



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

Helmintos de peces del Lago de
Chicnahuapan, Estado de México: *Gyrodactylus*
mexicanus ectoparásitos de *Girardinichthys*
multiradiatus

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. en C. Ana Lucía Sereno Uribe

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Luis Zambrano González.
Instituto de Biología

COMITÉ TUTOR: Dr. Edmundo Díaz Pardo. Instituto Politécnico
Nacional

MÉXICO, D.F.

Octubre, 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 30 de julio de 2012, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna SERENO URIBE ANA LUCÍA con número de cuenta 95503901 con la tesis titulada: "Helmintos de peces del Lago de Chicnaguapan, Estado de México: *Gyrodactylus mexicanus* ectoparásitos de *Girardinichthys multiradiatus*", realizada bajo la dirección del DR. LUIS ZAMBRANO GONZÁLEZ:

Presidente:	DR. GERARDO PÉREZ PONCE DE LEÓN
Vocal:	DR. ROGELIO AGUILAR AGUILAR
Secretario:	DR. FAUSTO ROBERTO MÉNDEZ DE LA CRUZ
Suplente:	DR. JOSÉ JAIME ZUÑIGA VEGA
Suplente	DRA. ADRIANA GARCÍA VÁSQUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 1º de octubre de 2012.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), lugar multicultural, de riqueza y diversidad ideológica, donde se busca el conocimiento humano colectivo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca No. 103130 que fue otorgada durante el periodo 2005-2007.

Al Comité Tutorial conformado por:

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Luis Zambrano González por su guía acertada y su apoyo en los momentos más difíciles.

MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORAL: Dr. Edmundo Díaz Pardo gracias por sus consejos y comentarios que enriquecieron este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A Tata Xumu por haber sido un ejemplo de lucha, motivación y amor el cual ha sido el pilar más importante en mi crecimiento personal. Por enseñarme a vivir feliz y plena cada momento de mi vida.

A mi madre por su amor, cariño, dedicación y por representa un ejemplo y testimonio en el camino del conocimiento.

A mi hermana, amiga, compañera y confidente, cuyo testimonio impulsó mi espíritu para concluir esta etapa de mi vida.

A Martín por su cariño y por haberme apoyado de manera especial en esta última etapa del proyecto.

A mis familiares más cercanos Ville, Polia, Ale Montaña y los primores (Danz, Gabo y Empu) por su apoyo incondicional y solidaridad en mi vida.

A Carlos Palmero compañero de laboratorio que juntos trazamos y realizamos esta etapa muy importante de nuestras vidas a través de una muy bonita amistad.

A mis amigos Paty, Mirza, Carlitos y Aline por su apoyo incondicional y amistad durante todos estos años.

JURADO DE TESIS: Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, Dr. Rogelio Aguilar Aguilar, Dr. Fausto Roberto Méndez de la Cruz, Dr. José Jaime Zúñiga Vega y a la Dra. Adriana García Vásquez por sus acertados cometarios que mejoraron éste proyecto.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	17
MATERIALES Y METODOS.....	18
RESULTADOS.....	31
CAPITULO I.....	32
Two new species of <i>Gyrodactylus</i> von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) parasitizing <i>Girardinichthys</i> <i>multiradiatus</i> (Cyprinodontiformes: Goodeidae), an endemic freshwater fish from central Mexico	
CAPÍTULO II	37
Occurrence of <i>Gyrodactylus mexicanus</i> (Monogenea) on <i>Girardinichthys multiradiatus</i> (Goodeidae) in the Chicnahuapan Lake, Central Mexico.	
CAPÍTULO III.....	53
Reproduction and survival under different water temperatures of <i>Gyrodactylus mexicanus</i> (Platyhelminthes: Monogenea), a parasite of <i>Girardinichthys multiradiatus</i> in central Mexico	
DISCUSIÓN.....	58
CONCLUSIONES.....	63
LITERATURA CITADA.....	64

RESUMEN

En este trabajo se abordó el estudio de la ecología poblacional de helmintos parásitos de México. Un total de 550 peces *Girardinichthys multiradiatus* fueron recolectados mensualmente de enero de 2005 a Octubre de 2006 en el Lago de Chicahuapan, Estado de México. El análisis morfológico de los monogéneos recolectados de las aletas reveló que la especie encontrada de *Gyrodactylus* fue nueva para la ciencia. Se estudió la variación de la población de parásitos en muestras de peces infectados naturalmente. Se obtuvieron los siguientes parámetros de infección: la prevalencia, abundancia e intensidad promedio. Estos parámetros fueron relacionados con la temperatura y precipitación registradas por la Estación Meteorológica 15-004 Almoloya del Río, Estado de México. Se detectó la existencia de diferencias significativas en la abundancia, intensidad promedio y prevalencia de *G. mexicanus* en relación con la precipitación. Los parámetros poblacionales se relacionaron con los ciclos reproductivos de los hospederos, pues los comportamientos reproductivos de éstos facilitan la transmisión del parásito. Se realizaron infecciones experimentales en muestras de peces en condiciones de laboratorio en 3 intervalos de temperaturas diferentes: 22 a 24°C, 10 a 13°C y 19 a 22°C, para conocer si la temperatura es un factor que afecta los parámetros poblacionales. Se observó un valor máximo de supervivencia de 17 días (13°C). El número de descendientes por parásito fue como máximo de dos. El tiempo generacional decrece con el aumento de la temperatura y la población podría triplicarse cada tres días a temperaturas de 13°C y 19°C, cuadruplicándose a temperatura de 22°C, lo cual constituye una

tasa de crecimiento considerablemente acelerada. En este trabajo se muestra que hay una relación entre la temperatura y los parámetros poblacionales de *G. mexicanus* y por lo tanto con su transmisión.

ABSTRACT

This study deals with the population ecology of the helminth parasites of Mexico. A total of 550 fish (*Girardinichthys multiradiatus*) were collected monthly from the lake Chicnahuapan, State of Mexico from January 2005 to October 2006. The morphological study of the monogeneans found on the fins revealed that the species of *Gyrodactylus* was undescribed. The study consisted of the variation in parasite population of the naturally infected fish. The following parameters of infection were obtained: the prevalence, the abundance and the mean intensity. These parameters were related to the registered temperature and precipitation of the meteorological station 15-004 Almoloja del Río, State of Mexico. In relation to the precipitation, significant differences were registered for abundance, mean intensity and prevalence of *G. mexicanus*. The populational parameters were related with the reproductive cycles of the hosts, because the reproductive behavior of the hosts, facilitate the transmission of the parasite. Experimental infections were made to the fish samples in laboratory conditions in three different temperature ranges: 22-24°C, 10-13°C and 19-22°C to investigate if the temperature affects the population parameters. Maximum survival value was 17 days (13°C). The number of births per parasite was two for all temperatures. The generational time decreases with the raise of the temperature and the population could triplicate every three days at 13°C – 19°C and quadruplicate at 22°C, which constitutes an accelerated growth rate. This study shows that there exists a clear relation between the temperature and the population parameters of *G. mexicanus* and hence their transmission.

INTRODUCCION

Los monogéneos (Platyhelminthes: Monogenea) son eparásitos de peces dulceacuícolas, peces marinos, anfibios, tortugas e hipopótamos. En especial, este grupo de parásitos permiten de manera muy sencilla entender las interacciones parásito-hospedero. Esto se debe a que son ectoparásitos y en algunos casos se encuentran ubicados en la piel y las aletas, lo cual permite el monitoreo de las infecciones a largo plazo sin tener que sacrificar al hospedero (Ramírez, et al. 2012).

Estos parásitos son de especial interés debido a que se encuentran en contacto directo con el pez y con el ambiente, por lo que pueden brindar información sobre los efectos de las condiciones ambientales en el hospedero (Godoy-Rubio et al., 2012).

El análisis parasitológico de un hospedero ofrece una herramienta útil y económica para monitorear las condiciones ambientales. El sistema hospedero-parásito puede utilizarse en ambos sentidos indicando el buen estado del ambiente o su deterioro (Overstreet, 1997).

Además de ser indicadores de la degradación ambiental, la descripción de los patrones de variación de la ocurrencia estacional de los monogéneos, permite inferir procesos relacionados con su ciclo de vida. Del mismo modo, se pueden establecer relaciones entre el ciclo de vida del parásito y el comportamiento del hospedero.

Biología de los Gyrodactylidos (Platyelminthes: Monogenea)

Los monogeneos son organismos aplanados dorso ventralmente que viven generalmente en las branquias, las cámaras branquiales o el tegumento de peces. Algunos grupos parasitan cavidades internas como la cloaca, vejiga urinaria, celoma, boca o esófago de peces, anfibios y en raras ocasiones reptiles y mamíferos (Stunkard, 1924, Kearn, 1994).

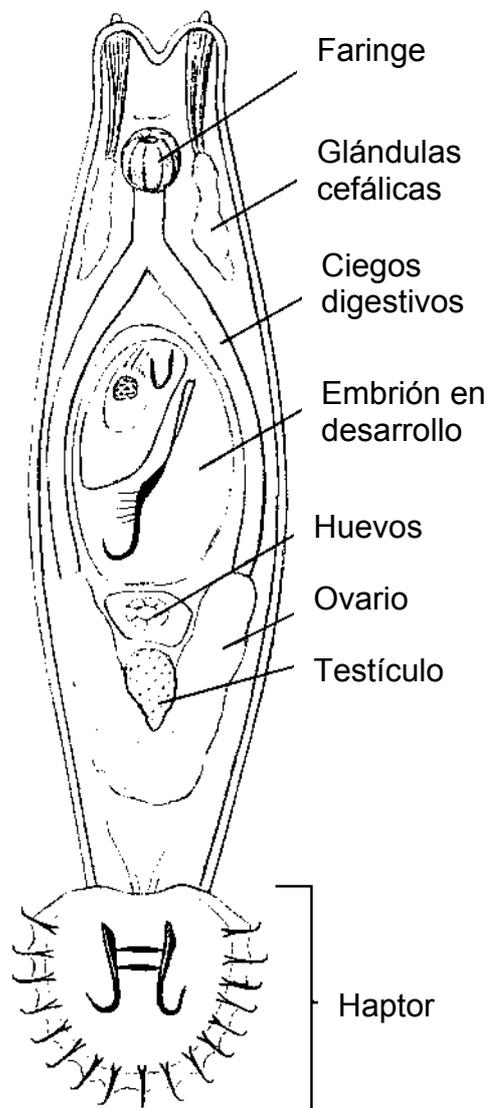


Figura 1.- Morfología general de un Gyrodactylido. (Tomado de www.uprm.edu/biology/profs/alfaro/4015/platy_files/frame.htm)

Los monogéneos se caracterizan por la presencia de un órgano de adhesión llamado haptor (También llamado simplemente opistohaptor), ubicado en el extremo posterior del cuerpo. Este órgano posee típicamente ventosas, pinzas o ganchos esclerosados que permiten la fijación al hospedero. La morfología general del haptor y las estructuras que lo componen, junto con la morfología del órgano copulador masculino, son las características más importantes en la taxonomía de este grupo (Mizelle y Kritsky, 1967).

Poseen un aparato digestivo simple, con una faringe musculosa y glandular que constituye un órgano succionador y un intestino dividido en dos ramas ciegas unidas entre sí (Figura 1).

El aparato reproductor masculino puede presentar uno o múltiples testículos y algunas especies presentan un órgano copulador esclerosado con espinas. El aparato reproductor femenino presenta un solo ovario, acompañado de las estructuras típicas de los platelmintos (ootipo, glándulas vitelógenas, útero, etc. (Harris, 1996; 2004). Todos los monogéneos son hermafroditas, siendo muy frecuente la fecundación cruzada. Los huevos tienen con frecuencia un filamento pegajoso para fijarse al substrato o al hospedador. La mayoría son ovíparos, pero algunas especies son vivíparas y otras ovovivípara. El huevo embrionados salen por el gonoporo, conteniendo en su interior la larva llamada oncomiracidio, que presenta una superficie corporal ciliada. Dicha larva es de vida acuática libre hasta que se fija al hospedador (Cheng, 1986).

El género *Gyrodactylus* incluye a más de 400 especies que parasitan a 19 órdenes de peces con una distribución cosmopolita (Bakke, et al., 2002; Harris et al., 2004). Son monogéneos que se caracterizan por un cuerpo alargado,

dividido en región cefálica o anterior, tronco, pedúnculo y haptor. La región cefálica que contiene una o más espículas. Los lóbulos cefálicos poseen un conjunto de órganos cefálicos que desembocan al exterior en la región anterior de los lóbulos cefálicos. No presentan manchas oculares. La faringe está compuesta por dos bulbos semiesféricos, uno anterior y otro posterior. El esófago es corto, se continúa en dos ciegos intestinales sin divertículo que terminan en la región posterior del tronco y pueden invadir la región del pedúnculo.

El testículo está sobre la línea media del cuerpo, posterior al útero e intercecal. El órgano copulador está situado sobre el eje principal del cuerpo, se sitúa a nivel de la faringe, está armado con una espina central y algunas espineletas periféricas. El poro genital el ventral, submedio o posfaríngeo. El ovario generalmente está sobre la línea media del cuerpo en posición posttesticular. El útero es central, generalmente contiene una o varias generaciones de embriones en su interior.

Las glándulas vitelógenas se componen de masas individuales y se sitúan a nivel o posterior de la terminación cecal. No tienen vagina. El raptor está orientado centralmente con un par de macroganchos conectados en sus bases por una barra profunda y presenta una barra superficial que no se conecta con la base de los microganchos. Presentan 16 microganchos generalmente dispuestos en los márgenes del raptor de igual forma y tamaño. Son parásitos de la superficie externa y branquias de peces dulceacuícolas y marinos.

Poco se conoce acerca de la composición taxonómica, amplitud hospedatoria y distribución geográfica de las especies de monogéneos que

parasitan a peces goodeinos endémicos de México. Tomando en cuenta la historia evolutiva de estos peces y la estrecha relación parasitaria de los monogéneos con sus hospederos, es posible anticipar que los goodeinos alberguen una fauna particular de estos parásitos (Sanchez-Nava y Salgado-Maldonado, 2004)

Ciclo de vida

El ciclo biológico es simple, directo y monoxeno (con un sólo hospedero). De acuerdo al tipo de desarrollo, se distinguen dos tipos de monogéneos: ovíparos y vivíparos.

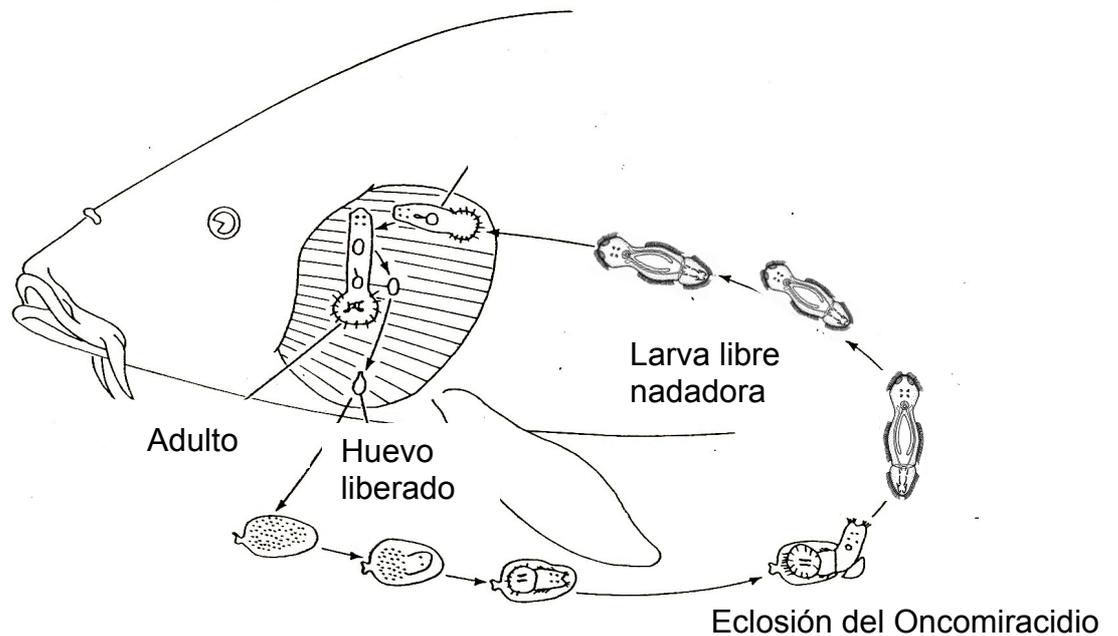


Figura 2.- Ciclo de vida de los monogéneos ovíparos. (Modificado del Brusca y Brusca, 2003).

Los monogéneos ovíparos presentan tres fases esenciales, huevo, oncomiracidio y adulto (Figura 2). Tras la puesta de los huevos, los adultos comúnmente mueren y el desarrollo de los huevos se realiza directamente en el hospedero, estos huevos dan origen a formas larvarias, el oncomiracidio, que nadan libremente para buscar un nuevo hospedero al que penetran de forma pasiva a través de la cámara branquial (en el caso de los peces) o fijándose primero en la piel y migrando luego a las branquias (Kritsky, et al 2000). Ahí alcanza su madurez sexual. En temperaturas elevadas el ciclo biológico puede realizarse en menos de un día, aunque generalmente dura de uno a cinco días.

Los monogéneos vivíparos, como los Gyrodactilidos, presentan un ciclo reproductivo complejo, siendo capaces de reproducirse por partenogénesis, sexual y asexualmente (Cable y Harris, 2002). Presentan un útero gestante en el cual se desarrolla el monogéneo hijo, al nacer, éste monogéneo ya tiene un útero gestante. Presentan una embriogénesis muy especial, pues tienen un mecanismo de secuencia poliembrionaria, con más de cuatro individuos, producto de un solo cigoto. El organismo recién nacido puede producir inmediatamente su propio descendiente, necesitando de un solo día para que el organismo madure. El primer descendiente (F1) se desarrolla de un conjunto de células embrionarias de la madre (reproducción asexual). En el momento del nacimiento, se rompe el poro uterino de la madre, reparándose inmediatamente después y permitiendo que un nuevo oocito entre al útero. Este tipo de reproducción es conocido como hiperviviparidad, lo que implica un crecimiento poblacional exponencial, aunque la carga parasitaria infectiva sea muy baja, los hospederos adquirirán una carga parasitaria importante en un

periodo de tiempo muy corto (Harris, 1993). Harris (1985) demostró que el primer descendiente aparece a las 24 horas de nacido, esto se le atribuye a la progenesis (capacidad reproductiva de estadios larvales o juveniles).

