



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

**COEVOLUCIÓN MORFOLÓGICA DE DIGENEOS
(Notocotylidae y Leucochloridiidae) PARÁSITOS DE
AVES MIGRATORIAS (Anatidae) Y RESIDENTES
(Rallidae) DE LERMA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

PRESENTA:

**M. en C. A. R. N. ALEJANDRA AGUILAR
MORALES**

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Noviembre, 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

**COEVOLUCIÓN MORFOLÓGICA DE DIGENEOS
(Notocotylidae y Leucochloridiidae) PARÁSITOS DE
AVES MIGRATORIAS (Anatidae) Y RESIDENTES
(Rallidae) DE LERMA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA
EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

PRESENTA:

**M. en C. A. R. N. ALEJANDRA AGUILAR
MORALES**

COMITÉ DE TUTORES

Dr. Felipe de Jesús Rodríguez Romero
Dra. Petra Sánchez Nava
Dr. Carlos Jorge Aguilar Ortigoza

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Noviembre, 2023

Resumen

La coevolución estudia el cambio evolutivo recíproco de las especies que interactúan. La interacción entre el parásito y el huésped es una de las características más íntimas que se pueden encontrar en la naturaleza, donde alteraciones de cualquier nivel en una de las poblaciones involucradas se refleja directamente en la otra. Los estudios de coevolución Digenean-aves silvestres contribuyen al conocimiento de las condiciones vitales del parásito, sus adaptaciones y estrategias de historia de vida con respecto al microhábitat específico y respuesta del huésped. El objetivo de este trabajo fue analizar la coevolución morfológica entre Digenea (Notocotylidae y Leucochloridiidae) y sus respectivos microhábitats proporcionados por aves silvestres migratorias (Anatidae) y residentes (Rallidae) de las ciénegas de Lerma, Estado de México. Las aves se obtuvieron mediante donación de cazadores de la zona de Lerma, en diferentes periodos entre 2010 y 2018. Se identificaron y disectaron para examinación Helmintológica de los órganos del sistema digestivo. Los Digeneos en estudio se fijaron y tiñeron con Técnicas Paracarmín de Meyer y Hematoxilina de Harris, además se incluyeron ejemplares de colecciones de helmintos. Se identificó *Notocotylus pacifera* en ciegos intestinales de *Fulica americana* y *Gallinula galeata*, además, *Leucochloridium variaie* de la cloaca y colon de ambos hospederos. La especie *Notocotylus seineti* se localizó en ciegos de *Anas clypeata*, *Anas discors* y *Anas cyanoptera*, además *Notocotylus attenuatus* en *Aythya affinis*. Se analizaron 115 imágenes de tres especies de *Notocotylus* para análisis morfométrico de caracteres de uso taxonómico. Se obtuvieron tres morfotipos, de acuerdo con la especie hospedera, parásito y localidad, y con la mayor variación en estructuras reproductivas. Se analizaron 51 imágenes de *Leucochloridium variaie* de los hospederos *G. galeata* y *F. americana*, donde se obtuvo un morfotipo con variaciones en la forma no significativas. El tejido del hospedero (microhábitat) se procesó con técnicas histopatológicas en inclusión en parafina y tinción con Hematoxilina de Gill. Para el análisis coevolutivo parásito-hospedero se realizó una descripción morfológica y merística .

Palabras clave: Coevolución, Digenea, parásitos, hospederos, morfometría lineal, morfometría geométrica.

Abstract

Coevolution studies the reciprocal evolutionary change of interacting species. The interaction between the parasite and the host is one of the most intimate characteristics that can be found in nature, where alterations of any level in one of the populations involved is reflected directly in the other. Studies on coevolution Digenean-wild birds contribute to the knowledge of the vital conditions for the parasite, their adaptations and life history strategies with respect to the specific microhabitat (host). The goal of this study was to analyze the morphological coevolution between Digenea (Notocotylidae y Leucochloridiidae) and their respective microhabitats provided by wild migratory birds (Anatidae) and resident wild birds (Rallidae) in the area of Lerma, Estado de México. The birds were obtained by donation from hunters in the Lerma area, in different periods between 2010 and 2018. The organs of the digestive system dissected for Helminthological examination. The Digeneos of the families under study were fixed and stained with Meyer's Paracarmine Technique or Harris's Hematoxylin, in addition, specimens from helminth collections are included. The digenean identified: *Notocotylus pacifera* in cecum of *Fulica americana* and *Gallinula galeata*, also *Leucochloridium variaie* in cecum and colon of both hosts. The *Notocotylus seineti* in cecum of *Anas clypeata*, *A. discors* and *A. cyanoptera*, while *N. attenuatus* in cecum of *Aythya affinis*. In total, 115 images of three *Notocotylus* analyzed for morphometric analysis of characters of taxonomic use. Three morphotypes were obtained, according to the host species, parasite and locality, and with the greatest variation in reproductive structures. We analyzed 51 images of *Leucochloridium variaie* of *G. galeata* and *F. americana* host, where a morphotype with non-significant variations in shape was obtained. The host tissue (microhabitat) processed with histopathological techniques for parasite-host coevolutionary analysis.

Key words: Coevolution, Digenea, Anatidae, parasites, host, lineal morphology, morphometric morphology

Contenido

Resumen	ii
Abstract	iii
Introducción	v
I. Revisión de literatura	1
1.1. Coevolución	1
1.2. Parásitos Digeneos	1
1.2.1 Familia Notocotylidae Lühe, 1909	2
1.2.2 Familia Leucochloridiidae Poche, 1907	3
1.3 Microhábitat	3
1.4 Aves migratorias y residentes en Lerma	5
1.5 Relación parásito-hospedero	5
1.6 Análisis de las formas Biológicas	6
2 Justificación	8
3 Hipótesis	8
4 Objetivos	8
5 Material y Métodos	9
5.2 Zona de estudio	9
5.3 Hospederos	10
6.2.1 Notocotylidae	10
6.2.2 Leucochloridiidae	10
5.4 Morfometría lineal	11
5.5 Morfometría geométrica	11
5.6 Histología del microhábitat	12
7 Resultados	12
8 Discusión general	15
9 Conclusiones generales	17
10 Literatura citada	18
11 Anexos	23

Introducción

La coevolución involucra cambios recíprocos entre dos o más especies ya sea a nivel genético, morfológico o fisiológico. De éstas, las modificaciones morfológicas son de las primeras señales de adaptación. Los helmintos endoparásitos dependen de las condiciones micro ambientales de sus hospederos y al mismo tiempo, los hospederos deben desarrollar estrategias para evitar fuertes daños o la muerte a causa de los parásitos. La sobrevivencia de los individuos depende de las interacciones con otras especies y su estudio puede proporcionarnos información para comprender la dinámica de las poblaciones e interacciones (Cribb *et al.*, 2003)

I. Revisión de literatura

1.1. Coevolución

La coevolución puede definirse útilmente como un cambio evolutivo en un rasgo de los individuos de una población en respuesta a un rasgo de los individuos de una segunda población, seguido de una respuesta evolutiva de la segunda población al cambio en la primera (Janzen, 1980)

La coevolución implica cambios en dos o más especies relacionadas y pueden ser características visibles o no. La adaptación es una señal de coevolución y la morfología es una de las características más visibles que pueden revelar señales de coevolución (Thompson y Dirzo, 2009).

