



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Verificación con datos moleculares de la presencia del céstodo
Schyzocotyle acheilognathi (= *Bothriocephalus acheilognathi*) en peces
nativos y en carpas asiáticas de la cuenca de San Cristóbal de las
Casas, Chiapas**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

ANDRÉS VILLA O'DOGHERTY

TUTOR PRINCIPAL:

Dr. Guillermo Salgado Maldonado
Instituto de Biología

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dra. Yazmín Alcalá Canto
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. Gerardo Suzán Azpiri
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

septiembre 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Este trabajo de investigación fue realizado con salidas a campo, en las localidades del dique de la Colonia 4 de marzo – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas y en el Lago Navenchauc – Zinacantán, Chiapas. Los exámenes helmintológicos se realizaron en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

El proyecto fue realizado con el apoyo de la M. en C. I. Cristina Cañeda Guzmán del Laboratorio de Inmunoparasitología de la Unidad de Medicina Experimental (UME) de la UNAM; de la M. en C. Andrea R. Jiménez Marín del Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología del Instituto de Biología (IB) de la UNAM; de la M. en C. Laura M. Márquez Valdemar y la M. en C. Nelly M. López Ortiz del Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud – Laboratorio Nacional de Biodiversidad (LANABIO), del IB; de la Dra. Rosario Mata López, del Departamento de Biología Evolutiva, de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

Trabajo financiado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) con el Proyecto A1-S-19959 “Influencia de procesos locales y regionales en la estructuración de las comunidades de helmintos parásitos de peces dulceacuícolas”. Y por PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA (PAPIIT), con el Proyecto IN200820 “Interacción, agregación y saturación en la estructura de comunidades de helmintos de peces dulceacuícolas”.

Alumno becario del CONACyT, del 1 de agosto de 2018 al 31 de julio de 2020, con número de registro (CVU): 934099.

Dedicatoria

A mis padres Claudia y Gabino por hacer este logro posible, el cual es de ustedes también, y que pudiera existir en este mundo y en este tiempo. Por su apoyo, su confianza y su buena vibra.

A mis hermanos Emilio y Gabino, de quienes he aprendido mucho y siempre están ahí para ayudar y compartir siempre excelentes momentos, los quiero mucho hermanos.

A mis dos abuelos, Don Gabino Villa Maya (QEPD) y Don Salvador O'Dogherty De la Garza (QEPD), quienes desde el Otro Mundo me cuidan y me protegen, y en vida siempre compartimos buenos y divertidos momentos. Un fuerte abrazo abuelos, esta Tesis es de ustedes, los quiero mucho.

A mis amigos por su apoyo y motivación para esforzarme día a día, así como sus consejos, observaciones y recomendaciones para el óptimo desarrollo de mis actividades en esta Maestría.

A la M. en C. Estefanni N. Sandoval Cornejo, por haber admirado mis talentos y habilidades, por haber confiado en mí y motivarme el tiempo que pudimos compartir como pareja sentimental y haberme empujado por la decisión de seguir con mis estudios y preparación. Muchas gracias por el aprendizaje y esos momentos Fanny, gracias por todo, esta es tu Tesis también. Mucho éxito siempre.

A la Biól. Edith Tirado Casique, mi profesora de Biología de la Secundaría, por haberme inculcado el gusto y pasión por el estudio de las Ciencias desde mi adolescencia. Esta es tu Tesis también Edith.

Agradecimientos

A la UNAM por aceptarme como alumno y miembro de la Comunidad Universitaria y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por sus recursos, infraestructura, personal y filosofía. Por haberme abierto sus puertas y otorgarme este grado.

Al CONACyT por el apoyo económico para el buen desarrollo operativo de mis actividades en el Posgrado (investigación y academia).

Al Instituto de Biología, por sus recursos, infraestructura, personal, seminarios y filosofía. Por darme toda clase de facilidades para desarrollar mi investigación y poder disfrutar mi vida de estudiante y académica.

A mi Tutor principal, el Dr. Guillermo Salgado Maldonado por su apoyo incondicional en todo momento, sus consejos, su tiempo, su instrucción, su paciencia, su confianza, su retroalimentación y sus palabras de aliento para seguir adelante y trabajando. Mil gracias por todo Memo.

A mi Comité Tutor; la Dra. Yazmín Alcalá por su confianza, su apoyo incondicional, su tiempo, sus recomendaciones técnicas y consejos para el buen desenvolvimiento escolar dentro de esta Facultad y Posgrado. Mil gracias Yaz. Al Dr. Gerardo por su apoyo, su tiempo, su confianza, sus conocimientos que me transmitió sobre Ecología de Enfermedades y Una Salud; por su capacitación durante las presentaciones.

A la M. en C. Isabel Cristina Cañeda Guzmán por ser mi gran guía en mi investigación, en el laboratorio, por enseñarme mas del apasionante campo de la Parasitología y de la Biología Molecular, le debo muchísimo a usted por mis conocimientos en este campo. Le agradezco mucho por su tiempo, su paciencia, su comprensión y motivarme a mejorar siempre. Por haber apoyado gustosamente con su atinado punto de vista y revisiones para mejorar este manuscrito y como Jurado de este Examen de Grado. Mil gracias por todo Maestra Cris.

A la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín por su apoyo en el laboratorio de Biología Molecular, del Departamento de Zoología, del Instituto de Biología, por brindarme todo tipo de facilidades para el análisis de mis muestras, su instrucción, sus conocimientos, consejos y recomendaciones para mi investigación. Por haber apoyado gustosamente con su atinado punto de vista y revisiones para mejorar este manuscrito y como Jurado de este Examen de Grado. Mil gracias por todo Andrea.

A la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdemar y la M. en C. Nelly María López Ortiz por su apoyo para secuenciar los productos de PCR de esta investigación en el LaNaBio, del Instituto de Biología.

Al Dr. Óscar Rico Chávez por capacitarme en el lenguaje R para el análisis de datos cuantitativos en Ecología y su modelado. Por haber apoyado gustosamente con su atinado punto de vista y revisiones para mejorar este manuscrito y como Jurado de este Examen de Grado. Mil gracias por todo Óscar.

Al M. en C. César Ramiro Martínez González por transmitirme y compartirme sus conocimientos en Biología Molecular, en el análisis de secuencias genéticas; capacitación para su interpretación, su ensamble y su validación en GenBank mediante el software BioEdit.

Al MVZ Juan N. Daher Moreno por compartirme sus conocimientos, integrando holísticamente la teoría del proceso salud-enfermedad desde el punto de vista patológico, con la teoría ecológica y el concepto de Una Salud. Por capacitarme en el manejo de software MEGA e interpretación de topologías. Mi estimado amigo y compañero de Maestría, muchas gracias por todo, espero podamos seguir compartiendo conocimientos por mucho tiempo.

A la Dra. Rosario Mata López por compartirme sus conocimientos en sistemática y evolución, a partir del análisis e interpretación con el software MEGA y Mesquite. Por su instrucción en el correcto orden para la elaboración y ejecución de alineamientos de secuencias para su posterior análisis. Mil gracias por todo Dra. Rosario.

A mis compañeras del laboratorio de Helmintología, del Instituto de Biología, la Biól. Vianey Rodríguez Alvarado y la Biól. Ivonne López del Monte, por su apoyo en la colección de algunos datos e imágenes de campo de esta investigación y por compartirme sus conocimientos en técnicas de tinción para hacer preparaciones permanentes para el análisis morfológico de helmintos en el microscopio.

A la M. en C. Clara Aguillón García, Secretaría de Asuntos Escolares de Posgrado de esta Facultad por su cálida y muy amable atención para resolver mis dudas sobre trámites y procesos escolares dentro de la Maestría en todo momento. Mil gracias Clara, por siempre recibirme en tu oficina con las puertas abiertas y con esa gran amabilidad que te caracteriza, gracias por todo.

Resumen

El céstodo *Schyzocotyle acheilognathi* es una especie invasora de helminto que ha expandido su rango de distribución rápidamente por la introducción de carpas asiáticas (Cyprinidae) en cuerpos de agua dulce, generando un problema para la acuicultura y la conservación de especies nativas de peces dulceacuícolas en el mundo. En Chiapas, las carpas asiáticas han sido introducidas junto con el parásito, que a su vez está reportado en peces profundúlidos (Profundulidae). La presente investigación comparó la variabilidad poblacional entre los parásitos asociados a peces nativos y a carpas asiáticas, mediante la identificación molecular y morfológica del céstodo *S. acheilognathi* en peces profundúlidos y en carpas de Chiapas. Se realizó una colecta de 20 peces *Profundulus hildebrandi* en el Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas y de 8 peces *Cyprinus carpio* en el Lago Navenchaut, Zinacantán, Chiapas. La población de *P. hildebrandi* presentó una prevalencia de 35%, mientras que la población de *C. carpio* tuvo una prevalencia de 75%. Se extrajo DNA de fragmentos de estróbilos, el cual se amplificó mediante PCR para obtener el gen ribosomal ITS (1, 5.8S y 2) y el gen mitocondrial CO1. Las secuencias fueron analizadas para la confirmación molecular y la exploración de su variación genética. Los parásitos fueron identificados en base a caracteres morfológicos por la forma de escólex, estrobilación, posición de poro genital, entre otros). El análisis molecular reveló mínima disimilitud genética entre las poblaciones de céstodos de profundúlidos y de carpas (de 0 a 0.47% para el gen ITS y de 0 a 0.28% para el gen CO1). Se confirmó molecular y morfológicamente la presencia del parásito en peces nativos y en carpas asiáticas de Chiapas, el céstodo ha desarrollado autosuficiencia en profundúlidos, pero la madurez de los peces es un factor que disminuye la susceptibilidad a infecciones por el céstodo en las poblaciones de peces. *S. acheilognathi* mantiene conservada su estructura genética pese a su amplia generalidad de hospederos filogeográficamente distantes y se sugiere que la procedencia ecológica de la infección del parásito está relacionada a otros peces introducidos además de las carpas. Este helminto representa una amenaza para la ictiofauna nativa y los datos moleculares son útiles para monitorear procesos eco-epidemiológicos en el parásito.

Palabras clave: *Schyzocotyle acheilognathi*, carpas asiáticas, Profundulidae, peces dulceacuícolas, céstodo, molecular, parásito.

Abstract

The cestode *Schyzocotyle acheilognathi* is an invasive species of helminth that has expanded its distribution range rapidly by the introduction of Asian carp (Cyprinidae) into freshwater bodies, generating a problem for aquaculture and native fish species conservation in the world. In Chiapas, Asian carp have been introduced along with the parasite, which in turn is reported in profundulid fishes (Profundulidae). This research compared population variability between parasites associated with native fish and Asian carp, by molecular and morphological identification of *S. acheilognathi* in profundulid fishes and carp from Chiapas. A collection of 20 *Profundulus hildebrandi* fishes was held in Río Amarillo, San Cristobal de las Casas, and 8 *Cyprinus carpio* fishes in Navenchauc Lake, Zinacantán, Chiapas. *P. hildebrandi* population showed a prevalence of 35%, while *C. carpio* population had a prevalence of 75%. DNA was extracted from strobila fragments, which was amplified by PCR to obtain the ribosomal ITS gene (1, 5.8S and 2) and the mitochondrial CO1 gene. The sequences were analyzed for molecular confirmation and exploration of their genetic variation. The parasites were identified based on easily recognizable morphological features (scolex shape, strobila pattern, genital pore position, and others). Molecular analysis revealed minimal genetic dissimilarity among the cestode populations of profundulid and carp (0 to 0.47% for the ITS gene and 0 to 0.28% for the CO1 gene). The presence of the parasite was confirmed molecular and morphologically in native fish and in Asian carp in Chiapas, the cestode has developed self-sufficiency in profundulids, but maturity of fishes is a factor that decreases susceptibility to cestode infections in fish populations. *S. acheilognathi* maintains its genetic structure preserved despite its wide generality of phylogeographically distant hosts and it is suggested that the ecological origin of the parasite infection is related to other introduced fishes besides carp. This helminth poses a threat to native ichthyofauna and molecular data are useful for monitoring eco-epidemiological processes in the parasite.

Keywords: *Schyzocotyle acheilognathi*, asian carps, Profundulidae, freshwater fishes, cestode, molecular, parasite.

Contenido

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Generalidades, biología y transmisión de <i>Schyzocotyle acheilognathi</i>	1
1.2 Registros de <i>S. acheilognathi</i> en el mundo y en México – Estudios Moleculares	4
1.3 Presencia de <i>S. acheilognathi</i> en peces profundúlidos de Chiapas	8
2. JUSTIFICACIÓN	11
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS	12
4. OBJETIVOS	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS	14
5.1 Colecta, obtención y organización de muestras	14
5.1.1 Área de estudio	14
5.1.2 Examen helmintológico	17
5.1.3 Organización/plan de trabajo	19
5.2 Tinción de ejemplares para Análisis Morfológico	20
5.3 Análisis molecular	21
5.3.1 Extracción y cuantificación de DNA	21
5.3.2 PCR genes ITS y CO1	22
5.3.3 Secuenciación, análisis, edición, ensamble de secuencias consenso y verificación en Base de Datos genómica	23
5.4 Reconstrucción Topológica	24
6. RESULTADOS	25
6.1 Datos de hospederos e infección	25
6.2 Determinación taxonómica por métodos morfológicos	27
6.3 Verificación de la determinación por métodos moleculares	33
6.3.1 Obtención de genes y tamaño de secuencias	33
6.3.2 ITS de todas las secuencias	35
6.3.3 ITS consenso de los grupos poblacionales	37
6.3.4 CO1 de todas las secuencias	37
6.3.5 CO1 consenso de los grupos poblacionales	40
7. DISCUSIÓN	42
8. CONCLUSIONES	48
9. REFERENCIAS	49
APÉNDICES	58

Lista de Figuras

	Página
Figura 1. Ciclo Biológico de <i>Schyzocotyle acheilognathi</i> .	2
Figura 2. Individuos juveniles de <i>Cyprinus carpio</i> .	3
Figura 3. Histopatología del intestino de <i>C. carpio</i> infectado con <i>S. acheilognathi</i> .	4
Figura 4. Sitios de colecta de las muestras de <i>S. acheilognathi</i> .	15
Figura 5. Colecta y transportación de los peces.	16
Figura 6. Procesamiento de helmintos.	17
Figura 7. Individuo grávido del céstodo <i>S. acheilognathi</i> observado in vivo durante el examen helmintológico de los peces <i>P. hildebrandi</i> .	18
Figura 8. Estrategia metodológica general del proyecto de investigación.	19
Figura 9. Ejemplares para el procesamiento de preparaciones permanentes.	20
Figura 10. Dimorfismo sexual de <i>Profundulus hildebrandi</i> .	25
Figura 11. <i>Cyprinus carpio</i> juvenil.	27
Figura 12. Escólex de <i>S. acheilognathi</i> .	28
Figura 13. Proglótidos inmaduros de <i>S. acheilognathi</i> .	29
Figura 14. Proglótidos maduros de <i>S. acheilognathi</i> .	30
Figura 15. Proglótidos grávidos de <i>S. acheilognathi</i> .	31
Figura 16. Huevos de <i>S. acheilognathi</i> .	32
Figura 17. Productos de PCR del gen ITS.	33
Figura 18. Productos de PCR del gen CO1.	34
Figura 19. Árbol de Topología del segmento ITS para los 24 aislados de <i>S. acheilognathi</i> de los peces <i>P. hildebrandi</i> y <i>C. carpio</i> .	36

Figura 20. Árbol de Topología del segmento ITS para los 3 consensos de <i>S. acheilognathi</i> de los peces <i>P. hildebrandi</i> y <i>C. carpio</i> .	38
Figura 21. Árbol de Topología del segmento CO1 para los 17 aislados de <i>S. acheilognathi</i> de los peces <i>P. hildebrandi</i> y <i>C. carpio</i> .	39
Figura 22. Árbol de Topología del segmento CO1 para los 3 consensos de <i>S. acheilognathi</i> de los peces <i>P. hildebrandi</i> y <i>C. carpio</i> .	41

Lista de Cuadros

	Página
Cuadro 1. Datos sobre los hospederos colectados en este estudio.	16
Cuadro 2. Datos morfométricos y resultados parasitológicos de <i>Profundulus hildebrandi</i> .	26
Cuadro 3. Datos morfométricos y resultados parasitológicos de <i>Cyprinus carpio</i> .	27

1. INTRODUCCIÓN

En el mundo entero se ha optado por procedimientos de “extensión acuícola” en que se introducen especies exóticas de peces (Arredondo-Figueroa y Lozano-García, 2003), con la consecuente introducción de parásitos, con efectos nocivos en la ictiofauna nativa (Salgado-Maldonado y Rubio-Godoy, 2014). El céstodo asiático *Schyzocotyle acheilognathi* (= *Bothriocephalus acheilognathi*) Yamaguti 1934 (Cestoda: Bothriocephalidea) es un parásito que tiene por hospederos naturales a las carpas (Cyrpinidae), las cuales han sido de los peces mayormente explotados para la acuicultura, y por ello se ha introducido en prácticamente todos los cuerpos de agua dulce del planeta; esta especie invasora de helminto parásito de peces dulceacuícolas, es la que presenta mayor distribución en el mundo, considerada de rápida extensión y colonización (Kuchta *et al*, 2018). Representa uno de los principales problemas para la acuicultura mundial (Scholz *et al*, 2012) y para la conservación de especies nativas de peces dulceacuícolas.

1.1 Generalidades, biología y transmisión de *Schyzocotyle acheilognathi*

S. acheilognathi habita como adulto en el intestino de los peces de agua dulce, de manera tal, que son sus hospederos definitivos (Figura 1). Los huevos del céstodo salen junto con los excrementos del pez, de los cuales eclosiona una larva libre nadadora llamada coracidio, la cual es ingerida por los copépodos (principalmente ciclópodos), que actúan como hospederos intermediarios del céstodo. En ellos se desarrolla una fase procercoide y cuando el pez consume el copépodo infectado, migra y penetra a la pared del intestino y se establece para desarrollar la fase plerocercoide (Chervy, 2002), le toma aproximadamente 2 semanas desarrollar estos estadios durante su crecimiento (Körting, 1975). Una vez en el intestino del pez, alcanzan la madurez sexual (Choudhury y Cole, 2012).

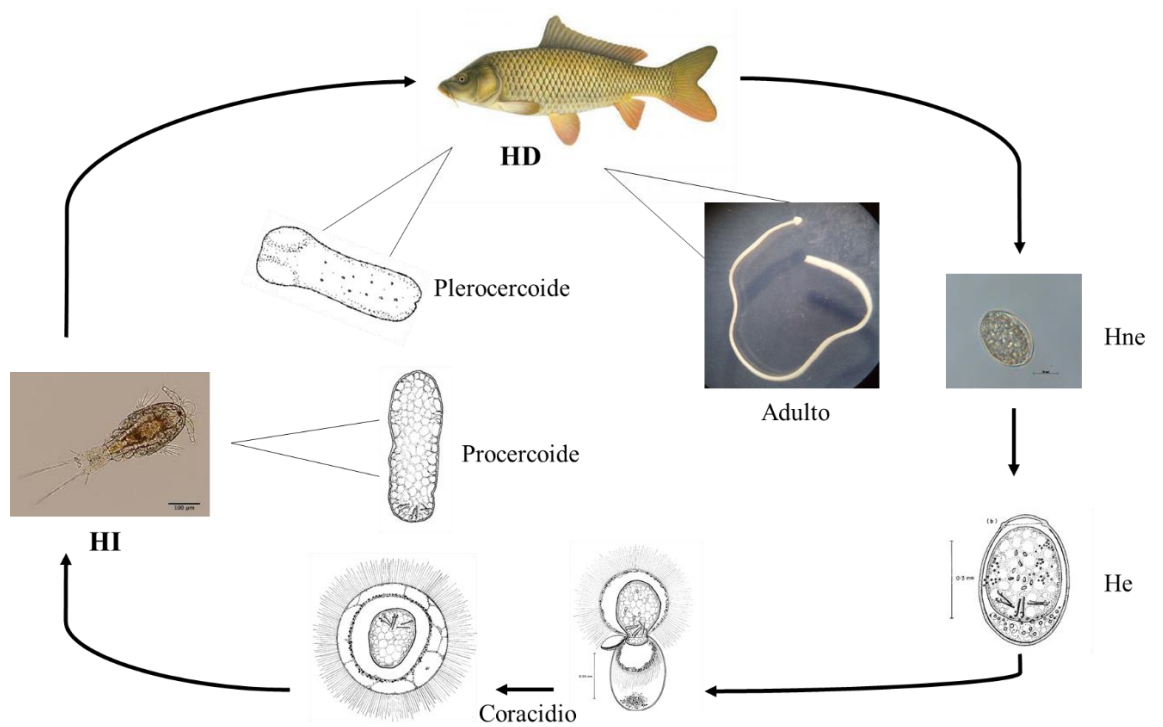


Figura 1. Ciclo Biológico de *Schyzocotyle acheilognathi*. Su hospedero definitivo (HD) son peces dulceacuícolas y los hospederos intermediarios (HI) son los copépodos ciclópodos. Las fases del céstodo son: huevo no embrionado (Hne), huevo embrionado (He), coracidio, larvas (procercoide y plerocercoide) y adulto. Modificado de Kline *et al* (2007).

