, The Natural History Museum, Londres, 521pp.

Hernández-Rodríguez, A. 1995. *Taxonomía de tremátodos de aves en tres localidades del Estado de Veracruz, México*. Tesis de Licenciatura,

Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 56 pp.

Hillis, D. M. & M. T. Dixon, 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66: 411-453.

Jousson, O., P. Bartoli, L. Zaninetti, & J. Pawlowski, 1998. Use of ITS rDNA for elucidation of some life-cycles of Mesometridae (Trematoda, Digenea). *International Journal for Parasitology*, 28: 1403–1411.

Kane, R.A. & D. A. Rollinson. 1994. Repetitive sequences in the rDNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheei*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 63: 153–156.

Kennedy, C. R. 2006. Ecology of the Acanthocephala. Cambridge University Press, New York, 249pp.

León-Régagnon, V. 1990. *Contribución al conocimiento de la helmintofauna de vertebrados acuáticos de San Pedro Tlaltizapan, Estado de México*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 85 pp.

León-Régagnon, V. & D. R. Brooks. 2003. Molecular phylogeny of *Haematoloechus* Looss, 1899 (Digenea: Plagiorchiidae), with emphasis on North American species. *The Journal of Parasitology*, 89: 1206-1211.

León-Régagnon, V., D. R. Brooks & G. Pérez-Ponce de León. 1999. Differentiation of Mexican species of *Haematoloechus* Loss, 1899 (Digenea: Plagiorchiformes): Molecular and morphological evidence. *Journal of Parasitology*, 85:935–946.

Luton, K., D. Walker & D. Blair, 1992. Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes

(Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular and Biochemical Parasitology*, 56: 323–328.

McManus, D. P. & J. Bowles. 1996. Molecular genetics approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. *International Journal for Parasitology*, 26:687–704

McDonald, M. E. 1981. Key to trematodes reported in waterfowl. *Resource Publication, Fish and Wildlife Service, US Department of the Interior*, 142.

Niewiadomska, K. Family Strigeidae, 1919. In Gibson, D.I., A. Jones & R. A. Bray (Eds.). 2002. *Keys to the Trematoda, vol.1*. CABI Publishing and The Natural History Museum, London, pag. 231-260.

Nolan, M. J. & T. H. Cribb. 2005. The use and implications of ribosomal DNA sequencing for the discrimination of digenean species. *Advances in Parasitology* 60:101–163.

Olson, P. D., T.H. Cribb, V. V. Tkach, R.A. Bray & D.T.J. Littlewood. 2003. Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33: 733-755.

Overstreet, R. M., S. S. Curran, L. M. Pole, D. I. King, C. K. Blend & W. D. Grater. 2002. *Bolbophorus damnificus* n. sp. (Digenea: Bolbophoridae) from the channed catfish *Ictalurus punctatus* and American white pelican *Pelicanus erythrorhynchus* in the USA based on life-cycle and molecular data. *Systematic Parasitology* 52: 81-96.

Pérez-Ponce de León, G. & L. García-Prieto. 2001. Diversidad de Helminthos Parásitos de Vertebrados Silvestres de México. *Biodiversitas*, 6: 7–11.

- Pérez-Ponce de León, G., L. García-Prieto & B. Mendoza-Garfias. 2007. Trematode parasites (Platyhelminthes) of wildlife vertebrates in Mexico. *Zootaxa*, 1534, 247 pp.
- Pérez-Ponce de León, U. Razo-Mendivil, R. Rosas-Valdez, B. Mendoza-Garfias & H. Mejía-Madrid. 2008. Description of a new species of *Crassicutis* Manter, 1936, parasite of *Cichlasoma beani* Jordan (Osteichthyes: Cichlidae) in Mexico, based on morphology and sequences of the ITS1 and 28S ribosomal RNA genes. *The Journal of Parasitology*, 94: 257–263.
- Posada, D. & Crandall K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution approach to a ten-taxon case. *Cladistics*, 14: 266-281.
- Poulin, R. 1997. Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annual Review in Ecology and Systematics*, 28:341-358.
- Price, P. W. 1980. *Evolutionary biology of parasites*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 237pp.
- Ramos-Ramos, P. 1994. *Composición de la comunidad de helmintos del tubo digestivo de tres especies de "garzas" (Ciconiformes: Ardeidae) del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 150 pp.
- Razo-Mendivil, U.J., V. León-Règagnon & G. Pérez-Ponce de León. 2004. Description of two new species of *Glypthelmins* Stafford, 1905 (Digenea: Macroderoididae) in *Rana* spp. from Mexico, based on morphology and mtDNA and rDNA sequences. *Systematic for Parasitology*, 59:199-210.
- Razo-Mendivil, U. J., R. Rosas-Valdez & Gerardo Pérez-Ponce de León. 2008. A new cryptogonimid (Digenea) from the mayan cichlid, *Cichlasoma urophthalmus* (Osteichthyes: Cichlidae), in several localities of the Yucatán Peninsula, Mexico. *The Journal of Parasitology*, 94:1371–1378.

