



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Diferenciación morfológica y molecular de cuatro especies de tremátodos de la familia Haploporidae Nicoll, 1914 (Digenea) parásitos de peces dulceacuícolas de México y partes de América Central**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

P R E S E N T A

**LEOPOLDO ANDRADE GÓMEZ**

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. **CARLOS DANIEL PINACHO PINACHO**

**MÉXICO, D.F.**

**FEBRERO 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta	1. Datos del alumno Andrade Gómez Leopoldo 55 27 52 99 62 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 307012052
2. Datos del tutor Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del tutor M. en C. Carlos Daniel Pinacho Pinacho
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del sinodal 1 Dr. Gerardo Pérez Ponce de León
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	4. Datos del sinodal 2 Dr. José Martín García Varela
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	5. Datos del sinodal 3 Dr. Alejandro Francisco Oceguera Figuroa
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre (s) Apellido paterno Apellido materno	6. Datos del sinodal 4 Dra. Ana Lucía Serenó Uribe
7. Datos del trabajo escrito Título          Número de páginas Año	7. Datos del trabajo escrito Diferenciación morfológica y molecular de cuatro especies de tremátodos de la familia Haploporidae Nicoll, 1914 (Digenea) parásitos de peces dulceacuícolas de México y partes de América Central 101 2015

## **Agradecimientos.**

A la UNAM por estos 8 años de alojamiento académico.

Al proyecto de investigación financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) 179048 y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN207213.

Al M. en C. y pronto Dr. Pinacho-Pinacho (TUTOR TUTOR, tutor estrella) por todo lo que me enseñó desde la morfología y molecular de estos animales, por todo el tiempo brindado, por todas las revisiones, por las risas, en general por su amistad.

Al Dr. García-Varela por permitirme trabajar con usted, por la bienvenida en su laboratorio, por sus consejos, por todos los viajes de colecta realizados, por su apoyo en todos los aspectos, y por su amistad brindada. Recuerde que seguiremos en Gol Televisión.

A la Dra. Sereno-Urbe sin usted no sabría dónde estaría en estos momentos. Muchas gracias por habernos invitado (Lalito y a mí) a formar parte de este increíble grupo de trabajo.

Al Dr. Pérez-Ponce de León, gracias por los consejos, comentarios y apoyo durante la creación de este proyecto.

Al Dr. Ocegüera-Figueroa por sus consejos y opiniones en la tesis; además de todos sus cantos ofrecidos.

Al Dr. Hernández-Orts por los comentarios brindados, por sus enseñanzas en este grupo.

Al M. en C. Luis García muchas gracias por el préstamo de los ejemplares para poder hacer las revisiones y por la ayuda de la bibliografía.

Al Dr. Violante-González por sus comentarios y por los ejemplares donados.

A los valedores del laboratorio:

Lalito... *Valedors!* Saca las carnitas.

Ale... *Valedora* Hay que continuar salseando.

Carla... *Solecito* ya no hiperventiles tanto.

Gracias por la ayuda de colecta en el campo, por las risas en el laboratorio.

“GRACIAS TOTALES”

**Dedicatoria.**

**OHANA**

**En Memoria de...**

**Mi tía Rosita**

**Spoty (Mi Sopita)**

Y aquí viene  
al que a todos entretiene...

## ÍNDICE

	Página
<b>ÍNDICE</b> .....	4
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	6
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	7
<b>RESUMEN</b> .....	8
<b>I.INTRODUCCIÓN</b> .....	10
I.I. Características generales de los Platelminfos.....	10
I.II. Diversidad de Platelminfos en México. ....	10
I.III. Familia Haploporidae Nicoll, 1914. ....	11
I.IV. Características generales e historia del género <i>Saccocoeloides</i> Szidat 1954. ....	13
I.V. Ciclo de Vida de <i>Saccocoeloides</i> : un caso particular de <i>S.</i> <i>tarpaensis</i> Díaz y González 1990. ....	17
I.VI. Registros de digeneos de la familia Haploporidae en México. ....	19
I.VII. Diferencias morfológicas de las especies del género <i>Saccocoeloides</i> y <i>Culuwiya cichlidorum</i> distribuidas en México..	21
I.VIII. Utilización de secuencias de DNA.....	23
I.IX. DNA Ribosomal.....	24
I.X. Filogenias moleculares de la familia Haploporidae.....	25
<b>II.OBJETIVOS</b> .....	27
II.I. Objetivo general. ....	27
II.II. Objetivos particulares. ....	27
<b>III.MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	28
III.I. Colecta de los huéspedes. ....	28
III.II. Examen helmintológico. ....	32
III.III. Caracterización morfológica. ....	32
III.IV. Caracterización molecular. ....	32
III.V. Alineamiento múltiple, análisis filogenéticos y distancias genéticas. ....	34
<b>IV.RESULTADOS</b> .....	38
IV.I. Colecta de material helmintológico. ....	38
IV.II. Clasificación taxonómica, caracterización morfológica y distribución geográfica para cada especie. ....	40
IV.III. <i>Saccocoeloides lamothei</i> Aguirre Macedo y Violante- González 2008.....	40
IV.IV. <i>Saccocoeloides chauhani</i> Lamothe Argumedo 1974.....	49
IV.V. <i>Saccocoeloides tarpaensis</i> Díaz y González 1990.....	52
IV.VI. <i>Culuwiya cichlidorum</i> Aguirre-Macedo y Scholz 2005.....	60
IV.VII. <i>Saccocoeloides</i> sp. ....	70
IV.VIII. Análisis molecular. ....	73
IV.IX. Alineamiento de las secuencias.....	73
IV.X. Análisis filogenético. ....	74
IV.XI. Distancias genéticas. ....	78
<b>V.DISCUSIÓN</b> .....	79
V.I. Caracterización morfológica. ....	79
V.II. Caracterización molecular. ....	83

V.II.I. Relaciones del género <i>Saccocoelioides</i> .....	83
<b>VI. CONCLUSIONES.</b> .....	85
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	86
<b>ANEXO I. Especies y distribución de Haploporidos en México</b> .....	99

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Esquema general de la anatomía de un <i>Saccocoelioides</i> (A) y del saco hermafrodita (B). .....	14
Fig. 2. Ciclo de vida de <i>Saccocoelioides tarpazensis</i> (Modificado de Díaz y González 1990) .....	18
Fig. 3. Unidad de transcripción de DNA ribosomal en Eucariontes que incluye las regiones: espaciadores no transcritos (NTS), espaciadores transcritos internos (ITS1, ITS2) y los genes 18S, 5.8S y 28S. ....	25
Fig. 4. Hipótesis filogenética que muestra las relaciones filogenéticas de la familia Haploporidae obtenida por Inferencia Bayesiana con datos del gen 28S rDNA (Tomado de Blasco-Costa <i>et al.</i> 2009). ....	26
Fig. 5. Mapa de las localidades de muestreo en este estudio, números de las localidades corresponden con la tabla 3. ....	29
Fig. 6. Morfos de la especie <i>Saccocoelioides lamothei</i> . ....	48
Fig. 7. <i>Saccocoelioides chauhani</i> . ....	51
Fig. 8. Morfos de la especie <i>Saccocoelioides tarpazensis</i> . ....	59
Fig. 9. Morfos de <i>Culuwiya cichlidorum</i> . ....	69
Fig. 10. <i>Saccocoelioides</i> sp. ....	72
Fig. 11. Hipótesis filogenética derivada del análisis concatenado (ITS2+28S) usando el método de Máxima Verosimilitud (Likelihood: -9905.532839). Los números cercanos a los nodos internos muestran los valores de ML bootstrap y probabilidades posteriores (PP).. ....	75
Fig. 12. Hipótesis filogenética obtenida del gen 28S con el método de Máxima Verosimilitud (Likelihood: -8986.678138). Los números cercanos a los nodos internos muestran los valores de ML bootstrap y probabilidades posteriores (PP). ....	76
Fig. 13. Hipótesis filogenética obtenida del gen ITS2 con el método de Máxima Verosimilitud (Likelihood: -3157.574271). Los números cercanos a los nodos internos muestran los valores de ML bootstrap y probabilidades posteriores (PP). ....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Especies de <i>Saccocoelioides</i> válidas, huéspedes y su distribución geográfica .....	16
Tabla 2. Diferencias morfológicas entre tres especies de <i>Saccocoelioides</i> y <i>Culuwiya cichlidorum</i> registradas para México (Aguirre-Macedo y Violante-González 2008; Aguirre-Macedo y Scholz 2005).....	22
Tabla 3. Tabla de localidades, especies de huéspedes colectados, coordenadas geográficas, aislados de DNA.....	30
Tabla 4. Números de accesos del gen 28S e ITS2 obtenidas del GenBank.....	35
Tabla 5. Especies de parásitos, sus diferentes morfos, huéspedes, y localidades de colecta. ....	39
Tabla 6. Medidas comparativas de los morfos de <i>Saccocoelioides lamothei</i> Aguirre-Macedo y Violante-González 2008, caracterizadas en este trabajo.....	45
Tabla 7. Medidas comparativas entre los morfos de <i>Saccocoelioides tarpazensis</i> Díaz y González 1990 descritas en este trabajo.....	56
Tabla 8. Medidas comparativas entre las morfos de <i>Culuwiya cichlidorum</i> Aguirre-Macedo y Scholz 2005 descritas en este trabajo .....	66
Tabla 9. Distancias genéticas intra e interespecíficas de <i>Saccocoelioides</i> y <i>Culuwiya</i> expresadas en porcentaje.....	78

## RESUMEN

En el presente trabajo se realizó la caracterización morfológica y molecular de cuatro especies de tremátodos de la familia Haploporidae en México y algunos sitios de América Central. Para estudiar la variación morfológica; se colectaron diferentes huéspedes de familias de peces de la familia: Eleotridae, Characidae, Profundulidae, Poeciliidae, Gobiidae, y Cichlidae de 11 localidades de México, 3 de Costa Rica y una de Venezuela. En la parte morfológica se realizaron mediciones y dibujos de los ejemplares de las diferentes localidades y en el estudio parte molecular se obtuvieron 77 secuencias del gen 28S y 67 secuencias del espaciador transcrito interno (ITS2), y se analizaron junto con secuencias publicadas de la familia Haploporidae y de otras familias relacionadas (Paragonimidae y Atractotrematidae). Los análisis filogenéticos revelaron que existen 4 especies de *Saccocoelioides*: *Saccocoelioides lamothei*, *Saccocoelioides chauhani*, *Saccocoelioides tarpazensis*, *Saccocoelioides* sp., y se propone que la especie *Culuwiya cichlidorum* pertenece al género *Saccocoelioides*. Con respecto a la información morfológica encontramos 4 morfos para *Saccocoelioides lamothei* variando conforme al huésped que parasiten (Eleotridae, Poeciliidae, y Gobiidae) encontrándose con una distribución hacia las vertientes del Océano Pacífico. La especie *Saccocoelioides chauhani* es específica de *Astyanax aeneus* y se localiza solamente en el Lago de Catemaco, Veracruz. *Saccocoelioides* sp. es una especie que parasita a los peces de *Dormitator maculatus* (Eleotridae) y *Gambusia yucatanana* (Poeciliidae) de las vertientes del Golfo de México; *S. tarpazensis* presenta 2 morfos y se distribuye en Isla Margarita y Tarpaz, Venezuela y Catemaco, Veracruz; y finalmente dentro de la especie *Culuwiya*

*cichlidorum* se encontraron 3 morfos y son parásitos de especies de la familia Cichlidae y Poeciliidae la cual requiere de un rearrreglo taxonómico. Esta amplia variación morfológica intraespecífica dentro de las especies del género *Saccocoeloides* podría estar relacionada con factores ecológicos como el tipo de huésped al cual parasitan.

## **I.INTRODUCCIÓN.**

### **I.I. Características generales de los Platelmintos.**

Los Platelmintos o gusanos planos se caracterizan por ser, aplanados dorsoventralmente, con simetría bilateral, acelomados, y mayormente hermafroditas. Existen especies de vida libre (Turbellaria) y especies parásito pertenecientes a Neodermata, su tamaño oscila entre micrones (algunos monogéneos y tremátodos) hasta casi 30 metros en algunos céstodos (García-Prieto *et al.* 2014). Los tremátodos presentan por lo general, un cuerpo foliáceo provisto de una ventosa anterior que rodea a la boca y por lo general de una ventosa ventral denominada acétabulo (Roberts y Janovy 2005).

### **I.II. Diversidad de Platelmintos en México.**

Los Platelmintos representan el grupo de helmintos con mayor riqueza de especies en vertebrados silvestres de México (Pérez-Ponce de León *et al.* 2011). Hasta la fecha se han registrado 1,015 especies de Platelmintos: 544 de tremátodos, 269 de monogéneos y 202 de céstodos que representan el 7.4% de la diversidad mundial de este grupo estimada en 13,570 especies (Hugot *et al.* 2001). Los peces actinopterigios son el grupo de huéspedes que contiene el mayor número de Platelmintos con 589 de las 1,015 especies totales; esto se debe a que es el grupo más extensamente estudiado; sin embargo, contrasta con el hecho de que es el grupo con el valor promedio más bajo (0.7%) especie parásita/especie huésped. En aves es del 10.4% y para los elasmobranquios 37.4% (García-Prieto *et al.* 2014).

Existen registros de Platelminos en todos los estados de la República Mexicana, pero es el sur y sureste donde se encuentran la mayor cantidad de registros. Por otro lado el endemismo presente de este grupo en México es difícil de establecer, debido a que no existen estudios comparativos en otras regiones del Continente Americano (García-Prieto *et al.* 2014), por lo que se desconoce la distribución geográfica completa de una gran parte de las especies de Platelminos, en particular en la región Neotropical. No obstante, el elevado número de especies nuevas descritas a partir de huéspedes con distribución en México (185 tremátodos, 131 monogéneos y 75 céstodos, que representan el 38.6% del total conocido), permite suponer un nivel de endemismo relativamente elevado para el grupo (García-Prieto *et al.* 2014).

### **I.III. Familia Haploporidae Nicoll, 1914.**

En general los parásitos de la familia Haploporidae tienen características propias de un digeneo como son: tegumento cubierto por espinas, las cuales son generalmente cortas, una ventosa oral que se encuentra en la parte anterior del cuerpo la cual puede ser terminal o subterminal, un acetábulo localizado en la parte ecuatorial o anterior del cuerpo, presenta una faringe, prefaringe y un esófago, ciegos intestinales que pueden ser simples o bifurcados. La mayoría de las especies de la familia Haploporidae poseen un solo testículo, aunque algunas pueden presentar dos; presentan una vesícula seminal externa, la cual se une a una vesícula seminal interna ubicada dentro del saco hermafrodita; poseen un poro genital que se encuentra en la parte anterior, cerca del acetábulo; el ovario es pretesticular y presentan el canal de Laurer, en algunos casos presenta receptáculo seminal. Los huevos son

operculados; los miracidios pueden presentar una mancha ocular; las cercarias en la mayoría de las especies, presentan una mancha ocular. Las glándulas vitelógenas varían en forma y posición dependiendo de cada subfamilia, así como la distribución del útero. Pueden presentar sistema linfático. La vesícula excretora puede tener forma de Y-; I- o V (Overstreet y Curran 2005).

Las especies de tremátodos que conforman la familia Haploporidae Nicoll, 1914 se caracterizan por presentar un saco hermafrodita (Yamaguti 1971) el cual encierra un ducto hermafrodita de longitud variable, una pars prostática, una vesícula seminal interna, y la porción terminal del útero (metratermo) característica principal de la familia (Overstreet y Curran 2005) (Fig. 1B). Los parásitos de esta familia tienen una distribución cosmopolita, encontrándose en el intestino y rara vez en el estómago de peces marinos, estuarinos, y dulceacuícolas (Overstreet y Curran 2005).

La familia Haploporidae Nicoll 1914 se ha subdivido en varias ocasiones, actualmente se reconocen cinco subfamilias: Haploporinae Nicoll 1914, Chalcinotrematinae Overstreet y Curran 2005, Megasoleninae Manter 1935, Waretrematinae Srivastava 1937 y Forticulcitinae Blasco-Costa, Balbuena, Kostadinova y Olson 2009 (Overstreet y Curran 2005; Blasco-Costa *et al.* 2009). La subfamilia Haploporinae y Waretrematinae se restringen a peces de la familia Mugilidae. La subfamilia Megasoleninae infecta peces marinos de la familia Scaptophagidae, Ambassidae, Monocanthidae, Kyphosidae, Scaridae (Overstreet y Curran 2005). Los miembros de la subfamilia Chalcinotrematinae parasitan principalmente a peces de agua dulce en América de la familia Anostomidae, Characidae, Cichlidae, Prochilodontidae, Curimatidae,

Serralsamidae, Loricariidae, Eleotridae y Poeciliidae. Finalmente la subfamilia Forticulcitinae tiene una distribución en el mar Mediterráneo encontrándose en peces de la familia Mugilidae (Blasco-Costa *et al.* 2009).

#### **I.IV. Características generales e historia del género *Saccocoelioides* Szidat 1954.**

El género *Saccocoelioides* Szidat 1954, se ubica dentro de la subfamilia Chalcinotrematinae Overstreet y Curran 2005. Esta subfamilia se compone de cuatro géneros más: *Unicoelium* Thatcher y Dossman 1975, *Megacoelium* Szidat, 1954, *Paralecithobotrys* Freitas, 1948 y *Chalcinotrema* Freitas, 1947. Las especies del género *Saccocoelioides* se caracterizan por tener un cuerpo fusiforme o elongado, la ventosa oral puede ser terminal o subterminal, el acetábulo en la parte media o ligeramente en la parte anterior del cuerpo, una prefaringe corta o ausente; esófago más largo que la faringe; ciegos en forma de saco o cilíndricos; saco hermafrodita en forma elipsoidal; ovario está cercano al testículo en especies pequeñas (300-800  $\mu\text{m}$ ), y lejano en especies grandes (800-2000  $\mu\text{m}$ ). El útero se distribuye entre el esófago y la parte posterior del testículo. Los huevos cuando se desarrollan presentan miracidio, éstos usualmente exhiben manchas oculares. Las glándulas vitelógenas están a los costados del cuerpo desde las gónadas hasta la parte terminal del cuerpo (Fig. 1A-B) (Overstreet y Curran 2005).

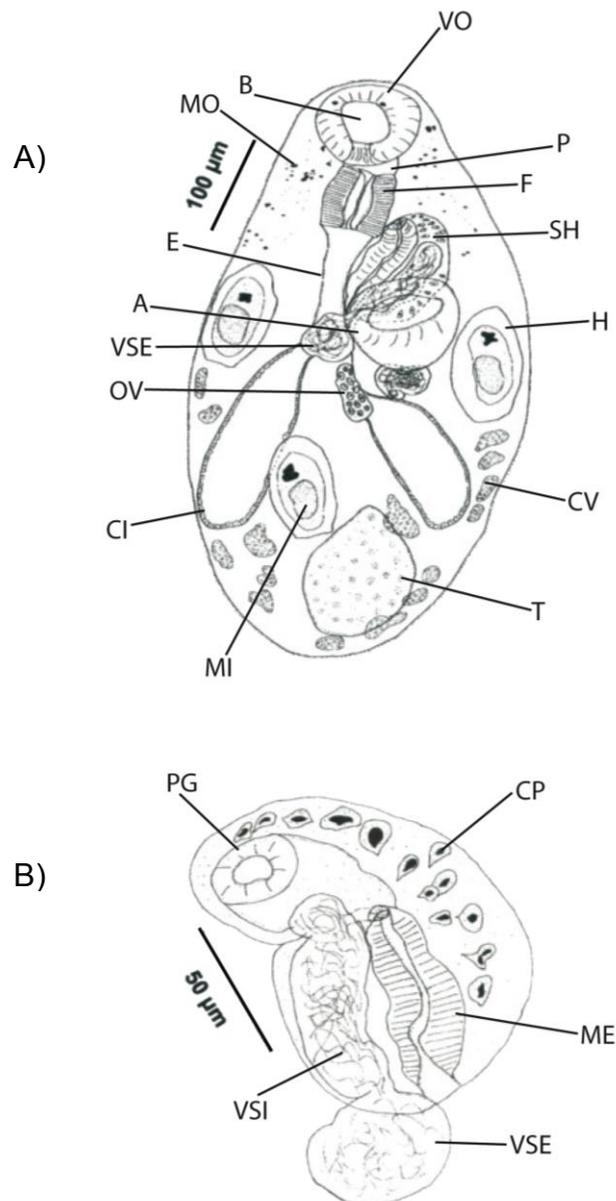


Fig. 1. Esquema general de la anatomía de *Saccocoelioides lamothei* (A) y del saco hermafrodita (B). Abreviatura: ventosa oral (VO), boca (B), manchas oculares (MO), prefaringe (P), faringe (F), saco hermafrodita (SH), esófago (E), acetábulo (A), huevo (H), vesícula seminal externa (VSE), ovario (OV), ciegos intestinales (CI), glándulas vitelógenas (CV), testículo (T), miracidio (MI), poro genital (PG), células prostáticas (CP), vesícula seminal interna (VSI), metratermo (ME), vesícula seminal externa (VSE) (tomado y modificado de Aguirre-Macedo y Violante-González 2008).

Szidat (1954) erigió el género con cuatro especies parásitos de peces dulceacuícolas de Argentina, las cuales son: *Saccocoelioides nanii*, *Saccocoelioides elongatus*, *Saccocoelioides magniovatus* y *Saccocoelioides magnus* y tres que solo nombró como *Saccocoelioides* sp. 5, *Saccocoelioides* sp. 6 y *Saccocoelioides* sp. 7. Yamaguti (1958) sugirió que el género podría ser un subgénero de *Lecithobotrys*. Posteriormente Lumsden (1963) describió una nueva especie denominada *Saccocoelioides sogandaresi*, en Texas, Estados Unidos, del intestino del pez *Poecilia latipinna* siendo ésta la primera especie para Norteamérica. Travassos *et al.* (1969) consideraron que el género debería de ser válido describiendo una nueva especie *Saccocoelioides szidati* (denominada *Saccocoelioides* sp. 6 en Szidat 1954). Años más tarde se describieron *Saccocoelioides octavus* y *Saccocoelioides bacilliformis* de peces del género *Astyanax* de Sudamérica (Szidat 1970, 1973). La controversia sobre la validez del género, la descripción de nuevas especies y la sinonimia de muchas especies fue continua entre las décadas de 1970-1990 (ver Yamaguti 1971; Overstreet 1971; Martin 1973; Lamothe-Argumedo 1974; Nasir y Gómez 1976; Thatcher 1978; Madhavi 1979; Lunaschi 1984; Kohn 1985; Kohn y Miranda 1986; Bargiela 1987; Díaz y González 1990; Thatcher y Jegu 1996; Dyer *et al.* 1999). Así por ejemplo en años más recientes se consideró que *S. octavus* y *S. bacilliformis*, especies descritas por Szidat (1970,1973) podrían ser especies sinónimas (Lunaschi 2002). El mayor cambio y rearreglo taxonómico de la familia Haploporidae incluyendo el género *Saccocoelioides* fue realizada por Overstreet y Curran (2005). Estos investigadores validaron 15 especies del género *Saccocoelioides* distribuidas en Centro y Sudamérica y solo a *Saccocoelioides sogandaresi* para Norteamérica (Tabla 1). En esta

misma revisión se erigió un nuevo género denominado *Culuwiya* donde se transfirieron cinco especies previamente asignadas al género *Saccocoelioides* (*Culuwiya tilapiae*, *Culuwiya beauforti*, *Culuwiya overstreeti*, *Culuwiya papernai* y *Culuwiya agonostomus*). En el mismo año Aguirre-Macedo y Scholz (2005) describieron a *Culuwiya cichlidorum* como parásito de cíclidos del sureste de México y Centroamérica. Posteriormente Aguirre-Macedo y Violante-González (2008) describieron la especie *Saccocoelioides lamothei* del pez estuarino *Dormitator latifrons* en el pacífico de México.

Tabla 1. Especies de *Saccocoelioides* válidas, huéspedes y su distribución geográfica.