La enfermedad provocada por el céstodo se le conoce como Botriocefalosis y su patología en el intestino de los peces incluye una variedad de efectos negativos, como bloqueo intestinal, descamación y erosión del epitelio intestinal y finalmente, la perforación del intestino. También ocasiona lento crecimiento en peces juveniles y problemas de fertilidad (Salgado-Maldonado y Pineda-López, 2003).

Los peces infectados pueden volverse lentos y nadar cerca de la superficie del agua. Esto suele estar acompañado de inapetencia, lento crecimiento, adelgazamiento y signos de anemia (Sopinska y Guz, 1997). Uno de los principales factores de susceptibilidad es el estadio juvenil de los peces, ya que los copépodos constituyen la mayor proporción de la dieta de estos peces y el espacio limitado dentro del intestino contribuye a que las altas cargas parasitarias provoquen oclusión intestinal y

cambios patológicos severos incluyendo la muerte de crías, o la reducción en el crecimiento y condición morfométrica (Hansen *et al*, 2006). Además, los peces infectados son mayormente susceptibles a infecciones bacterianas secundarias debido a los efectos de la presencia y migración del parásito (Clarkson *et al*, 1997). La alta carga de cestodos es tan notable en los cuerpos de alevines y juveniles, e incluso en peces muy pequeños, que puede observarse el movimiento de los parásitos a través de la pared del cuerpo. De igual manera, los órganos internos de peces infectados se encuentran agrandados (Figura 2).

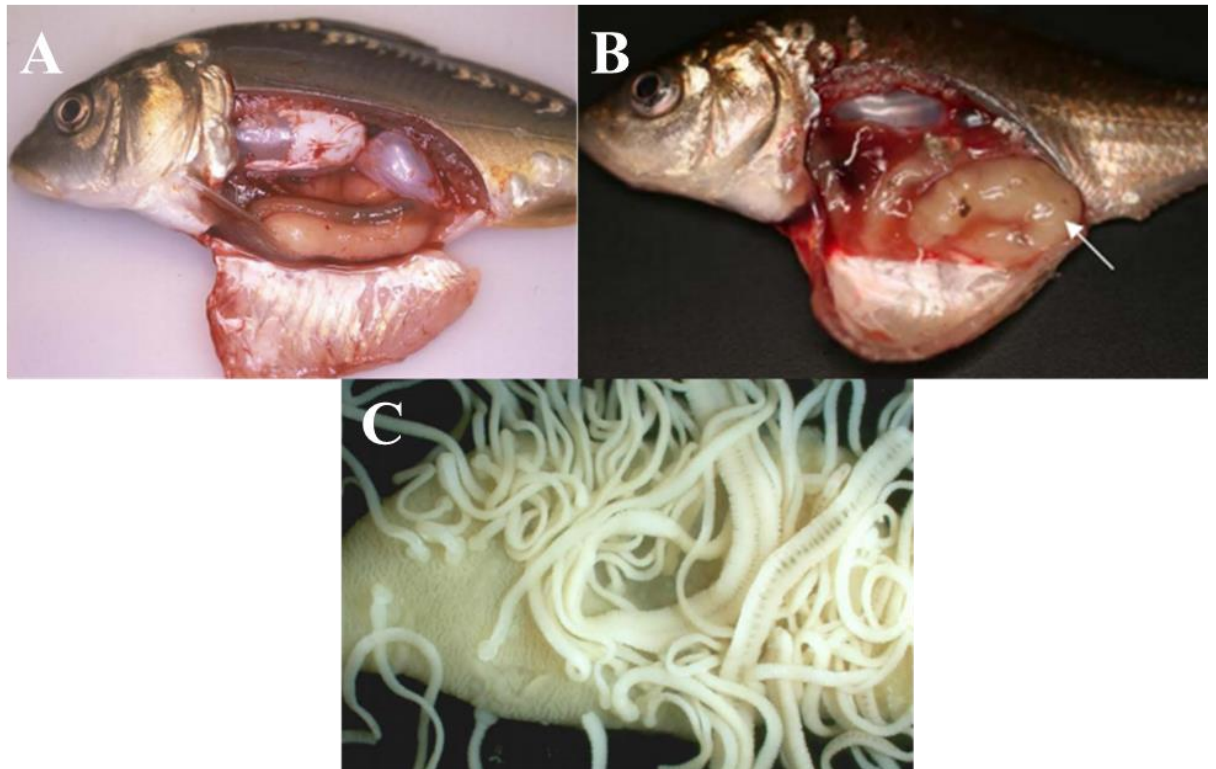


Figura 2. Individuos juveniles de *Cyprinus carpio*. A. Pez sin infección. B. Pez con infección por cestodos. C. Intestino abierto con gran cantidad de cestodos. Tomado de Scholz *et al* (2012) y Britton *et al* (2011).

Los estudios histopatológicos han mostrado que la adhesión del escólex está asociada a una producción alta de moco (Scott y Grizzle, 1979). Además, también se observa una pérdida de la microvellosidad

intestinal, así como separación y pérdida de enterocitos, liberación de células del hospedero (necrosis) en el lumen intestinal e infiltración de leucocitos y linfocitos en el área de infección (Figura 3).

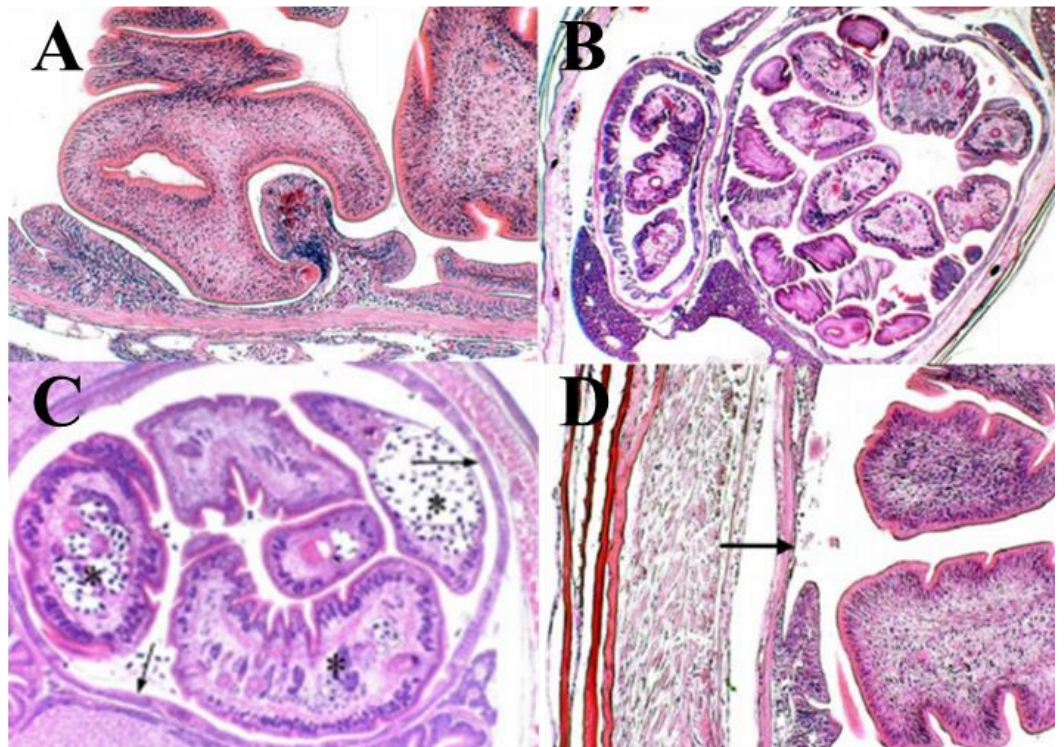


Figura 3. Histopatología del intestino de *C. carpio* infectado con *S. acheilognathi*. A. Región de anclaje del escólex en el intestino. B. Oclusión intestinal por los numerosos céstodos. C. Infiltración inflamatoria (*). D. Necrosis y pérdida de epitelio (flechas). Tomado de Scholz *et al* (2012) y Britton *et al* (2011).

1.2 Registros de *S. acheilognathi* en el mundo y en México – Estudios Moleculares

La traslocación de *Ctenopharyngodon idella* (carpa herbívora) para el control de malezas acuáticas y de *Cyprinus carpio* (carpa común) para la acuicultura, fueron las responsables de la co-introducción del céstodo en varios países, lo que ocasionó que el parásito expandiera su rango de distribución, colonizando otros hospederos cyprinidos y no cyprinidos en diferentes localidades (Choudhury y Cole, 2012). Adicionalmente, la acuicultura de ornato, el control de mosquitos y la

industria de producción de carnada para la pesca también han sido de las actividades antropogénicas causantes de esta propagación (Scholz *et al*, 2012; Marcogliese *et al*, 2016; Boonthai *et al*, 2017).

A principios de la década de 2010, su registro de hospederos incluía 235 especies de 37 familias pertenecientes a 10 órdenes de peces de agua dulce en el mundo (Scholz *et al*, 2012), sin embargo, para el año 2018 los registros se han incrementado en un 50%; *S. acheilognathi* está reportado en 312 especies de peces dulceacuícolas de 38 familias de 14 órdenes y de estos registros, el 16% de dichas especies, se encuentran en la Lista Roja de especies amenazadas de extinción de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), (Kuchta *et al*, 2018).

No obstante, debido al amplio rango de hospederos en los que *S. acheilognathi* está presente, explorar el origen ecológico de la infección y detectar surgimiento de sub-especies o variedades del parásito basado solamente en la identificación morfológica del parásito, representa una problemática. Los estudios moleculares se apoyan del análisis de secuencias genéticas específicas, o bien, de la comparación de marcadores moleculares entre diferentes organismos con los cuales es posible identificar y confirmar la presencia de organismos específicos y conocer sus relaciones con otros organismos, en base a su proximidad genética e inferir dinámicas de transmisión y colonización (Hillis y Dixon, 1991). Los marcadores moleculares mayormente empleados en las caracterizaciones moleculares de *S. acheilognathi* son los Espacios Transcritos Internos del DNA ribosomal (ITS1, 5.8S e ITS2); la denominada región ITS (Hillis y Dixon, 1991), y el gen de la subunidad 1 para la enzima Citocromo C Oxidasa de la mitocondria (CO1), considerado el “Código de Barras de la Vida” (Hebert, 2003a). Los códigos pueden revelar divergencia genética muy alta entre especies y se emplea el análisis de estas secuencias revelar la existencia de especies crípticas. El proyecto de “Código de Barras de la Vida” propone que un fragmento estándar de aproximadamente 628 pares de bases (pb) de esta

región, funja como “Código de Barras” para la identificación de especies animales (Herbert *et al*, 2003a).

A partir de 2000, se ha registrado y confirmado molecularmente ocurrencias e invasiones por el cestodo en diferentes países del mundo. Luo *et al* (2002) analizaron con estudios moleculares un amplio rango de hospederos de *S. acheilgonathi* y concluyen que es una característica que le permite al cestodo establecerse y colonizar nuevos hospederos en periodos cortos, debido a la rápida y extensa traslocación de las carpas en varias regiones del mundo. Las investigaciones de identificación molecular han permitido reportar la presencia del parásito en especies de peces dulceacuícolas de importancia para la conservación de la biodiversidad, tanto en su rango de distribución nativa, como en su rango de distribución introducida (Bean *et al*, 2007; Xi *et al*, 2011; Chaudhary *et al*, 2015). También se han realizado estudios filogeográficos, los cuales son de gran utilidad para establecer relaciones de parentesco filogenético en función del origen y la distribución geográfica para la validación de especies (Škeříková *et al*, 2004; Brabec *et al*, 2015). Los datos moleculares también son útiles para identificar mecanismos en el crecimiento y desarrollo del parásito, mediante genes involucrados en dichos procesos (Luo *et al*, 2004). Mediante las identificaciones moleculares, se ha establecido la relación de la presencia del cestodo a las carpas para la acuicultura en Honduras (Salgado-Maldonado *et al*, 2015) y a la pesca deportiva en la región de Los Grandes Lagos entre Estados Unidos y Canadá (Marcogliese *et al*, 2016; Boonthai *et al*, 2017). Recientemente los reportes moleculares también han confirmado la presencia del parásito en condiciones ecológicamente aisladas en la isla de Madagascar, incrementando los registros de hospederos (Scholz *et al*, 2018).

En México, fue hasta 1981 que el registro de *S. acheilognathi* fue documentado en la literatura (López-Jiménez, 1981), aunque es probable que esta especie haya sido introducida en México alrededor del año 1965, con el arribo de 6000 alevines de *C. idella* provenientes de China, a la granja acuícola de Tezontepec de Aldama en el estado de Hidalgo (López-Jiménez, 1981). En 1972, como una de las acciones del gobierno mexicano para el control de malezas acuáticas en diferentes cuerpos de agua del país, se trasladaron carpas herbívoras y fue así que el parásito se propagó hacia diferentes cuencas hidrológicas, estableciéndose en varias poblaciones nativas de peces. Sin embargo, se tiene reporte de que las carpas asiáticas fueron introducidas durante el Siglo XIX en el Lago de Pátzcuaro; es decir, que la introducción del céstodo al territorio mexicano puede aún ser más antigua de lo que las primeras investigaciones consideraron.

Desde el primer reporte del parásito, continuaron los registros en varias especies de peces dulceacuícolas, los cuales fueron incrementándose con rapidez; García-Prieto y Osorio-Sarabia (1991) reportaron a *S. acheilognathi* en 15 especies pertenecientes a 4 familias, en 6 localidades de 4 estados de la República Mexicana. 12 años más tarde la extensión y el espectro de hospederos registrados aumentaron; para 2003 se reportó al céstodo en 49 especies de 26 géneros, de 7 familias y 5 órdenes, de 50 sitios en 14 estados (Salgado-Maldonado y Pineda-López, 2003). Después de 5 años, se registró la presencia del céstodo en 72 especies de 8 familias, en 102 localidades de 19 estados (Rojas-Sánchez y García-Prieto, 2008).

En la actualidad, *S. acheilognathi* está presente en 28 de los 32 estados del país (no hay registros en Nuevo León, Tamaulipas, Colima y Quintana Roo). El número total de hospederos es de 110 especies de peces de agua dulce de 51 géneros (96 especies nativas y 42 géneros nativos; 14 especies introducidas y 9 géneros introducidos) de 11 familias y 4 órdenes (Pérez-Ponce de León *et al*, 2017). Esto pudiera señalar la rapidez en la propagación y colonización de este parásito para

el caso de México, pero también pudiera estar relacionado con la constante reintroducción y dispersión antropogénica de carpas por parte de las entidades federales de México, a pesar de que algunas especies de peces dulceacuícolas se encuentran catalogadas como especies amenazadas por la legislación nacional (NOM-ECOL-1994), no ha habido una regulación ambiental efectiva en las introducciones de carpas asiáticas comunes y herbívoras para fines diversos, en los diferentes cuerpos de agua dulce del país.

Como parte de los registros morfológicos y moleculares de *S. acheilognathi*, recientemente el cestodo está presente en la región centroamericana en *Aqueidens caeruleopunctatus* de Panamá (Choudhury *et al*, 2013), en profundúlidos de Guatemala (Pinacho-Pinacho *et al*, 2015) y de Honduras (Salgado-Maldonado *et al*, 2015). Este último registro, además de documentar la presencia del helminto, se ha relacionado a la introducción de carpas para fines acuícolas (Salgado-Maldonado *et al*, 2015). Esta situación pone de manifiesto la distribución del parásito en esta región por el acarreo de peces introducidos. En México se cuenta ya con registros moleculares del cestodo para los marcadores ITS y CO1, en la región Neártica en el Estado de Durango, en el cual se elaboró la última actualización del espectro de hospederos para el país y la examinación de la variación genética entre aislados de individuos pertenecientes a hospederos de dicha región y de carpas introducidas en la Ciudad de México (Pérez-Ponce de León *et al*, 2017).

1.3 Presencia de *S. acheilognathi* en peces profundúlidos de Chiapas

Chiapas, es el estado con mayor riqueza y diversidad acuática de la región Neotropical de México junto con Oaxaca (Rodiles-Hernández, 2005) y forma parte de dos amplias regiones hidrológicas en las vertientes del Golfo de México y del Pacífico; la Cuenca Grijalva-Usumacinta (85% de la superficie estatal) y la Costa de Chiapas (15% de la superficie estatal). De las 5 regiones fisiográficas propuestas por

Müllerreid (1957); 3 de ellas están exclusivamente restringidas a Chiapas: Depresión Central, Los Altos de Chiapas y las Montañas del Norte. Las otras dos regiones restantes se extienden hasta Guatemala (Montañas del Oriente) y hasta Tabasco (Planicie Costera del Golfo). La región de Los Altos de Chiapas es el parteaguas entre los ríos Grijalva y Usumacinta, la cual alcanza 220 kilómetros en su eje principal y un ancho de hasta 50 kilómetros, con forma irregular y topografía sumamente accidentada, con altitudes variables desde 1000 hasta 2900 metros sobre el nivel del mar (msnm). El valle de San Cristóbal de las Casas forma una cuenca endorreica derivada del Grijalva (Rodiles-Hernández, 2005).

La riqueza de peces continentales en Chiapas está representada por 205 especies distribuidas en 107 géneros, correspondientes a 44 familias y 19 órdenes. Del total de especies, 9 son introducidas y pertenecen a las familias Cyprinidae, Salmonidae y Centrarchidae (Rodiles-Hernández, 2005). Una familia nativa de Chiapas es Profundulidae y es también un grupo representativo de la ictiofauna nativa de Centroamérica, la cual habita en arroyos de zonas montañosas que, en zonas más elevadas, las especies de esta familia son la única ictiofauna nativa. Es, además, una de las familias más primitivas del Orden de los Cyprinodontiformes (Parenti, 1981) y sólo hay descritas nueve especies en todo el mundo (Velázquez-Velázquez *et al*, 2011).

El “popoyote”, como comúnmente se le conoce a *Profundulus hildebrandi*, es una especie de pez emblemática de la región, la cual está como catalogada en Peligro de Extinción por la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001 publicada en el Diario Oficial de la Federación, 2002), a causa de diversos factores como el deterioro ambiental, contaminación, fragmentación y pérdida de hábitat, ocasionado por el crecimiento de la mancha urbana, así como la introducción de especies exóticas con el acarreo de sus parásitos (Velázquez-Velázquez *et al*, 2007). Desafortunadamente, no ha habido esfuerzos encaminados para la conservación y manejo de este pez dulceacuícola.

Velázquez-Velázquez *et al* (2011) relata que la introducción de *C. carpio* para fines acuícolas, sucedió alrededor del año 1970, junto con la cual el céstodo ingresó a Chiapas, pero también otras especies de peces exóticos como la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* y el pez *Micropterus salmoides* han sido introducidos a Chiapas y los cuales están reportados como susceptibles a infección por *S. acheilognathi* y tienen un papel importante en la transmisión de este parásito (Salgado-Maldonado, 2006). Se tiene documentado que, en las partes altas de Chiapas, se introdujeron carpas en dos granjas piscícolas del área, por el año de 1995; el Centro Acuícola San Cristóbal, municipio de San Cristóbal de las Casas y, el Centro Acuícola Ixtapa, municipio de Ixtapa (Velázquez-Velázquez *et al*, 2015).

Específicamente, se han descrito infecciones por este céstodo en dos profundúlidos en Chiapas: en *Profundulus hildebrandi* se ha registrado una prevalencia alta, >60% y con altas tasas de intensidad >4.5 céstodos por pez parasitado, además estos parámetros de infección son estables a lo largo de un año (Velázquez-Velázquez *et al*, 2011). Mientras que en *Profundulus candalarius*, se ha reportado la ocurrencia de *S. acheilognathi*, con una prevalencia máxima de 70% y una intensidad de 9.3, los peces de menor tamaño están parasitados en mayor frecuencia respecto de los medianos o grandes (Velázquez-Velázquez *et al*, 2015). Estos datos hacen evidente que las especies nativas de peces son susceptibles a las infecciones por parásitos no nativos, y se sugiere que la invasión del céstodo en las diferentes localidades de Chiapas pueda facilitar su propagación hacia cuencas vecinas del sureste de México y de Centroamérica.

Referente a *P. hildebrandi* se asume que el origen de las infecciones por *S. acheilognathi* fue a causa de la introducción de las carpas para acuicultura (*C. carpio*), ya que está reportada la presencia de estos peces en algunas localidades, donde por la falta de control y manejo de los encierros acuícolas, han escapado e invadido los hábitats de *P. hildebrandi* (Velázquez-Velázquez *et al*, 2011). Para el caso de *P.*

candalarius se identifica el mismo patrón principal de origen de infección por el céstodo; ingreso de carpas parasitadas en las partes altas de Chiapas para acuicultura (Velázquez-Velázquez *et al*, 2015). Es importante destacar que, para estos reportes de infección en estas especies de peces, se encontró la presencia de céstodos grávidos, así como de una amplia distribución regional, lo cual sugiere un desarrollo poblacional exitoso. Es otras palabras, estos datos sugieren que la especie ya ha establecido poblaciones autosuficientes en hospederos nativos; poblaciones que se mantienen sin necesidad de nuevas introducciones.