- Razo-Mendivil, U., E. Vázquez-Domínguez, R. Rosas-Valdez, G. Pérez-Ponce de León & S. A. Nadler. 2010. Phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial DNA reveals a complex of cryptic species in *Crassicutis cichlasomae* (Digenea: Apocreadiidae), a parasite of Middle-American cichlis. *International Journal for Parasitology*, 40:471-486.
- Sanger, F., S. Nicklen & A. R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 74: 5463-5468.
- Schell, S. C. 1985. *Handbook of trematodes of North America North Mexico*. University Press of Idaho, Moscú, 263 pp.
- Shoop, W. L. 1989. Systematic analysis of the Diplostomidae and Strigeidae (Trematoda). *The Journal of Parasitology*, 75: 21-35.
- Soto-Méndez, A. 2006. *Estudio taxonómico de tremátodos de tres especies de anátidos en la Laguna de Chiconahuapan, San Mateo Texcalyacac, Estado de México*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, Mexico, 122 pp.
- Swofford, D. L. 2002. PAUP 4.0b10. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- van Herwerden, L., D. Blair & T. Agatsuma. 1999. Intra- and inter-individual variation in ITS1 of *Paragonimus westermani* (Trematoda: Digenea) and related species: implications for phylogenetic studies. *Molecular and Phylogenetics Evolution*, 12: 67–73.

- Vilas, R., C. D. Criscione & M. S. Blouin. 2005. A comparison between mitochondrial DNA and the ribosomal internal transcribed regions in prospecting for cryptic species of platyhelminth parasites. *Parasitology*, 131: 839-846.
- Yamaguti, S. 1971. *Sinopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates*. Vol. I y Vol. II. Keigaku Publishing, Tokio, 2123 pp.
- Yamaguti, S. 1975. *A synoptical review of life histories of Digenetic Trematodes of Vertebrates*. Keigaku Publishing, Tokio: 590 pp.
- Zazornova, O. P. & A. V. Sysoev. 1993. Phylogenetic relationships in species of *Cotylurus* and the position of the genus within the classification of the trematode family Strigeidae. *Parazitologiya*, 27: 69-76.

VIII. ANEXOS

Anexo 1

Tinción con Paracarmín de Mayer:

1. Lavar los organismos con alcohol del 70°.
2. Lavar en alcohol del 96° durante 10 minutos.
3. Teñir en Paracarmín de Mayer durante ocho a diez minutos.
4. Lavar en alcohol del 96° hasta quitar el exceso de colorante durante cinco minutos.
5. Diferenciar en alcohol del 96° acidulado al 2% con HCl, hasta que los bordes del ejemplar se observen pálidos y los órganos internos sean visibles al microscopio.
6. Lavar en alcohol del 96% durante 1-2 minutos, para detener la acción del HCl.
7. Deshidratar en alcohol del 100% durante 20 minutos.
8. Aclarar en salicilatos de metilo graduales durante 5 minutos.
9. Montar en preparaciones permanentes con Bálsamo de Canadá y etiquetar dichas preparaciones.