<b>Especie</b>	<b>Huésped</b>	<b>Autor</b>	<b>Localidad Tipo</b>
<i>S. nanii</i> (especie tipo)	<i>Prochilodus lineatus</i>	Szidat 1954	Argentina
<i>S. elongatus</i>	<i>Prochilodus platensis</i>	Szidat 1954	Argentina
<i>S. magniovatus</i>	<i>Leoporinus obtusidens</i>	Szidat 1954	Argentina
<i>S. magnus</i>	<i>Curimata platana</i>	Szidat 1954	Argentina
<i>S. quintus</i>	<i>Loricaria anus</i>	Szidat (Thatcher) 1954 (1978)	Argentina
<i>S. szidati</i>	<i>Schizodon fasciatus</i>	Szidat (Travossas <i>et al.</i> ) 1954 (1969)	Argentina
<i>S. sogandaresi</i>	<i>Poecilia latipinna</i>	Lumsden 1963	Estados Unidos
<i>S. octavus</i>	<i>Astyanax fasciatus</i>	Szidat 1970	Argentina
<i>S. chauhani</i>	<i>Astyanax fasciatus</i>	Lamothe-Argumedo 1974	México
<i>S. magnorchis</i>	<i>Saccodon cauae</i>	Thatcher 1978	Colombia
<i>S. saccodontis</i>	<i>Saccodon cauae</i>	Thatcher 1978	Colombia
<i>S. carolae</i>	<i>Cichlasoma facetum</i>	Lunaschi 1984	Argentina
<i>S. antonioi</i>	<i>Curimatorbis platanus</i>	Lunaschi 1984	Argentina
<i>S. godoyi</i>	<i>Leporinus elongatus</i>	Kohn <i>et al.</i> 1986	Brasil
<i>S. tarpazensis</i>	<i>Lebistes reticulatus</i>	Díaz y González 1990	Venezuela
<i>S. rotundus</i>	<i>Mylesinus paraschomburgkii</i>	Thatcher y Jegu 1996	Brasil
<i>S. lamothei</i>	<i>Dormitator latifrons</i>	Aguirre-Macedo y Violante-González 2008	México

#### **I.V. Ciclo de Vida de *Saccocoelioides*: un caso particular de *S. tarpazensis* Díaz y González 1990.**

El ciclo de vida de los digéneos de la familia Haploporidae se ha logrado obtener para algunas especies de forma experimental (Martorelli 1986; Díaz y González 1990; Díaz *et al.* 2009). El ciclo es indirecto y parasitan a peces como huéspedes definitivos y gasterópodos como huéspedes intermediarios. Dentro del intestino de los peces se desarrollan las formas adultas sexualmente maduras que cuando se reproducen forman huevos que son liberados al medio acuático en donde eclosionan los miracidios y éstos son ingeridos por el huésped intermediario (caracol), dentro de la glándula digestiva del caracol se forman las redias, cada una contiene entre 7-17 cercarias de diferentes etapas de desarrollo. Cuando las cercarias gimnocéfalas están desarrolladas son liberadas al medio acuático donde inmediatamente se enquistan (metacercaria) en la superficie del agua, aunque a veces se depositan en el fondo en espera del huésped definitivo; una vez que la metacercaria o cercaria es ingerida por el pez (huésped definitivo) llega al intestino donde comienza el desarrollo a su forma adulta, la cual tarda aproximadamente 20 días (Fig. 2) (Díaz y González 1990).

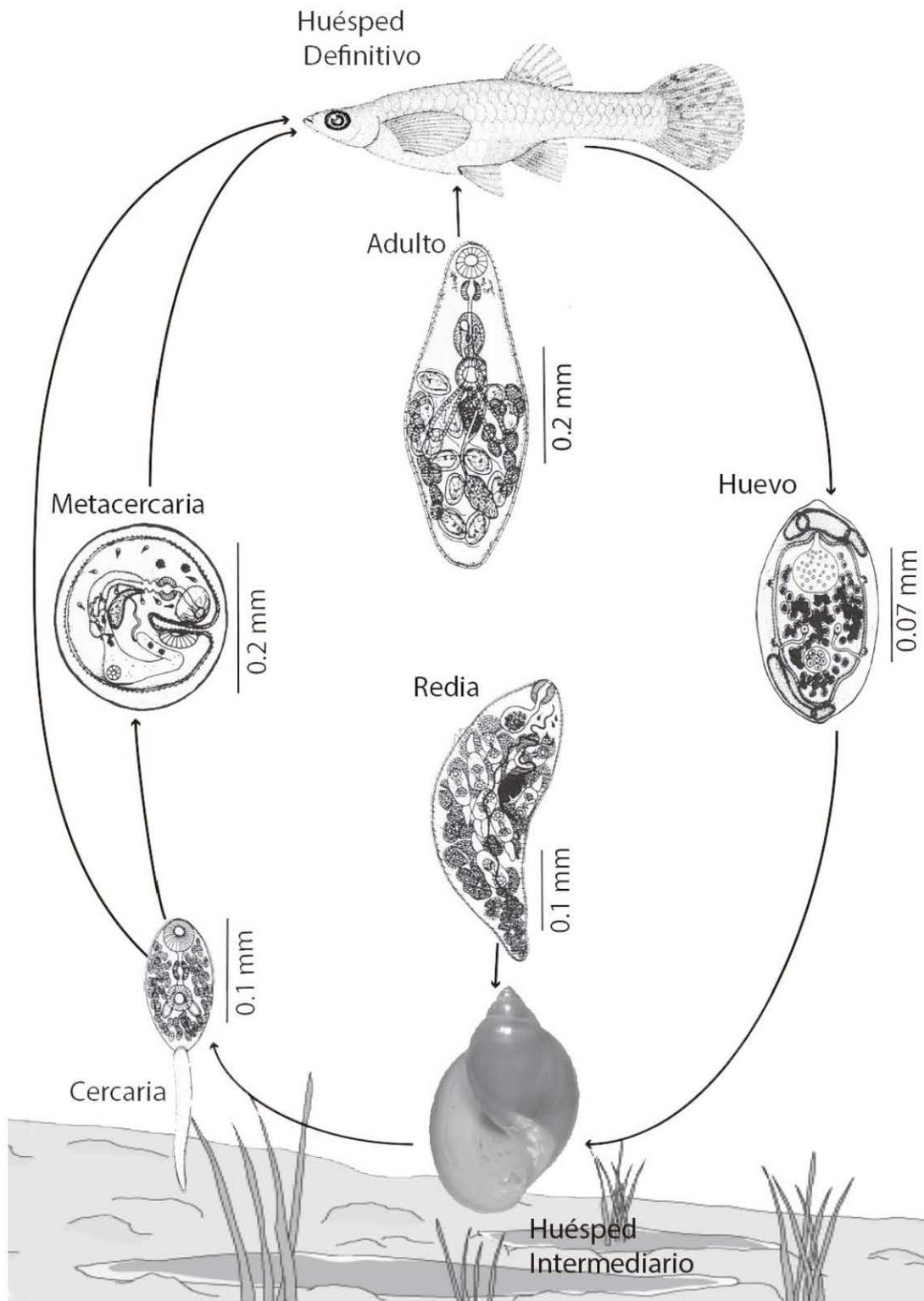


Fig. 2. Ciclo de vida de *Saccocoelioides tarpazensis* (Modificado de Díaz y González 1990).

## I.VI. Registros de digeneos de la familia Haploporidae en México.

En México se han registrado nueve especies de tremátodos de la familia Haploporidae y cuatro que solo se han identificado a nivel genérico, éstas son: ***Culuwiya papernai*** (Fernández 1987) Overstreet y Curran 2005; y ***Dicrogaster fastigatum*** Thatcher y Sparks 1959 ambas especies registradas en *Mugil cephalus* de la localidad el Jabalí en Jalisco (Cabañas-Carranza 2001); ***Culuwiya beauforti*** (Hunter y Thomas 1961) Overstreet y Curran 2005 registrada por López-Jiménez (2001) como *Saccocoelioides beauforti* en *Mugil curema* de la localidad el Rosario, Tabasco; ***Culuwiya* sp.** registrada en *Pseudoxiphophorus bimaculatus* en la localidad de Agua Bendita en Veracruz (Salgado-Maldonado 2006); ***Dicrogaster* sp.** registrada de *Mugil curema* en dos localidades de México, Chamela Jalisco (Pérez-Ponce de León *et al.* 1999) y el Rosario Tabasco (López-Jiménez 2001); ***Hapladena* sp.** en Quintana Roo del huésped *Acanthurus hepatus* (Caballero y Rodríguez *et al.* 1992); ***Megasolena estrix*** Linton 1910 del huésped *Sectator ocyurus* en Bahía Guaymas en Sonora (Maldonado-Tapia 2009); ***Myodera magna*** Sogandares-Bernal 1959 registrada en *Kyphosus elegans* en Baja California Sur (Cuevas-Macías 1997); y tres del género *Saccocoelioides* y *Culuwiya cichlidorum*.

Las especies que mayor confusión han presentado en cuanto a su taxonomía y registros en México son las del género *Saccocoelioides* y la especie *Culuwiya cichlidorum*; Lamothe-Argumedo (1974) describió la especie ***Saccocoelioides chauhani*** del carácido *Astyanax aeneus* del lago de Catemaco, Veracruz, esta especie fue registrada en diferentes especies de peces como son *Bramocharax caballeroi*, *Dorosoma* sp., *Poecilia catemaco*, *Poeciliopsis catemaco*,

*Xiphophorus* sp. en el mismo lago (Jiménez-García 1996); ***Saccocoelioides sogandaresi*** Lumsden 1963 fue registrada por primera vez en la Península de Yucatán de *Poecilia velifera* y *Poecilia latipunctata* (Scholz *et al.* 1995), posteriormente esta especie se registró en diferentes localidades de México principalmete en peces de las familias: Poeciliidae, Mugilidae, Characidae, Cichlidae, Gobiidae, Godeiidae, Eleotridae (ver Scholz y Vargas-Vázquez 1998; Salgado-Maldonado *et al.* 2001; López-Jiménez 2001; Aguilar-Castellanos 2002; Mayén-Peña 2003; Salgado-Maldonado *et al.* 2004a; Salgado-Maldonado *et al.* 2005b, Aguirre-Macedo y Violante-González 2008, Martínez-Aquino *et al.* 2014), sin embargo, la confusión surge cuando muchos ejemplares de diversos estudios se identificaron como *Saccocoelioides* c.f. *sogandaresi* (ver Salgado-Maldonado *et al.* 2004b; Pineda-López *et al.* 2005; Salgado-Maldonado *et al.* 2005a); ***Saccocoelioides* sp.** fue registrada por Ramírez-Lezama 1995; García-Magaña y López-Jiménez 2008; Salgado-Maldonado *et al.* 2011; ***Saccocoelioides lamothei*** Aguirre-Macedo y Violante-González 2008 fue descrita de *Dormitator latifrons* de la laguna de Tres Palos Guerrero (Aguirre-Macedo y Violante-González 2008).

Finalmente, se tiene el registro de la especie ***Culuwiya cichlidorum*** Aguirre-Macedo y Scholz 2005 en México la cual fue descrita de *Vieja maculicauda* en la Costa del Atlántico de Nicaragua (Aguirre-Macedo y Scholz 2005). Los registros que se tenían en México como *Saccocoelioides* sp. (Guajardo-Martínez 1984; Vidal Martínez *et al.* 2001; Scholz *et al.* 1995), *Saccocoelioides nanii* (Vidal-Martínez 1995; Andrade-Salas 1987; Salgado-Maldonado *et al.* 1997), *Saccocoelioides beauforti* (Salgado-Maldonado *et al.* 1997) fueron

transferidos a *Culuwiya cichlidorum*. Todos estos son parásitos asociados a peces de la familia Cichlidae (Ver anexo 1).

#### **I.VII. Diferencias morfológicas de las especies del género *Saccocoelioides* y *Culuwiya cichlidorum* distribuidas en México.**

*Saccocoelioides chauhani* Lamothe-Argumedo 1974 se distingue de otras especies de *Saccocoelioides* (por ejemplo; *S. sogandaresi*, *S. magnus*, *S. magniovatus*, *S. szidati* y *S. octavus*) por la forma, disposición y número de las glándulas vitelógenas, la bifurcación cecal está cerca del borde posterior del acetábulo; también difiere por la ausencia de espinas dentro del conducto del metratermo (Tabla 2).

*Saccocoelioides lamothei* Aguirre-Macedo y Violante-González 2008 se distingue por la presencia de remanentes de manchas oculares dispersas en la parte anterior del cuerpo; dos ciegos intestinales saculares que terminan pretesticularmente o apenas tocando el borde anterior del testículo, acetábulo preecuatorial y huevos conteniendo miracidios con manchas oculares. Esta especie se diferencia de otras del mismo género por tener un cuerpo pequeño, piriforme a ligeramente alargado, una prefaringe muy pequeña pero conspicua y ciegos intestinales que terminan pretesticularmente, un testículo en el extremo posterior del cuerpo, un ovario pequeño, esférico a cilíndrico, difícil de distinguir, con glándulas vitelógenas de forma y tamaño irregulares, y un útero dispuesto entre el acetábulo y la región testicular con huevos relativamente grandes y numerosos (Tabla 2).

Existe una tercera especie registrada en México, *Saccocoelioides sogandaresi* Lumsden 1963; fue la primera especie que se describió para América del Norte en Texas, Estados Unidos. En México la primera vez que se registró fue por Scholz *et al.* (1995) en peces de los cenotes de Yucatán, desde entonces se han obtenido muchos registros de esta especie en diferentes localidades de México (Anexo 1). Esta especie difiere de las especies de Sudamérica en el arreglo de las glándulas vitelógenas las cuales convergen en la parte posterior, la faringe es casi tan grande como la ventosa oral, y el útero no se extiende por delante del saco hermafrodita (Tabla 2). Por último, en el año 2005 Aguirre-Macedo y Scholz describieron una especie de *Culuwiya*: *C. cichlidorum*, de cíclidos de Nicaragua y México la cual se caracteriza por tener una prefaringe desarrollada, las glándulas vitelógenas confluyen posterior al testículo y un útero que se distribuye entre la región postacetabular y pretesticular (Tabla 2).

Tabla 2. Diferencias morfológicas entre tres especies de *Saccocoelioides* y *Culuwiya cichlidorum* registradas para México (Aguirre-Macedo y Violante-González 2008; Aguirre-Macedo y Scholz 2005).

	<i>S. lamothei</i>	<i>S. chauhani</i>	<i>S. sogandaresi</i>	<i>C. cichlidorum</i>
Posición del testículo	Terminal	Subterminal	Subterminal	Subterminal
Distribución de las glándulas vitelógenas	Desde nivel del ovario hasta zona postetiscular	Desde nivel acetabular hasta zona postesticular	Desde nivel acetabular hasta zona postesticular	Desde nivel acetabular hasta zona postesticular
Útero	Se extiende a la parte terminal del cuerpo	Distribuido entre acetábulo y testículo	Distribuido entre acetábulo y testículo	Distribuido entre saco hermafrodita y testículo
Otras características	Presencia de un receptáculo seminal bien desarrollado	Sin manchas oculares en los miracidios Terminal genitalia no termina en el ducto hermafrodita		Presencia de una prefaringe, Ciegos saculares Vesícula seminal bipartita

## **I.VIII. Utilización de secuencias de DNA.**

La identificación de las especies en digéneos se basa en caracteres morfológicos de los adultos, en algunos rasgos ecológicos como el tipo de huésped al cual parasitan y su distribución geográfica. Sin embargo, algunas veces los caracteres morfológicos utilizados para diferenciar a las especies pueden presentar variación morfológica; otras veces se debe a que la similitud morfológica entre especies que están muy relacionadas son factores que han generado controversias y que dificultan la determinación de las especies (Nolan y Cribb 2005). Por lo que la alternativa a estos problemas ha sido usar caracteres moleculares basados en el análisis de ácido desoxirribonucleico (DNA) para generar secuencias específicas de cada individuo analizado (McManus y Bowles 1996).

Para delimitar especies crípticas, las cuales son especies que se dificultan identificar utilizando métodos sistemáticos tradicionales (Nadler y Pérez 2011) en helmintos se han utilizado marcadores moleculares como los genes mitocondriales (Bensch *et al.* 2004; Grillo *et al.* 2007) y nucleares del DNA ribosomal (rDNA) (ITS1, 5.8S, ITS2 y de la región D2-D3 del 28S) (Vilas *et al.* 2005; Marques *et al.* 2007; Steinauer *et al.* 2007; Blasco-Costa *et al.* 2009), entre otros, debido a que estos genes muestran una alta tasa de mutación en sus secuencias nucleotídicas y evolución concertada, es decir, sus secuencias nucleotídicas evolucionan en conjunto (Hillis y Dixon 1991).

## **I.IX. DNA ribosomal.**

En Eucariontes, los genes ribosomales del DNA se encuentran en gran número de copias arregladas en tándem, las cuales a través de la recombinación homogenizan sus secuencias nucleotídicas (evolución concertada). La unidad de transcripción de los genes ribosomales del DNA se conforma de tres genes: 18S 5.8S y 28S y dos espaciadores transcritos internos (ITS1, ITS2). Las regiones que separan a estas unidades son conocidas como espaciadores no transcritos (NTS). Los genes ribosomales del DNA y sus regiones espaciadoras transcritas y no transcritas son llamadas colectivamente DNA ribosomal (rDNA) (Fig. 3) (Nolan y Cribb 2005). El DNA ribosomal actualmente se utiliza en muchos estudios filogenéticos a distintos niveles taxonómicos, ya que presenta tanto regiones conservadas como variables que pueden ser usadas para separar a los taxa (Hillis y Dixon 1991). Los ITS son regiones pequeñas de aproximadamente 1000 pares de base (pb) que tienen una alta tasa de mutación; esta característica los convierte en marcadores moleculares para separar poblaciones, géneros y especies e incluso definir complejos de especies crípticas (Razo-Mendivil *et al.* 2010; Pérez-Ponce de León *et al.* 2008). El ITS2 no contiene tantos elementos repetidos como el ITS1, es relativamente conservado entre especies congénicas, pero es variable en su longitud entre géneros y entre familias de digeneos (Nolan y Cribb 2005).

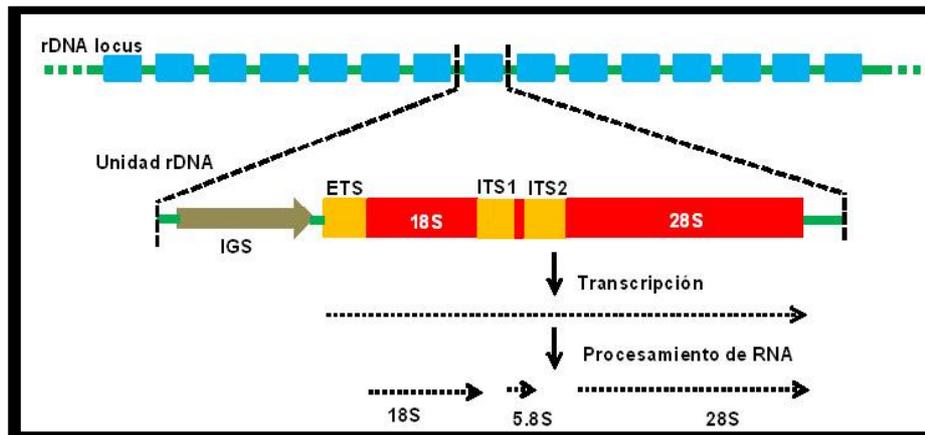


Fig. 3. Unidad de transcripción de DNA ribosomal en Eucariontes que incluye las regiones: espaciadores no transcritos (NTS), espaciadores transcritos internos (ITS1, ITS2) y los genes 18S, 5.8S y 28S.

### I.X. Filogenias moleculares de la familia Haploporidae.

Los pocos estudios a nivel molecular que se han hecho para la familia Haploporidae fueron de los parásitos del Mar Mediterráneo, es decir de la subfamilia Haploporinae. En ellos se emplearon diferentes marcadores moleculares (28S, 18S, ITS2) para inferir las relaciones filogenéticas y corroborar la validez de algunas especies dentro de la subfamilia (Blasco-Costa *et al.* 2009). En este estudio se erigió la subfamilia Forticulcitinae y se sugirió que el género *Saccocoeloides* podría ser parafilético con respecto a la Subfamilia Chalcinotrematinae. Sin embargo, esta hipótesis tendría que ser comprobada incluyendo más especies del género principalmente la especie tipo (Fig. 4). Blasco-Costa *et al.* (2010) encontraron que existe variación morfológica en la familia Haploporidae parásitos de lisas que habitan en simpatria. Además observaron morfotipos muy distintos del género *Saccocoelium* Loss, 1902 lo cual lograron a través del uso de caracteres

moleculares donde obtuvieron las divergencias genéticas y realizaron un análisis filogenético usando Inferencia Bayesiana donde demostraron que no existía variación genética pero sí morfológica; mencionan que usar solamente caracteres morfológicos sería erróneo. En otro estudio reciente Pulis *et al.* (2013) registraron nuevas especies de haploporidos de lisas en Australia con bases morfológicas y moleculares, observaron que con el gen 28S no hay resolución en los géneros *Spiretestis*, *Capitimitta* y *Saccocoelioides*; además mencionan que las subfamilias propuestas por Overstreet y Curran (2005) podría ser un arreglo artificial.

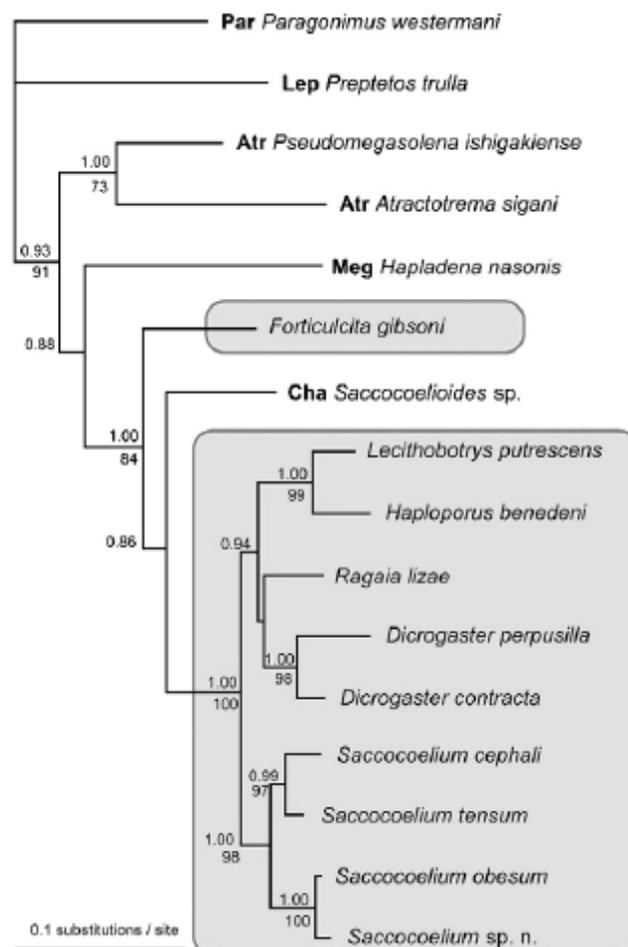


Fig. 4. Hipótesis filogenética que muestra las relaciones filogenéticas de la familia Haploporidae obtenida por Inferencia Bayesiana con datos del gen 28S rDNA (Tomado de Blasco-Costa *et al.* 2009).

## **II.OBJETIVOS.**

### **II.I. Objetivo general.**

Delimitar mediante la diferenciación morfológica y molecular especies de tremátodos de la familia Haploporidae, parásitos asociados a peces dulceacuícolas de México y América Central, así como establecer la posición filogenética de las especies analizadas dentro de la familia Haploporidae.

### **II.II. Objetivos particulares.**

- Describir la morfología y realizar una comparación de especies del género *Saccocoelioides* y una especie del género *Culuwiya* asociados a peces dulceacuícolas.
- Caracterizar molecularmente especies del género *Saccocoelioides* y una especie del género *Culuwiya* asociados a peces dulceacuícolas.
- Generar una hipótesis filogenética con la inclusión de las especies analizadas dentro de la familia Haploporidae con base en secuencias del ITS2 y de los dominios (D1+D2+D3) del 28S del RNA ribosomal.
- Estimar las divergencias genéticas entre poblaciones y especies empleando secuencias del espaciador transcrito interno (ITS2) y de los dominios divergentes (D1+D2+D3) del 28S del RNA ribosomal.