1.2. Parásitos Digeneos

La subclase Digenea Caruss, 1863, pertenece a la clase Trematoda. Presenta alternancia de generaciones, normalmente dos generaciones asexuales en el huésped intermediario, que comúnmente es un molusco, y una generación sexual en huésped vertebrado. Generalmente hermafroditas. Son gusanos alargados, tubulares, redondos o filamentosos. El tegumento puede presentar espinas. Generalmente posee dos ventosas musculosas, a veces una y ocasionalmente ninguna. Boca rodeada de la ventosa oral, prefaringe presente o ausente y faringe muscular. Esófago normalmente presente, intestino bifurcado, ciego abierto al exterior a través del ano o en vesícula excretora. De uno a dos testículos de forma variable, poro genital de posición variable, generalmente ventral anterior, ocasionalmente posterior o terminal, usualmente un ovario de forma y posición variable. Receptáculo seminal ausente o presente, usualmente canalicular o uterino. Aparato de eliminación seminal ausente o presente. Útero variable en tamaño, forma y distribución con parte final en metratermo muscular. Huevos normalmente ovalados y operculados, ocasionalmente con espinas o filamentos. Poro excretor único, generalmente terminal o subterminal, ocasionalmente dorsal, vesícula sacular en forma de I, V o Y (Gibson, 2002).

Los Digeneos tienen importancia debido a los efectos negativos que pueden ocasionar en la fecundidad de sus hospederos, cambios en su comportamiento e incluso la muerte (Pérez-Vilchis, 2019). La identificación de estos organismos, mediante claves taxonómicas, se basa en medidas lineales de diversos caracteres, entre ellos el largo y ancho total, longitud y número de ovarios y testículos, número de asas uterinas, así como la presencia o ausencia de espinas u otras estructuras (Yamaguti, 1971; Barton & Blair, 2005). En estudios del género *Notocotylus*, se han registrado nuevas especies y sinonimizado otras a partir de diferencias en estructuras, por ejemplo, el número de papilas ventrales, la longitud relativa del metratermo con la bolsa del cirro, el tamaño del esófago, la extensión de la vitelaria en proporción al cuerpo y la lobulación de las gónadas (Behari Lal, 1935; Brooks & Heard III, 1977; Boyce *et al.*, 2012).

1.2.1 Familia Notocotylidae Lühe, 1909

Los trematodos de la Familia Notocotylidae son duelas monostomas, es decir, sólo poseen ventosa oral; el cuerpo es alargado u oval, en la superficie ventral presentan hasta cinco filas de glándulas unicelulares, y algunos géneros presentan crestas o carecen de ambas estructuras, los huevos tienen apéndices filamentosos muy largos en sus polos (Barton y Blair, 2005).

El género *Notocotylus* (Diesing, 1839), es cosmopolita, integra más de 63 especies endoparásitas en ciegos y/o parte final del intestino delgado de aves, incluido el grupo de las Anatidae y Rallidae (Boyce, *et al.*, 2012). También se han registrado como parásitos de pequeños mamíferos con afinidades acuáticas (Kinsella y Tkach, 2005; Chaisiri *et al.*, 2011) y para el caso de las aves, se ha registrado el mayor porcentaje de infección de *Notocotylus attenuatus* (Rudolphi, 1809) Kosaack, 1911, con 22%- 33.33 % y *Notocotylus pacifera* (Noble, 1933) Harwood, 1939, con 26%-45.61% de infección en *Fullica atra* Linnaeus, 1758 (Kulisic *et al.*, 2004), donde causan patologías, enfermedades e incluso la muerte de sus hospederos (Graczyk y Shiff, 1993).

1.2.2 Familia *Leucochloridiidae* Poche, 1907

Las principales características de esta familia son: cuerpo de tamaño medio, oval o lanceolada, a veces cubierta por espinas. La ventosa oral usualmente bien desarrollada, la ventosa ventral situada en la parte media del cuerpo y puede ocupar gran parte del total corporal; faringe muscular bien desarrollada, esófago ausente, los ciegos terminan cerca de la parte posterior. Las gónadas en tándem o en forma de triángulo, los ovarios entre los testículos, poro genital sobre la superficie dorsal del cuerpo, posterior a las gónadas. El útero forma asas y ocupa gran parte del cuerpo. Son parásitos del tracto alimentario y principalmente de la cloaca en aves (Pojmanska, 2002)

El género *Leucochloridium* Carus, 1835, es un parásito común de aves, las cuales se infectan mediante el consumo de caracoles portadores de la fase larvaria esporocitos, de la especie parásita y los cuales se desarrollan en forma adulta dentro del ave hospedera. Su identificación morfológica se basa en varias características como tamaño relativo de la ventosa oral y ventral, extensión del útero, forma de la bolsa del cirro, extensión de la vitelaria, dimensiones de estructuras reproductivas y de la forma del cuerpo, entre otras características (Rzad, *et al.*, 2013)

1.3 Microhábitat

El tracto intestinal de las aves proporciona gran variedad de microhábitats para diferentes especies de helmintos.

Los ciegos intestinales de las aves son prolongaciones del canal alimenticio originado en la intersección del intestino delgado y grueso. La presencia y anatomía de esos ciegos en las aves, revela considerable variación interespecífica lo cual puede reflejar diferencias funcionales entre especies de aves. La anatomía y función de los ciegos indican que pueden funcionar en:

- 1) Fermentación bacteriana
- 2) Reciclar nitrógeno
- 3) Osmorregulación
- 4) Absorción de nutrientes