Anexo 2

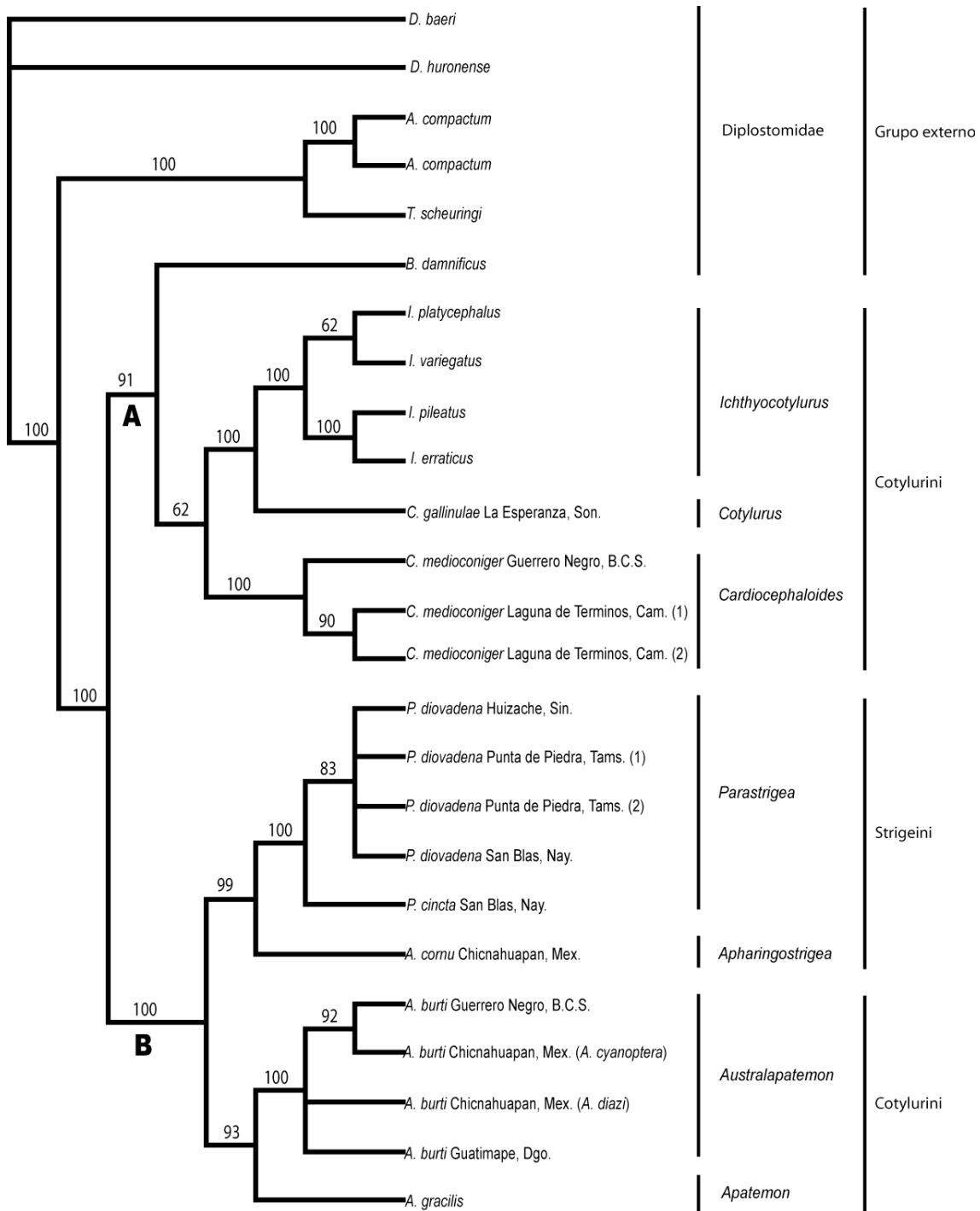


Fig 18. Árbol consenso estricto de dos árboles igualmente parsimoniosos (longitud= 637 pasos) basado en el alineamiento del ITS-1. Los números cercanos a los nodos representan los porcentajes de los valores de bootstrap.