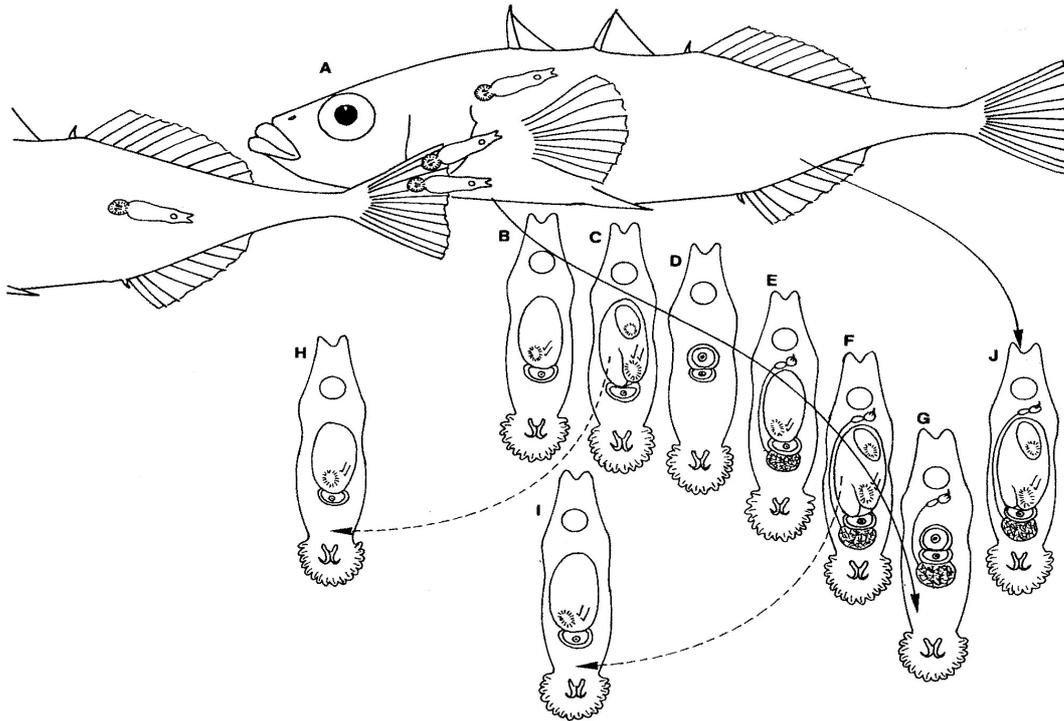


Figura 3.- El ciclo biológico de *Gyrodactylus* sp. (A) Transmisión del parásito de pez a pez cuando los hospederos están en contacto directo; (B-G) Estadios de desarrollo sucesivos del individuo recién nacido; (C) Primer descendiente, produciendo una hija (H); (D) Oocitos entran en desarrollo en el útero vacío. (E) Estadio en el que se desarrolla el aparato reproductor masculino; (F) Segundo descendiente, produciendo una hija (I); La copula podría llevarse a cabo con el estadio tardío (E), (F) o (G) con otro adulto (J) (Tomado de Kearns, 1994).

En el nacimiento, el gyrodactilido emerge el haptor y se fija a la epidermis del hospedero. Después del desarrollo de I segundo descendiente, el aparato copulado masculino se desarrolla y es completamente funcional. El desarrollo del segundo descendiente es por partenogénesis y los descendientes posteriores son resultado de la reproducción sexual o pueden ser parteogénicos (Harris, 1985, 1993; Cable y Harris 2002).

En los gyrodactilidos, el aparato reproductor femenino madura antes que el masculino y se caracteriza por una pared delgada y tubular que está muy cerca del receptáculo seminal (ootipo) y presenta un útero distal. El aparato reproductor masculino consiste en un saco y un testículo postovarico, desde donde salen los espermatozoides y pasan por los vasos deferentes al pene. Este se desarrolla después de que el gyrodactylido tuvo su segundo descendiente (Cable *et al.*, 1998).

Ecología de los monogéneos

Las poblaciones de parásitos varían en periodos de tiempo largos y cortos siendo afectados por factores bióticos y abióticos. Los cambios de densidad en tiempo y espacio brindan los elementos básicos necesarios para comprender los procesos que regulan el tamaño de la población, contribuyendo así, al conocimiento de la estructura espacial de las poblaciones. Las poblaciones tienden a aumentar o disminuir hacia cantidades en equilibrio dinámico determinadas por las capacidades de carga de sus hospederos y sus ambientes. Los patrones de variación no sólo derivan de los ambientes cambiantes sino además de la dinámica intrínseca de las respuestas poblacionales (Tinsley y Jackson, 2002; Davidova, et al., 2005).

Los factores ambientales que actúan sobre los parásitos de peces han recibido en los últimos años creciente atención (Balzac, et al., 2008). La variación estacional de la temperatura afecta a los estadios de desarrollo de los monogéneos de las familias Dactylogyridae y Gyrodactylidae en el Hemisferio Norte (Chubb, 1977; Huyse, et al., 2003). Esta variación estacional puede promover la coexistencia de parásitos con requerimientos ecológicamente semejantes (Koskivaara, et al., 1991).

Los estudios en dinámica poblacional de los monogéneos y los factores que afectan su ocurrencia indican que los patrones de prevalencia, abundancia e intensidad de infestación están relacionados con factores tanto abióticos como temperatura y concentración de oxígeno, como bióticos tales como comportamiento, edad e inmunidad del hospedador (Chubb, 1977; Appleby y Mo, 1997; Rubio-Godoy et al., 2012).

Para obtener una proyección del cambio en el tamaño de la población requerimos el conocimiento de sus probabilidades de supervivencia y sus tasas de fecundidad bajo condiciones estables o conocidas. Estos parámetros (fecundidad y supervivencia), que en conjunto se conoce como tasas vitales, pueden resumirse en una tabla de vida a partir de la cual puede calcularse la adecuación de la población, resumen por edad la supervivencia y la fecundidad de los individuos en una población (Harris et al., 1994).

Hospederos

La relación de los monogéneos con sus hospederos se caracteriza por una alta especificidad, planteándose que cada especie de pez tendría al menos una especie propia de monogéneo (Poulin, 1992; Whittington, 1998). De lo

antes expuesto, es evidente que el conocimiento actual de la fauna de monogéneos representa sólo una pequeña porción de la riqueza específica existente.

En México se han registrado 308 especies de monogéneos parásitos de pece. Los monogéneos parásitos de peces dulceacuícolas de México se han registrado en peces de las familias Goodeidae, Cichlidae, Characidae, Poeciliidae, Eleotridae, Ictaluridae y Heptapteridae (Mendoza-Franco et al., 2001, 2003).

Por su posición, en México se encuentran dos regiones biogeográficas, la Neártica y Neotropical. Esta posición ha permitido la presencia de fauna que pertenecen a estas distintas regiones con afinidades del norte o del sur del continente Americano, así como el establecimiento de elementos endémicos. Se ha observado que la gran diversidad de taxa terrestres y acuáticos está relacionada con la complejidad del territorio mexicano, producto de intensos procesos tales como vulcanismo, levantamientos tectónicos, captura fluvial y desecación de cuerpos de agua, ocurridos desde la mitad del Terciario (hace aproximadamente 45 millones de años) hasta la actualidad. Estos eventos modificaron las características morfológicas del centro de México haciéndolo una zona geológicamente compleja, que comprende el Altiplano Mexicano limitado al sur por la faja volcánica transmexicana, al este por la Sierra Madre Oriental y al oeste por la Sierra Madre Occidental (Domínguez et al., 2006).

Dentro de los grupos biológicos cuya historia evolutiva ha sido influenciada por los procesos geológicos ocurridos en esta zona, se encuentran los peces dulceacuícolas de la subfamilia Goodeinae (Cyprinodontiformes: Goodeidae). Las hipótesis filogenéticas más recientes sugieren que las

especies ancestrales de la familia Goodeidae fueron separadas por eventos geológicos relacionados con la formación del desierto de Sonora, separando a los goodeidos en dos subfamilias (hace 16.8 millones de años aproximadamente): Empetrichthyinae, con dos especies actuales de distribución restringida en la cuenca del suroeste de los Estados Unidos de América, y Goodeinae conformada por 41 especies endémicas para el centro de México (Gesundheit y Macías-García, 2005; Webb y Miller 1998; Webb et al., 2004; Domínguez-Domínguez et al., 2006).

La historia geológica del centro de México favoreció una alta diversificación en cuanto a número de especies de goodeinos y al tipo de ambiente en donde se encuentran. Los goodeidos habitan en ríos, arroyos, manantiales, lagos y cuerpos de agua artificiales como presas y la mayoría de las especies se encuentran confinadas a las cuencas de los ríos Lerma, Santiago, Pánuco, Ayuquila y San Pedro Mezquital. La distribución geográfica actual de los goodeinos muestra una coincidencia con la Faja Volcánica Transmexicana, por tanto es posible sugerir una relación histórica entre los goodeinos y esta zona. Este patrón de distribución ha hecho a los goodeinos objeto de estudios biogeográficos y de conservación; esto último por la degradación progresiva de su hábitat debido a la actividad humana (Domínguez-Domínguez et al., 2009).

Los goodeidos presentan un marcado dimorfismo sexual. El desarrollo desde la fertilización hasta el nacimiento ocurre en la luz del ovario y los juveniles emergen como formas libres nadadoras (Díaz-Pardo et al., 1993). Los machos son más pequeños y más coloridos que las hembras.

La familia Goodeidae es la más diversa en endemismos en México, con

41 especies que representan el 32% de las especies endémicas del Centro de México. Este sitio se ha caracterizado por una gran explotación de recursos naturales, situación que ha sido favorecida por los grandes asentamientos urbanos, constituyendo a esta región como una de las más densamente pobladas de la República Mexicana y también la más contaminada por actividades agrícolas, pecuarias e industriales de gran importancia económica. Todo esto ha contribuido a que los cuerpos de agua de las cuencas del Lerma-Chapala, Santiago y Balsas, figuren como los más contaminados del país (Vázquez Gutiérrez, 1993), lo que ha provocado la desaparición de la fauna y flora de sus aguas en algunas de sus porciones (Miller et al., 1986, Díaz Prado et al., 1993, Soto-Galera et al., 1999, De la Vega-Salazar et al., 2003) y donde se distribuyen más del 75% de las especies de goodeinos.

Girardinichthys multiradiatus (Meek, 1904) conocidos comúnmente como "pez amarillo" (Macías-García, 1994) habita en las partes altas de la cuenca del río Lerma, en las Lagunas de Zempoala y en las partes altas del río Balsas (Webb, 1998). La especie habita en bordos, zanjas, presas, lagos, canales de riego y arroyos (Romero, 1965). Vive en aguas claras y transparentes, pero también puede vivir en aguas muy turbias, con temperaturas que oscilan entre 13-28 °C y pH entre 6.3-9.4. Es una de las especies representativas del Alto Lerma y tolerante a la degradación ambiental (Díaz-Pardo et al., 1993), sin embargo su distribución geográfica ha disminuido como resultado de la reducción del hábitat y la contaminación excesiva del agua (Díaz-Pardo et al., 1986, 1987, 1993).

Relación Parásito-Hospedero

En peces goodeinos del centro de México se ha documentado la presencia de monogéneos del género *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Sanchez-Nava et al., 2004). La presencia de este parásito en peces del centro de México sirve como modelo para poder conocer cuáles son los parámetros poblacionales de los helmintos parásitos de peces dulceacuícolas, lo cual es importante por varias razones:

- 1) Para obtener un conocimiento más amplio de las interacciones entre parásito-hospedero, ya que en ellas se involucran la variación y regulación de ambas poblaciones.
- 2) Para reconocer los factores que influyen en los patrones de dispersión de los parásitos, y por lo tanto en el éxito de transmisión.
- 3) El cálculo de la tasa reproductiva de los parásitos está ampliamente relacionada con su patogenicidad, y sirve como base para la elaboración de medidas de prevención de infecciones.
- 4) Las investigaciones en la dinámica poblacional pueden funcionar como modelos predictivos, para establecer si las poblaciones de parásitos existen en equilibrio o no y si los sistemas dulceacuícolas de ambientes templados difieren de los tropicales con respecto a sus tasas de cambio.

Este tipo de estudios son necesarios para precisar la variabilidad de las poblaciones en relación con el ambiente dulceacuícola en que se encuentran. Permiten establecer los factores que propician o limitan el incremento en la densidad de parásitos, y así, poder identificar los factores que determinan la variabilidad de sus poblaciones

OBJETIVOS

La presente investigación tiene como propósito general estudiar la dinámica poblacional del monogéneo *Gyrodactylus mexicanus* parásito de *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae) en el Lago de Chicahuapan, Estado de México.

A lo largo del proyecto se abordaron los siguientes objetivos particulares:

- 1.- Descripción taxonómica de las especie de *Gyrodactylus* estudiada.
- 2.- Describir la variación estacional de la prevalencia e intensidad de la infección del monogéneo *Gyrodactylus mexicanus* en su hospedero definitivo *Girardinichthys multiradiatus*.
- 3.- Obtener las tasas de reproducción, supervivencia, mortalidad y el tiempo generacional del monogéneos en condiciones de laboratorio a tres diferentes intervalos de temperatura.
- 4.- Relacionar las tasas de reproducción, supervivencia, mortalidad y el tiempo generacional con factores ambientales.

MATERIALES Y METODOS

En esta sección se describe de manera general el área de estudio y los métodos seguidos en el proyecto. Sin embargo, cada capítulo incluye un apartado que detalla los materiales y métodos empleados específicamente en esa sección.

Área de estudio

El sistema Lerma-Santiago comprende dos grandes cuencas, la del Río Lerma-Chapala y la del Río Santiago. El río Lerma nace en la laguna de Chicnahupan en el poblado de Almoloya del Río, en el Estado de México, donde inicia su recorrido hasta llegar al lago de Chapala. Ahí se origina el río Grande de Santiago, el cual atraviesa toda la parte central de Jalisco, entra a Nayarit y desemboca en el Océano Pacífico.

Los humedales que conforman la subcuenca alta del río Lerma proporcionan alimento, refugio y un hábitat adecuado para un considerable número de especies de flora y fauna silvestre, algunas de las cuales son endémicas de México. El estudio helmintológico de especies nativas aportará información exclusiva para estos sistemas y por ello sumamente valiosa.

La colecta de muestras se llevó a cabo en el lago Chicnahupan (19°09'05"N, 99°30'13"O, 2570 m snm), que se localiza en los municipios de Almoloya del Río y Texcalyacac, Estado de México (Figura 4). El lago tiene una

extensión de 700 hectáreas y está ubicado al sur de las Ciénegas del Lerma, decretadas Áreas Naturales Protegidas (SEMARNAT, 2002), hábitat prioritario para aves acuáticas residentes y migratorias. También ha sido decretada como Áreas de Importancia para la Conservación de las Aves.

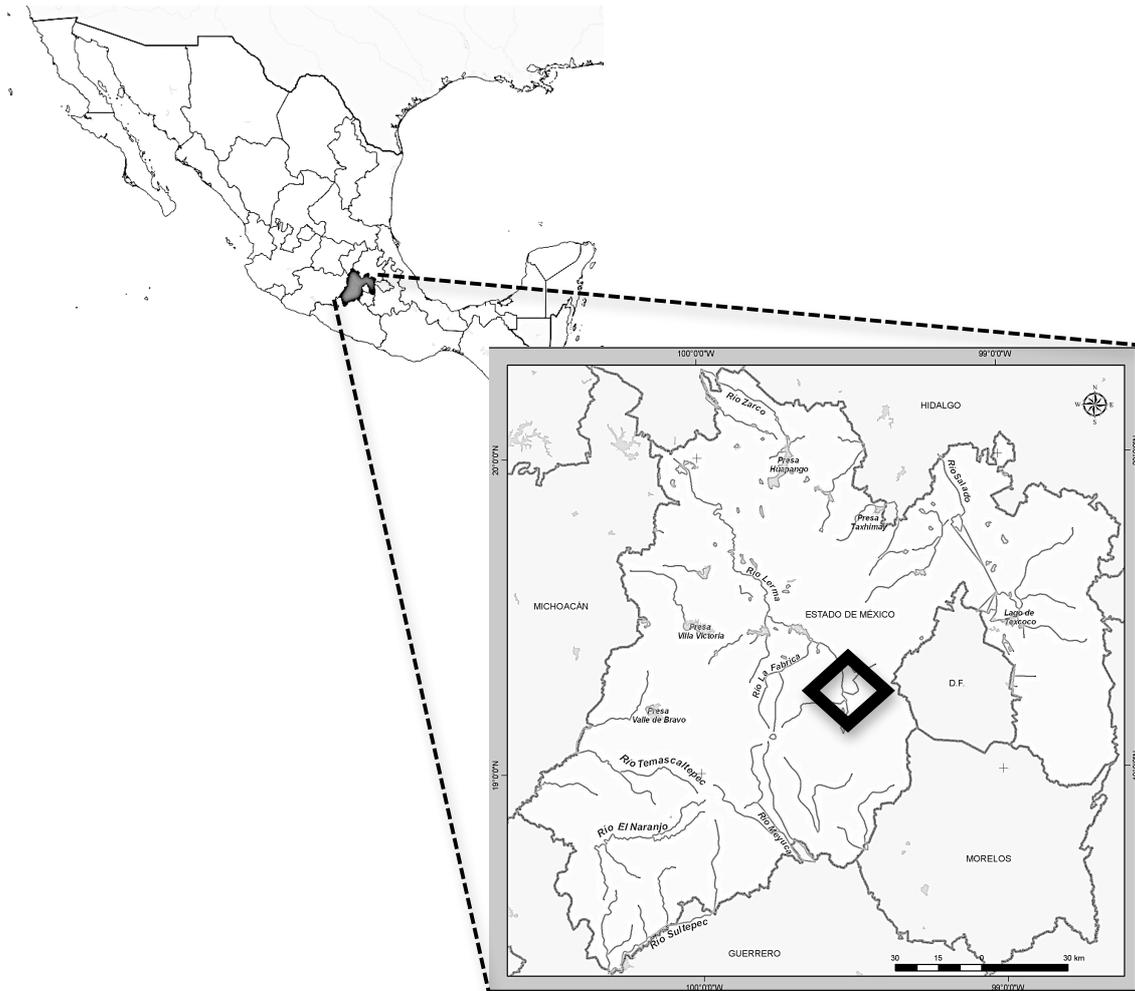


Figura 4. Localización del Lago de Chicahuapan ($19^{\circ}09'05''N$, $99^{\circ}30'13''O$), Estado de México, sitio de colecta de peces *G. multiradiatus*.

El clima es templado subhúmedo, con una temperatura media anual de $11.5^{\circ}C$; máxima de $26^{\circ}C$, y mínima de $-2.0^{\circ}C$ (Figura 5). La precipitación pluvial promedio anual es de 871.7 mm, las tormentas más intensas se

presentan en los meses de julio y agosto y a fines de septiembre suelen presentarse trombas llamadas “colas de agua”; entre octubre y marzo se presentan las heladas.

