



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



“DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA Y ASPECTOS
ECOLÓGICOS DE *Girardia sp.* EN TEPOTZOTLÁN,
ESTADO DE MÉXICO, CON CLAVE DE
IDENTIFICACIÓN PARA ESPECIES DEL GÉNERO
Girardia REGISTRADAS EN MÉXICO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

ALDO FRANCO DÍAZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN D. DANIEL OCTAVIO RAMOS CARMONA





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.

Agradecimientos:

Madre, Padre, gracias, gracias por todo aquello que dieron para poder guiarme hasta el día de hoy, por ustedes aprendí a amar lo que hago y a hacer lo que amo, a ser un hombre de valores que, aunque internado en ambigüedad, se sostiene con orgullo y sin arrepentimiento. Hoy, más que nunca, estoy orgulloso de ser su hijo.

Padre, me enseñaste la humildad de entender y, sobre todas las cosas, la grandeza de ayudar sin perder en algún momento mi estado terrenal, esto último, creo yo, puede considerarse como el verdadero sentido de ser.

Madre, a ti te agradezco el enseñarme las facetas del amor que existen en el mundo, a trabajar, luchar, considerar, escuchar y aprender, a defenderme cuando debo, a no aceptar resultados mundanos, menos aún si vienen de mí, gracias a ti, comprendí la fuerza que da moción a los mecanismos primordiales de la humanidad, amar.

A mis hermanos, Adrián y Beto, gracias por todos los momentos, hayan sido buenos o malos, que hemos pasado juntos, las risas y burlas sirven un propósito, el cual puede morir como un misterio, sé que son sinceros en totalidad, bondad a la cual le tengo un profundo respeto y una eterna admiración.

A mis perros, sí, a Talulo, Misha, Gravelord Nito, a la Güerita (Gordita) y a Izalith, por ser esa pieza que perfectamente apoya todo el cuadro, gracias por dar color a mis días.

A mi tía Toña, por apoyarme, sin deberlo, en los momentos cruciales de la investigación, a ti, todo el reconocimiento. A mi abuela, madre eterna, y a mis primos, especialmente a Erick, te aprecio bastante aunque vendas muy caro.

Agradezco a mis amigos Javier, Roberto, Ariel, Carlos, Ulises "El Corchos", Ulises "Yobbi", Fabiola, Eira, Gaby, Ana, Maribel, Shannon y a Muzzga (cuyo nombre real es Ofelia), quienes desde la vocacional han estado conmigo, todos ustedes pueden contar conmigo, sin importar que tan distantes podamos ser.

A Kali, nunca me olvidaría de ti, eres una persona tan cercana como única para mí, me has escuchado cuando nadie ha estado y me has tolerado tantas cosas, ausencias entre ellas, te amo, amiga, tú te mereces toda mi admiración, mi respeto y mi cariño, eres de las personas que más me han ayudado a lo largo de mi andar, de las primeras que conocí en el bachillerato. De volver en el tiempo, ten por seguro que haría lo mismo para poder conocerte una vez más, inclusive seguir pronunciando erróneamente tu nombre.

A mis amigos de la FESI, Danae; confidentes como tu hay pocos en esta vida, te agradezco lo que has hecho por mí, Nallely; aunque seas de barrio te aprecio de manera infinita y siempre te tendré en alta estima, Fernanda; sin importar que haya pasado y

pase, eres una de mis mayores fuentes de admiración y fuerza, nunca te des por vencida, jamás, ese no es tu estilo, Melissa; mi segunda madre, aunque el tiempo fue breve hoy permanece como un perpetuo recuerdo, Cecilia; diste más por mí de lo que deberías sin esperar nada a cambio, gracias eternas, Gustavo; contigo no me alcanzaría la tesis para describirlo, excepcional y atento, gracias, amigo, y Luis; por compartir buenos momentos así como gustos; gracias por apoyarme y tenerme paciencia, por escucharme y quererme, se merecen éxito, éxito del que se forja con el esfuerzo, del que se disfruta hasta el final absoluto. A Daniel "Taller", e Ivonne, gracias por su confianza y por todas esas aventuras, por peligrosas que hayan sido, siempre podrán confiar en mí.

A Karina; aunque haces berrinches te sigo queriendo mucho, Aketzalli; mi tercera madre, fuiste estoica y sincera conmigo, te lo agradezco mucho, a Pato; fuiste rara y elusiva, pero una buena amiga, y a Coto; gracias por ayudarme en el baile, por no dejarme solo.

A Kudier, Martha Sanzor, Carine, Abigail, a Cuba y a todos los socios del grupo Cohiba 10, gracias por apoyar mi escritura, gracias por todas esas noches de lectura y creatividad.

Gracias al maestro Daniel Octavio Ramos Carmona, por su enseñanza tan inigualable, así como por recibirme en un momento sorpresivo, así como a los platelmintos. Son los detalles menos aparentes los que dictan nuevos rumbos.

Al Dr. Jorge Jiménez Contreras, por apoyarme en la realización de esta tesis, así como por ser un maestro ejemplar.

A las maestras Marisol y María De Los Ángeles, así como al profesor Ángel, por revisar esta tesis y ayudarme dentro y fuera del aula, a la Dra. Rosario, así como a la Dra. Sarma por apoyar en la profundización de este trabajo.

Al IPN, casa madre donde tuve la primera aproximación a la biología; sin lo que aprendí allí no podría haber trascendido hasta hoy.

A la UNAM, amada casa de estudios, que deja en mí una huella sempiterna, la cual, con profundo orgullo, portaré hasta el final de mis días.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por ser mi hogar durante tanto tiempo; tan breves momentos resonarán en lo infinito.

Por último, a los videojuegos, a la escritura y la lectura, a la comida y al sueño, a la natación y al buceo, al mar y su música, a las arenas, al viento entre su cabello, a su risa y esa forma de arrugar la nariz, a todo aquello que retomó su naturaleza para dar forma a mis pensamientos, a esas efímeras incidencias en el tiempo, gratitud interminable.

Tamám shud.

“Sins are but puny when beheld from afar, for virtue dwells not in tongue or motion, but it does in essence, within such a place morality fades; is in that chamber, where heart lies. “

Sofia, the pearl within the singularity

Aldo Franco Díaz- 2017

Índice

Índice.....	5
Resumen.....	7
Introducción	8
Antecedentes	14
Justificación	15
Objetivo General.....	16
Objetivos particulares.	16
Área de estudio.....	17
Material y métodos	19
Trabajo De Campo.....	19
Trabajo De Laboratorio.	19
Trabajo De Gabinete.....	20
Ficha Taxonómica.....	20
Clave De Determinación Taxonómica.....	20
Resultados	21
Descripción de la especie.....	22
Morfología externa.	22
Morfología interna.	23
Parámetros fisicoquímicos.....	27
Ficha y Clave Taxonómica	29
Discusión	36
Conclusiones.....	43
Recomendaciones.....	44
Apéndices	45
Apéndice I.	45
Apéndice II.	45
Referencias.....	47

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

ALDO FRANCO DÍAZ

**“DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA Y ASPECTOS ECOLÓGICOS DE
Girardia sp. EN TEPOTZOTLÁN, ESTADO DE MÉXICO, CON
CLAVE DE IDENTIFICACIÓN PARA ESPECIES DEL GÉNERO
Girardia REGISTRADAS EN MÉXICO”**

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN D. DANIEL OCTAVIO RAMOS CARMONA

SINODALES:

M. EN C. MARÍA DE LOS ÁNGELES SANABRIA ESPINOZA

BIOL. JOSÉ ÁNGEL LARA VÁZQUEZ

M. EN C. MARISOL ÁVILA ROMERO

Dr. JORGE JIMÉNEZ CONTRERAS

Resumen

Se realizó la descripción de la morfología externa e interna, así como la identificación de una población de Tricladida en Tepetzotlán, Estado de México. Se obtuvieron en total 164 organismos, únicamente 15% sexualmente maduros, se procesaron 156 laminillas, mismas que fueron teñidas en Hematoxilina y Eosina. La observación de la musculatura interna de la faringe, la cual presentaba una capa circular y otra longitudinal, así como los testículos, observados en posición dorsal y en poca cantidad, permitieron concluir que la población pertenece a la familia Dugesiidae, posteriormente, contrastando con información de artículos científicos, pudimos concluir que, la misma, se encuentra en el género *Girardia*, teniendo mayor afinidad con la especie *Girardia azteca*. Se realizó la primera descripción fisicoquímica de la zona, obteniendo pH $8.5 \pm .20$, temperatura del agua en 12.15 ± 2.70 °C, una concentración de Oxígeno disuelto de 6.55 ± 1.71 mg/l, una saturación promedio de 63.42 ± 18.40 %, junto con una conductividad de 345 ± 23.80 μ s, y un promedio de 190 ± 31.62 ppm. Por la parte ecológica, se obtuvieron los registros en cuadrantes, los cuales arrojaron un promedio de 12 individuos por cada uno, lo que equivale a 48 individuos por metro cuadrado. Este es el primer registro de una especie del orden Tricladida en esta demarcación y la segunda en el Estado de México. Con estos datos se elaboró una ficha taxonómica que describe las principales características de esta población. A su vez, se creó la primera clave de identificación taxonómica para las especies pertenecientes al género *Girardia* reportadas actualmente en México.

Introducción

Los platelmintos son un grupo de invertebrados conocidos comúnmente con el nombre de gusanos planos, esto debido a la forma dorsoventralmente comprimida de sus cuerpos, lo cual les da una forma alargada y delgada, similar a un listón, la mayoría contiene pigmentos y órganos fotorreceptores, denominados ocelos (figura 1) (Hegner, 1956). Dentro del Phylum todos los organismos son tripoblásticos y acelomados; por lo que sus estructuras internas se encuentran embebidas en una matriz celular denominada parénquima, poseen simetría bilateral, carecen de ano así como de aparato circulatorio y respiratorio, poseen un sistema nervioso cefalizado conformado por nervios, también llamados cordones nerviosos, y ganglios cerebrales dispuestos a lo largo del cuerpo, los cuales se unen a un bulbo neural en la zona anterior, los procesos osmorregulatorios son realizados a través de estructuras conocidas como protonefridios, estas facilitan la excreción, principalmente, de residuos nitrogenados (Hyman, 1951; Ruppert y Barnes, 1996; Hartenstein, 2016).

Las planarias pueden reproducirse de manera sexual; mediante la transferencia de gametos a través de estructuras escleróticas (Noreña y Brusa, 2016), y asexual; a través de regeneración de tejidos, lo cual se debe a la existencia de células totipotenciales, denominadas neoblastos (Baguña, 2005). En su mayoría son organismos hermafroditas, aunque pueden llegar a ser unisexuales en diversas fases de su vida (Ramm, 2006).

La clasificación de los platelmintos ha estado en revisión desde hace más de 30 años (Rhode, 2001; Sluys *et al.*, 2009; Boll *et al.*, 2013) en el presente trabajo, se utilizará la taxonomía propuesta por Larsson y Ulf en 2008, en conjunto con los artículos de Boll *et al.*, 2013 y Egger *et al.*, 2015.



Figura 1. Ejemplos de especies de planarias europeas. De izquierda a derecha: *Polycelis sp.*, *Planaria torva* (alimentada), *Dendrocoelum lacteum*, *Schmidtea polychroa*, *Dugesia gonocephala* (alimentada), *Schmidtea mediterranea*. (Tomado de Rink, 2012).

El Phylum, actualmente, se divide en dos Clases, Catenulida, conteniendo organismos de vida libre en su totalidad, y Rhabditophora (figura 2), en las cuales existen tanto organismos parasitarios como de vida libre, esta última, cómo el nombre lo indica, se caracteriza por contener células denominadas rabditos (Larsson y Ulf, 2008). Los rabditos, principalmente, se encargan de secretar mucosidad, la cual funge como mecanismo de defensa ante depredación por otros organismos así cómo para facilitar la motilidad de los platelmintos generando una superficie donde pueden deslizarse (Reisinger y Kelbets, 1964; Martin, 1978).

Dentro de Rhabditophora se encuentra incluido el orden Tricladida (figura 2), el cual se compone de especies de vida libre, la particularidad principal es que todos los individuos incluidos en este Orden, presentan un canal digestivo dividido en tres ramificaciones, de allí su nombre, aunado a esto tienen cilios sobre la epidermis, los cuales fungen como estructuras de locomoción, específicamente para organismos de menor talla, en tanto que en los más grandes el movimiento se da mediante contracciones peristálticas (Ruppert y Barnes, 1996; Rhode, 2001; Sluys *et al.*, 2009; Boll *et al.*, 2013).

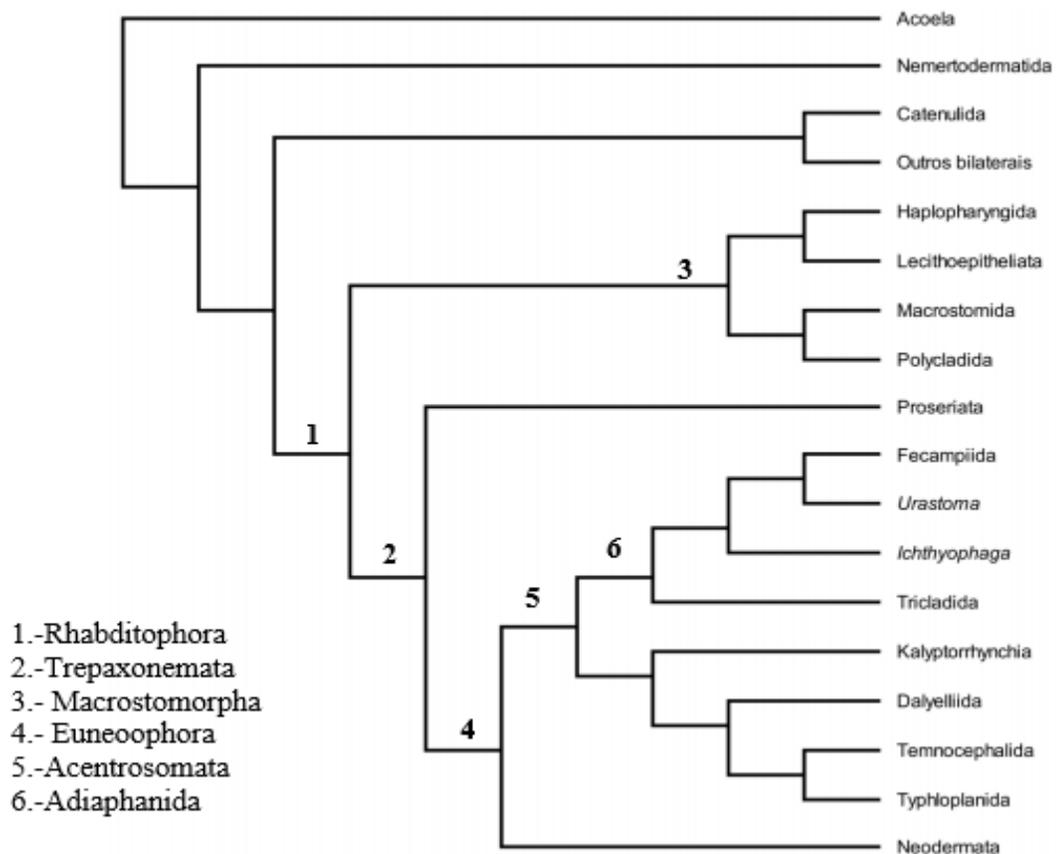


Figura 2. Relaciones filogenéticas entre los taxa existentes en el Phylum Platyhelminthes, (tomado de Boll *et al.*, 2013).