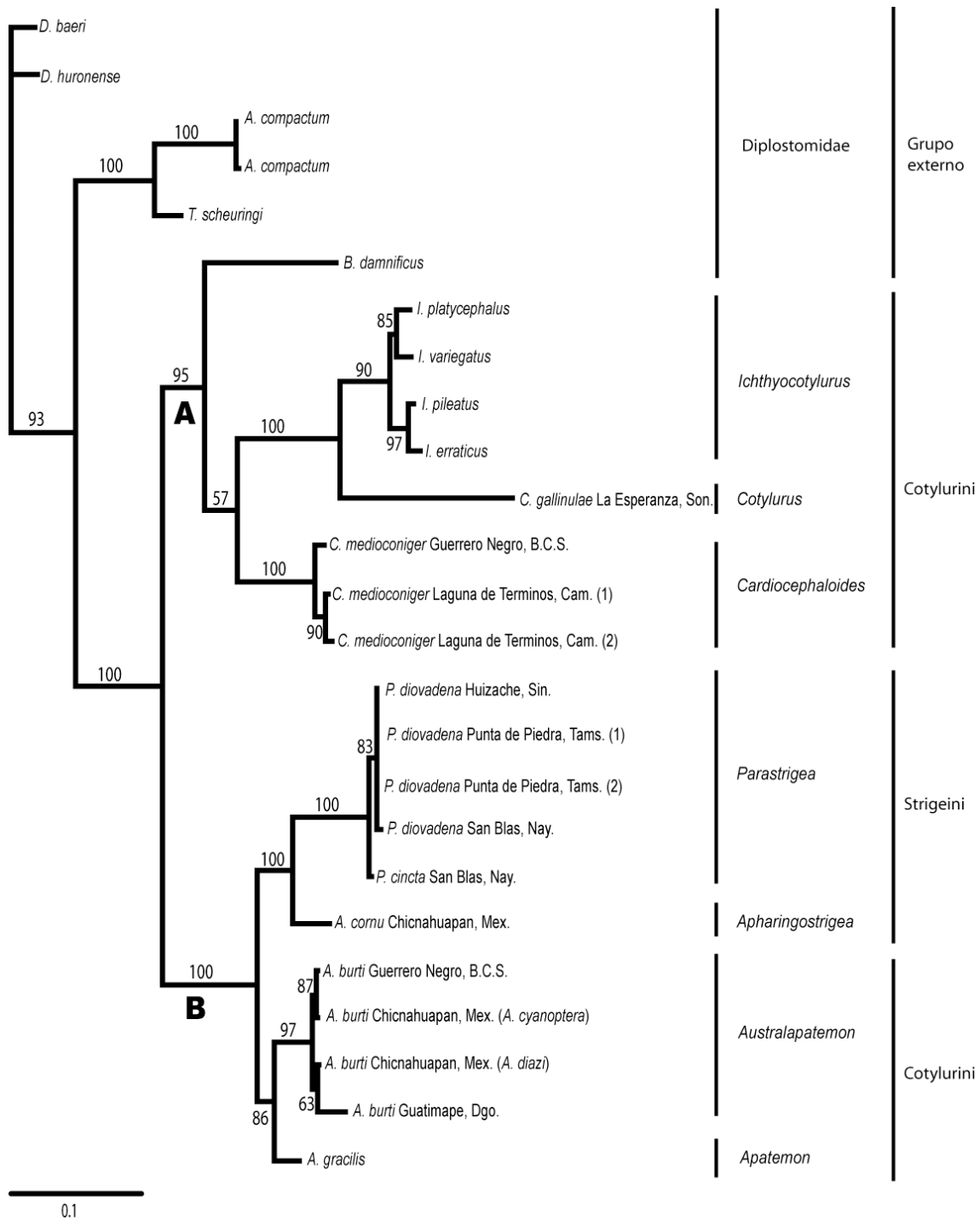


Fig 19. Árbol de máxima verosimilitud obtenido con el alineamiento del ITS-1. Los números cercanos a los nodos representan los porcentajes de los valores de bootstrap.