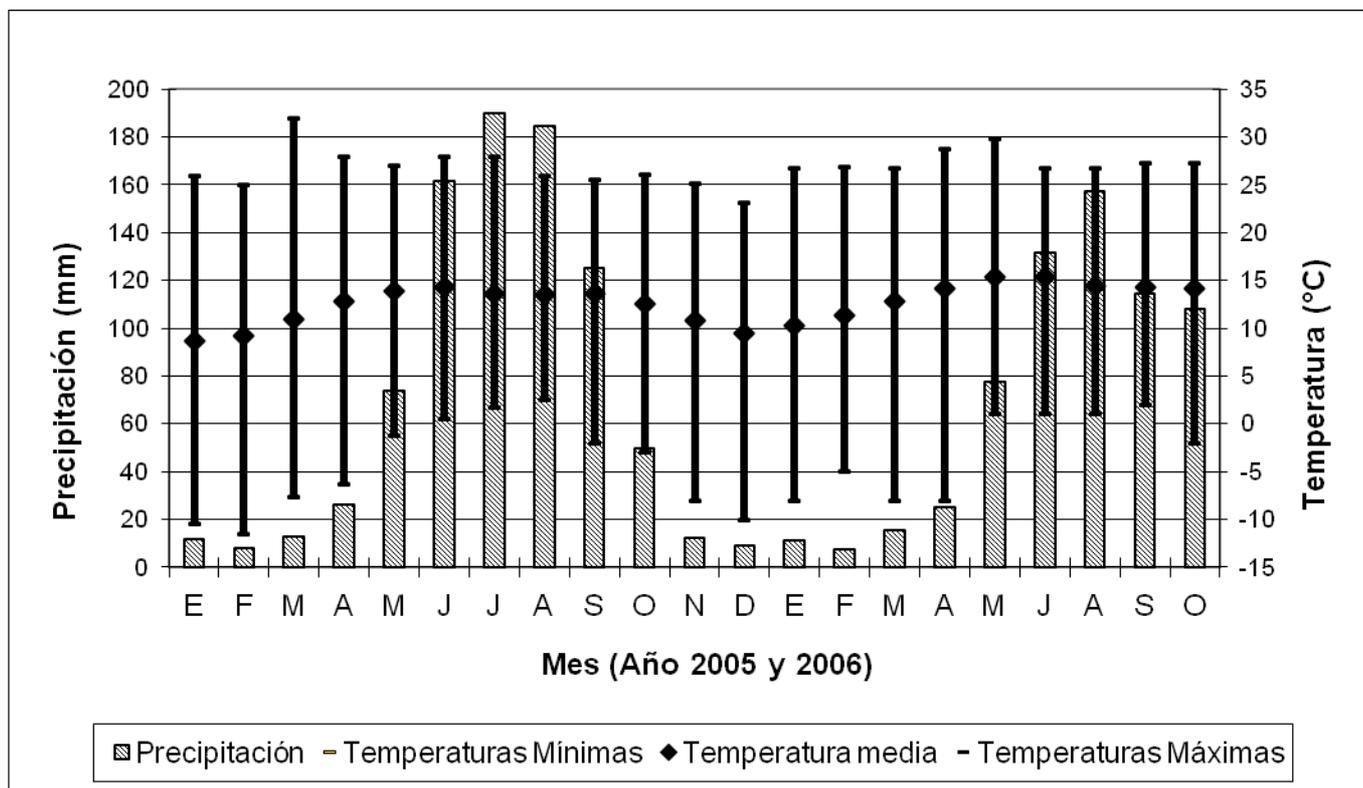


Figura 5.- Precipitación, temperatura máxima, media y mínima registrada en la Estación Meteorológica 15-004 Almoloya del Río Estado de México.

Aproximadamente, el 30% de la superficie del cuerpo acuático es agua abierta con una profundidad promedio de 70 cm (40 cm—150 cm). El 70% de la superficie restante, con profundidad promedio de 50 cm (30–120 cm), está cubierta por vegetación hidrófita emergente en la que predominan especies como el tule redondo (*Schoenoplectus tabernaemontani*; Cyperaceae), tule palmilla (*Typha latifolia*; Typhaceae) y el tule esquinado (*Schoenoplectus*

americanus, Cyperaceae). La vegetación acuática sumergida se restringe a áreas pequeñas en las orillas o en canales y zanjas alrededor de éste, donde se pueden encontrar cola de caballo (*Myriophyllum aquaticum*; Haloragaceae), bejuquillo (*Ceratophyllum* sp.; Ceratophyllaceae), Chiara sp., cebolleja (*Lilaea scilloides*; Juncaginaceae), grama (*Potamogeton pectinatus*; Potamogetonaceae) y hierba de agua (*Potamogeton ilinoensis*; Potamogetonaceae). La vegetación libre flotadora la componen tamborcillo (*Hydromystria laevigata*; Hydrocharitaceae), helecho de agua (*Azolla filiculoides*; Salviniaceae), utricularias (*Utricularia* sp.; Lentibulariaceae), y algunas lentejillas de agua (Lemnaceae) (Ramirez y Herrera 1954).

Muestreo de peces

Entre enero del 2005 y octubre del 2006 se recolectaron un total de 550 peces identificados como *G. multiradiatus* en el Lago de Chicahuapan. Se realizaron muestreos mensuales durante 22 meses continuos. En cada muestreo se intentó obtener 30 individuos, aunque no siempre fue posible (Tabla 1).

Los peces fueron capturados con un chinchorro. Luego de la captura, los organismos fueron transportados vivos al laboratorio en bolsas de plástico. En el laboratorio se mantuvieron en peceras con agua del sitio de muestreo y oxigenación permanente hasta su revisión y análisis. Previa escisión medular, se registró el peso y la longitud de cada hospedero.

Tabla 1.- Fecha de colecta y número de hospederos colectados

No. de colecta	Fecha de Colecta	No. de hospederos recolectados
1	24/01/2005	30
2	02/02/2005	17
3	16/02/2005	26
4	30/03/2005	30
5	20/04/2005	31
6	18/05/2005	40
7	02/06/2005	30
8	20/06/2005	30
9	04/08/2005	29
10	31/08/2005	3
11	28/09/2005	4
12	05/10/2005	8
13	12/10/2005	8
14	19/10/2005	20
15	26/10/2005	24
16	23/11/2005	5
17	01/12/2005	8
18	15/01/2006	20
19	20/02/2006	24
20	05/03/2006	27
21	06/04/2006	30
22	05/05/2006	30
23	10/07/2006	20
24	20/08/2006	6
25	06/09/2006	3
26	18/10/2006	20
27	25/10/2006	27

Examen de hospederos y fijación de monogéneos

Los peces capturados se colocaron en cajas de Petri con agua del medio para realizar la revisión externa en busca de gyrodactilidos, bajo el microscopio estereoscópico. Se examinó la piel y las aletas. Posteriormente, los

monogéneos recolectados, fueron montados entre porta y cubre objetos mediante pipeta Pasteur de vidrio para su estudio en vivo, con el fin de hallar los caracteres morfológicos que permitieran su identificación.

Parte de los monogéneos encontrados fueron fijados utilizando una mezcla de glicerina y ácido pícrico (1:1) para hacer preparaciones semipermanentes y estudiar estructuras esclerotizadas como el haptor y microganchos, barras y complejos copulatorios (Ergens, 1969). Después del análisis morfológico estos ejemplares se desmontaron, transfiriéndolos consecutivamente en cajas de Petri que contenían soluciones de xilol-acetona al 96%, alcohol 70%, alcohol 96% para retirar el exceso de glicerina y ácido pícrico y por último se agregaron algunas gotas de bálsamo de Canadá. Otros especímenes se fijaron con formol caliente 4%, posteriormente se lavaron en alcohol al 70% (5 minutos), se tiñeron con tricrómica de Gomori, en una solución madre diluida en alcohol de 96% (1:3) durante 5 minutos, se lavaron nuevamente en alcohol 70% para diferenciar estructuras (1 minuto), se transfirieron en alcohol 96% (2 minutos), se aclararon con aceite de clavo (2 minutos) y se montaron en bálsamo de Canadá. Otra parte de los monogéneos se utilizaron para estudiar la dinámica poblacional en condiciones de laboratorio (Malmberg, 1970).

Determinación taxonómica

En los muestreos iniciales de este proyecto, en el Lago de Chicahuapan, Estado de México, se encontraron dos especies de monogéneos del género *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 parasitando a

Giradrinichthys multiradiatus (Pises: Goodeidae: Goodeinae). La identificación específica de estos parásitos se estableció durante este proyecto (Figura 6).

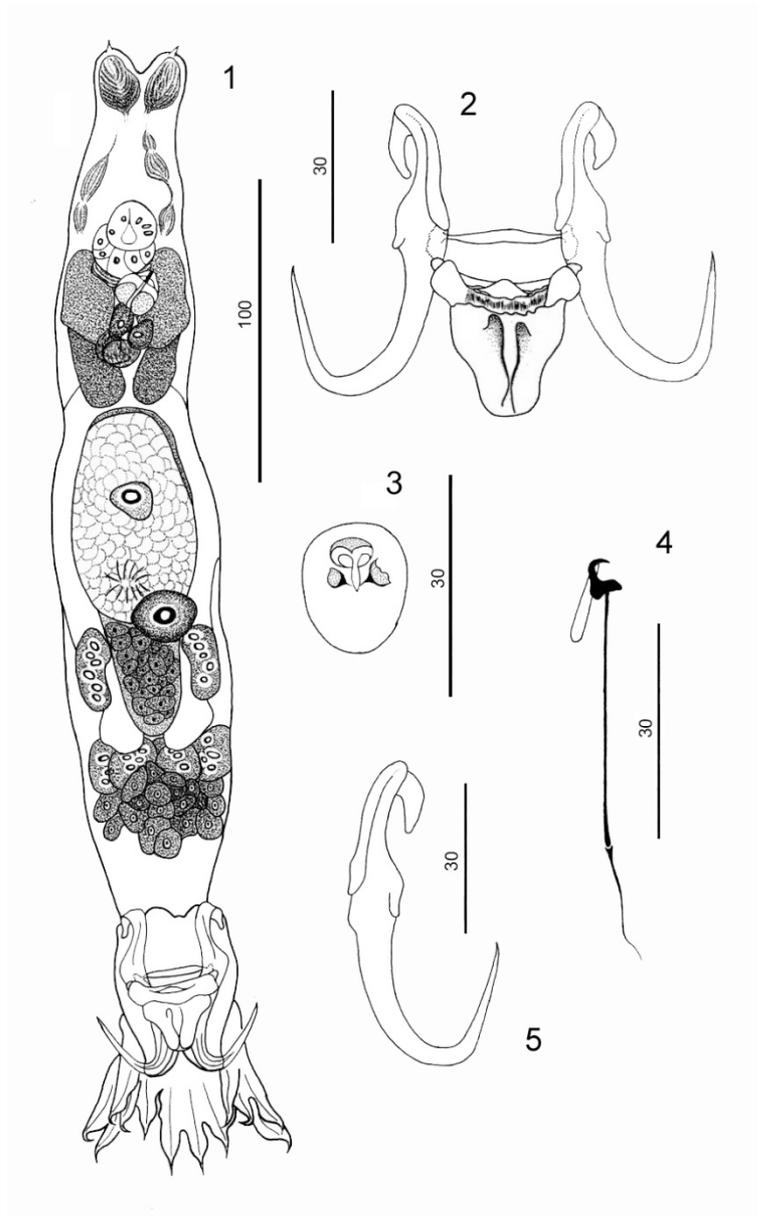


Figura 6.- *Gyrodactylus mexicanus* n. sp. (1) Cuerpo completo, escala 1µm (vista ventral, paratipo). (2) Barra (ventral, holotipo). (3) Órgano copulador. (4) Gancho marginal. (5) Hamuli. Escala=3µm (Tomado de Mendoza-Palmero et al., 2009)

La identificación a nivel de especie de los gyrodactilidos se llevó a cabo por medio de la recopilación bibliográfica de las especies de monogéneos parásitos de peces del orden Cyprinodontiformes del continente Americano y posteriormente se comparó la morfología de nuestros ejemplares con respecto a estas especies. Con base en la especificidad hospedatoria de los monogéneos y el hecho de que los goodeinos pertenecen a este orden de peces, se asumió que los monogéneos presentes en goodeinos podrían presentar similitudes morfológicas con otras especies de monogéneos parásitos de Cyprinodontiformes.

Los monogéneos recolectados fueron asignados dentro del género *Gyrodactylus* con base en la presencia de un haptor (órgano de fijación) con un par de ganchos (Hamuli) orientados ventralmente (Figura 6-2), un par de barras de unión (ventral y dorsal) y 16 ganchos marginales dispuestos en los márgenes del haptor (Mizelle y Kritsky, 1967); útero central alojando un embrión (vivíparos), dos lóbulos cefálicos bien desarrollados, cada uno con un órgano sensorial terminal, faringe compuesta por dos bulbos subesféricos y un par de ciegos intestinales llegando hasta la posición terminal del tronco.

Los gyrodactilidos encontrados fueron descritos como una nueva especie (Mendoza-Palmero et al., 2009), *Gyrodactylus mexicanus* por presentar un cuerpo alargado (336 x 57 micras promedio) con una anchura máxima a nivel del útero gestante. Lóbulos cefálicos poco desarrollados con órganos sensoriales cada uno. Las glándulas cefálicas post-faríngeas y antero-laterales.

Presenta dos grupos de glándulas esofágicas localizadas lateralmente al esófago. Los ciegos intestinales llegan a la región posterior de las gónadas. La vesícula seminal desemboca en el órgano copulador que presenta una espina

central y dos espineletas periféricas con base irregular.

El haptor es ovalada. La barra superficial mide 31 x 33 micras promedio, posee dos proyecciones antero-laterales poco desarrolladas y un proceso medio delicado, la barra ventral es piramidal y largo, con dos estrías evidentes en su parte media, la membrana de la barra ventral se extiende hacia el final del macrogancho.

La barra dosal es larga, recta y con terminaciones adelgazadas, que se insertan en la base del hamulus. Los ganchos marginales son alargados con el mango recto, punta recurvada, pulgar deprimido, talón convexo, el pie del microgancho es delgado y discontinuo, en su región proximal tiene un ligamento. El domus comprende 1/5 de la longitud total de los ganchos marginales.

Análisis de la variación de la prevalencia, abundancia e intensidad promedio de *Gyrodactylus mexicanus* en *G. multiradiatus*

Para estudiar las variaciones en la población en muestras de peces parasitados naturalmente se obtuvieron los parámetros de infección propuestos por Bush et al., (1997):

Prevalencia (%): número de hospederos infectados por una especie parásita particular, dividido por el número de total de hospederos examinados.

Intensidad promedio (IP): número promedio de una especie particular de

parásito entre los hospederos infectados por esa misma especie.

Abundancia: número de parásitos de una especie particular encontrados entre los hospederos examinados.

Se relacionaron a éstos parámetros con la temperatura y precipitación registradas por la Estación Meteorológica 15-004 Almoloya del Río, Estado de México (Latitud: 19° 10' N, Longitud: 99° 29' W, Altura: 2670.0 msnm).

Para verificar la existencia de diferencias significativas en la prevalencia, intensidad promedio y abundancia con respecto de la temperatura se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis ($\alpha = 0.05$) (Appleby y Mo, 1997)

Para probar si existen diferencias en la intensidad promedio y la abundancia entre de las colectas de la época de secas y la época de lluvias, se utilizó la prueba estadística no paramétrica U de Mann Whitney de dos colas con un $\alpha = 0.05$ (confianza de 95%).

Dinámica poblacional de *Gyrodactylus mexicanus* de *G. multiradiatus* en condiciones de laboratorio

Para evidenciar si la temperatura es un factor que está relacionado con los parámetros poblacionales de *Gyrodactylus mexicanus*, se realizaron infecciones experimentales en muestras de peces en condiciones de laboratorio a 3 intervalos de temperatura: 10 - 13°C (utilizando una hielera), 19 - 22°C (temperatura ambiente) y 22 -24°C (utilizando un calentador automático).

Los peces utilizados en los experimentos fueron *G. multiradiatus* que no habían sido expuestos a la infección por *G. mexicanus* por haber nacido en el laboratorio o por haber sido previamente esterilizados. Para asegurar la ausencia de monogéneos en peces experimentales, aun cuando pudieron haber estado expuestos a la infección con anterioridad, fueron colocados en una solución de formol 1:4000 y agua de la llave durante una hora; se realizaron revisiones cada tercer día durante seis semanas. Se infectaron 110 peces esterilizados y seis nacidos en el laboratorio, anestesiándolos con una solución de acetona, dimetilquetona, alpha metilquinolina a 1:1000 y colocándolos en contacto directo con el pez infectado naturalmente. Los monogéneos fueron trasladados del pez infectado naturalmente al pez esterilizado o nacido en el laboratorio; después de la infección los peces se mantuvieron en recipientes de vidrio con 500 ml de agua de la llave declorada con recambios cada dos o tres días y alimentados diariamente con alimento en hojuelas (Wardley, marca comercial).

Los peces fueron examinados cada 24 horas para observar el nacimiento de monogéneos de la siguiente generación. Únicamente al inicio del experimento, la madre fue fijada por aplanamiento con picrato de amonio para su identificación y el hijo permanecía parasitando al pez experimental. En los siguientes nacimientos, los monogéneos hijos fueron separados de los monogéneos madres, infectando otro pez esterilizado. Para facilitar la diferenciación entre madre e hijo, los peces fueron colocados en una solución con rojo neutro durante 2 horas, provocando la tinción del monogéneo madre. Alternativamente se diferenciaban a los hijos por la presencia de úteros gestantes en comparación con los úteros vacíos de las madres. Este

procedimiento se realizó de igual manera para todas las generaciones obtenidas durante los experimentos.

Con el objetivo de comprobar si el número de monogéneos obtenidos por cada pez no fue afectado por la manipulación diaria, se infectaron 16 peces control, a los cuales se les revisó una única vez al término del experimento.

Para los tres experimentos (Temperatura de 10-13°C, 19-22°C y 22-24°C) se calculó la supervivencia (porcentaje de monogéneos respecto del total que seguían vivos en la siguiente observación) mediante la siguiente fórmula (Krebs, 1985):

$$l_x = n_x / n_0$$

l_x = Supervivencia

n_x = Número de monogéneos de x clase etaria

n_0 = Número de monogéneos iniciales (Krebs, 1985)

Se utilizó un análisis estadístico Kaplan Meier para comparar la sobrevivencia promedio entre las tres temperaturas. Los monogéneos desaparecidos fueron considerados como muertos.

Se calcularon medidas de crecimiento poblacional que son de utilidad para caracterizar a una población. La primera de ellas es la tasa reproductiva neta, R_0 . Este parámetro es una media del número de veces que se multiplica el tamaño de la población de una generación a otra, o bien el número de descendientes que produce cada monogéneo a lo largo de toda su vida (número de hijos por madre por generación) y se calculó como (Krebs, 1985):

$$R_0 = \sum l_x m_x$$

l_x = proporción de organismos que sobreviven al inicio del intervalo

m_x = Número de individuos nacidos/unidad de tiempo/hembra de edad x.

La duración promedio de una generación, G, se define como el lapso de tiempo promedio que pasa entre el nacimiento de los padres y el nacimiento de los hijos, y se calculó mediante la siguiente fórmula (Krebs, 1985):

$$G = \frac{\sum l_x m_x x}{\sum l_x m_x} = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$$

l_x = proporción de organismos que sobreviven al inicio del intervalo

m_x = Número de individuos nacidos/unidad de tiempo/hembra de edad x

R_0 = La Tasa Neta de Reproducción

x = Clase de edad

Se utilizó el análisis estadístico Kruskal Wallis para comparar el número promedio de descendientes por monogéneo entre las tres temperaturas.