En general, el Orden Tricladida, son considerados organismos cosmopolitas, siendo la Antártida el único lugar sin un representante. Habitan en mares, cavernas y aguas epicontinentales, así como en tierra, estos hábitos han sido usados como precedente para su clasificación, derivando en los tres grandes subórdenes Maricola, Cavernicola y Continenticola, este último es el remplazo de los antiguos subórdenes Paludicola y Terricola, esto puede observarse en la figura 3 (Carranza *et al.*, 1997).

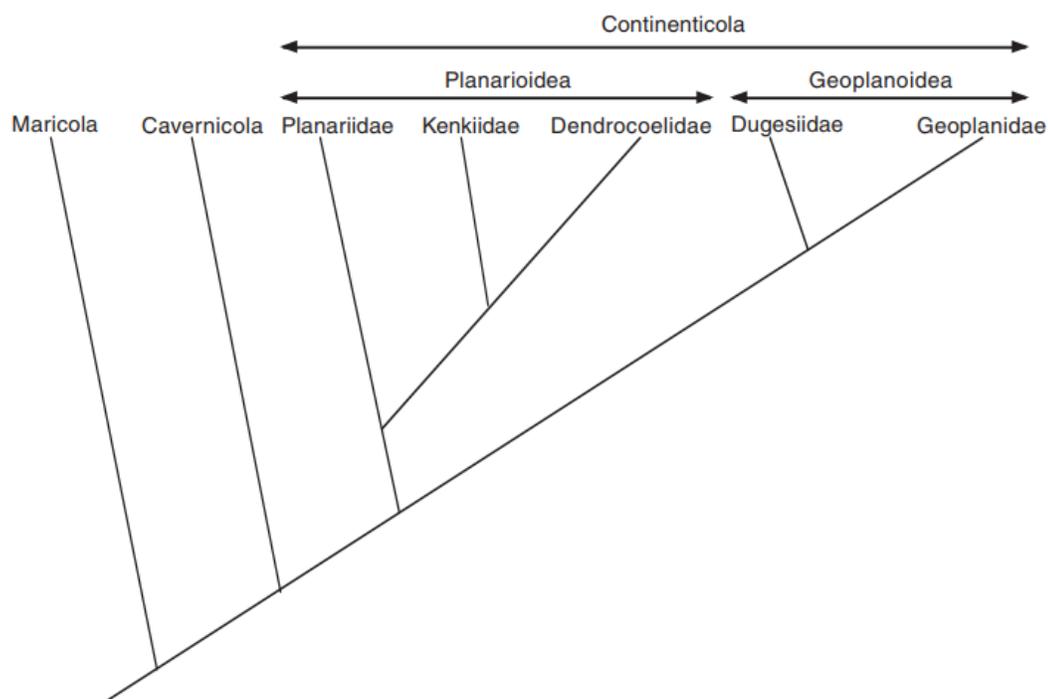


Figura 3. Árbol filogenético de los taxa contenidos en el orden Tricladida, en él se observa el cambio realizado al agregar el super grupo Continenticola (Tomado de Carranza *et al.*, 1997).

Los organismos estudiados en el presente estudio se encuentran en el Suborden Continenticola, específicamente en la Familia Dugesiidae, la cual es la de mayor distribución a nivel mundial (Rhode, 2001).

Los individuos de la Familia Dugesiidae pueden ser identificados mediante la observación de su morfología externa, ya que presentan características como cabeza triangular, ausencia de órgano adhesivo y presencia de ocelos (figuras 4 y 5) (Gamo, 1987); sin embargo, los caracteres que ayudan más a su correcta determinación son el tipo de musculatura que presentan en la faringe, ya que estos organismos presentan dos capas en el límite externo de la misma, una capa de músculo liso hacia la parte más distal y una capa circular contenida dentro de esta (Ball, 1974a; Kawakatsu y Mitchell, 1984). Lo

anterior también es útil al momento de determinar niveles más específicos, como lo son género y especie (Kawakatsu y Mitchell, 1981). Fuera de esto, una porción importante de las especies contenidas en estos grupos, Familia y Género, pueden ser identificadas al observar las diversas estructuras sexuales de las mismas (Kawakatsu y Mitchell, 1973a; Kawakatsu y Mitchell, 1984; Sluys *et al.*, 2005).

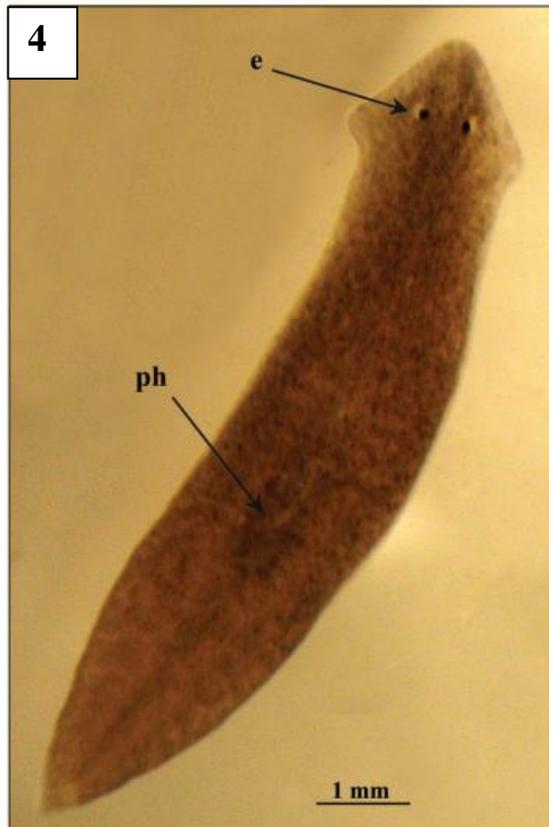


Figura 4. *Dugesia superioris*, e: ocelos, ph: faringe, nótese la forma triangular de la cabeza y la presencia de ocelos, así como la pigmentación. Tomado de Stocchino *et al.*, 2013.



Figura 5. *Girardia desiderensis*. Organismo cavernícola, a pesar de pertenecer a la misma familia en este caso dicho organismo carece de ocelos y de pigmentos, en general, a su vez se observa que es de tamaño menor, cabe destacar que las aurículas son más grandes. Tomado de Souza *et al.*, 2016.

En general, el sistema reproductivo en Tricladida, se compone de órganos tanto femeninos como masculinos, poseen dos ovarios de gran tamaño tras los divertículos intestinales, series de testículos acomodados en bandas al margen del cuerpo, el poro genital conecta a un antro común y a su vez este se conecta a una vagina que conduce a la bursa copulatória, por otra parte, del gonoporo, se extiende una papila peneana, la cual tiene la función de transmitir los gametos entre individuos, en la base de esta se conecta

con un par de vesículas seminales y a un bulbo (figura 6), el cual puede o no estar dividido en cámaras bulbares (Kawakatsu y Mitchell, 1984; Benazzi *et al.*, 1975).

Cabe destacar que únicamente dos familias de Tricladida presentan reproducción asexual, una de estas siendo la Familia Dugesiidae, la cual ha desarrollado la reproducción asexual como estrategia de adaptación a condiciones desfavorables (Beveridge, 1982).

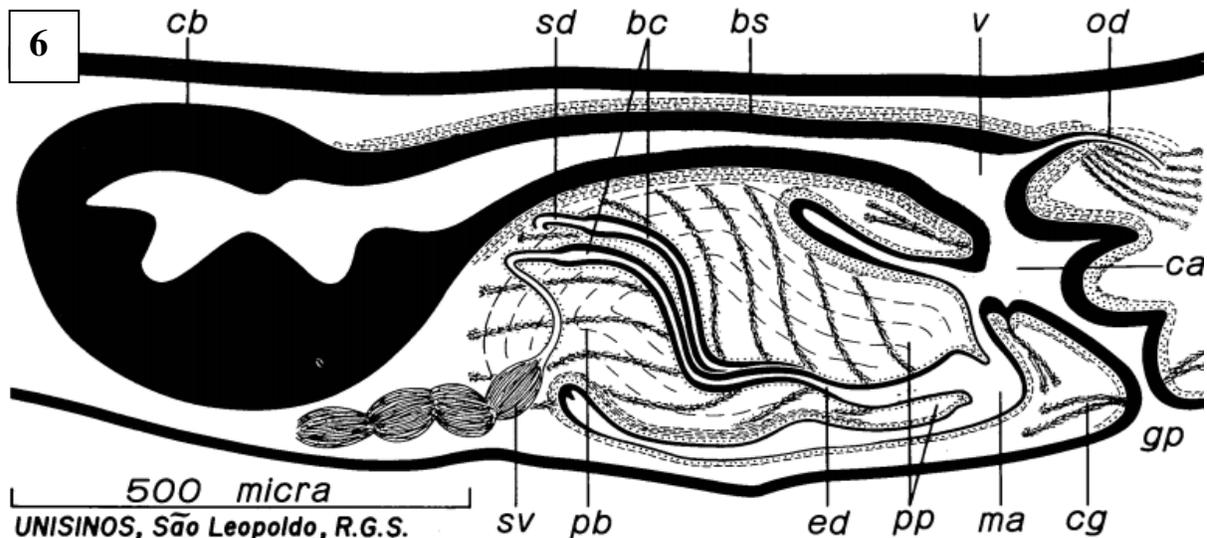


Figura 6. Esquema sagital del aparato reproductor de *Girardia tigrina*. Bc: cavidad bulbar; Bs: Saco bursal; Ca: Antro común; CB: Bursa copuladora; Cg: Glándula de cemento; Ed: Ducto eyaculador; Gp: Poro genital; Ma: Antro masculino; OD: Ducto ovovitellino; Pb: Bulbo peneano; Pp: Papila peneana; Sd: Espermiducto; Sv: Vesícula seminal; V: Vagina (Tomado de Kawakatsu *et al.*, 1981b).

El género *Girardia* (Ball, 1974), fue, hasta 1991, aceptado como subgénero de *Dugesia*, el género tipo de la familia, sin embargo, pruebas filogenéticas realizadas por De Vries y Sluys, 1991, corroboraron que el género *Dugesia* no era un grupo monofilético, esto significa que no todas las características presentes en este taxón son derivadas de un ancestro común, lo que permitió derivar en el aumento a género de *Girardia*, *Cura* y *Schmidtea* (Ball, 1974b; Álvarez-Presas *et al.*, 2008).

Los platelmintos del género *Girardia*, en general son depredadores eficientes, habitan en zonas oscuras, como son debajo de rocas o maderos, y están ligados a otros organismos pudiendo ser ectoparásitos de bivalvos con importancia económica (Zeidan *et al.*, 2012); sin embargo, dadas sus características adaptativas, también se les ha utilizado como indicadores de calidad del agua y para estudios de conservación (Sluys, 1999), así como para control de plagas de dípteros, esto último con la especie *Girardia tigrina* (Melo *et al.*, 1996).

Cómo se mencionó antes, se sabe que son capaces de regenerar partes de su cuerpo después de ser mutiladas, lo cual les ha colocado, durante mucho tiempo, como organismo modelo en investigaciones de carácter biomédico (Saló, 2006).

México tiene reportado, aproximadamente, 210 mil especies de invertebrados no artrópodos (Llorente-Bousquets y Ocegueda, 2008; IUCN, 2004), de este número se estima que 550 especies corresponden al Phylum Platyhelminthes (Salgado-Maldonado, 2005), cabe destacar que una gran mayoría son especies parásitas con relevancia médica.

Actualmente, en México se han reportado hasta el momento siete especies de Tricladida Continenticola, de los cuales cinco han sido nuevas especies, todas pertenecientes al género *Girardia* (Bennazzi y Giannini, 1971; Kawakatsu y Mitchell, 1973b; Kenk, 1989).

Antecedentes

En 2008, Ramos-Carmona, describió aspectos de la ecología de algunas poblaciones de Tricladida encontrados en el Río Texpilco en la Sierra Norte de Puebla, enlistando principalmente a *Girardia dorotocephala*, ampliando la distribución de la misma en el país.

En 1984, Kawakatsu y Mitchell, realizaron la re-descripción de *G. azteca* en la localidad El Zarco, Distrito Federal, señalando características anatómicas distintivas, a su vez afirmó la existencia de otra especie en México, *G. tigrina*.

En (1974a), Ball, realizó una revisión Phylumgenética de la Familia Dugesiidae, destacando la monofilía en seis taxones, lo que llevo a catalogarlas como subgéneros.

En 1973a, Kawakatsu y Mitchell realizaron el listado de las planarias cavernícolas en la Sierra de Guatemala, México. Con ese estudio obtuvieron el registro de tres especies nuevas para México. *G. guatemalensis*, *G. typhlomexicana* y *G. barbarae*.

Otro nuevo registro es la especie *G. mackenzei* (Mitchell y Kawakatsu, 1973b) en un grupo de cavernas en Chiapas, México.

En 1973, Reddell y Elliot, realizaron el listado taxonómico de un grupo de cavernas localizadas en Tamaulipas y en San Luis Potosí, reportando cuatro especies pertenecientes a orden Tricladida, de las cuales dos, *G. typhlomexicana* y *G. barbarae*, eran nuevos registros para la zona.

En 1971, Ball realizó un estudio de sistemática y biogeografía del grupo Tricladida en Centro y Sudamérica, debatiendo si la presencia del género *Dugesia* en distintos ambientes, cavernícolas y marícolas, en el Caribe, se pudo deber a la formación de puentes terrestres entre islas.

Justificación

Debido a la gran complejidad en la determinación de este grupo, en la actualidad, se cuenta con pocos estudios que describan al orden Tricladida. Las constantes disputas en la filogenia de los platelmintos y su compleja determinación taxonómica han sido factores que dificultan su estudio por lo que pasan sin ser percibidos en el ámbito científico (Ramos-Carmona, 2008).

Es necesario realizar más estudios sobre este grupo ya que la información con la que se cuenta resulta escasa y desactualizada. Cabe destacar que los estudios han arrojado información sobre la importancia y papel que juegan el orden Tricladida en los ecosistemas, además de las relaciones que tienen con otros organismos, las cuales aún no son comprendidas del todo.

Por su parte, el interés que atañe a la zona se debe, principalmente, a que la Sierra de Tepotzotlán es catalogada como Parque Estatal Ecológico, por lo cual es prioritario tener conocimiento de los diferentes recursos faunísticos que contiene, los beneficios ambientales que puedan proveer, así como el papel que desempeñan en los procesos ecológicos a pequeña y gran escala.

Aunado a lo anterior, las diversas características medioambientales bajo las cuales estos organismos se desarrollan deben documentarse, pues de esta manera se puede dar seguimiento a los ecosistemas en los cuales residen. Estudios ecológicos deben emprenderse para conocer el estado actual de las diversas poblaciones que existan, ya que esto permitirá evaluar su calidad, así como elaborar acciones para su conservación y, o, preservación en caso de ser necesario.

En conjunto, poco es lo que se conoce de los platelmintos de vida libre en México, especialmente sobre su taxonomía, los últimos estudios han arrojado nuevas especies, siendo la más reciente la re-descripción de *G. azteca*, en 1984 por Kawakatsu, lo cual sugiere que puede existir una gran diversidad aún desconocida por develar.

Para lo anterior se busca elaborar una clave de identificación para las especies del género *Girardia* reportadas actualmente para México ya que, a pesar de que hay información, no existe un compilado de la misma en este formato alguna. Esto sería de mucha ayuda ya que pocos son los estudios que expliquen una metodología clara para la determinación, lo cual abre la puerta a que se cometan múltiples errores de identificación.