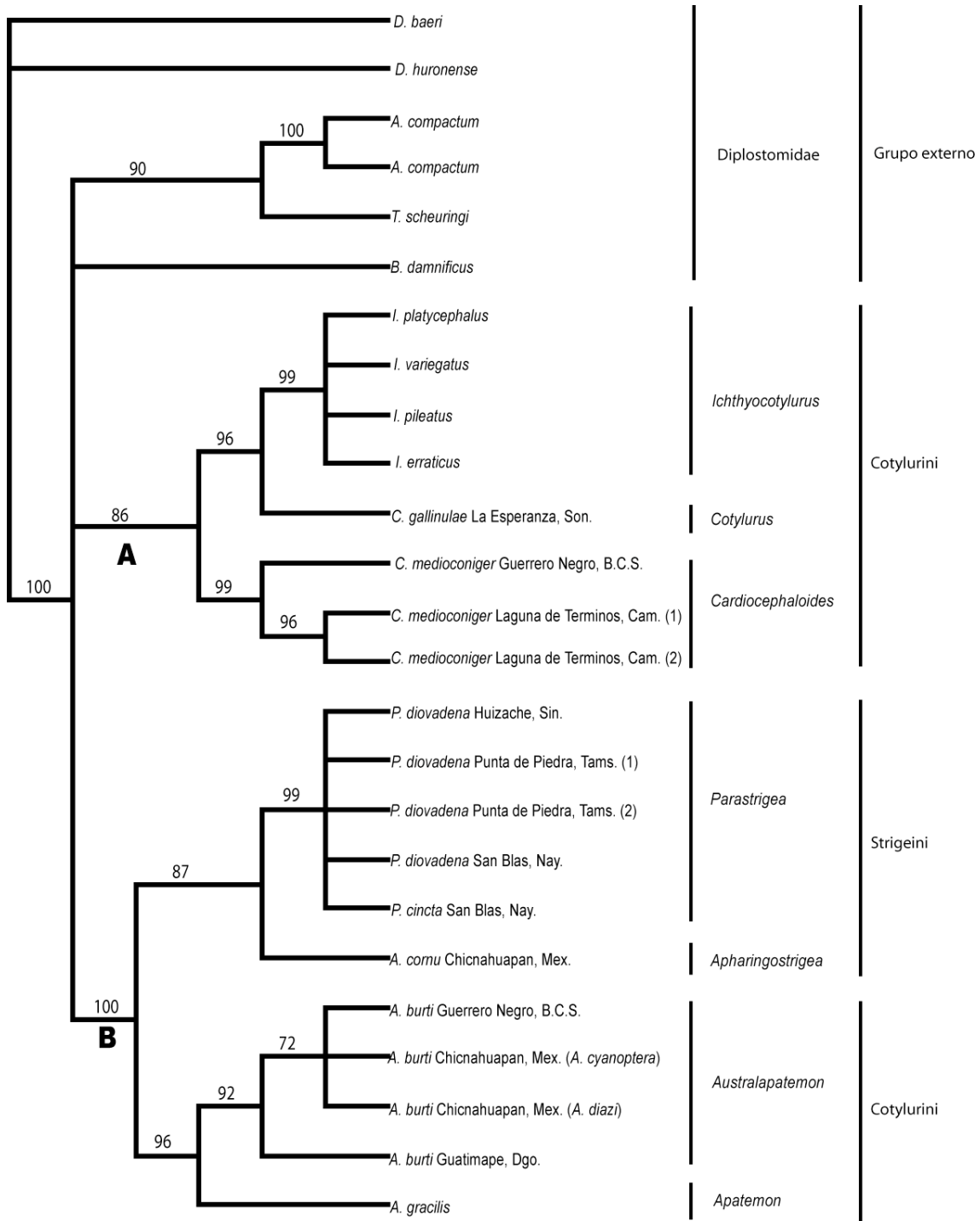


Fig. 20. Árbol consenso estricto de dos árboles igualmente parsimoniosos (longitud= 235 pasos) basado en el alineamiento del ITS-2. Los números cercanos a los nodos representan los porcentajes de los valores de bootstrap.