Por ello, se especula que las poblaciones del parásito pueden ser ya autosuficientes, pero aún queda la interrogante de si es que dependen de la reintroducción continua de carpas y si las poblaciones autosuficientes muestran variabilidad genética con respecto de las reintroducidas.

2. JUSTIFICACIÓN

En la cuenca del río Grijalva, Chiapas, se ha determinado la presencia *S. acheilognathi* en peces dulceacuícolas como los poecílidos (Salgado-Maldonado *et al*, 2010) y los profundúlidos (Velázquez-Velázquez *et al*, 2011; Velázquez-Velázquez *et al*, 2015). Es pertinente la confirmación de registros del céstodo en peces nativos o endémicos de Chiapas, mediante su identificación molecular para conocer el estado de invasión del parásito en esta zona de México, así como incrementar el conocimiento de la presencia de *S. acheilognathi* en especies de peces nativas. Es fundamental realizar más registros morfológicos y moleculares en México, con énfasis en poblaciones nativas de peces, ya que actualmente hay pocos registros moleculares del parásito en especies endémicas, no solo de México, sino de varios países del mundo, y además con los datos moleculares se puede identificar el origen de infecciones en base a la proximidad genética y comprender el mecanismo de colonización en regiones nuevas.

La presente investigación se enfoca en la identificación molecular de poblaciones del céstodo Asiático en cuerpos de agua dulce de Chiapas, examinando poblaciones del parásito tanto de peces nativos, como de carpas asiáticas, para confirmar la presencia de la especie en peces nativos y endémicos de la región y explorar el desarrollo de la autosuficiencia poblacional de esta especie invasora de helminto en peces nativos o bien, para explorar la continuidad en la re-introducción alóctona de “propágulos” (nuevas formas infectivas del parásito a través de los mismos procedimientos de acuicultura) en la región de San Cristóbal de las Casas.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

Como problema eje de esta investigación, se plantea la siguiente pregunta:

¿*S. acheilognathi* ha desarrollado autosuficiencia poblacional en peces profundúlidos, al grado de mostrar variación genética entre la población que infecta a peces nativos y la población asociada a peces introducidos?

Hipótesis:

Dado que el hospedero original de *S. acheilognathi* son las carpas asiáticas, entonces se espera que las poblaciones del parásito en estos peces (Cyprinidae) en cuerpos de agua de Chiapas tendrán distancias genéticas <1% de disimilitud para los genes ITS (1, 5.8S y 2) y CO1, en tanto que las poblaciones del céstodo procedentes de peces nativos (Profundulidae) tendrán distancias genéticas mayores (>1% de disimilitud) respecto de las primeras.

4. OBJETIVOS

Con base en lo anterior, en esta investigación se pretende explorar esta interrogante a través de los siguientes objetivos:

Objetivo General: Comparar la variabilidad poblacional entre los parásitos asociados a peces nativos y a carpas asiáticas, mediante la identificación molecular y morfológica del céstodo *S. acheilognathi* en peces profundúlidos y carpas de Chiapas.

Objetivos Particulares:

- Confirmar morfológicamente la identificación del parásito para complementar el estado de invasión y establecimiento de éste en peces nativos de la cuenca de San Cristóbal de las Casas, Chiapas.
- Explorar la procedencia ecológica de la infección del parásito, por medio del análisis de las distancias genéticas entre secuencias de céstodos de peces nativos y de carpas, de localidades de la cuenca de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, así como entre otras secuencias de parásitos reportadas en Bases de Datos.
- Aportar las secuencias genéticas de la región ITS (1, 5.8S y 2) y CO1 de poblaciones de *S. acheilognathi* de profundúlidos y carpas de localidades de la cuenca de San Cristóbal de las Casas, Chiapas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Colecta, obtención y organización de muestras

5.1.1 Área de estudio

Se colectaron dos especies de peces en dos localidades diferentes: *Profundulus hildebrandi* Miller 1950 (Profundulidae), se colectó en la localidad del dique de la colonia 4 de marzo – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas (Figura 4A). Este sitio pertenece a la Cuenca cerrada de San Cristóbal. *P. hildebrandi* y *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758 (Cyprinidae) se colectaron en el Lago Navenchauc – Zinacantán (Figura 4B). Este es un lago natural cerrado, que se alimenta de un manantial (ojo de agua) y por precipitación natural pluvial, y pertenece a la subcuenca cerrada de Zinacantán, que a su vez es parte de la cuenca del San Cristóbal. En el Cuadro 1 se indican los datos de cada sitio de colecta, así como el número de hospederos y especie colectada.

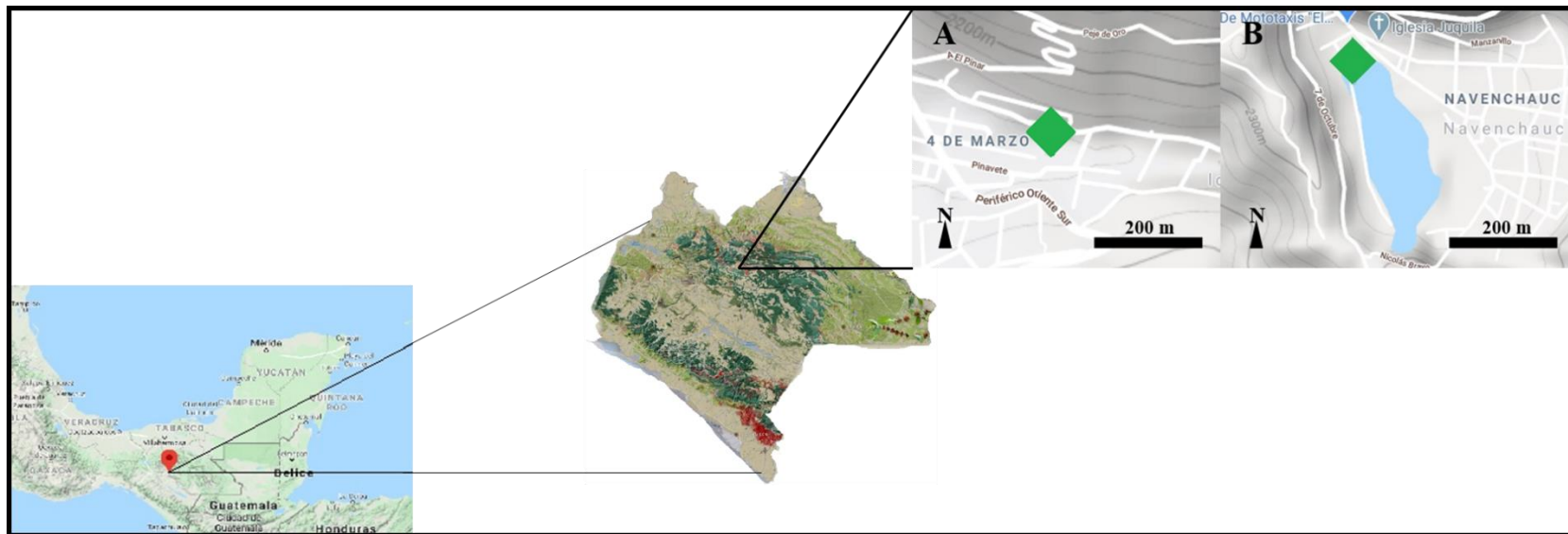


Figura 4. Sitios de colecta de las muestras de *S. acheilognathi*: A) Dique de la colonia “4 de marzo” - Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas y, B) Lago Navenchauc, Zinacantán, Chiapas.

Cuadro 1. Datos sobre los hospederos colectados en este estudio. (N: Número total de hospederos colectados).

N	Fecha de colecta	Sitio	Coordenadas	Altura (msnm)
<i>Profundulus hildebrandi</i> Miller 1950 (Profundulidae)				
20	14 - 15/08/19	Dique colonia 4 de marzo – Río Amarillo	16.746195, -92.614537	2142
<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus 1758 (Cyprinidae)				
8	22/01/2020	Lago Navenchauc	16.736223, -92.784482	2252
<i>Profundulus hildebrandi</i> Miller 1950 (Profundulidae)				
1	22/01/2020	Lago Navenchauc	16.736223, -92.784482	2252

Los peces se capturaron con chinchorros y con equipo de electropesca y fueron transportados vivos en peceras oxigenadas al laboratorio (Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez). Se tomaron medidas de longitud y peso de cada pez, de las cuales, se calculó el promedio y la desviación estándar (\pm), y se examinaron para buscar al céstodo en sus intestinos en las 4 horas siguientes a su captura (Figura 5).

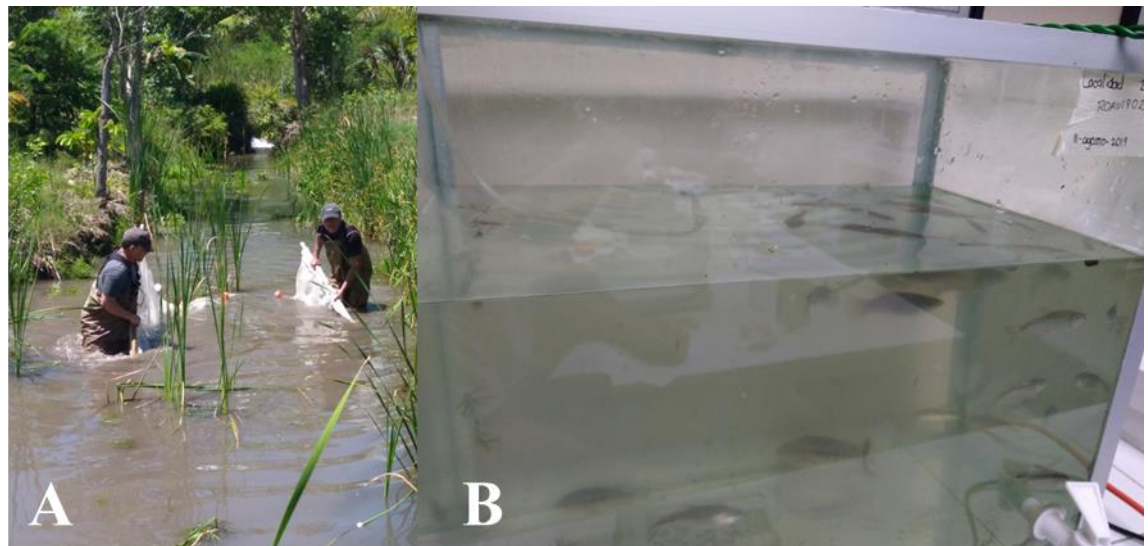


Figura 5. Colecta y transportación de los peces. A. Uso de chinchorros. B. Pecera con agua y oxígeno.

5.1.2 Examen helmintológico

El examen de cada hospedero se llevó a cabo bajo microscopio estereoscópico. Se extrajeron las vísceras que fueron colocadas en cajas de Petri grandes (15 cm de diámetro) con solución salina al 4%, el intestino se separó del resto de los órganos y posteriormente se abrió con agujas de disección (Figura 6). Cuando los hospederos resultaron parasitados por céstodos (Figura 7), se colocó un céstodo en una caja de Petri con solución salina al 0.7%, y de la parte final del estróbilo se tomaron de tres a cuatro segmentos (muestra) de proglótidos para los análisis moleculares. Cada una de las tres muestras de proglótidos de cada céstodo fue aislada en un microvial de 2 ml de capacidad fijando el material con alcohol etílico al 96% y se le asignó claves con el número de ejemplar del céstodo y letra correspondiente a cada replica (ver detalles de las claves en Apéndices 1 y 2). El resto de cada ejemplar de céstodo se fijó para su estudio morfológico y determinación taxonómica con las técnicas helmintológicas.

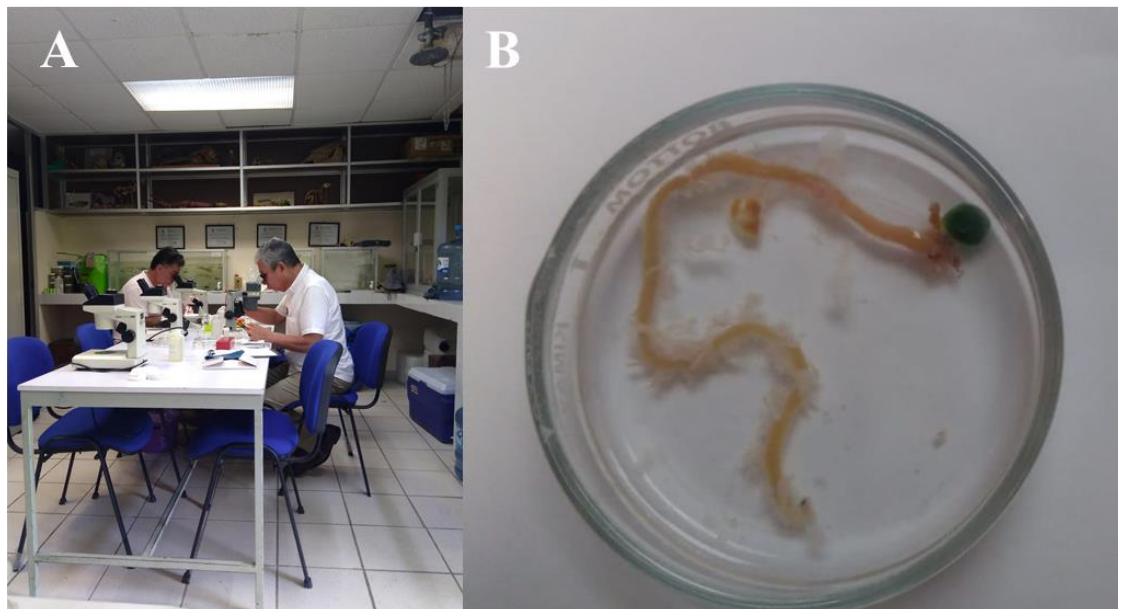


Figura 6. Procesamiento de helmintos. A. Disección de peces. B. Separación de intestino con solución salina.



Figura 7. Individuo grávido del céstodo *S. acheilognathi* observado *in vivo* durante el examen helmintológico de los peces *P. hildebrandi*. (Fotografía tomada por la Biól. Vianney Rodríguez Alvarado).

Para la fijación, los helmintos se colocaron en un vaso de precipitado con 20 ml de solución salina e inmediatamente se les cubrió aproximadamente con 100 ml de formol al 4% caliente para obtener ejemplares relajados, no contraídos, útiles para su procesamiento, estudio y determinación.

Para registrar los datos de infección se calculó los porcentajes de prevalencias, las abundancias e intensidades promedio, conforme a lo propuesto por Bush *et al* (1997). Es importante mencionar que en el Lago Navenchauc, por tratarse de un solo individuo colectado de *P. hildebrandi*, no se consideró para el cálculo de los parámetros de

infección al no existir una población concreta de hospederos, aunque los ejemplares de los parásitos y sus respectivos fragmentos de estróbilo si se conservaron para los análisis morfológicos y moleculares, respectivamente.

5.1.3 Organización/plan de trabajo

La Figura 8 muestra la estrategia metodológica que se siguió en esta investigación.

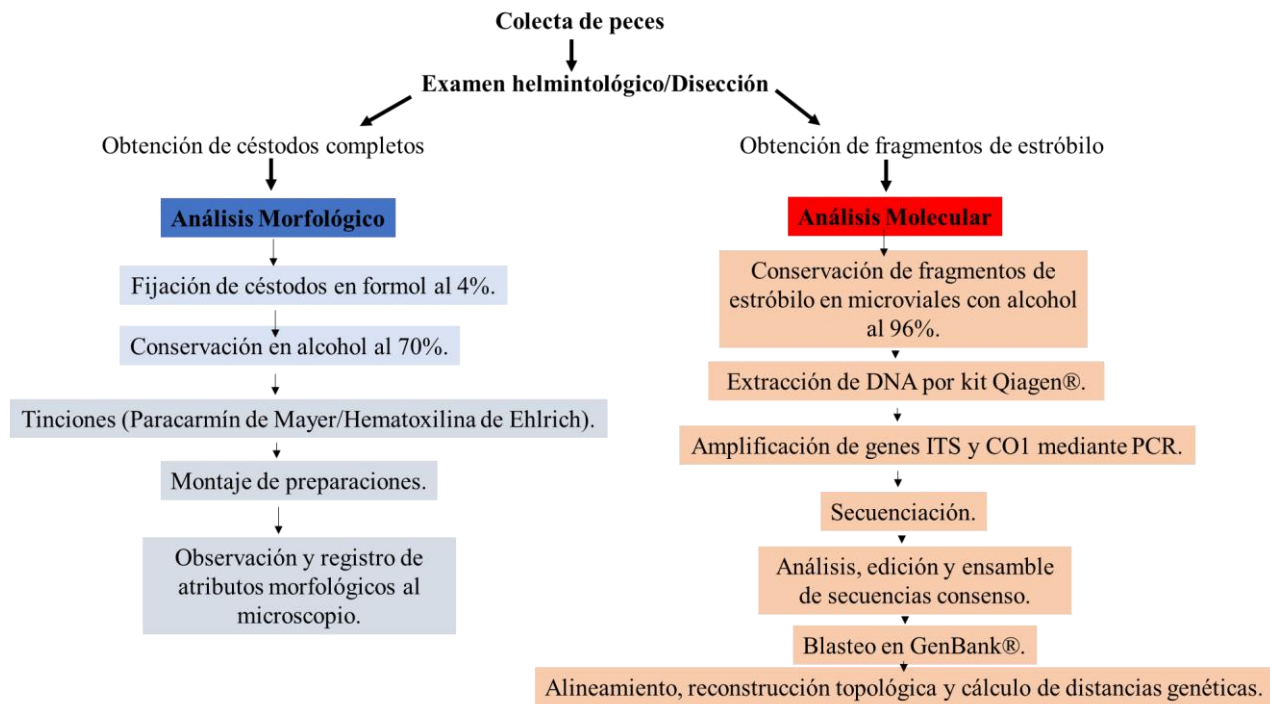


Figura 8. Estrategia metodológica general del proyecto de investigación.

Se separó el material colectado individualmente para la asignación de las claves, y de cada ejemplar se realizó el estudio morfológico y molecular. Para el estudio molecular, de cada ejemplar, se tomó un fragmento del estróbilo y se conservó en un vial con alcohol al

96%. Para el estudio morfológico el resto del cestodo se fijó en formol al 4% y se conservó en alcohol al 70%.

5.2 Tinción de ejemplares para Análisis Morfológico

Doce ejemplares conservados en alcohol al 70% fueron teñidos de la siguiente manera; seis ejemplares se tiñeron con Paracarmín de Mayer y otros seis ejemplares se tiñeron con Hematoxilina de Ehrlich. Todos los ejemplares se montaron con bálsamo de Canadá para elaborar preparaciones permanentes (Figura 9). Los detalles de las técnicas se describen en el Apéndice número 3. Las preparaciones fueron visualizadas en microscopio óptico Olympus ©, junto con las claves descritas por Yamaguti (1934), Scholz (1997) y de Kuchta *et al* (2008) para confirmar los caracteres morfológicos del cestodo (forma de escólex, tipo de estrobilación, bordes y genitales de proglótidos) y con la escala del ocular, se tomaron medidas de largo y ancho, de estructuras como el escólex, proglótidos inmaduros, proglótidos maduros, proglótidos grávidos y huevos. Se elaboró un registro con los datos de medidas de largos y anchos de estas estructuras, y se calculó el promedio y la desviación estándar (\pm) de estos valores.

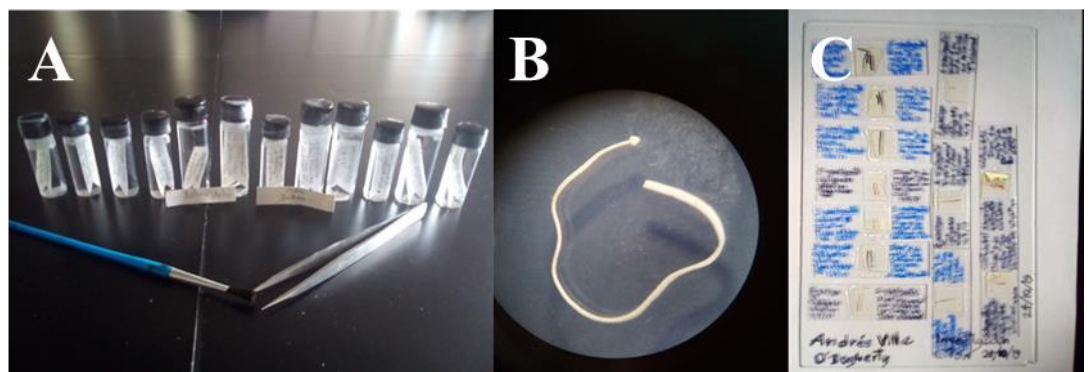


Figura 9. Ejemplares para el procesamiento de preparaciones permanentes. A. Conservación de ejemplares en viales con alcohol al 70%. B. Ejemplar completo de *S. acheilognathi*. C. Cada cestodo procesado en una laminilla permanente con datos de colecta.

5.3 Análisis molecular

Se efectuó el análisis molecular a 37 individuos *S. acheilognathi*; 13 de *P. hildebrandi* y 24 de *C. carpio* de las localidades del Río Amarillo de San Cristóbal de las Casas y del Lago Navenchauc, Zinacantán Chiapas, México.