Objetivo General

-Realizar la descripción taxonómica, estudiar la riqueza específica y densidad poblacional de *Girardia sp.* en la localidad San Miguel Cabañas, en la Sierra de Tepetzotlán, Estado de México, y contribuir al conocimiento del grupo con una clave de identificación taxonómica a nivel de género para las especies registradas actualmente para México.

Objetivos particulares.

- Determinar hasta el mayor nivel taxonómico posible la población de *Girardia sp.* de la localidad San Miguel Cabañas, Tepetzotlán, Estado de México.
- Caracterizar la zona de estudio a través de la medición de variables fisicoquímicas.
- Estudiar la riqueza específica y densidad poblacional de *Girardia sp.*
- Elaborar una ficha taxonómica de la especie.
- Elaborar una clave dicotómica de identificación taxonómica para las especies del género *Girardia* reportadas actualmente para México.

Área de estudio

El río San Miguel-Cabañas ($19^{\circ}43'27.8''$ N, $99^{\circ}21'00.6''$ W), está ubicado en el municipio de Tepotzotlán, Estado de México, (figura 7 y 8) sobre el Km 19 de la carretera Tepotzotlán-Arcos del Sitio (figura 9).

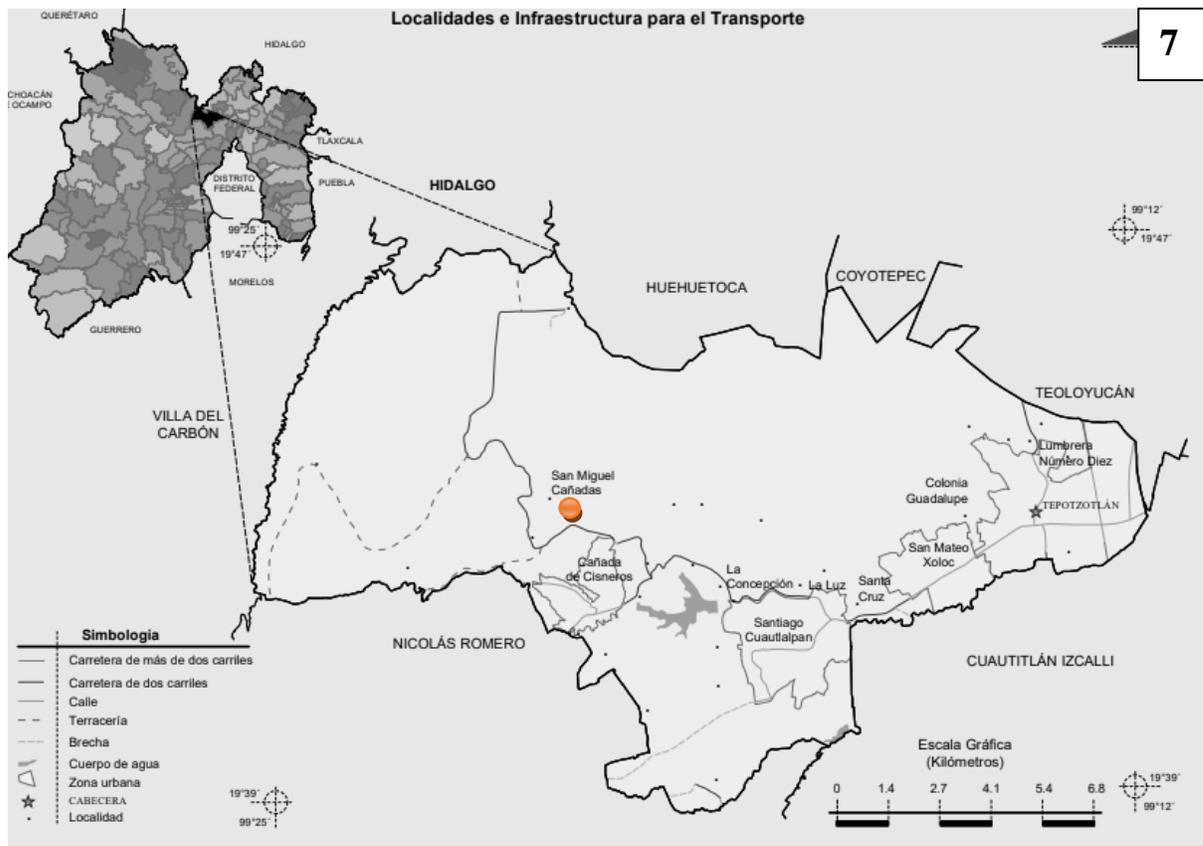


Figura 7. Ubicación geográfica de la localidad San Miguel Cañada, señalado en un mapa del Estado de México. (Tomado de INEGI 2009).

El río San Miguel-Cabañas es un afluente del río Moctezuma, forma parte de la cuenca hidrográfica del río Pánuco y pertenece al eje Neovolcánico Transversal teniendo sus tierras situadas sobre lomeríos.



Figura 8. Sitio de colecta, Río San Miguel-Cabañas, Tepetzotlán, Estado De México.

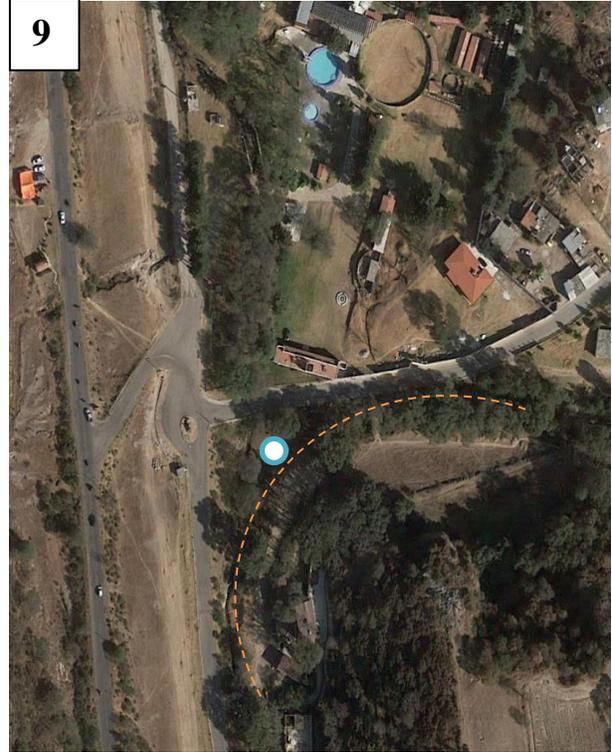


Figura 9. Sitio de colecta, Río San Miguel-Cabañas. La marca circular indica el sitio de inicio de muestreo Cabañas (19°43'27.8" N, 99°21'00.6" W), la línea punteada señala el curso del río.

El clima es predominantemente templado subhúmedo con lluvias en verano de humedad media, la temperatura oscila de 12-15 ° C, dada la naturaleza orgánica de los suelos circundantes (Phaeozem en 70%) existe una intensa activación de la industria agrícola, teniendo como vegetación predominante cultivos y pastizal inducido (INEGI, 2009).

Material y métodos

Trabajo De Campo.

Se realizaron cuatro colectas los días 20 de octubre y 9 de diciembre de 2016, así como 20 de marzo y 18 de noviembre de 2017, abarcando, de esta forma, las temporadas de lluvias, secas frías y secas cálidas. Las colectas fueron de manera directa, dado el flujo del río y lo bajo del nivel de agua, se realizaron según lo recomendado por Reynoldson (1966). Se llevó a cabo usando pinces finos, colocando a los ejemplares en recipientes de plástico con agua de su medio y rocas, para después transportarlos al Laboratorio de Zoología de la FES-I, UNAM.

Dado que no existe un método estandarizado para el estudio ecológico de los platelmintos en ríos, los estudios en aguas continentales se han hecho en lagos, donde los dragados son utilizados, en el presente estudio se usó un muestreo dirigido (Chandler y Darlington 1986; Chandler y Darlington, 1991), mediante un cuadrante de medio metro de lado con una rejilla, el cual se colocó aleatoriamente en las zonas con mayor probabilidad de contener organismos, posterior a esto se seleccionaron los cantos rodados de mayor tamaño y se recogieron para contabilizar los organismos adheridos, de esta forma se estimó densidad poblacional (Jenkins y Miller, 1962; Southwood y Henderson, 2000).

Las mediciones de variables fisicoquímicas se realizaron el 17 de noviembre de 2017 según lo establecido por el manual Apha, 1999. Temperatura, oxígeno disuelto y saturación se midieron con un oxímetro YSI modelo 55; conductividad se obtuvo con un conductímetro marca Conductronic CL8, dureza y alcalinidad se obtuvo mediante titulación potenciométrica, turbidez con un turbidímetro 11150-220V, finalmente pH mediante el uso de un potenciómetro marca Hanna modelo Hi 991001.

Trabajo De Laboratorio.

Los organismos colectados se observaron *in vivo*, mediante el uso de un microscopio estereoscópico marca Motic modelo SMZ-171, tomando medidas de longitud total, ancho y presencia o ausencia de poros genitales y aurículas; entre otros, para luego ser fijados usando HNO₃ 5% y fluido de Bouin, y preservados en etanol 70% debidamente etiquetados registrando, sitio de muestreo, fecha, nombre del colector y fijador utilizado (Mamkaev *et al.*, 2014; Lukhnev y Timoshkin., 2015).

Para la observación histológica se realizaron cortes de siete micras de ancho, recomendado por Kawakatsu y Mitchell (1984). Los cortes se realizaron en forma

longitudinal y transversal, esto último para la correcta observación de la musculatura externa de la faringe. Se utilizó la técnica de Hematoxilina y Eosina para la observación de estructuras sexuales como son testículos y ovarios. Esto fue llevado a cabo mediante el uso de un microscopio óptico marca Motic B1 Advanced Series, una cámara digital S-View modelo SXY-I90, y el software de observación S-Viewer el cual fue calibrado utilizando una cámara de Neubauer. Con este se obtuvieron medidas como ancho, largo y alto y cantidad.

Trabajo De Gabinete.

Para la determinación a nivel de Orden se consultaron las claves de Hyman (1959) y Pennak (1989). Para la determinación del nivel de Familia se consultó lo reportado por Ball (1971 y 1974a) y Gamo (1987). En el caso del nivel taxonómico de Género y especie se consultó bibliografía especializada como Kawakatsu y Mitchell (1973a), Kawakatsu y Mitchell (1973b), Kawakatsu y Mitchell (1981a), Kawakatsu y Mitchell (1981b), Kawakatsu y Mitchell (1984) y Sluys *et al.*, (2005).

Ficha Taxonómica.

Con los datos recabados, se elaboró una ficha taxonómica que describe las principales características de la población del género *Girardia sp*, en Tepetzotlán, Estado de México.

Clave De Determinación Taxonómica.

Para la elaboración de la clave, se utilizaron características morfológicas externas e internas que permitieran identificar las especies del género *Girardia* reportadas actualmente para México, enfocándose especialmente en las características histológicas de la faringe y de estructuras reproductivas, tales como tamaño, ubicación y cantidad de testículos (Lanteri y Cigliano, 2006).

Resultados

Se obtuvieron en total 164 organismos, de los cuales 25 presentaron gonoporos, únicamente 15 % del total, cabe destacar que todos los organismos sexualmente maduros se obtuvieron durante los muestreos en temporada de secas frías (noviembre-abril) como se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1: Diferentes fechas de muestreo en conjunto con la cantidad de individuos encontrados en cada fecha. Cabe destacar que en época de secas cálidas no se encontraron individuos en el recorrido sobre el río, ni en las pozas a dyacentes. Todos los individuos con estructuras reproductivas (E.R) se hallaron en épocas de secas frías, % = Porcentaje de individuos con E. R en el muestreo.

Fecha	Género	# Individuos	E. R (%)
20-octubre-16	<i>Girardia sp.</i>	54	12 (22%)
9-diciembre-16	<i>Girardia sp.</i>	50	7 (14%)
20-Marzo-17	<i>Girardia sp.</i>	0	0 (0%)
18-noviembre-17	<i>Girardia sp.</i>	60	6 (10%)

Los especímenes se encontraron adheridos a rocas a lo largo del río y en piscinas formadas sobre el lecho. No se encontraron organismos adheridos a materia orgánica tal como hojarasca o vegetación subacuática, a su vez todos se encontraban únicamente en cantos que estuviesen semienterrados y cercanos a la orilla (figura 10).



Figura 10: *Girardia sp.* colectados adheridos a los cantos rodados a rrastrados por la corriente. Cabe destacar su tamaño y la coloración oscura que presentan en la superficie dorsal.

Descripción de la especie.

Orden: Tricladida (Lang, 1884)

Suborden: Continenticola (Carranza *et al.* 1998)

Familia: Dugesiidae (Ball, 1974)

Género: *Girardia* (Ball, 1974)

Morfología externa.

Los organismos son alargados, delgados y en forma de listón, presentan cabeza triangular con el extremo anterior aguzado y prolongado, poseen un par de ocelos fuertemente pigmentados y aurículas puntiagudas bien desarrolladas, el cuerpo mide, en promedio, 8.1 ± 4.4 mm de largo, y 1.3 ± 0.8 mm de ancho. El cuerpo se hace más esbelto posterior a las aurículas, pudiendo definir una zona de separación entre la cabeza y el resto del cuerpo; tras la región de la faringe el cuerpo se engrosa hasta alcanzar su ancho máximo al terminar en un borde romo abrupto. En un principio parecen ser totalmente oscuros, sin embargo, observados al microscopio se reporta pigmentación marrón oscura en la parte dorsal-posterior del cuerpo, mientras que la región cefálica tiene coloraciones claras, levemente translucidas. La región ventral es marrón clara y blanca en su mayor parte, únicamente teniendo pigmentación en los bordes. En ejemplares sexualmente maduros los poros reproductivos fueron evidentes y se observan como puntos claros en la parte posterior del cuerpo (figura 11).

Tras la fijación, el cuerpo, la parte anterior de la cabeza y las aurículas se redujeron drásticamente, estas últimas casi en su totalidad; el ancho general del cuerpo aumentó pasando de una forma delgada a una oval alargada. La cabeza dejó de ser completamente distinguible del resto del cuerpo y la coloración presente fue oscura en su totalidad (figura 12).



Figura 11: Ejemplar colectado observado *in vivo*.



Figura 12: Ejemplar colectado tras la fijación con Ácido Nítrico al 2: %,

Morfología interna.

Se realizaron seis series de cortes: cinco longitudinales y uno transversal, se obtuvieron 156 laminillas en total.

Se observaron dos capas conspicuas de músculo en el margen externo de la faringe, una de músculo longitudinal y otra más de músculo circular (figuras 13 y 14), la misma, presentó una coloración clara al carecer de pigmentos, esto se pudo observar en organismos que, tras la fijación, protruyeron la faringe. En promedio el ancho total del organismo, medido de la parte dorsal a la ventral, es de 0.19 ± 0.48 mm, en tanto que las capas musculares en la parte exterior de la faringe miden 0.12 ± 0.4 mm de ancho. En las estructuras sexuales se registraron únicamente testículos, los cuales están acomodados en pares de bandas paralelas (figura 15) mismas que corren al margen del organismo, se encuentran en posición media, es decir, extendiéndose desde la parte ventral hasta la dorsal, en grupos no mayores a diez, estimando un total de 40 testículos por individuo. (figuras 16 y 17), son posteriores a la faringe, son de forma elipsoidal, con una altura

promedio de 0.12 ± 0.02 mm y un ancho promedio de $0.05 \pm .01$ mm (figuras 18, 19 y 20) (tabla 2).