Una vez que se conocen R_0 y el tiempo generacional, es posible calcular de manera aproximada la tasa intrínseca de crecimiento, r_m , que mide la velocidad a la que crece o decrece la población, en términos del número de individuos por individuo, por unidad de tiempo. Este parámetro se obtuvo mediante la siguiente fórmula (Krebs, 1985):

$$r_m = \frac{\log_e(R_0)}{G}$$

G = El tiempo generacional

R_0 = La Tasa Neta de Reproducción (Krebs, 1985)

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación se presentan en los capítulos siguientes:

Capítulo I: **Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) parasitizing *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), an endemic freshwater fish from central Mexico.** Journal of Parasitology., 95(2), 2009, pp. 315–318.

Carlos A. Mendoza-Palmero, Ana L. Sereno-Uribe, and Guillermo Salgado-Maldonado

Capítulo II: **Occurrence of *Gyrodactylus mexicanus* (Monogenea) on *Girardinichthys multiradiatus* (Goodeidae) in the Chicnahuapan Lake, Central Mexico.**

Ana L. Sereno Uribe

Capítulo III: **Reproduction and survival under different water temperatures of *Gyrodactylus mexicanus* (Platyhelminthes: Monogenea), a parasite of *Girardinichthys multiradiatus* in central Mexico.** Journal of Parasitology 2012 Jun 18 accepted.

Sereno-Uribe AL, Zambrano L, García-Varela M.

CAPITULO I

Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) parasitizing *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), an endemic freshwater fish from central Mexico. Journal of Parasitology., 95(2), 2009, pp. 315–318.

TWO NEW SPECIES OF *GYRODACTYLUS* VON NORDMANN, 1832 (MONOGENEA: GYRODACTYLIDAE) PARASITIZING *GIRARDINICHTHYS MULTIRADIATUS* (CYPRINODONTIFORMES: GOODEIDAE), AN ENDEMIC FRESHWATER FISH FROM CENTRAL MEXICO

Carlos A. Mendoza-Palmero*, Ana L. Sereno-Urbe, and Guillermo Salgado-Maldonado

Laboratorio de Helmintología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-153, C.P. 04510, México D.F., México. e-mail: cmpamtheus@yahoo.es

ABSTRACT: *Gyrodactylus mexicanus* n. sp. and *Gyrodactylus lamothei* n. sp. are described from the fins and skin of *Girardinichthys multiradiatus*, an endemic freshwater fish from central Mexico. *Gyrodactylus mexicanus* is compared to other *Gyrodactylus* species that parasitize *Fundulus* spp., the phylogenetically closest group to the Goodeidae from North America. *Gyrodactylus mexicanus* is distinguished by having large anchors with well-developed superficial roots, enlarged hooks with a proximally disrupted shank (ligament), and a ventral bar with 2 poorly developed anterolateral projections and a small medial process. *Gyrodactylus lamothei* is distinguished from *G. mexicanus* and from other species of *Gyrodactylus* on the North American continent by having anchors with a sclerite on the superficial root and robust hooks with a straight shaft and a recurved point.

The freshwater fish family Goodeidae (Teleostei: Cyprinodontiformes) includes the Empetrichthyinae, with 4 species distributed in the western Great Basin of the United States, and the Goodeinae, with approximately 36 endemic species, mainly distributed in the Mexican Highland Plateau and throughout the Mexican Transvolcanic Belt (Webb et al., 2004). Several helminthological surveys focused on goodeines have recorded the presence of endohelminths specific to these fish, i.e., the digeneans *Margotrema bravoae* Lamothe-Argumedo, 1970, and *Margotrema guillerminae* Pérez-Ponce de León, 2001, and the nematodes *Rhabdochona lichtenfelsi* Sánchez-Alvarez, García-Prieto, and Pérez-Ponce de León, 1998, and *Rhabdochona ahuehuellensis* Mejía-Madrid and Pérez-Ponce de León, 2003.

However, other helminths with greater host specificity, such as monogeneans, have been less studied in goodeines. Only 3 species of monogeneans have been reported from these fish in several states of Mexico: *Gyrodactylus elegans* von Nordmann, 1832, collected from *Girardinichthys multiradiatus* (Meek, 1904) in Lago de Chicahuapan, State of México; *Gyrodactylus* sp. collected from the same host in body waters (small ponds) in La Cantera Oriente, Mexico City; and *Salsuginus* sp. collected from *Chapalichthys encastus* (Jordan and Snyder, 1899) in Lago de Chapala, Jalisco, collected from *Characodon audax* Smith and Miller, 1986, from a spring, El Toboso, Durango, collected from *Goodea atripinnis* Jordan, 1880, and *Xenotoca variata* (Bean, 1887) from the La Laja River, Guanajuato, and collected from *G. atripinnis*, *X. variata*, and *Zoogoneticus quitzeoensis* (Bean, 1898) from a spring, La Mintzita, Michoacán, Mexico (Sánchez-Alvarez et al., 1998; Salgado-Maldonado et al., 2001; Mejía-Madrid and Pérez-Ponce de León, 2003; Sánchez-Nava et al., 2004; Martínez-Aquino et al., 2004; Salgado-Maldonado, 2006; Martínez-Aquino et al., 2007; Mendoza-Palmero et al., 2007; Pérez-Ponce de León et al., 2007). A survey of helminth parasites of *G. multiradiatus* from Lago de Chicahuapan, Lerma River basin in central Mexico, has revealed the presence of 2 new species of *Gyrodactylus*, which are described herein.

Received 27 June 2008; revised 18 August 2008; accepted 10 September 2008.

* Present address: Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic.

MATERIALS AND METHODS

Specimens of *G. multiradiatus* were collected using hand dip nets from Lago de Chicahuapan, State of México, Mexico. Fish were transported alive to the laboratory and kept in aquaria until examination. Once killed, they were immediately placed in Petri dishes with tap water for viewing with a stereomicroscope. The collected gyrodactylids were fixed in hot 4% formalin, or with glycerin ammonium picrate (GAP) for the study of sclerotized structures. After morphological evaluation, the specimens fixed with GAP were remounted in Canada balsam (Ergens, 1969). Specimens fixed in hot 4% formalin were stained with Gomori's trichrome and mounted as whole mounts in Canada balsam (Mendoza-Franco and Vidal-Martínez, 2001). Illustrations were obtained with the aid of a camera lucida.

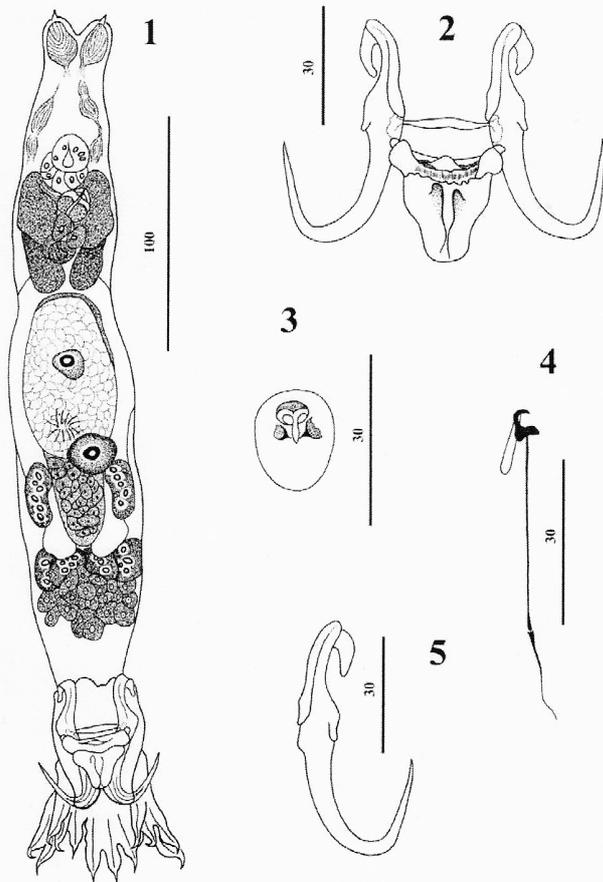
Measurements are presented in micrometers (μm), with the mean followed by the range and number (n) of specimens measured in parentheses (Kritsky and Stockwell, 2005). Anatomical terminology follows that of Kritsky and Stockwell (2005) and Bakke et al. (2007). Type and paratypes specimens were deposited in the Colección Nacional de Helmintos (CNHE), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico, and in the Institute of Parasitology, Academy of Sciences (IPCAS), České Budějovice, Czech Republic, as indicated in the following descriptions.

DESCRIPTION

Gyrodactylus mexicanus n. sp.

(Figs. 1–5)

Description (based on 34 specimens): Body elongate, 336 (239–425; n = 18) long; greatest width 57 (40–68; n = 13) at level of uterus containing embryo. Cephalic lobes moderately developed each containing a spiked sensilla. Cephalic glands distributed anterior, lateral, and posterior to pharynx. Pharynx with 2 sub-spherical bulbs; anterior bulb 16 (13–19; n = 18) wide; posterior bulb 20 (17–23; n = 18) wide. Two groups of esophageal glands located lateral to esophagus. Esophagus moderately long. Intestinal ceca not confluent posterior to gonads. Testis and proximal portion of vas deferens not observed. Seminal vesicle emptying into copulatory organ, folded anterodorsally. Two bilateral prostatic glands, one lying on each side of seminal vesicle, emptying into copulatory organ. Copulatory organ 12 (10–15; n = 23) wide, armed with 1 large spine and 2 spinelets with irregular base. Ovary 21 (13–28; n = 26) long, 23 (16–30; n = 26) wide. Uterus with 1 or 2 generations of embryos. Gland-like masses located in posterior trunk. Haptor sub-rectangular 81 (64–100; n = 22) long, 45 (25–65; n = 12) wide. Anchor 62 (60–66; n = 34) long, with curved shaft, straight point; well-developed superficial root folded posteriorly and with a groove; superficial root 29 (26–32; n = 34) long. Ventral bar 31 (28–33; n = 29) long, 33 (31–35; n = 27) wide, with 2 poorly developed anterolateral projections, and a small medial process; pyramidal shield 22 (20–23; n = 27) long, with 2 conspicuous medial streaks, extending to posterior end of anchor. Dorsal bar 28 (25–32; n = 23) long, straight



FIGURES 1–5. *Gyrodactylus mexicanus* n. sp. (1) Whole mount (ventral view, paratype). (2) Anchor-bar complex (ventral, holotype). (3) Copulatory organ. (4) Hook. (5) Anchor. Scale bar = 30 μ m, except 1 (100 μ m).

with attenuated ends inserted into anchor base. Hooks 55 (54–60; $n = 20$) long, including proximal ligament, with straight shaft, recurved point, depressed toe, convex heel; shank with proximal ligament, proximally disrupted, hooklet 5 (5–6; $n = 25$) long, 4 (4–5; $n = 25$) base; filamentous hook (FH) loop 1/5 of shank length.

Taxonomic summary

Type host: *Girardinichthys multiradiatus* (Meek, 1904).

Site of infection: Body surface (fins and skin).

Type locality/collection date: Lago de Chicahuapan (19°11'20"N, 99°29'30"W), State of México, Lerma River basin, Mexico, between January and October 2005.

Specimens deposited: Holotype, CNHE (No. 6307); 23 paratypes, CNHE (No. 6308); and 10 paratypes IPCAS (M-472).

Prevalence and intensity of infection: Sixty-three fish infected of 258 examined (24%); mean intensity of infection 7 worms per infected fish.

Etymology: The species is named after Mexico, the country where it was found.

Remarks

Morphological features exhibited by *Gyrodactylus mexicanus* n. sp. fit well into the generic diagnoses of *Gyrodactylus* proposed by Bakke et al. (2007). This species possesses 2 cephalic lobes, each with a spiked sensilla, eyespots are absent, pharynx is composed of 2 semispherical bulbs, 1 pair of intestinal ceca terminating blindly in the posterior part

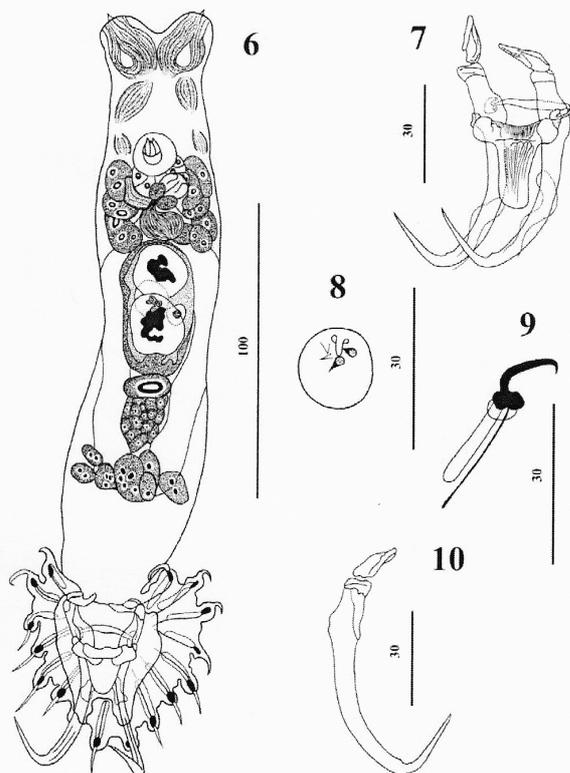
of the trunk, the central uterus containing several generations of embryos, the haptor possessing 1 pair of anchors ventrally oriented connected by a ventral and dorsal bar, and 16 hooks similar in shape and size, and situated at the edge of the haptor.

The new species, *G. mexicanus*, possesses large anchors with well-developed roots, enlarged shafts, and straight points. Also, it possesses hooks with small hooklet, and an enlarged shank, which is disrupted proximally. All these characteristics resemble species of *Fundulotrema* Kritsky and Thatcher, 1977; *Swingleus* Rogers, 1969; *Polyclithrum* Rogers, 1967; *Scleroductus* Jara and Cone, 1989; and *Accessorius* Jara, An, and Cone, 1991. However, the main differences are, with the exception of *Scleroductus*, that their hooks are situated in groups in the haptor; 2 groups are oriented anteriorly and are located at each side of the haptor. The remaining hooks are oriented posteriorly along the posterior edge of the haptor. In *G. mexicanus*, all of its hooks are oriented posteriorly, presenting a brush-like appearance (Fig. 1). This hook pattern is also observed in species of *Acanthoplacatus* Ernest, Jones, and Whittington, 2001, which parasitize marine fish in Australia (Ernst et al., 2001). *Gyrodactylus mexicanus* shares with species of *Acanthoplacatus* a similar position of its anchors, i.e., at the base of the haptor (Fig. 1). Bakke et al. (2007) suggested that anchors in species of *Acanthoplacatus* remain in embryonic condition and fail to migrate back down the peduncle into the haptor. We do not have embryological data for *G. mexicanus* to confirm a similar phenomenon for the new species.

Over 400 *Gyrodactylus* species have been described to date (Harris et al., 2004). Many have been recorded in 1, or only a few, host species, whereas others are less specific, although they still parasitize fish of the same family (Bakke et al., 1992; Bakke et al. 2002; Huysse et al., 2003). Given this high host specificity and that we described new *Gyrodactylus* spp. from a fish species endemic to central Mexico, we have compared our specimens with species of *Gyrodactylus* that parasitize cyprinodontiform fishes, particularly members of the Fundulidae, a family that is phylogenetically closest to the Goodeidae (see Costa, 1998).

Five *Gyrodactylus* species have been recorded from *Fundulus* spp. in North America: *Gyrodactylus stegurus* Mueller, 1937, and *Gyrodactylus avalonia* Hanek and Threlfall, 1969, parasites of *Fundulus diaphanus* (Lesueur, 1817); *Gyrodactylus stephanus* Mueller, 1937, from *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus, 1766); *Gyrodactylus funduli* Hargis, 1955, from *Fundulus similis* (Baird and Girard, 1853); and *Gyrodactylus bulbacanthus* Mayes, 1977, from *Fundulus kansae* Garman, 1895 (Hoffman, 1999; Harris et al., 2004). Of these species, *G. mexicanus* resembles *G. bulbacanthus*, *G. stegurus*, and *G. stephanus* in the shape of its superficial roots of the anchors and the morphology of bars (Fig. 2). *Gyrodactylus mexicanus* also can be differentiated from these species by its larger anchors and the presence of a small medial process on the superficial bar. *Gyrodactylus mexicanus* resembles *G. stegurus* and *G. stephanus* by the shape of the dorsal bar, but it can be differentiated because its bar is shorter. The dorsal bar of *G. bulbacanthus* has a medial notch and the terminal projections are directed posteriorly in *G. stegurus* and *G. stephanus*, whereas the dorsal bar in *G. mexicanus* lacks a medial notch and terminal projections. *Gyrodactylus stegurus*, *G. stephanus*, and *G. bulbacanthus* possess 2 long anterolateral processes on their ventral bars, whereas these structures are quite reduced in *G. mexicanus*. The hooks of *G. mexicanus* are the largest of these species and are apparently disrupted proximally (Fig. 4) (like a ligament, sensu Mizelle and Kritsky, 1967; Mizelle et al., 1968, 1969). This contrasts with the smaller hooks of other species, which lack the ligament.

The general morphology of the haptor structures of *G. mexicanus* resembles 4 species of *Gyrodactylus* that parasitize North American amphibians and marine fish: *Gyrodactylus aurorae* Mizelle, Kritsky, and McDougall, 1969, a parasite of *Rana aurora* Baird and Girard, 1852; *Gyrodactylus ensatus* Mizelle, Kritsky, and Bury, 1968, from the salamander *Dicamptodon ensatus* (Eschscholtz, 1833); *Gyrodactylus alexanderi* Mizelle and Kritsky, 1967, a parasite of the stickleback *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758 (Gasterosteiformes); and *Gyrodactylus mirabilis* Mizelle and Kritsky, 1967, from the prickly sculpin *Cottus asper* Richardson, 1836 (Scorpaeniformes). *Gyrodactylus mexicanus* possesses a small medial process over the ventral bar, which is absent in all 4 species listed above. Additionally, folds from the anchors cover the end of the ventral bar in those 4 species but not the ventral bar in *G. mexicanus*. Moreover, the dorsal bar in those North American species, except for *G. mirabilis*, is short and robust with attenuated ends



FIGURES 6–10. *Gyrodactylus lamothei* n. sp. (6) Whole mount (composite, ventral view). (7) Anchor-bar complex (ventral, holotype). (8) Copulatory organ. (9) Hook. (10) Anchor. Scale bar = 30 μ m, except 1 (100 μ m).

and has a medial notch, whereas the dorsal bar in *G. mexicanus* is less robust and lacks the notch.