5.3.1 Extracción y cuantificación de DNA

El DNA genómico se extrajo a partir de un fragmento de cada uno de los 37 individuos procesándolos individualmente. La extracción de DNA se realizó con el Kit DNAeasy Blood & Tissue Kit® (Qiagen®). Primero, se eliminó el alcohol de cada vial con micropipeta. Posteriormente, se colocó el fragmento del estróbilo en un microvial de 2 ml y se maceró en partes muy pequeñas. Para la lisis, se colocó a cada tubo 20 µl de proteinasa K y 180 µl de buffer de lisis, las muestras se incubaron durante 30 min a 56°C. La extracción se realizó con columnas de intercambio iónico, siguiendo el protocolo del fabricante. La extracción final se eluyó en 50 µl de buffer AE y se almacenó a -20°C, y, por último, fue evaluada la calidad y concentración del ADN utilizando un espectrofotómetro NanoDrop 2000™ (Thermo Fisher Scientific ©). Los detalles de las cuantificaciones se encuentran en los Apéndices 4 y 5. El proceso de extracción y cuantificación del DNA fue realizado en la Unidad de Medicina Experimental (UNAM) del Hospital General, en el Laboratorio de Inmunoparasitología bajo la supervisión de la M. en C. Isabel Cristina Cañeda Guzmán.

5.3.2 PCR genes ITS y CO1

El proceso de amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para los genes ITS y CO1 fue desarrollado en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Zoología del IB - UNAM, bajo la supervisión de la M. en C. Isabel Cristina Cañeda Guzmán y la M. en C. Andrea Rubí Jiménez Marín.

Las regiones ITS1, 5.8S e ITS2 se amplificaron con los cebadores o “primers” BD1 – Forward (5'-GTCGTAACAAGGTTTCCGTA-3') y BD2A – Reverse (5'-TATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3'), conforme lo reportado por Luo *et al* (2002). Mientras que la región CO1 se amplificó con los “primers” Dice1F – Forward (5'-ATTAACCCTCACTAAATTWCNTTRGATCATAAG-3') y Dice14R – Reverse (5'-TAATACGACTCACTATACCHACMRTAAACATATGATG-3'), conforme lo reportado por Van Steenkiste *et al* (2015) y Marcogliese *et al* (2016). Ambos PCR se realizaron en 15 µl de volumen de reacción o “Master mix” con 5 µM MyTaq® Buffer 5X (Bioline ©, con dNTP's incluidos), 5 U – 5 µM MyTaq® DNA polimerasa (Bioline ©), 10 µM de cada “primer”, 3 µl de DNA genómico y agua inyectable estéril (PISA Laboratorios®). El detalle con las cantidades para la solución de estos PCR están en los Apéndices 6 y 7.

Las condiciones de ciclado para obtener el gen ITS fueron programadas conforme a lo estandarizado por Luo *et al* (2002): 1 ciclo de 5 minutos a 94°C de desnaturalización inicial, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C (desnaturalización); 30 segundos a 56°C (alineamiento); 1 minuto a 72°C (extensión), y un paso de extensión final de 1 ciclo, de 5 minutos a 72°C.

Las condiciones de ciclado para obtener el gen CO1 fueron programadas conforme a lo estandarizado por Van Steenkiste *et al* (2015): 1 ciclo de 2 minutos a 94°C de desnaturalización inicial, seguido de 30 ciclos de 40 segundos a 94°C; 40 segundos a 51°C; 1 minuto a

72°C, seguido de un “Touchdown” de 5 ciclos de 40 segundos a 94°C; 40 segundos de 50°C a 46°C (disminuyendo 1°C por ciclo); 1 minuto a 72°C, seguido de 35 ciclos de 40 segundos a 94°C; 40 segundos a 45°C; 1 minuto a 72°C y un paso de extensión final de 1 ciclo de 5 minutos a 72°C.

Los ciclos para los dos PCR fueron programados en un termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler – Appliedbiosystems – Thermo Fisher Scientific ©.

Los productos del PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% en buffer TAE 1x, se empleó 1 µl de marcador de peso molecular de 100 pares de bases (bp), Gene Ruler 50 µg/0.5 µg/µl (Thermo Fisher Scientific ©), teñido con 1 µl de GelRed™; 2 µl de producto de PCR, teñido con 1 µl de GelRed™ y un blanco como control negativo con 1 µl de GelRed™, junto con la solución “Master Mix”, únicamente con agua inyectable estéril, sin DNA. La corrida del gel se realizó con una fuente de poder, bajo las siguientes condiciones: 100 volts, 500 miliAmpers, durante 30 minutos. Los geles fueron visualizados en un fotodocumentador MultiDoc-It Imaging System – UVP™ (Analytik Jena AG©), bajo luz ultravioleta.

5.3.3 Secuenciación, análisis, edición, ensamble de secuencias consenso y verificación en Base de Datos genómica

Los productos del PCR fueron secuenciados bajo el método de Sanger (Sanger *et al*, 1977), en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud – Laboratorio Nacional de Biodiversidad (LANABIO), del IB – UNAM, por la M. en C. Laura Margarita Márquez Valdemar y la M. en C. Nelly M. López Ortiz. Se utilizó un secuenciador Appliedbiosystems 3730 xl ® y los archivos de electroferogramas fueron generados con el software Sequencing Analyzing, versión 6.0.

Las secuencias fueron visualizadas, ensambladas y editadas con el programa BioEdit versión 7.0.5. para obtener secuencias consenso, las cuales se analizaron mediante la herramienta “BLAST” (Basic Local Alignment Search Tool) utilizando el sitio web del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Se planteo también un análisis consensuado; de todas las secuencias de aislados pertenecientes a un hospedero determinado y un sitio específico (de *P. hildebrandi* y de *C. carpio*, de Río Amarillo o el Lago Navenchauc, se construyeron consensos de estos grupos poblacionales.

5.4 Reconstrucción Topológica

Los árboles de topología de los dos genes a estudiar (ITS y CO1) fueron obtenidos mediante un alineamiento para las secuencias consenso, con el programa MEGA versión 7.0, usando el algoritmo ClustalW y con Máxima Verosimilitud (ML) con “Bootstrap” de 10000 repeticiones, con el modelo probabilístico de GTR+G+I (“General Time Reversible” + Distribución Gamma con sitios invariantes) (Nei y Kumar, 2000). La estimación de distancias genéticas pareadas, fue obtenida con “Bootstrap” de 1000 repeticiones, con el modelo probabilístico de 2 parámetros de Kimura (Kimura, 1980).

6. RESULTADOS

6.1 Datos de hospederos e infección

Se examinaron un total de 20 individuos de *P. hildebrandi* (Figura 10), recolectados en el Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, de los cuales 7 estuvieron infectados con *S. acheilognathi* en intestino y estómago. Como datos relevantes de la morfometría de estos hospederos, se destaca que la mayor proporción de individuos infectados fueron machos (4 machos y 3 hembras), mientras que ningún juvenil resultó parasitado (Cuadro 2). Se registró una prevalencia de 35%, abundancia de 0.6 e intensidad promedio de 1.7 para esta población.

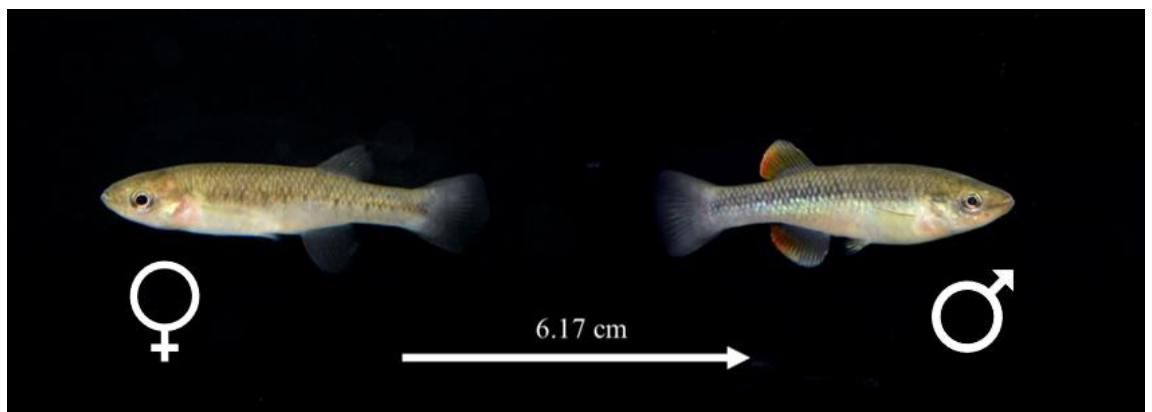


Figura 10. Dimorfismo sexual de *Profundulus hildebrandi*. Peces nativos colectados en el Dique de la colonia “4 de marzo” – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas. ♀ = Hembra. ♂ = Macho.

Cuadro 2. Datos morfométricos y resultados parasitológicos de *Profundulus hildebrandi*. En la localidad del Dique de la colonia 4 de marzo – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas, durante el 15 de agosto de 2019. *SD = Desviación Estándar (\pm).

Número de hospedero	Longitud total (mm)	Longitud patrón (mm)	Altura (mm)	Peso (g)	Sexo	Número de céstodos recolectados
1	55	40	15	1,8	Macho	1
2	55	40	10	1,7	macho	2
3	35	28	5	0,5	Juvenil macho	-
4	58	45	10	1,7	Macho	-
5	35	25	5	0,4	Juvenil	-
6	66	50	15	2,7	Juvenil	-
7	55	40	10	1,5	Hembra	1
8	60	48	10	1,8	Macho	-
9	53	48	10	1,4	Hembra	-
10	83	70	20	7,3	Macho	-
11	60	50	15	1,7	Hembra	5
12	75	65	15	4,6	Macho	-
13	72	60	17	4,7	Macho	-
14	60	46	15	2,2	Hembra	-
15	62	50	15	2,7	Macho	-
16	67	59	19	3,3	Macho	1
17	60	45	10	2,5	Macho	-
18	63	55	10	2,6	Macho	1
19	65	50	10	2,3	Hembra	1
20	95	88	18	10,3	Macho	-
Promedio	61.7	50.1	12.7	2.9		
*SD	± 13.7	± 14.1	± 4.3	± 2.3	Total:	12

Por otra parte, se examinaron un total de 8 individuos de *C. carpio* (Figura 11), recolectados en el Lago Navenchauc, Zinacantán, Chiapas, en que 6 individuos estuvieron infectados con *S. acheilognathi* en intestino. En los datos de la morfometría para estos hospederos, se resalta que 6 juveniles resultaron parasitados, pero en aquellos individuos de mayor peso (>2 gramos), no se encontraron cestodos (Cuadro 3). Esta población mostró los siguientes niveles de infección: prevalencia de 75%, abundancia de 5 e intensidad promedio de 6.6.

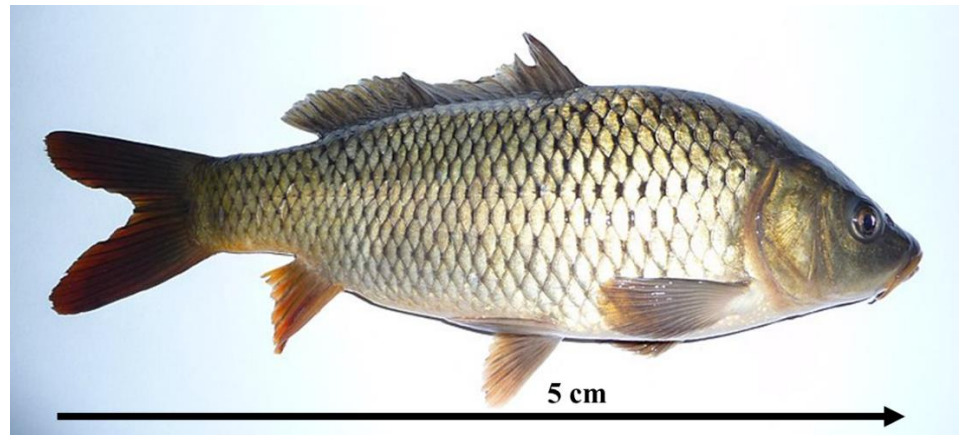


Figura 11. *Cyprinus carpio* juvenil. Colectado en el Lago Navenchauc - Zinacantán, Chiapas.

Cuadro 3. Datos morfométricos y resultados parasitológicos de *Cyprinus carpio*. En la localidad del Lago Navenchauc, Zinacantán Chiapas, durante el 22 de enero de 2020. *SD = Desviación Estándar (\pm).

# Hospedero	Longitud total (mm)	Longitud patrón (mm)	Altura (mm)	Peso (g)	Sexo	Número de céstodos recolectados
1	28	23	4	0,16	Juvenil	5
2	59	43	17	2,62	Juvenil	-
3	58	45	15	2,4	Juvenil	2
4	68	53	18	2,88	Juvenil	-
5	46	36	13	1,2	Juvenil	7
6	56	43	15	2,09	Juvenil	-
7	40	30	11	0,82	Juvenil	9
8	41	30	11	0,81	Juvenil	14
Promedio	49.5	37.9	13	1.6		
*SD	± 13	± 10	± 4.4	± 1	Total:	37

6.2 Determinación taxonómica por métodos morfológicos

Se midieron y observaron al microscopio 12 especímenes montados en preparaciones totales permanentes; Los parásitos fueron identificados como *Schyzocotyle acheilognathi* (= *Bothriocephalus acheilognathi*), basado en los caracteres descritos por Yamaguti (1934), Scholz (1997) y Kuchta *et al* (2008), incluyendo los siguientes: Los

céstodos tuvieron una longitud total de 3.3 mm a 39.2 mm, (promedio: 16.4 mm \pm 10.42). El escólex tiene forma de corazón que mide de 570 μ m a 750 μ m, (promedio: 640 μ m \pm 0.2) de largo por 480 μ m a 800 μ m, (promedio: 610 μ m \pm 0.2) de ancho. El escólex posee dos profundos botridios e inmediatamente debajo de escólex inicia la segmentación con estrobilación acrespedota (Figura 12).

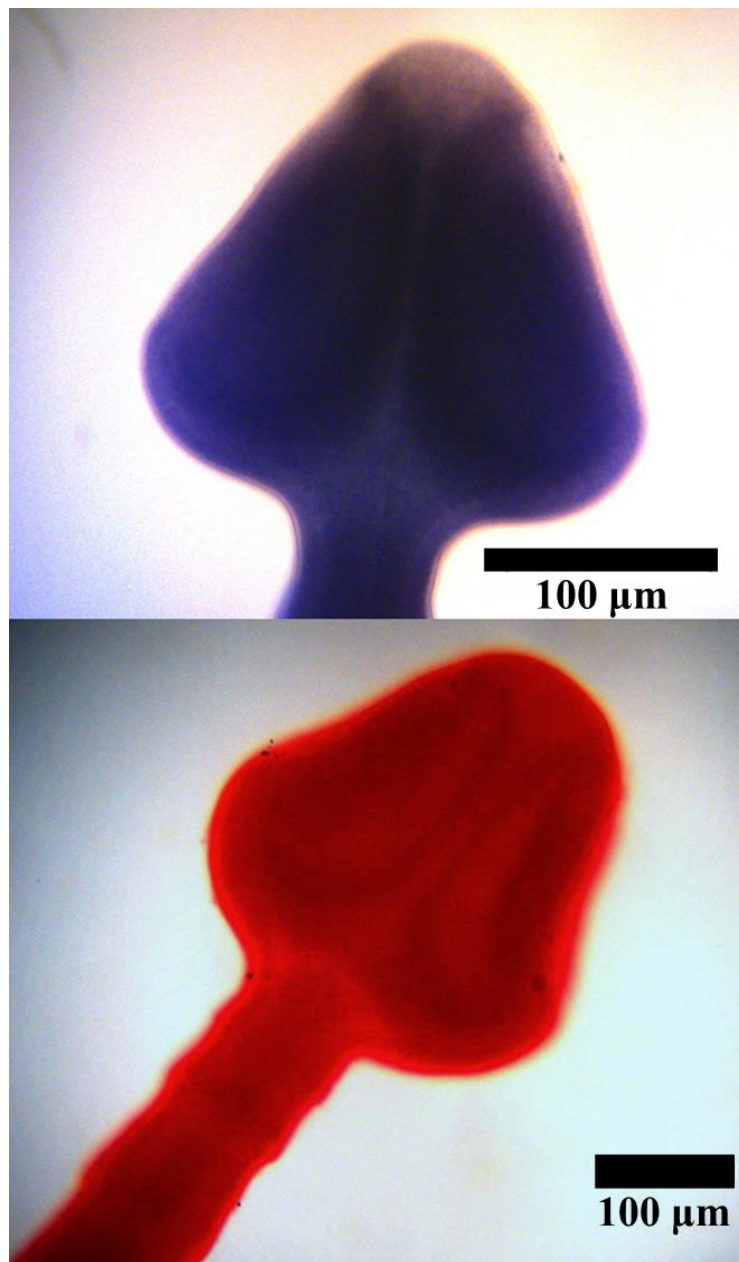


Figura 12. Escólex de *S. acheilognathi*. Morfología característica en forma de corazón y presencia de dos botridios profundos e inicio de la segmentación.

Se midieron 10 proglótidos inmaduros que tuvieron las siguientes medidas: promedio de $190\ \mu\text{m} \pm 0.09$ de largo (rango de $120\ \mu\text{m}$ a $250\ \mu\text{m}$), y un promedio de $470\ \mu\text{m} \pm 0.25$ de ancho (rango de $300\ \mu\text{m}$ a $700\ \mu\text{m}$) (Figura 13).

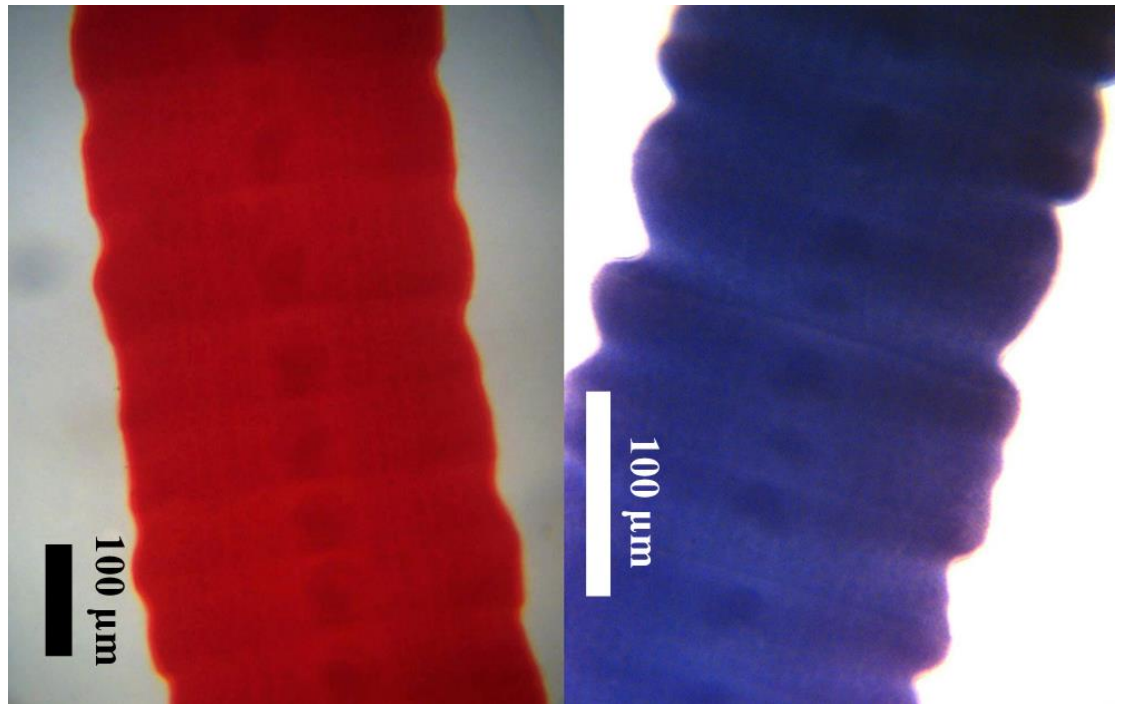


Figura 13. Proglótidos inmaduros de *S. acheilognathi*. Nótese la estrobilación acrospedota y el desarrollo de los esbozos genitales.

En el caso de los proglótidos maduros, de 10 estructuras, las medidas que se registraron fueron las siguientes: promedio: $360 \mu\text{m} \pm 0.2$ de largo (rango de $240 \mu\text{m}$ a $650 \mu\text{m}$) y un promedio de $730 \mu\text{m} \pm 0.41$ de ancho (rango de $230 \mu\text{m}$ a $1070 \mu\text{m}$). En los proglótidos maduros se observan testículos pequeños esféricos distribuidos en el parénquima medular ocupando los campos laterales del segmento. En la línea media está situada la bolsa del cirro la cual es musculosa y contiene al cirro que es cilíndrico de doble pared y desemboca en el poro genital. El ovario es elongado, cerca del margen posterior de los proglótidos. El conducto uterino es sinuoso (Figura 14).