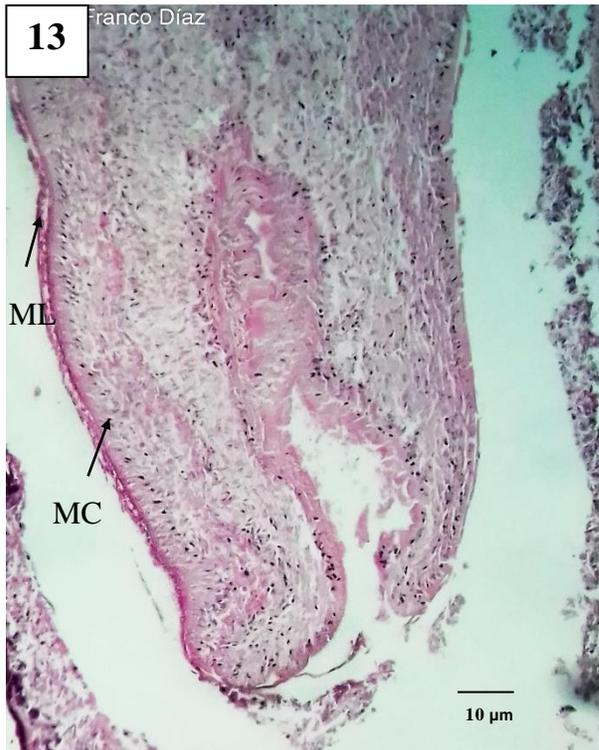


Figura 13: Corte longitudinal de faringe, ML: músculo longitudinal MC: músculo circular.



Figura 14: Aumento en la zona de la musculatura faríngea. Corte longitudinal de faringe, ML: músculo longitudinal MC: músculo circular.

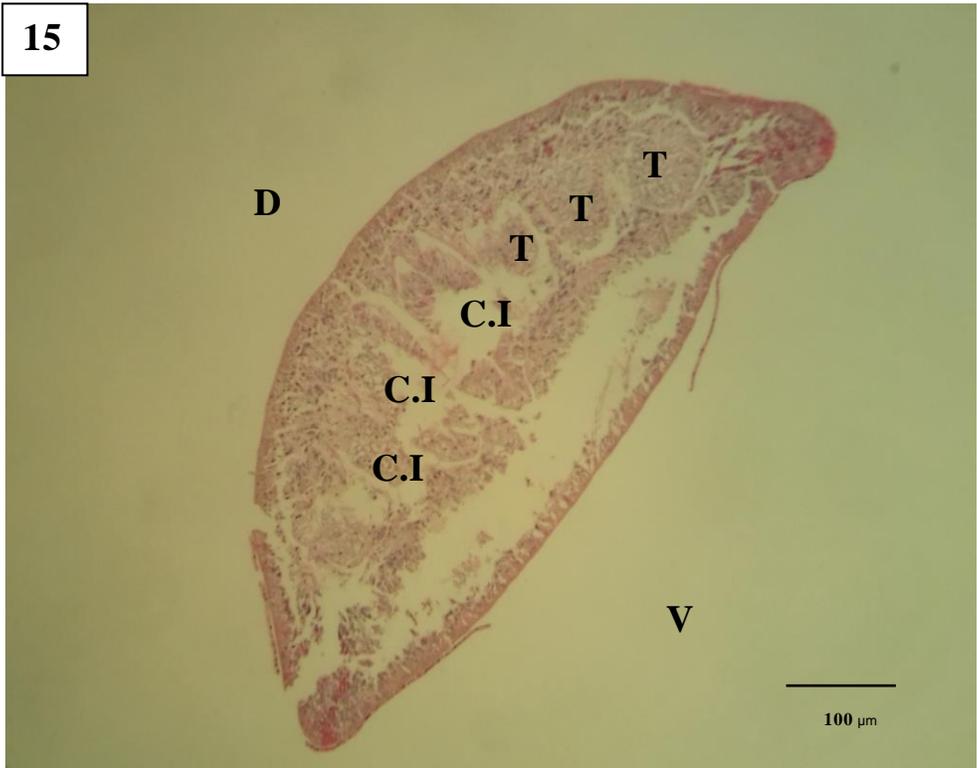


Fig. 15. Corte transversal, D= parte dorsal del organismo V= parte ventral del organismo. En la imagen se aprecian dos hileras de testículos en la banda externa del organismo, a su vez, se comprueba que el tamaño de los mismos abarca toda la zona media del interior, tres ciegos intestinales se notan en la parte media (C.I)

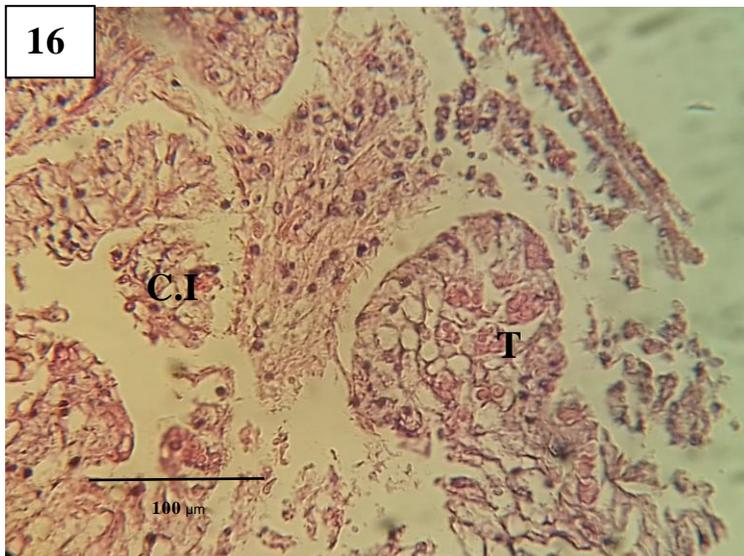


Figura 16. Corte longitudinal, se observa un único testículo (T) ubicado en la parte media del cuerpo, junto a este se observa un ciego intestinal (C.I) el cual es característico de este género.

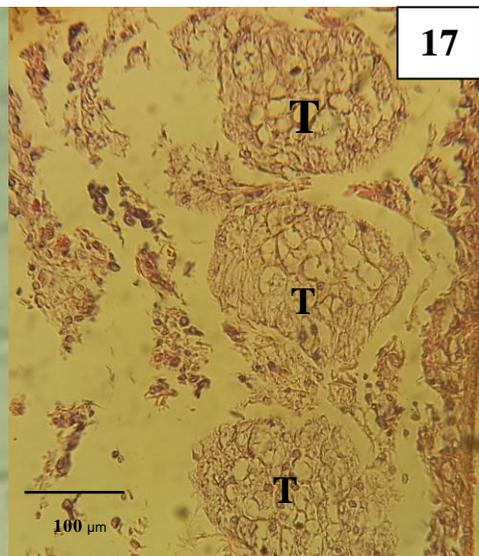


Fig. 17. Corte longitudinal con hilera de 3 testículos.

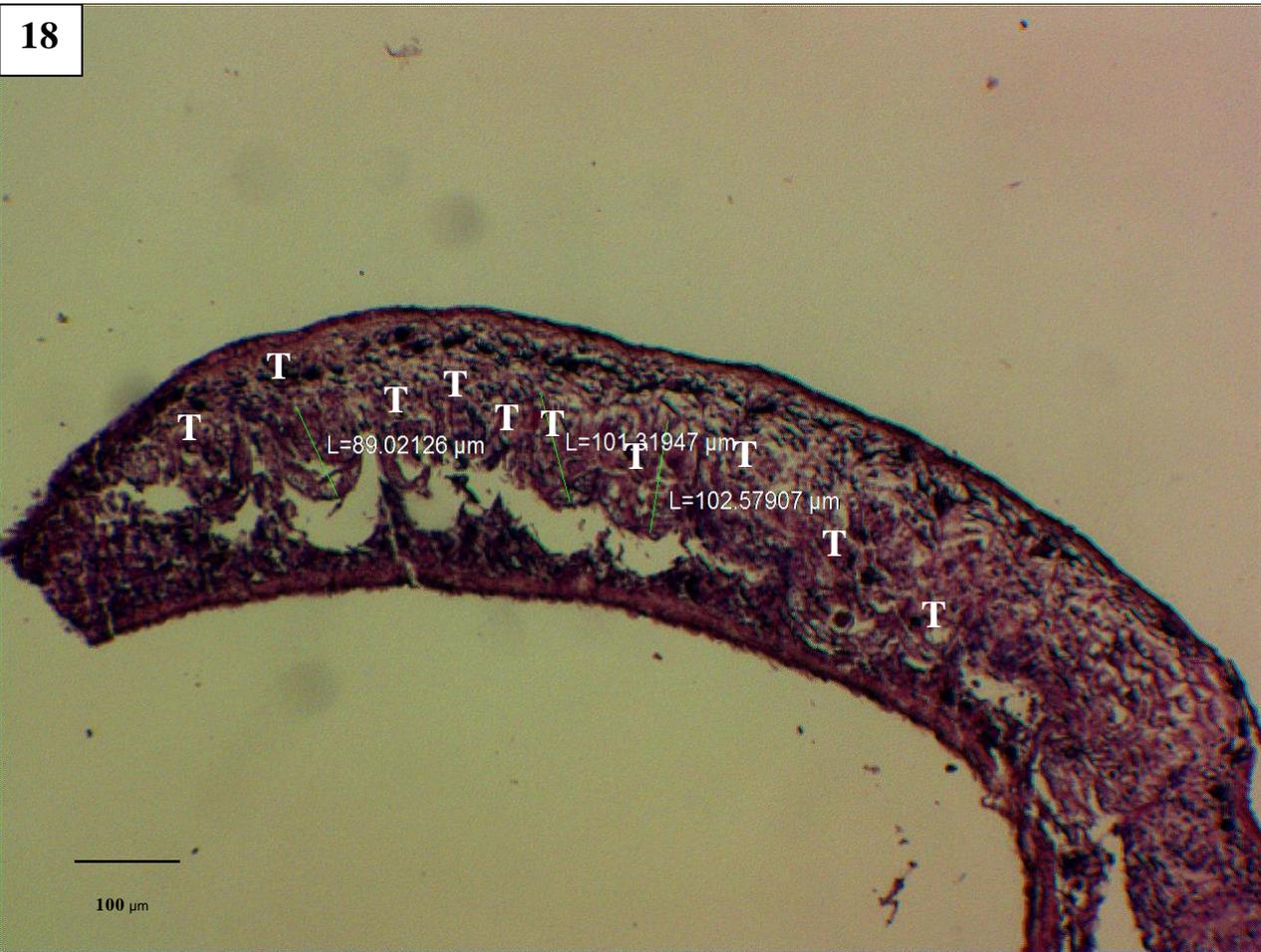


Figura 18. Corte longitudinal, se puede observar una hilera de testículos (T) que corre a lo largo del cuerpo, estos se encuentran en posición posterior y dorsoventral, la imagen contiene detalles de altura de los testículos.

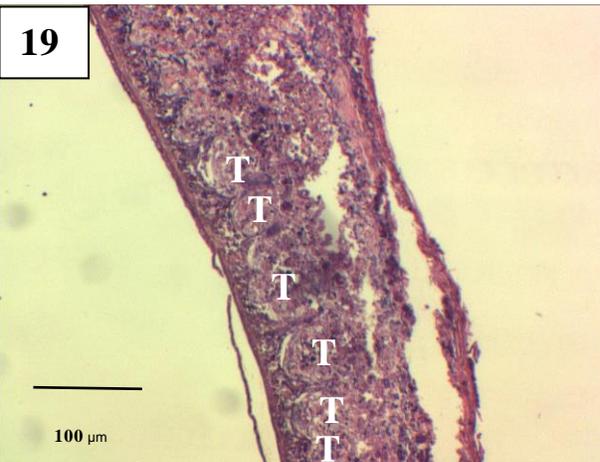


Figura 19. Corte longitudinal con hilera de testículos sobresaliendo, los cuales ocupan todo el espacio interno del cuerpo, extendiéndose de dorso a vientre.



Figura 20. Hilera de testículos, esta imagen contiene diez testículos, siendo el máximo contado por hilera.

Todas estas observaciones nos permitieron confirmar que el organismo pertenece a la familia Dugesiidae, género *Girardia*.

Tabla 2. Medidas morfométricas de los testículos en *Girardia sp.* En orden H= Altura del testículo, W= Ancho, L= Largo, Mx= Medida superior M= Media aritmética, σ = Desviación estándar.

	H (mm)	W (mm)	L (mm)
Mx	0.17397	0.02803	0.07000
M	0.12025	0.01282	0.05119
σ	0.46320	0.00498	0.01440

Parámetros fisicoquímicos.

Durante la medición de parámetros fisicoquímicos se tomaron muestras en la zona donde se colocaron los cuadrantes, cabe destacar que las mediciones únicamente se llevaron a cabo durante el último día de muestreo, es decir, 18 de noviembre de 2017.

Los resultados obtenidos arrojaron un pH promedio de 8.5 ± 0.20 , temperatura del agua en 12.15 ± 2.70 °C, una concentración de Oxígeno disuelto de 6.55 ± 1.71 mg/L, una saturación promedio de 63.42 ± 18.40 %, junto con una conductividad de 345 ± 23.80 μ s, y un promedio de 190 ± 31.62 ppm en sólidos disueltos totales (tabla 3).

Tabla 3. Características fisicoquímicas de las pozas registradas con individuos.

Poza	Temp°	O ₂ mg/L.	pH	C. μ s	S.D ppm	Sat. %
1	10	5.6	8.3	380	170	52.2
2	11	5	8.5	340	200	50
3	11.5	6.7	8.5	330	230	61.5
4	16.1	8.9	8.8	330	160	90
Media	12.15	6.55	8.5	345	190	63.4

Durante los dos primeros muestreos la zona se encontraba casi completamente seca, no presentó un flujo constante, y las pozas se encontraban cubiertas de florecimientos algales (figuras 21 y 22), en cambio, durante el cuarto y último muestreo el nivel de agua aumentó y los florecimientos eran menores, aunque gran parte de las pozas estaba cubierta de vegetación acuática.

Se encontraron una gran variedad de insectos y diversos invertebrados acuáticos, entre los cuales destacan las chinches de agua, pertenecientes a la Familia Bellostomatidae,

diversos arácnidos, anélidos y galerías de Trichoptera, así como odonatos, entre otros que no fueron identificados.

Por la parte de riqueza específica, tenemos como resultado que todos los organismos observados pertenecen al mismo género, *Girardia*, no existían variaciones obvias en cuanto a las características morfológicas externas e internas, por lo que se presume todos pertenecen a una especie.

Los cuadrantes arrojaron un promedio de 12 individuos por cada uno, lo que equivaldría a 48 individuos por metro cuadrado.

Cabe destacar que este es el primer registro de una población Continenticola en esta demarcación, y el segundo en el Estado de México, por lo que con esto ya se comienza a ampliar la zona de distribución conocida, en México, para estos organismos.



Figura 21. El río San Miguel Cabañas. El cauce del río es bajo y no tiene mucho movimiento, en la imagen una de las pozas muestreadas.



Fig. 22. Poza muestreada, la coloración es turbia por el sedimento removido, los cantos rodados cercanos a la orilla son los únicos que contenían organismos.

Girardia sp.

Tricladida continentales de México.

Taxonomía

Phylum: Platyhelminthes
Clase: Rhabditophora
Orden: Tricladida
Suborden: Continenticola
Familia: Dugesiidae
Género: *Girardia sp.*

Órganos Reproductivos

Poseen, aproximadamente, 40 testículos por individuo, acomodados en bandas laterales en grupos de 10. Son grandes y se ubican dorsoventralmente en el organismo.