### **III.MATERIAL Y MÉTODOS.**

#### **III.I Colecta de los huéspedes.**

Los peces que sirven como huéspedes definitivos se colectaron entre las fechas del 18 de junio de 2010 al 1 de diciembre de 2013 en 15 localidades de diferentes lagunas, lagos y ríos de México, Costa Rica y Venezuela (Fig. 5; Tabla 3). Los huéspedes colectados pertenecen a 15 especies de peces y un Poecilido no identificado (Tabla 3). La colecta de cada uno de los peces se realizó a través de diferentes artes de pesca como son: atarraya, chinchorro, redes de enmalle y equipo de electropesca. Los peces se mantuvieron vivos y fueron revisados en un transcurso de tiempo no mayor a 24 horas posteriores a su captura.

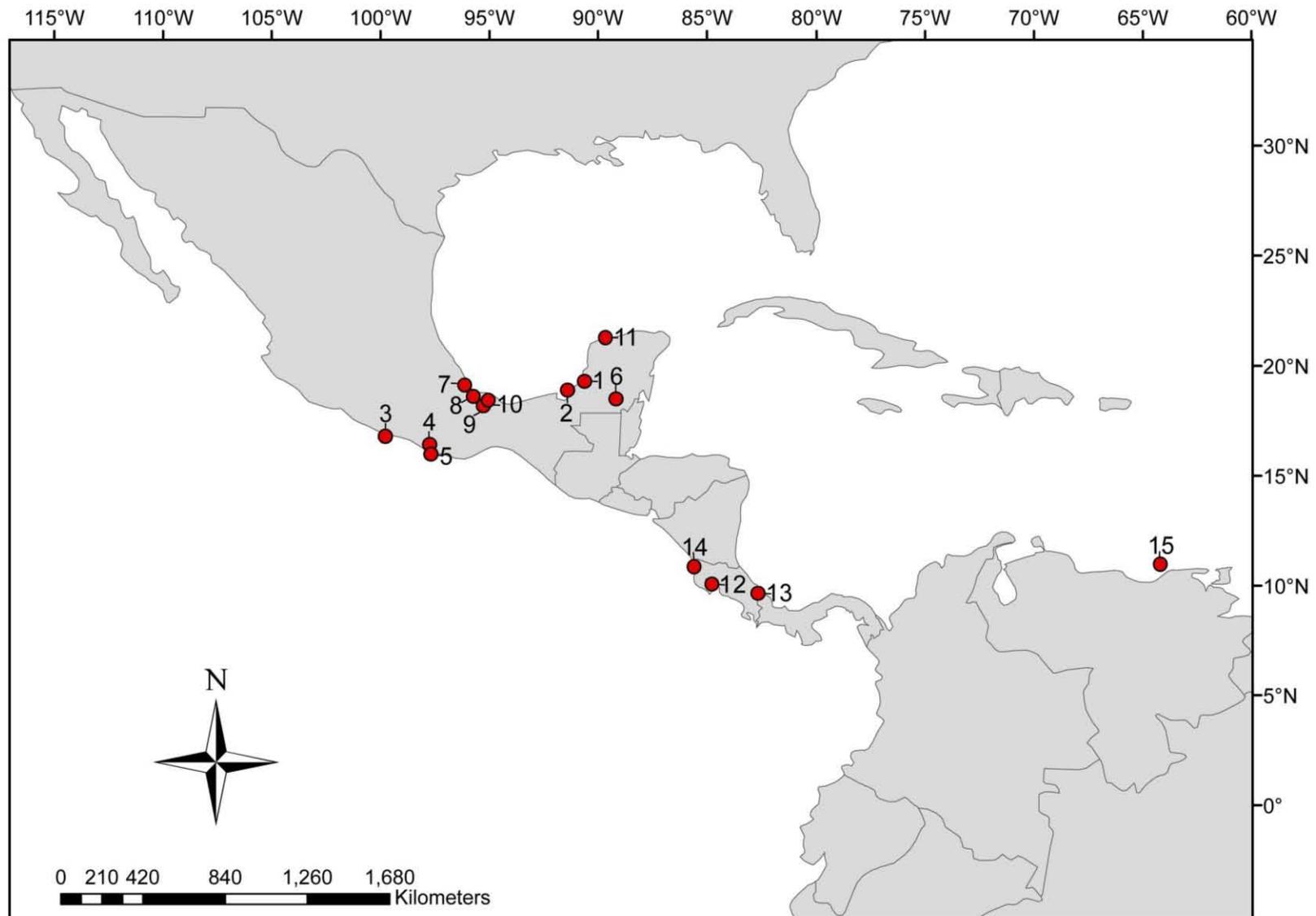


Fig. 5. Mapa de las localidades de muestreo en este estudio, números de las localidades corresponden con la tabla 3.

Tabla 3. Tabla de localidades, especies de huéspedes colectados, coordenadas geográficas, aislados de DNA.

Localidades	Huéspedes	Familia	Latitud	Longitud	ITS2	DNA	28S	DNA
<b>MÉXICO</b>								
<b>Campeche</b>								
(1) Ulumal	<i>Torichthys helleri</i>	Cichlidae	19.27861111	-90.62388889	1	1874	1	1874
	<i>Vieja bifasciata</i>	Cichlidae			2	1876, 1877	2	1876, 1877
(2) El Milagro	<i>Dormitator maculatus</i>	Eleotridae	18.88936667	-91.39542222	2	1879, 1878	2	1879, 1878
<b>Guerrero</b>								
(3) Laguna Tres Palos	<i>Dormitator latifrons</i>	Eleotridae	16.8	-99.78333	1	1756	2	1756, 1757
<b>Oaxaca</b>								
(4) San José de las Flores	<i>Profundulus balsanus</i>	Profundulidae	16.40597222	-97.73961111	3	1962, 1961, 1960	3	1962, 1961, 1960
	<i>Sicydium multipunctatum</i>	Gobiidae			3	1965, 1963, 1964	3	1965, 1963, 1964
(5) Laguna de Chacahua	<i>Dormitator latifrons</i>	Eleotridae	15.96798056	-97.68209444	3	1033, 1036, 1034	3	1033, 1036, 1034
<b>Quinta Roo</b>								
(6) Los Milagros	<i>Poecilia</i> sp.	Poeciliidae	18.47638889	-89.16444444	2	1870, 1869	2	1870, 1869
<b>Veracruz</b>								
(7) Boca del Río	<i>Dormitator maculatus</i>	Eleotridae	19.10805556	-96.11277778	3	1031, 1029, 1028	3	1031, 1029, 1028
(8) Tlacotalpan	<i>Poecilia sphenops</i>	Poeciliidae	18.6	-95.65	1	1442	1	1442
(9) Lago de Catemaco	<i>Astyanax aeneus</i>	Characidae	18.41666667	-95.11666667	3	1436, 1437, 1438	3	1436, 1437, 1438
	<i>Poecilopsis catemaco</i>	Poeciliidae			2	1440, 1439	2	1440, 1439
(10) Laguna Sontecomapa	<i>Xiphophorus helleri</i>	Poeciliidae	18.50765	-95.032936	2	1444, 1445	2	1444, 1445
<b>Yucatán</b>								
(11) El Corchito Progreso	<i>Dormitator maculatus</i>	Eleotridae	21.27777778	-89.64388889	1	1872	1	1872
	<i>Gambusia yucatanana</i>	Poeciliidae			1	1873	1	1873

**COSTA RICA**

(12) Río Ciruelas	<i>Sicydium salvini</i>	Gobiidae	10.06071389	-84.75875833	1	1744	1	1744
	<i>Poecilia gillii</i>	Poeciliidae			2	1747, 1746	2	1747, 1746
(13) Playa Grande (Puerto viejo)	<i>Poecilia mexicana</i>	Poeciliidae	9.6375	-82.68222222	2	1749, 1748	2	1749, 1748
(14) Quebrada Puercos	<i>Poecilia gilli</i>	Poeciliidae	10.85906	-85.5709	2	1969, 1968	2	1969, 1968

**VENEZUELA**

(15) Isla Margarita	<i>Poecilia reticulata</i>	Poeciliidae	10.97047222	-64.17933333	2	1429, 1430	2	1429, 1430
---------------------	----------------------------	-------------	-------------	--------------	---	------------	---	------------

---

### **III.II. Examen helmintológico.**

El intestino de los peces fue extraído y colocado en cajas de Petri con solución salina al 0.75%, éste se examinó bajo el microscopio estereoscópico en busca de digéneos; una vez localizados se colectaron y se pasaron a una caja Petri con solución salina al 0.75%. Algunos ejemplares se preservaron directamente en un vial en alcohol etílico al 100%, ya que este método permite la adecuada fijación del material genético. Para realizar el estudio morfológico se tomaron otros ejemplares y se fijaron en formol al 4% en estado de ebullición.

### **III.III. Caracterización morfológica.**

Los ejemplares preservados en formol al 4% se tiñeron con Paracarmín de Mayer de acuerdo a la técnica de Lamothe-Argumedo 1997. Los organismos se observaron, dibujaron y midieron en el microscopio óptico equipado con una cámara de campo claro y con un ocular micrométrico calibrado. Se realizó un esquema de la morfología general de los individuos de cada especie de haploporido, además se efectuó la medición (expresadas en micrones) de las estructuras para la caracterización morfológica. Para la identificación de los ejemplares a nivel de género y especie se utilizaron las claves taxonómicas de Overstreet y Curran (2005).

### **III.IV. Caracterización molecular.**

Los digéneos preservados en alcohol etílico absoluto se transfirieron a tubos de 0.5 ml que contenían 100  $\mu$ l de la solución de digestión formada por 100 mM Tris-HCL pH 7.6, 200 mM NaCL, 0.5 M EDTA, pH 8.0, 10% Sarkosil, 0.1 mg/ml

de proteinasa K. El DNA genómico se extrajo del sobrenadante usando el reactivo DNAzol (Invitrogene, CA, USA). La amplificación de los dominios (D1+D2+D3) del gen 28S y del espaciador transcrito interno (ITS2) se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando estos oligonucleótidos: Forward BD3 (5'-GAACATCGACATCTTGAACG-3') (Hernández-Mena *et al.* 2014) Reverse 536 (5'-CAGCTATCCTGAGGGAAAC-3') (García-Varela y Nadler 2005). El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25  $\mu$ l (o en su caso 50  $\mu$ l) la cual contenía 2.5  $\mu$ l de Buffer Platinum 10x, 1.5  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub>, 0.5  $\mu$ l de dNTP's, 1  $\mu$ l de cada oligonucleótido, 0.125  $\mu$ l de Taq polimerasa Platinum (Invitrogene, CA, USA), 16.375  $\mu$ l de agua bidestilada y 2  $\mu$ l del DNA genómico. Las muestras se incubaron en un termociclador modelo eppendorf Mastercycle Personal.

El programa de amplificación consistió en los siguientes pasos:

1. Desnaturalización del DNA
2. Alineamiento de los oligonucleótidos
3. Extensión de la cadena de DNA

Estos fueron los tiempos que se ocuparon para los pasos.

1. 94° 3 min
2. 94° 1 min
3. 50° 1 min
4. 72° 1 min
5. Repetir 35 veces a partir del paso dos
6. 72° 10 min

Para verificar el amplificado de los productos de la PCR, se tomó 2  $\mu$ l del producto de la amplificación, añadiéndole 6  $\mu$ l de agua y 2  $\mu$ l de colorante BlueJuice™ Gel Loading Buffer (10X) y se corrió en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Boratos EDTA (TBE 1X). Los productos de PCR positivos se secuenciaron con los siguientes oligonucleótidos internos: 504 (5'– CGTCTTGAAACACGGACTAAGG-3') 502 (5'– CAAGTACCGTGAGGGAAAGTTGC-3') (García-Varela y Nadler 2005) 503 (5'– CCTTGGTCCGTGTTTCAAGACG-3') (Stock *et al.* 2001) BD2 (5'– TATGCTTAAATTCAGCGGGT-3') (Luton *et al.* 1992).

Los electroferogramas derivados de las reacciones de secuencias se exportaron al programa de cómputo Codoncode Aligner (versión 3.7.1.2, Codon Code Corporation) donde cada pico correspondía a un nucleótido, y éstos fueron evaluados. Una vez que estuvieron las secuencias del DNA editadas se ensamblaron los seis electroferogramas en una secuencia consenso.

### **III.V. Alineamiento múltiple, análisis filogenético y distancias genéticas.**

Las secuencias parciales de las regiones de ITS2 y 28S generadas en esta investigación se alinearon por separado con otras especies obtenidas del GenBank con el programa ClustalX (Larkin *et al.* 2007) implementado en el programa MEGA versión 6-Beta2 (Tamura *et al.* 2013), utilizando los parámetros predeterminados. Se descargaron 29 secuencias de haploporidos y de grupos externos del GenBank para el gen 28S y 21 secuencias de haploporidos y grupos externos del GenBank para el gen ITS2 (Tabla 4). Se alinearon con las secuencias obtenidas en este trabajo obteniendo un total de 77 taxa para el gen 28S y 67 taxa para el ITS2 y 67 en el concatenado para

ambos genes. Las ejemplares que se usaron como grupo externo fueron *Atractotrema sigani* (Atactotrematidae), *Paragonimus westermani* (Paragonimidae), y *Preptetos trulla* (Lepocreadiidae).

Tabla 4. Números de accesos del gen 28S e ITS2 obtenidas del GenBank.

Especie	Huésped	Localidad	ITS2	28S
<i>Preptetos trulla</i>	<i>Ocyurus chrysurus</i>	Jamaica	-	AY222237
<i>Paragonimus westermani</i>	Metarceria obtenida de infección experimental	India	DQ836243	DQ836244
<i>Atractotrema sigani</i>	<i>Siganus lineatus</i>	Australia	-	AY222267
<i>Pseudomegasolena ishigakiense</i>	<i>Scarus rivulatus</i>	Australia	-	AY222266
<i>Hapladena nasonis</i>	<i>Naso unicornis</i>	Australia	-	AY222265
<i>Ragaia lizae</i>	<i>Liza aurata</i>	España	FJ211245	FJ211235
<i>Haploporus benedeni</i>	<i>Liza ramado</i>	España	FJ211247	FJ211237
<i>Lecithobotrys putrescens</i>	<i>Liza saliens</i>	España	FJ211246	FJ211236
<i>Dicrogaster perpusilla</i>	<i>Liza ramado</i>	España	FJ211248	FJ211238
<i>Dicrogaster contracta</i>	<i>Liza aurata</i>	España	FJ211267	FJ211261
<i>Dicrogaster contracta</i>	<i>Liza ramado</i>	España	FJ211268	FJ211262
<i>Saccocoelium brayi</i>	<i>Liza saliens</i>	España	FJ211244	FJ211234
<i>Saccocoelium obesum</i>	<i>Liza ramado</i>	España	FJ211265	FJ211259
<i>Saccocoelium obesum</i>	<i>Liza aurata</i>	España	FJ211266	FJ211260
<i>Saccocoelium</i> sp.	<i>Mugil cephalus</i>	España	GQ357170	GQ357169
<i>Saccocoelium cephalii</i>	<i>Mugil cephalus</i>	España	FJ211243	FJ211233
<i>Saccocoelium tensum</i>	<i>Liza aurata</i>	España	FJ211264	FJ211258
<i>Saccocoelium tensum</i>	<i>Liza ramado</i>	España	FJ211263	FJ211257
<i>Spiritestis herveyensis</i>	<i>Moolgarda seheli</i>	Australia	KC206500	KC206500
<i>Forticulcita gibsoni</i>	<i>Mugil cephalus</i>	España	FJ211249	FJ211239
<i>Capitimitta costata</i>	<i>Selenotoca multifasciata</i>	Australia	KC206497	KC206497
<i>Capitimitta</i> sp.	<i>Selenotoca multifasciata</i>	Australia	KC206499	KC206499
<i>Capitimitta darwinensis</i>	<i>Selenotoca multifasciata</i>	Australia	KC206498	KC206498
<i>Hapalotrema flecterotestis</i>	No lo mencionan	Rusia	-	HE806362
<i>Skrjabinolecithum spasskii</i>	No lo mencionan	Rusia	-	HE806380
<i>Skrjabinolecithum spasskii</i>	No lo mencionan	Rusia	-	HE806378
<i>Intromugil mugilicolus</i>	<i>Mugil cephalus</i>	Estados Unidos	KC430096	KC430096
<i>Intromugil alachuaensis</i>	<i>Mugil cephalus</i>	Estados Unidos	KC430095	KC430095
<i>Saccocoelioides</i> sp.	Poecilido sin identificar	Nicaragua	-	EF032696

Para cada base de datos se estimó el mejor modelo de sustitución de nucleótidos que se ajustaba a los datos, así como la distribución gamma y los parámetros de la tasa de heterogeneidad entre sitios, los cuales se calcularon

con el programa JModeltest versión 2.1.4 (Posada 2008) de acuerdo al criterio de información de Akaike (AIC). Se realizaron análisis filogenéticos con dos métodos, máxima verosimilitud (ML) con el programa RaxML GUI 1.31 (Silvestro y Michalak 2011) e inferencia Bayesiana (IB) con el programa MrBayes v3.2.2 x 64 (Ronquist y Huelsenbeck 2003). Para el análisis de máxima verosimilitud el modelo generado a partir del programa JModeltest se implementó en RaxML para cada una de las bases de datos (modelos menos complejos que el GTR no es posible implementar en RaxML). El apoyo de los nodos fue evaluado mediante 1000 pseudoreplicas de bootstrap. La estimación de los árboles filogenéticos con inferencia Bayesiana se realizó con el programa MrBayes. Se realizaron dos corridas simultáneas con cuatro cadenas (una fría y tres calientes) para cada corrida. *Metropolis-coupling Markov chain Monte Carlo (MCMCMC)* se corrieron 10 millones de generaciones, con un muestreo cada 1000 generaciones. Los árboles del inicio fueron eliminados (burnin del 10%). Los archivos de salida de MrBayes fueron examinados con el programa Tracer v1.4 (Rambaut y Drummond 2007) para evaluar si hubo convergencia de los diferentes parámetros, determinar el número aproximado de generaciones a la que los valores de probabilidad se estabilizaron, identificar el tamaño efectivo de la muestra (EES) para cada parámetro, y la magnitud estimada de los parámetros del modelo en las corridas individuales y combinados. Convergencia topológica en las dos corridas independientes MCMC se comprobó con el plot de AWTY (Wilgenbusch *et al.* 2004). El primer 10% de MCMCs se verificó para incluir todas las generaciones donde las cadenas habían alcanzado un estado estacionario. Probabilidades posteriores (PP) de los clados se obtuvieron del 50% del consenso de mayoría en los

árboles después de excluir el 10% como burnin. Los árboles fueron editados usando el programa FigTree versión 1.4.0 (Rambuat 2012). Con las secuencias alineadas de cada gen, se calculó la divergencia genética entre los taxa con el modelo de distancias Kimura 2 Parámetros (K2P) utilizando el programa Mega 6-Beta2 (Tamura *et al.* 2013).

## IV.RESULTADOS.

### IV.I. Colecta de material helmintológico.

Debido a la alta abundancia de estos grupos de parásitos en peces dulceacuícolas y a la complejidad en la diferenciación de las especies se implementó la siguiente estrategia para la caracterización tanto morfológica como molecular. Se colectaron ejemplares de las localidades tipo de *Saccocoelioides chauhani* y *Saccocoelioides lamothei* (localidad 3 y 9 en la Fig. 5 y Tabla 3). Se analizaron simultáneamente tanto morfológica como molecularmente distintos ejemplares de diferentes huéspedes para probar si estos ejemplares corresponden con *Saccocoelioides chauhani* o *Saccocoelioides lamothei* o con alguna otra especie como *Saccocoelioides sogandaresi* o *Culuwiya cichlidorum*; especies registradas en México. A continuación se describen cada una de las especies y los morfos encontrados (Tabla 5).

Tabla 5. Especies de parásitos, sus diferentes morfos, huéspedes, y localidades de colecta.

Parásito	Morfo	Huésped	Localidades
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	Morfo 1	<i>Dormitator latifrons</i>	(3) Laguna Tres Palos, Guerrero
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	Morfo 1	<i>Dormitator latifrons</i>	(5) Laguna de Chacahua, Oaxaca
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	Morfo 2	<i>Sicydium multipunctatum</i>	(4) San José de las Flores, Oaxaca
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	Morfo 3	<i>Sicydium salvini</i>	(12) Río Ciruelas, Costa Rica
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	Morfo 4	<i>Poecilia gillii</i>	(12) Río Ciruelas , Costa Rica
<i>Saccocoeloides lamothei</i>	-	<i>Profundulus balsanus</i>	(4) San José de las Flores, Oaxaca
<i>Saccocoeloides chauhani</i>	-	<i>Astyanax aeneus</i>	(9) Lago de Catemaco, Veracruz
<i>Saccocoeloides</i> sp.	-	<i>Dormitator maculatus</i>	(7) Boca del Río, Veracruz
<i>Saccocoeloides</i> sp.	-	<i>Dormitator maculatus</i>	(2) El Milagro, Campeche
<i>Saccocoeloides</i> sp.	-	<i>Gambusia yucatan</i>	(11) El Corchito Progreso, Yucatán
<i>Saccocoeloides tarpazensis</i>	Morfo 1	<i>Poecilia reticulata</i>	(15) Isla Margarita, Venezuela
<i>Saccocoeloides tarpazensis</i>	Morfo 2	<i>Poecilopsis catemaco</i>	(9) Lago de Catemaco, Veracruz
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	Morfo 1	<i>Vieja bifasciata</i>	(1) Ulumal, Campeche
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	Morfo 2	<i>Xiphophorus helleri</i>	(10) Laguna Sontecomapa, Veracruz
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	Juvenil (Morfo 3)	<i>Poecilia mexicana</i>	(13) Playa Grande (Puerto viejo), Costa Rica
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	-	<i>Torichthys helleri</i>	(1) Ulumal, Campeche
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	-	<i>Poecilia</i> sp.	(6) Los Milagros, Quintana Roo
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	-	<i>Poecilia sphenops</i>	(8) Tlacotalpan, Veracruz
<i>Culuwiya cichlidorum</i>	-	<i>Poecilia gillii</i>	(14) Quebrada Puercos, Costa Rica

**IV.II. Clasificación taxonómica, caracterización morfológica y distribución geográfica para cada especie.**

**IV.III. *Saccocoelioides lamothei*** Aguirre-Macedo y Violante-González, 2008  
(Fig. 6)

PHYLUM Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE Digenea Carus, 1863

ORDEN Echinostomida LaRue, 1957

SUPERFAMILIA Haploporoidea Nicoll, 1914

FAMILIA Haploporidae Nicoll, 1914

SUBFAMILIA Chalcinotrematinae Overstreet y Curran, 2005

GÉNERO *Saccocoelioides* Szidat, 1954

ESPECIE ***Saccocoelioides lamothei*** Aguirre-Macedo y Violante-González, 2008

**Sitio de Infección:** Intestino

**Huésped tipo:** *Dormitator latifrons*

**Otros huéspedes:** *Sicydium multipunctatum*, *Sicydium salvini*, *Poecilia gilli*, *Profundulus balsanus*

**Localidad tipo:** Laguna de Tres Palos, Guerrero

**Otras localidades:** Oaxaca: Laguna de Chacahua y Río San José de las Flores, Santiago Jamiltepec; Costa Rica: Río Ciruelas