5) Síntesis bacteriana de vitaminas

6) Respuesta inmunológica

La anatomía y fisiología del tracto digestivo está íntimamente relacionada con los hábitos alimentarios y de acuerdo con la disponibilidad de alimentos, pueden ser modificados y a su vez ejercer cambios en el microhábitat (DeGolier *et al.*, 1999). Pocas aves están restringidas a un alimento particular, muchos hábitos alimentarios están influenciados por la disponibilidad de alimento, cambios estacionales, experiencia y edad. El hábito alimentario de las aves se designa por el predominante contenido estomacal (51% o más) ya sea granívora, herbívora, omnívoro, insectívora, etc. *Anas discors* Linnaeus, 1766, se considera granívora, *Aythya collaris* Edward Donovan, 1809, herbívora, *Gallinula galeata* (Lichtenstein, 1818, herbívora y *Fulica americana* Gmelin, 1789, omnívora. Las aves con ciegos más largos corresponden a las herbívoras, omnívoras y granívoras, entre ellas las Anseriformes y Gruiformes, mientras que las nectarívoras y piscívoras tienen los ciegos más cortos (DeGolier *et al.*, 1999). En los años de 2004-2005, Colón-Quezada realizó un análisis de la composición de la dieta del pato mexicano *Anas diazi* Ridgeway, 1886, donde se observó una dieta vegetariana con predominio de semillas y mínimo consumo de invertebrados. Además, se evidenció variación de 70% de la dieta entre los dos años, atribuible a la disponibilidad anual del alimento (Colón-Quezada, 2009)

Dzialska-Szczepańczyk y Charuta (2010), registraron diferencias morfológicas asimétricas (largo y ancho) en ciegos intestinales de aves interespecíficas, atribuibles a la presencia de parásitos, estado fisiológico y periodo reproductor, sin hallar correlación con las dimensiones corporales del ave, pero sí con el contenido de fibra en su dieta.

La longitud cecal es un indicador de ingesta de celulosa, sin embargo aunque es de suponer que aquellas aves no herbívoras presentan ciegos poco desarrollados no es así, y el hecho se atribuye a otro tipo de proteínas ingeridas como la quitina, en el caso de las aves que consumen insectos y pequeños vertebrados, además se sugiere que así como la ingesta de celulosa incluye microbios celulolíticos, de forma análoga la ingesta de quitina incluye la presencia de microbios

degradadores de quitina, aunque en algunas aves como las Passeriformes secretan quitinasas que evitan el uso de los ciegos para degradar quitina. La presencia de ciegos largos en especies no herbívoras puede reflejar otras funciones. Los ciegos de herbívoros como Anseriformes, Galliformes y Gruiformes han sido clasificados histológicamente como intestinales debido a su anatomía similar a la del intestino delgado (DeGolier *et al.*, 1999).

1.4 Aves migratorias y residentes en Lerma

Las ciénegas de Lerma, decretada como área de protección de flora y fauna a nivel federal, se localizan en los alrededores de los municipios de Almoloya del Río, Lerma y Atarasquillo en el Estado de México. La reserva incluye tres cuerpos de agua separados entre sí, conocidos como Chiconahuapan, Chimaliapan y Chignahuapan. En conjunto cubren una extensión de 3023 hectáreas. Son los humedales remanentes más extensos del centro de México. Las ciénegas presentan diferentes hábitats, zonas profundas, zonas con vegetación emergida, zonas de vegetación inundada y zonas de vegetación riparia. Mantienen una alta diversidad de flora y fauna acuáticas, incluye decenas de especies endémicas y en riesgo de extinción, muchas exclusivas de las ciénegas. También son importantes para el mantenimiento de las aves acuáticas migratorias, ya que son el hábitat más extenso en la región el cual provee de refugio y alimento a aves migratorias de Estados Unidos, Canadá y Norte de México. En la región de las Ciénegas de Lerma se han registrado alrededor de 150 especies de aves silvestres. Entre las aves migratorias se encuentran: *Anas acuta*, *A. crecca*, *A. clypeata*, *A. cyanoptera*, *A. discors*, *A. strepera*, *A. americana*, *Aythya affinis*, *A. americana* y *A. valisineria*, mientras que entre las residentes se encuentran: *Gallinago gallinago*, *Gallinula galeata*, *Fulica americana*, entre otras (RAMSAR, 2003).

1.5 Relación parásito-hospedero

La explotación es un tipo de interacción consecuencia de la gran diversidad de organismos parásitos que existen, con ciclos de vida muy simples o complejos,

dependiendo, entre otras cosas, del tipo de dispersión entre hospederos, estas interacciones son muy variadas (Soler, _____)

La especificidad hospedera es uno de los temas más estudiados en cuanto a interacciones parásito-hospedero. En estudios realizados acerca de la especificidad hospedera y filogenia de parásitos monogeneos del género *Cichlidogyrus* y *Scutogyrus*, no encontraron relación significativa. Sin embargo, si hallaron estrecha relación entre la morfometría del aparato de adhesión de los monogeneos con la especificidad hospedera y la filogenia del parásito, además de hacer énfasis en la importancia de los hospederos intermediarios para el desarrollo de las fases larvarias de los parásitos (Mendlová y Simková, 2014).

Otros estudios realizados acerca del análisis de variación de la forma de escleritos del haptor de monogeneos y la relación con el hospedero, donde se han registrado similitudes morfológicas a la par de similitudes epidemiológicas, sin embargo, no hay relación entre especificidad hospedera y modularidad morfológica (Vignon *et al.*, 2011).

Valero y colaboradores (2001) realizaron un estudio para cuantificar la influencia de los hospederos sobre la morfometría de los adultos de *Fasciola hepática* y sus huevos, donde observaron una estrecha relación entre el tamaño corporal del Digeneo, en proporción a la masa del hospedero.

1.6 Análisis de las formas Biológicas

Una técnica moderna de apoyo al estudio de formas biológicas es la morfometría geométrica, la cual, se basa en el concepto propuesto por Kendall (1977), a partir del siguiente supuesto: “forma es toda la información geométrica que resulta de retirar los efectos de la posición, escala y rotación de un objeto”, es decir, la forma del objeto en estudio se describe con base en la relación espacial entre sus partes o configuración geométrica, mientras la morfometría tradicional solo se basa en dimensiones y el tamaño como dato numérico sin considerar la información bidimensional o tridimensional (Toro *et al.*, 2010). Con la técnica de morfometría geométrica se puede obtener información para su análisis, a partir de casi

cualquier estructura biológica, una parte de ella o en conjunto, incluso, estructuras que de acuerdo a su naturaleza son difícil de medir de forma tradicional, como es el estudio de Páez-Colasante y Aldana (2008), quienes realizaron el análisis de huevos de cinco especies del género *Rhodnius* Stal (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae), por primera vez, con herramientas de morfometría geométrica, , donde obtuvieron la configuración geométrica del borde corial y de collar de los huevos, cuyas estructuras carecen de simetría bilateral. Sus resultados no muestran diferencias significativas en cuanto al tamaño de los huevos, sin embargo, encuentran diferencias estadísticamente significativas entre las configuraciones de las especies analizadas, con lo cual amplían el conocimiento de los caracteres que discriminan entre especies del género *Rhodnius*.