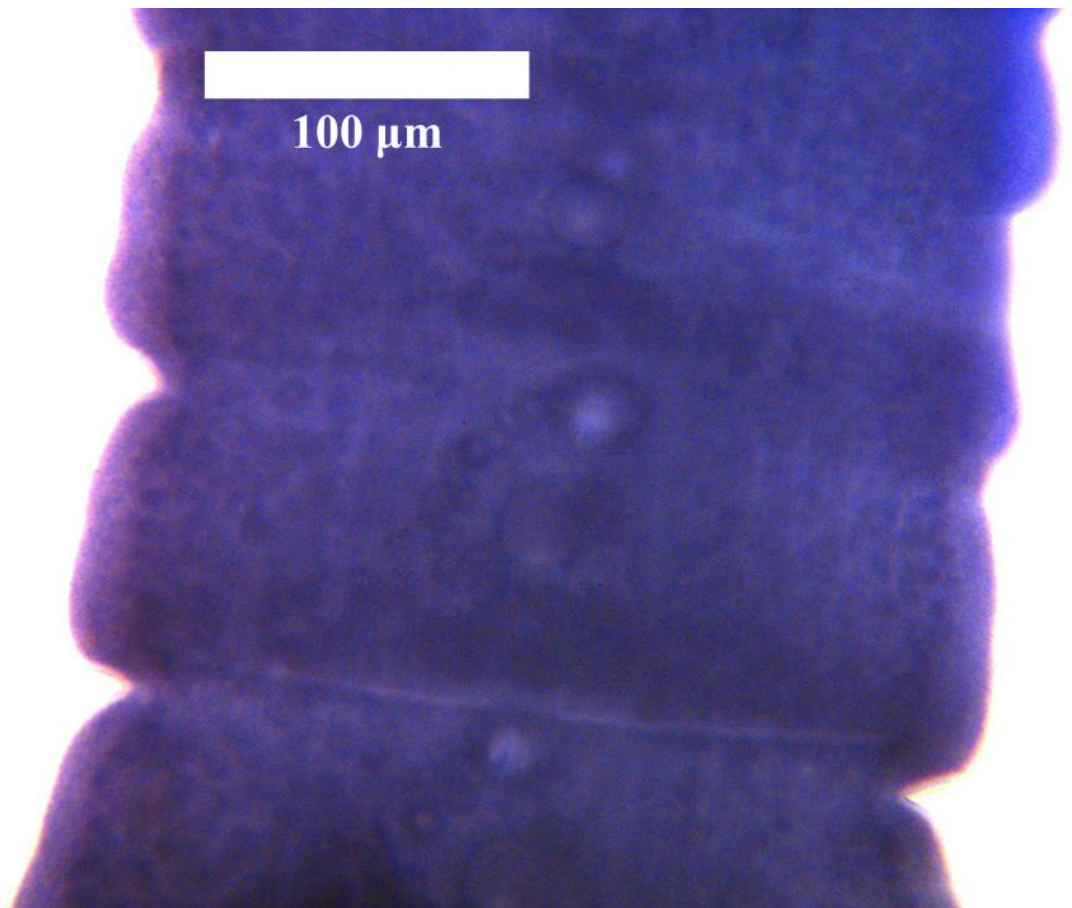


Figura 14. Proglótidos maduros de *S. acheilognathi*.

Tres individuos de los doce ejemplares presentaron proglótidos grávidos y el mayor número de estos proglótidos registrado fue de 42 (Figura 15). De 10 proglótidos, las medidas que se registraron fueron las siguientes: promedio de $390 \mu\text{m} \pm 0.18$ de largo (rango de $320 \mu\text{m}$ a $450 \mu\text{m}$,) y promedio de $1010 \mu\text{m} \pm 0.46$ de ancho (rango de $810 \mu\text{m}$ a $1140 \mu\text{m}$).

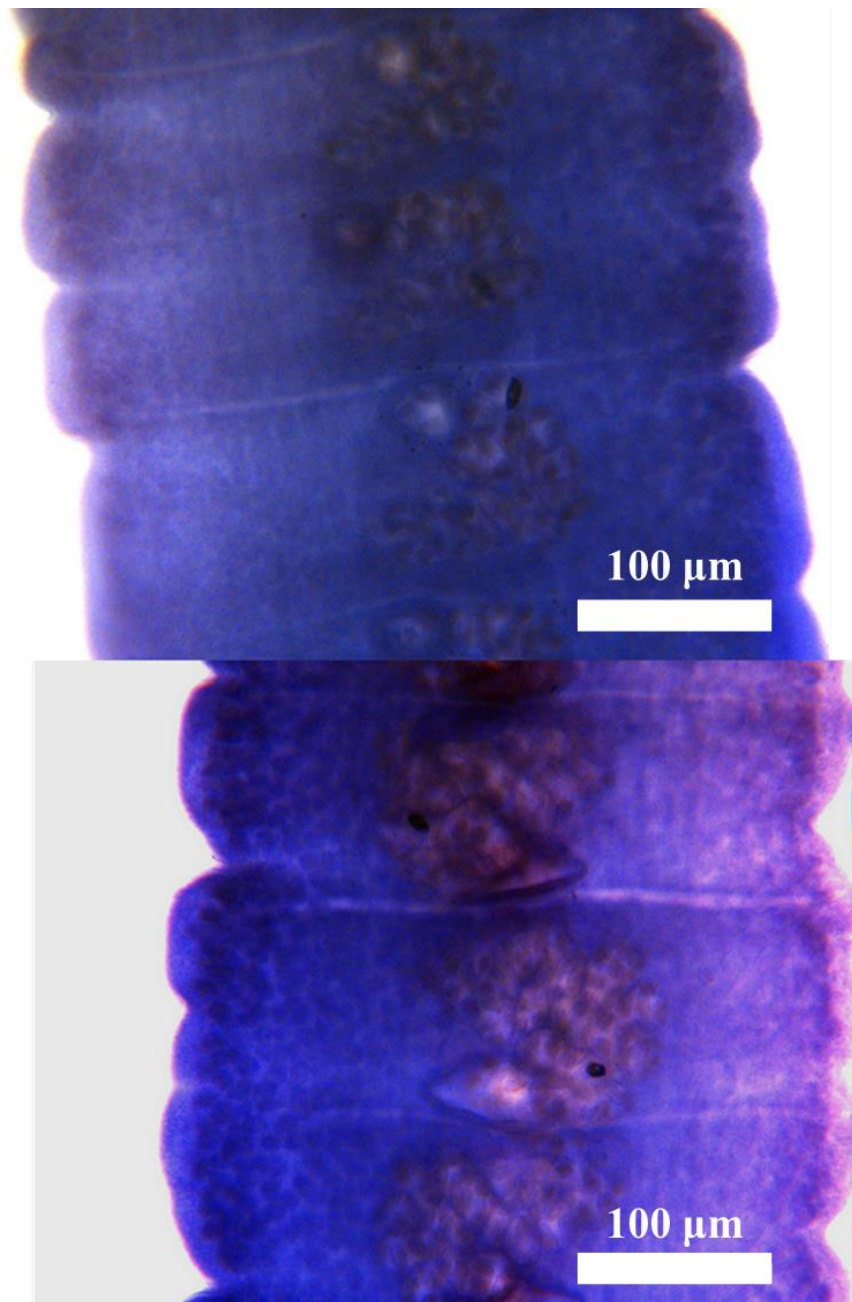


Figura 15. Proglótidos grávidos de *S. acheilognathi*.

Los huevos son ovalados de cáscara delgada y operculados (Figura 16), aunque algunas veces no es notorio el opérculo. En el interior de los huevos se observan varios grados de desarrollo del embrión, pero no se observaron ganchos. Las medidas de 10 huevos fueron: promedio de $30\ \mu\text{m} \pm 0.012$ de largo (rango de $20\ \mu\text{m}$ a $30\ \mu\text{m}$) y promedio de $50\ \mu\text{m} \pm 0.021$ de ancho (rango de $40\ \mu\text{m}$ a $50\ \mu\text{m}$).

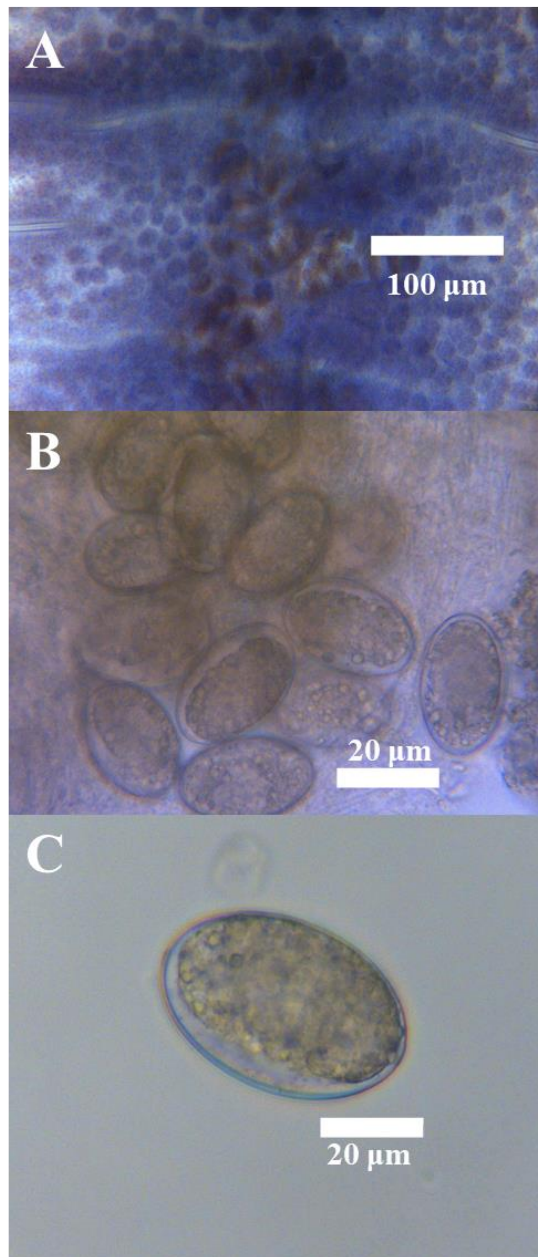


Figura 16. Huevos de *S. acheilognathi*. A) Proglótido grávido (objetivo 10x). B) Huevos en el interior del útero (objetivo 40x). C) Huevo embrionado (objetivo 40x).

6.3 Verificación de la determinación por métodos moleculares

6.3.1 Obtención de genes y tamaño de secuencias

El gel de agarosa visualizado mediante electroforesis con los productos de PCR del gen ITS, revelo la correcta amplificación para las muestras de los céstodos de *P. hildebrandi* colectados en Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas (Figura 17A) y para las muestras de céstodos de *C. carpio* y de *P. hildebrandi* colectados en el Lago Navenhauc, Zinacantán, Chiapas (Figura 17B). Del mismo modo, la visualización de los productos del gen CO1 también indicó una correcta amplificación para las muestras de parásitos de los peces de las dos localidades estudiadas (Figura 18A y 18B).

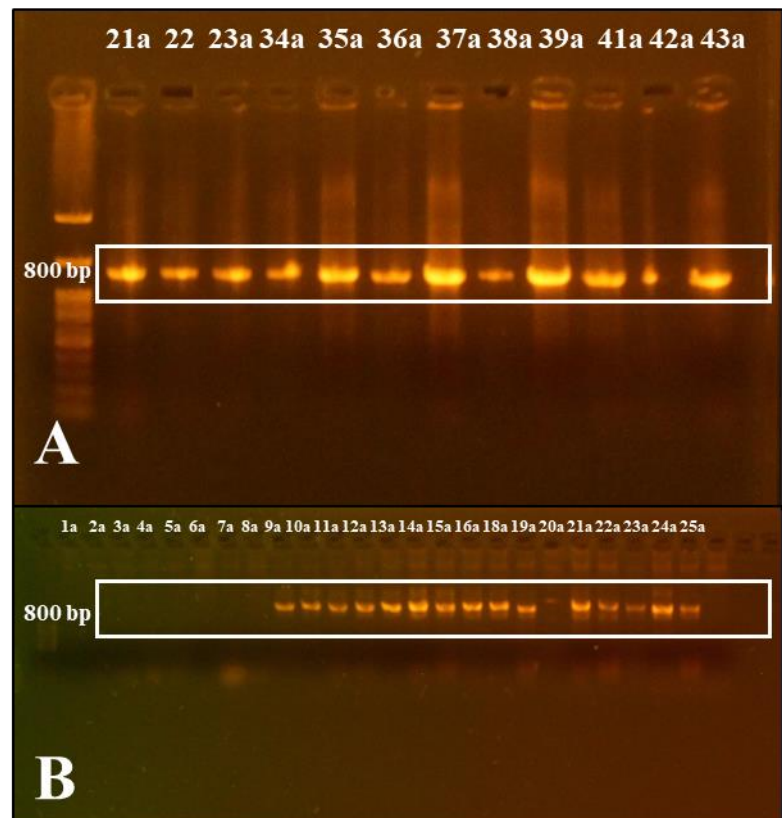


Figura 17. Productos de PCR del gen ITS. A. Aislados de *P. hildebrandi* de muestras del Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas. B. Aislados de *C. carpio* y *P. hildebrandi* de muestras del lago Navenhauc, Zinacantán, Chiapas.

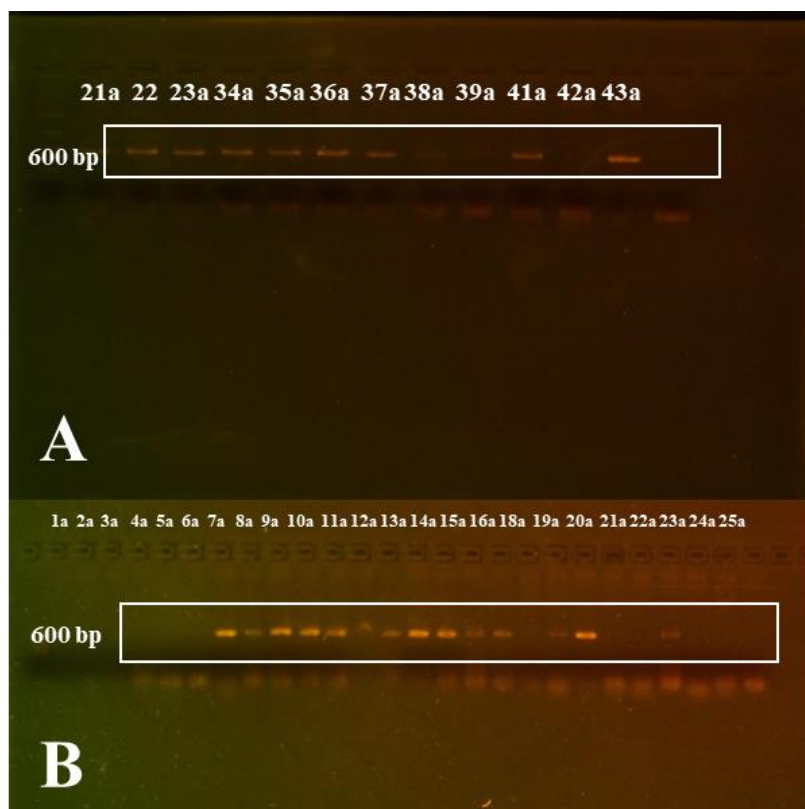


Figura 18. Productos de PCR del gen CO1. A. Aislados de *P. hildebrandi* de muestras del Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas. B. Aislados de *C. carpio* y *P. hildebrandi* de muestras del lago Navenhauc, Zinacantán, Chiapas.

Se obtuvieron 24 secuencias consenso de 1339 a 1370 pb para el gen ITS y 17 secuencias consenso de 441 a 795 pb para el gen CO1. Con estas secuencias consenso, se procedió a efectuar la verificación taxonómica con la herramienta “BLAST” en el portal del GenBank® del NCBI. Con el ingreso de cada secuencia, la plataforma arrojó registros con la mayor probabilidad de identidad taxonómica todos pertenecientes a *Schyzocotyle acheilognathi* (= *Bothriocephalus acheilognathi*) de los genes ITS (1, 5.8 y 2) y CO1.

Para el alineamiento del segmento ITS, se emplearon las 24 secuencias obtenidas en este trabajo, mientras que para el segmento CO1, se emplearon las 17, todas ellas se compararon con los aislados enlistados en el Apéndice número 8.

Se obtuvieron árboles de consenso, los cuales se elaboraron con las secuencias consensuadas agrupadas en los 3 diferentes grupos poblacionales representativos (2 pertenecientes a los céstodos de *P. hildebrandi* y 1 a los de *C. carpio*). Estas 3 secuencias del gen ITS tuvieron un tamaño de 1304, 1353 y 1270 pb, respectivamente, mientras que las 3 secuencias del CO1, un tamaño de 378, 745 y 750 pb, respectivamente.

Es importante mencionar que para los análisis (completo y de consenso) se emplearon como grupos externos, la secuencia AF362434.1 de *Bothriocephalus claviceps*, del pez *Anguila marmorata*, Japón, reportada por Luo *et al* (2002) para ramificar el árbol del gen ITS, y la secuencia KX060589.1 de *Schyzocotyle nayarensis* del pez *Raiamas bola*, India, reportada por Brabec *et al* (2016) para ramificar el árbol del gen CO1.

6.3.2 ITS de todas las secuencias

El análisis molecular del gen ITS (1, 5.8S y 2) para las 24 secuencias de este estudio sitúa a estos aislados dentro de un mismo clado, con longitudes de ramas mínimas (escasos sitios informativos), junto con aquellas secuencias reportadas en GenBank® para este marcador (Figura 19). A nivel intraespecífico, es mínima la variación entre secuencias (de 0.00% a 0.47% de disimilitud). Los aislados de esta investigación son colocadas junto con la secuencia KX060603.1 de *Atherina boyeri*, de Turquía; con la secuencia KX060604.1 de *Cyprinella lutrensis*, de Estados Unidos de América (EUA) y con la secuencia KX060597.1, de *Labeobarbus nedgia* de Etiopia, con distancias genéticas de 0.00%, 0.16% y 0.31% entre los diferentes aislados (véase también, el Apéndice 9 para más detalles).