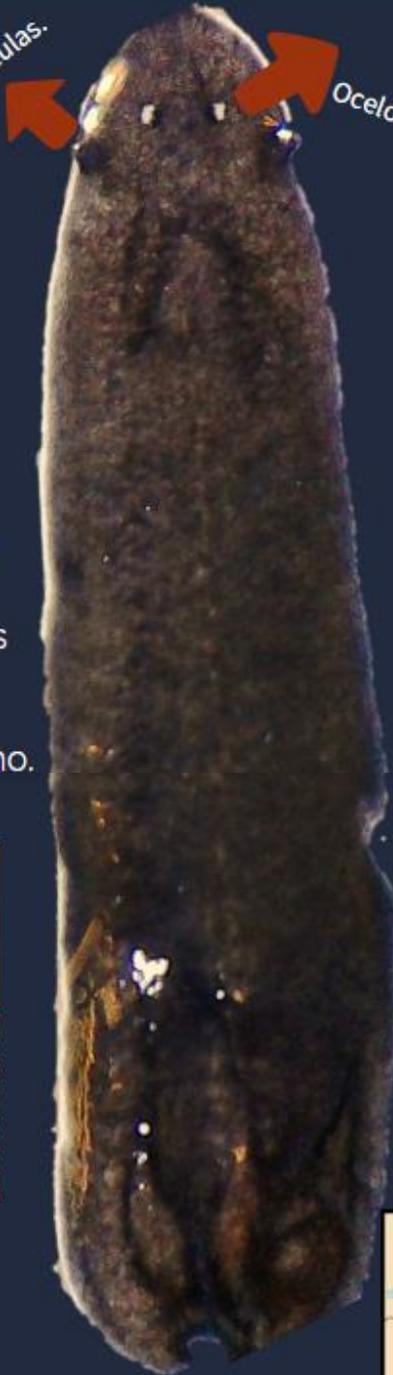


Hábitat

Se encuentran en ríos, adheridos a rocas, sobre tapetes de algas, las cuales consume.



Aurículas. Ocelos



Anatomía

Son organismos aplanados, miden 8.1 ± 4.4 mm de largo y 1.3 ± 0.8 mm de ancho. Como todo miembro de la familia Dugesiidae, posee dos capas de musculatura externa en la faringe.



Sentidos

Tienen órganos fotoreceptores, conocidos como ocelos, y quimiorreceptores y mecanorreceptores, conocidos como aurículas.

Distribución



**CLAVE DE DETERMINACIÓN PARA ESPECIES PERTENECIENTES AL GÉNERO *Girardia*,
REPORTADAS ACTUALMENTE EN MÉXICO.**

1a: Planarias ciegas, cavernícolas.... 2

1b: Planarias con ocelos evidentes, pueden ser cavernícolas... 3

2a: Cavidad bulbar ovalada y elongada, testículos dorsoventrales grandes, alrededor de 28 por individuo, papila peneana mediana, simétrica y cónica, individuos alrededor de 8mm de longitud total..... ***G. typhlomexicana***

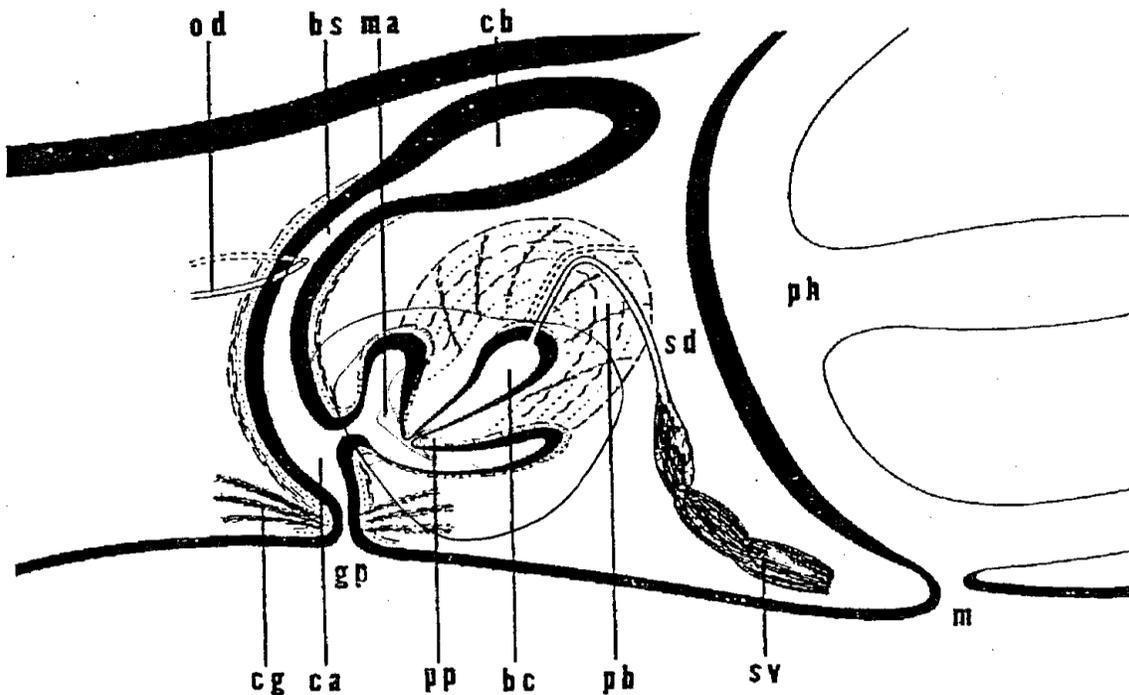


Figura 23. *Girardia typhlomexicana*, vista sagital del aparato reproductor. Bc: Cavidad bulbar, Bs: Canal bursal, Cb: Bursa copuladora, Ca: Atrio común, Cg: glándulas de cemento, e: ojos, ed: ducto eyaculatorio, gp: poro genital, i: intestino, m: boca, ma: atrio masculino, od: ducto ovovitelino, pb: bulbo peneano, ph: faringe, pp: papila peneana, sd: Espermiducto, sv: vesícula espermática (Tomado de Kawakatsu y Mitchell, 1973b).

2b: Con un par de cavidades bulbares ovaladas y medianamente amplias, testículos dorsales grandes, papila peneana larga, asimétrica y cónica, 8 mm de longitud... *G. barbarae*

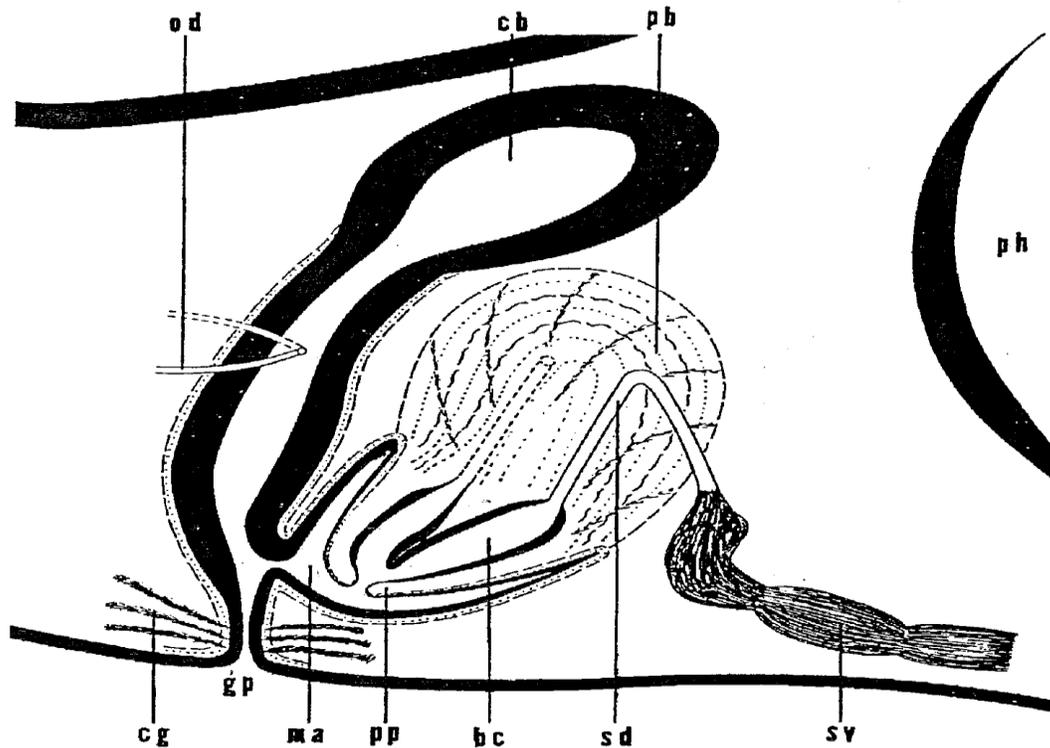


Figura 24. *Girardia barbarae* vista sagital del aparato reproductor. Cb: bursa copuladora, ph: faringe, sv: vesícula seminal, sd: Espermiducto, pp: papila peneana, ma: atrio masculino, gp: poro genital, cg: glándulas de cemento, od: ducto ovovitellino, pb: bulbo peneano, bc: cavidad bulbar (Tomado de Kawakatsu y Mitchell, 1973b).

3a. Planarias cavernícolas sin pigmentos.... 4

3b. Planarias terrestres o superficiales con pigmentos.... 5

4a: Testículos ventrales de tamaño mediano, cavidad bulbar alargada y angosta, papila peneana larga y angosta, simétrica y cónica... *G. guatemalensis*

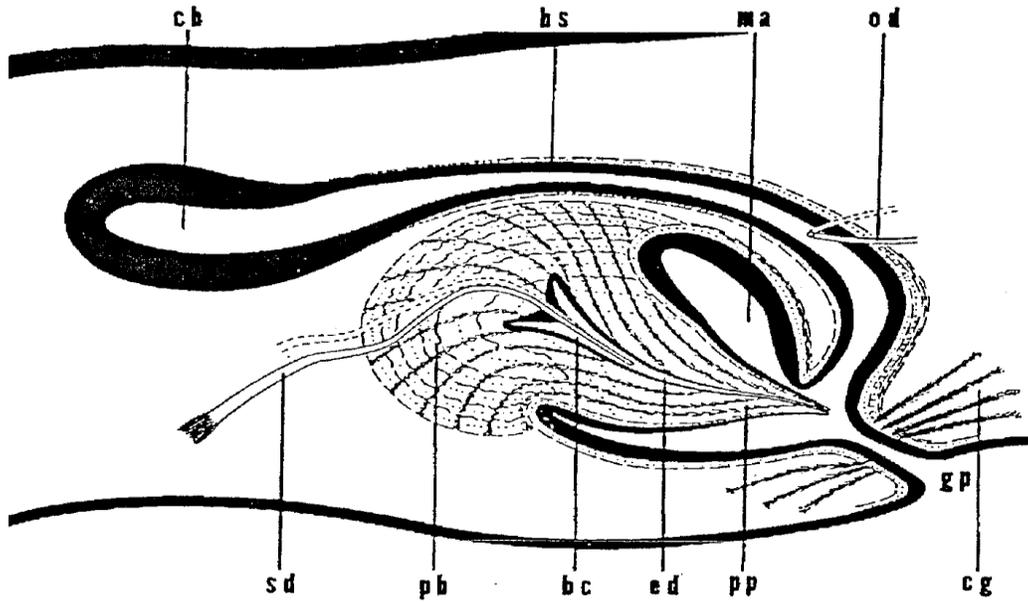


Figura 25. *Girardia guatemalensis*, vista sagital del aparato reproductor. Cb: bursa copuladora, ph: faringe, sv: vesícula seminal, sd: Espermiducto, pp: papila peneana, ma: atrio masculino, gp: poro genital, cg: glándulas de cemento, od: ducto ovovitellino, pb: bulbo peneano, bc: cavidad bulbar Bs: Canal Bursal (Tomado de Kawakatsu y Mitchell, 1973b).

4b: Testículos dorsales medianos, usualmente no mayores a 40 por individuo, cavidad bulbar alargada y ancha, papila peneana aguda, alargada, cónica y simétrica.....

G. mckenziei

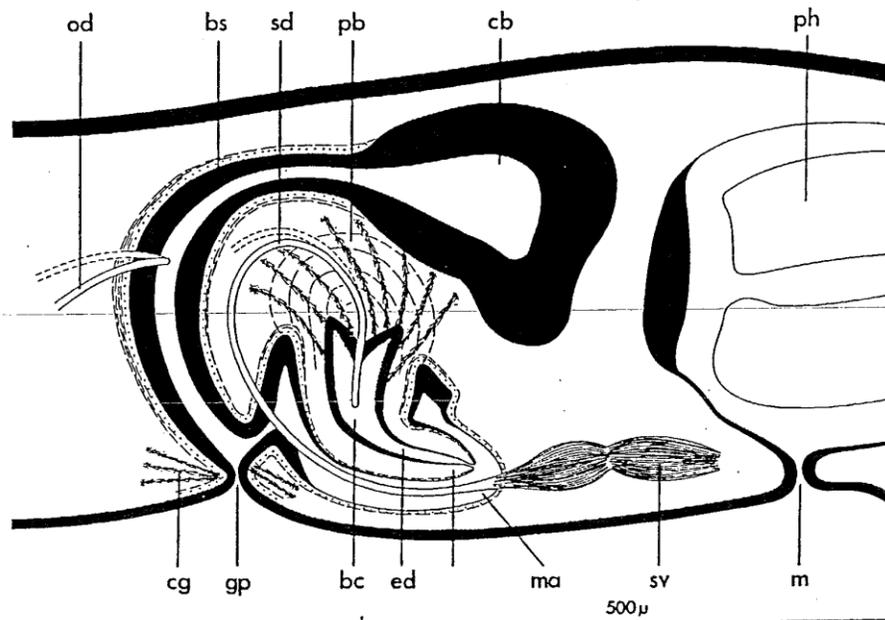


Figura 26. *Girardia mckenziei*, vista sagital del aparato reproductor. Cb: bursa copuladora, ph: faringe, sv: vesícula seminal, sd: Espermiducto, pp: papila peneana, ma: atrio masculino, gp: poro genital, cg: glándulas de cemento, od: ducto ovovitellino, pb: bulbo peneano, bc: cavidad bulbar, m: boca, ed: conducto eferente Bs: Canal Bursa (Tomado de Kawakatsu y Mitchell, 1973a).

5a: Testículos en posición ventral.... 6

5b: Testículos en posición dorsal...8

6a: Testículos ventrales pequeños y numerosos, de 1500 a 2000 por individuo...7

6b: Testículos ventrales medianos en tamaño, de 300 a 500 por individuo, cavidades bulbares ovaladas, largas y angostas. Papila peneana turbinada, larga y asimétrica.....