Soto-Vivas y colaboradores (2011), realizaron un estudio de los Triatominae de Venezuela, acerca de la variación de la arquitectura alar, para lo cual utilizaron herramientas de morfometría geométrica en combinación con análisis cladísticos, con lo que determinan las diferencias y cambios en tamaño y conformación como apoyo a la taxonomía y sistemática de las especies de la tribu Rhodniini; sus resultados coinciden con otros estudios moleculares y enzimáticos.

En Platelminetos, se determinó la variación morfológica interespecífica, de estructuras del órgano de fijación del género *Cichlidogyrus* (Monogenea), las cuales son características de importancia taxonómica. Con morfometría tradicional, hallaron inconsistencias en la interpretación de la variación de las formas, en cambio, con técnicas de morfometría geométrica, obtuvieron tres morfotipos de especies del género, con base en estructuras de mayor variación de la forma (Vignon *et al.*, 2011). Para Acantocéfalos se realizó un análisis morfométrico tradicional y geométrico a estructuras de fijación de *Polymorphus trochus* en aves residentes de Chimaliapan, Estado de México, y donde se identificaron diferentes morfotipos de acuerdo con la especie hospedero, microhábitat, el sexo y estado de desarrollo del parásito (Caballero-Viñas *et al.*, 2019).

2 Justificación

Los Digeneos han desarrollado estrategias para coexistir en los microhábitats extremos, como intestinos y ciegos intestinales, mientras que los hospederos deben resistir las parasitosis de varias especies, por lo que es necesario conocer las condiciones vitales para el parásito, adaptaciones, exaptaciones y estrategias en el microhábitat específico que le permiten coexistir y continuar su ciclo de vida, así como la relación evolutiva interespecífica parásito-hospedero.

3 Hipótesis

Los Digeneos parásitos de aves migratorias y residentes presentarán señales de evolución morfológica de acuerdo con su hábitat específico, características del microambiente e historia de vida de las aves hospederas.

4 Objetivos

4.2 **General:** Analizar la coevolución morfológica de Tremátodos Digeneos (Notocotylidae y Leucochloridiidae) con sus respectivos microhábitats proporcionados por aves migratorias (Anatidae) y residentes (Rallidae) de la zona de las ciénagas de Lerma

4.3 Particulares:

- Identificar las especies de Digeneos (Notocotylidae y Leucochloridiidae) parásitos de aves migratorias (Anatidae) y residentes (Rallidae) de Lerma.
- Analizar con morfometría lineal y geométrica, estructuras homólogas en especímenes de Digeneos de ejemplares depositados en diferentes colecciones de Helmintos.
- Descripción del microhábitat de los parásitos
- Definir las relaciones coevolutivas parásito-hospedero de Digeneos (Notocotylidae y Leucochloridiidae) con sus hospederos definitivos (Anatidae y Rallidae) de los humedales de Lerma, Estado de México

5 Material y Métodos

5.2 Zona de estudio

Las Ciénegas del Lerma, decretadas como área de protección de flora y fauna a nivel federal, se localizan en los alrededores de los municipios de Almoloya del Río, Lerma y Atarasquillo en el Estado de México, en la zona central del país (Figura 1).

La reserva incluye tres cuerpos de agua separados entre sí que cubren una extensión total de 3023 ha. Estas lagunas son Chiconahuapan en Almoloya (596 ha), Chimaliapan en Lerma (2081 ha) y Chiconahuapan en Atarasquillo (346 ha). Se encuentran entre las coordenadas 19° 21' Latitud Norte y 99° 31' longitud Oeste (Zepeda-Gómez *et al.*, 2012).

El clima es templado subhúmedo C(w2)(w)b(i)g según la clasificación de Köeppen. La precipitación media anual es de 800 a 1200mm. Las temperaturas máximas y mínimas anuales son 20.4 °C y 3.5 °C con 11.9 °C en promedio (Gobierno del Estado de México II, 1993). Además de lo anterior, las Ciénegas de Lerma son decretadas área natural protegida el 8 de julio de 1978, y en febrero de 2004 se designa como “Humedal de Importancia Internacional” en la convención de humedales RAMSAR (RAMSAR, 2013).

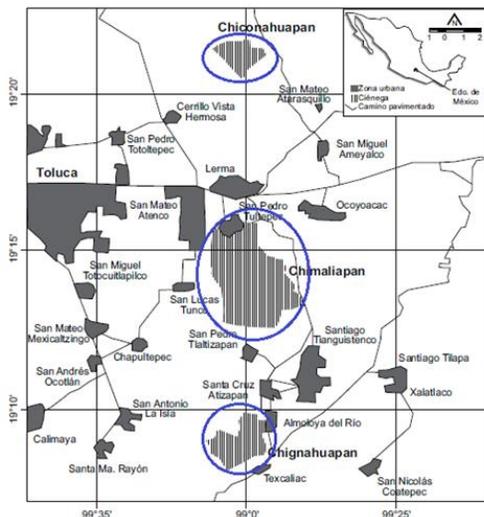


Figura 1 Ubicación de las Ciénegas de Lerma, Estado de México (tomado de Zepeda-Gómez y col., 2012)

5.3 Hospederos

Las aves de las ciénagas de Lerma se obtuvieron mediante donación de cazadores de la zona. Se incluyen algunos ejemplares de aves residentes *Fulica americana* y *Gallinula galeata*, así como aves migratorias *Anas discors*, *A. clypeata*, *A. cyanoptera* y *Aythya affinis*. Se realizó la disección de las aves en el laboratorio de sistemas Biosustentables, y en algunas ocasiones se refrigeraron los organismos por no más de 24 horas para su revisión Helmintológica (Olivares-Orozco *et al.*, 2001). La revisión helmintológica de los hospederos, incluye la inspección de órganos del sistema digestivo, ciegos intestinales por secciones (proximal o CIP, media o CIM y distal o CID) y la cloaca en busca de especímenes (Chen *et al.*, 2002). Se tomaron datos merísticos de cada sección, también se conservaron muestras del tejido donde se encontraban adheridos los especímenes y se fijaron en Bouin para su posterior procesamiento histológico (Aguilar-Morales *et al.*, 2013)

6.2.1 Notocotylidae

Los organismos del género *Notocotylus*, se extrajeron y limpiaron de materia orgánica con pinceles y solución salina 0.7%, se aplanaron ligeramente entre dos portaobjetos para su fijación por capilaridad con formol caliente 4%, posteriormente, se tiñeron siguiendo la técnica Paracarmín de Meyer y se montaron las preparaciones con bálsamo de Canadá (Lamothe-Argumedo, 1997). La identificación de las especies parásitas se realizó mediante taxonomía tradicional a partir de las claves de Yamaguti (1971), Barton y Blair (2005) y descripciones específicas de Stunkard y Dunihue (1931); Behari Lal, (1935); Eom *et al.*, (1984) y Guillén y Morales (2003).