Salgado-Maldonado et al. (2001) and Sánchez-Nava et al. (2004) recorded *G. elegans* von Nordmann, 1832, from *G. multiradiatus* in Lago de Chicahuapan, central Mexico, but these authors did not deposit voucher specimens to confirm their identity. According to Harris et al. (2004), *G. elegans* only parasitizes *Abramis brama* (Linnaeus, 1758) (Cyprinidae) from Eurasia; therefore, the presence of this gyrodactylid in Mexico seems to be doubtful.

***Gyrodactylus lamothei* n. sp.**
(Figs. 6–11)

Description (based on 35 specimens): Body elongate, 260 (182–335; n = 17) long; greatest width 53 (35–83; n = 14) near middle of body. Cephalic lobes well developed, each containing sensory organ. Cephalic glands distributed anterior, lateral, and posterior to pharynx. Two groups of pharyngeal glands lateral to esophagus. Pharynx with 2 sub-spherical bulbs; anterior bulb 15 (13–19; n = 12) wide; posterior bulb 20 (16–25; n = 11) wide, with digitiform projections on pharyngeal mouth; several pustules around the posterior bulb. Two groups of large follicles on each side of esophagus. Esophagus moderately long; intestinal caeca nonconfluent posteriorly. Testis and proximal portion of vas deferens not observed. Seminal vesicle ovoid, emptying into copulatory organ. Two bilateral prostatic glands anterior to seminal vesicle, emptying into copulatory organ. Copulatory organ 8 (7–10; n = 10) wide, armed with 1 large spine and 4 spinelets. Ovary 15 (7–23; n = 7) long, 19 (14–25; n = 7) wide. Uterus with 1 or 2 generations of embryos (or empty).

Syncytial masses located in posterior trunk. Haptor subcircular 76 (57–95; n = 11) long, 81 (50–100; n = 9) wide. Anchor 65 (61–70; n = 15) long, with elongated shaft, straight point, and small indentation at union of shaft and point; superficial root with distal sclerite, 31 (29–36; n = 13) long, including distal sclerite. Ventral bar 26 (21–32; n = 15) long, 24 (20–30; n = 12) wide, with 2 short anterolateral projections; shield 18 (14–23; n = 12) long, tongue-shaped posteriorly, extending to midlength of anchor shaft. Dorsal bar 25 (18–35; n = 20) long, relatively robust with slender ends inserted into anchor base. Hooks 29 (26–32; n = 17) long, robust with enlarged and perpendicular straight shaft and curved point, toe slightly tapered, heel globose; slender shank; hooklet 9 (7–10; n = 18) long, 5 (5–6; n = 18) base; filamentous hook loop 3/4 of shank length.

Taxonomic summary

Type host: *Girardinichthys multiradiatus*.

Site of infection: Body surface (fins and skin).

Type locality/collection date: Lago de Chicahuapan (19°11'20"N, 99°29'30"W), State of México, Lerma River basin, Mexico, between January and October 2005.

Specimens deposited: Holotype, CNHE (No. 6309); 11 paratypes, CNHE (No. 6310); and 5 paratypes IPCAS (M-473).

Prevalence and intensity of infection: Thirty-seven fish infected of 258 examined (14%); mean intensity of infection 1.6 worms per infected fish.

Etymology: This species is named in honor of Dr. Rafael Lamothe-Argumedo, for his contributions to parasitology of wild vertebrates in Mexico.

Remarks

Gyrodactylus lamothei n. sp. has morphological features that correspond to generic diagnosis of *Gyrodactylus* (sensu Bakke et al., 2007). To date, 18 species of *Gyrodactylus* are known to parasitize cyprinodontiform fish in the Western Hemisphere, 12 from North America and 6 from Central and South America (Hoffman, 1999; Cable et al., 2005; Kritsky and Stockwell, 2005; Thatcher, 2006). The combination of features of the anchors and hooks found in *G. lamothei* is highly distinctive in this species. The presence of distal sclerites on the base of the superficial root of the anchors in *G. lamothei* (Fig. 7) resembles that of *Polychitrum* spp.; however, species of this latter genus possess a haptor with a very complex morphology composed by a series of accessory bars and lateral ribs (Ernst et al., 2000).

The general morphology of hooks in *G. lamothei*, i.e., robust with an enlarged shaft (Fig. 9), is not similar to the morphology of hooks from the other species of *Gyrodactylus* in North America. Both *G. lamothei* and *G. mexicanus* simultaneously infect the same host species. However, both species can be distinguished based on the following characteristics: *G. lamothei* is smaller than *G. mexicanus*, has a subcircular haptor with concentrically disposed hooks (Fig. 6), whereas *G. mexicanus* has a sub-rectangular haptor with hooks grouped in a brush-like pattern. The anchors of *G. lamothei* have a straight shaft, and its superficial root is short and poorly developed with a distal sclerite, whereas the anchors of *G. mexicanus* have a curved shaft, while the superficial root is enlarged, well developed, folded posteriorly, and lacks a distal sclerite. The ventral bar of *G. lamothei* lacks a medial process and has a rectangular shaped shield with fine streaks, whereas the ventral bar of *G. mexicanus* has a medial process directed anteriorly and an inverted pyramid-shaped shield with 2 conspicuous medial streaks. The hooks of *G. lamothei* are short and robust, and its shank is uniform, whereas in *G. mexicanus* the hooks are long and delicate, and the shank is disrupted proximally.

The haptor structures of *G. lamothei* are very unusual, which differ from the other species of *Gyrodactylus* parasitizing cyprinodontiform fish in North America. The haptor structures of *G. mexicanus* suggest that this species is more closely related to North American *Gyrodactylus* species than to Neotropical species (see Vidal-Martínez et al., 2001; Cable et al., 2005; Thatcher, 2006). Based only on comparative morphology, it is difficult to determine relationships of *G. mexicanus* and *G. lamothei* to the other species of *Gyrodactylus*, at least, from cyprinodontiform fish in North America. Molecular approaches will be necessary to assess possible relationships of these 2 species and their co-evolution with fish hosts in North America.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Edgar F. Mendoza-Franco for his help in the evaluation of *Gyrodactylus* specimens and his valuable suggestions to improve the manuscript. We also thank Tomás Scholz, Delane C. Kritsky, Phil Harris (University of Nottingham, U.K.), Rogelio Aguilar-Aguilar, and Andrés Martínez-Aquino for help in revising early drafts of the manuscript. Thanks are also due to Mirza P. Ortega-Olivares for her help during field and laboratory work, and Norman Mercado-Silva for revising the English. Special thanks to 2 anonymous referees for their comments to improve the manuscript. CAMP was funded by CONACYT (México) scholarship no. 192899. This study forms part of Ph.D. thesis of A.L.S.U.

LITERATURE CITED

- BAKKE, T. A., J. CABLE, AND P. D. HARRIS. 2007. The biology of gyrodactylid monogeneans: The "Russian-Doll Killers." *Advances in Parasitology* **64**: 161–378.
- , P. D. HARRIS, AND J. CABLE. 2002. Host specificity dynamics: Observations on gyrodactylid monogeneans. *International Journal for Parasitology* **32**: 281–308.
- , P. A. JANSEN, AND L. P. HANSEN. 1992. Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans, with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Diseases of Aquatic Organisms* **13**: 63–74.
- CABLE, J., C. VAN OOSTERHOUT, N. BARSON, AND P. D. HARRIS. 2005. *Gyrodactylus pictae* n. sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from the Trinidadian swam guppy *Poecilia picta* Regan, with a discussion on species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 and their poeciliids hosts. *Systematic Parasitology* **60**: 159–164.
- COSTA, W. J. E. M. 1998. Phylogeny and classification of the Cyprinodontiformes (Euteleostei: Atherinomorpha): A reappraisal. In *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*, L. R. Malabarba, R. E. Reis, R. P. Vari, Z. M. Lucena, and C. A. S. Lucena (eds.), Edipucrs, Porto Alegre, Brazil, p. 537–560.
- ERGENS, R. 1969. The suitability of ammonium picrate-glycerin in preparing slides of lower monogeneoidea. *Folia Parasitologica* **16**: 320.
- ERNST, I., M. K. JONES, AND I. D. WHITTINGTON. 2001. A new genus of viviparous gyrodactylid (Monogenea) from the Great Barrier Reef, Australia with descriptions of seven new species. *Journal of Natural History* **35**: 313–340.
- , I. D. WHITTINGTON, AND M. K. JONES. 2000. Three new species of *Polyclithrum* Rogers, 1967 (Gyrodactylidae: Monogenea) from mugilid fishes from Australia and Brazil, with a redescription of *P. mugilini* Rogers 1967. *Systematic Parasitology* **45**: 61–73.
- HARRIS, P. D., A. P. SHINN, J. CABLE, AND T. A. BAKKE. 2004. Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Systematic Parasitology* **59**: 1–27.
- HOFFMAN, G. L. 1999. *Parasites of North American freshwater fishes*, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, New York, 539 p.
- HUYSE, T., V. AUDENAERT, AND F. A. M. VOLCKAERT. 2003. Speciation and host-parasite relationships in the parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea, Platyhelminthes) infecting gobies of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae, Teleostei). *International Journal for Parasitology* **33**: 1679–1689.
- KRITSKY, D. C., AND C. A. STOCKWELL. 2005. New species of *Gyrodactylus* (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) from the white sands pupfish, *Cyprinodon tularosa*, in New Mexico. *Southwestern Naturalist* **50**: 312–317.
- MARTÍNEZ-AQUINO, A., G. SALGADO-MALDONADO, R. AGUILAR-AGUILAR, G. CABAÑAS-CARRANZA, AND C. MENDOZA-PALMERO. 2007. Helminth parasite communities of *Characodon audax* and *C. lateralis* (Pisces: Goodeidae), endemic freshwater fishes from Durango, Mexico. *Southwestern Naturalist* **52**: 125–130.
- , ———, ———, ———, M. P. ORTEGA-OLIVARES. 2004. Helminth parasites of *Chapalichthys encaustus* (Pisces: Goodeidae), an endemic freshwater fish from Lake Chapala, Jalisco, Mexico. *Journal of Parasitology* **90**: 889–890.
- MEJÍA-MADRID, H., AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 2003. *Rhabdochona ahuehuellensis* n. sp. (Nematoda: Rhabdochoniidae) from the Balsas goodeid, *Ilyodon whitei* (Osteichthyes: Goodeidae), in Mexico. *Journal of Parasitology* **89**: 356–361.
- MENDOZA-FRANCO, E. F., AND V. M. VIDAL-MARTÍNEZ. 2001. *Salsuginus neotropicalis* n. sp. (Monogenea: Ancyrocephalinae) from the pike killifish *Belonesox belizanus* (Atheriniformes: Poeciliidae) from southeastern Mexico. *Systematic Parasitology* **48**: 41–45.
- MENDOZA-PALMERO, C. A., H. ESPINOSA-PÉREZ, AND G. SALGADO-MALDONADO. 2007. Helminthos parásitos de peces dulceacuicolas. In *Guía Ilustrada de La Cantera Oriente: caracterización ambiental e inventario biológico*, A. Lot (ed.), Coordinación de la Investigación Científica, Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Angel de Ciudad Universitaria, UNAM, Mexico City, D.F., p. 179–191.
- MIZELLE, J. D., AND D. C. KRITSKY. 1967. Studies on monogenetic trematodes. XXXVI. Gyrodactylid parasites of importance to California fishes. *California Fish and Game* **53**: 264–272.
- , AND R. B. BURY. 1968. Studies on monogenetic trematodes. XLI. *Gyrodactylus ensatus* sp. n., the first species of the genus described from Amphibia. *Journal of Parasitology* **54**: 281–282.
- , AND H. D. MCDUGAL. 1969. Studies on monogenetic trematodes. XLII. New species of *Gyrodactylus* from Amphibia. *Journal of Parasitology* **55**: 740–741.
- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G., L. GARCÍA-PRÍETO, AND B. MENDOZA-GARFÍAS. 2007. Trematode parasites (Platyhelminthes) of wildlife vertebrates in Mexico. *Zootaxa* **1534**: 1–247.
- SALGADO-MALDONADO, G. 2006. Checklist of helminth parasites of freshwater fishes from Mexico. *Zootaxa* **1324**: 1–357.
- , G. CABAÑAS-CARRANZA, E. SOTO-GALERA, J. M. CASPETA-MANDUJADO, R. G. MORENO-NAVARRETE, P. SÁNCHEZ-NAVA, AND R. AGUILAR-AGUILAR. 2001. A checklist of helminth parasites of freshwater fishes from the Lerma-Santiago River basin, México. *Comparative Parasitology* **68**: 204–218.
- SÁNCHEZ-ALVAREZ, A., L. GARCÍA-PRÍETO, AND G. PÉREZ-PONCE DE LEÓN. 1998. A new species of *Rhabdochona* Railliet, 1916 (Nematoda: Rhabdochoniidae) from endemic goodeids (Cyprinodontiformes) from two Mexican lakes. *Journal of Parasitology* **84**: 840–845.
- SÁNCHEZ-NAVA, P., G. SALGADO-MALDONADO, E. SOTO-GALERA, AND B. JAIMES-CRUZ. 2004. Helminth parasites of *Girardinichthys multiradiatus* (Pisces: Goodeidae) in the upper Lerma River sub-basin, Mexico. *Parasitology Research* **93**: 396–402.
- THATCHER, V. E. 2006. *Amazon fish parasites*, 2nd ed. Pensoft, Sofia, Bulgaria, 508 p.
- VIDAL-MARTÍNEZ, V. M., M. L. AGUIRRE-MACEDO, T. SCHOLZ, D. GONZÁLEZ-SOLÍS, AND E. F. MENDOZA-FRANCO. 2001. Atlas of the helminth parasites of cichlid fish of Mexico. Academia, Prague, Czech Republic, 165 p.
- WEBB, S. A., J. A. GRAVES, C. MACIAS-GARCIA, A. E. MAGURRAN, E. Ó. FOIGHIL, AND M. G. RITCHIE. 2004. Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **30**: 527–544.

CAPITULO II

Occurrence of *Gyrodactylus mexicanus* (Monogenea) on *Girardinichthys multiradiatus* (Goodeidae) in the Chicnahuapan Lake, Central Mexico.

Ana L. Sereno Uribe

Occurrence of *Gyrodactylus mexicanus* (Monogenea) on *Girardinichthys multiradiatus* (Goodeidae) in the Chicnahuapan Lake, Central Mexico.

Ana L. Sereno-Uribe.

Departamento de Zoología. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, C. P. 04510, México D. F., México.

ABSTRACT: From two (from January 2005 to October 2006) years a total of 530 specimens of the endemic goodeid fish *Girardinichthys multiradiatus* from Chicnahuapan Lake, State of Mexico, Mexico, were investigated for occurrence of the monogenean parasite *Gyrodactylus mexicanus*. Average monthly abundance of *G. mexicanus* was about 1.05 specimens per fish in both years. The mean prevalence was 22.40 % of infected fishes, with an intensity of 3.61 monogenean per infected fish in both years. The highest prevalence was 73.33%, in March, 2005; However in August and September, 2005 fish were not infected. . These observations represent the first data describing the seasonality of *Gyrodactylus mexicanus* on the fins of *G. multiradiatus*.

INTRODUCTION

Gyrodactilids (Monogenean) are ectoparasites that inhabit the skin, fins, and gills of a great variety of marine, freshwater, and brackish water fishes distributed worldwide (Cable and Harris, 2002; Harris et al., 2004). Gyrodactilid reproduction is characterized by a short generation time, with transmission established through host-to-host contact, including contact with dead fishes,

and by reattachment of previously detached parasites (Bakke et al., 1992). This process together with the viviparity and directly life cycle allow a rapid increase of the population size in a relatively short period, which can have a significant negative effect on the survival of fish (Bakke et al., 1992).

Major factors affecting the seasonal prevalence and abundance of gyrodactilid worms include abiotic factors like water temperature and biotic factors such as behavior, sex, age, resistance and mortality of the host and of parasite (Jansen and Bakke, 1991; Ernst et al., 2005).

Temperature is probably the most important macroenvironmental factor driving gyrodactilid population dynamic, due that it has a direct role in the reproductive rate and developmental processes in the infections (Jansen and Bakke, 1991; Ernst et al., 2005). Temperature also has an effect in the host abundance, reproductive behavior and immune response (Buchmann, 1997; Tinsley and Jackson, 2002).

Species of gyrodactilids show different temperature optima and seasonal changes in their infection parameters in Neartic regions with marked seasonal variations (Appleby, 1996; Rawson and Rogers, 1973; Mo, 1997; Richards and Chubb, 1998; Davidova et al., 2005). However, in the Neotropics, a habitat with constant temperature throughout the year with two seasons (dry and rain) no studies has been conducted describing the infection parameter of monogeneans. Therefore the present study to describe for the first the seasonal occurrence of the monogenea *Gyrodactylus mexicanus* associated the with *Girardinichthys multiradiatus*, in central Mexico.

MATERIAL AND METHODS

The seasonal occurrence of *Gyrodactylus mexicanus* was followed in *Girardinichthys multiradiatus* (Meek 1904) in Chicnahuapan Lake, which is located about 26 km from Toluca, Estado de México (19° 10' N, 99° 29' W, 2670 msnm). A total of 530 *G. multiradiatus* were collected monthly between January 2005 and October 2006 using hand dipnets. The number of fish examined per month fluctuated from 3 to 47 (Table I). Once collected, the fish were maintained alive and immediately transported to the laboratory and kept in aquaria until examination. Fishes were placed in Petri dishes with tap water for the examination under a stereomicroscope, especially the external surfaces, including scales, skin and fins. All collected gyrodactylids were counted and fixed in hot 4% formalin, or to study sclerotized parts, fixed following Malmberg's semi-permanent mount method (see Ergens 1969). Some specimens have been deposited in the National Helminth Collection (Colección Nacional de Helminthos, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México).

Prevalence is expressed as percent of infected fish in each sample, while mean intensity is used to express intensity of *G. mexicanus* among infected fish in each sample (Bush, et al. 1997). A non parametric U de Mann Whitney test was used to test for differences in intensity and prevalence between samples (Davidova et al., 2005). The analysis was conducted on SPSS (Statistical Product and Service Solutions) version 13 statistical software. A probability of $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

From January 2005 to October 2006 a total of 530 fishes identified as *Girardinichthys multiradiatus* were captured ranging in size from 17 mm to 45 mm. Prevalence, abundance and mean intensity of *G. mexicanus* infection in the goodeid *G. multiradiatus* during the two years of the study is shown in Table I. *G. mexicanus* was found throughout the investigation period, except for few months (August, September and December 2005). The total prevalence was 28 % of infected fishes, with a total intensity of 3.61 monogeneans per infected fish.

The highest prevalence values were obtained in March 2005 (73.33%), they were followed by a sudden decrease until September 2005. In October 2005 the prevalence again increased, and decrease again until January 2006. After that, the prevalence had littlies fluctuations until June 2006 (the lowest values observed 6.67%). Then again increase in August until October 2006. The abundance data showed a similar pattern (Figure 1).

In dry season, the mean intensity of varied from 0.00 (December 2005) to 10.09 (March 2005). During the rain season the mean intensity varied from 0.00 (July 2005) to 3.00 (July 2006). The infestation prevalence fluctuated considerably during the examination period, *G. mexicanus* prevalence and mean abundance (U Man Witney $\alpha=0.05$) in rain season were significantly different from the dry season (Figure 2). Prevalence, mean abundance and mean intensity of *G. mexicanus*, were higher in dry than in rainy season (Figure 1).