**Redescripción:** Basada en 14 ejemplares (1 Holotipo-CNHE5920, 2 Paratipos-CNHE5921) (2 adultos y un juvenil) de la serie tipo, más 6 juveniles y 5 adultos colectadas de *Dormitator latifrons* de Tres Palos, Guerrero. Cuerpo piriforme,

ligeramente alargado en especímenes con numerosos huevos (5-14). Tegumento recubierto totalmente por espinas puntiagudas y cortas. Remanentes de las manchas oculares dispersas a los costados de la ventosa oral distribuyéndose hasta la parte media del saco hermafrodita, más conspicuo en los juveniles. Longitud del cuerpo de los especímenes adultos, 560-850 ( $695\pm 108$ ,  $n=8$ ) y ancho 280-460 ( $365\pm 65$ ,  $n=8$ ); longitud del cuerpo de los juveniles 210-540 ( $377\pm 114$ ,  $n=6$ ) y ancho 140-320 ( $213\pm 70$ ,  $n=6$ ) (Fig. 6A-B). Ventosa oral esférica, subterminal en adultos, con una longitud de 65-95 ( $82\pm 13$ ,  $n=6$ ) y ancho 85-102 ( $95\pm 8$ ,  $n=6$ ); y en juveniles con una longitud 55-90 ( $77\pm 13$ ,  $n=6$ ) y ancho 60-105 ( $85\pm 16$ ,  $n=6$ ). Acetábulo esférico, preecuatorial, en adultos la longitud es 95-110 ( $103\pm 8$ ,  $n=5$ ) y el ancho es 75-101 ( $96\pm 13$ ,  $n=5$ ) y en juveniles la longitud es 61-101 ( $83\pm 17$ ,  $n=5$ ) y el ancho 60-118 ( $88\pm 23$ ,  $n=5$ ), radio de las ventosas 1:1.034-1.158 de largo y 1:0.88-1.07 de ancho. Una prefaringe presente en adultos la cual mide 12-13 ( $12\pm 0$ ,  $n=3$ ) y en juveniles 5-15 ( $10\pm 10$ ,  $n=4$ ). Una faringe musculosa situada entre la prefaringe y el saco hermafrodita, o bien junto al saco hermafrodita, más notorio en especímenes juveniles; con una longitud en los adultos de 34-100 ( $69\pm 21$ ,  $n=8$ ) y el ancho es 61-120 ( $89\pm 21$ ,  $n=8$ ); en juveniles la longitud es 35-75 ( $54\pm 16$ ,  $n=4$ ) y el ancho 43-68 ( $56\pm 10$ ,  $n=4$ ). Esófago largo, extendiéndose hasta la parte media posterior del acetábulo, la bifurcación cecal al extremo anterior en adultos es 201-288 ( $244\pm 36$ ,  $n=4$ ) y en juveniles 130-225 ( $178\pm 67$ ,  $n=2$ ). La forma de los ciegos es sacular terminando anterior al testículo o sobrelapándose un poco en el testículo. La forma del testículo es ovalado a esférico situado en la parte media posterior del cuerpo o en la parte terminal del mismo, en adultos el testículo mide de largo 65-160 ( $117\pm 36$ ,  $n=5$ ) y de

ancho 77-103 ( $92 \pm 9$ ,  $n=5$ ). Saco hermafrodita con forma ovalada situado a un costado o anterior o dorsal al acetábulo sobre todo en los juveniles; en adultos mide de largo 90-188 ( $128 \pm 32$ ,  $n=8$ ) y de ancho 51-120 ( $75 \pm 39$ ,  $n=8$ ); y en juveniles mide de largo 51-120 ( $75 \pm 39$ ,  $n=3$ ) y de ancho es 32-71 ( $58 \pm 22$ ,  $n=3$ ). Vesícula seminal interna con forma alargada. Poro genital preacetabular. Vesícula seminal externa en forma circular a ovalada, situado posterior al saco hermafrodita en adultos mide de largo 36-163 ( $75 \pm 52$ ,  $n=5$ ) y de ancho 31-118 ( $64 \pm 36$ ,  $n=5$ ), mientras en juveniles de largo mide 28-43 ( $36 \pm 11$ ,  $n=2$ ) y de ancho 36-21 ( $29 \pm 11$ ,  $n=2$ ). El ovario es ovalado en adultos y circular en juveniles, está situado en la región media a posterior del cuerpo, en los adultos mide de largo 35-63 ( $47 \pm 12$ ,  $n=3$ ) y el ancho mide 25-42 ( $35 \pm 9$ ,  $n=3$ ). No se observó receptáculo seminal y canal de Laurer. El útero ocupa desde el nivel acetabular hasta la parte posterior del testículo cuando tiene varios huevos, pero se distribuye anterior al testículo cuando presenta pocos huevos. Las glándulas vitelógenas tienen una forma y tamaño irregular, distribuyéndose en los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del testículo. Los huevos son operculados de largo miden 100-143 ( $117 \pm 13$ ,  $n=18$ ) y de ancho 45-67 ( $62 \pm 8$ ,  $n=18$ ), una vez que se desarrolla el miracidio en el huevo presentan una mancha ocular. No se observó vesícula excretora.

### **Comentarios**

Basado en la descripción de los ejemplares tipo de *Saccocoeliodes lamothei* y en múltiples organismos colectados de diferentes especies de peces dulceacuícolas de localidades de los estados de Guerrero, Oaxaca y algunas localidades de Costa Rica, sugieren que dentro de esta especie existe una marcada variación morfológica (Tabla 6; Fig. 6). En paralelo a la

caracterización morfológica se realizaron análisis moleculares para esta especie (Figs.11-13) encontrándose una baja o casi nula variación genética (Tabla 10) dentro de esta especie en un amplio rango de distribución.

El primer morfo corresponde a la localidad tipo de la especie en la laguna de Tres Palos, Guerrero; del huésped *Dormitator latifrons*, el cual se distribuye desde el Golfo de California hasta Perú en Sudamérica (Miller *et al.* 2005), este morfo es similar a los ejemplares de la laguna de Chacahua, Oaxaca parasitando al mismo huésped. El segundo morfo corresponde a ejemplares colectados en una localidad del estado de Oaxaca del intestino de *Sicydium multipunctatum* el cual se distribuye en la vertiente del Pacífico desde Mazatlán México hasta el Río Choluteca en Honduras (Froese y Pauly 2014). El tercer morfo fue colectado del intestino de *Sicydium salvini* en una localidad de Costa Rica, un pez endémico de Centroamérica distribuido en la vertiente del Pacífico desde el Río Tamarindo en Nicaragua hasta el Río Cardenas en la parte central de Panamá (Froese y Pauly 2014). El cuarto morfo está basado en un solo ejemplar colectado de *Poecilia gilli* un pez ampliamente distribuido desde Guatemala hasta Panamá.

Todos los parásitos colectados de otros huéspedes diferentes al huésped tipo presentaron una variación morfológica evidente. Esta variabilidad morfológica intraespecífica en los parásitos podría deberse al efecto que causan los huéspedes. Como se puede observar en la Fig. 6 y Tabla 6, los distintos morfos de la especie *Saccocoelioides lamothei* se pueden diferenciar por un solo carácter o por una combinación de caracteres que se enumeran a continuación:

- 1) La posición del útero en el morfo 1 se distribuye desde el acetábulo hasta la parte posterior del testículo; mientras que en los morfos 2-4 éste se distribuye entre el acetábulo y la parte anterior al testículo; asimismo el tamaño de los huevos es mayor que en los otros morfos. El testículo en el morfo 1 es subterminal a terminal, mientras que en los morfos 2-4 se localiza en la parte media posterior del cuerpo.
- 2) En el morfo 2 la faringe puede ser muy grande llegando a medir hasta 115  $\mu$  de largo y 125  $\mu$  de ancho contra los otros morfos (45  $\mu$  de largo y 61  $\mu$  de ancho).
- 3) El morfo 3 se puede diferenciar de los otros por la extensión de los ciegos, los cuales son postesticulares, asimismo las manchas oculares se distribuyen a nivel prefaringe.
- 4) El morfo 4 presenta un cuerpo alargado con una vesícula seminal siempre bipartita.

Tabla 6. Medidas comparativas de los morfos de *Saccocoelioides lamothei* Aguirre-Macedo y Violante-González 2008, caracterizadas en este trabajo.

	Morfo 1 Fig. 6 A-B (n=14)	Morfo 2 Fig. 6C (n=5)	Morfo 3 Fig. 6D (n=7)	Morfo 4 Fig. 6E (n=1)
<b>Huésped</b>	<i>Dormitator latifrons</i>	<i>Sicydium multipunctatum</i>	<i>Sicydium salvini</i>	<i>Poecilia gilli</i>
<b>Localidad</b>	Laguna de Tres Palos, Guerrero y Laguna de Chacahua, Oaxaca	Río San José de las Flores, Oaxaca	Río Ciruelas, Costa Rica	Río Ciruelas, Costa Rica
<b>Total del cuerpo</b>				
Longitud	420-850	680-860	500-720	870
Ancho	240-510	290-380	210-320	290
<b>Ventosa oral</b>				
Longitud	62-155	87-127	73-107	103
Ancho	77-127	112-137	90-115	120
<b>Acetábulo</b>				
Longitud	71-112	108-137	80-112	125
Ancho	82-107	112-150	90-127	120
Posición	Preecuatorial	Preecuatorial	Preecuatorial	Preecuatorial
<b>Radio de las ventosas</b>				
Largo	1:0.84-1.2	1:0.88-1.22	1:0.89-1.15	1:1.21
Ancho	1:0.88-1.07	1:0.96-1.15	1:0.88-1.1	1:1.06
<b>Prefaringe</b>	7.5-12	23-30	16-25	35
<b>Faringe</b>				
Largo	52-112	87-115	63-85	90
Ancho	55-97	97-125	75-99	92
<b>Bifurcación de los ciegos</b>	157-270 Bifurcando en la parte posterior del acetábulo	280-352 Bifurcando hasta la parte posterior del acetábulo	239-366 Bifurcando hasta la parte posterior del acetábulo	400 Bifurcando posterior al acetábulo
<b>Extensión de los ciegos</b>	Pretesticular	Parte media del testículo	Anterior, medio o posterior del testículo	Parte media o posterior del testículo

	<b>Morfo 1 Fig. 6 A-B</b> (n=14)	<b>Morfo 2 Fig. 6C</b> (n=5)	<b>Morfo 3 Fig. 6D</b> (n=7)	<b>Morfo 4 Fig. 6E</b> (n=1)
<b>Posición del poro genital</b>	En la mitad entre la faringe y acetábulo	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular
<b>Saco hermafrodita</b>				
Longitud	100-215	150-177	105-145	135
Ancho	60-130	112-130	78-110	77
Ubicación	Entre faringe y acetábulo, sobrelapandose	Anterior al acetábulo	Anterior al acetábulo	Anterior al acetábulo
<b>Vesícula seminal externa</b>				
Largo	40-70	50-65	35-55, 25-49	82, 87
Ancho	40-55	40-65	35-50, 25-50	52, 47
Forma	Esférica	Ovalada o bipartita	Bipartita	Bipartita
<b>Testículo</b>				
Largo	90-152	100-143	100-120	192
Ancho	67-137	100-150	80-117	125
Posición	En la parte terminal del cuerpo (terminal o subterminal)	En la parte media posterior del cuerpo (subterminal)	En la parte media posterior del cuerpo (subterminal)	En la parte media posterior del cuerpo (subterminal)
<b>Ovario</b>				
Largo	42-62	57-63	37-38	56
Ancho	25-42	42-67	45-50	60
Forma	Cilíndrico entre acetábulo y testículo	Esférico a ovalado, entre el saco hermafrodita y el testículo	Ovalado, entre testículo y la vesícula seminal externa	Esférico
<b>Útero</b>	Distribuye zona acetabular a posterior al testículo	Distribuye entre acetábulo y testículo	Entre parte media del acetábulo hasta primer tercio de testículo	Distribuye desde la mitad del acetábulo hasta la parte anterior del testículo

	<b>Morfo 1 Fig. 6 A-B</b> (n=14)	<b>Morfo 2 Fig. 6C</b> (n=5)	<b>Morfo 3 Fig. 6D</b> (n=7)	<b>Morfo 4 Fig. 6E</b> (n=1)
<b>Huevos (n)</b>	(5-14)	(3-32)	(1-6)	(12)
Largo	80-135	55-82	47-95	67-80
Ancho	50-78	30-62	48-78	48-78
	Miracidio con manchas oculares	Miracidio sin manchas oculares	Miracidio sin manchas oculares	Miracidio sin manchas oculares
<b>Glándulas vitelógenas</b>	Irregular en tamaño y forma. Desde el ovario hasta nivel postesticular	Irregular en forma y tamaño. Desde los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del testículo	Irregular en forma y tamaño. Desde los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del testículo	Irregular en tamaño y forma, distribuyéndose en los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del testículo
<b>Vesícula excretora</b>	No se observó	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y

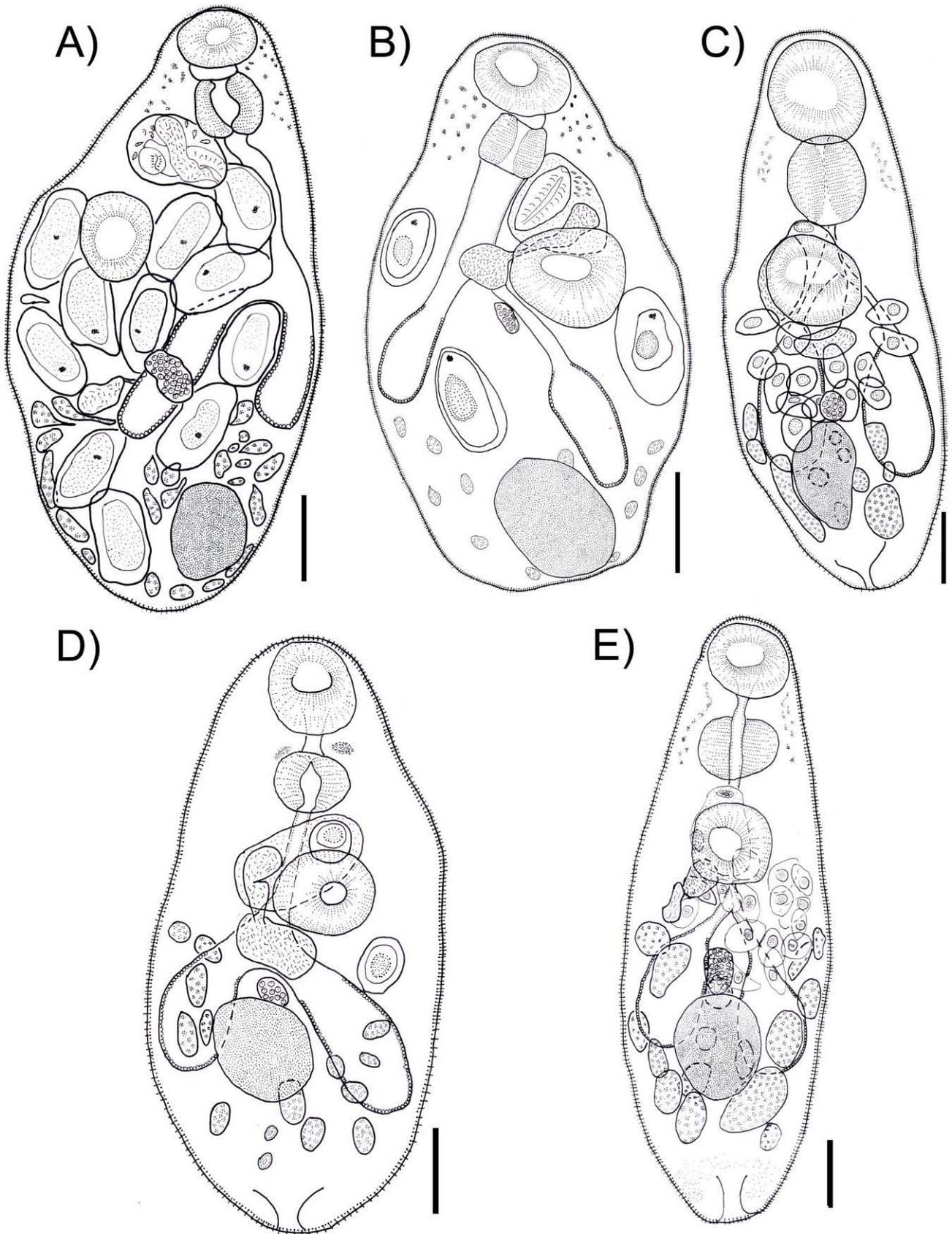


Fig. 6. Morfos de la especie *Saccocoelioides lamothei*. A-B) Morfo 1. C) Morfo 2. D) Morfo 3. E) Morfo 4. Barra representa 100 micrones.

**IV.IV. *Saccocoelioides chauhani*** Lamothe-Argumedo 1974 (Fig.7)

PHYLUM Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE Digenea Carus, 1863

ORDEN Echinostomida LaRue, 1957

SUPERFAMILIA Haploporoidea Nicoll, 1914

FAMILIA Haploporidae Nicoll, 1914

SUBFAMILIA Chalcinotrematinae Overstreet y Curran, 2005

GÉNERO *Saccocoelioides* Szidat, 1954

ESPECIE ***Saccocoelioides chauhani*** Lamothe-Argumedo 1974

**Sitio de Infección:** Intestino

**Huésped tipo:** *Astyanax fasciatus* (= *A. aeneus*)

**Localidad tipo:** Lago de Catemaco, Veracruz

**Redescripción:** Tomado de la descripción original de Lamothe-Argumedo 1974. Cuerpo ovoide, con pocos huevos (Fig. 7). Tegumento recubierto por espinas siendo más abundantes en la región anterior que en la posterior. Longitud del cuerpo de los especímenes es 536-966 y ancho 289-418 (Fig. 7). Ventosa oral subterminal, musculosa con una longitud de 108-112. Acetábulo esférico, preecuatorial, la longitud es 101-105, siendo el acetábulo menor que la ventosa oral, radio de las ventosas 1:0.93-0.96. Presenta una prefaringe que mide de largo 18-26. Una faringe musculosa situada entre la ventosa oral y el saco hermafrodita; con una longitud de 48-60 y el ancho es 45-52. Esófago corto, extendiéndose hasta el extremo anterior del cuerpo, la bifurcación cecal al extremo anterior es 281-405. La forma de los ciegos es sacular terminando anterior al testículo. La forma del testículo es ovoide situado en la parte

posterior cuerpo; mide de largo 112-120 y de ancho 75-180. El saco hermafrodita mide de largo 112-128 y de ancho 75-82. La vesícula seminal interna es esférica. Poro genital preacetabular. La vesícula seminal externa es esférica, situada posterior al saco hermafrodita mide de largo 48 y de ancho 33-37. El ovario es ovoide situado anterior al testículo y ligeramente a la izquierda de la línea media del cuerpo mide de largo 45-82 y el ancho mide 52-75. El útero se distribuye desde el acetábulo al borde anterior del testículo. Las glándulas vitelógenas tienen una forma y tamaño irregular, distribuyéndose en los campos laterales desde nivel postacetabular hasta la parte posterior del cuerpo. Los huevos miden de largo 101-105 y de ancho 56-63, los huevos no presentan mancha ocular. Vesícula excretora en forma de Y.

### **Comentarios**

Para la caracterización morfológica de esta especie se utilizó la descripción original de Lamothe-Argumedo 1974, ya que solamente fue posible coleccionar ejemplares para el estudio molecular. Los ejemplares para el estudio molecular se coleccionaron de la localidad tipo de la especie, en el Lago de Catemaco Veracruz del huésped *Astyanax fasciatus aeneus* (Descripción original Lamothe-Argumedo 1974) ahora *Astyanax aeneus* (Ornelas-García *et al.* 2014) la cual se distribuye en el Sureste de México y en algunas regiones de Centroamérica (Froese y Pauly 2014). Tal como en la especie *S. lamothei*, se realizaron simultáneamente los análisis moleculares para *S. chauhani* (Figs. 11-13) no encontrando variación genética en esta especie. Con estos resultados basados en los caracteres morfológicos y moleculares se determina que la especie *S. chauhani* es endémica del Lago de Catemaco asociado al pez *Astyanax aeneus*.

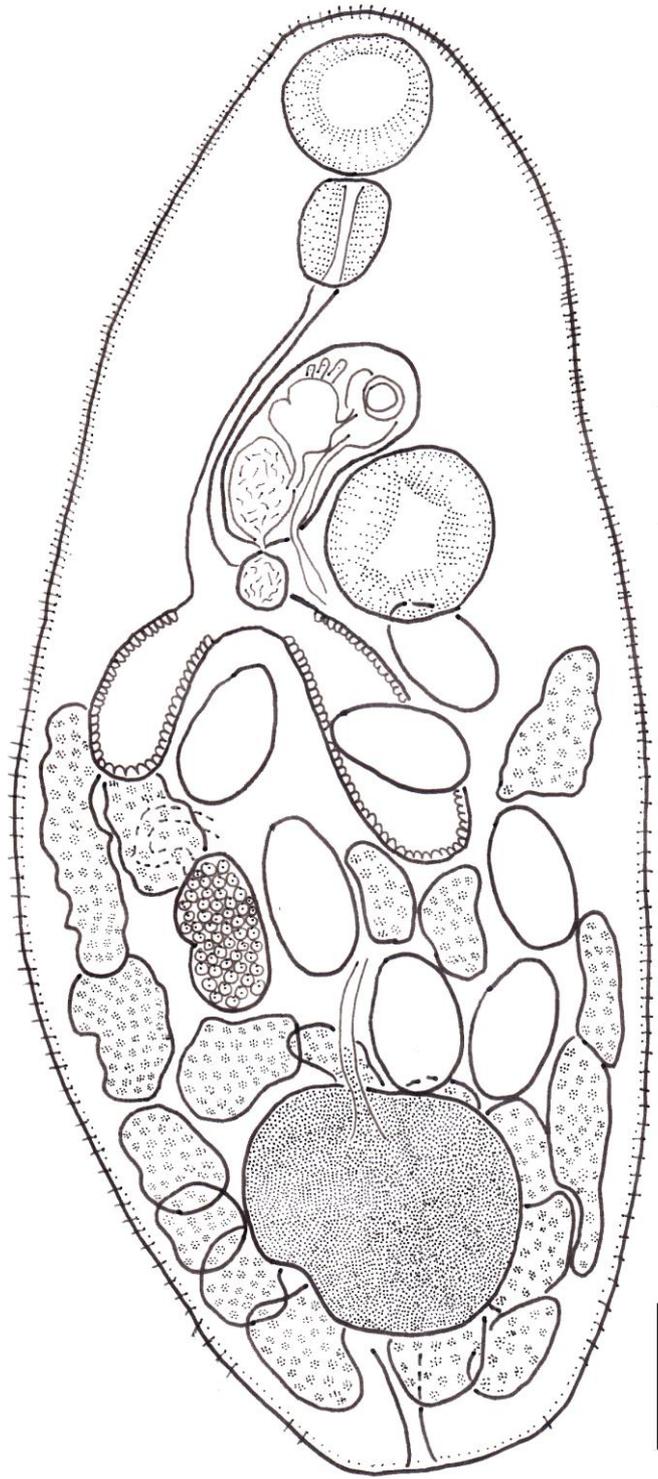


Fig. 7. *Saccocoelioides chauhani*. Barra representa 100 micrones.