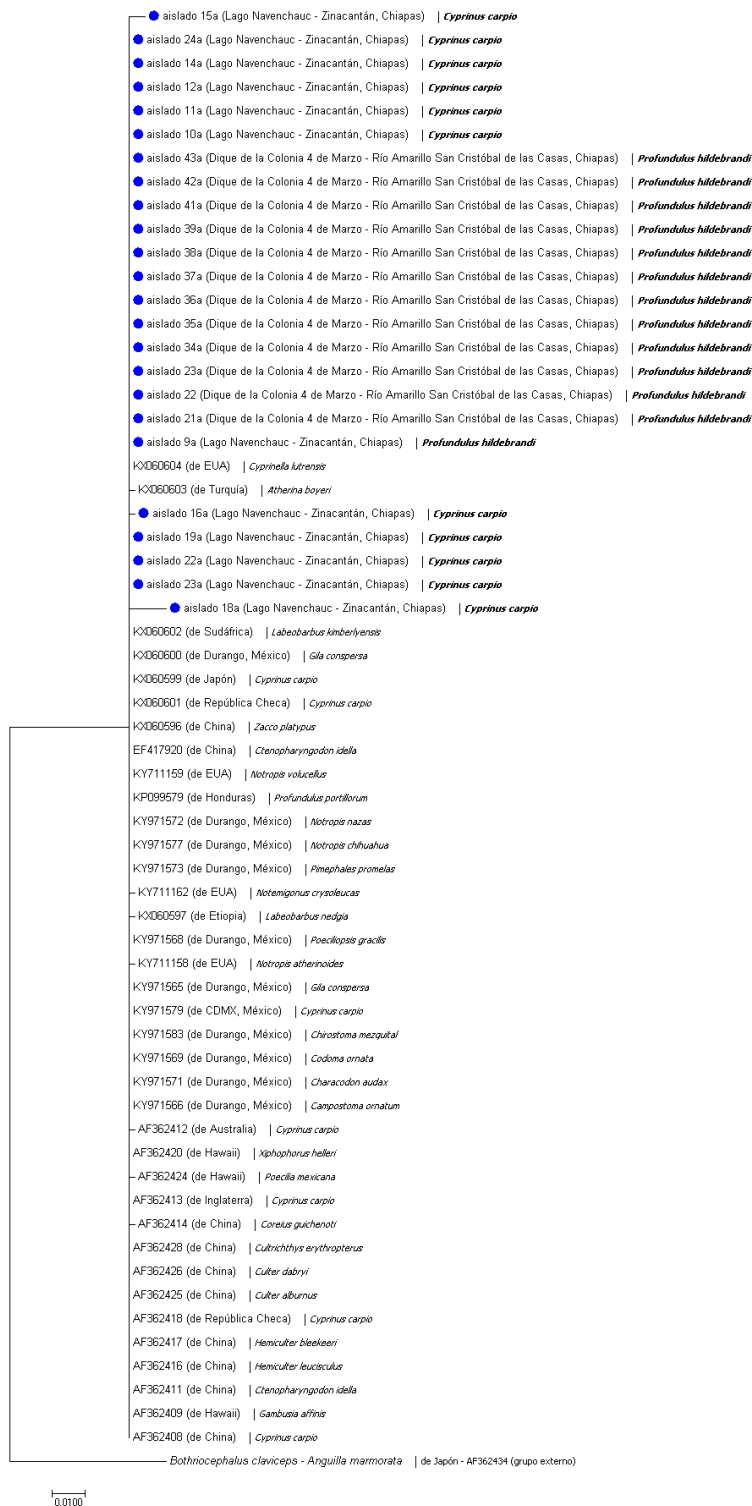


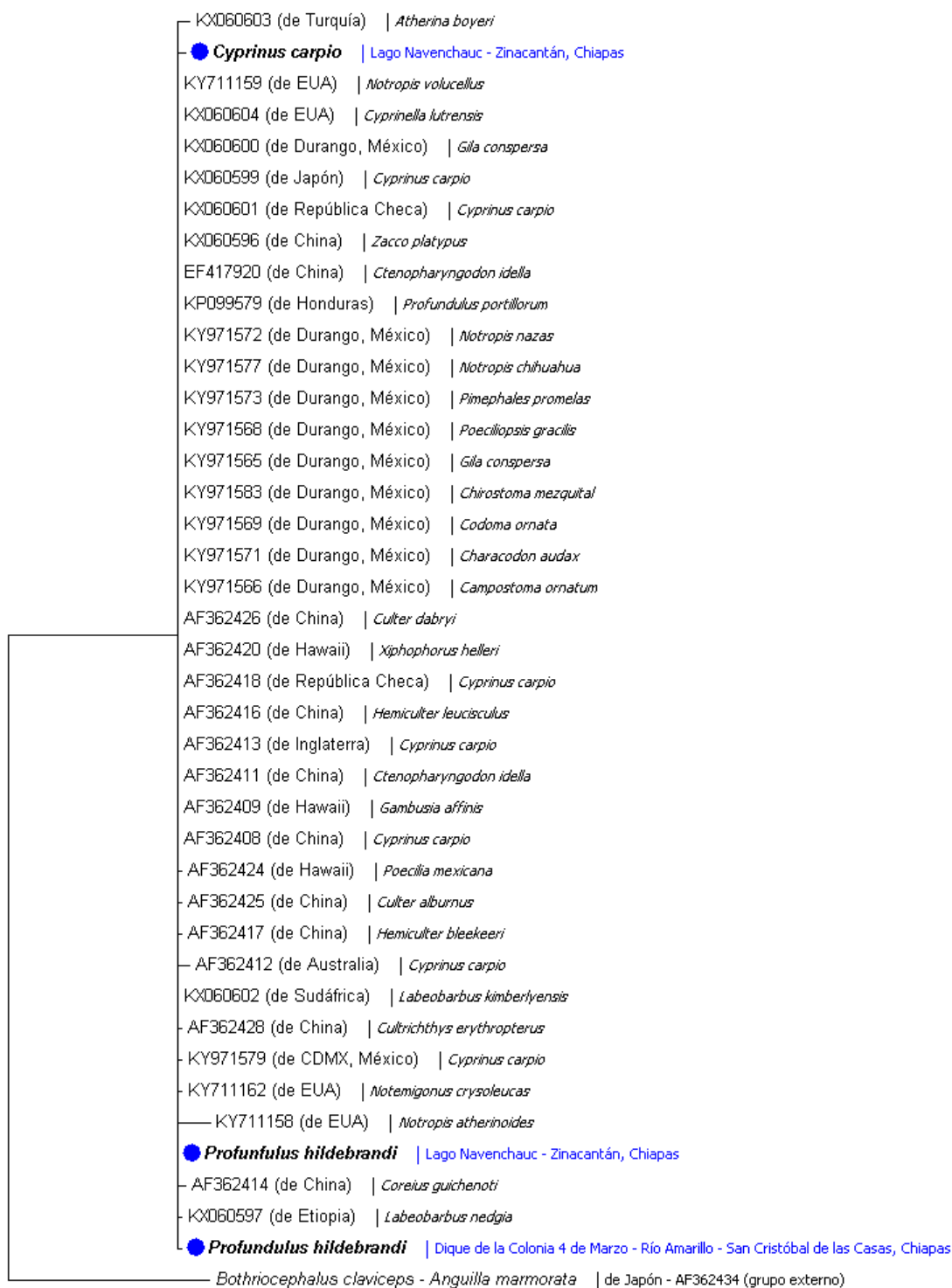
Figura 19. Árbol de Topología del segmento ITS para los 24 aislados de *S. acheilognathi* de los peces *P. hildebrandi* y *C. carpio*. Construido por máxima verosimilitud (ML). *Bothriocephalus claviceps* fue utilizado como grupo externo. Las secuencias del presente estudio están marcadas con viñeta azul.

6.3.3 ITS consenso de los grupos poblacionales

Al analizar a las secuencias de los 3 grupos poblacionales, se puede observar un patrón muy similar; los grupos son colocados en el mismo clado que las secuencias reportadas. Es nula la variación intraespecífica entre los aislados del estudio (0.00% de disimilitudes). Las secuencias más próximas a los dos aislados de *P. hildebrandi* son AF362414.1, KX060597.1 y KY711158.1; de *Coreius guichenoti*, de China (0.21% de disimilitud); de *L. nedgia*, de Etiopia (0.00% de disimilitud) y de *Notropis atherinoides*, de EUA (0.00% de disimilitud), respectivamente. En tanto que el grupo poblacional de *C. carpio* está próximo a la secuencia KX060603.1 y KY711159.1, de *A. boyeri*, de Turquía (0.1% de disimilitud) y *N. volucellus*, de EUA (0.00% de disimilitud), respectivamente (Figura 20; Apéndice 10).

6.3.4 CO1 de todas las secuencias

El análisis molecular del gen CO1 para las 17 secuencias de esta investigación aporta resultados muy similares a los obtenidos mediante el gen ITS; los aislados se colocan en un mismo clado, más uniforme, junto con las secuencias disponibles en GenBank® (no se detectaron sitios informativos). La variación a nivel intraespecífico fue nula (0.00% de disimilitudes). En proximidad, los aislados son cercanos a la secuencia KY971562.1 de *C. carpio* de la Ciudad de México (CDMX), México (0.00% de disimilitud), pero el aislado 20a de *C. carpio* del Lago Navenchauc, que no es colocado junto con los demás de este estudio, está situado próximo a la secuencia KX060594.1 de *A. boyeri*, de Turquía, aunque con mayor disimilitud, con respecto de las otras secuencias restantes de este trabajo (0.64%), comparadas con los registros del GenBank® (Figura 21; Apéndice 11).



0.0100

Figura 20. Árbol de Topología del segmento ITS para los 3 consensos de *S. acheilognathi* de los peces *P. hildebrandi* y *C. carpio*. Construido por máxima verosimilitud (ML). *Bothriocephalus claviceps* fue utilizado como grupo externo. Las secuencias del presente estudio están marcadas con viñeta azul.

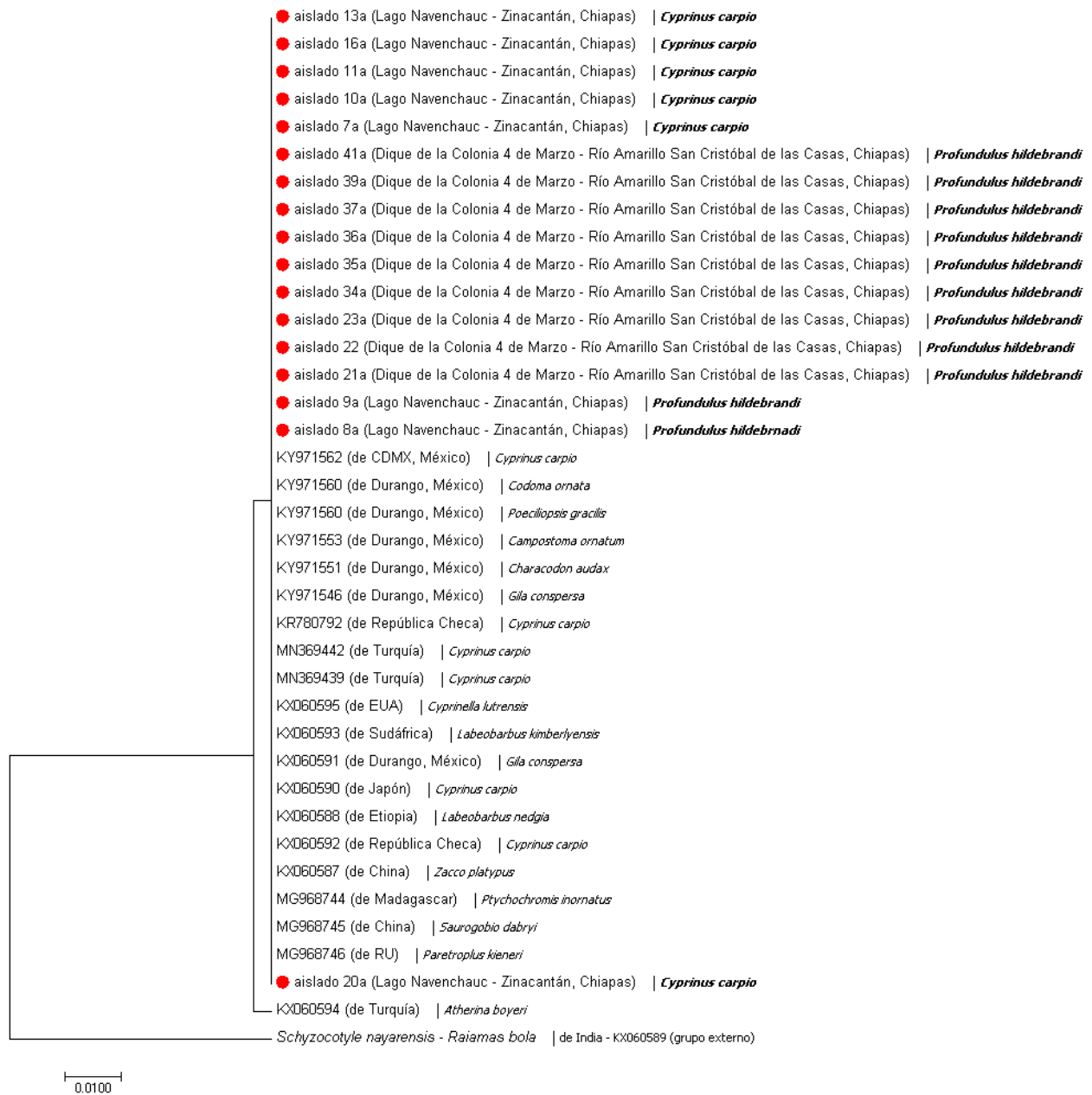
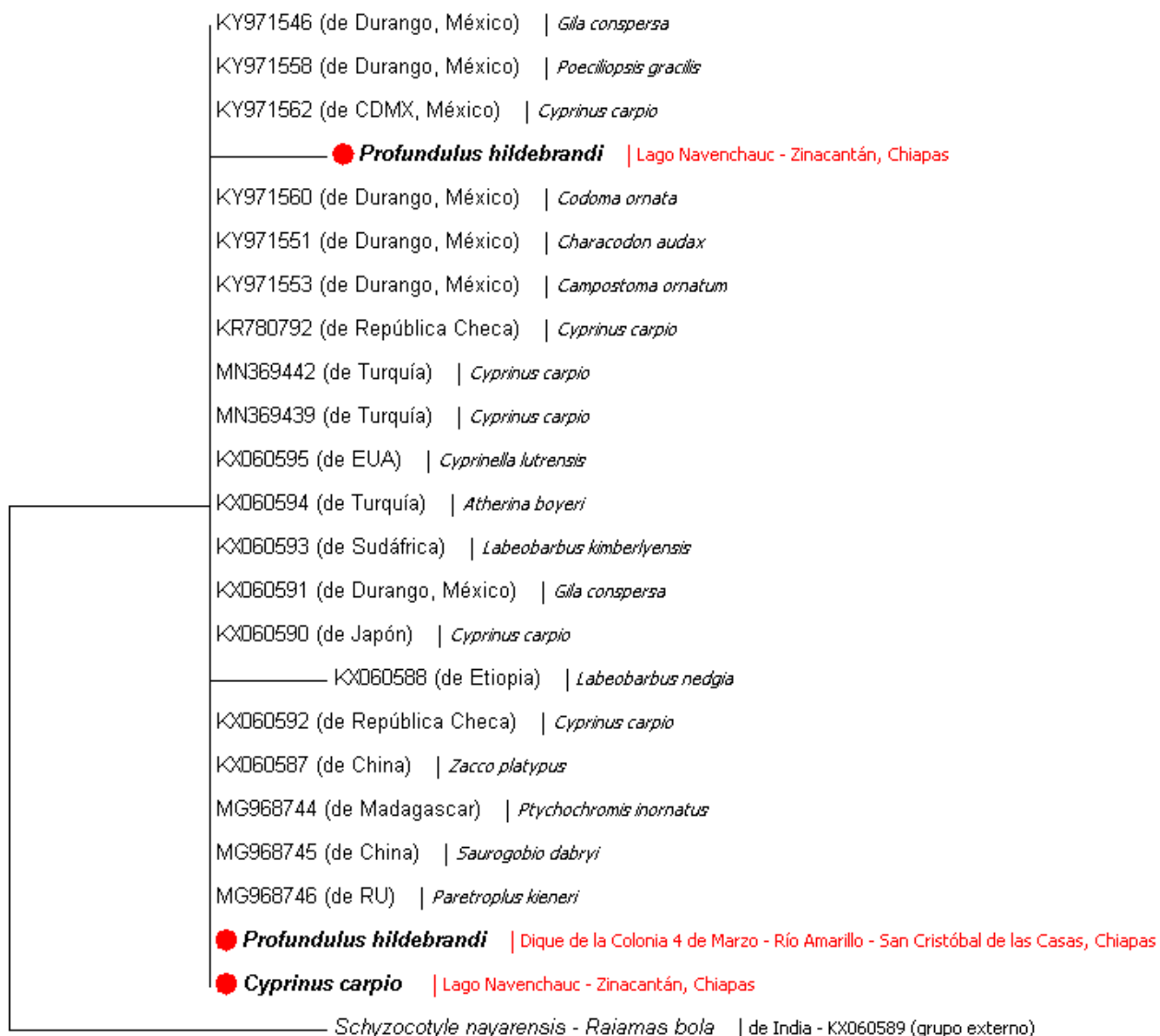


Figura 21. Árbol de Topología del segmento CO1 para los 17 aislados de *S. acheilognathi* de los peces *P. hildebrandi* y *C. carpio*. Construido por máxima verosimilitud (ML). *Schyzocotyle nayarensis* fue utilizado como grupo externo. Las secuencias del presente estudio están marcadas con viñeta roja.

6.3.5 CO1 consenso de los grupos poblacionales

Se observa en el análisis de los consensos de las secuencias de los 3 grupos poblacionales de *S. acheilognathi* una variación intraespecífica mínima con un rango de 0.00% a 0.28% de disimilitud y se distinguen longitudes pequeñas de ramas, que indican escasos sitios informativos. El grupo perteneciente a *P. hildebrandi* del Lago Navenchauc, es situado como idéntico a la secuencia KY971562.1 de *C. carpio* de la CDMX, México (0.00% de disimilitud) y al registro KY971560.1 de *Codoma ornata*, de Durango, México. Para el caso de los dos grupos poblacionales pertenecientes a *P. hildebrandi*, de Río Amarillo y *C. carpio*, del Lago Navenchauc son cercanos a la secuencia MG968746.1 de *Paretroplus kieneri*, de Reino Unido (RU), con disimilitudes de 0.00% a 0.28% (Figura 22; Apéndice 12).



0.0100

Figura 22. Árbol de Topología del segmento CO1 para los 3 consensos de *S. acheilognathi* de los peces *P. hildebrandi* y *C. carpio*. Construido por máxima verosimilitud (ML). *Schyzocotyle nayarensis* fue utilizado como grupo externo. Las secuencias del presente estudio están marcadas con viñeta roja.

7. DISCUSIÓN

A nivel morfológico, no se observan diferencias morfológicas entre las poblaciones de céstodos de profundúlidos y de carpas; las medidas de los atributos fueron similares, incluso con respecto de otros céstodos de profundúlidos en Honduras (Salgado-Maldonado *et al*, 2015).

La población de céstodos en las carpas registraron mayor gravidez y en estos hospederos se registró mayor prevalencia (75%), abundancia (5), e intensidad (6.6); a pesar de que se examinaron menos carpas que profundúlidos (20 individuos de *P. hildebrandi* y 8 individuos de *C. carpio*), esta sugiere ser una de las posibles razones en estos valores registrados. Sin embargo, para la intensidad registrada en carpas, esta fue mayor y muestra de ello son las cargas parasitarias en cada hospedero de manera individual (máximo de 14 céstodos en un hospedero; véase Cuadro 3). Desafortunadamente, no se cuenta con datos de infección de carpas para Chiapas en la literatura. Al respecto, las carpas son los hospederos con los cuales *S. acheilognathi* ha desarrollado una íntima relación al ser el vehículo con el cual el parásito se ha propagado por el mundo (Choudhury y Cole, 2012), pero al tratarse de individuos juveniles, la longitud y estadio juvenil en los peces son factores de riesgo de susceptibilidad a infecciones en los peces (Hansen *et al*, 2006), por ello se sugiere que estos niveles de infección sean mayores con respecto a los registrados en profundúlidos (prevalencia de 35%, abundancia de 0.6 e intensidad de 1.7), es decir, la autosuficiencia ya ha iniciado en peces nativos, pero que el proceso de colonización ocurre de manera gradual en ciertas especies invasoras (Prentis *et al*, 2008). Asimismo, las condiciones ecológicas, como la edad y tamaño de los hospederos, así como la especie del mismo (Scholz *et al*, 2012), pueden influir en la variación de características morfológicas, principalmente en la longitud total de los céstodos, su madurez sexual y reproducción. En esta investigación no se observaron diferencias morfológicas. Sin embargo, para las dos poblaciones de hospederos si

hay diferencias en los datos de infección (prevalencia, abundancia e intensidad).

En este estudio, se corroboró la identificación del céstodo mediante estructuras morfológicas que se diferencian de otras especies por la forma del escólex en forma de corazón con dos botridios profundos, estróbilo acrespedoto, la posición central del poro genital en el proglótido, testículos medulares, ovario lobulado, vitelógenas dispuestas lateralmente en el proglótido, forma y tamaño de los huevos de 30 μm de ancho x 50 μm de largo, (embrionados y operculados). Todas estas características diagnósticas se corroboraron en todos los céstodos recolectados en las dos familias distantes de peces dulceacuícolas. De la misma manera, todos resultados del análisis molecular correspondieron a la misma especie y no se detectaron diferencias genéticas entre las poblaciones de las dos especies de peces o sitios de colecta.

En combinación, tanto en el análisis morfológico como en el molecular, se proponen tres planteamientos: se registra un proceso de autosuficiencia en las poblaciones de *S. acheilgonathi* en peces nativos de la cuenca endorreica de San Cristóbal de las Casas, Chiapas, como parte del establecimiento del céstodo como especie invasora y que puede tener un desarrollo poblacional tan exitoso como en las carpas. Otro planteamiento sugiere que la procedencia ecológica de la infección del céstodo no solo tenga su origen de las carpas, sino de otros hospederos en que el parásito está bien establecido, dada la cercanía que existe entre las otras secuencias reportadas GenBank®. En tercer lugar, se sugiere que tanto las secuencias de *S. acheilognathi* procedentes de carpas como de profundúlidos son muy similares, observando una mínima distancia genética. Específicamente, es menor la variabilidad intraespecífica observada en las secuencias de CO1; los clados son mucho más uniformes, esta variabilidad fue de mínima a nula, tanto a nivel intraespecífico, como con las secuencias reportadas. Brabec *et al* (2016) cuestiona los análisis de Luo *et al* (2002) y de Bean *et al* (2007), al

señalar que estudiar la región ITS, se limita a secuencias de China y Norteamérica, principalmente y que se corre el riesgo de que los alineamientos de secuencias puedan estar sesgados al mostrar variación intraespecífica, pero que la región CO1 muestra variabilidad genómica mínima (Brabec *et al*, 2016). Kuchta *et al* (2018) también confirmó molecularmente a *S. acheilognathi* mediante el análisis del gen CO1 y concluyó que el parásito se ha confirmado de manera molecular en solo 42 hospederos, 14% del total reportado mundialmente, esto indica que la diversidad molecular de esta especie de céstodo no ha sido explorada lo suficiente.