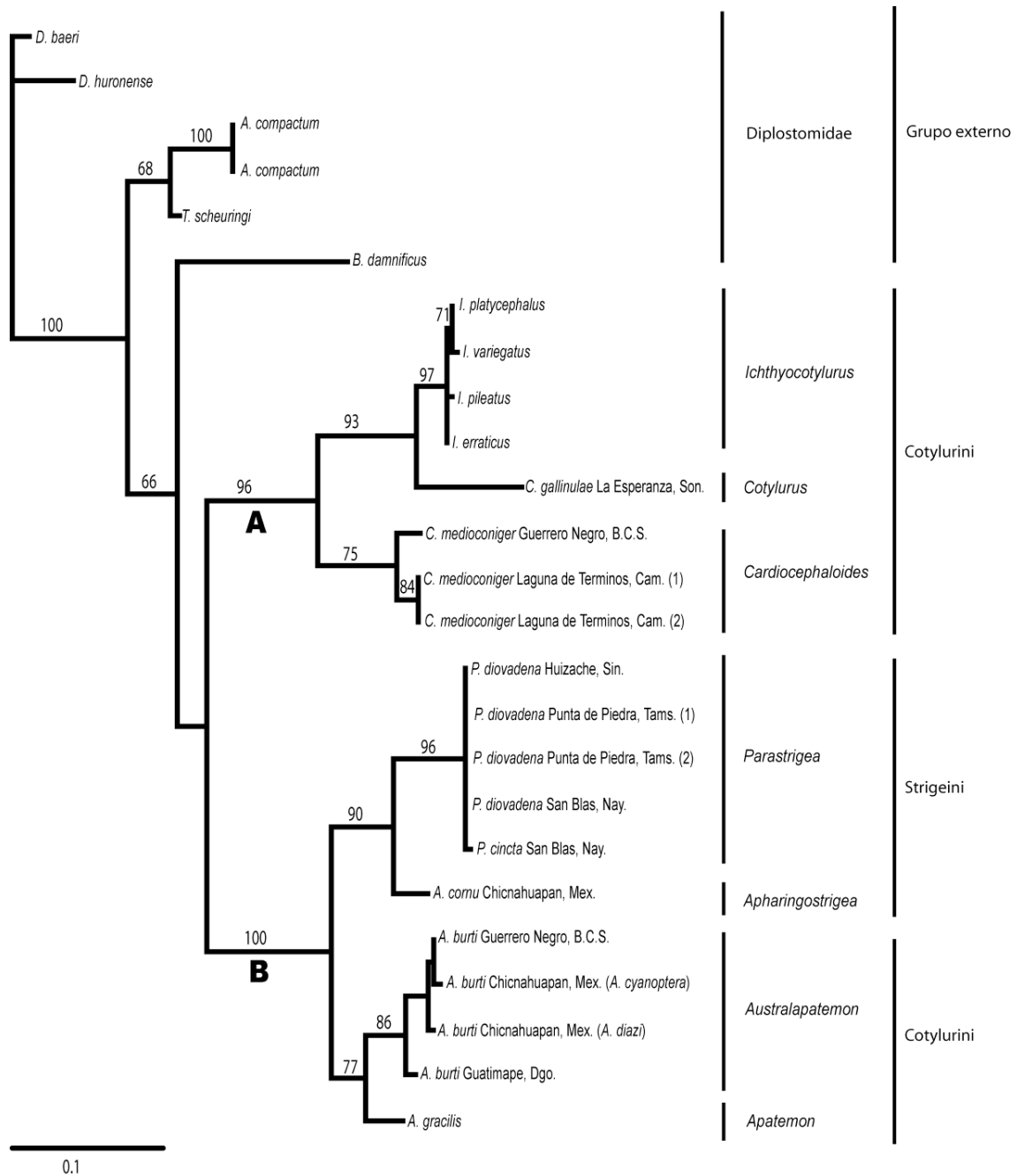


Fig. 21. Árbol de máxima verosimilitud obtenido con el alineamiento del ITS-2. Los números cercanos a los nodos representan los porcentajes de los valores de bootstrap.

Anexo 3

Tabla 13. Análisis estadísticos para cada base de datos analizada en el presente proyecto.

Base de Datos	Total de caracteres	Caracteres constantes	Caracteres no informativos	Caracteres informativos	I.C.	Longitud del árbol	-ln likelihood	Pinv	Gd	Modelo AIC	Figuras
ITSs alineamiento A1	1186	711	107	368	0.7011	880	5990.8271	0.3885	2.0923	TVM+I+G	Fig. 14 y Fig. 15
ITS-1	816	465	82	269	0.7080	637	4235.2510	0.3581	2.8592	TVM+I+G	Fig. 18 y Fig. 19
ITS-2	300	184	21	95	0.6723	235	1551.0179	0.4424	1.5877	TVM+I+G	Fig. 20 y Fig. 21
ITSs alineamiento A2	918	580	66	272	0.6715	627	4439.7021	0	0.4003	TVM+G	Fig. 16 y Fig.17

I.C.= índice de consistencia; Pinv= proporción de sitios invariables; Gd= distribución gamma.

Anexo 4

Anexo 4a. Diferencias pareadas dadas en porcentajes entre las especies de la familia Strigeidae del presente estudio utilizando ambos ITSs.