6.2.2 Leucochloridiidae

Los organismos del género *Leucochloridium* se extrajeron con ayuda de pinceles y agujas de disección, se utilizó la fijación con formol caliente 4%, posteriormente se enjuagaron y permanecieron en alcohol 70% hasta la tinción mediante técnica de

Hematoxilina de Harris (Cuadro 1; Aguilar Morales *et al.* 2013) y finalmente se montaron las preparaciones con bálsamo de Canadá (Lamothe-Argumedo, 1997). La identificación de los organismos parásitos se realizó mediante claves taxonómicas (Pojmanska, 2002) y descripciones específicas (Bakke, 1978a; Lewis, 1974). Además, para el análisis, se incluyeron ejemplares de *Leucochloridium variaie*, de la Colección Nacional de Helminfos de la Universidad Nacional Autónoma de México, los cuales parasitaban *Jacana spinosa* Linnaeus, 1758, colectadas en el Estado de Tabasco.

Se digitalizaron las imágenes de las preparaciones helmintológicas mediante microscopio estereoscópico Olympus SZX7 con objetivo DFPL2x-4 conectado a cámara Olympus modelo E-620 IS para su análisis morfométrico.

Además, para ambos taxones, se incluyeron ejemplares de la Colección Nacional de Helminfos del Instituto de Biología de la UNAM, y algunos de la colección de Helminfos del laboratorio de Recursos Biosustentables de la UAMéx (Cuadro 2 y 3)

5.4 Morfometría lineal

Para morfometría lineal se obtuvieron medidas de estructuras con importancia taxonómica, por medio del programa ImageJ, las estructuras principales son: Longitud total, ancho total, ventosa oral largo y ancho, longitud uterina, longitud de vitelaria, largo y ancho de testículos, largo y ancho de ovarios y área uterina.

Con los datos obtenidos se realizó un Análisis de Componentes Principales para conocer el porcentaje de variación de los datos y reducir la dimensionalidad, y con el análisis de Funciones discriminantes se visualizaron agrupaciones (McGarigal *et al.*, 2000). Todos los análisis se realizaron con el software Statgraphics Centurion XVI.I ®.

5.5 Morfometría geométrica

Las imágenes de los organismos se digitalizaron y procesaron mediante la paquetería Integrate morphometry package (IMP) y la paquetería Thin plate spline (TPS). En Make fan se marcaron puntos de apoyo y abanicos para ubicar landmarks y semilandmarks. En TPSútil se construyeron las carpetas

correspondientes para procesar las imágenes, en TPSdig se digitalizaron landmarks y semilandmarks de referencia, distribuidos en el perímetro de los organismos y homólogos en toda la muestra (Toro *et al.*, 2010) para cada género parásito, mientras que en Coord gen se realizó un análisis de Procrustes o ajuste de datos para eliminar el efecto del tamaño y rotación y en semiland8 se alinearon landmarks y semilandmarks. En los módulos PCA gen se realizó el análisis de Componentes Principales para conocer el porcentaje de variación de los datos, así como obtención de morfotipos con la herramienta de función de interpolación de placas delgadas o Thin Plate Spline (Bookstein, 1991) y en CVA gen se realizó el análisis de variables canónicas para visualizar subgrupos.

5.6 Histología del microhábitat

Se tomaron muestras de tejido del microhábitat como son: las secciones de los ciegos intestinales, cloaca y colon. Se fijó el tejido en solución de Bouin por unas horas y posteriormente lavados y permanencia en etanol 70% hasta la deshidratación, posterior aclaramiento, infiltración e inclusión en parafina (Cuadro 4)

Posteriormente se realizaron cortes de cada muestra de tejido, de 7micras de espesor con micrótopo Leika RM 2125RT y se montaron los cortes con ayuda de solución de grenetina 0.4%. Los cortes se procesaron con la técnica de tinción de hematoxilina de Gill-eosina (Cuadro 5; Rivas, 2008) posteriormente se realizaron análisis merísticos y descriptivos.

7 Resultados

Se obtuvieron dos artículos científicos, uno ya ha sido publicado en Acta Zoológica Mexicana (nueva serie) y el segundo se encuentra en revisión de la misma revista. Un tercer artículo se encuentra en proceso de redacción.

7.1 Organismos del género *Notocotylus*

En el artículo intitulado “Variaciones morfométricas del género *Notocotylus* (Digenea: Notocotylidae), parásitos de aves acuáticas (Rallidae y Anatidae) en las ciénegas de Lerma, Estado de México”, publicado en la revista Acta Zoológica

Mexicana (nueva serie), se realizó un análisis con morfometría lineal y geométrica a tres especies del género *Notocotylus*, realizado por primera vez en organismos de esta Clase, en diferentes hospederos (aves migratorias y residentes) y localidad, donde se obtuvieron variaciones morfométricas relacionadas con estructuras reproductivas, variaciones morfológicas intraespecíficas en hospederos residentes, así como diferentes morfotipos de acuerdo al hospedero y localidad.

7.2 Organismos del género *Leucochloridium*

En el artículo enviado “Variaciones morfométricas de *Leucochloridium variaie* (Digenea: Leucochloridiidae), parásitos de aves acuáticas (Rallidae) en el humedal de Chimaleapan, Lerma, Estado de México”, se realizó el análisis lineal y morfométrico de los organismos parásitos (Fig. 1), los cuales se obtuvieron de la cloaca, y en algunos casos en el último segmento del colon, de las aves residentes *Fulica americana* y *Gallinula galeata*, además se incluyeron ejemplares de la Colección Nacional de Helmintos de la UNAM, extraídos de cloaca de *Jacana spinosa* Linnaeus, 1758. En total se analizaron 51 individuos de la especie *Leucochloridium variaie*, obtenidos de cloaca y algunos de la sección cloaca-colon de los hospederos.

Para el análisis lineal, se obtuvo la discriminación estadística de los organismos parásitos de acuerdo con la especie hospedera y microhábitat, con mayor variación en longitud total y acetabular. Respecto al análisis de morfometría geométrica, no se obtuvo variación morfométrica estadísticamente significativa, se obtuvo un morfotipo para todos los ejemplares de diferentes especies hospederos y localidad (ver anexos)

7.3 Descripción histológica del microhábitat, hospederos

Para el tercer artículo científico se realiza el análisis histopatológico de ciegos intestinales, colon y cloaca de algunos de los ejemplares hospederos en estudio.

Para el análisis de los ciegos intestinales, se subdividieron en 3 segmentos: ciego intestinal proximal (CIP), ciego intestinal medio (CIM) y ciego intestinal distal (CID).

Con las muestras histológicas de ciegos, colon y cloaca se realizaron cortes transversales de 7 μm de cada segmento (Figura 2 y 3) y se obtuvo la merística promedio de las principales estructuras, como se muestra en la siguiente tabla.