Principalmente, la aportación de datos moleculares, a diferencia de los datos morfológicos permiten detectar cambios microevolutivos a nivel genético que indican procesos de diversificación o surgimiento de sub-especies o variedades poblacionales (Thompson y Lymbery, 1990); además de conocer “rutas” de invasión o el monitoreo de procedencias ecológicas de infección por el céstodo en especies nativas; es una opción para el estudio sobre fenómenos ecológicos y reproductivos observados en la morfología del parásito; y por último, es una alternativa para una rápida identificación en el diagnóstico de la infección. En el campo de la Helmintología Veterinaria, el uso de marcadores moleculares como regiones parciales del DNA ribosomal (18S, ITS, 28S y espacios no-transcriptos), en un mapa de 9 enzimas de restricción, han permitido distinguir especificidad hospedatoria entre diferentes especies del género *Fasciola*, como es el caso entre *Fasciola hepática* y *F. gigantica* (Blair y McManus, 1989). Se ha analizado la variación dentro de las regiones CO1 y ND1 (Nicotín Adenín Dinucleótido Hidrogenasa), y el gen ITS1 para estudios de céstodos del género *Echinococcus*, específicamente *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis* y *E vogeli* de tres grupos de hospederos; ovinos, bovinos y equinos, en estos análisis se demostró la variación de las poblaciones de parásitos, entre los diferentes hospederos, con distancias genéticas de 11.3% a 13.1% observadas para el gen ITS1 y distancias de 9.7% a 13.9% observadas en la matriz concatenada de

CO1+ND1 (Bowles *et al*, 1992). Nagayasu *et al* (2017) enfatiza la importancia de los datos moleculares en los estudios de parasitosis zoonóticas; se han analizado los genes CO1, 18S, 28S y algunas regiones codificantes para ciertas proteínas, para comprender las relaciones filogenéticas entre aislados del nemátodo *Strongyloides stercoralis* procedentes de perros y humanos y con ello se han revelado procesos evolutivos de saltos en los hospederos, en el que los análisis de secuencias traducidas en aminoácidos, sugieren que el grupo que infecta exclusivamente a perros, representa una población ancestral, con una composición genética más conservada (0.3% de distancias entre las secuencias de este clado), de la que se originó el grupo del nemátodo compartido entre humanos y perros, que posee una genética menos conservada (3.6% de distancias entre las secuencias de este otro clado).

En este estudio se confirma, una vez más, que el céstodo Asiático está presente en carpas y profundúlidos de Chiapas (Velázquez-Velázquez *et al*, 2011; Velázquez-Velázquez *et al*, 2015), pero los resultados de esta investigación revelan que las poblaciones de céstodos procedentes de peces nativos e introducidos son genéticamente idénticas, por la escasa variación (disimilitud) entre ellas, utilizando los dos marcadores moleculares explorados (ITS y CO1). No obstante, estos resultados tienen una limitante; se detectó escasa disimilitud entre los céstodos analizados y es poca la información que se aporta con respecto de lo reportado actualmente. Ciertamente es que *S. acheilognathi* tiene una gran plasticidad biológica con un genotipo muy conservado, el cual, al parecer, no necesita alterar para colonizar hospederos totalmente distantes filogenéticamente. Muchos factores favorecen el establecimiento del céstodo, como lo son: el creciente deterioro ambiental que predispone a los hospederos a infecciones, ya que este impacta sobre la condición corporal de los peces, al haber mayor competencia y menor disponibilidad de alimento; la distribución cosmopolita de los copépodos ciclópodos en los cuerpos de agua dulce como hospederos intermediarios, sin especificidad hospedatoria en este

grupo de copépodos (Chaudhary *et al*, 2015), la tolerancia ambiental del parásito y el empobrecimiento de las comunidades de helmintos en los hospederos de diversas localidades; a menor riqueza mayor disponibilidad de nichos por explotar (Choudhury y Cole, 2012; Scholz *et al*, 2012; Kuchta *et al*, 2018). Por tal razón, las poblaciones del céstodo han sabido sortear fácilmente los factores ecológicos impuestos por nuevos ambientes sin modificar drásticamente su información genética.

Dado lo comentado anteriormente, se descarta la hipótesis planteada, debido a que *S. acheilognathi* ha mostrado mínima variación genética dentro de una misma especie de hospedero (Profundulidae), y entre hospederos muy distintos como las carpas (Cyprinidae). De forma que con las observaciones previas (Choudhury *et al*, 2013; Salgado-Maldonado *et al*, 2015; Brabec *et al*, 2016; Boonthai *et al*, 2017; Pérez-Ponce de León *et al*, 2017), en el sentido de que estos autores han empleado los mismos genes y documentado también muy poca variación genética, al comparar ejemplares de *S. acheilognathi* de carpas asiáticas, de otros peces introducidos y de peces nativos de México y de otras regiones de mundo, se proporciona sustento a la confirmación molecular del parásito en las dos especies de hospederos de la zona estudiada.

De nueva cuenta, además de confirmar la identificación del parásito, los datos moleculares aportan pistas sobre el origen de infección en peces nativos (Choudhury *et al*, 2013; Salgado-Maldonado *et al*, 2015; Chaudhary *et al*, 2015; Scholz *et al*, 2018), que, para el caso de los hospederos de esta investigación, se sugiere que la procedencia ecológica de la infección puede ser múltiple (no sólo de carpas asiáticas). Otro tipo de pistas son los cambios microevolutivos en los parásitos, lo cual se asume con los cambios en las secuencias genéticas por saltos de hospederos (Thompson y Lymbery, 1990; Luo *et al*, 2003; Luo *et al*, 2004; Brabec *et al*, 2018). Es por estos motivos que es deseable generar nuevo conocimiento molecular de este céstodo en diferentes especies de peces de distintas localidades del mundo.

Este registro molecular, junto con el respaldo morfológico contribuyen a la aportación de pistas sobre procedencias ecológicas de infecciones por el céstodo en poblaciones endémicas de peces, a la par de que se pueden monitorear cambios genéticos en las poblaciones de *S. acheilognathi*, adicional a ello, se incrementa el conocimiento sobre los procesos de invasión del céstodo, además de que se aumentan los datos moleculares para México y el mundo con el marcador CO1, escasamente explorado, al mismo tiempo que se da especial prioridad a más registros geográficos y de especies nativas.

Junto con los estudios previos, esta investigación propone: a) evaluar la diversidad genética entre diferentes poblaciones individuales de *S. acheilognathi*, mediante el uso de microsatélites (Brabec *et al*, 2018), para identificar con más detalle, la ruta de procedencia ecológica de infecciones por céstodo y tener mayores conocimientos en el establecimiento del parásito en hospederos nuevos; b) evaluar los efectos patológicos, mediante el uso de otras técnicas como la histopatología, sobre peces de importancia acuícola y peces silvestres de importancia para la conservación de la biodiversidad; c) realizar pruebas sobre la termo-tolerancia, mediante experimentos controlados en diferentes poblaciones de *S. acheilognathi*, en el contexto del actual cambio climático ; d) recreaciones experimentales del ciclo del parásito, con énfasis en la detección de especies de copépodos idóneas como hospederos intermediarios para estudiar la transmisibilidad del parásito y; e) monitorear periódicamente áreas y poblaciones de peces susceptibles a ser invadidas por el céstodo.

8. CONCLUSIONES

Los céstodos recolectados en los profundúlidos y en las carpas corresponden a *S. acheilognathi*, identificados a nivel morfológico y molecular. No se encuentran diferencias genéticas, ni morfológicas para los sitios de colecta y tampoco para las dos especies de hospederos. El parásito desarrolla autosuficiencia en peces nativos.

El uso de los genes ITS y COI muestran que el céstodo *S. acheilognathi* dentro de sus características adaptativas, tiene la particularidad de mantener intacta su composición genética, a pesar de abarcar un amplio espectro de hospederos taxonómicamente distantes y que la procedencia ecológica de la infección pertenezca a varias especies de peces introducidas. Pero una limitante que tiene esta confirmación molecular es que continúa proporcionando la misma poca información que se ha reportado en la literatura y dado el poco tiempo en que el céstodo ingresó a Chiapas, sin embargo, este tipo de identificaciones moleculares no dejan de ser importante como herramienta en el diagnóstico de enfermedades parasitarias, al servir como modelo co-evolutivo de las relaciones parásito-hospedero.

Los datos ecológicos para las dos especies de peces indican que los profundúlidos, si bien son peces nativos, la madurez sexual y el tamaño pueden ser factores que reduzcan la susceptibilidad a infecciones por céstodos, en contraste con las carpas, que son especies introducidas y con las cuales *S. acheilognathi* tiene íntima relación por tratarse de cyprinidos, pero que el estadio juvenil de los peces es un factor de riesgo para que se presenten mayores niveles de infección.

La información aquí presentada debe servir como marco de referencia para especialistas y tomadores de decisiones para monitorear la dinámica eco-epidemiológica de este patógeno, que representa una amenaza para la ictiofauna nativa del país.

9. REFERENCIAS

- Arredondo Figueroa, J. L. y Lozano Gracia, S. D. 2003. La acuicultura en México. Universidad Autónoma Metropolitana. 266.
- Brabec, J.; Kuchta, R.; Scholz, T. & Littlewood, D.T.J. 2016. Paralogues of nuclear ribosomal genes conceal phylogenetic signal within the invasive Asian fish tapeworm lineage: evidence from next generation sequencing data. *International Journal for Parasitology* 46(9), 555–562.
- Brabec, J.; Scholz, T. & Štefka, J. Development of polymorphic microsatellites for the invasive Asian fish tapeworm *Schyzocotyle acheilognathi*. *Parasitology International* 67 (2018) 341–343.
- Brabec, J.; Waeschenbach, A.; Scholz, T.; Littlewood, D.T.J. & Kuchta, R. 2015. Molecular phylogeny of the Bothriocephalidea (Cestoda): molecular data challenge morphological classification. *International Journal for Parasitology* 45(12), 761-771.
- Bean, M.G.; Škeříková, A.; Bonner, T.H.; Scholz, T & Huffman, D.G. 2007. First Record of *Bothriocephalus acheilognathi* in the Rio Grande with Comparative Analysis of ITS2 and V4-18S rRNA Gene Sequences. *Journal of Aquatic Animal Health*, 19:2, 71-76.
- Blair, D. & McManus, D.P. 1989. Restriction enzyme mapping of ribosomal DNA can distinguish between fasciolid (liver fluke) species. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 36: 201-208.
- Boonthai, T; Herbst, S.J.; Whelan, G.E.; Gunn Van Deuren, M.; Loch, T.P. & Faisal, M. 2017. The Asian fish tapeworm *Schyzocotyle acheilognathi* is widespread in baitfish retail stores in Michigan, USA. *Parasites & Vectors*. 10, 618. 1-10.
- Bowles, J.; Blair, D. & McManus, D.P. 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 54: 165 174.

- Britton J.R.; Pegg J. & Williams, C.F. 2011. Pathological and Ecological Host Consequences of Infection by an Introduced Fish Parasite. *PLoS ONE* 6(10): e26365. doi:10.1371/journal.pone.0026365
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M. & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology*. 83: 575–83.
- Chaudhary, A.; Chiary, H.R.; Sharma, B. & Singh, H.S. 2015. First molecular identification of invasive tapeworm, *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 (Cestoda: Bothriocephalidea) in India. *BioInvasions Records*. 4(4): 269-276.
- Chervy, L. 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic parasitology*. 52: 1-33.
- Choudhury, A & Cole RA. 2012. *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti (Asian tapeworm), in A handbook of global freshwater invasive species. Francis RA, Editor. *Earthscan*®: London. p. 385–400.
- Choudhury, A.; Zheng, S.; Pérez-Ponce de León, G.; Martínez-Aquino, A.; Brosseau, C. & Gale, E. 2013. The invasive Asian fish tapeworm, *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934, in the Chagres River/Panama Canal drainage, Panama. *BioInvasions Records*. 2(2): 99–104.
- Clarkson, R.W.; Robinson, A.T. & Hoffnagle, T.L. 1997. Asian tapeworm (*Bothriocephalus acheilognathi*) in native fishes from the Little Colorado River, Grand Canyon, Arizona. *Great Basin Naturalist*. 57: 66-69.
- Diario Oficial de la Federación, 1994 (26 de octubre de 2018) http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4695637&fecha=16/05/1994

- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002. Norma Oficial Mexicana Nom-059-ECOL-2001, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Figueroa-Martínez, F.J. y González-Halphen, D. 2011. La expresión alotópica: ¿tarea imposible o estrategia factible para el tratamiento de enfermedades mitocondriales? *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 14 (2): 106-119.
- García-Prieto, L. & Osorio-Sarabia, D. 1991. Distribución actual de *Bothriocephalus acheilognathi* en México. *Anales del Instituto de Biología*, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología 62: 523–526.
- Goodwin, S., McPherson, J. D. & McCombie, W. R. 2016. *Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies*. *Nature Reviews Genetics*, 17(6), 333–351. DOI:10.1038/nrg.2016.49
- Hansen, S.P.; Choudhury, A.; Heisey, D.M.; Ahumada, J.A.; Hoffnagle, T.L. & Cole, R.A. 2006. Experimental infection of the endangered bonytail chub (*Gila elegans*) with the Asian fish tapeworm (*Bothriocephalus acheilognathi*): impacts on survival, growth, and condition. *Canadian Journal of Zoology* 84: 1383-1394.
- Hebert, P. D. N.; Cywinska, A.; & Ball, S. L. (2003a). Barcode of Life: Identifying Species with DNA Barcoding Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270 (1512): 313-321.
- Hillis, D.M. & Dixon, M.T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. *The Quarterly Review of Biology*. 66(4): 411-453.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16:111-120.

- Kline, J.; Archdeacon, T.; Iles, A.C. & Bonar, S.A. 2007. Factors influencing distribution of introduced Asian Tapeworm and effects on selected southwestern fishes (Yaqui topminnow and Yaqui chub). Arizona, USA: *Arizona Cooperative Fish and Wildlife Research Unit*, 55 p.
- Körting, W. 1975. Larval development of *Bothriocephalus* sp. (Cestoda: Pseudophyllidea) from carp (*Cyprinus carpio* L.) in Germany. *Journal of Fish Biology* 7:727–733.
- Kuchta, R.; Scholz, T. & Bray, R.A. 2008 Revision of the order Bothriocephalidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (Eucestoda) with amended generic diagnoses and keys to families and genera. *Systematic Parasitology*. 71: 81-136.
- Kuchta, R.; Choudhury, A. & Scholz, T. 2018. Asian Fish Tapeworm: The Most Successful Invasive Parasite in Freshwaters. *Trends in Parasitology*, 34 (6): 511–523.
- Lamothe-Argumedo, R. 1997. *Manual de técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres*. AGT Editor, México D.F. 43pp.
- López-Jiménez, S. (1981) Céstodos de peces *Bothriocephalus* (*Clestopothrium*) *acheilognathi* (Cestoda: Bothriocephalidae). *Anales del Instituto de Biología*, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología 51: 69–84.
- Luo, H. Y.; Nie, P.; Chang, M.X.; Song, Y. & Yao, W.J. 2004. Characterization of development-related genes for the cestode *Bothriocephalus acheilognathi*. *Parasitol Research*. 94: 265–274.
- Luo, H.Y.; Nie, P.; Zhang, Y.A.; Wang, G.T. & Yao, W.J. 2002. Molecular variation of *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 (Cestoda: Pseudophyllidea) in different fish host species based on ITS rDNA sequences. *Systematic Parasitology*, 52: 159–166.

- Luo, H.Y.; Nie, P.; Zhang, Y.A.; Yao, W.J. & Wang, G.T. 2003. Genetic differentiation in populations of the cestode *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda, Pseudophyllidea) as revealed by eight microsatellite markers. *Parasitology* 126: 493–501.
- Marcogliese, D.J.; Gendrona, A.D.; Forest J.J.H.; Li, W.; Boyce, K.; El-Shehabi, F.; Drake, D.A.R.; Mandrak, N.E.; Sherry, J. & McLaughlin J.D. 2016. Range expansion and molecular confirmation of the Asian fish tapeworm in the lower Great Lakes and St. Lawrence River with notes on infections in baitfish. *Journal of Great Lakes Research*. 42(4): 819-828.
- Miller, R. R. 1950. *Profundulus hildebrandi*, a new cyprinodontid fish from Chiapas, Mexico. *Copeia* 1:22-30.
- Müllerreid, F.K.G. 1957. *Geología de Chiapas. Publicaciones del Gobierno del Estado*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.
- Nagayasu, E.; Aung, M. P. P. T. H. H.; Hortiwakul, T.; Hino, A.; Tanaka, T.; Higashiarakawa, M.; ... Maruyama, H. 2017. A possible origin population of pathogenic intestinal nematodes, *Strongyloides stercoralis*, unveiled by molecular phylogeny. *Scientific Reports*, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-05049-x
- National Human Genome Research Institute, 2020 (6 de marzo de 2020) <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Marcador-genetico>
- Nei M. & Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York. p. 147-163.
- Parenti, L.R. 1981. A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 168: 335-557.

- Pérez-Ponce de León, G.; Lagunas-Calvo, O.; García-Prieto, L.; Briosio-Aguilar, R.; & Aguilar-Aguilar, R. 2017. Update on the distribution of the co-invasive *Schyzocotyle acheilognathi* (= *Bothriocephalus acheilognathi*), the Asian fish tapeworm, in freshwater fishes of Mexico. *Journal of Helminthology*, 92(03): 279–290.
- Pinacho-Pinacho, C.D.; García-Varela, M.; Hernández-Orts, J.; Mendoza-Palmero, C.; Sereno-Uribe, A.; Martínez-Ramírez, E.; Andrade-Gómez, L.; López-Jiménez, A.; Hernández-Cruz, E. & Pérez-Ponce de León, G. 2015. Checklist of the helminth parasites of the genus *Profundulus* Hubbs, 1924 (Cyprinodontiformes, Profundulidae), an endemic family of freshwater fishes in Middle-America. *Zookeys* 523: 1–30 pp.
- Prentis, P.J.; Wilson, J.R.U.; Dormontt, E.E.; Richardson, D.M.; & Lowe, A.J. 2008. Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science* 13:288-94.
- Rodiles-Hernández. *Diversidad de peces continentales en Chiapas*. En *Diversidad Biológica de Chiapas – (2005)*. González-Espinoza, M.; Ramírez-Marcial, N. y Ruíz-Montoya, L. (Editores). Plaza y Valdés, S.A. de C.V. p. 197-201.
- Rojas-Sánchez, A. & García-Prieto, L. 2008. Distribución actual del céstodo *Bothriocephalus acheilognathi* en México. *Memorias XXV Simposio sobre Fauna Silvestre*. México, Universidad Nacional Autónoma de México. p. 89–93.
- Salgado-Maldonado, G. & Pineda-López, R. 2003. The Asian fish tapeworm *Bothriocephalus acheilognathi*: a potential threat to native freshwater fish species in Mexico. *Biological Invasions* 5: 261–268.
- Salgado-Maldonado, G. 2006. Checklist of helminth parasites of freshwater fishes from Mexico. *Zootaxa*. 1324: 1-357.

- Salgado-Maldonado, G. *Manual de prácticas de Parasitología con énfasis en helmintos parásitos de peces de agua dulce y otros animales silvestres de México*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/s/salgado/manual/manual_prac_parasitol.pdf consultado el 18 de noviembre de 2019.
- Salgado-Maldonado, G.; Matamoros, W.A.; Kreiser, B.R.; Caspeta-Mandujano, J.M. & Mendoza-Franco, E.F. 2015 First record of the invasive Asian fish tapeworm *Bothriocephalus acheilognathi* in Honduras, Central America. *Parasite*, 22, 5.
- Salgado-Maldonado, G., y M. Rubio-Godoy. 2013. Helmintos introducidos parásitos de peces de agua dulce, en R. Mendoza (ed.). *Especies acuáticas invasoras en México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
- Sanger, F.; Nicklen, S. and Coulson, A.R. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 74(12): 5463-5467
- Scholz, T. 1997. A revisión of the species of *Bothriocephalus* Rudolphi, 1808 (Cestoda: Pseudophyllidea) parasitic in American freshwater fishes. *Systematic Parasitology* 36: 85-107.
- Scholz, T. & Kuchta R, Williams C. 2012. *Bothriocephalus acheilognathi*, in Fish Parasites: pathobiology and protection. Woo PTK, Buchmann K, Editors. CAB International: Wallingford, UK. p. 282–297.
- Scholz, T.; Šimková, A.; Razanabolana, J. R. & Kuchta, R. 2018. The first record of the invasive Asian fish tapeworm (*Schyzocotyle acheilognathi*) from an endemic cichlid fish in Madagascar. *Helminthologia*, 55(1): 84–87. doi:10.1515/helm-2017-0052
- Scott, A.L. & Grizzle, J.M. 1979. Pathology of cyprinid fishes caused by *Bothriocephalus gowkongensis* Yeh, 1955 (Cestoda: Pseudophyllidea). *Journal of Fish Diseases* 2: 69-73.