**IV.V. *Saccocoelioides tarpazensis*** Díaz y González 1990 (Fig. 8 A-C)

PHYLUM Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE Digenea Carus, 1863

ORDEN Echinostomida LaRue, 1957

SUPERFAMILIA Haploporoidea Nicoll, 1914

FAMILIA Haploporidae Nicoll, 1914

SUBFAMILIA Chalcinotrematinae Overstreet y Curran, 2005

GÉNERO *Saccocoelioides* Szidat, 1954

ESPECIE ***Saccocoelioides tarpazensis*** Díaz y González 1990

**Sitio de Infección:** Intestino

**Huésped tipo:** *Poecilia reticulata*

**Otros huéspedes:** *Poeciliopsis catemaco*

**Localidad tipo:** Tarpaz, Estado Sucre, Venezuela

**Otras localidades:** Venezuela: Isla Margarita; Veracruz: Catemaco

**Redescripción:** Basada en 9 adultos colectados de *Poecilia reticulata* de la Isla Margarita en Venezuela (Fig. 8A). Cuerpo piriforme a alargado, con numerosos huevos (2-23). Tegumento recubierto totalmente por espinas puntiagudas y cortas aunque en la parte posterior se encuentran en menor proporción. Remanentes de las manchas oculares marcadas dispersos a la orilla de la ventosa oral y sobre ésta, distribuyéndose hasta la faringe. Longitud del cuerpo de los especímenes es 330-570 ( $434 \pm 80$ , n=9) y ancho 140-210 ( $166 \pm 27$ , n=9) (Fig. 8A). Ventosa oral esférica, terminal, con una longitud de 50-65 ( $58 \pm 5$ , n=9) y ancho 57-77 ( $67 \pm 5$ , n=9). Acetábulo esférico, preecuatorial, la longitud es 57-72 ( $63 \pm 4$ , n=9) y el ancho es 62-77 ( $68 \pm 5$ , n=9), siendo el

acetábulo de igual o mayor tamaño que la ventosa oral, radio de las ventosas de largo es 1:1-1.22 y de ancho 1:0.94-1.17. Presentan una prefaringe que mide de largo 5-23 ( $12\pm 6$ , n=9). Una faringe musculosa situada entre la ventosa oral y el saco hermafrodita; con una longitud de 37-42 ( $38\pm 1$ , n=9) y el ancho es 35-42 ( $39\pm 2$ , n=9). Esófago largo, extendiéndose hasta la parte posterior del acetábulo, la bifurcación cecal al externo anterior es 150-205 ( $177\pm 15$ , n=8). La forma de los ciegos es sacular terminando en la parte anterior al testículo o sobrelpándose a éste. La forma del testículo es esférico a ovalado situado en la parte media posterior del cuerpo; mide de largo 58-87 ( $69\pm 10$ , n=9) y de ancho 35-67 ( $49\pm 1$ , n=9). Saco hermafrodita es esférico a ovalado situado entre la faringe y el acetábulo o dorsal a éste; mide de largo 50-75 ( $62\pm 8$ , n=9) y de ancho 39-65 ( $52\pm 8$ , n=9). Poro genital preacetabular. La vesícula seminal externa en forma esférica situado posterior al saco hermafrodita; mide de largo 22-26 ( $24\pm 1$ , n=7) y de ancho 21-35 ( $27\pm 4$ , n=7). El ovario es ovalado situado entre el testículo y la vesícula seminal externa mide de largo 21-52 ( $30\pm 10$ , n=9) y el ancho mide 15-37 ( $28\pm 6$ , n=9). El útero se distribuye desde el acetábulo hasta la parte posterior al testículo. Las glándulas vitelógenas tienen una forma y tamaño irregular, distribuyéndose en los campos laterales del ovario o ligeramente por debajo del éste confluyendo en la parte posterior del testículo. Los huevos miden de largo 67-100 ( $82\pm 12$ , n=25) y de ancho 30-50 ( $42\pm 5$ , n=25), los huevos presentan mancha ocular cuando se ha desarrollado el miracidio. Vesícula excretora en forma de Y.

### **Comentarios**

*Saccocoeliodes tarpazensis* Díaz y González 1990 fue descrita del guppy *Poecilia reticulata* en una localidad de Tarpaz, Estado Sucre, Venezuela, esta

especie de pez ha sido ampliamente introducido por todas partes del planeta debido a que se usa como control de plaga de mosquitos (*mosquito fish*) y como peces de acuario (Froese y Pauly 2014). En este trabajo se colectaron y analizaron morfológica y molecularmente ejemplares de la Isla Margarita Venezuela de *Poecilia reticulata*, basado en la descripción de nuestros ejemplares, estos corresponde con la descripción original de *Saccocoeliodes tarpazensis*. Posteriormente se recolectaron *Saccocoeliodes* de *Poeciliopsis catemaco* del lago de Catemaco, Veracruz y estos fueron analizados tanto morfológicamente como con datos moleculares, obteniendo que *Poeciliopsis catemaco* es parasitado por la especie *Saccocoeliodes tarpazensis* en México. Dentro de estos ejemplares se lograron identificar dos morfos. El primer morfo corresponde a ejemplares de la Isla Margarita, Venezuela de *Poecilia reticulata* (Fig. 8A) y el segundo morfo corresponde a ejemplares colectados de *Poeciliopsis catemaco* del lago de Catemaco, Veracruz (Fig. 8B). Como se puede observar en estas figuras y en la Tabla 7, los dos morfos de la especie *Saccocoelioides tarpazensis* se pueden diferenciar por los siguientes caracteres:

- 1) La distribución de las glándulas vitelógenas en el morfo 1 van desde el nivel del ovario hasta el nivel posterior del testículo, mientras que en el morfo 2 las glándulas vitelógenas van desde nivel del ovario a la parte terminal del cuerpo.
- 2) La extensión de los ciegos en el morfo 1 es pretesticular, mientras que en el morfot 2 los ciegos se extienden hasta el primer tercio del testículo.
- 3) El morfo 2 es de mayor tamaño en el largo del cuerpo, largo del saco hermafrodita y largo de testículo a diferencia del morfo 1.

Los ejemplares del morfo 1 colectados de la Isla Margarita presentan características similares a *S. tarpazensis* de la localidad tipo que fueron colectados naturalmente por Díaz y González (1990), aunque también presentan características de los parásitos colectados de manera experimental en el mismo trabajo (Fig. 8C). Con respecto al morfo 2 de la especie de *S. tarpazensis*, en México, parásitos colectados de *Poeciliopsis catemaco* en el Lago de Catemaco se habían identificado como *S. chauhani* (Jiménez-García 1996), sin embargo este trabajo muestra que los parásitos de *Poeciliopsis catemaco* no corresponden con *S. chauhani*, sino con *S. tarpazensis*.

Tabla 7. Medidas comparativas entre los morfos de *Saccocoelioides tarpazensis* Díaz y González 1990 descritas en este trabajo.

<b>Especie</b>	<b>Morfo 1 Fig. 8A (n=9)</b>	<b>Morfo 2 Fig. 8B (n=15)</b>	<b>Díaz y González 1990 (experimental) Fig. 8C</b>	<b>Díaz y González 1990 (natural)</b>
<b>Huésped</b>	<i>Poecilia reticulata</i>	<i>Poeciliopsis catemaco</i>	<i>Poecilia reticulata</i>	<i>Poecilia reticulata</i>
<b>Localidad</b>	Isla Margarita, Venezuela	Lago de Catemaco, Veracruz	Tarpaz, Estado Sucre, Venezuela	Tarpaz, Estado Sucre, Venezuela
<b>Total del cuerpo</b>				
Longitud	330-570	440-850	539-638	385-572
Ancho	140-210	120-230	220-253	407-528
<b>Ventosa oral</b>				
Longitud	50-65	68-85	80-90	87-130
Ancho	57-77	63-100	90-100	92-225
<b>Acetábulo</b>				
Longitud	57-72	68-118	87-92	85-125
Ancho	62-77	78-128	87-97	80-130
<b>Radio de las ventosas</b>			-	-
Largo	1:1-1.22	1:1-1.46		
Ancho	1:0.94-1.17	1:1-1.5		
<b>Prefaringe</b>	5-23	8-37	12-52	5-15
<b>Faringe</b>				
Largo	37-42	39-55	50-55	47-80
Ancho	35-42	35-53	45-52	50-80

<b>Especie</b>	<b>Morfo 1 Fig. 8A (n=9)</b>	<b>Morfo 2 Fig. 8B (n=15)</b>	<b>Díaz y González 1990 (experimental) Fig. 8C</b>	<b>Díaz y González 1990 (natural)</b>
<b>Bifurcación de los ciegos</b>	150-205 Bifurcando hasta la parte posterior del acetábulo	175-310 Bifurcando hasta la parte posterior del acetábulo	75-105 Bifurcando a nivel posterior del acetábulo.	125-280 Bifurcando a nivel posterior del acetábulo
<b>Extensión de los ciegos</b>	Termina en la parte anterior al testículo	Termina en la parte anterior al testículo.	Termina en la parte anterior al testículo	Termina en la parte anterior al testículo
<b>Posición del poro genital</b>	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular
<b>Saco hermafrodita</b>				
Longitud				
Ancho	50-75	70-132	92-120	95-160
Ubicación	39-65 Entre faringe y acetábulo, o dorsal a éste	48-88 Dorsal al acetábulo	50-70 Entre el espacio comprendido entre acetábulo y faringe o algunas veces lateral al acetábulo	57-112 Entre el espacio comprendido entre acetábulo y faringe o algunas veces lateral al acetábulo
<b>Vesícula seminal externa</b>				
Largo	22-26	35-37		
Ancho	21-35	27-30	-	-
Forma	Esférica	Simple o bipartita		
<b>Testículo</b>				
Largo	58-87	75-177	100-130	125-235
Ancho	35-67	53-107	37-87	50-125
Posición	En la parte media posterior del cuerpo	En la parte media posterior o en la parte terminal del cuerpo	En la parte media posterior del cuerpo	En la parte media posterior del cuerpo

<b>Especie</b>	<b>Morfo 1 Fig. 8A (n=9)</b>	<b>Morfo 2 Fig. 8B (n=15)</b>	<b>Díaz y González 1990 (experimental) Fig. 8C</b>	<b>Díaz y González 1990 (natural)</b>
<b>Ovario</b>				
Largo	21-52	30-57	75-175	112-175
Ancho	15-37	24-53	25-42	28-52
Forma	Ovalado	Ovalado	Ovalado	Ovalado
<b>Útero</b>	Se distribuye desde el acetábulo hasta la parte posterior del testículo	Se extiende desde la parte media del acetábulo hasta el primer tercio del testículo	Se extiende desde la media del acetábulo hasta la parte terminal del cuerpo	Se extiende desde la media del acetábulo hasta la parte terminal del cuerpo
<b>Huevos</b>				
Largo	67-100	57-92	110-127	117-130
Ancho	30-50	32-60	50-57 Embrionados	52-125 Embrionados
<b>Glándulas vitelógenas</b>	Irregular en forma y tamaño, distribuyéndose en los campos laterales del ovario o ligeramente por debajo de éste confluyendo en la parte posterior del testículo	Irregular en forma y tamaño, distribuyéndose en los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del testículo	Bien desarrolladas y comprenden grandes folículos, los cuales se extienden en los campos laterales, desde el extremo posterior de los ciegos intestinales hasta el nivel del testículo	Bien desarrolladas y comprenden grandes folículos, los cuales se extienden en los campos laterales, desde el extremo posterior de los ciegos intestinales hasta el nivel del testículo
<b>Vesícula excretora</b>	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y

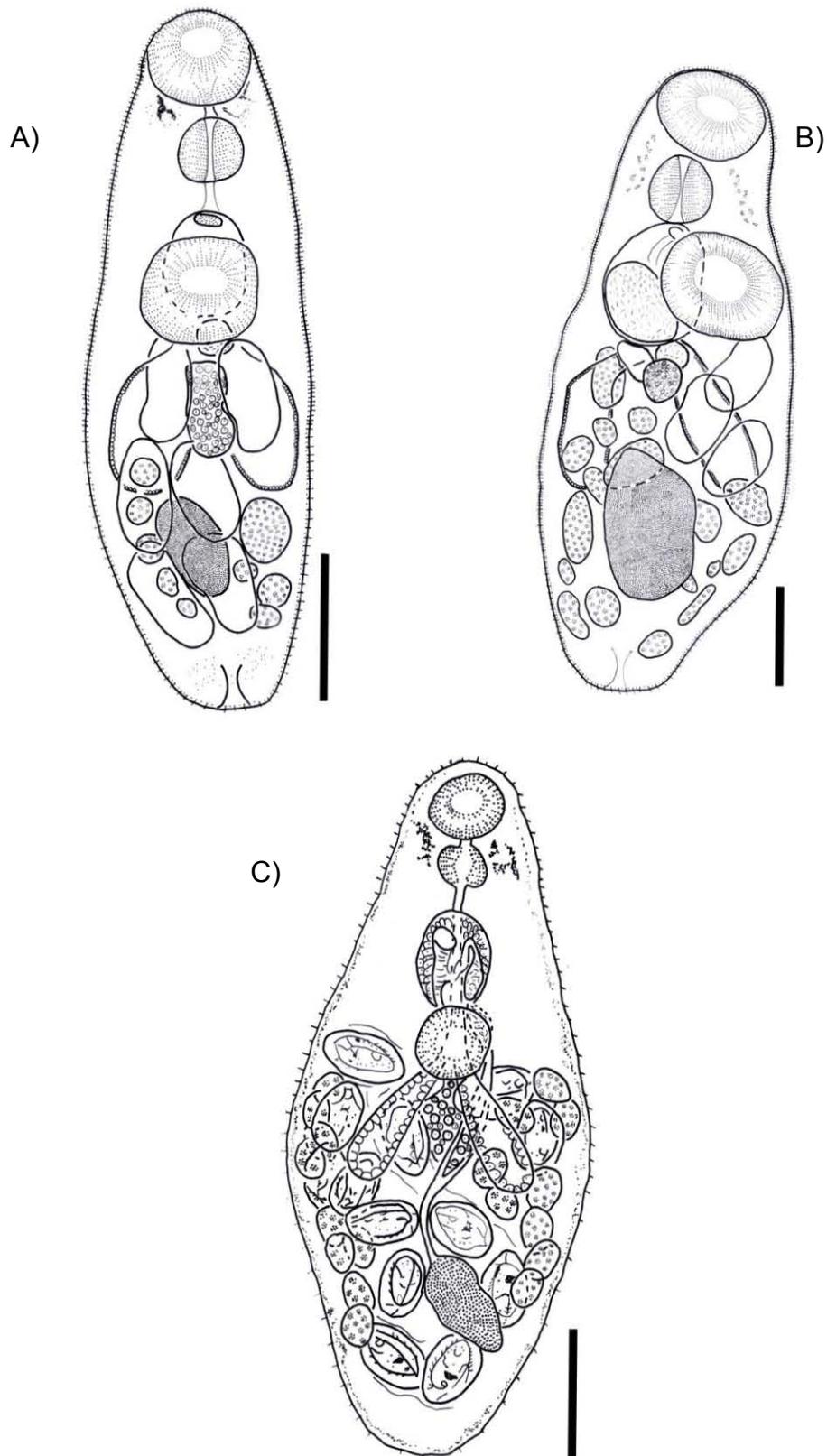


Fig. 8. Morfos de la especie *Saccocoelioides tarpazensis*. A) Morfo 1. B) Morfo 2. C) Descripción original (Tomado y Modificado de Díaz y González 1990). Barra representa 100 micrones.

**IV.VI. *Culuwiya cichlidorum*** Aguirre-Macedo y Scholz, 2005 (Fig. 9 A-D)

PHYLUM Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE Digenea Carus, 1863

ORDEN Echinostomida LaRue, 1957

SUPERFAMILIA Haploporoidea Nicoll, 1914

FAMILIA Haploporidae Nicoll, 1914

SUBFAMILIA Waretrematinae Srivastava, 1937

GÉNERO *Culuwiya* Overstreet y Curran, 2005

ESPECIE ***Culuwiya cichlidorum*** Aguirre-Macedo y Scholz, 2005

**Sitio de Infección:** Intestino

**Huésped tipo:** *Vieja macaulicauda*

**Otros huéspedes:** *Vieja bifasciata*, *Xiphophorus helleri*, *Poecilia mexicana*, *Torichthys helleri*, *Poecilia* sp., *Poecilia sphenops*, *Poecilia gilli*

**Localidad tipo:** Río Torsuani y Caño Marañón, Nicaragua

**Otras localidades:** Campeche: Ulumal; Veracruz: Laguna Sontecomapa y Tlacotalpan; Quintana Roo: Los Milagros; Costa Rica: Playa Grande (Puerto viejo) y Quebrada Puercos

**Redescripción:** Basada en 14 adultos colectados de *Vieja bifasciata* de Ulumal, Campeche (Fig. 9A). Cuerpo piriforme, con pocos huevos (1-4). Tegumento recubierto totalmente por espinas puntiagudas y cortas aunque en la parte posterior se encuentran en menor proporción. Remanentes de las manchas oculares marcadas dispersas a los costados de la ventosa distribuyéndose hasta la media de la faringe. Longitud del cuerpo de los especímenes es 400-690 (543±66, n=14) y ancho 120-260 (219±41, n=14) (Fig.

9A). Ventosa oral esférica, subterminal con una longitud de 52-100 ( $82\pm 11$ ,  $n=14$ ) y ancho 67-110 ( $90\pm 10$ ,  $n=14$ ). Acetábulo esférico, preecuatorial, la longitud es 67-100 ( $86\pm 10$ ,  $n=14$ ) y el ancho es 60-110 ( $95\pm 14$ ,  $n=14$ ), siendo el acetábulo menor o mayor de tamaño que la ventosa oral, radio de las ventosas de largo mide 1:0.93-1.28 y de ancho 1:0.88-1.24. Presentan una prefaringe que mide de largo 8-25 ( $17\pm 5$ ,  $n=11$ ). Una faringe musculosa situada entre la ventosa oral y el saco hermafrodita o sobrelapándose en éste; con una longitud de 49-75 ( $59\pm 7$ ,  $n=14$ ) y el ancho es 45-85 ( $63\pm 13$ ,  $n=14$ ). Esófago largo, extendiéndose hasta la parte terminal del saco hermafrodita, la bifurcación cecal al extremo anterior es 192-317 ( $274\pm 38$ ,  $n=9$ ). La forma de los ciegos es sacular terminando en el parte media del testículo. La forma del testículo es esférico a ovalado situado en la parte media posterior del cuerpo; mide de largo 82-147 ( $122\pm 17$ ,  $n=14$ ) y de ancho 57-135 ( $95\pm 20$ ,  $n=14$ ). Saco hermafrodita ovalado situado dorsal al acetábulo, siendo más grande que éste, mide de largo 90-167 ( $129\pm 19$ ,  $n=13$ ) y de ancho 52-110 ( $86\pm 18$ ,  $n=13$ ). Poro genital preacetabular. La vesícula seminal externa en forma esférica a ovalada situada posterior al saco hermafrodita; mide de largo 30-100 ( $60\pm 24$ ,  $n=10$ ) y de ancho 35-75 ( $49\pm 12$ ,  $n=10$ ). El ovario es esférico a alargado situado a nivel ecuatorial del cuerpo; mide de largo 35-70 ( $51\pm 10$ ,  $n=10$ ) y el ancho mide 42-66 ( $56\pm 8$ ,  $n=10$ ). El útero se distribuye entre el acetábulo y el testículo o sobrelapándose en éste. Las glándulas vitelógenas tienen una forma y tamaño irregular, distribuyéndose desde los costados del tercer tercio del acetábulo hasta la parte posterior del testículo. Los huevos miden de largo 37-87 ( $70\pm 14$ ,  $n=30$ ) y de ancho 25-80 ( $411$ ,  $n=30$ ). Vesícula excretora en forma de Y.

## Comentarios

Aguirre-Macedo y Scholz (2005) describieron la especie *Culuwiya cichlidorum* de peces de la familia Cichlidae, particularmente de la especie *Vieja macualicauda* en Nicaragua y de *Vieja synspilum* del sureste de México. En esta investigación se analizó tanto la morfología como la variación genética de *Culuwiya cichlidorum* colectada principalmente de las especies de peces: *Vieja bifasciata*, *Xiphophorus helleri*, *Poecilia mexicana*, *Torichthys helleri*, *Poecilia* sp., *Poecilia sphenops*, *Poecilia gilli* distribuidas en el sureste de México y Costa Rica. Los organismos identificados como *C. cichlidorum* de los huéspedes *V. bifasciata*, *X. helleri*, y *P. mexicana* en este trabajo coinciden con la morfología de la descripción original de Aguirre-Macedo y Scholz (2005). Por lo tanto, basado en la descripción de los ejemplares tipo de *Culuwiya cichlidorum* Aguirre-Macedo y Scholz (2005) y en múltiples organismos analizados de diferentes especies de peces dulceacuícolas de localidades de los estados de Campeche, Veracruz, y de algunas localidades de Costa Rica (Fig. 5) se encontró una similitud en la morfología del parásito para los diferentes huéspedes. Cabe mencionar que al igual que las otras especies de haploporidos, esta especie también fue analizada molecularmente encontrándose una muy baja o casi nula variación genética en un amplio rango de distribución. En este estudio con *Culuwiya cichlidorum* se encontraron 3 diferentes morfos que están distribuidos de la siguiente manera: El primer morfo está asociado al huésped *Vieja bifasciata* de la localidad de Ulumal, Campeche, esta especie de pez tiene una distribución en Centroamérica y sitios de Norteamérica, principalmente en las cuencas del Grijalva y Usumacinta en México y Guatemala (Fig. 9A) (Froese y Pauly 2014). El morfo 2

(Fig. 9B) se encontró asociado al huésped *Xiphophorus helleri* de la localidad de Río la Palma, Veracruz; este huésped tiene una distribución principalmente en Centroamérica, particularmente desde Veracruz hasta el noroeste de Honduras, aunque también se ha registrado en África debido a introducciones como pez de acuario (Froese y Pauly 2014). El tercer morfo (Fig. 9C juvenil) se identificó del huésped *Poecilia mexicana* de la localidad de Playa Grande en Costa Rica, un pez ampliamente distribuido en Centroamérica.

Como se puede observar en las imágenes de la Fig. 9 y en la Tabla 8, los tres morfos de la especie *Culuwiya cichlidorum* se pueden diferenciar por los siguientes caracteres:

- 1) El ancho del testículo del morfo 1 es por lo general de mayor tamaño, así como el ovario a diferencia de los otros dos morfos.
- 2) La longitud del cuerpo del morfo 2 es mayor que en los otros morfos, las manchas oculares pueden extenderse hasta nivel del saco hermafrodita. La vesícula seminal externa siempre se encuentra bipartita.
- 3) El morfo 3 al ser juvenil, presenta un testículo de menor tamaño, haciendo que los ciegos lleguen a nivel posttesticular, a diferencia de los otros morfos que es a nivel testicular.

En la descripción original de *Culuwiya cichlidorum* (Fig. 9D) de los ciclidos *Vieja macualicauda* de Nicaragua y de *Vieja synspilum* del suereste de México, *Culuwiya* podría diferenciarse de *Saccocoelioides* por los siguientes caracteres:

- 1) *Culuwiya* presenta siempre una prefaringe, mientras que en *Saccocoelioides* es corta o ausente. Este caracter no puede ser utilizado para distinguir a *Culuwiya* de *Saccocoelioides* debido a que las especies descritas en el presente trabajo poseen prefaringe.

- 2) El siguiente caracter que utilizaron son la forma de los ciegos, en *Culuwiya* los ciegos son saculares mientras que en *Saccocoelioides* son cilíndricos. Observando las descripciones originales y los ejemplares tipo de *S. lamothei* y *S. chauhani* los ciegos son saculares y no cilíndricos. Por lo que este caracter tampoco puede ser usado para distinguir a *Saccocoelioides* de *Culuwiya* en peces dulceacuícolas de Centroamérica.
- 3) El tercer caracter que utilizaron fue la distribución de las glándulas vitelógenas, en *Culuwiya* mencionan que éstas se localizan posttesticular; mientras que *Saccocoelioides* no se encuentran en esa posición, pero observando los ejemplares de *S. lamothei* presentes en este trabajo, se observa que las glándulas vitelógenas pueden encontrarse posterior al testículo. También se puede observar en *S. chauhani* de la descripción original que las glándulas vitelógenas se distribuyen posterior al testículo, por lo que este caracter es poco contundente para diferenciar a *Culuwiya* de *Saccocoelioides*.
- 4) Otro caracter que fue usado para distinguir a *Culuwiya* de *Saccocoelioides* fue la distribución del útero, en *Culuwiya* mencionan que se distribuye entre el saco hermafrodita y el testículo, mientras que *Saccocoelioides* se ubica a nivel preacetabular y posttesticular. En este trabajo se observa que *Saccocoelioides chauhani* el útero se distribuye entre el acetábulo y el testículo, así mismo en algunos morfos de la especie *S. lamothei* por lo que este caracter tampoco podría ser válido para diferenciar a los géneros.

5) El último caracter que ocuparon para diferenciar los géneros es la mancha presente dentro de los huevos en donde se ha desarrollado el miracidio; en *Culuwiya* no presentan manchas oculares los huevos, mientras que en la mayoría de las especies de *Saccocoelioides* sí presentan. Este caracter tampoco es válido para diferenciar a los géneros pues no todas las especies de *Saccocoelioides* presentan mancha ocular .

Tabla 8. Medidas comparativas entre las morfos de *Culuwiya cichildorum* Aguirre-Macedo y Scholz 2005 descritas en este trabajo.