Hospedero	Sección	Mucosa (espesor en μm)	Muscular de la mucosa (espesor en μm)	Muscular interna (espesor en μm)	Muscular externa (espesor en μm)	Longitud de vellosidad (μm)
<i>Fulica americana</i>	CIP	415	37	456	84	343
	CIM	770	44	501	100	480
	CID	170	32	153	27	200
<i>Gallinula galeata</i>	CIP	609	35	238	36	491
	CIM	341	17	230	45	388
	CID	256	36	98	44	197
<i>Anas clypeata</i>	CI	234	16	142	13	194
<i>Anas cyanoptera</i>	CIM	195	33	154	27	175
	CID	133	23	104	26	224
	Colon	598	36	297	36	546
<i>Anas discors</i>	CIM	400	42	247	28	351

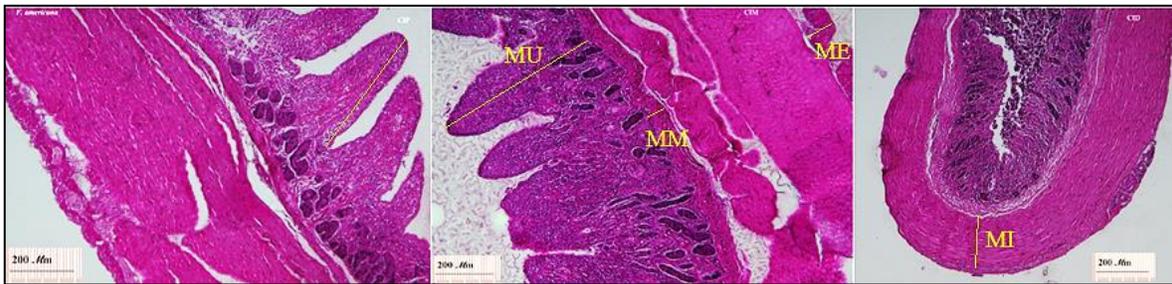


Figura 2-Corte transversal de Ciego intestinal de *Fulica americana* (de izquierda a derecha, corte de Ciego intestinal proximal, medio y distal) MU: mucosa; MM: muscular de la mucosa; MI: musculatura interna; ME: musculatura externa. Barra 200 μm

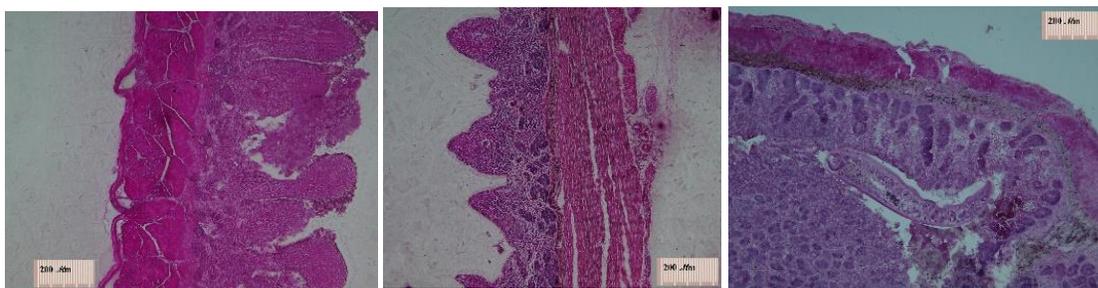


Figura 3- Corte transversal de ciego intestinal de *Gallinula galeata* (de izquierda a derecha corte de Ciego intestinal proximal, medio y distal) MU: mucosa; MM: muscular de la mucosa; MI: musculatura interna; ME: musculatura externa. Barra 200 μm

8 Discusión general

Los Digeneos del presente trabajo se identificaron de acuerdo con las descripciones y claves taxonómicas de Yamaguti (1971), Barton & Blair (2005) y descripciones específicas de Stunkard & Dunihue (1931); Behari Lal, (1935); Eom *et al.*, (1984) y Guillén & Morales (2003) para los Notocotylidae. Mientras que, para los Leucochloridiidae, se utilizaron las claves de Pojmanska (2002) y McIntosh (1932).

Los organismos del género *Notocotylus* parasitan ciegos intestinales de aves migratorias y residentes, donde encuentran las condiciones ambientales para completar su desarrollo y reproducción (MacKinnon, 1982; Kulisic *et al.*, 2004). En el análisis morfométrico de las estructuras anatómicas, se obtuvieron diferentes morfotipos de acuerdo con la especie hospedera, así como localidad. Los organismos *Notocotylus attenuatus* y *N.seineti*, parásitos de cuatro especies de aves migratorias y diferentes localidades, conforman un morfotipo, mientras que *Notocotylus pacifera* de dos especies de aves residentes conforman dos morfotipos de acuerdo a la localidad. Lo anterior puede deberse a la variación de las condiciones del microhábitat que proporcionan las aves, donde los *Notocotylus* de aves migratorias se han adaptado a los cambios que ofrece el hospedero, como lo son las variaciones en la ingesta alimentaria (Colón-Quezada, 2009), mientras que *Notocotylus pacifera* de aves residentes presenta plasticidad fenotípica que es la habilidad de un organismo para expresar diferentes fenotipos dependiendo del ambiente biótico o abiótico (Agrawal, 2001).

Leucochloridium variaie es un Digeneo ovalado, aplanado ventralmente y convexo dorsalmente, posee una ventosa oral subterminal, acetábulo ligeramente post ecuatorial, faringe musculosa, ciegos intestinales que se prolongan casi hasta la parte posterior del organismo, gónadas esféricas similares en tamaño, post acetabular y en área intercecal, forman un triángulo, el testículo anterior cerca del ciego derecho, el testículo posterior cerca del ciego izquierdo y el ovario inmediatamente anterior al testículo posterior. La bolsa del cirro es ovalada y se encuentra entre la parte final de los ciegos intestinales, la vitelaria inicia a la altura de la faringe y en algunos casos desde la parte media de la ventosa oral y se

extiende hasta la parte posterior a nivel de la bolsa del cirro, el útero en área intercecal con asas hasta los lados de la ventosa oral.