Taxón	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 <i>I. platycephalus</i>																			
2 <i>I. variegatus</i>	1,5																		
3 <i>I. pileatus</i>	2,5	2,7																	
4 <i>I. erraticus</i>	2,7	2,8	1,0																
5 <i>C. gallinulae</i>	12,1	12,4	12,3	12,5															
6 <i>P. diovadena</i>	20,3	19,5	19,1	19,5	20,8														
7 <i>P. diovadena</i>	20,1	19,4	19,0	19,4	20,4	0,0													
8 <i>P. diovadena</i>	20,3	19,5	19,1	19,5	20,8	0,0	0,0												
9 <i>P. diovadena</i>	20,3	19,6	19,1	19,5	20,8	0,2	0,2	0,2											
10 <i>P. cinta</i>	19,9	19,3	18,9	19,3	20,4	0,6	0,6	0,6	0,8										
11 <i>A. cornu</i>	18,9	17,9	18,2	18,7	19,4	6,8	6,9	6,8	6,8	6,8									
12 <i>A. burti</i>	18,2	17,5	17,5	18,0	19,2	10,2	10,3	10,2	10,2	9,8	7,9								
13 <i>A. burti</i>	18,5	17,8	17,8	18,3	19,3	10,1	10,1	10,1	10,1	9,7	7,7	0,4							
14 <i>A. burti</i>	16,9	16,2	16,2	16,8	17,7	9,0	9,0	9,0	9,2	8,5	7,2	0,7	0,8						
15 <i>A. burti</i>	18,8	18,1	18,1	18,8	19,3	10,2	9,9	10,2	10,4	9,8	8,2	2,5	2,5	1,6					
16 <i>A. gracilis</i>	17,8	17,3	17,0	17,5	19,3	10,0	9,8	10,0	10,0	9,7	7,7	5,2	5,1	4,5	5,8				
17 <i>C. medioconiger</i>	13,6	13,6	13,5	14,0	16,0	17,1	17,3	17,1	17,1	16,7	15,6	14,9	14,7	14,3	15,0	15,4			
18 <i>C. medioconiger</i>	13,5	13,5	13,4	13,9	16,5	17,1	17,3	17,1	17,1	16,8	16,0	15,2	15,0	14,5	15,2	15,4	1,8		
19 <i>C. medioconiger</i>	13,5	13,3	13,4	13,9	16,7	17,1	17,3	17,1	17,1	16,8	15,8	15,0	14,8	14,3	15,0	15,4	2,0	0,4	

5=*C. gallinulae* La Esperanza, Sin; 6=*P. diovadena* Huizache, Sin; 7=*P. diovadena* Punta de Piedra, Tams (1); 8=*P. diovadena* Punta de Piedra, Tams (2); 9=*P. diovadena* San Blas, Nay; 10=*P. cinta* San Blas, Nay; 11=*A. cornu* Chiconahuapan, Mex; 12=*A. burti* Guerrero Negro, B.C.S.; 13=*A. burti* Chiconahuapan, Mex. (*A. cyanoptera*); 14=*A. burti* Chiconahuapan, Mex. (*A. diazi*); 15=*A. burti* Gutiamape, Dgo; 17=*C. medioconiger* Guerrero Negro, B.C.S.; 18=*C. medioconiger* Laguna de Términos, Cam. (1); 19=*C. medioconiger* Laguna de Términos, Cam. (2).

Anexo 4b. Diferencias pareadas dadas en porcentajes entre las especies de la familia Strigeidae del presente estudio utilizando el ITS-1.