G. tigrina

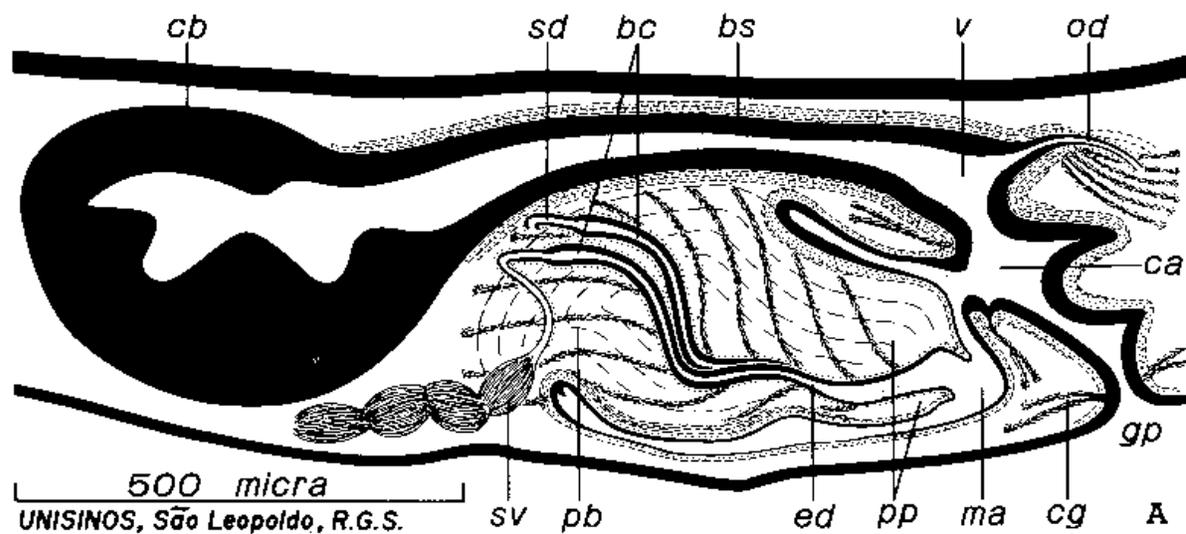


Figura 27. Esquema sagital del aparato reproductor de *Girardia tigrina*. Bc: cavidad bulbar; Bs: Canal bursal; Ca: Antro común; CB: Bursa copuladora; Cg: Glándula de cemento; Ed: Ducto eyaculatorio; Gp: Poro genital; Ma: Antro masculino; OD: Ducto ovovitelinico; Pb: Bulbo peneano; Pp: Papila peneana; Sd: Espermiducto; Sv: Vesícula seminal; V: Vagina. (Tomado de Kawakatsu *et al.*, 1981b)

7: Presenta tres capas de musculatura en la faringe, testículos ventrales, pequeños y numerosos, 1500-2000 por individuo, cavidad bulbar ovalada y amplia, papila peneana pequeña y corta, cónica y simétrica..... ***G. dorotocephala***

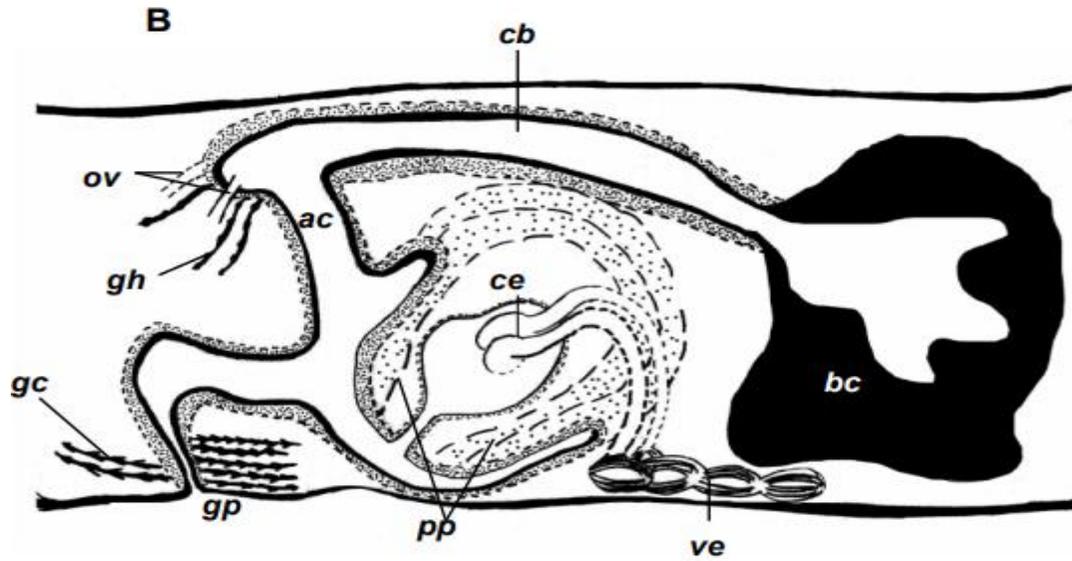


Figura 28. *Girardia dorotocephala*, reconstrucción del aparato reproductor, vista longitudinal. ac, atrio común; bc, bolsa copulatriz; cb, canal de la bolsa; ce, conducto eyaculador; gc, glándulas de cemento; gh, glándulas de huevo; gp, gonoporo; ov, oviducto; pp, papila del pene; ve, vesícula espermática (Ramos-Carmona, 2008)

8: Testículos dorsales pequeños, no mayores a 200 por individuo, cavidades bulbares amplias y ovaladas, papila peneana cónica, simétrica, larga y ancha..... **G. azteca**

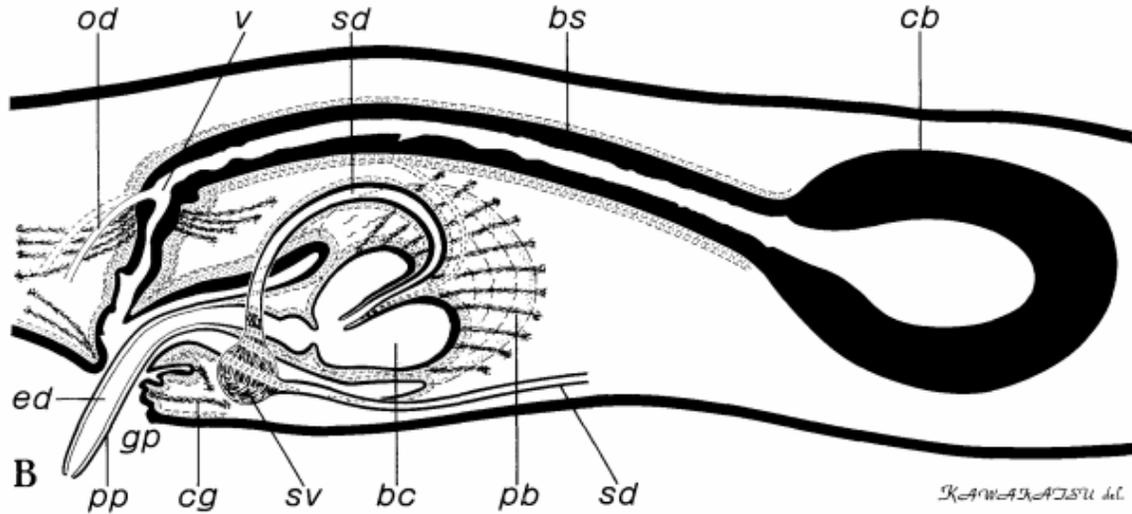


Figura 29. Esquema sagital del aparato reproductor de *Girardia azteca*. Bc: cavidad bulbar; Bs: Canal bursal; Ca: Antro común; CB: Bursa copuladora; Cg: Glándula de cemento; Ed: Ducto eyaculatorio; Gp: Poro genital; Ma: Antro masculino; OD: Ducto ovovitelino; Pb: Bulbo peneano; Phl: faringe Pp: Papila peneana; Sd: Espermiducto; Sv: Vesícula seminal; V: Vagina. (Tomado de Kawakatsu *et al.*, 1984)

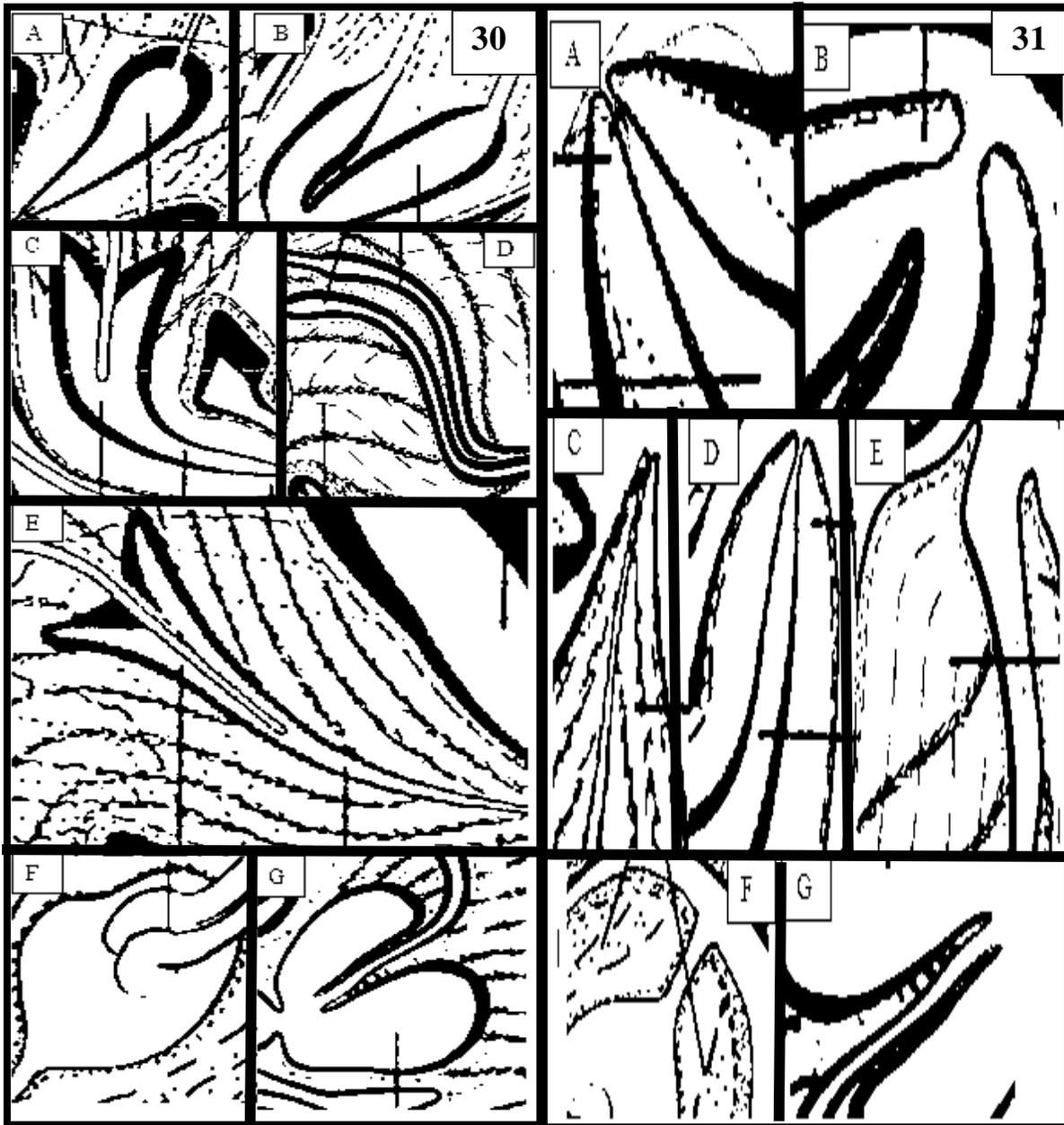


Figura 30. Distintos bulbos copulatorios pertenecientes a las especies de *Girardia* en México. A: Cavity bulbar ovalada y elongada (*G. typhlomexicana*). B: Cavity bulbar alargada y angosta (*G. barbarae*) C: Cavity bulbar alargada y ancha (*G. mckenziei*) D: Dos cavity bulbares ovaladas, alargadas y angostas (*G. tigrina*) E: Par de cavity bulbar medianamente amplias (*G. guatemalensis*) F: Cavity bulbar ovalada y amplia (*G. dorotocephala*) G: Dos cavity bulbares amplias y ovaladas (*G. azteca*).

Figura 31. Distintos tipos de papilas peneanas en especies de *Girardia*. A: Papila peneana mediana, simétrica y cónica (*G. typhlomexicana*) B: Papila peneana alargada, asimétrica y cónica (*G. barbarae*). C: Papila peneana, larga simétrica y cónica. D: Papila peneana alargada, aguzada, cónica y simétrica (*G. mckenziei*) E: Papila peneana turbinada, larga y asimétrica (*G. tigrina*) F: Papila peneana pequeña, corta, cónica y simétrica (*G. dorotocephala*). G: Papila peneana cónica, simétrica, larga y ancha (*G. azteca*)

Discusión

En ejemplares sexualmente maduros los poros reproductivos fueron evidentes y se observaron como puntos claros en la parte posterior del cuerpo, sin embargo, es importante resaltar que algunos de los individuos más grandes no los presentaban, por lo que la longitud no se puede tomar como indicador de madurez sexual. Las observaciones de los organismos *in vivo*, la ubicación de la zona de estudio, el hábitat en el cual residen y los análisis histológicos nos permitieron asignarlos al Orden Tricladida, esto se da debido a que son organismos de vida libre, residentes de aguas continentales que se encuentran en áreas abiertas donde la luz incide directamente (Thorp y Covich, 2001). Aunado a esto, su movimiento es por contracciones peristálticas, dado que su epidermis se encuentra cubierta de cilios, sin embargo, la parte más importante está en los cortes transversales, donde se pueden evidenciar tres canales intestinales principales (Noreña y Brusa, 2016). Cabe destacar que son pigmentados en su totalidad, salvo por los organismos de menor talla, los cuales pueden llegar a presentar coloraciones marrón claras, similar a la zona ventral, esto resulta importante ya que, organismos que habiten en zonas subterráneas, carentes de luz, no suelen presentar pigmentos, así como ocelos, los cuales pueden llegar a estar únicamente como estructuras vestigiales (Kawakatsu y Mitchell, 1973b).

Las observaciones de los organismos *in vivo*, la ubicación de la zona de estudio, el hábitat, la morfología externa de los individuos, como lo son la forma triangular de la cabeza, ausencia de órgano adhesivo, presencia de ocelos bien pigmentados y aurículas evidentes; mismas que carecen de un surco auricular conspicuo; son características propias de la familia Dugesiidae, como lo reportan Ball (1974b), Ball (1974c) y Gamo (1987).

A su vez el que existan dos capas musculares externas en la faringe, claramente divididas permite ubicarlos dentro del género *Girardia* (Kawakatsu y Mitchell, 1973b), esta información es importante, ya que, dentro de las especies probables, una de ellas, *G. dorotocephala*, presenta una tercer capa de musculatura en la zona externa de la faringe, además de contener una cantidad de testículos mucho mayor a la reportada; los estudios indican de 1500 a 2000 testículos por individuo; que, aunado, se encuentran en posición ventral y son de tamaño pequeño (Kawakatsu y Mitchell, 1981), de esta forma la población del presente estudio no pertenece a esta especie.

Un punto importante por resaltar es que toda la información disponible, respecto a taxonomía de este grupo, es escasa y ambigua, existiendo variación relevante en relación

con las estructuras de importancia taxonómica, como lo son testículos. En este análisis, se tomaron en cuenta diversos factores para definir qué tipo de categorías de testículos existen, siendo el tamaño la más importante, ya que los trabajos realizados carecen de medidas exactas, aquellos testículos que se extendieran de manera dorsoventral serían considerados grandes, y, salvo que existieran anotaciones extra, los demás se considerarían medianos o pequeños.

Derivado de las observaciones a la morfología externa, podemos descartar que los organismos pertenezcan a la especie *G. typhlomexicana*, la cual es completamente incolora y ciega, ya que habita en zonas cavernosas de la Sierra de Guatemala (Kawakatsu y Mitchell, 1973a). Aunado a esto, otra especie que debe ser descartada es *G. barbarae*, ya que, al igual que la anterior, es completamente ciega y carente de pigmentos, además de habitar en ambientes subterráneos (Kawakatsu y Mitchell, 1973a). Bajo estos criterios, existe otra especie, que, a su vez, es desechada, *G. guatemalensis*, la cual es cavernícola, sí posee ocelos y presenta pigmentación; sin embargo, a diferencia de nuestro registro, esta tiene testículos en posición ventral, tamaño milimétrico y su pigmentación es ligera cercana a nula, otro factor a considerar es el mismo hábitat donde reside, pues no existen registros de *G. guatemalensis* fuera de cavernas (Kawakatsu y Mitchell, 1973a).