Los organismos de *Leucochloridium variae*, en su mayoría fueron extraídos de la cloaca y sólo algunos de la parte final del colon de las aves residentes *Gallinula galeata* y *Fulica americana*, de dos localidades en las Ciénagas de Lerma, también se incluyeron ejemplares de *Jacana spinosa* de una localidad del Estado de Hidalgo para el análisis morfométrico, con lo cual, se obtuvo sólo un morfotipo cuyos puntos anatómicos de referencia no presentaron variaciones significativas de acuerdo a especie hospedera o localidad. Sin embargo, en el análisis con morfometría tradicional, la longitud total, longitud del acetábulo, longitud de ovario y área del acetábulo son los caracteres con mayor variación y permiten la discriminación de organismos de *L. variae* en el presente estudio en cuatro grupos de acuerdo a la especie hospedera y microhábitat, lo que corresponde con Falconer (1981; tomado de Soto-Vivas, 2011) quien indica que los caracteres métricos son los primeros que cambian en el transcurso de la evolución, como respuesta a la demanda del genoma y del entorno, por lo tanto las variaciones métricas entre organismos parásitos del presente estudio, podrían estar influenciados por los hábitos alimentarios del hospedero y sus fluctuaciones, así como la disponibilidad de recursos en su ambiente, además, la anatomía y fisiología de cada especie hospedera, podría influir en el parásito y su dinámica de migración dentro del organismo hospedero, pues los genotipos solo pueden cambiar su química, fisiología, desarrollo, morfología o desarrollar respuesta al ambiente (Agrawal, 2001).

En el análisis merístico del tejido de ciegos y colon, se identificó una menor longitud de vellosidades en el segmento de distal (CID), que es donde localizaron, en la mayoría de los casos, los organismos del género *Notocotylus*, mientras que otros ejemplares pequeños e inmaduros en sus estructuras reproductivas, fueron localizados en la parte media y proximal de los ciegos donde hay más actividad peristáltica. En cuanto a los organismos de la especie *Leucochloridium variae*, se localizaron en la capa serosa del colon, en su mayoría, donde no hay vellosidades, pero si un área óptima para la adhesión de sus ventosas. Lo anterior debe

considerarse ya que los parásitos pueden ser especialistas a un recurso del hospedero y no al taxón del hospedero (Campiáo *et al.*, 2015)

9 Conclusiones generales

Los organismos del género *Notocotylus* son parásitos de aves residentes y migratorias

Los organismos de la especie *Notocotylus pacifera*, presentan variación morfológica intraespecífica en aves hospederas residentes

Los organismos de la especie *Notocotylus seineti*, se han adaptado a los cambios del microhábitat proporcionado por sus hospederos de hábitos migratorios.

Los organismos de *Leucochloridium variae* son específicos para aves residentes *Fulica americana* y *Gallinula galeata*.

Los *Leucochloridium variae*, no presentan variaciones intraespecíficas de acuerdo con el hospedero o localidad

El proceso de coevolución morfológica parásito-hospedero se puede evidenciar con las condiciones anatómicas y fisiológicas que proporciona el hospedero, con influencia de las condiciones del ambiente externo.

10 Literatura citada

- Aguilar Morales M., Coutiño Bello, B. y M. Salinas Rosales. 2013. Técnicas histológicas y citoquímicas: manual general de laboratorio. 2da edición. México. UNAM, Facultad de Ciencias. 144 pág.
- Agrawal, A. 2001. Phenotypic Plasticity in the Interactions and Evolution of Species. *Science* 294, 321-326.
- Bakke, T. A. (1978a) Intraspecific variation of adult *Leucochloridium* sp. (Digenea) from natural and experimental infections. *Can J. Zool.* 56: 94-102
- Barton, D. P. y D. Blair, 2005. Keys to the trematoda. Vol.2. CAB International and the Natural History Museum. London. Pág.383-396.
- Behari Lal, M. 1935. A review of the genus *Notocotylus*, with description of a new trematode parasite of *Mareca penelope* from Lucknow. *Proceedings Indian Academy of Sciences.* 2, 457-466. <https://doi.org/10.1007/BF03053032>
- Bookstein, F. L. (1991) Morphometric tools for landmarks Data: Geometry and Biology. Cambridge University Press, Cambridge, 435 pp.
- Boyce, K., Hide, G., Craig, P. S., Harris, P. D., Reynolds, C., Pickles, A. y M. T. Rogan. 2012. Identification of a new species of digenean *Notocotylus malhamensis* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from the bank vole (*Myodes glareolus*) and the field vole (*Microtus agrestis*). *Parasitology*, 139, 1630–1639. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000911>
- Brooks, D. R. y Heard, R. W., III. 1977. Parasites of the Clapper rail, *Rallus longirostris* Boddaert. III. Description of *Notocotylus schmidtii* sp. n. (Digenea: Notocotylidae). *The Helminthological Society of Washington*, 44 (1), 63–65. En línea: <https://eurekamag.com/research/006/062/006062359.php>
- Caballero-Viñas, C., Sánchez-Nava P., Aguilar-Ortigoza, C. y Rodríguez-Romero, F. 2019. Variación intraespecífica en la probóscide de *Polymorphus trochus* (Polymorphida: Polymorphidae) de dos especies de aves dulceacuícolas (Gruiformes: Rallidae) en el Estado de México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* 35: 1-12.

- Campiáo, K. M., Ribas, A. y L.E.R., Tavares. 2015. Diversity and patterns of interaction of an anuran-parasite network in a neotropical wetland. *Parasitology*. Pág 1-7.
- Chaisiri, K., Morand, S. y Ribas A. 2011. *Notocotylus loeiensis* n sp (Trematoda: Notocotylidae) from *Rattus losea* (Rodentia: Muridae) in Thailand. *Parasite*. 18: 35-38.
- Chen, Y. H., Hsu, H. K. y Hsu, J. C. 2002. Studies on the fine structure of caeca in domestic geese. *Asian -Aust. J. Anim. Sci.*2002. 15(7):1018-1021.
- Colón-Quezada, D. 2009. Composición de la dieta de otoño del pato mexicano (*Anas diazi*) en el vaso sur de las Ciénegas del Lerma, Estado de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 80: 193-202.
- Cribb, T. H., Bray, R. A., Olson, P. D. y D.T. J. Littlewood. 2003. Life cycle Evolution in the Digenea: a new perspective from Phylogeny. *Advances in Parasitology*. 54: 197-254.
- DeGolier, T., S. Mahoney y G. Duke. 1999. Relationships of avian cecal lengths to food habits, taxonomic position, and intestinal lengths. *The Condor* 101:622-634
- Dirzo R., Thompson J. La coevolución y las enseñanzas de Darwin. *Ciencia hoy*.19:113. Pág 43-48
- Dziala-Szczepańczyk, E. y A. Charuta. 2010. Morphology and Morphometry of caeca in the tufted duck *Aythya fuligula*. *Zoologica Poloniae*. 55(4): 21-31.
- Eom, K. S., Rim H. J. y D. H. Jang. 1984. A Study on the Parasitic Helminths of Domestic Duck (*Anas platyrhynchos* var. *domestica* Linnaeus) in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*. 22(2):215-22.
- Gibson, D. I. 2002. Keys to the Trematoda. Vol. 1. CAB International and the Natural History Museum. London. Pág.15-18
- Gobierno del Estado de México.1993. Atlas Ecológico de la Cuenca Hidrográfica del Río Lerma. Tomo II. Comisión Coordinadora para la recuperación ecológica de la cuenca del Río Lerma. Pp. 339