	<b>Morfo 1 Fig. 9A</b> (n=14)	<b>Morfo 2 Fig. 9B</b> (n=2)	<b>Morfo 3 Fig. 9C</b> (n=3 Juveniles)	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005)</b> (n=9) Fig. 9D	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005)</b>
<b>Huésped</b>	<i>Vieja bifasciata</i>	<i>Xiphophorus helleri</i>	<i>Poecilia mexicana</i>	<i>Vieja macaulicauda</i>	<i>Vieja synspilum</i>
<b>Localidad</b>	Ulumal, Campeche	Río Palma, Veracruz	Playa Grande, Costa Rica	Río Torsuani y Caño Marafrón, Nicaragua y sureste de México	Tabasco, México
<b>Total del cuerpo</b>					
Longitud					
Ancho	400-690 120-260	780-870 210-270	410-660 140-230	470-680 150-335	400-690 157-243
<b>Ventosa oral</b>					
Longitud	52-100	93-100	72-87	67-105	58-81
Ancho	67-110	100-110	77-112	75-125	70-98
<b>Acetábulo</b>					
Longitud	67-100	101-102	72-107	57-120	64-104
Ancho	60-110	107-110	82-112	50-125	70-104
<b>Radio de las ventosas</b>					
Largo	1:0.93-1.28	1:1.08-1.25	1:1-1.3	1:1-1.2	Acetábulo ligeramente mas grande
Ancho	1:0.88-1.24	1:0.94-1.17	1:1-1.07		
<b>Prefaringe</b>	8-25	13-30	15-27	36-72	Corta
<b>Faringe</b>					
Largo	49-75	80-87	50-85	50-82	43-74
Ancho	45-85	85-87	56-85	47-75	49-80

	<b>Morfo 1 Fig. 9A (n=14)</b>	<b>Morfo 2 Fig. 9B (n=2)</b>	<b>Morfo 3 Fig. 9C (n=3 Juveniles)</b>	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005) (n=9) Fig. 9D</b>	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005)</b>
<b>Bifurcación de los ciegos</b>	192-317 Bifurcando hasta la parte terminal del saco hermafrodita	317-377 Bifurcando hasta la parte terminal del saco hermafrodita	172-275 Bifurcando hasta la parte terminal del saco hermafrodita	100-137 Bifurcando hasta la parte terminal del saco hermafrodita	Bifurcando hasta la parte terminal del saco hermafrodita
<b>Extensión de los ciegos</b>	Termina en la parte media del testículo	Termina en la parte media del testículo	Termina postesticular	Termina en la parte media del testículo o dos terceras partes de éste	Termina en la parte anterior del testículo
<b>Posición del poro genital</b>	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular	Preacetabular
<b>Saco hermafrodita</b>					
Longitud	90-167	137	77-100	77-162	86-150
Ancho	52-110	80-90	55-62	62-135	75-93
Ubicación	Dorsal al acetábulo	Dorsal al acetábulo	Dorsal al acetábulo	Dorsal al acetábulo	Dorsal al acetábulo
<b>Vesícula seminal externa</b>					
Largo					
Ancho	30-100	37-50,37-62	32-35		
Forma	35-75 Ovalado	37-50, 32-37 Bipartita	40 Esférica	Bipartita, hinchado	Esférica
<b>Testículo</b>					
Largo	82-147	127-135	55-70	72-175	78-142
Ancho	50-135	80-90	50-62	58-145	59-114
Posición	En la parte posterior del cuerpo	En la parte posterior del cuerpo			

	<b>Morfo 1 Fig. 9A</b> <b>(n=14)</b>	<b>Morfo 2 Fig. 9B</b> <b>(n=2)</b>	<b>Morfo 3 Fig. 9C</b> <b>(n=3 Juveniles)</b>	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005)</b> <b>(n=9) Fig. 9D</b>	<b>Aguirre-Macedo y Scholz (2005)</b>
<b>Ovario</b>					
Largo	35-70	42-47	25-28	37-87	30-76
Ancho	42-66	40-42	20-26	35-85	29-60
Forma	Ovalado	Ovalado	Esférico	Esférico	Esférico
<b>Útero</b>	Se distribuye entre el acetábulo y el testículo o sobrelapándose en éste	Se distribuye entre el acetábulo y el testículo	Juvenil	Se distribuye entre el acetábulo y el testículo	Se distribuye entre el acetábulo y el testículo
<b>Huevos</b>					
Largo	37-87	82-87		67-81	68-89
Ancho	25-80	30-52		36-47	42-53
	Operculados			Operculados	Operculados
<b>Glándulas vitelógenas</b>	Irregular en forma y tamaño distribuyéndose desde los costados del tercer tercio del acetábulo hasta la parte posterior del testículo o terminal del cuerpo	Irregular en forma y tamaño distribuyéndose desde los costados del tercer tercio del acetábulo hasta la parte posterior del testículo o terminal del cuerpo	Irregular en forma y tamaño distribuyéndose desde el nivel postacetabular a postesticular	Grandes, generalmente longitudinalmente alargados, distribuidos desde el nivel medio posterior del acetábulo confluyendo en la región postesticular	Grandes, generalmente longitudinalmente alargados, distribuidos desde el nivel medio posterior del acetábulo confluyendo en la región postesticular
<b>Vesícula excretora</b>	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y	En forma de Y

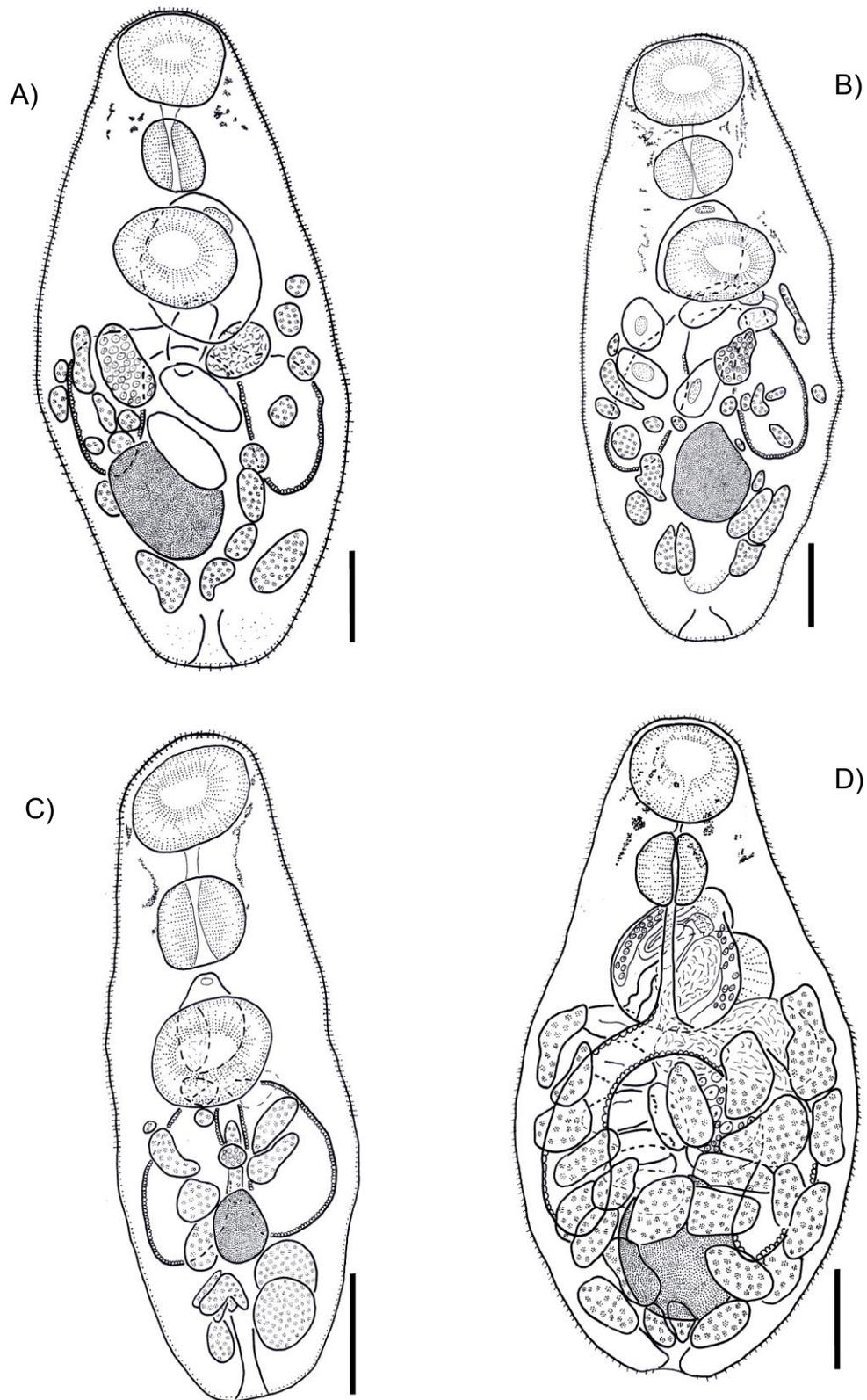


Fig. 9. Morfos de *Culuwiya cichlidorum*. A) Morfo 1. B) Morfo 2. C) Morfo 3. D) Descripción original (Modificado de Aguirre-Macedo y Scholz 2005). Barras representa 100 micrones.

#### **IV.VII. *Saccocoelioides* sp. (Fig.10)**

PHYLUM Platyhelminthes Gegenbaur, 1859

CLASE Trematoda Rudolphi, 1808

SUBCLASE Digenea Carus, 1863

ORDEN Echinostomida LaRue, 1957

SUPERFAMILIA Haploporoidea Nicoll, 1914

FAMILIA Haploporidae Nicoll, 1914

SUBFAMILIA Chalcinotrematinae Overstreet y Curran, 2005

GÉNERO *Saccocoelioides* Szidat, 1954

ESPECIE ***Saccocoelioides* sp.**

**Sitio de Infección:** Intestino

**Huéspedes:** *Dormitator maculatus*, *Gambusia yucatana*

**Localidades:** Veracruz: Boca del río; Campeche: El Milagro; Yucatán: El Corchito Progreso

**Descripción:** Basada en 14 adultos. Cuerpo piriforme, con pocos huevos (1-5). Tegumento recubierto totalmente por espinas puntiagudas y cortas aunque en la parte posterior se encuentran en menor proporción. Remanentes de las manchas oculares tenues dispersos a los costados de la ventosa distribuyéndose hasta el acetábulo. Longitud del cuerpo de los especímenes es 340-520 ( $417 \pm 52$ ,  $n=14$ ) y ancho 150-250 ( $181 \pm 26$ ,  $n=14$ ) (Fig. 10). Ventosa oral esférica, subterminal con una longitud de 50-80 ( $63 \pm 11$ ,  $n=14$ ) y ancho 55-84 ( $67 \pm 11$ ,  $n=11$ ). Acetábulo esférico, preecuatorial, la longitud es 55-80 ( $68 \pm 9$ ,  $n=11$ ) y el ancho es 60-87 ( $75 \pm 9$ ,  $n=11$ ), siendo el acetábulo de menor o mayor tamaño que la ventosa oral, radio de las ventosas miden de largo 1:0.87-1.30 y de ancho 1:0.94-1.17. Pueden presentar una prefaringe que mide de largo 13-35 ( $25 \pm 7$ ,  $n=8$ ). Una faringe musculosa situada entre la ventosa oral y el saco hermafrodita; con una longitud de 40-53 ( $45 \pm 4$ ,  $n=14$ ) y el ancho es 40-73 ( $52 \pm 9$ ,  $n=14$ ). Esófago corto,

extendiéndose hasta la mitad del saco hermafrodita, la bifurcación cecal al extremo anterior es 70-100 ( $82 \pm 10$ ,  $n=10$ ). La forma de los ciegos es sacular terminando en la parte anterior al testículo o tocando éste. La forma del testículo es esférico a ovalado situado en la parte posterior o terminal del cuerpo; mide de largo 75-125 ( $92 \pm 17$ ,  $n=14$ ) y de ancho 70-97 ( $82 \pm 10$ ,  $n=14$ ). Saco hermafrodita esférico a ovalado, la mitad del saco hermafrodita se encuentra situado dorsal al acetábulo, siendo más largo que el acetábulo, mide de largo 60-90 ( $76 \pm 10$ ,  $n=14$ ) y de ancho 47-87 ( $75 \pm 10$ ,  $n=14$ ). Vesícula seminal interna es esférica a ovalada, cubriendo una tercera parte o la mitad del saco hermafrodita. Poro genital preacetabular. La vesícula seminal externa es bipartita en tándem, con forma circular a ligeramente ovalada, situado posterior al saco hermafrodita mide de largo 30-75 ( $54 \pm 214$ ,  $n=11$ ) y de ancho 32-75 ( $49 \pm 13$ ,  $n=11$ ). El ovario es esférico a ovalado está situado a nivel de la segunda vesícula seminal externa mide de largo 22-35 ( $26 \pm 4$ ,  $n=11$ ) y el ancho mide 20-35 ( $24 \pm 4$ ,  $n=11$ ). No se observó receptáculo seminal ni canal de Laurer. El útero se distribuye entre el acetábulo y el testículo o desde la parte media del acetábulo hasta el primer tercio del testículo. Las glándulas vitelógenas tienen una forma y tamaño irregular, distribuyéndose en los campos laterales del ovario confluyendo en la parte posterior del cuerpo. Los huevos son operculados de largo miden 60-82 ( $69 \pm 6$ ,  $n=14$ ) y de ancho 28-47 ( $36 \pm 6$ ,  $n=13$ ), los huevos no presentan mancha ocular. Vesícula excretora en forma de Y.

### **Comentarios**

Se realizaron silmutaneámente los analisis moleculares y morfológicos donde se encontró (Fig. 10) que existe una nueva especie de *Saccocoelioides* que parasita a las especies de peces; *Dormitator maculatus* y *Gambusia yucatanana* en las vertientes del Golfo de México.

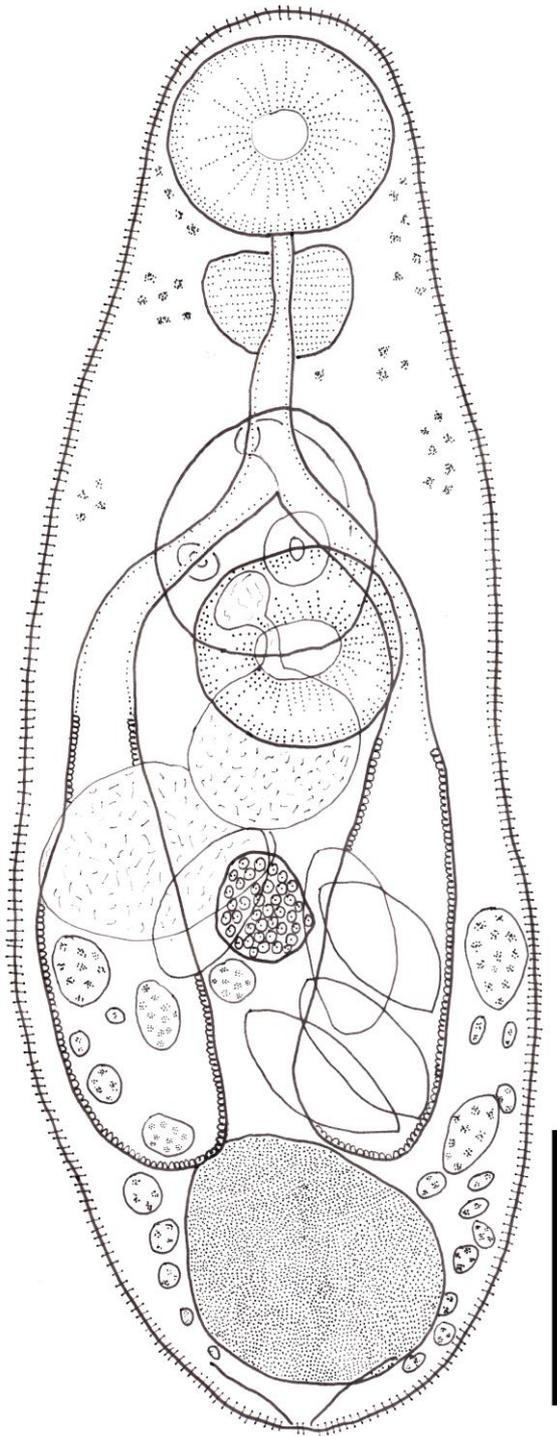


Fig. 10. *Saccocoelioides* sp. Barra representa 100 micrones

#### **IV.VIII. Análisis molecular.**

En el presente trabajo se identificaron tres especies nominales del género *Saccocoelioides* (*S. lamothei*, *S. chauhani*, *S. tarpazensis*), una como *Saccocoelioides* sp. y *Culuwiya cichlidorum* con base en caracteres morfológicos. Para poder llevar a cabo el análisis molecular, se extrajo DNA genómico de ejemplares representantes de las especies y de otros ejemplares colectados de los cuales no se tenía suficiente material para hacer el análisis morfológico pero sí para el estudio molecular. En la Tabla 3 se muestran el nombre de la localidad, huésped tipo y el número de organismos de cada especie analizado. En total para el gen 28S se secuenciaron 40 ejemplares, mientras que del ITS2 se obtuvieron 39 secuencias.

#### **IV. IX. Alineamiento de las secuencias.**

El alineamiento del gen 28S incluyó una secuencia de *Saccocoelioides* sp. disponible en Genbank mas 25 especies de la familia Haploporidae (Tabla 4) además de 3 secuencias de las familias: Atractotrematidae, Paragonimidae, y Lepocreadiidae que se usaron como grupos externos obtenidos de la base de datos del Genbank (Tabla 4). Mientras que el alineamiento del gen ITS2 incluyó 20 secuencias de la familia Haploporidae (Tabla 4), además de la secuencia que se usó como grupo externo (*Paragonimus westermani*) de acuerdo a Blasco-Costa *et al.* 2009 (Tabla 4). El alineamiento del gen 28S incluye 77 terminales y está conformado por 1,353 caracteres, mientras que el ITS2 incluye 67 terminales conformado por 404 caracteres, esto debido a que no todas las secuencias se encontraban en el GenBank disponibles para ambos marcadores, así mismo se realizó un alineamiento concatenado de los dos genes con 67 terminales conformado por 1,757 caracteres.

#### IV. X. Análisis filogenético.

Se realizaron análisis filogenéticos por separado y concatenado del gen 28S y el fragmento ITS2 con dos métodos de inferencia filogenética: Máxima Verosimilitud (ML por sus siglas en inglés) e Inferencia Bayesiana (BI). El árbol filogenético concatenado (ML) con los valores de Probabilidades Posteriores correspondientes del análisis de BI puede observarse en la Fig. 11. Las hipótesis filogenéticas recuperadas con ML y BI para el gen 28S e ITS2 fueron congruentes entre sí (Figs. 12-13). Dentro del clado donde se encuentra el género *Saccocoelioides* se encuentran 5 clados que corresponde a cada una de las especies analizadas en este estudio (*Saccocoelioides lamothei* clado 1 de color rosa; *Saccocoelioides* sp. clado 2 de color verde; *Saccocoelioides chauhani* clado 3 de color rojo; *Saccocoelioides tarpazensis* clado 4 de color naranja y *Culuwiya cichlidorum* clado 5 de color azul). En el clado 1 de color rosa se anidaron los ejemplares de la Laguna de Tres Palos Guerrero, localidad tipo de la especie *S. lamothei* junto con otros ejemplares analizados de diferentes huéspedes y distintas localidades del estado de Oaxaca, y una localidad de Costa Rica. En el clado 2 *Saccocoelioides* sp. de color verde se anidaron los ejemplares de *D. maculatus* y *G. yucatanana* de las localidades de Yucatán, Campeche y Veracruz. En el clado 3 de color rojo *S. chauhani* de la localidad tipo (Lago de Catemaco, Veracruz). En el clado 4 de color naranja se ubicó la especie *S. tarpazensis* colectada de la Isla Margarita, Venezuela y el Lago de Catemaco Veracruz. Finalmente el clado 5 de color azul que corresponde con ejemplares identificados morfológicamente como *Culuwiya cichlidorum* analizados principalmente de peces de la familia Cichlidae y Poeciliidae del sureste de México. Los análisis filogenéticos demuestran que la especie *Culuwiya cichlidorum* descrita por Aguirre-Macedo y Scholz (2005) corresponde con una especie del género *Saccocoelioides* y no con una del género *Culuwiya* (Fig. 11).

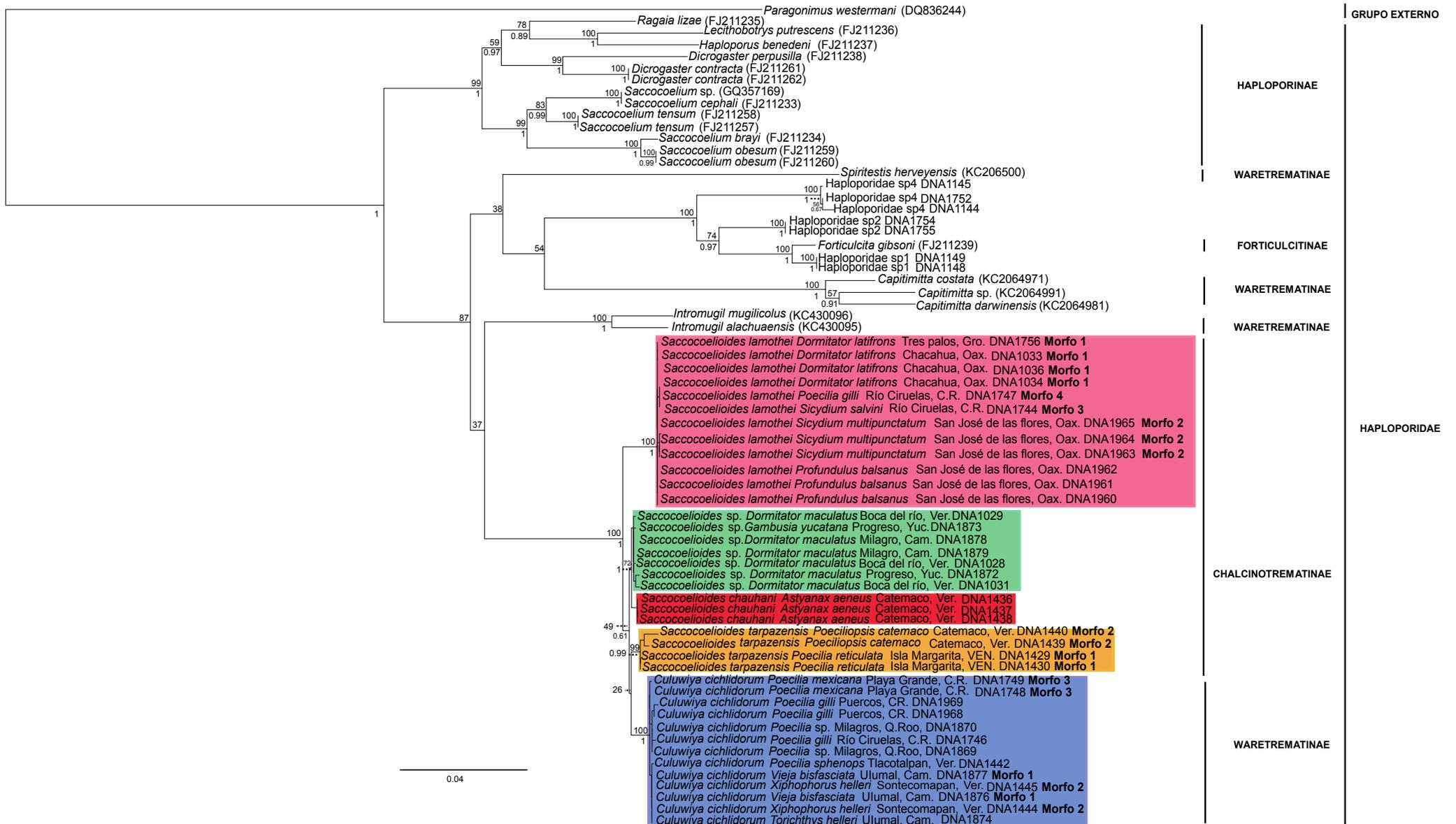


Fig. 11. Hipótesis filogenética derivada del análisis concatenado (ITS2+28S) usando el método de Máxima Verosimilitud (Likelihood: -9905.532839). Los números cercanos a los nodos internos muestran los valores de ML bootstrap y probabilidades posteriores (PP).