Tras esto, únicamente existen cuatro registros que podrían incluir al organismo del presente estudio, uno de ellos es la especie *G. mackenziei*, la cual se caracteriza por ser de hábitos cavernícolas, poseer ocelos diminutos, considerados vestigiales, ser de color blanco y de tamaño pequeño (8 a 10 mm de longitud total), y presentar testículos de tamaño mediano en posición dorsal, lo cual contrasta con nuestros hallazgos (Kawakatsu y Mitchell 1973b). Así, entonces, podemos desechar que la población estudio en el presente análisis no corresponde a una formada por individuos de *G. mackenziei*.

G. tigrina, es otro registro posible, se encuentra distribuido a lo largo de Sur y Centro América, desde Brasil hasta México (Kenk, 1974), posee características similares, como coloración, forma y tamaño, así como una pauta geográfica que permite ubicarla en territorios similares, sin embargo, los testículos se encuentran en posición ventral, son numerosos; entre 300 y 500; y de tamaño mediano, a su vez, el grosor de estos individuos es mayor, además de que presentan un órgano fotorreceptor pigmentado en las aurículas (Kawakatsu *et al.*, 1981b).

La especie restante, *G. azteca*, se encuentra presente en una demarcación cercana a nuestro registro, El Zarco, Estado de México. Ambas localidades comparten

características medioambientales, pues ambas se encontraron en zonas de clima templado subhúmedo, ubicadas en el centro del país, sin embargo, los rasgos reproductivos difieren de forma importante, ya que dicha especie posee testículos pequeños en posición dorsal, que, se estima, no superan los 300 por individuo, a su vez, la morfología externa es distinta, pues estos organismos son de mayor talla (Kawakatsu y Mitchell, 1984).

El material utilizado (Kawakatsu y Mitchell, 1981; Kawakatsu y Mitchell, 1984; Sluys *et al.*, 2005) permitió concretar una mayor afinidad con la descripción de la especie *Girardia azteca* que con el resto, esto debido principalmente a ubicación geográfica y morfología, sin embargo, estos datos son insuficientes para determinar la especie, debido, principalmente, a la escasez de organismos sexualmente maduros, así como por la poca presencia de estructuras de reproducción, ya que solo se hallaron testículos.

Ahondando en lo anterior, que únicamente se encontraran estructuras sexuales masculinas puede indicar una respuesta del organismo respecto a las condiciones medioambientales, ya que es conocido que, dentro de este grupo, los individuos pueden reabsorber sus estructuras sexuales y esperma en caso de encontrarse ante estrés y condiciones adversas, favoreciendo la reproducción asexual en los mismos (Sluys, 1989; Bagaña *et al.*, 1990).

Beveridge, 1982, propuso que la reproducción sexual en el Orden Tricladida de aguas continentales, suele ser preferida por poblaciones que se encuentran en cuerpos que se consideran de alta estabilidad, como son ríos grandes, con un cauce mayor, así como lagos y lagunas permanentes, en el caso de la reproducción asexual, esta suele presentarse, mayormente, en poblaciones que residan en sitios temporales, como arroyos, lagunas o pozas, cuyo volumen de agua se reduce considerablemente en poco tiempo. A su vez, lo anterior representa una explicación para los pocos ejemplares que se encontraron, cabe destacar, por su parte, que este estudio es de los primeros que ahondan en ecosistemas con baja estabilidad, por lo que encontrar a las poblaciones aisladas puede representar una consecuencia de tan adversas características.

En el área de estudio, abundaron distintos tipos de insectos acuáticos, como son chinches de agua y odonatos. A su vez, se encontraron galerías de insectos acuáticos, adheridas a las rocas, las cuales poseen características que concuerdan con las que realizan las larvas de algunas familias del orden Trichoptera, las cuales se han registrado como componente alimentario importante para los platelmintos del orden Tricladida (Wright, 1975; Gee & Young, 1992), lo anterior se vuelve relevante al considerar que, una gran

cantidad de estudios, han propuesto que la distribución actual del género *Girardia* se reduce debido a la presencia de alimentos.

Los parámetros fisicoquímicos coinciden por lo reportado por Muñoz y Velez en 2007 para otros platelmintos del mismo género, residiendo en cuerpos de agua con pH ligeramente básico, así como como con una saturación de oxígeno cercana al 60%, otra característica relevante es la temperatura, ya que estos organismos suelen tener mayor actividad a temperaturas bajas o moderadamente bajas, oscilando entre los 8 a 12° centígrados, lo cual nos ayuda a corroborar las preferencias medioambientales de la población.

Un punto interesante que tratar es la cantidad de testículos, el tamaño de los mismos, y como ambos valores varían dentro del mismo género, llegando a existir especies con numerosos testículos, tal es el caso de *G. dorotocephala* con 2000 testículos por individuo, mismos que no son de gran tamaño, o *G. typhlomexicana*, la cual tiene testículos grandes, pero en números reducidos, aproximadamente 28 (Kawakatsu y Mitchell., 1973a; Kawakatsu y Mitchell; 1973b).

En el presente trabajo se plantea una hipótesis para explicar estos caracteres, esta aborda el tema como un claro ejemplo de competencia para reproducción, es decir, los organismos del clado Continenticola, tendrían a incrementar su capacidad de fecundación con una mayor producción de esperma, en este caso testículos de menor tamaño se verían beneficiados al ser numerosos, por ende, incrementando el volumen de gametos, esto contrasta con algunos gusanos planos de hábitos oceánicos, los cuales muestran una competencia física, conocida como esgrima peneano, tal es el caso de la especie *Pseudoceros bifurcus* (Newman y Michiels, 1998), este comportamiento es poco común entre hermafroditas, pero a su vez, plantea un escenario interesante, ya que no se practican múltiples enfrentamientos y la impregnación espermática se hace una sola vez y siempre y cuando ambos organismos hayan asumido un rol contrario, es decir, una hembra y un macho, de esta forma, al carecer de una competencia física (Anthes *et al.*, 2005), los gusanos de aguas continentales, utilizarían un método indirecto de competencia, siendo esta la espermática, sin embargo aún no se conocen completamente los diversos métodos reproductivos que dichos organismos emplean.

La familia Dugesiidae, junto con el género *Girardia*, está ampliamente distribuida a lo largo del continente americano, contando en total con 22 especies (Ball, 1971), la mayor parte de estas se encuentran la región neotropical del continente, diversificándose mayormente en centro y Sudamérica. Los hallazgos registrados en el presenta estudio, corresponden

con lo establecido por Ball (1974a), ya que el género *Girardia*, es el de mayor distribución en América. A su vez, que en los últimos 30 años se hayan registrado más de cinco especies de Tricladida en México, ayuda a dar soporte a las explicaciones de su movimiento a lo largo del continente, pues la diversidad en el género incrementa en latitudes australes, en tanto que, hacia el Norte, son pocas las especies que existen, lo cual indicaría que pueden existir aún poblaciones que han migrado al Norte, las cuales aún se encuentren en vías de diversificación (figura 32).

A su vez, podemos establecer, por la cantidad de especies y endemismos de la familia Dugesiidae, cómo por sus características físicas y geográficas, que México representa una zona de transición importante para el movimiento de especies, así como una ubicación ideal para que nuevos organismos radiquen y se adapten. Por estas razones, es aún más importante redoblar esfuerzos en el estudio del grupo en México, ya que, muy seguramente, existe una gran variedad de especies aún no descritas para la ciencia.

Dado que en la actualidad este grupo taxonómico no ha sido estudiado, se realizó una ficha taxonómica con la cual se pretende emular los diversos catálogos que existen para taxones similares, creando así, una base de datos novedosa.

Lo anterior destaca al considerar que, en México, existe la Colección Nacional de Helmintos, resguardada en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, desde 1932, la cual se enfoca especialmente en organismos de relevancia médica y económica, abordando temas tales como taxonomía y ecología, entre otros que son de interés, en tanto que para organismos pertenecientes a Tricladida o Continenticola, la información es nula.

Respecto a la clave taxonómica, esta se realizó mediante una compilación, consultando los artículos disponibles que enmarcan las especies registradas actualmente para México, es importante destacar que la información obtenida se encuentra desactualizada, ya que el último registro se realizó en 1984, por Kawakatsu y Mitchell, por lo que ya existen más de 30 años desde que información relevante ha sido publicada. A su vez, la información proporcionada resulta ambigua y compleja de esclarecer, ya que se utilizan términos que no conciben parámetros claros al momento de realizar una comparación entre especies, esto se da, sobre todo, en la descripción de estructuras sexuales.

Esta clave representa el primer esfuerzo en concentrar la información y crear una herramienta útil para identificación de organismos en el género *Girardia*, la misma considera características de especial relevancia, las cuales han sido utilizadas como características taxonómicas únicas, como lo son testículos, papilas, bulbos, canales,

morfología general, entre otras, con el firme objetivo de asegurar una forma de identificación con la mayor certeza posible. Como se mencionó antes, no existe clave alguna de este tipo, por lo cual este estudio representa una empresa pionera en la identificación de estos organismos.

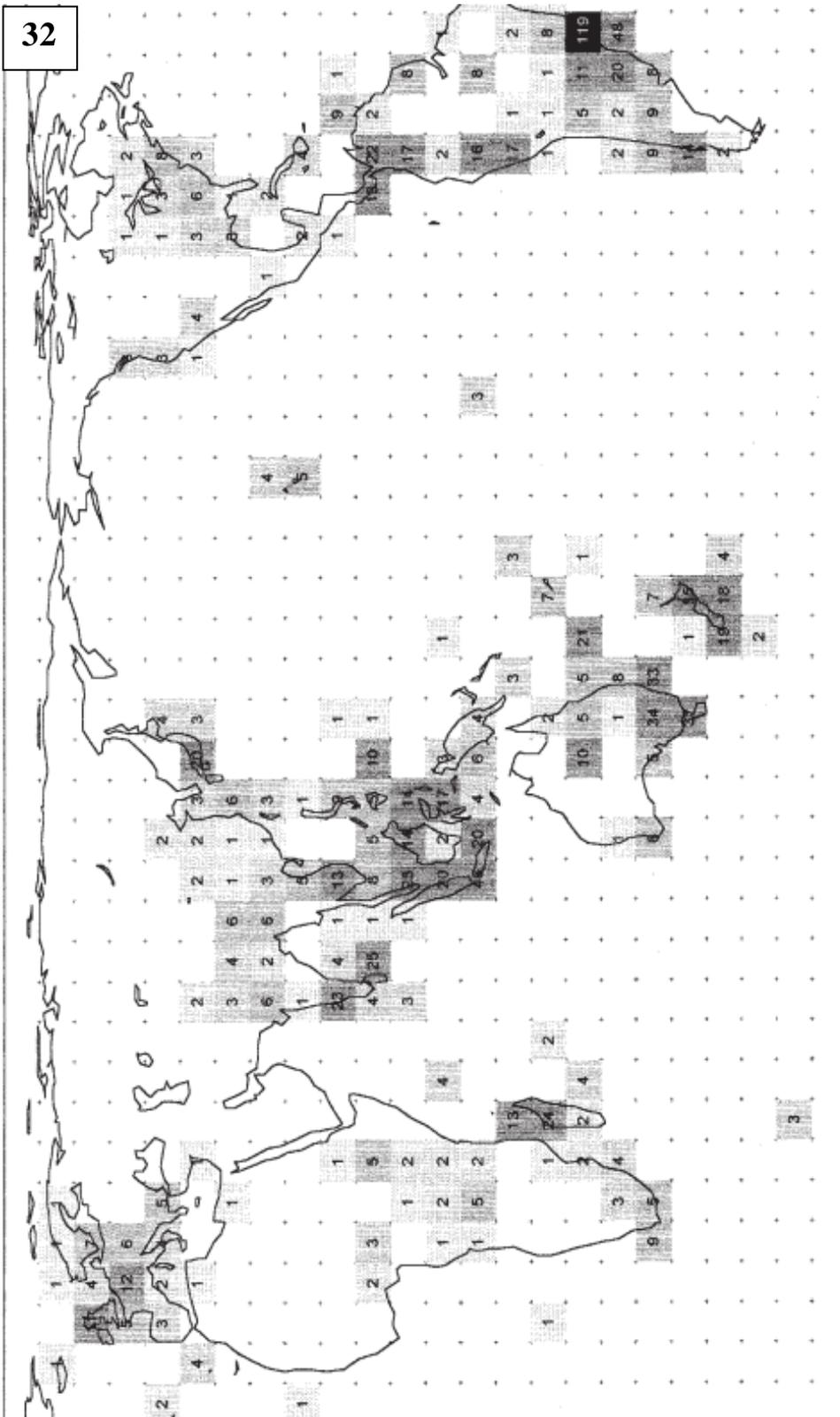


Figura 23: Mapa de riqueza específica de especies terrestres del Phylum Platyhelminthes, en el mundo. Las zonas más oscuras presentan una mayor cantidad de especies. Cabe destacar que, en esta figura los registros en México son bajos (Tomado de Sluys, 1999).

Conclusiones.

- Derivado de las descripciones morfológicas internas y externas realizadas, y acorde a las observaciones histológicas la población estudio no pertenece a ninguna especie actualmente reportada; sin embargo, es importante destacar que existe una mayor afinidad a la especie *Girardia azteca* en aspectos tanto taxonómicos como biogeográficos. Los hallazgos nos permiten afirmar que la población pertenece al orden Tricladida, familia Dugesiidae, y género *Girardia*, comprobado mediante la realización de las pruebas histológicas, apoyado por la ubicación y morfología de la misma población.
- Los datos recabados, arrojaron que existe únicamente un género en la zona de estudio, se contabilizó un promedio de 48 organismos por metro cuadrado, en condiciones de pH básico, aguas oxigenadas y temperaturas bajas,
- Se realizó una ficha taxonómica descriptiva de esta especie del género *Girardia*, comenzando así los inventarios visuales sobre este grupo en México.
- Con este trabajo, se presenta la primera clave para la determinación de especies pertenecientes al género *Girardia* reportadas actualmente en México, la cual se basa en aspectos morfológicos externos e internos, principalmente, estructuras sexuales.

Recomendaciones.

Uno de los principales obstáculos para identificar la especie de la población estudio, es la falta de organismos sexualmente maduros, para esto se recomienda aumentar el esfuerzo de muestreo, así como mejorar las técnicas de colecta y el tratamiento de las mismas durante el estudio histológico mediante el uso de tinciones y fijadores distintos.

También es necesario actualizar la información existente de los registros en México, de esta manera, se podrán recuperar y renovar datos, así como obtener nueva información, como lo es tamaño, ancho y volumen de testículos, entre otras, para así tener una certeza mayor al realizar la identificación.

Es evidente que los métodos actuales para la identificación en la familia Dugesiidae, basados en morfología interna y externa, pueden resultar escasos, o bien, conflictivos con la literatura existente, por lo cual se recomienda un aproximamiento que busque otorgar una descripción taxonómica integrativa, la cual incluya análisis morfológico, cariológico, molecular y citogenético, de esta forma se evitarán errores de identificación en estudios futuros.

Es necesario integrar una compilación de información molecular que funcione como catálogo de identificación para los estudios a futuro que abarquen este grupo.