DISCUSSION

During the present study *Gyrodactylus mexicanus* was present in the fishes almost all months (except August, September and December 2005). The prevalence and abundance peaked in dry season, declined and remained at low levels until the following dry season, so the occurrence of *G. mexicanus* showed variations throughout the year.

High infection rates of *Gyrodactylus* species studied from natural populations have also been reported by several authors (Rawson and Rogers, 1973; Hanzelova and Zitnan, 1983; Mo, 1992; Jansen and Bakke, 1991; Appleby, 1996). However, studies on the seasonal occurrence of gyrodactylids show that there is a strict influence of temperature on the prevalence and intensity of infection which generates a definite seasonal cycle of the parasite.

The marked temperature dependence of birth, mortality and probably also transmission rates of the parasites, have been strongly suggested (Chubb, 1977). The population dynamics of gyrodactylids are subject to substantial seasonal and geographical variation. Some species show a maximum prevalence in spring (Appleby, 1996), in summer (Mo, 1992; Jansen and Bekke, 1991) or in winter (Harris, 1985).

Tinsley and Jackson (2002) suggest that transmission of monogeneans can occur through the year in permanent water bodies. However, there is a seasonal cycle in the intensity of infection correlated with temperature variations and the expansion and contraction of water bodies (due to rainfall) and hence hosts population density. In this study, the host population, during rainfall, is dispersing in flooded habitats and there is a reduced transmission of the parasite, samples at this time revealed the lowest infection. In the dry season,

the host population is aggregated at high temperatures and experience heavy infection (Figure 2).

Several authors have suggested that the prevalence and intensity of infection of gyrodactylids are greatly influenced by the life cycle of the host fish (Chubb, 1977; Harris, 1985; Buchman, 1997). These seasonal aspects of host ecology are likely to drive the strong annual fluctuations in parasite abundance noted above. The reproductive behavior of host is an important factor in parasite population increases. Rawson and Rogers (1973), observed occurrence of maximum population of *Gyrodactylus macrochiri* in during the spring corresponding to the reproductive period of the fish. Sexual maturity in host is associated with increased cortisol levels, which induce immunosuppression (Pickering and Christie, 1980) and Thomas (1964) suggested that the low infection by parasites during the spawning period, coincided with the rainy period, occurred because of the presence of estrogen, a hormone that appeared in the blood of fish during oocyte maturation. After spawning, the estrogen decreased.

In this case, the courtship behavior of the host allows the transmission of the parasite, because the direct contact between hosts is one of the main routes for gyrodactylids infection (Bakke, et al. 2002).

The studies of the biology of goodeids, specially with *Girardinichthys viviparous*, show that the fry born continually from March to October, showing highest number of fry in May and June (Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez, 1986). This factors suggest that the courtship, time when the contact between host appears strongly, happens before May, when the temperature is high and precipitation is low (0 to 50 mm, dry season), so, the dynamic of population of

parasites of fish is related to biotic and abiotic factors producing seasonal or temporal cycles.

The results demonstrate the fluctuations of the temporal distribution of *G. mexicanus* in *G. multiradiatus* studied fluctuated, but did not seem to follow four seasonal patterns as the template regions. Even though temperature has been considered as the most important causative factor of the seasonality of monogeneans, it didn't seem to play a significant role in the present study. The fluctuation of the presence of the parasite might be the result of the mild climate of State of Mexico, or other factors could be more important structuring forces, like the rain season and its relation with the contact between fishes, although the gyrodactylids transmission.

The non-four seasonal population fluctuations detected are result of the host and the gyrodactylids biology and the Lake cycle. A gradual increase in intensity levels of gyrodactylids population in dry season in this study could be a result of the above mentioned factors. The data presented here contribute to the knowledge on *Gyrodactylus mexicanus* and add some valuable information on its occurrence.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by project no. 2004-C01-47339/A-1 of the CONACyT, (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) from to GSM, and CONACyT scholarship no. 167291. Special thanks to Sr. Lucio and Carlos Mendoza Palmero for their assistance in the field and laboratory. This paper form part of Ph. D. Thesis of the first author.

LITERATURE CITED

Appleby, C. 1996. Population dynamics of *Gyrodactylus* sp. (Monogenea) infecting the sand goby in the Oslo Fjord, Norway. *Journal of Fish Biology* 49: 402-410.

Bakke T.A., P.D. Harris, and J. Cable. 2002. Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *International Journal of Parasitology* 32: 281-308.

Buchman, K. 1997. Population increase of *Gyrodactylus derjavini* on rainbow trout induced by testorene treatment of the host. *Diseases of Aquatic Organism* 30: 145-150.

Bush, A. O., K. D. Lafferty., K. M. Lotz and A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revised. *Journal of Parasitology* 65: 667-669.

Chubb, J. C. 1977. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part I. Monogenea. *Advances in Parasitology* 15: 133–199.

Davidova M., Jarkovsky J., Matejusova I., and Gelnar M. 2005. Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Zitnan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology Research* 95: 398-405

Diaz-Pardo E. y D. Ortiz-Jimenez. 1986. Reproducción y ontogenia de *Girardinichthys viviparus* (Pises: Goodeidae). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencia*. 30: 45-66.

Ergens, R. 1969. The suitability of ammonium picrate-glycerin in preparing slides of lower monogenea. *Folia Parasitologica* 16: 320.

Ernst, I., I. D. Whittington, S. Corneillie, and C. Talbot. 2005. Effect of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae* (Monogenea: Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. *Journal of Fish Diseases* 28: 157-164.

Jansen P.A., and T.A. Bakke. 1991. Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Parasitology* 102: 105-112.

Hanzelova, V., and R. Zitnan, R. 1983. The seasonal dynamics of the invasion of *Dactylogyrus vastator* Nybelin, 1924 (Monogenea) in the carp fry. *Helminthologia*, 20, 137-150.

Harris, P.D. 1985. Observations on the development of the male reproductive system in *Gyrodactylus gasterostei* Glaser, 1974. *Parasitology* 91: 519-529.

Martínez-Aquino, A., G. Salgado-Maldonado, R. Aguilar-Aguilar, G. Cabañas-Carranza, and M. P. Ortega-Olivares. 2004. Helminth parasites of

Chapalichthys encaustus (Pisces: Goodeidae), an endemic freshwater fish from Lake Chapala, Jalisco, Mexico. *Journal of Parasitology* 90: 889-890.

Mendoza-Franco, E. F., V. Vidal-Martínez, R. Sima-Álvarez, R. Rodríguez-Canul, C. Vivas-Rodríguez, and T. Scholz. 1995. Occurrence of *Siadicleithrum mexicanum* Kritsky, Vidal-Martínez et Rodríguez-Canul, 1994 (Monogenea: Dactylogyridae) in the Cichlid *Cichlasoma urophthalmus* from a Flooded Quarry in Yucatán, Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 90: 319-324.

Mo, T. A. 1992. Seasonal variations in the prevalence and infestation intensity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. in the River Batnfjordselva, Norw. *Journal of Fish Biology* 42: 697-707.

Mo, T. A. 1997. Seasonal occurrence of *Gyrodactylus derjavani* (Monogenea) on Brown trout, *Salmo trutta*, and Atlantic salmon, *S. Salar*, in the Sandvikselva River, Norway. *Journal of Parasitology* 83:1025-1029.

Pickering, A. D., and P. Christie. 1980. Sexual differences in the incidence and severity of ectoparasitic infestation of the brown trout, *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology* 16: 669-683.

Rawson, M.V., and W. A. Rogers. 1973. Seasonal abundance of *Gyrodactylus macrochiri* Hoffmann and Putz, 1964 on Bluegill and Largemouth bass. *Journal of Wildlife Diseases* 9: 174-177.

Richards G. R. and Chubb J. C. 1998. Longer-term population dynamics of *Gyrodactylus bullatarudis* and *G. turnbulli* (Monogenea) on adult guppies (*Poecilia reticulata*) in experimental arenas. *Parasitology Research* 84: 753-6.

Salgado-Maldonado, G. 2006. Checklist of helminth parasites of freshwater fishes from Mexico. *Zootaxa*, 1324:1-357.

Salgado-Maldonado, G., Cabañas-Carranza, G., Caspeta-Mandujano, J. M., Soto-Galera, E., Mayén-Peña, E., Brailoovky, D. and Báez-Vález, R. 2001. Helminth parasites of freshwater fishes of the Balsas River drainage Basin of southwestern Mexico. *Comparative Parasitology* 68: 196-203.

Sánchez-Nava, P., G. Salgado-Maldonado, E. Soto-Galera, and B. Jaimes-Cruz. 2004. Helminth parasites of *Girardinichthys multiradiatus* (Pisces: Goodeidae) in the Upper Lerma River subbasin, Mexico. *Parasitology Research* 93: 396-402.

Tinsley, R. C. and J. A. Jackson. 2002. Host factors limiting monogenean infections: a case study. *International Journal of Parasitology* 32: 353-365.

Thomas, J. D. A. 1964. Comparison between the helminth burdens of male and female brown trout, *Salmo trutta* (L.) from a natural population in River Teify, West Wales. *Parasitology* 54, 263-272.

Vidal-Martínez, V.M., M. L. Aguirre-Macedo, T. Scholz, D. González-Solís, and E. F. Mendoza-Franco. 2001. Atlas of the helminths parasites of cichlid fish of Mexico. Academia, Prague.

TABLE I. The number of fish examined and their standard length (mean, SD, range) at each collection. Basic epidemiological characteristics of the monthly *Gyrodactylus mexicanus* infection are also provided.

Date	<i>Girardinichtys multiradiatus</i>			<i>Gyrodactylus mexicanus</i>				
	No of fish examined (N)	Leigth (mm)			Prevalence (%)	Abundance	Intensity of infection	
		mean	SD	Range			mean	min-max
2005								
E	30	31.96	9.07	21-39	16.67	0.40	2.40	0-4
F	47	30.09	4.16	20-44	17.53	0.39	2.08	0-2
M	30	34.03	3.61	28-41	73.33	7.40	10.09	0-40
A	31	32.62	3.28	27-42	48.39	1.58	3.27	0-7
M	40	33.10	2.81	26-38	12.50	0.20	1.60	0.3
J	29	34.60	4.70	23-44	23.33	0.30	1.29	0-2
J	30	35.06	4.39	27-45	13.33	0.13	1.00	0-1
A	35	29.16	4.44	23-38	0.00	0.00	0.00	0
S	8	21.75	0.96	21-23	0.00	0.00	0.00	0
O	36	30.25	6.67	21-36	40.83	0.66	1.29	0-4
N	29	33.00	5.21	23-44	15.50	1.58	3.00	0-1
D	8	36.23	4.46	31-43	0.00	0.00	0.00	0
2006								
E	20	33.96	3.48	28-44	55.00	0.85	1.55	0-3
F	24	33.30	4.56	27-41	33.33	0.75	2.25	0-24
M	27	34.30	3.71	28-41	40.74	0.89	2.18	0-7
A	30	30.69	3.69	20-44	33.33	0.80	2.40	0-5
M	30	33.23	2.69	27-38	46.67	0.80	1.71	0-4
J	20	30.95	5.45	23-38	10.00	0.3	3.00	0-5
A	6	27.00	4.15	23-35	50.00	1.50	3.00	0-4
S	3	30.00	5.00	25-35	33.33	3.33	10.00	0-10
O	20	27.90	7.29	17-45	10.00	0.25	2.50	0-3

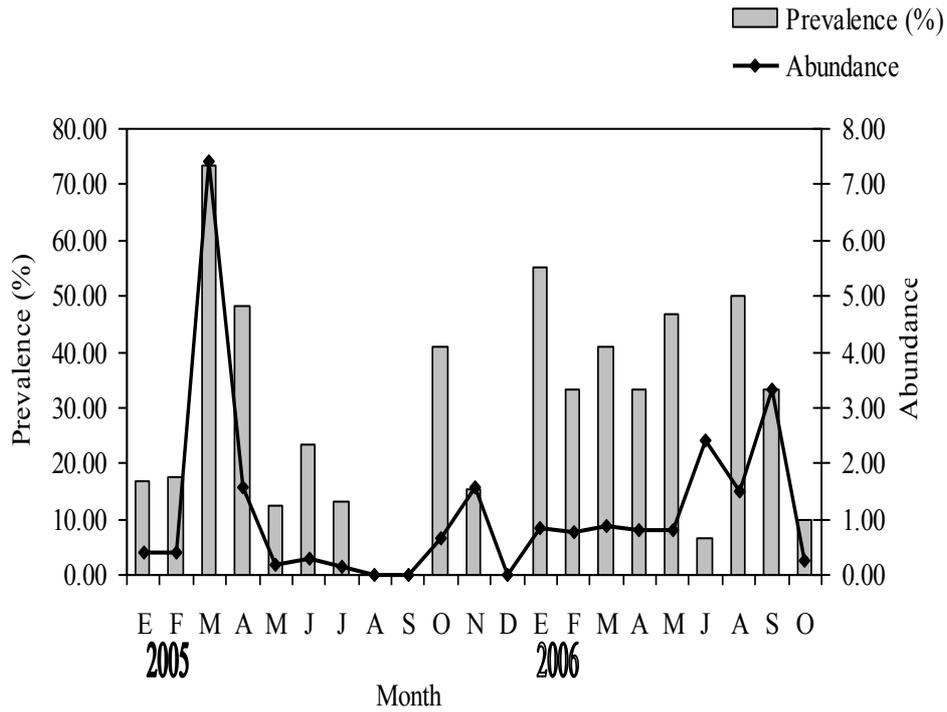


FIGURE 1. Monthly infestation prevalence (%) and abundance levels of *Gyrodactylus mexicanus* determined from *Girardinichthys multiradiatus* caught in Chicnahuapan Lake, Mexico.

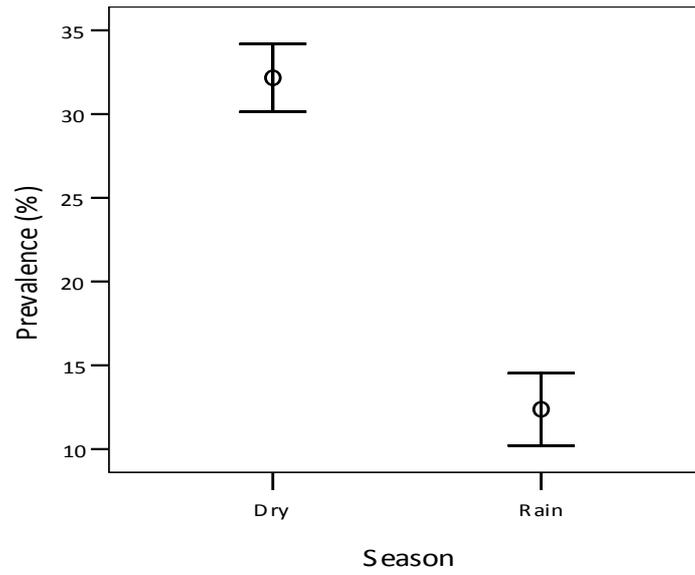


FIGURE 2. Prevalence of *Gyrodactylus mexicanus* from *Girardinichthys multiradiatus* in Chicnahuapan Lake, Mexico from the dry and rain season. Error bars indicate standard error.

CAPÍTULO III

Reproduction and survival under different water temperatures of *Gyrodactylus mexicanus* (Platyhelminthes: Monogenea), a parasite of *Girardinichthys multiradiatus* in central Mexico. Journal of Parasitology 2012 Jun 18 accepted.

Sereno-Urbe AL, Zambrano L, García-Varela M.

REPRODUCTION AND SURVIVAL UNDER DIFFERENT WATER TEMPERATURES OF *GYRODACTYLUS MEXICANUS* (PLATYHELMINTHES: MONOGENEA), A PARASITE OF *GIRARDINICHTHYS MULTIRADIATUS* IN CENTRAL MEXICO

Ana L. Sereno-Uribe, Luis Zambrano, and Martín García-Varela

Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, A.P. 70-153, C.P. 04510, México, D.F. México. e-mail: moquitolino@yahoo.com.mx

ABSTRACT: Gyrodactylid population growth may depend on abiotic variables such as temperature. We tested the survival and reproductive rate of *Gyrodactylus mexicanus*, a parasite infecting fins of *Girardinichthys multiradiatus*, at 3 different water temperatures, 10–13, 19–22, and 24 C. The temporal sequence of birth and age at death of each parasite isolated from the hosts was recorded through at least 8 generations. Our results showed that the average number of offspring per parasite was 2.0 when averaged across all temperatures. However, the generation time was negatively correlated with temperature. The innate capacity for increase (r_m) was positively correlated with water temperature: from 0.29 parasite/day at 13 C to 0.48 parasite/day at 24 C. These data confirm that water temperature has a direct influence on parasite population dynamics. The current study represents the first contribution to understanding the population ecology of the monogenean *G. mexicanus* in central Mexico.

Species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832, are ectoparasites that inhabit the skin, fins, and gills of a great variety of marine, freshwater, and brackish water fishes. Over 400 valid species of the genus are currently recognized worldwide, and they are considered as one of most invasive fish parasites due to their viviparous mode of reproduction and exponential growth rate (Cable and Harris, 2002; Harris et al., 2004).

In Mexico, only 9 species of *Gyrodactylus* have been described, most from the Neotropics. Three of these species occur on Mexican poeciliid fish (*Gyrodactylus bullatarudis* Turnbull, 1956, *Gyrodactylus jarocho* Rubio-Godoy, Paladini, García-Vásquez, and Shinn, 2010, and *Gyrodactylus xalapensis* Rubio-Godoy, Paladini, García-Vásquez, and Shinn, 2010). Three other species occur on introduced cichlids (*Gyrodactylus cichlidarum* Paperna, 1968), on characids (*Gyrodactylus neotropicalis* Kritsky and Fritts, 1970), and carp (*Gyrodactylus sprostonae* Ling, 1962). Another 3 species (*Gyrodactylus elegans* von Nordmann, 1832, *Gyrodactylus lamothei* Mendoza-Palmero, Sereno-Uribe, and Salgado-Maldonado, 2009, and *Gyrodactylus mexicanus* Mendoza-Palmero, Sereno-Uribe, and Salgado-Maldonado, 2009) occur on endemic goodeines (see Mendoza-Franco et al., 1999; Salgado-Maldonado et al., 2001; Mendoza-Palmero et al., 2007, 2009; Rubio-Godoy et al., 2010).