- Škeříková, A.; Hypša, V. & Scholz, T. 2004. A paraphyly of the genus *Bothriocephalus* rudolphi, 1808 (cestoda: pseudophyllidea) inferred from internal transcribed spacer-2 and 18s ribosomal DNA sequences. *Journal of Parasitology*, 90 (3): 612-617.
- Sopinska, A. & Guz, L. 1997. Fenbendazole treatment against *Bothriocephalus acheilognathi* in carp, *Cyprinus carpio*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*. 17: 86-87.
- Thompson, R.C.A. & Lymberry, A.J. 1990. Interspecific Variation in Parasites – What is a Strain? *Parasitology Today*. 6(11): 345-348.
- Van Steenkiste, N.; Locke, S.A.; Castelin, M.; Marcogliese, D.J. & Abbot, C.L. 2015. New primers for DNA barcoding of digeneans and cestodes (Platyhelminthes). *Molecular Ecology Resources*. 15: 945-952.
- Velázquez-Velázquez, E.; Domínguez-Ruíz, E.; Domínguez-Cisneros, S.E.; Hernández-Sánchez, J.C. y Rodríguez-Martínez. 2007. Monografía de *Profundulus hildebrandi* Miller, 1950, pez endémico de Chiapas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH – Colección Jaguar). p. 13-32.
- Velázquez-Velázquez, E.; González-Solis, D.; Salgado-Maldonado, G. 2011. *Bothriocephalu acheilognathi* (Cestoda) in the endangered fish *Profundulus hildebrandi* (Cyprinodontiformes), Mexico. *Rev. Biol. Trop. (International Journal of Tropical Biology*. ISSN-0034-7744). 59 (3): 1099-1104 pp.
- Velázquez-Velázquez, E.; Mendez-Gómez, B.; Salgado-Maldonado, G. & Matamoros, W.A. 2015. The invasive tapeworm *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 in the endangered killifish *Profundulus candalarius* Hubbs, 1924 in Chiapas, Mexico. *BioInvasions Records*. 4(4): 265–268.

- Xi, B.; Wang, G. & Xie, J. 2011. Occurrence of *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda, Bothriocephallidea) in grass carp *Ctenopharyngodon idella* in the Changjiang River drainage. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29(3): 564-567.
- Yamaguti, S. (1934) Studies on the helminth fauna of Japan. Part 4. Cestodes of fishes. *Japanese Journal of Zoology* 6: 1-112.

APÉNDICES

Apéndice 1. Relación de fragmentos de estróbilo de *S. acheilognathi* colectados por hospedero (*P. hildebrandi*), en la localidad del Dique de la colonia 4 de marzo – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas durante el 15 de agosto de 2019, fijados en alcohol al 96% y su asignación de claves para el análisis molecular.

#Microvial	#Hospedero	Sitio de infección
21a	119136	Intestino
21b	119136	Intestino
21c	119136	Intestino
21d	119136	Estómago
22	119140	Estómago
23a	119140	Intestino
23b	119140	Intestino
23c	119140	Intestino
23d	119140	Intestino
34a	119163	Intestino
34b	119163	Intestino
34c	119163	Intestino
34d	119163	Intestino
35a	119175	Intestino
35b	119175	Intestino
35c	119175	Intestino
35d	119175	Intestino
36a	119175	Intestino
36b	119175	Intestino
36c	119175	Intestino
36d	119175	Intestino

37a	119175	Intestino
37b	119175	Intestino
37c	119175	Intestino
37d	119175	Intestino
38a	119175	Intestino
38b	119175	Intestino
38c	119175	Intestino
38d	119175	Intestino
39a	119175	Intestino
39b	119175	Intestino
39c	119175	Intestino
39d	119175	Intestino
41a	119197	Intestino
41b	119197	Intestino
41c	119197	Intestino
41d	119197	Intestino
42a	119202	Intestino
42b	119202	Intestino
42c	119202	Intestino
42d	119202	Intestino
43a	119203	Intestino
43b	119203	Intestino
43c	119203	Intestino
43d	119203	Intestino

Apéndice 2. Relación de fragmentos de estróbilo de *S. acheilognathi* colectados por hospedero (*C. carpio* y *P. hildebrandi*; hospedero #5), en el Lago Navenchaut, Zinacantán, Chiapas durante el 22 de enero de 2020, fijados en alcohol al 96% y su asignación de claves para el análisis molecular.

#Microvial	#Hospedero	Sitio de infección
1a	1	Intestino
1b	1	Intestino
2a	1	Intestino
2b	1	Intestino
3a* vacío	1	Intestino
3b	1	Intestino
4a	1	Intestino
4b	1	Intestino
5a	1	Intestino
5b	1	Intestino
6a	3	Intestino
6b	3	Intestino
7a	3	Intestino
7b	3	Intestino
8a	5 * <i>P. hildebrandi</i>	Intestino
8b	5 * <i>P. hildebrandi</i>	Intestino
9a	5 * <i>P. hildebrandi</i>	Intestino
9b	5 * <i>P. hildebrandi</i>	Intestino
10a	6	Intestino
10b	6	Intestino
11a	6	Intestino
11b	6	Intestino
12a	6	Intestino
12b	6	Intestino
13a	6	Intestino
13b	6	Intestino
14a	6	Intestino
14b	6	Intestino
15a	6	Intestino
15b	6	Intestino
16a	6	Intestino
16b	6	Intestino
18a	8	Intestino
18b	8	Intestino
19a	8	Intestino
19b	8	Intestino

20a	8	Intestino
20b	8	Intestino
21a	8	Intestino
21b	8	Intestino
22a	9	Intestino
22b	9	Intestino
23a	9	Intestino
23b	9	Intestino
23c	9	Intestino
24a	9	Intestino
24b	9	Intestino
24c	9	Intestino
25a	9	Intestino
25b	9	Intestino
25c	9	Intestino

Apéndice 3. Técnicas de tinción para helmintos. Paracarmín de Mayer y Hematoxilina de Ehrlich (Lamothe-Argumedo, 1997; Salgado-Maldonado, 2009).

Paracarmín de Mayer

1. Los especímenes deberán mantenerse en alcohol etílico 70% hasta el procesamiento de tinción.
2. Pasar a alcohol etílico 96%, realizar 2 cambios de 10 minutos cada uno.
3. Teñir en paracarmín de Mayer, por lo general el tiempo varía de 2 a 3 hasta 10 a 15 minutos ya que dependerá del tamaño de especímen.
4. Lavar en alcohol etílico 96% para quitar el exceso de colorante.
5. Diferenciar en alcohol de 96% acidulado al 2% con ácido clorhídrico, hasta que los bordes del cuerpo queden más pálidos que el resto y los órganos internos sean visibles por transparencia.
6. Lavar en alcohol de 96% para evitar que el ácido clorhídrico siga decolorando el ejemplar.
7. Deshidratar, 2 cambios de alcohol de 96% 15 minutos cada uno.
8. Alcohol etílico absoluto (100%), 2 cambios de 20 minutos cada uno.
9. Aclarar en aceite de clavo.
10. Montar con bálsamo de Canadá.

Hematoxilina de Ehrlich

1. Los especímenes estarán en alcohol etílico 70% lavados ya del fijador.
2. Hidratar en alcoholes graduales 50%, 25% (15 minutos en cada uno) hasta agua destilada.

3. Teñir en hematoxilina de Ehrlich (el tiempo de tinción depende de las dimensiones del parásito, sobre todo de su grosor, y de la madurez del colorante, los colorantes que llevan más tiempo de haber sido preparados se dice que están maduros y tiñen más rápidamente. Puede probarse con un tiempo inicial de 30 segundos a 1 minuto y dar el tiempo necesario de acuerdo con la coloración que el parásito vaya tomando. Algunas veces el tiempo de tinción excede de los 30 minutos. (la tinción puede hacerse muy lentamente si se diluye el colorante, 1 gota o 2 de hematoxilina en 30 ml de agua destilada, teñir el ejemplar durante 24 horas en esta solución).
4. Lavar con agua destilada para eliminar el exceso de colorante.
5. Diferenciar con agua acidulada al 2% con ácido clorhídrico, hasta que el parásito tome
6. un color rosa pálido.
7. Lavar en agua destilada durante 1 o 2 minutos para evitar que siga actuando el agua acidulada.
8. Virar el ejemplar a color azul pálido o violeta en agua de la llave durante unos 3 a 5
9. minutos (para acelerar el virado puede agregarse solución sobresaturada de carbonato de
10. litio al agua destilada).
11. 8. Deshidratar lentamente desde agua destilada, en alcoholes graduales de 25%, 50%, 70%, 96% al menos 15 minutos en cada cambio. Recordar, que entre más lenta sea la
12. Deshidratación, tendremos más probabilidades de obtener mejores resultados.
13. 9. Completar la deshidratación en alcohol etílico absoluto (100%), 2 cambios de 20 a 30
14. minutos cada cambio. Mantener el alcohol absoluto tapado.
11. Aclarar en aceite de clavo.
12. Montar con bálsamo de Canadá.

Apéndice 4. Cuantificación de DNA extraído de 12 fragmentos de *S. acheilognathi*, pertenecientes a *P. hildebrandi*, colectados del Dique de la colonia “4 de marzo” – Río Amarillo, San Cristóbal de las Casas, Chiapas.

# proglótido	A260 nm	A280 nm	260/280 nm	DNA [ng/μl]
21a	3.35	1.550	2.16	167.5
22	4.077	1.900	2.15	213.8
23a	2.909	1.334	2.18	145.5
34a	0.821	0.381	2.15	41
35a	0.866	0.338	2.23	43.3
36a	0.931	0.430	2.16	46.5
37a	1.241	0.560	2.22	62.1
38a	0.197	0.073	2.72	9.9
39a	0.109	0.031	3.53	5.5
41a	2.27	1.032	2.20	113.5
42a	2.85	1.314	2.17	142.6
43a	2.058	0.937	2.20	102.9

Apéndice 5. Cuantificación de DNA extraído de 24 fragmentos de *S. acheilognathi*, pertenecientes a *P. hildebrandi*, colectados del Lago Navenchauc, Zinacantán, Chiapas.

# proglótido	A260 nm	A280 nm	260/280 nm	DNA [ng/μl]
1a	0.873	0.383	2.28	43.7
2a	1.245	0.550	2.26	62.3
3a	1.494	0.660	2.26	74.7
4a	1.615	0.721	2.24	80.8
5a	1.391	0.608	2.29	69.5
6a	0.296	0.114	2.60	14.8
7a	12.276	5.683	2.16	613.8
8a	0.693	0.302	2.30	34.6
9a	0.674	0.283	2.38	33.7
10a	0.137	0.044	3.09	6.8
11a	4.769	2.176	2.19	238.5
12a	1.783	0.794	2.25	89.2
13a	0.858	0.371	2.31	42.9
14a	4.181	1.906	2.19	209.1

15a	5.003	2.286	2.19	250.2
16a	0.808	0.348	2.32	40.4
18a	0.368	0.148	2.48	18.4
19a	3.815	1.754	2.18	190.7
20a	2.033	0.942	2.16	101.7
21a	1.661	0.792	2.10	83.0
22a	2.580	1.187	2.17	129.0
23a	1.302	0.594	2.19	65.1
24a	1.854	0.849	2.18	92.7
25a	5.118	2.361	2.17	255.9

Apéndice 6. Preparación para la “Master Mix” del PCR para amplificar el gen ITS, para obtener un volumen final de 15 µl.

Reactivo	x1 muestra (µl)	x 44 muestras (µl)
Agua estéril inyectable	8.5	374
MyTaqBuffer 5X	3	132
BD1 (oligo-F)	0.2	8.8
BD2A (oligo-R)	0.2	8.8
MyTaq DNA polimerasa	0.1	4.4
DNA	3	-

Apéndice 7. Preparación para la “Master Mix” del PCR para amplificar el gen CO1, para obtener un volumen final de 15 µl.

Reactivo	x1 muestra (µl)	x 44 muestras (µl)
Agua estéril inyectable	8.5	374
MyTaqBuffer 5X	3	132
Dice 1 (oligo-F)	0.2	8.8
Dice 14 (oligo-R)	0.2	8.8
MyTaq DNA polimerasa	0.1	4.4
DNA	3	-

Apéndice 8. Códigos de números de acceso al GenBank® para las secuencias empleadas en este estudio, por autor.

GEN	AUTOR	NO. ACCESO GENBANK®	HOSPEDERO Y PAÍS DE REGISTRO	PARES DE BASES (pb)
ITS	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362434	<i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón.	1362
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362408	de <i>Cyprinus carpio</i> , China.	1392
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362409	de <i>Gambusia affinis</i> , Hawaii.	1398
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362411	de <i>Ctenopharyngodon idella</i> , China.	1414
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362412	de <i>Cyprinus carpio</i> , Australia.	1394
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362413	de <i>Cyprinus carpio</i> , Inglaterra.	1410
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362414	de <i>Coreius guichenoti</i> , China.	1425
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362416	de <i>Hemiculter leucisculus</i> , China.	1413
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362417	de <i>Hemiculter bleekeeri</i> , China.	1391
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362418	de <i>Cyprinus carpio</i> , República Checa.	1391
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362420	de <i>Xiphophorus helleri</i> , Hawaii.	1393
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362424	de <i>Poecilia mexicana</i> , Hawaii.	1389
	Luo <i>et al</i> (2002)	AF362425	de <i>Culter alburnus</i> , China.	1410

Luo <i>et al</i> (2002)	AF362426	de <i>Culter dabryi</i> , China.	1384
Luo <i>et al</i> (2002)	AF362428	de <i>Cultrichthys erythropterus</i> , China.	1395
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971566	de <i>Campostoma ornatum</i> , México.	1328
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971571	de <i>Characodon audax</i> , México.	1328
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971569	de <i>Codoma ornata</i> , México.	1328
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971583	de <i>Chirostoma mezquital</i> , México.	1318
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971579	de <i>Cyprinus carpio</i> , México.	1322
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971565	de <i>Gila conspersa</i> , México.	1328
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971568	de <i>Poeciliopsis gracilis</i> , México.	1328
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971573	de <i>Pimephales promelas</i> , Mexico	1328
Pérez-Ponce de	KY971577	de <i>Notropis chihuahua</i> , México.	1324

León <i>et al</i> (2017)			
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971572	de <i>Notropis nazas</i> , México.	1328
Salgado-Maldonado <i>et al</i> (2015)	KP099579	de <i>Profundulus portillorum</i> , Honduras.	1315
Xi <i>et al</i> (2011)	EF417920	de <i>Ctenopharyngodon idella</i> , China.	1391
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060596	de <i>Zacco platypus</i> , China.	9977
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060601	de <i>Cyprinus carpio</i> , República Checa.	9992
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060597	de <i>Labeobarbus nedgia</i> , Etiopia.	10090
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060599	de <i>Cyprinus carpio</i> , Japón.	10031
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060600	de <i>Gila conspersa</i> , México.	9971
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060602	de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica.	9950
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060603	de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía.	10047
Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060604	de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA.	10031
Boonthai <i>et al</i> (2017)	KY711158	de <i>Notropis atherinoides</i> , EUA.	1387
Boonthai <i>et al</i> (2017)	KY711162	de <i>Notemigonus crysoleucas</i> , EUA.	1422
Boonthai <i>et al</i> (2017)	KY711159	de <i>Notropis volucellus</i> , EUA.	1389

CO1	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060589	<i>Schyzocotyle nayarensis</i> (outgroup) de <i>Raiamas bola</i> , India.	13852
	Kuchta <i>et al</i> (2018)	MG968746	de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU.	1587
	Kuchta <i>et al</i> (2018)	MG968745	de <i>Saurogobio dabryi</i> , China.	1587
	Scholz <i>et al</i> (2018)	MG968744	de <i>Ptychochromis inornatus</i> , Madagascar.	1587
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060587	de <i>Zacco platypus</i> , China.	13903
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060592	de <i>Cyprinus carpio</i> , República Checa.	13850
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060588	de <i>Labeobarbus nedgia</i> , Etiopia.	13850
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060590	de <i>Cyprinus carpio</i> , Japón.	13830
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060591	de <i>Gila conspersa</i> , México.	13903
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060593	de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica.	13829
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060594	de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía.	13865
	Brabec <i>et al</i> (2016)	KX060595	de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA.	13849
	Ozturk (2019)	MN369439	de <i>Cyprinus carpio</i> , Turquía.	1154
	Ozturk (2019)	MN369442	de <i>Cyprinus carpio</i> , Turquía.	1162
	Brabec <i>et al</i> (2015)	KR780792	de <i>Cyprinus carpio</i> , República Checa.	600
Pérez-Ponce de	KY971553	de <i>Campostoma ornatum</i> , México.	329	

León <i>et al</i> (2017)			
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971551	de <i>Characodon audax</i> , México.	329
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971560	de <i>Codoma ornata</i> , México.	329
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971562	de <i>Cyprinus carpio</i> , México.	329
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971546	de <i>Gila conspersa</i> , México.	329
Pérez-Ponce de León <i>et al</i> (2017)	KY971558	de <i>Poeciliopsis gracilis</i> , México.	329

Apéndice 9. Matriz con distancias genéticas (disimilitud) entre las veinticuatro secuencias de *S. acheilognathi* (con clave de aislado y especie de hospedero; LN= Lago Navenchauc, SCC= San Cristóbal de las Casas), los reportes más cercanos del GenBank®, y el grupo externo *B. claviceps* del gen ITS.

Taxón 1	Taxón 2	Distancia genética	Error estándar
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,38%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,19%	0,009

<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,02%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009

<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,01%	0,009
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,47%	0,003
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudafrica	0,31%	0,002

<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,31%	0,002

<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,31%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -18a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,31%	0,002

<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,16%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,16%	0,002
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,16%	0,001

<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,16%	0,001
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,16%	0,001

<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,16%	0,001
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	<i>Profunfulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profunfulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profunfulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-38a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-41a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profunfulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profunfulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	KX060602 de <i>Labeobarbus kimberlyensis</i> , Sudáfrica	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	KX060604 de <i>Cyprinella lutrensis</i> , EUA	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -38a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -42a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -43a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -12a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -14a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -19a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -22a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -23a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -24a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -15a LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,00%	0,000

Apéndice 10. Matriz con distancias genéticas (disimilitud) entre las tres secuencias de consenso de *S. acheilognathi* (con especie hospedero; LN= Lago Navenchaut, SCC= San Cristóbal de las Casas), los reportes más cercanos del GenBank®, y el grupo externo *B. claviceps* del gen ITS.

Taxón 1	Taxón 2	Distancia genética	Error estándar
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,75%	0,008
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,74%	0,008
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	AF362434 <i>Bothriocephalus claviceps</i> (grupo externo) de <i>Anguilla marmorata</i> , Japón	4,62%	0,008
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	AF362414 de <i>Coreius guichenoti</i> , China	0,21%	0,001
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	AF362414 de <i>Coreius guichenoti</i> , China	0,21%	0,001
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	AF362414 de <i>Coreius guichenoti</i> , China	0,21%	0,001
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,10%	0,001
<i>Profundulus hildebrandi</i>	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,10%	0,001

consenso ITS SCC			
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	KX060603 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,10%	0,001
<i>Profunfulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	KY711159 de <i>Notropis volucellus</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	KY711159 de <i>Notropis volucellus</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profunfulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	KX060597 de <i>Labeobarbus nedgia</i> , Etiopia	0,00%	0,000
<i>Profunfulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	KX060597 de <i>Labeobarbus nedgia</i> , Etiopia	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	KY711159 de <i>Notropis volucellus</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	<i>Profunfulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	KX060597 de <i>Labeobarbus nedgia</i> , Etiopia	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS LN	KY711158 de <i>Notropis atherinoides</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso ITS SCC	KY711158 de <i>Notropis atherinoides</i> , EUA	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso ITS LN	KY711158 de <i>Notropis atherinoides</i> , EUA	0,00%	0,000

Apéndice 11. Matriz con distancias genéticas (disimilitud) entre las diecisiete secuencias de *S. acheilognathi* (con clave de aislado y especie de hospedero; LN= Lago Navenchaur, SCC= San Cristóbal de las Casas), los reportes más cercanos del GenBank®, y el grupo externo *S. nayarensis* del gen CO1.

Taxón 1	Taxón 2	Distancia genética	Error estándar
<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021

<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,20%	0,021
<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006

<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	KX060594 de <i>Atherina boyeri</i> , Turquía	0,64%	0,006

<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-8a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-23a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-34a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-35a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-37a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-36a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-8a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-9a LN</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-21a SCC</i>	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi-39a SCC</i>	<i>Profundulus hildebrandi-22 SCC</i>	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000

<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -8a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -9a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -21a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -22 SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -23a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -34a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -35a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -36a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -37a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -39a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> -41a SCC	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -7a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -10a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -11a LN	0,00%	0,000

<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -13a LN	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> -20a LN	<i>Cyprinus carpio</i> -16a LN	0,00%	0,000

Apéndice 12. Matriz con distancias genéticas (disimilitud) entre las tres secuencias de consenso de *S. acheilognathi* (con especie hospedero; LN= Lago Navenchauc, SCC= San Cristóbal de las Casas), los reportes más cercanos del GenBank®, y el grupo externo *S. nayarensis* del gen CO1.

Taxón 1	Taxón 2	Distancia genética	Error estándar
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	7,00%	0,059
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,0%	0,046
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	KX060589 <i>Schyzocotyle nayarensis</i> (grupo externo) de <i>Raiamas bola</i> , India	6,0%	0,046
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,28%	0,030
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	KY971560 de <i>Codoma ornata</i> , México	0,28%	0,030
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,28%	0,030

<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	0,28%	0,030
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 LN	0,28%	0,030
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	KY971560 de <i>Codoma ornata</i> , México	0,00%	0,000
<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	MG968746 de <i>Paretroplus kieneri</i> , RU	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	KY971560 de <i>Codoma ornata</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	KY971562 de <i>Cyprinus carpio</i> , México	0,00%	0,000
<i>Cyprinus carpio</i> consenso CO1 LN	<i>Profundulus hildebrandi</i> consenso CO1 SCC	0,00%	0,000