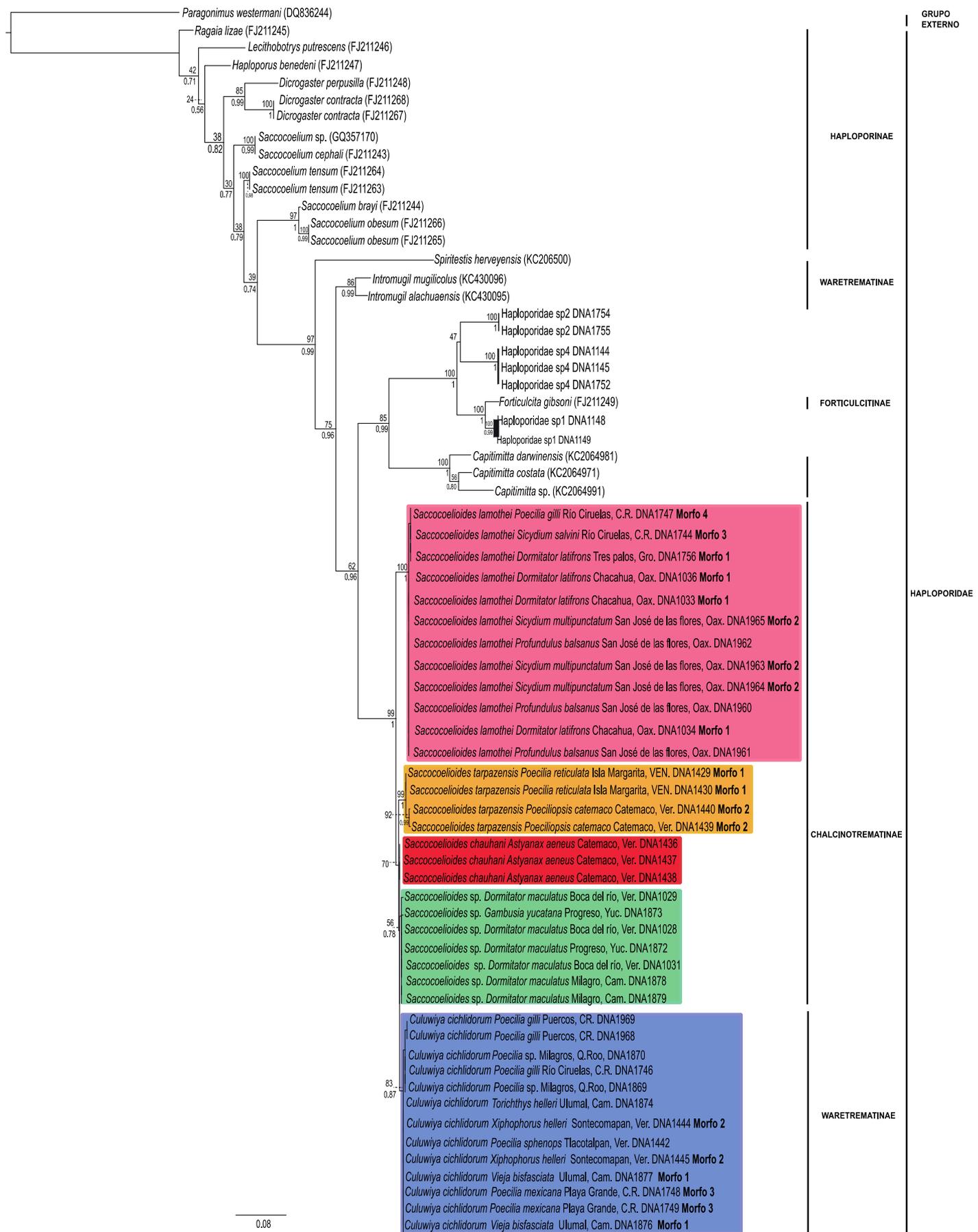


Fig. 13. Hipótesis filogenética obtenida del gen ITS2 con el método de Máxima Verosimilitud (Likelihood: -3157.574271). Los números cercanos a los nodos internos muestran los valores de ML bootstrap y probabilidades posteriores (PP).

#### IV. XI. Distancias genéticas.

Las distancias genéticas entre las especies analizadas en este trabajo fueron calculadas usando el método de Kimura 2 Parámetros (K2P) usando los alineamientos del 28S (1354 pb) y del ITS2 (404 pb). Los rangos de divergencia genética estimados entre las poblaciones de la especie *S. lamothei* fue de 0-0.6% en 28S y de 0-1.1% en ITS2, en la especie *S. chauhani* no hubo variación. La especie *S. tarpazensis* mostró variación intraespecífica de 0-0.4% en 28S y de 0-0.2% en ITS2. Para *Saccocoelioides* sp. se encontró una variación de 0-0.4% en 28S y de 0-0.2% en ITS2. Mientras que *Culuwiya cichlidorum* mostró una variación del 0-0.2% en 28S y del 0-0.65% en ITS2. A continuación se muestra la Tabla 9 donde se hace una comparación de las distancias genéticas intra e interespecíficas de las especies de *Saccocoelioides* y *Culuwiya* analizadas.

Tabla 9. Distancias genéticas intra e interespecíficas de *Saccocoelioides* y *Culuwiya* expresadas en porcentaje. En negritas se muestran las distancias genéticas intraespecie (28S-ITS2). Por debajo de la diagonal se muestra las distancias del 28S y por encima de la diagonal se muestra las distancias de ITS2.

	1	2	3	4	5
1 <i>Saccocoelioides lamothei</i>	<b>0-0.6/0-1.1</b>	2.2-3.1	2.5-3.7	2.2-3.3	2.8-4.2
2 <i>Saccocoelioides chauhani</i>	1.2-1.4	<b>0/0</b>	0.3-0.6	0-0.2	0.6-1.1
3 <i>Saccocoelioides</i> sp.	0.9-1.5	0.2-0.4	<b>0-0.1/0-.0.3</b>	0.2-0.8	0.8-1.6
4 <i>Saccocoelioides tarpazensis</i>	0.9-1.7	0.4-0.7	0.1-0.5	<b>0-0.4/0-0.2</b>	0.5-1.3
5 <i>Culuwiya cichlidorum</i>	1.3-1.8	0.8-0.9	0.7-1	0.5-1	<b>0-0.2/0-0.5</b>

## V. DISCUSIÓN.

### V.I Caracterización morfológica.

*Saccocoelioides lamothei* fue descrita por Aguirre-Macedo y Violante González (2008) del eleotrido *Dormitator latifrons* por los caracteres morfológicos ya mencionados (posición terminal del testículo, distribución de las glándulas vitelógenas ocupando desde nivel del ovario a nivel postesticular, la distribución del útero que se extiende desde nivel del acetábulo hasta nivel terminal del cuerpo, y presencia de manchas oculares en los huevos), pero *S. lamothei* con base en nuestros resultados no se puede diferenciar como especie por estos caracteres; la posición del testículo mencionan en la descripción original es terminal, en nuestro estudio se posiciona a nivel subterminal según el huésped que parasiten por lo que no ayuda para diferenciarlos de otras especies; la distribución de las glándulas vitelógenas en la descripción original las ubican desde nivel del ovario a postesticular, pero en los morfos 3 y 4 de *S. lamothei* el nivel de las vitelógenas alcanza el nivel acetabular; la posición del útero la describen desde nivel acetabular a postesticular, pero en los diferentes morfos (2, 3, 4) de *S. lamothei* éstos se confinan entre el acetábulo y el testículo, por lo que este carácter no puede ser usado para diferenciar a *S. lamothei* de otros *Saccocoelioides*.

El siguiente carácter que ocuparon para diferenciar a *S. lamothei* fue la presencia de manchas oculares dentro del miracidio, pero éstas manchas tienen que ver con el desarrollo del miracidio, ya que en los morfo 2, 3, y 4 no presentan la mancha ocular. Estos caracteres que ocuparon los autores para

diferenciar a *S. lamothei* de *S. chauhani* y *S. sogandaresi* no pueden ser usados como diagnósticos. Con base en nuestros resultados, *S. lamothei* presenta una variación morfológica que podría ser causada por sus huéspedes (Blasco-Costa *et al.* 2010).

Existen estudios previos donde se ha demostrado que tremátodos de la familia Haploporidae muestran variación fenotípica pero no genotípica. En el estudio de Blasco-Costa *et al.* (2010), con el género *Saccocoelium* del mar Mediterráneo encontraron morfos diferentes sin ninguna variación genética usando los genes 28S e ITS2, estos investigadores sugirieron que una causa ambiental podría causar los cambios de la morfología del parásito, además que el huésped tiene una fuerte influencia para la variación del parásito. Así mismo mencionan que el huésped intermediario puede generar las variaciones morfológicas. Esta investigación con la especie *Saccocoelioides lamothei* soporta el trabajo de Blasco-Costa *et al.* (2010), sugiriendo una variación morfológica con una nula variación genética.

*Saccocoelioides chauhani* descrito por Lamothe-Argumedo (1974) donde se diferenció de las demás especies por los siguientes caracteres: útero restringido entre acetábulo y testículo, vitelógenas distribuidas desde nivel acetabular a postesticular, y la parte genital no termina en el ducto hermafrodítico, pero estos caracteres se sobrelapan con los de algunos morfos de *Saccocoelioides lamothei* por lo que no se pueden usar estos caracteres para diferenciar la especie.

*Saccocoeloides tarpazensis* descrito por Díaz y González 1990 se caracteriza principalmente por presentar dos conductos: eferente y deferente pero este carácter es difícil de observar, pero las medidas que obtuvieron en la descripción original fueron muy similares a las que nosotros tenemos además de estar presente en el mismo huésped. En la descripción original se observan morfos diferentes de acuerdo al método de colecta (natural o artificial) lo que se entiende como variación morfológica, en nuestros especímenes colectados en la Isla Margarita de *Poecilia reticulata* (huésped tipo) se encontraron dos morfos: uno con pocos huevos y otro con varios huevos, siendo el segundo más parecido al esquema de la descripción original. El morfo que se encuentra en el Lago de Catemaco son de un mayor tamaño que el morfo 1 pero está dentro del rango de los morfos descritos en Díaz y González (1990). En este estudio se amplía el área de distribución de *Saccocoeloides tarpazensis* no solamente para Venezuela sino también en el Lago de Catemaco, esta especie puede ser que sea específica de poecilidos, ya que en Catemaco también existe la especie de *S. chauhani* pero infecta carácidos; posiblemente *Poecilia reticulata* ha sido introducido en Catemaco con lo menciona Devezé *et al.* (2004) y que este fue transferido de manera horizontal a los poecilidos de Catemaco.

*Culuwiya cichlidorum* descrita en 2005 por Aguirre-Macedo y Scholz para cichlidos de Nicaragua y sureste de México, fue colocada dentro del género *Culuwiya* por presentar una prefarige, ciegos saculares, glándulas vitelógenas postesticulares, huevos sin miracidios y una vesícula seminal bipartita. Nuestros ejemplares colectados coinciden con las medidas y características descritas en Aguirre-Macedo y Scholz (2005) por lo que sugerimos que es

*Culuwiya cichlidorum* debido a que se encuentra en *Vieja bifasciata* (Cichlidae) y coincide con la descripción. Los caracteres que los autores ocupan para diferenciar *Culuwiya cichlidorum* de *Saccocoelioides* se sobrelapan como se ha mencionado en los comentarios de la descripción de *Culuwiya cichlidorum*. Nuestros resultados soportan que la especie de *C. cichlidorum* no es específica de la familia Cichlidae, sino también parasita a especies de la familia Poeciliidae. En este trabajo, basado en el análisis de la morfología y los análisis filogenéticos se propone que las organismos colectados de ciclidos y poecilidos del sureste de México y partes de Costa Rica sean transferidos al género *Saccocoelioides*.

En este trabajo basado en los caracteres morfológicos se propone que existe una nueva especie de *Saccocoelioides* la cual parasita a las especies de peces; *Dormitator maculatus* y *Gambusia yucatana* en las vertientes del Golfo de México. Finalmente, *Saccocoelioides sogandaresi* descrita por Lumsden en 1963 donde realizó una pobre descripción ya que no realizó ningún tipo de esquema, además de que no señaló una localidad tipo sino de varias en Texas, ésta fue la primera especie descrita para Norteamérica y fue validada en la reorganización de la familia (Overstreet y Curran 2005); Scholz *et al*, 1995 registraron a *Saccocoelioides sogandaresi* en Yucatán de *Poecilia velifera* por primera vez en México, desde entonces muchos registros de *S. sogandaresi* fueron hechas para diferentes huéspedes y diferentes localidades, sin embargo muchas de éstas fueron colocadas como *Saccocoelioides c.f. sogandaresi* (Salgado-Maldonado *et al.* 2004b; Pineda-López *et al.* 2005; Salgado-Maldonado *et al.* 2005a) esto indicaba que tenía forma de *S. sogandaresi* pero

no estaban seguros que sí lo fuera. Nosotros colectamos un ejemplar del pez *G. yucatanana* (Poeciliidae) en Progreso, Yucatán que fue utilizado para análisis moleculares, resultando ser *Saccocoelioides* sp. con bases moleculares.

Por otra parte, el género *Saccocoelioides* está conformado por organismos de tamaño muy pequeño que apenas alcanzan un máximo de 800 micras dificultando poder observar todas las estructuras internas al estar tan llenos de glándulas vitelógenas; además la manera en que se fijan o montan pueden modificar su morfología, estos dos factores provocan una errónea identificación de los organismos, como es el caso de *S. lamothei*, el cual al estar aplastado la serie tipo, la posición del testículo cambió, en vez de estar en posición subterminal, se presenta en posición terminal (Uno de los caracteres para diferenciar *Saccocoelioides lamothei*). Asimismo se tiene que tomar en cuenta que presentan variación morfológica derivada del huésped que parasitan tal como lo mencionan Blasco-Costa *et al.* (2010), la cual solamente se observa cuando estudias caracteres moleculares.

## **V.II. Caracterización molecular.**

### **V. II.I. Relaciones del género *Saccocoelioides*.**

Como se puede observar en las Figs. 11, 12 y 13 se muestran cuatro especies de *Saccocoelioides* y una de *Culuwiya*: *Saccocoelioides lamothei*, *Saccocoelioides chauhani*, *Saccocoelioides tarpazensis*, *Saccocoelioides* sp. y *Culuwiya cichlidorum*. En el árbol concatenado se recuperan 5 clados dentro del género *Saccocoelioides* donde se anidan los ejemplares previamente identificados como *Culuwiya cichlidorum*, con esta evidencia se propone

realizar un rearrreglo taxónomico de la especie *Culuwiya cichlidorum* ya que no existe evidencia morfológica y molecular que apoye el registro de una especie del género *Culuwiya* en peces dulceacuícolas.

Los rangos de distancias genéticas interespecíficas varían del 0.2 al 1.8 y del 0 al 4.2% para el gen 28S e ITS2 respectivamente (Tabla 9). Estos valores fueron muy bajos en comparación con otros estudios previos (Blasco-Costa *et al.* 2009). Por ejemplo, estos autores encontraron que *Saccocoelium brayi* y *Saccocoelium obesum* varían 0.9% en 28S y 2.1% en ITS2.

## VI. CONCLUSIONES.

1. Los organismos analizados en el presente estudio identificados como *Saccocoelioides* tienen origen monofilético, puesto que la especie de *Culuwiya cichlidorum* fue identificada erróneamente.
2. La distribución de la especie *Saccocoelioides lamothei* se amplía encontrándose en los siguientes estados del país: Oaxaca, Guerrero; además de que también se localiza en Costa Rica con vertientes al Pacífico, y los huéspedes que infecta pertenecen a diferentes familias de peces dulceacuícolas (Eleotridae, Poeciliidae, Gobiidae, y Profundulidae).
3. *Saccocoelioides chauhani* es específica de *Astyanax aeneus* y se localiza solamente en el Lago de Catemaco, Veracruz.
4. *Saccocoelioides* sp. es una especie que parasita a los peces de *Dormitator maculatus* (Eleotridae) y *Gambusia yucatanana* (Poeciliidae) de las vertientes del Golfo de México.
5. *Saccocoelioides tarpazensis* se distribuye en Venezuela y el lago de Catemaco en peces de la familia Poeciliidae. Presentan morfos diferentes.
6. Sugerimos que la especie *Culuwiya cichlidorum* sea incluida dentro del género *Saccocoelioides*. Además, se amplía su rango de huéspedes (Cichlidae, Poeciliidae) así como de distribución; a lo largo del sureste mexicano y sitios de Costa Rica, siendo probable que las especies de Nicaragua registradas como *Culuwiya cichlidorum* sean *Saccocoelioides*.

## LITERATURA CITADA

Aguilar-Castellanos E. 2002. Inventario de helmintos parásitos de peces de la cuenca del Río Pánuco y parte del Lerma-Santiago. B. S. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 53 pp.

Aguirre-Macedo M.L. y J. Violante-González. 2008. *Saccocoelioides lamothei* n. sp. from *Dormitator latifrons* (Pisces: Eleotridae) from coastal lagoons of Guerrero, Mexico. *Rev. Mex. de Biod.*, **79**:33S-40S.

Aguirre-Macedo M. L. y T. Scholz. 2005. *Culuwiya cichlidorum* n. sp. (Digenea: Haploporidae) from the blackbelt cichlid *Vieja maculicauda* (Pisces: Cichlidae) from Nicaragua. *J. of Parasit.*, **92**: 944:948.

Andrade-Salas O. 1987. Dinámica poblacional de los tremátodos del tubo digestivo de la mojarra *Cichlasoma synspilum* en la laguna de Santa Anita, Centla, Tabasco. Tesis de Licenciatura, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F. 109 pp.

Andres M.J., E.E. Pulis, T.H. Cribb y R. Overstreet. 2014. Erection of the haploporid genus *Litosaccus* n. g. and its phylogenetic relationship within the Haploporidae Nicoll, 1914. *Syst. Parasitol.* **89**(3):185-94.

Bargiela J.F. 1987. Los parásitos de la lisa *Mugil cephalus* L., en Chile: Sistemática y aspectos poblacionales (Perciformes:Mugilidae). *Gayana Zool.* **51**: 3-58.

Blasco-Costal I., J.A. Babuena., A. Kostadinova., y P. Olson. 2009. Interrelationships of the Haploporinae (Digenea: Haploporidae): A molecular test of the taxonomic framework based on morphology. *Parasitol. Int.*, **58**, 263-269.

Blasco-Costa I., J.A. Balbuena., J.A. Raga., A. Kostadinova., y P.D. Olson. 2010. Molecules and morphology reveal cryptic variation among digeneans infecting sympatric mullets in the Mediterranean. *Parasitol.*, **137**, 287–302.

Besprozvannykh V.V., A.V. Ermolenko., y D.M. Atopkin. Redescription of trematodes *Skrjabinolecithum spasskii* Belouss, 1954, *S. flecterotestis* (Zhukov, 1971) comb. nov. (Trematoda: Haploporidae Nicoll, 1914) and new species *Skrjabinolecithum* sp. from mullet of South of the Russian Far East.

Unpublished

Caballero y Rodriguez G., C. del Rio-Estrada., L. Rodriguez-Alvarez., y G. C. Tello-Sandoval. 1992. Trematodos como indicadores de Niveles de contaminación por Acido Sulfhídrico en el Golfo de México e Impacto de este ácido en la Salud Pública. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Auth. México, **19** (2): 151-161

Cabañas-Carranza G. 2001. Comunidades de helmintos parásitos de seis especies de peces de la Laguna "El Jabalí", Jalisco, México. B. S. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 82 pp.

Cuevas-Macías J.F. 1997. Estudio taxonómico de la "Chopa" *Kyphosus elegans* (Peters, 1869) en las Islas del Golfo de California, México. B. S. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 113 pp.

Devezé Murillo P., J. L. Reta Mendiola., y B. Sánchez Luna Cultivo de *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) en cuerpos de agua tropicales, Veracruz, México. 2004. *Rev. Biol. Trop.* **52** (4)

Díaz M. y G. González. 1990. Ciclo de vida de *Saccocoelioides tarpazensis* n. sp. (Trematoda: Haploporidae). *Act. Cient. Ven.*, **41**: 327-336.

Díaz M., A. K. Bashirullah., L. E. Hernández., y E. Gómez. 2009. Lyfe Cicle of *Culuwiya tilapiae* (Nasir y Gómez, 1976) (Trematoda: Haploporidae) IN VENEZUELA. *Rev. Científica*, Vol. XIX. Núm. 5: 439-445.

Dyer W., L. Bunkley-Williams., y E. Williams. 1999. *Saccocoelioides agonostomus* sp. n. (Digenea: Haploporidae) from the Mountain Mullet and the Serajo Goby in Puerto Rico, with the summary of the Genus. *Caribb. J. Sci.*, Vol 35, No. 3-4, 225-230.

Drummond A. J. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* , 7:214

Froese R. y D. Pauly. Editors. 2014. FishBase.World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) , versión (08/2014).

Franco L.J., R. Chávez., E. Peláez., y C. Bedia. 1996. Riqueza ictiofaunística del sistema lagunar de Alvarado, Veracruz. *Rev. Zool.*, 2:17–32.

García Magaña L., y S. López Jiménez. 2008. Parásitos de peces de la reserva de la biosfera "Pantanos de Centla", Tabasco: algunas recomendaciones para su prevención y control. *Rev. Div. Kux*.

García-Prieto L., B. Mendoza-Garfías y G. Pérez-Ponce de León. 2014. Biodiversidad de Platyhelminthes parásitos en México. *Rev. Mex. de Biod.*, 85: S164-S170.

García-Varela M., y S. A. Nadler. 2005. Phylogenetic relationships of Palaeacanthocephala (Acanthocephala) inferred from SSU and LSU RDNA gene sequences. *J. of Parasitol.*, 91(6): 1401-1409.

Guajardo-Martínez G. 1984. Preliminary survey of parasites of Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. *J. Ariz-Nev. Acad. Sci.*, 19, 81–83.

Hernández-Mena D. I., L. García-Prieto., y M. García-Varela. 2014. Morphological and molecular differentiation of *Parastrigea* (Trematoda: Strigeidae) from Mexico, with the description of a new species. *Parasitol. Int.* **63**, 315–323.

Hillis D. M. y M. T. Dixon. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *Q. Rev. Biol.*, **66**: 411-453.

Hugot J. P., P. Baujard y S. Morand. 2001. Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematol.* **3**:199-208.

Jiménez-García M.I. 1996. Comunidades de helmintos parásitos de los peces del Lago de CAtemaco, Veracruz, Mexico. M. Sc. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 110pp.

Kohn A. 1985. On the *Saccocoelioides* described by Szidat in 1954 in the genus *Saccocoelioides* (Digenea: Haploporidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. **84** (4): 387-393.

Kohn A. y O. Miranda. 1986. *Saccocoelioides godoy* n. sp. (Haploporidae) and other trematodes parasites of fishes from the Guaiba Estuary, RS, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. **81** (1): 67-72.

Lamothe-Argumedo R. 1997. Manual para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres, México, AGT Editor.

Lamothe-Argumedo R. 1974. Estudio helmintológico de los animales silvestres de la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”, “Veracruz. Trematoda I. Una nueva especie de *Saccocoelioides* Szidat 1954, parasita de *Astyanax fasciatus aeneus* Gunther. An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México, 45, ser. *Zool.* (1): 39-44.

Larkin M.A., G. Blackshields., N.P. Brown., R. Chenna., P.A. McGettigan., I.M. McWilliam., A. Wilm., R. Lopez., J.D. Thompson., T.J. Gibson., y D.G. Higgins. 2007. ClustalW and Clustal X version 2. *Bioinformatics*, **23** (21): 2947-2948.

López-Jiménez S. 2001. Estudio parasito lógico de los peces de aguas dulces del estado de Tabasco. Gaceta Sigolfo Sistema de Investigación del Golfo de México, 8–10.