Gyrodactylids are viviparous and produce in most cases a single offspring at each birth. Sexually mature monogenoids give birth to the first progeny after 1 day, a second after 5–6 days, and a third after 10–12 days. This reproductive pattern has been observed throughout at least 12 generations (Cable and Harris, 2002). Some gyrodactylids are cold-water stenotherms (Malmberg, 1973). The water temperature affects both the birth and mortality processes of *Gyrodactylus* spp., which determine the population growth (Jansen and Bakke, 1991). As a consequence, infection rates and population dynamics are related to seasonal and geographic variation. *Gyrodactylus mexicanus* is the only species found thus far at Chichahuapan Lake in central Mexico, where it infects the body surface (fins and skin) of a species of goodein (Mendoza-Palmero et al., 2009). In the Neotropical region of Mexico, the water temperature is relatively constant

during the whole year, in contrast to water bodies located in the Nearctic region, where there is marked seasonal variation in water temperature. The present study was designed to determine the effect of water temperature on the survival and reproductive rate of *G. mexicanus*.

MATERIALS AND METHODS

The goodeids used in the present experiments, *Girardinichthys multiradiatus*, were caught using hand dip nets in Chichahuapan Lake, which is located about 26 km west of Toluca, Estado de México (19°10'N, 99°29'W, 2670 m). Fish were maintained alive at room temperature in aquaria. To remove all ectoparasites, individual fish were treated with a 1:4,000 formalin solution for 1 hr and examined using stereomicroscopy daily for 1 wk to guarantee they were free of monogenoids (Lester and Adams, 1974).

Three temperature ranges were selected: 10–13, 19–22, and 24 C, representing the minimum and maximum temperatures observed in Chichahuapan Lake during the year. In total, 136 monogenoid-free fish were acclimatized (22 fish at 13 C, 95 at 22 C, and 19 at 24 C) under natural day length in dechlorinated water for a minimum of 24 hr prior to each experiment.

To estimate the reproductive rate of *G. mexicanus*, a single monogenoid was attached to an uninfected fish, which had been anesthetized with a 1:1,000 solution of acetone (dimethylketone alpha methyl quinoline) and placed near the infected fish, stimulating the monogenoid to pass from fish to fish. The newly infected fish was placed in a container with 250 ml of water and examined daily until the parasites were dead. All observations were made using a stereomicroscope.

A newly produced monogenoid offspring contained an embryo, which distinguished it from the parent whose uterus was empty. A second way to distinguish newborns from the parent was to place the infected fish in a 1:10,000 solution of neutral red for 1 hr before reproduction. The parent monogenoid retains the stain for over 24 hr, and the newborn is unstained (Lester and Adams, 1974).

To maintain a single monogenoid infestation on each experimental fish, the daughter or parent was immediately removed and placed on an uninfected fish using the previously described method. The longevity of the parasite was recorded from day 0 (the first observation of the parasite) to the day that the monogenoid died. The survival was estimated as a percentage of the monogenoids still living from the previous observation, assuming a stable age-structure, a constant growth rate, and absence of inter- and intraspecific competition and migration.

Data obtained from isolated parasites were used to design a life-span table, estimating reproductive rate (in the case of hermaphroditic organisms such as *G. mexicanus*, R_0 , equals the mean number of offspring/parasite), and generation time (G). The innate capacity for increase (r_m) was estimated by the Lotka equation (Lotka, 1913; see Krebs, 1985) as follows: $\exp(-r_m x) 1_x b_x = 1$. The generational times were

Received 1 December 2011; revised 6 April 2012; accepted 18 June 2012.
DOI: 10.1645/GE-3053.1

tested with a 1-way ANOVA after confirming normality and homoscedasticity of variances. The life-span table was treated via the Kaplan-Meier method using a graph with cumulative proportion survival and after comparing the survival curves at each temperature (10–13, 19–22, and 24 C). The 3 survival curves were analyzed using a chi-square test. All tests were performed with a significance level of 0.05 and using the software STATISTICA version 7 (Statsoft, 2006). Vouchers of *G. mexicanus* were deposited in the Colección Nacional de Helmintos (CNHE), Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México City, under numbers 6307–6308, 6745–6748, and 7128.

RESULTS

Of the 136 infected fish, 84.5% of the monogenoids (n = 115) established successfully, 20 monogenoids at 10–13, 76 at 19–22, and 19 at 24 C. The longevity of *G. mexicanus* was up to 17 days. The 3 survival curves at different temperatures were significantly different from each other ($X^2 = 16.43$, $df = 2$, $P = 0.00027$). The survival proportion obtained by the Kaplan Meier equation showed differences between temperatures, i.e., 50% survival was 7 days at 10–13 C, 6 days at 19–22 C, and 4 days at 24 C (Fig. 1). The maximum number of offspring observed from each parasite was 2 for all temperatures, and the mean number of offspring is shown in Figure 2.

The net reproductive rate (R_0) was 3.54 for 10–13, 2.85 for 19–22, and 4.26 for 24 C. The generation time of the monogenoids decreased with increasing water temperature (Fig. 3) and was significantly different at the different temperatures ($F_{2,15} = 10.780$, $P = 0.00125$). The innate capacity for increase ($r_m = \text{parasite/day}$) improved with higher temperatures (Fig. 4). Based on these values, the population of *G. mexicanus* doubles in size after approximately 3 days at 10–13 C, 4 days at 19–22 C, and 5 days at 24 C, assuming a stable age-structure, a constant growth rate, and absence of inter- and intraspecific competition and migration.

DISCUSSION

The population biology of the monogenoid *G. mexicanus* on the freshwater fish *Girardinichthys multiradiatus* is described for the first time. The present study confirms that the water temperature strongly affects the population buildup of this species of

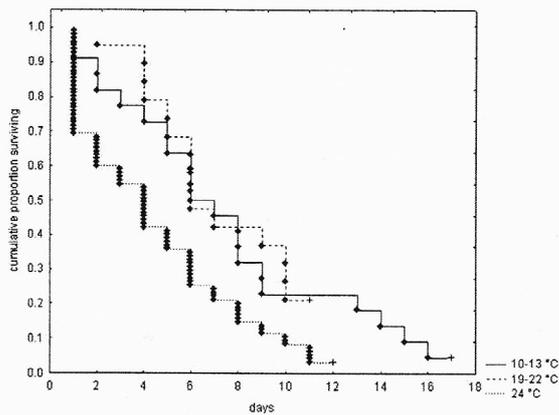


FIGURE 1. Cumulative proportion of *Gyrodactylus mexicanus* surviving at 3 temperatures (10–13, 19–22, and 24 C) using the Kaplan-Meier method.

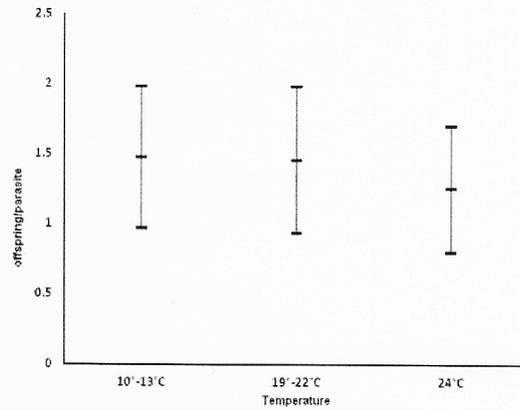


FIGURE 2. Mean number of offspring/parasite for individual isolated *Gyrodactylus mexicanus* on *Girardinichthys multiradiatus* in relation to temperature.

ectoparasite. The longevity of *G. mexicanus* was up to 17 days and was negatively correlated with the water temperature. Previous studies with 2 other congeneric species, i.e., *G. derjavini* on rainbow trout and *G. salaris* on Atlantic salmon, indicate a longevity of 35 days for both species (Jansen and Bakke, 1991; Andersen and Buchmann, 1998). Kennedy (1970, 1972, 1985, 1994) suggested that water temperature is an important factor in the maturation, reproduction, longevity, and successful transmission of gyrodactylids.

The number of progeny recorded for *G. mexicanus* was 2 at all temperatures tested, and it is similar to several species in the genus, including *Gyrodactylus alexanderi*, which produces 2 offspring (Lester and Adams, 1974). In contrast, Bychowsky (1957) and Jansen and Bakke (1991) found that the maximum number of offspring produced by other *Gyrodactylus* species was between 3 and 4.

The population growth rate, expressed by the innate capacity for increase (r_m), observed for *G. mexicanus* under laboratory conditions was positive over all temperature ranges (10–13, 19–22, and 24 C) tested in our experiments, with an optimum value of r_m

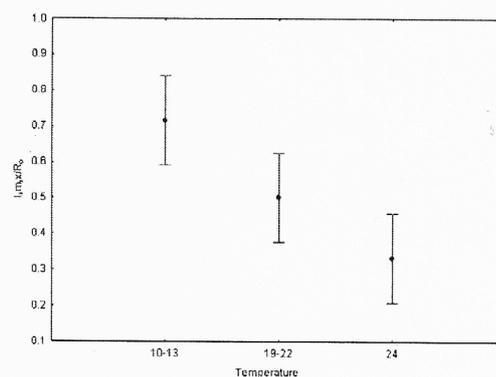


FIGURE 3. Generation time (G) of individually isolated *Gyrodactylus mexicanus* individuals on *Girardinichthys multiradiatus* in relation to temperature.

25

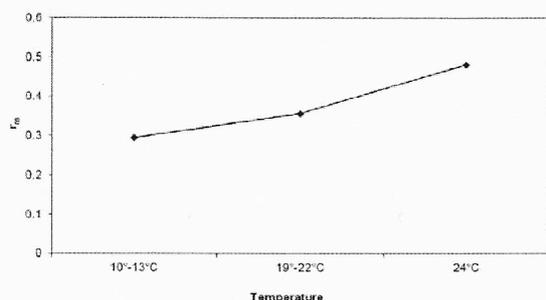


FIGURE 4. Innate capacity for increase (r_m) (parasite/day) for individually isolated *Gyrodactylus mexicanus* specimens on *Girardinichthys multiradiatus* in relation to temperature.

set at 24 C. The optimum population growth of *G. mexicanus* is similar to that described previously for *G. salaris*, which is a common parasite of Atlantic salmon (Jansen and Bakke, 1991).

The reproductive pattern of *G. mexicanus* was followed for at least 8 generations at the 3 temperatures tested. In other congeneric species, like *Gyrodactylus wagneri*, 8 generations were also examined (Bychowsky, 1957). For *G. alexanderi*, at least 20 generations were recorded on the three-spined stickleback fish (Lester and Adams, 1974). The number of generations observed for *G. mexicanus* in the current study at 3 temperatures was sufficient for interpreting this aspect of the population dynamics of the parasite under laboratory conditions, i.e., the generation time of *G. mexicanus* decreased with increasing water temperature.

Several field studies have shown that water temperature affects the population biology of gyrodactylids. In a habitat with constant temperature throughout the year, such as in the Neotropics, there are relatively stable infection levels (Bauer and Karimov, 1990). In contrast, in the Nearctic region, marked seasonal variations in water temperature are known to impact the population biology of *G. salaris* and *Gyrodactylus callariatis*, respectively (see Appleby, 1996; Appleby and Mo, 1997). It has been proposed that the number of gyrodactylids occurring in natural fish populations will increase at higher temperatures (Harris, 1980). However, the presence of only a small number of parasites in a host population does not necessarily mean that the temperature alone affects parasite growth. More specifically, fish have a body temperature that is essentially the same as that of the surrounding water; their entire physiology, including immune functions, is influenced by environmental temperature (King et al., 2009). Upper and lower temperature limits of the immune response are closely related to the ecological temperature range of each piscine species (O'Neill, 1980; Rijkers et al., 1980).

Other biotic factors, such as the host's reproductive behavior, may also play a crucial role in the transmission of *G. mexicanus*. The most efficient mode of gyrodactylid transmission occurs by direct contact between live hosts (Bychowsky, 1957; Scott and Anderson, 1984; Kamiso and Olson, 1986; Bakke et al., 1992). Reproductive behavior of the host, *Girardinichthys multiradiatus* (involving close contact between male and female), is displayed during the months when the water temperature ranges between 15 to 19 C (Díaz-Pardo and Ortiz-Jimenez, 1986; Macías, 1994). This reproductive behavior should enhance the transmission of *G. mexicanus* among hosts when the water temperature is high.

The current study represents the first attempt to describe the population biology of the monogenoid *G. mexicanus* associated with an endemic goodeid fish, *G. multiradiatus*, in central Mexico. Our investigation of the population dynamics of this monogenoid could be used as a predictive model to better understand the population dynamics of other monogeneans in central Mexico.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), project 2004-C01-47339/A-1 to GSM, and CONACyT scholarship 167291. Special thanks go to Lucio and Carlos Mendoza Palmero for their assistance in the field and laboratory. Ana Lucía Sereno Uribe thanks the Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. This paper forms part of the Ph.D. dissertation of the first author.

LITERATURE CITED

- ANDERSEN, P. S., AND K. BUCHMANN. 1998. Temperature dependent population growth of *Gyrodactylus derjavini* on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Helminthology* **72**: 9–14.
- APPLEBY, C. 1996. Variability of the opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus callariatis* Malberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) from Atlantic cod *Gadus morhua* L. in the Oslo Fjord, Norway. *Systematic Parasitology* **33**: 199–207.
- , AND T. A. MO. 1997. Population dynamics of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) infecting Atlantic salmon, *Salmo salar*, Parr in the River Batnfjordselva, Norway. *Journal of Parasitology* **83**: 23–30.
- BAKKE, T. A., P. D. HARRIS, P. A. JANSEN, AND L. P. HANSEN. 1992. Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans, with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Diseases Aquatic Organisms* **13**: 63–74.
- BAUER, O. N., AND S. B. KARIMOV. 1990. Patterns of parasitic infection of fishes in a water body with constant temperature. *Journal of Fish Biology* **36**: 1–8.
- BYCHOWSKY, B. E. 1957. Monogenetic trematodes, their systematic and phylogeny. Academy of Sciences, Moscow, USSR, 509 p. (English translation by W. J. Hargis and P. C. Oustinoff. 1961. American Institute of Biological Sciences, Washington, D.C., 300 p.)
- CABLE, J., AND P. D. HARRIS. 2002. Gyrodactylid developmental biology: Historical review, current status and future trends. *International Journal for Parasitology* **32**: 255–280.
- DÍAZ-PARDO, E., AND D. ORTIZ-JIMENEZ. 1986. Reproducción y ontogenia de *Girardinichthys viviparus* (Pisces: Goodeidae). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* **30**: 45–66.
- HARRIS, P. D. 1980. The effect of temperature on growth in the viviparous monogenean *Gyrodactylus*. *Parasitology* **81**: R26.
- JANSEN, P. A., AND T. A. BAKKE. 1991. Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Parasitology* **102**: 105–112.
- KAMISO, H. N., AND R. E. OLSON. 1986. Host-parasite relationships between *Gyrodactylus stellatus* (Monogenea: Gyrodactylidae) and *Parophrys vetulus* (Pleuronectidae - English sole) from the coastal waters of Oregon. *Journal of Parasitology* **72**: 125–129.
- KENNEDY, C. R. 1970. The population biology of helminths in British freshwater fish. *Symposia of the British Society for Parasitology* **8**: 145–157.
- . 1972. The effects of temperature and other factors upon the establishment and survival of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) in goldfish, *Carassius auratus*. *Parasitology* **62**: 283–294.
- . 1985. Population biology of parasites: Present state and perspectives. *Parasitologia* **19**: 347–356.
- . 1994. The ecology of introductions. In *Parasitic diseases of fish*, A. W. Pike and J. W. Lewis (eds.), Samara Publishing Ltd., Tresaith, Wales, p. 189–208.
- KING, T. A., C. VAN OOSTERHOUT, AND J. CABLE. 2009. Experimental infections with the tropical monogenean, *Gyrodactylus bullatarudis*: Potential invader or experimental fluke? *Parasitology International* **58**: 249–254.

- KREBS, C. J. 1985. Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance, 6th ed. Harper and Row, New York, New York, 655 p.
- LESTER, R. J. G., AND J. R. ADAMS. 1974. *Gyrodactylus alexanderi*: Reproduction, mortality, and effect in its host *Gasterosteus aculeatus*. Canadian Journal of Zoology **52**: 827–833.
- MACIAS, G. C. 1994. Social behavior and operational sex ratios in the viviparous fish *Girardinichthys multiradiatus*. Copeia **4**: 919–925.
- MALMBERG, G. 1973. *Gyrodactylus* infestations on species of *Salmo* in Danish and Swedish hatcheries. Norwegian Journal of Zoology **21**: 325–326.
- MENDOZA-FRANCO, E. F., T. SCHOLZ, C. VIVAS-RODRÍGUEZ, AND J. VARGAS-VÁZQUEZ. 1999. Monogeneans of freshwater fishes from cenotes (sinkholes) of the Yucatan Peninsula, Mexico. Folia Parasitologica **46**: 267–273.
- MENDOZA-PALMERO, C. A., H. ESPINOSA-PÉREZ, AND G. SALGADO-MALDONADO. 2007. Helminths parásitos de peces dulceacuícolas. Guía Ilustrada de La Cantera Oriente: Caracterización ambiental e inventario biológico, In Coordinación de la Investigación Científica, A. Lot (ed.), Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Angel de Ciudad Universitaria, UNAM, Mexico City, D.F., p. 179–191.
- , A. L. SERENO-URIBE, AND G. SALGADO-MALDONADO. 2009. Two new species of *Gyrodactylus* Von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) parasitizing *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), an endemic freshwater fish from Central Mexico. Journal of Parasitology **95**: 315–318.
- O'NEILL, J. 1980. Temperature and the primary and secondary immune response to MS2 bacteriophage in *Salmo trutta*, *Cyprinus carpio* and *Notothenia rossii*. In Phylogeny of immunological memory, M. J. Manning (ed.), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, Holland, p. 123–127.
- RUKERS, G. T., E. M. FREDERIX-WOLTERS, AND W. B. VAN MUISWINKEL. 1980. The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). Immunology **41**: 91–97.
- ROBERTSEN, G., K. OLSTAD, L. PLAISANCE, L. BACHMANN, AND T. A. BAKKE. 2008. *Gyrodactylus salaris* (Monogenea, Gyrodactylidae) infections on resident Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in southern Norway. Environmental Biology of Fishes **83**: 99–105.
- RUBIO-GODOY, M., G. PALADINI, A. GARCÍA-VÁSQUEZ, AND A. P. SHINN. 2010. *Gyrodactylus jarocho* sp. nov. and *G. xalapensis* sp. nov. (Platyhelminthes: Monogenea) from Mexican poeciliids (Teleostei: Cyprinodontiformes), with comments on the known gyrodactylid fauna infecting poeciliid fish. Zootaxa **2509**: 1–29.
- SALGADO-MALDONADO, G., G. CABAÑAS-CARRANZA, E. SOTO-GALERA, J. M. CASPETA-MANDUJADO, R. G. MORENO-NAVARRETE, P. SANCHEZ-NAVA, AND R. AGUILAR-AGUILAR. 2001. A checklist of helminth parasites of freshwater fishes from the Lerma-Santiago River Basin, México. Comparative Parasitology **68**: 204–218.
- SCOTT, M. E., AND R. M. ANDERSON. 1984. The population dynamics of *Gyrodactylus bullataradis* (Monogenea) within laboratory populations of the fish host *Poecilia reticulata*. Parasitology **89**: 159–194.