Taxón	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1 <i>I. platycephalus</i>																				
2 <i>I. variegatus</i>	2.0																			
3 <i>I. pileatus</i>	3.1	3.3																		
4 <i>I. erraticus</i>	3.5	3.7	1.2																	
5 <i>C. gallinulae</i>	14.0	14.3	14.1	14.5																
6 <i>P. diovadana</i>	21.2	20.0	19.4	20.2	23.8															
7 <i>P. diovadana</i>	21.1	19.8	19.2	19.9	23.2	0.0														
8 <i>P. diovadana</i>	21.2	20.0	19.4	20.2	23.8	0.0	0.0													
9 <i>P. diovadana</i>	21.3	20.0	19.4	20.2	23.9	0.3	0.3	0.3												
10 <i>P. cinta</i>	20.8	19.8	19.3	20.0	23.4	0.7	0.8	0.7	1.0											
11 <i>A. cornu</i>	19.0	17.4	17.9	18.8	22.0	7.7	7.9	7.7	7.7	7.5										
12 <i>A. burti</i>	18.6	17.6	17.6	18.4	21.6	10.7	10.9	10.7	10.7	10.3	8.0									
13 <i>A. burti</i>	18.6	17.6	17.6	18.4	21.8	10.7	10.9	10.7	10.7	10.3	8.0	0.3								
14 <i>A. burti</i>	17.8	16.8	16.9	17.7	20.6	9.8	9.9	9.8	10.1	9.4	7.8	0.9	0.9							
15 <i>A. burti</i>	19.1	18.2	18.2	19.1	22.2	11.0	10.5	11.0	11.3	10.5	8.4	2.8	2.8	1.7						
16 <i>A. gracilis</i>	18.5	17.7	17.2	18.0	20.6	9.7	9.4	9.7	9.7	9.4	7.1	4.6	4.6	4.4	5.9					
17 <i>C. medioconiger</i>	14.3	14.1	14.0	14.9	17.6	18.0	18.3	18.0	18.0	17.5	16.4	15.4	15.4	15.3	16.2	14.6				
18 <i>C. medioconiger</i>	14.4	14.2	14.1	15.0	18.5	18.2	18.6	18.2	18.2	17.8	16.6	15.9	15.9	15.8	16.7	14.7	1.6			
19 <i>C. medioconiger</i>	14.5	14.0	14.1	15.0	18.8	18.2	18.6	18.2	18.2	17.8	16.3	15.6	15.6	15.5	16.4	14.7	1.9	0.6		

Anexo 4c. Diferencias pareadas dadas en porcentajes entre las especies de la familia Strigeidae del presente estudio utilizando el ITS-2.

Taxón	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 <i>I. platycephalus</i>																			
2 <i>I. variegatus</i>	0.3																		
3 <i>I. pileatus</i>	0.7	1.0																	
4 <i>I. erraticus</i>	0.3	0.7	0.3																
5 <i>C. gallinulae</i>	7.6	7.9	7.9	7.6															
6 <i>P. diovadana</i>	18.2	18.5	18.5	18.2	18.5														
7 <i>P. diovadana</i>	18.2	18.5	18.5	18.2	18.5	0.0													
8 <i>P. diovadana</i>	18.2	18.5	18.5	18.2	18.5	0.0	0.0												
9 <i>P. diovadana</i>	18.2	18.5	18.5	18.2	18.5	0.0	0.0	0.0											
10 <i>P. cinta</i>	17.8	18.2	18.2	17.8	18.1	0.3	0.3	0.3	0.3										
11 <i>A. cornu</i>	18.8	19.2	19.2	18.8	18.5	6.1	6.1	6.1	6.1	6.5									
12 <i>A. burti</i>	17.4	17.4	17.4	17.4	18.4	11.1	11.1	11.1	11.1	10.8	9.4								
13 <i>A. burti</i>	18.4	18.4	18.4	18.4	18.4	10.6	10.6	10.6	10.6	10.2	8.9	0.7							
14 <i>A. burti</i>	14.8	14.8	14.8	14.8	15.5	8.8	8.8	8.8	8.8	8.3	7.5	0.4	0.8						
15 <i>A. burti</i>	18.1	18.1	18.1	18.1	17.3	10.6	10.6	10.6	10.6	10.2	9.6	2.4	2.4	2.0					
16 <i>A. gracilis</i>	16.4	16.4	16.4	16.4	16.4	10.3	10.3	10.3	10.3	9.9	8.6	5.9	5.8	4.0	5.1				
17 <i>C. medioconiger</i>	12.1	12.4	12.4	12.1	15.5	18.0	18.0	18.0	18.0	17.7	16.9	16.5	15.9	14.7	14.8	17.0			
18 <i>C. medioconiger</i>	11.4	11.7	11.7	11.4	15.5	17.7	17.7	17.7	17.7	17.3	17.7	16.5	15.9	14.4	14.8	16.6	2.7		
19 <i>C. medioconiger</i>	11.4	11.7	11.7	11.4	15.5	17.7	17.7	17.7	17.7	17.3	17.7	16.5	15.9	14.4	14.8	16.6	2.7	0.0	