Lumsden, R. D. 1963. *Saccocoelioides sogandaresi* sp. n., a new Haploporid Trematoda from the Sailfin *Mollinesia latipinna* Le Sueur in Texas. *J. Parasitol.* **49** (2): 281-284.

Lunaschii L. 1984. Helmintos parasites de peces de agua dulce de la Argentina I. Tres nuevas especies del género *Saccocoelioides* Szidat, 1954 (Trematoda Haploporidae). *Rev. Neotrop.*, **30** (83): 31-42.

Lunaschi L. 2002. Redescrición de *Saccocoelioides octavus* Szidat 1970 y *S. bacilliformis* Szidat, 1973 (Digenea, Haploporidae) parásitos de peces del género *Astyanax* Baird y Girard 1854 (Pisces: Characidae). *Gayana Zool.* **66**: 31-37.

Luton K., D. Walker., y D. Blair. 1992. Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Mol. Biochem. Parasitol.*, **56**: 323–327.

McManus D. P. y J. Bowles. 1996. Molecular genetics approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics. *Int. J. Parasitol.*, **26**: 687-704.

Madhavi, R. 1979. Digenetic trematodes from marine fishes of Waltair Coast, Bay of Bengal. Families Haploplanchnidae and Haploporidae. *Riv. Parassit.*, **40** (2):281-284.

Maldonado Tapia L. 2009. Taxonomía de Algunos Trematodos parásitos de peces marinos del pacífico mexicano. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias. México, México D.F. 58 pp.

Martin W. E. 1973. Life History of *Saccocoelioides pearsoni* n. sp. and the description of *Lecithobotrys sprengi* n. sp. (Trematoda: Haploporidae). *Trans. Amer. Micr. Soc.*, **92** (1): 80-95.

Marques J.F. , Santos M.J., Gibson D.I., Cabral H.N., y P.D. Olson. 2007. Cryptic species of *Didymobothrium rudolphii* (Cestoda:Spathelobothriidae) from the sand sole, *Solea lascaris*, off the Portuguese coast, with an analysis of their molecules, morphology, ultrastructure and phylogeny. *Parasitol.* **134**: 1057-1072.

Martínez-Aquino A., R. Pérez-Rodríguez., D.I. Hernández-Mena., L. Garrido-Olvera., R. Aguilar-Aguilar., y G. Pérez-Ponce de León. 2012. Endohelminth parasites of seven goodein species (Cyprinodontiformes: Goodeidae) from Lake Zacapu, Michoacán, Central Mexico Plateau. *Hidrobiol.*, **22**, 89–93.

Martorelli S. R. 1986. El ciclo biológico de *Saccocoelioides carolae* Lunaschi (Digenea) Parasito de *Cichlasoma Facetum* (Jenyns, 1842) (Pisces: Cichlidae). *Rev. Neotrop.* **32** (88): 125-132.

Mayén-Peña E. 2003. Distribución intestinal de helmintos parásitos de los peces *Agonostomus monticola* (Pisces:Mugilidae) y *Dormitator latifrons* (Eleotridae) en tres localidades del Estado de Jalisco, Mexico. M. Sc. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 98 pp.

Méndez-Ortíz A. 2003. Caracterización y estructura de la comunidad e parásitos dmetazoarios del “popoyote” *Dormitator latifrons* Richardson, 1844 (Pisces:Eleotridae) en dos lagunas costeras del Estado de Guerrero, México. B.S. Thesis, Unidad Académica de Ecología Marina, Universdad Autónoma de Guerrero, Acapulco, Guerrero, México 46 pp.

Nadler S. y G. Pérez-Ponce de León. 2011. Integrating molecular and morphological approaches for characterizing parasite cryptic species: implications for parasitology. *J. Parasitol.* **138**: 1688-1709.

Nasir P. y Y. Gómez. 1976. *Carassotrema tilapia* n. sp. (Haploporidae Nicoll 1914) from the freshwater fish, *Tilapia mossambica* (Peters), in Venezuela. *Riv. Parassit.*, **37** (2-3) :207-228.

Nolan M. J. y T. H. Cribb. 2005. The use and implications of ribosomal DNA sequencing for the discrimination of digenean species. *Adv. Parasitol.*, **60**: 101-163.

Ornelas-García C.P., M. Bastir., y I. Doadrio. 2014. Morphometric variation between two morphotypes within the *Astyanax* Baird and Girard, 1854 (Actinopterygii: Characidae) Genus, from a Mexican Tropical Lake. *J. Morphol.*, **275**:721–731.

Overstreet R. 1971. Some Adut Digenetic Trematodes in Striped Mullet from the Northern Gulf of Mexico. *J. Parasitol.* **57** (5) p. 967-974.

Overstreet R. y S.S. Curran. 2005. Chapter Haploporidae. Keys to the trematoda. Vol 2. International and The History Museum, London.

Pérez-Ponce de León G., L. García-Prieto., y B. Mendoza-Garfias. 2011. Describing parasite biodiversity: the case of the helminth fauna of wildlife vertebrates in Mexico. In Changing diversity in changing environment, O. Grillo y G. Venora (eds.). InTech, Rijeka, Croacia. p. 33-54.

Pérez-Ponce de León G., L. García Prieto., B. Mendoza Garfías., V. León-Régagnon., G. Pulido Flores., C. Aranda-Cruz., y F. García-Vargas. 1999. Listados Faunísticos de México IX. Biodiversidad de Helmintos parásitos de peces marinos y estuarionos de la Bahía de Chamela, Jalisco. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 51 pp.

Pérez-Ponce de León G., B. Mendoza-Garfias., R. Rosas-Valdez. 2013 y A. Choudhury. New host and locality records of freshwater fish helminth parasites in river basins north of the Transmexican Volcanic Belt: another look at biogeographical patterns. *Rev. Mex. de Biod.* **84**: 556-562.

Pérez-Ponce de León G., U. Razo-Mendivil., R. Rosas-Valdez., B. Mendoza-Garfias y H. Mejía-Madrid. 2008. Description of a new species of *Crassicutis* Manter, 1936, parasite of *Cichlasoma beani* Joran (Osteichthyes:Cichlidae) in Mexico, based on morphology and sequences of the ITS1 and 28S ribosomal RNA genes. *J. Parasitol.*, **94**: 257-263

Pineda-López R., G. Salgado-Maldonado., E. Soto-Galera., N. Hernández-Camacho., A. Orozco-Zamorano., S. Contreras-Robledo., G. Cabañas-Carranza., y R. Aguilar-Aguilar. 2005. Helminth parasites of viviparous fishes in Mexico. In: Grier, H. y Uribe, M.C. (Eds.), *Viviparous Fishes* . New Life Publications, Homestead, Florida. pp. 437–456.

Posada D. 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Mol. Biol. Evol.* **25** (7): 1253-1256.

Pulis E.E., T.J. Fayton , S.S. Curran., y R. Overstreet. 2013. A new species of *Intromugil* (Digenea: Haploporidae) and redescription of *Intromugil mugilicolus*. *J. Parasitol.*, **99**(3):501-8. doi: 10.1645/12-106.1.

Pulis E.E. y Overstreet R. 2013. Review of haploporid (Trematoda) genera with ornate muscularisation in the region of the oral sucker, including four new species and a new genus. *Syst. Parasitol.*, **84** (2):167-91

Rambaut A. 2006-2012. Tree Figure Drawing Tool Version 1.4.0, Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/>

Ramirez-Lezama J. 1995. Ictiopatología de las especies nativas de importancia comercial en la laguna de Amela, Tecomán, Colima. M. Sc. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, 158 pp.

Razo-Mendivil U., E. Vázquez-Domínguez., R. Rosas-Valdez., G. Pérez-Ponce de León., y S. A. Nadler. 2010. Phylogenetic analysis of nuclear and mitochondrial DNA reveals a complex of cryptic species in *Crassicutis cichlasomae* (Digenea: Apocreadiidae), a parasite of Middle-American cichlis. *Int. J. Parasitol.*, **40**:471-486.

Roberts L. y J. Janvov. 2005. Foundations of Parasitology (7th edition). McGraw-Hill, New York. 702 pp.

Ronquist F. y J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**:1572-1574.

Rosas-Valdez R., J.J. Morrone y M. García-Varela. 2012; Molecular phylogenetics of *Floridosentis* Ward, 1953 (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) parasites of mullets (Osteichthyes) from Mexico, using 28S rDNA sequences. *J. Parasitol.* **98**(4):855-62

Rush Miller R., W. L. Minckley., y S. Mark Norris. 2005. Freshwater Fishes of México. University of Chicago Press, 490 pp.

Salgado-Maldonado G. 2006. Checklist of helminth parasites of freshwater fishes from Mexico. (Zootaxa) Magnolia Press.

Salgado-Maldonado G., R. Aguilar-Aguilar., G. Cabañas-Carranza., E. Soto-Galera., y C. Mendoza-Palmero. 2005a. Helminth parasites in freshwater fish from the Papaloapan river basin, Mexico. *Parasitol. Res.*, **96**, 69–89.

Salgado-Maldonado G., G. Cabañas-Carranza., J.M. Caspeta-Mandujano., E. Soto-Galera., E. Mayén-Peña., D. Brailovskyy., y R. Báez-Valé. 2001. Helminth parasites of freshwater fishes of the Balsas River drainage basin of southwestern Mexico. *Comp. Parasitol.*, **68**, 196–203.

Salgado-Maldonado G., G. Cabañas-Carranza., E. Soto-Galera., R.F. Pineda-López., J.M. Caspeta-Mandujano., E. Aguilar-Castellanos., y N. Mercado-Silva. 2004b. Helminth parasites of freshwater fishes of the Pánuco river basin, east central Mexico. *Comp. Parasitol.*, **71**, 190–202.

Salgado-Maldonado G., J. M. Caspeta-Mandujano., F. Moravec., E. Soto-Galera., R. Rodiles-Hernández., G. Cabañas-Carranza., y J. Montoya-Mendoza. 2011. Helminth parasites of freshwater fish in Chiapas, Mexico. *Parasitol. Res.*, **108**:31–59.

Salgado-Maldonado G., N. Mercado-Silva., G. Cabañas-Carranza., J.M. Caspeta-Mandujano., R. Aguilar-Aguilar., y L.I. Iñiguez-Dávalos. 2004a. Helminth parasites of freshwater fishes of the Ayuquila river, Sierra de Manantlán Biosphere Reserve, west-central Mexico. *Comp. Parasitol.*, **71**, 67–72.

Salgado-Maldonado G. y Quiroz-Martínez. 2013. Taxonomic composition and endemism of the helminth fauna of freshwater fishes of Mexico. *Parasitology Parasitol Res.*, **112**:1-18.

Salgado-Maldonado G., R. Pineda-López., L. García-Magaña., S. López-Jiménez., V.M. Vidal-Martínez., y M.L. Aguirre-Macedo. 2005b. Helmintos parásitos de peces dulceacuícolas. In :Bueno, J., Álvarez, F. y Santiago, S. (Eds.) Biodiversidad del estado de Tabasco. Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, México. 145–166 pp.

Salgado-Maldonado G., R. Pineda-López., V.M. Vidal-Martínez., y C.R. Kennedy. 1997. A checklist of metazoan parasites of cichlid fish from Mexico. *J. Helm. Soc. Wash.*, **64**, 195–207.

Silvestro D. y I. Michalak. 2011. raxmlGUI: A graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity and Evolution*,

Steinauer M.L., B.B. Nickol., y G. Ortí. 2007. Cryptic speciation and patterns of phenotypic variation of a highly variable acanthocephalan parasite. *Mol. Ecol.*, **16**:4097-4109.

Stock S. P., J. F. Campbell., y S. A. Nadler, S. 2001. Phylogeny of *Steinernema* Travossas 1927 (Cephalobina: Steinernematidae) inferred from Ribosomal DNA Sequences and Morphological Characters. Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology. Paper 709.

Scholz T. y J. Vargas-Vázquez. 1998. Trematodes from fishes of the Río Hondo River and freshwater lakes of Quintana Roo, México. *J. Helm. Soc. Wash.*, **65**, 91–95.

Scholz T., J. Vargas-Vázquez., F. Moravec., C. Vivas-Rodríguez., y E. Mendoza-Franco. 1995. Cenotes (sinkholes) of the Yucatan Peninsula, México as a habitat of adult trematodes of fish. *Fol. Parasitol.*, **42**, 37–47.

Szidat, L. 1954. Trematodos nuevos de peces de agua dulce de la Republica Argentina y un intento para aclarar su caracter marino. *Rev. Mus. Cs. Nat. "B. Rivadavia"*. *Zool.*, **3** (1): 1-85.

Szidat L. 1970. *Saccocoelioides octavus* n. sp., una nueva especie del género *Saccocoelioides* Szidat 1954 (Trematoda, Haploporinae Loss 1902). *Rev. Mus. Arg. Cs. Nat. "B. Rivadavia"*, **10** (5): 87-100.

Szidat L. 1973. Sobre una nueva especie del género *Saccocoelioides* Szidat 1954 de *Astyanax bipunctatus*; *Saccocoelioides baciliformis* sp. nov., del Río Conquista, Provincia de Buenos Aires. *Com. Mus. Arg. Cs. Nat. "B. Rivadavia", Parasitol.*, **1** (7): 97-100.

Tamura K., G. Stecher., D. Peterson., A. Filipski., y S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evo.*: **30**, 2725-2729.

Thatcher V.E. 1978. Quatro species novas da familia Haploporidae (Trematoda: Digenea) de peixes agua doce da Colombia, com uma revisao do genero *Saccocoelioides* Szidat, 1954. *Act. Amazon.*, **8** (3): 477-484.

Thatcher V. y M. Jegu. 1996. Intestinal helminthes as population markers of the Amazonian fish *Mylesinus paraschomburgkii* with descriptions of five new genera and seven new species of trematodes. *Amazoniana*. XIV (1/2): 143-155.

Travassos L., F. Teixeira de Freitas., y A. Kohn. 1969. Trematodeos do Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 67, 1-866.

Vidal-Martinez V.M. 1995. Processes structuring the helminth communities of native cichlid fishes from southern Mexico. Ph. D. Thesis, Faculty of Science, University of Exeter, U.K., 164 pp.

Vidal-Martínez V.M., M.L. Aguirre-Macedo., T. Scholz., D. González-Solís., y E.F. Mendoza-Franco. 2001. Atlas of the helminth parasites of cichlid fish of Mexico. Academia, Praha pp. 165.

Vilas R., C.D. Crisciones., y M.S. Blouin. 2005. A comparison between mitochondrial DNA and the ribosomal internal transcribed regions in prospecting for cryptic species of platyhelminth parasites. *Parasitol.* **131**: 1-8.

Wilgenbusch J.C., D.L. Warren., y D.L. Swofford. 2004. AWTY: A system for graphical exploration of MCMC convergence in Bayesian phylogenetic inference. <http://ceb.csit.fsu.edu/awty>.

Yamaguti S. 1958. Systema Helminthum. 1. The digenetic Trematodes of Vertebrates. Part 1 y 2. Inters. Publ., Inc. Ed., New York.

Yamaguti S. 1971. Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates. Vol. 1 y 2. Keigaku Publishing Co., Tokio, Japon.

## Anexo I. Especies y distribución de Haploporidos en México.

Espece	Huésped	Localidad	Referencia
<i>Culuwiya beauforti</i> Hunter y Thomas 1961 Overstreet y Curran 2005	<i>Mugil curema</i>	<b>Tabasco:</b> El Rosario	Se registró como <i>S. beauforti</i> en el 2001 por López-Jiménez
<i>Culuwiya cichlidorum</i> Aguirre-Macedo y Scholz 2005	<i>Herichthys minckleyi</i>	<b>Coahuila:</b> Becerra, Mezquites	Guajardo-Martínez 1984 Se registró como <i>Saccocoelioides</i> sp. Redescrito por Aguirre-Macedo y Scholz, 2005 Vidal-Martínez <i>et al.</i> 2001
	<i>Oreochromis aureus</i>	Laguna Amela	Se registró como <i>Saccocoelioides</i> sp. Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Tilapia</i> sp.	<b>Tabasco:</b> Camellones Chontales	Vidal-Martínez 1995 lo registró como <i>S. nanii</i> redescrita por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	El Espino	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 1997 lo registró como <i>S. beauforti</i> . Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Cichlasoma urophthalmus</i> <i>Parachromis managuensis</i>	El Guanal	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 1997 lo registró como <i>S. beauforti</i> . Redescrito por Aguirre-Macedo 2005.
	<i>Vieja synspilum</i>	Las Ilusiones	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 1997 lo registró como <i>S. beauforti</i> . Redescrito por Aguirre-Macedo 2005. Andrade-Salas 1987; Salgado- Maldonado <i>et al.</i> 1997
	<i>Vieja synspilum</i>	Santa Anita	Descrita por Andrade como <i>S. nanii</i> redescrita por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Petenia splendida</i>	Tucta	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 1997 lo registró como <i>S. beauforti</i> . Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Vieja bifasciata</i>	Río San Pedro	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005b. Se registró como <i>Saccocoelioides</i> <i>sogandaresi</i>
	<i>Vieja synspilum</i>	<b>Quintana Roo:</b> Azul Bacalar	Scholz <i>et al.</i> 1995 lo registró como <i>Saccocoelioides</i> sp. Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Cichlasoma istlanum</i>	<b>Jalisco:</b> El Camichín	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004a. Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Oreochromis aureus</i>	Río Ayuquila	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004a. Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
	<i>Theraps coeruleus</i>	<b>Chiapas:</b> Río Cedros	Vidal-Martínez <i>et al.</i> 2001. Redescrito por Aguirre-Macedo 2005
<i>Culuwiya papernai</i> (Fernández 1987) Overstreet y Curran 2005	<i>Mugil cephalus</i>	<b>Jalisco:</b> El Jabalí	Cabañas-Carranza 2001 Descrito originalmente como <i>Saccocoelioides papernai</i> . Transferido por Overstreet y Curran 2005
<i>Culuwiya</i> sp.	<i>Heterandria bimaculata</i>	<b>Veracruz:</b> Agua bendita	Salgado-Maldonado 2006

<b><i>Dicrogaster fastigatum</i></b> Thatcher y Sparks 1959	<i>Mugil cephalus</i>	<b>Jalisco:</b> El Jabalí	Cabañas-Carranza 2001
<b><i>Dicrogaster</i> sp.</b>	<i>Mugil curema</i>	<b>Jalisco:</b> Chamela	Pérez-Ponce de León <i>et al.</i> 1999
	<i>Mugil Curema</i>	<b>Tabasco:</b> El Rosario	López-Jiménez 2001
<b><i>Hapladena</i> sp.</b>	<i>Acanthurus hepatus</i>	<b>Quintana Roo:</b> Isla Cozumel	Caballero y Rodríguez <i>et al.</i> 1992
<b><i>Megasolena estrix</i></b> Linton 1910	<i>Sectator ocyurus</i>	<b>Sonora:</b> Bahía de Guaymas	Maldonado-Tapia 2009
<b><i>Myodera magna</i></b> Sogandares-Bernal 1959	<i>Kyphosus elegans</i>	<b>Baja California Sur:</b> Cerralvo, Monserrat, San Marcos	Cuevas-Macías 1997
<b><i>Saccocoelioides</i></b> <b><i>chauhani</i></b> Lamothe- Argumedo 1974	<i>Astyanax aeneus</i>	<b>Veracruz:</b> Catemaco	Lamothe-Argumedo 1974
	<i>Bramocharax caballeroi</i>		
	<i>Dorosoma</i> sp.		
	<i>Poecilia catemaco</i>	Catemaco	Jiménez-García 1996
	<i>Poeciliopsis catemaco</i>		
	<i>Xiphophorus</i> sp.		
<b><i>Saccocoelioides</i></b> <b><i>sogandaresi</i></b> Lumsden 1963	<i>Poecilia sphenops</i>	<b>Guerrero:</b> Atenango	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2001
	<i>Poecilia sphenops</i>	Laguna de tres palos	Aguirre-Macedo y Violante-González 2008
	<i>Poecilia mexicana</i>	<b>Hidalgo:</b> Amajac	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poeciliopsis gracilis</i>	San Pedro, Orizatlán	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poecilia mexicana</i>	Tecoluco	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poeciliopsis gracilis</i>	Tenango	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Xiphophorus</i> sp.		
	<i>Agonostomus monticola</i>		
	<i>Astyanax aeneus</i>	<b>Jalisco:</b> Ayuquila	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004a
	<i>Sicydium</i> <i>multipunctatum</i>		
	<i>Allodontichthys zonistius</i>		
	<i>Ilyodon furcoides</i>		
	<i>Xiphophorus hellerii</i>		
	<i>Dormitator latifrons</i>	Chalacatepec, San Nicolás	Mayén-Peña 2003
	<i>Ilyodon whitei</i>	<b>Morelos:</b>	
	<i>Poecilia sphenops</i>	Amacuzac (El Chisco)	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2001
	<i>Poecilia mexicana</i>	<b>Veracruz:</b> Papaloapan	Pineda-López <i>et al.</i> 2005 lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Xiphophorus hellerii</i>		
	<i>Poecilia</i> <i>Mexicana</i>	<b>Oaxaca:</b> El Saltillo, El Saltillo- Taller, San Juan Evangelista	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Astyanax aeneus</i>	Puente Valle Nacional	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poecilia latipunctata</i>	<b>Quintana Roo:</b> Azul	Scholz <i>et al.</i> 1995
	<i>Poecilia velifera</i>	Hondo	Scholz y Vargas-Vázquez 1998
	<i>Poecilia mexicana</i>	<b>San Luis Potosí:</b> La Planta	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>

	<i>Poecilia mexicana</i>	Huichihuayán	Se registró como <i>Saccocoelioides</i> c.f. <i>sogandaresi</i> ; Pérez-Ponce <i>et al.</i> 2013
	<i>Poecilia mexicana</i>	Verde	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2004b Lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poecilia mexicana</i>	Rodeo	Aguilar-Castellanos 2002
	<i>Poecilia mexicana</i>	<b>Tabasco:</b>	López-Jiménez 2001
	<i>Poecilia petenensis</i>	Puyacatengo (Teapa):	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005b
	<i>Poecilia mexicana</i>	<b>Veracruz:</b>	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
		Balzapote, Escondida, La Palma	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a) lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Poeciliopsis catemaco</i>	Catemaco	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Astyanax aeneus</i>		
	<i>Poecilia mexicana</i> ,	Máquinas	Salgado- Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
	<i>Xiphophorus hellerii</i>		
	<i>Poecilia sphenops</i>		
	<i>Dormitator maculatus</i>		
	<i>Gobiomorus dormitor</i>	Tlacotalpan	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2005a lo registraron como <i>S. c.f. sogandaresi</i>
		<b>Yucatán:</b>	Scholz <i>et al.</i> 1995
	<i>Poecilia velífera</i>	Chaamac, Chek-Há, Chen-Há	
		<b>Michoacán:</b>	Martínez Aquino 2012
	<i>Goodea atripinnis</i>	Lago de Zacapú	Salgado-Maldonado 2004b
	<i>Ilyodon furcidens</i>	Lago de Zacapú	Martínez-Aquino 2014
	<i>Ameca splendens</i>	Lago de Zacapú	
		<b>Chiapas:</b>	
<b>Saccocoelioides sp.</b>	<i>Heterandria bimaculata</i>	Río Lacantún (El Romolino)	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2011
	<i>Poecilia mexicana</i>	Río Bonanza	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2011
	<i>Xiphophorus helleri</i>	Río Palenque	Salgado-Maldonado <i>et al.</i> 2011
	<i>Hexanematichthys seemani</i>	<b>Colima:</b> Amela	Ramírez-Lezama 1995
	<i>Dormitator Latifrons</i>	<b>Guerrero:</b>	Mendez-Ortiz 2003
		Coyuca	
	<i>D. maculatus</i>	<b>Tabasco:</b>	García Magaña y López-Jiménez 2008
		Pantanos de Centla	
<b>Saccocoelioides lamothei</b>			
<b>Aguirre-Macedo y Violante González 2008</b>	<i>D. latifrons</i>	Coyuca	Aguirre-Macedo y Violante González 2008
	<i>D. latifrons</i>	Tres Palos	Aguirre-Macedo y Violante González 2008