DISCUSION

La mayoría de las investigaciones que arrojan datos de cambios poblacionales en relación a la estacionalidad se han obtenido de helmintos parásitos de peces de ambientes templados, donde las estaciones del año y las temperaturas son muy diferentes entre sí (Harris et al., 1994). En las zonas tropicales, más que estaciones del año se presentan épocas de lluvias, secas y nortes, por lo que el cambio en las poblaciones de helmintos parásitos tropicales parece estar relacionado con la precipitación, es decir, la dinámica lacustre, que a su vez trae como consecuencia cambios en la temperatura. Los cambios estructurales y químicos en los lagos, presentan una relación directa con la precipitación, observándose ciclos en la estratificación y las fluctuaciones de su volumen (Tinsley and Jackson 2002).

Los resultados generados en la presente tesis indican que la temperatura del agua tiene una influencia en los parámetros poblacionales de *Gyrodactylus mexicanus*. Las condiciones ambientales afectan la transmisión de los parásitos, el nivel de parasitismo y la dinámica del sistema parásito-hospedero, con el incremento de la temperatura aumenta la infección y las tasas reproductivas de los parásitos. Así la supervivencia promedio de *G. mexicanus* está relacionada con la temperatura observándose un valor máximo de 17 días (13°C). El número de nacimientos por parásito fue como máximo de dos y no mostró relación con la temperatura. El tiempo generacional decrece con el aumento de la temperatura y la población podría triplicarse cada tres días a rangos de temperatura bajas, cuadruplicándose a temperatura medias, lo cual constituye una tasa de crecimiento considerablemente acelerada. Estos

resultados son similares a los previamente reportados para otras especies de *Gyrodactylus* que presentan también tasas de crecimiento altas (Lester y Adams, 1973; Harris et al., 2004). Estos resultados proveen elementos importantes para entender por que estas especies de monogéneos pueden llegar a constituir epizootias en peces (Harris et al., 1994). En este caso, el alto potencial reproductivo de *G. mexicanus* en conjunto con la supervivencia, la viviparidad y la simplicidad del ciclo de vida explica su gran capacidad de crecimiento poblacional.

La relación observada en el presente estudio, entre la temperatura y los cambios en las tasas de natalidad y mortalidad de helmintos parásitos de peces se ha comprobado por varios autores (Lester y Adams, 1973; Appleby y Mo, 1997), sin embargo, si las variaciones poblacionales son el resultado de cambios en la temperatura, estas variaciones están asociadas al hábitat específicos y no a especies, por lo que es necesario investigar los ambientes por separado.

La alta sensibilidad que presentan estos monogéneos a las condiciones ambientales (temperatura), como lo han sugerido Jansen y Bakke (1991), debe dar como resultado que los cambios ambientales, producto de las estaciones del año, funcionen como mecanismos importantes de regulación del tamaño poblacional. En el presente estudio se muestra que hay una relación entre la temperatura y la precipitación con la prevalencia y la abundancia de *G. mexicanus* y por lo tanto con su transmisión. Se han documentado 4 rutas de transmisión de monogéneos descritas por Bakke et al., (1991), 1) El contacto entre peces infectados vivos; 2) Contacto con monogéneos libres en el sustrato; 3) Contacto con peces infectados muertos y 4) Contacto con

monogéneos flotando en el agua; siendo el contacto directo el proceso de transmisión mas aceptado para *Gyrodactylus* spp., (Soleng et al., 1999). Por tanto, los procesos de transmisión en *G. mexicanus* están relacionados con los hábitos reproductivos de sus hospederos.

Se observa que los ciclos de maduración de los parásitos están conectados con factores como la temperatura del agua, la maduración y las variaciones estacionales de los niveles endocrinos de los hospederos (Blazer et al., 2008).

Se ha propuesto que el tipo de periodicidad puede servir como un mecanismo regulatorio previniendo infecciones masivas en hospederos intermediarios y que al final controlaran el tamaño de la población de parásitos en el hospedero definitivo (Appleby, 1996).

Los datos generados en el proyecto indican que el ciclo reproductivo de los hospederos es otro factor que se ha asociado con la periodicidad de los parásitos, pues se ha observado que el comportamiento reproductivo de éstos puede facilitar la transmisión de algunos monogéneos (Tinsley and Jackson, 2002).

Las pocas estimaciones realizadas en la ictiofauna que habita las cuencas hidrográficas neotropicales indican que existen diferentes estrategias reproductivas tales como sincronización entre el desove y el comienzo de la época de lluvias, el desove en la época de sequía o desoves continuos a lo largo del año (Díaz-Pardo y Ortiz-Jimenez, 1986; Kramer, 1978). El principal período reproductivo de especies de peces neotropicales corresponde con el comienzo de la época de lluvias, observándose una ventaja adaptativa en esta época, por la disponibilidad de alimento para las larvas y juveniles (Díaz-Pardo

y Ortiz-Jiménez, 1986). Sin embargo, otros estudios en zonas neotropicales indican que la reproducción de algunas especies puede ocurrir en la época de sequía, en la época de lluvias o se puede extender a lo largo del año (Harris et al., 2004; Jansen y Bakke 1991).

Existen escasos estudios que profundicen en la biología de los godeidos, una de las especies que se ha estudiado intensamente es *Girardinichthys viviparus*, para el cual se menciona que los alevines nacen continuamente de los meses de Marzo a Octubre, observándose mayor número de nacimientos en Mayo y Junio (Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez, 1986). Esto sugiere que la época de cortejo (momento de contacto directo entre peces facilitándose la transmisión y de *Gyrodactylus*), se lleva a cabo antes de mayo, lo que coincide con los meses de temperatura media (12°C a 15°C), precipitación baja (0 a 50 mm) y alta prevalencia de *Gyrodactylus mexicanum*. Confirmando que la dinámica de las poblaciones de parásitos de peces se ve afectada por factores bióticos y abióticos, lo que produce que las poblaciones de helmintos presenten ciclos estacionales o periódicos.

En los últimos 50 años, la biología poblacional de parásitos ha sido una disciplina de investigación dinámica, generando importantes aportaciones en dos campos principales: 1) en la dinámica poblacional, importante en epidemiología, pues muestra valores predictivos; y 2) en estudios de campo, que han revelado algunos mecanismos denso-dependientes y denso-independientes que actúan como reguladores en la abundancia de los parásitos en el tiempo (Poulin, 1998).

Al realizar estudios de ecología poblacional de helmintos parásitos aporta las herramientas necesarias para poder controlar epizootias en sus

hospederos, pues el conocimiento de las variaciones de la distribución y prevalencia del parasitismo entre los hospederos, permite definir con un grado fundamental de seguridad, predicciones del comportamiento de las poblaciones de parásitos y de sus efectos en la vida de sus hospederos.

Las investigaciones a realizar en un futuro deben de tomar en cuenta que los parásitos tienen ciclos de vida complejos y tiempos generacionales largos. La mayoría de los estudios derivan de datos que provienen de una sola especie de hospedero, no incluyendo así, todos los estadios del ciclo de vida que ocurren en otro u otros hospederos (*Mendoza-Franco et al., 2001; 2003*). Este tipo de análisis aportan datos necesarios para comprender la dinámica de las poblaciones, que incluyen a todos los parásitos de una sola especie que pertenecen a una sola especie de hospedero (Kennedy, 1985).

Este trabajo aporta datos de la ecología poblacional de *G. mexicanus* de *G. multiradiatus*, los cuales son comparables con los datos disponibles para las zonas neárticas, pudiendo realizar comparaciones referentes a los factores que están influyendo de manera principal en reproducción y ocurrencia de dichas poblaciones.

CONCLUSIONES

1. Se registró a *G. mexicanus* parasitando a *G. multiradiatus* durante todo el año. Se observó que en las zonas tropicales, la temporalidad es el factor más importante en la presencia de los parásitos en los peces, y no es la estacionalidad, como sucede en zonas templadas.
2. Se observó un mayor número de parásitos en la época de secas.
3. Se conoció que el número máximo de descendientes de *G. mexicanus* es de dos y no está relacionado con los cambios de temperatura.
4. Se comprobó que a mayor temperatura incrementa la tasa de crecimiento poblacional de estos parásitos y disminuye su tiempo generacional.
5. El máximo número de días que vive *G. mexicanus* en condiciones experimentales es de 17 días

LITERATURA CITADA

Appleby, C. and T. A. Mo. 1997. Population Dynamics of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea) infecting Atlantic Salmon, *Salmo salar*, Parr in the river Batnfjordselva, Norway. *Journal of Parasitology*. 83: 23-30

Bakke T. A., Jansen P.A., Hansen L.P. 1991. Experimental transmission of *Gyrodactylus salaries* Malberg, 1957 (Platyhelminthes, Monogenea) from the atlantic salmon (*Salmon salar*) to the European eel (*Anguilla anguilla*). *Canadian Journal of Zoology* 69:733-737.

Bakke T.A., P.D. Harris, and J. Cable. 2002. Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Internacional Journal of Parasitology* 32: 281-308.

Brusca R. C. y Brusca G. J. 2003. Invertebrados. McGraw-Hill Interamericana. España. 1005pp.

Bush, A. O., K. D. Lafferty., K. M. Lotz and A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revised. *Journal of Parasitology* 65: 667-669.

Cable, J., Harris, P.D. and Tinsley, R.C. 1998. Life history specializations of

Monogenean flatworms: a review of experimental and microscopical studies. *Microscopy Research and Technique*, 42: 186-199.

Cable, J. and Harris, P.D. 2002. Gyrodactylid developmental biology: historical review, current status and future trends. *International Journal for Parasitology*, 32: 255-280.

Chubb, J. C. 1977. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fish. Part. I. Monogenea. *Advances in Parasitology*. 15: 133-199.

Davidova M., Jarkovsky J., Matejusova I., and Gelnar M. 2005. Seasonal occurrence and metrical variability of *Gyrodactylus rhodei* Zitnan 1964 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology Research* 95:398-405

De la Vega-Salazar, M. 2003. Factores Limnológicos y ecológicos asociados a la extinción de las especies de peces *Skiffia francesae* y *Zoogoneticus tequila*. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología UNAM.

Díaz-Pardo E. y D. Ortiz-Jimenez. 1986. Reproducción y ontogenia de *Girardinichthys viviparus* (Pisces: Goodeidae). *Anales de la Escuela Nacional de Ciencia*. 30: 45-66.

Díaz-Pardo, E. y Chávez-Toledo C. 1987. Resultados del estudio ictiológico de

la Cuenca Lerma Chapala, México. *Proceedings of the desert fishes*. Council XVI-XVII: 126-140.

Díaz-Pardo, E., M. A. Godínez-Rodríguez., E. López-López y E. Soto-Galera. 1993. Ecología de los peces de la Cuenca del Río Lerma, México. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*. 39:103-127.

Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2009. ¿La mesa central de México es una provincia biogeográfica? Análisis descriptivo basado en componentes bióticos dulceacuícolas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 80: 835- 852.

Dominguez-Dominguez, O., I. Doadrio and G. Perez-Ponce de Leon. 2006. Historical biogeography of some river basins in central Mexico evidence by their goodeine freshwater fish: a preliminary using a secondary Brooks parsimony analysis. *Journal of Biogeography*. 33: 1437-1447.

Ergens, R. 1969. The suitability of ammonium picrate-glycerin in preparing slides of lower monogenea. *Folia Parasitologica* 16:320.

Gesundheit, P. y C. Macías-García. 2005. Biogeografía cladística de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes). En Llorente-Bousquets, J. y J. J. Morrone (eds). Regionalización biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines. Las prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., pp. 319-338.

Harris, P.D. 1985. Observations on the development of the male reproductive system in *Gyrodactylus gasterostei* Gläser, 1974 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Parasitology*, 91: 519-529.

Harris, P.D. 1986. Species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea Gyrodactylidae) from poeciliids fishes, with a description of *G. turnbulli* sp. nov. from the guppy, *Poecilia reticulata* Peters. *Journal of Natural History*. 20: 183-191.

Harris, P.D. 1993. Interactions between reproduction and population biology in Gyrodactylid monogeneans- A review. *Bulletin Francais de la Peche Pisciculture*, 328: 47-65.

Harris, P.D., P.A. Jansen and T. A. Bakke. 1994. The population age structure and reproductive biology of *Gyrodactylus salaris* Malmberg (Monogenea). *Parasitology* 108: 167-173.

Harris, P. D., A. P. Shinn, J. Cable and T. Bakke. 2004. Nominal species of the genus *Gyrodactylus* von Nordmann 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae), with a list of principal host species. *Systematic Parasitology*, 59:1-27.

Huyse, T., Audenaert, V. and Volckaert, F.A.M. 2003. Speciation and host-parasite relationships in the parasite genus *Gyrodactylus* (Monogenea,

Platyhelminthes) infecting gobies of the genus *Pomatoschistus* (Gobiidae, Teleostei). *International Journal for Parasitology*. 33: 1679-1689.

Jansen P.A. and T.A. Bakke. 1991. Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Parasitology*, 102: 105-112.

Kearn G. C. 1994. Evolutionary Expansion of the Monogenea. *International Journal of Parasitology*. 24: 1227-1271.

Kennedy, C. R. 1985. Population biology of parasites: Present state and perspectives. *Parasitology*, 19:347-356.

Koskivaara, M., Valtonen, E. T. and Prost, M. 1991. Seasonal occurrence of gyrodactylids monogeneans on the roach (*Rutilus rutilus*) and variation between four lakes of differing water quality in Finland. *Aqua Fennica* 21: 47-55

Kramer, D.C 1978. Reproductive seasonality in the fishes of a tropical stream. *Ecology*. 59: 976-985.

Krebs, C. J. 1985. *Ecología: Estudio de la distribución y la abundancia*. Editorial Harla. 753pp.

Kritsky, D. C., E. F. Mendoza-Franco and T. Scholz. 2000. Neotropical Monogenoidea. 36. Dactylogyrids from the gills of *Rhamdia guatemalensis*

(Siluriformes: Pimelodidae) from cenotes of Yucatan Peninsula, Mexico, with proposal of *Ameloblastella* gen. n. and *Aphanoblastella* gen. n. (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae). *Comparative Parasitology* 67: 76-84.

Lester R. J. G. and J. R. Adams. 1974. *Gyrodactylus alexanderi*: reproduction, mortality, and effect in its host *Gasterosteus aculeatus*. *Canadian Journal of Zoology*. 52:827-833.

Macías-García, C. 1994. Sexual behaviour and operational sex ratios in the viviparous fish *Girardinichthys multiradiatus*. *Copeia* 919-925.

Malmberg, G. 1970. The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Arkiv for Zoologi* 23: 1-235.

Mendoza-Franco, E. F. and V. M. Vidal-Martínez. 2001. *Salsuginus neotropicalis* n. sp. (Monogenea: Ancyrocephalinae) from the pike killifish *Belonesox belizanus* (Atheriniformes: Poeciliidae) from southwestern Mexico. *Systematic Parasitology* 48: 41-45.

Mendoza-Franco, E. F., P. Posel and S. Dumailo. 2003. Monogeneans (Dactylogyridae: Ancyrocephalinae) of freshwater fishes from Caribbean coast of Nicaragua. *Comparative Parasitology* 70: 32-41.

Mendoza-Palmero C. A., A. L. Sereno-Uribe, G. Salgado-Maldonado. 2009. Two New Species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea: Gyrodactylidae) Parasitizing *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), an Endemic Freshwater Fish from Central Mexico. *Journal of Parasitology* 95(2): 315-318.

Miller, R. R. and M. L. Smith. 1986. Origin and geography of the fishes of central Mexico. In: Hocutt, C. H. and E. O. Wiley (eds). The Zoogeography of North American Freshwater Fishes. A Wiley-Interscience publication John Wiley and Sons. 866pp.

Mizelle, J.D. and D. C. Kritsky. 1967. Studies on monogenetic trematodes. XXXVI. Gyrodactylid parasites of importance to California fishes. *California Fish and Game*. 53: 264-272.

Overstreet, R. M. 1997. Parasitological data as monitors of environmental health. *Parasitologia*. 39:169-175.

Poulan, R. 1998. Evolutionary Ecology of Parasites. *Chapman and Hall, Great Britain*. 212pp.

Poulin, R. 1992. Determinants of host specificity in parasites of freshwater fishes. *International Journal of Parasitology*. 22:753-758.

Ramírez Cantú, D. y T. Herrera. 1954. Contribución al conocimiento de la vegetación de Lerma y sus alrededores. *Anales del Instituto de Biología de México*. 25: 65 - 95.

Ramírez R., Harris P. D, Bakke T. A. 2012. An agent-based modelling approach to estimate error in gyrodactylid population growth. *International Journal of Parasitology*. 42(9): 809-17.

Romero, R. H. 1965. Catálogo Sistemático de los peces del Alto Lerma con descripción de una nueva especie. *Anales Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*. 14 (1-4): 47-77.

Rubio-Godoy M., G. Muñoz-Córdoba, M. Garduño-Lugo, M. Salazar-Ulloa, G. Mercado-Vidal. 2012. Microhabitat use, not temperatura, regulates intensity of *Gyrodactylus cichlidarum* long term infection on farmed tilapia- Are parasites evading competition of immunity?. *Veterninary Parasitology* 183: 305-316.

Sanchez-Nava, P., G. Salgado Maldonado, E. Soto-Galera y B. Jaimes-Cruz 2004. Helmintos parasites of *Girardinichthys multiradiatus* (Pises: Goodeidae) in the upper Lerma River sub-basin, Mexico. *Parasitology Research*. 93: 396-402.

Soleng A., P.A. Cansen and T. A. Bakke. 1999. Transmission of the monogenean *Gyrodactylus salars*. *Folia Parasitol* 46: 179-184.

Soto-Galera, E., J. Poulou-Maya, E. López-López, J. A. Serna-hernandez, and J. Lyon. 1999. Changes of fish fauna as indicador of aquatic ecosystem condition in Rio Grye Morelia-lago de Cuitzeo basin, México. *Enverionemtal Management*. 24:133-140.

Stunkard H. W. 1924. A New Trematode, *Oculotrema hippopotami* n.g., n.sp, from the Eye of the Hippopotamus. *Parasitology*, 16: 436-440.

Tinsley R. C. and L. A. Jackson. 2002. Host factors limiting monogenean infections: a case study. *International Journal of Parasitology* 32: 353-365.

Vásquez-Gutiérrez, F. 1993. Desarrollo industrial de las cuencas en México. Curso de Limnología Aplicada. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. 34-39.

Webb, S. A. 1998. Aphilogentic análisis of the Goodeidae (Teleostei: Cyprinodontiformes) from the Ameca Drainage of Mexico and rediagnosis of the Genus. *Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan*. 725: 1-23.

Webb, S. A. and R. R. Miller, 1998. Zoogoneticus tequila a new Goodeid fish (Cyprinodontiformes) from the Ameca Drainage of Mexico, and rediagnosis of the Genus. *Occasional papers of the Museum of Zoology, University of Michigan*. 725: 1-23

Webb, S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil, and M. G. Ritchie. 2004. Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 527-544.

Whittington, I. 1998. Diversity “down under”: monogeneans in the Antipodes (Australia) with prediction of monogeneans biodiversity worldwide. *International Journal of Parasitology*. 28: 1481-149