Apéndices.

Apéndice I. (Ramos-Carmona, 2008)

- **BOUIN:**

75 ml Solución acuosa saturada de ácido pícrico

25 ml Formol comercial

5 ml Ácido acético glacial

Apéndice II. (Verdín *et al.*, 2013)

- **Hematoxilina de Harris.**

5.0 gr Cristales de Hematoxilina

50 ml Alcohol Etílico Absoluto

100.0 gr de Alumbre de Amonio o Potasio.

2.5 gr Óxido Rojo de Mercurio.

950 ml Agua Destilada.

Disolver la hematoxilina en alcohol etílico, hervir agua y agregar alumbre de potasio hasta disolver, mezclar ambas soluciones. Recalentar y dejar hasta ebullición, retirar del calor lo más rápido posible y agregar óxido de mercurio lentamente, calentar nuevamente hasta hervir, la solución tendrá un color purpura oscuro, retirar y dejar enfriar bajo chorro de agua, hasta que alcance temperatura ambiente.

Por cada 100 ml de solución agregar 2-4 ml de ácido acético glacial.

Filtrar y usar.

Solución Stock de Eosina Alcohólica.

10 gr Eosina Y.

1000 ml de Agua destilada.

Solución de Trabajo.

125 ml Solución Stock de Eosina Alcohólica

375 ml Alcohol Etilico al 96%

3 ml Ácido Acético Glacial.

Alcohol Ácido al 1%

99 ml Alcohol Etilico al 70%

1 ml Ácido Clorhídrico.

Agua Amoniaca al 2%

98 ml Agua Corriente

2 ml Hidróxido de Amonio.

Referencias.

1. Alvarez-Presas, M., Baguña, J., & Riutort, M. (2008). Molecular phylogeny of land and freshwater planarians (Tricladida, Platyhelminthes): From freshwater to land and back. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47, 555-568 p.
2. American Public Health Association. (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, Dc: 573 pp.
3. Anthes, N., Putz, N., & Michiel, K., (2005). Sex role preferences, gender conflict and sperm trading in simultaneous hermaphrodites: a new framework. *Animal Behaviour*, 72, 12 pp.
4. Baguña, J. (2005). The planarian neoblast: the rambling history of its origin and some current black boxes. *International Journal of Developmental Biology*, 56, 19-37 pp.
5. Baguña, J., Romero, R., Saló, E., Collet, J., Auradell, C., Ribas, M., Riutort, M., García-Fernández, J., Burgaya, F., & Bueno, D. (1990). Growth, Degrowth and Regeneration as Developmental Phenomena in Adult Freshwater Planarians. En *Experimental Embryology in Aquatic Plants and Animals* (129-169 pp). Boston MA: Springer.
6. Ball, I. (1974a). A contribution to the phylogeny and biogeography of the freshwater triclads (Platyhelminthes: Turbellaria). En *Biology of Turbellaria* (530 pp). Chicago: McGraw-Hill
7. Ball, I. (1974b). A new genus of freshwater triclad from Tasmania with review of the related genera *Cura* and *Neppia* (Turbellaria, Tricladida). *Life sciences contributions*, 99, 48 pp.
8. Ball, I. (1974c). A new genus and species of freshwater planarian from Australia (Platyhelminthes: Turbellaria). *Journal of Zoology*, 174, 149-158 pp.

9. Ball, I. (1971). Systematic and Biogeographical Relationships of Some *Dugesia* Species (Tricladida, Paludicola) from Central and South America. *American Museum of Natural History*, 2472, 26 pp.
10. Benazzi, M., Baguña, J., Ballester, R., Puccinelli, I., Del Papa, R. (1975). Further Contribution to The Taxonomy of the " *Dugesia lugubris-Polychroa* Group" With Description of *Dugesia mediteranea* N. SP (Tricladida, Paludicola). *Bolletino di Zoologia*, 42, 81-89 pp.
11. Benazzi, M., & Giannini, E. (1971). *Cura azteca*, nuova specie di planaria del Messico. *Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti Lincei*, 50, 477-481 pp.
12. Beveridge, M. (1982). Taxonomy, environment and reproduction in freshwater triclads (Turbellaria: Tricladida). *International Journal of Invertebrate Reproduction*. 5, 105-113 pp
13. Boll, P., Rossi, S., Amaral, S., Oliveira, E & Müller, V. (2013). Platyhelminthes ou apenas semelhantes a Platyhelminthes? Relações Phylumgenéticas dos principais grupos de turbelários. *Neotropical Biology and Conservation*, 8, 41-52 pp.
14. Carranza, S., Littlewood, A., Cloud, I., Ruiz-Trillo, I., Baguña, J & Riutort, M. (1997). A robust molecular phylogeny of the Tricladida (Platyhelminthes: Seriata) with a discussion on morphological synapomorphies. *Proceedures of the Royal Society of London*, 265, 631-640 pp.
15. Chandler, C & Darlington, J. (1991). A Survey of the Epigeal Planarians (Turbellaria: Tricladida: Paludicola) of Alabama. *Journal of Freshwater Ecology*, 6, 7 pp.
16. Chander, C & Darlington, J. (1986). Further Field Studies on Freshwater Planarians of Tennessee (Turbellaria: Tricladida): III. Western Tennessee. *Journal of Freshwater Ecology*, 3, 10 pp.

17. De Vries, E & Sluys, R. (1991). Phylogenetic relationships of the genus *Dugesia* (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola). The zoological society of London, 223, 103-116 pp.
18. Egger, B., Lapraz, F., Tomiczek, B., Müller, S., Dessimioz, C., Girstmair, J., Skunca, N., Rawlinson, K.A., Cameron, B.C., Beli, E., Todaro, M.A., Gammoudi, M., Noreña, C & Telford, M.J. (2015). A transcriptomic-phylogenomic analysis of the evolutionary relationships of flatworms. *Current Biology*, 25, 1-7 pp.
19. Gamo, J. (1987). Claves de identificación de los turbelarios de las aguas continentales de la Península Ibérica e islas Baleares. Barcelona: Asociación Española de Limnología. 38 pp
20. Gee, H & Young, J.O. (1992). The food niches of the invasive *Dugesia tigrina* (Girard) and indigenous *Polycelis tenuis* Ijima and *P. nigra* (Müller) (Turbellaria; Tricladida) in a Welsh lake. *Hydrobiologia*, 254, 99-106 pp.
21. Hartenstein, V. (2016). Platyhelminthes (Excluding Neodermata). En *Structure and Evolution of Invertebrate Nervous Systems* (74-92 PP). Oxford: Andreas Schmidt-Raesa.
22. Hegner, R. (1956). *Invertebrate Zoology*. Estados Unidos de América: The Macmillan Company.
23. Hyman L. (1951). *The invertebrates: Platyhelminthes and Rhynchocoela. The acoelomate bilateria*. EUA: McGraw-Hill Book Company
24. Hyman, L. (1959). On two freshwater planarians from Chile. *American Museum Novitates*, 1932, 11 pp
25. INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos: Tepetzotlán*. 9 pp

26. IUCN. (2004). The 2004 IUCN red list of threatened species. Septiembre 20, 2017, de IUCN Sitio web: www.iucn.org/themes/ssc/red_list_2004/main_EN.htm>
27. Jenkins, M & Miller, S. (1962). A Study of the Planarians (*Dugesia*) of an Oklahoma Stream. *Proceedures of the Oklahoma Academy of Science*, 42, 10 pp
28. Kawakatsu, M & Robert, Mitchell. (1973a). A New Cave Adapted Planarian (Tricladida, Paludicola, Planariidae) From Chiapas, Mexico. *Association for Mexican Cave Studies*, 8, 165-170 pp.
29. Kawakatsu, M & Mitchell, R. (1973b). Freshwater Cavernicole Planarias From Mexico: New Troglobitic And Troglophilic *Dugesia* From Caves of The Sierra De Guatemala. *Annales De Spéleologie*, 27, 639-681 pp
30. Kawakatsu, M. R, Mitchell. (1981a). Freshwaters Planarians from the Southern United States and Mexico: *Dugesia dorotocephala* and *Dugesia* sp. (Turbellaria, Tricladida, Paludicola). *Annotationes zoologicae japonenses*, 54, 16 pp
31. Kawakatsu, M., Oki, I., Tamura, S., Yamayoshi, J., Hauser, J., Malvina, S & Friedrich, G. (1981b). Morphological, Karyological and Taxonomic Studies of Freshwater Planarias From South Brazil II. *Dugesia tigrine* (Girard, 1850) (Turbellaria, Tricladida, Paludicola). *Bulletin of Fuji Women´s College*, 19, 113-136 pp.
32. Kawakatsu, M & Mitchell, R. (1984). Redescription of *Dugesia azteca* (Bennazi et Giannini, 1971) Based upon the Material Collected from the Type Locality in Mexico, with Corrective Remarks (Turbellaria, Tricladida, Paludicola). *Bulletin of the National Science Museum*, 10, 14 pp
33. Kenk, R. (1974). Index of the genera and species of the freshwater triclads (Turbellaria) of the world. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 183, 1- 90 pp.

34. Kenk, R. (1989). Revised list of the North American Freshwater planarians (Platyhelminthes: Tricladida: Paludicola). *Smithsonian Contribution to Zoology*, 476, 10 pp.
35. Lanteri, A & Cigliano, M. (2006). *Sistemática Biológica: Fundamentos Teóricas y Ejercicios*. Buenos Aires: UNLP.
36. Larsson, K & Ulf, J. (2008). Phylogeny of Catenulida and Supporty for Platyhelminthes. *Organisms Diversity & Evolution*, 8, 378-387 pp.
37. Llorente-Bousquets, J & Ocegueda, S. (2008). Estado del conocimiento de la biota, en *Capital natural de México*, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. México: 283-322 pp
38. Lukhnev, A & Timoshkin, O. (2015). The First Record of *Otomesostoma auditivum* Forel *et* Du Plessis 1874 (Turbelaria, Proseriata, Otomesostomidae) in Asia: Overcoming Immiscibility Barriers in Lake Baikal? *Zoologicheskii Zhurnal*, 94, 873-881 pp
39. Beveridge, M. (1982). Taxonomy, environment and reproduction in freshwater triclads (Turbellaria: Tricladida). *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 5, 107-113 pp
40. Mamkaev, V., Korneva, M., Korgina, M & Makrushin, V. (2014). Specific Features of the Uterine Structure in Viviparous Rhabdoceelic Turbellaria *Bothromesostoma essenii* (Turbelaria, Mesostominae). *Zoologicheskii Zhurnal*, 93, 394-400 pp.
41. Martin, G. (1978). A New Function of Rhabdites: Mucus Production for Ciliary Gliding. *Zoomorphologie*, 91, 235-248 pp
42. Melo, S., Macedo, A & Andrade, C. (1996). Eficiência de *Dugesia tigrina* (Girard) (Turbelaria: Tricladida) como Agente Controlador de Imaturos do Mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) em Pneu-Armadilha. *Neotropical Entomology*, 25, 321-327 pp.

43. Muñoz, M & Vélez, I. (2007). Redescripción y algunos aspectos ecológicos de *Girardia tigrina*, *G. cameliae* y *G. paramensis* (DugesIIDae, Tricladida) en Antioquia, Colombia. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78, 291-301 pp.
44. Newman, L & Michiels, J. (1998). Sex and violence in hermaphrodites. *Nature*, 391, 647 pp
45. Noreña, C & Brusa, F. (2016). Phylum Platyhelminthes. En Thorp and Covich's freshwater invertebrates (91-109 pp). USA: Academic Press
46. Pennak, R. (1989). Fresh-water invertebrates of the United States, Protoza to Molluzca. USA: John Wiley and Sons.
47. Ramm, S. (2006). Exploring the Sexual Diversity of Flatworms: Ecology, Evolution, and the Molecular Biology of Reproduction. *Molecular Reproduction Development*, 83, 12 pp
48. Ramos-Carmona. (2008). Contribución al conocimiento de algunos turbelarios dulceacuícolas del Río Texpilco, en la Sierra Norte de Puebla. Tesis de Licenciatura. UNAM
49. Reddell, R & Elliot, W. (1973). A checklist of the cave fauna of Mexico. V. Additional records from the Sierra de Guatemala. *Association for Mexican Cave Studies*, 5, 191-201 pp
50. Reisinger E & Kelbetz, S. (1964). Feinbau und Entladungsmechanismus der Rhabditen. *Z. Wiss. Liche Mikrosk.* Austria: Zoologischen Institut der Universität Graz und dem Forschungszentrum für Elektronenmikroskopie der Hochschulen in der Steiermark
51. Reynoldson, T. (1966). The Distribution and Abundance of Lake-Dwelling Triclad-towards a Hypothesis. *Advances in Ecological Research*, 3, 7-71 pp
52. Rhode, K. (2001). Platyhelminthes (Flatworms). *Encyclopedia of Life Sciences*. Australia: John Wiley y Sons Inc.

53. Rink, C. (2013). Stem Cell Systems and Regeneration in Planaria. *Development Genes and Evolution*, 223, 213-253 pp
54. Ruppert, E & Barnes, R. (1996). *Zoología de Invertebrados*. USA: McGraw-Hill.
55. Salgado-Maldonado, G. (2005). Catálogo y directorio de autoridades para helmintos parásitos. Departamento de Zoología, Instituto de Biología, UNAM. Base de datos snib Conabio, proyecto K028
56. Salo, E. (2006). The power of regeneration and the stem-cell kingdom: freshwater planarians (Platyhelminthes). *BioEssays*, 28, 546-549
57. Sluys, R. (1989). Sperm resorption in triclads (Platyhelminthes, Tricladida). *Invertebrate Reproduction & Development*, 15, 89-95 pp
58. Sluys, R. (1999). Global diversity of land planarians (Platyhelminthes, Tricladida, Terricola): a new indicator-taxon in biodiversity and conservation studies. *Biodiversity and Conservation*, 8, 1663-1681 pp
59. Sluys, R., Kawakatsu, M., Riutort, M & Baguña, J. (2009). A new higher classification of planarian flatworms (Platyhelminthes, Tricladida). *Journal of Natural History*, 43, 1763-1777 pp
60. Sluys, R., Kawakatsu, M & De León, R. (2005). Morphological stasis in an old and widespread group of species: Contribution to the taxonomy and biogeography of the genus *Girardia* (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 40, 155-180 pp
61. Southwood, T & Henderson, A. (2000). *Ecological Methods*. Oxford: Blackwell Science.
62. Souza, S., Morais, L., Bichuette, M & Leal-Zanchet, A. (2016). Two new species of freshwater flatworms (Platyhelminthes: Tricladida: Continenticola) from South American caves. *ZooTaxa*, 1, 107-121pp

63. Stochhino, G., Sluys, R., Deri, P & Manconi, R. (2013). . Integrative taxonomy of a new species of planarian from the Lake Ohrid basin, including an analysis of biogeographical patterns in freshwater triclads from the Ohrid region (Platyhelminthes, Tricladida, DugesIIDae). *ZooKeys*, 3, 25-43 pp
64. Thorp, J & Covich, A. (2001). Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. U.S.A: Academic Press
65. Verdín, L., Moreno, L., Rojo, R., García, L., Omaña, M., Meneses, A & Nieto, O de J. (2013). *Histología e Inmunohistoquímica: Manual de Métodos*. Estado de México: UNAM
66. Wright, F, J. (1973). Observations on some predators of stream-dwelling triclads. *Freshwater Biology*, 5, 41-50 pp
67. Zeidan, G., Dos Santos, M & Boehs, G. (2012). Parasites of economically important bivalves from the southern coast of Bahia State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 21, 391-198 pp