- Graczyk, T. K. y C. J. Shiff. 1993. Experimental infection of domestic ducks and rodents by *Notocotylus attenuates* (Trematoda: Notocotylidae). *Journal of Wildlife Diseases*. 29(3) pp. 434-349
- Guillén, G., Morales, E. .2003. Primeros registros de helmintos parásitos en *Fulica ardesiaca* (Aves: Rallidae) para el Perú: Pantanos de Villa-Lima. *Revista Peruana de Biología*, 10 (2), 203–208. DOI:10.15381/RPB.V10I2.2504
- Kulisic, Z., Lepojev, O., Aleksic-Bakrac, N., Jakic, D., Pavlovic, I., Milutinovic, M., Mistic, Z. (2004) Trematodes of the Eurasian coot (*Fulica atra* L.) in the Belgrade area. *Acta Veterinaria (Beograd)*, 54 (5–6), 447–456.
- Lamothe-Argumedo, R. 1997. Manual de Técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres. A. G. T. Editor S. A. UNAM. México, D. F. 43 p
- Lewis, P. D. (1974) Helminths of terrestrial molluscs in Nebraska. II. Life cycle of *Leucochloridium variae* McIntosh, 1972 (Digenea: Leucochloridiidae). *The Journal of Parasitology*. 60 (2): 251–255.
- Mackinnon, B. (1982) The development of the ventral papillae of *Notocotylus triserialis* (Digenea: Notocotylidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 68, 279–293.
- McGarigal, K., Cushman, S., Stafford, S. (2000) *Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research*. Springer, New York, 283 pp.
- McIntosh, A. 1932. Some new species of Trematode worms of the genus *Leucochloridium* Carus, parasitic in birds from Northern Michigan, with a key and notes on other species of the genus. *The Journal of parasitology*. 19:1. 32-53 pp.
- Mendlová M., Simková A. 2014. Evolution of host specificity in monogeneans parasitizing African cichlid fish. *Parasites and Vectors*. 7:69. 14pp.

- Olivares-Orozco, J. L., Rodríguez-Diego, J. G., Técnicas Helmintológicas veterinarias 8. Cinecias biológicas y de la salud. Universidad Autónoma Metropolitana. 37pp.
- Pérez Vilchis, J. M. (2019). Infección de metacercarias (Trematoda: Digenea) en las especies dominantes de hidromedusas en la Laguna de Tamiahua, Veracruz. (Maestría en Biociencias). Instituto Politécnico Nacional, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México.
- Pojmanska, T. 2002. Family Leucochloriidae *Poche, 1907* Edit. CABI Publishing. Pág 47-52.
- Preston, E. 2009 The Birds of Mexico and adjacent areas Belize, Gutemala and El Salvador. 3ed. University of Texas Press Austin. 209pp.
- RAMSAR. 2003. Ficha Informativa de los humedales Ramsar (FIR). En línea
http://ramsar.conanp.gob.mx/docs/sitios/FIR_RAMSAR/Estado_de_Mexico/Cienegas_de_Lerma/Ci%C3%A9negas%20de%20Lerma.pdf Acceso, septiembre 2023.
- Rivas, C. (2008); Caracterización histológica del cervix en la cerda doméstica (*Sus scrofa*); Tesis de Licenciatura; México.
- Rząd I., Hofsoe P., Panicz R., y J. K. Nowakowski. 2013. Morphological and molecular characterization of adults forms of *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 and *L. perturbatum* Pojmanska, 1969 (Digenea: Leucochloridiidae) from the great tit, *Parus major* L., 1758 and similarity with the sporocyst stages. *Journal of Helminthology*. 88, 506-510. DOI: 10.1017/S0022149X13000291
- Soler, M. _____. Coevolución. Departamento de biología animal y Ecología. Granada. Pág. 221-234.
- Soto-Vivas, A., Liria, J., De Luna, E. 2011. Morfometría geométrica y filogenia en Rhodniini (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 27 (1), 87–102. DOI:10.21829/azm.2011.271736

- Stunkard, H. W. y F. W. Dunihue. 1931. Notes on trematodes from a Long Island duck with description of a new species. *The Biological Bulletin*. 60: 179-186.
- Toro, I. M. V., S. G. Manriquez y G. I. Suazo. 2010. Morfometría Geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*. 28(4):977-990.
- Valero, M. A., Darce N. A., Panova M. y Mas-Coma s. 2001. Relationships between host species and morphometric patterns in *Fasciola hepatica* adults and eggs from de northern Bolivian Altiplano hyperendemic region. *Veterinary Parasitology*. 102, 85 -100.
- Van Perlo, B. 2006. *Birds of Mexico and Central America*. Princeton and Oxford. Princeton University Press. New Jersey, 336 pp.
- Vignon M., A. Pariselle y M. Vanhove. 2011. Modularity in attachment organs of African Cichlidogyrus (Platyhelminthes: Monogenea: Ancyrocephalidae) reflects phylogeny rather than host specificity or geographic distribution. *Biological Journal off the Linnean Society*. 102. 694-706
- -Viñas Caballero, C. y R.A. Gómez Navarrete. 2010. Descripción histológica de las glándulas accesorias del Pecarí de collar (*Pecari tajacu*). Tesis de licenciatura. UAEMéx, México. 55pp.
- Yamaguti, S. 1971. Sinopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates. Vol. I Kieyaku Publishing Co., Ltd Primera edición. Japón, Pp. 1074.
- Zepeda-Gómez, C., Lot-Helgueras, A., Nemiga, X., Madrigal-Uribe, D. 2012. Florística y diversidad de las Ciénegas del río Lerma Estado de México, México. *Acta Botánica Mexicana*, 98, 23–49.
<https://doi.org/10.21829/ABM98.2012.1139>

11 Anexos

11.1 Cuadros complementarios

Cuadro 1 Tinción modificada de Hematoxilina para *Leucochloridium variae*

Hidratación	OH70% 10min
	OH50% 10min
	OH 30% 10min
	OH 10% 10min
	Agua destilada 10min
Tinción	en Hematoxilina de Harris de 2-5 min
	Agua corriente 10min
	Agua destilada 5min
Diferenciación	en OH acidulado (ac, acético glacial 0.05%) checar la concentración***
Lavados	Dos lavados de 5 min cada uno en agua destilada
Deshidratación	OH 10% 10min
	OH 30% 10min
	OH50% 10min
	OH70% 10min
	OH96% 10min
	OH absoluto 25min
Aclarar	en salicilato de metilo de1-3 min
Montaje	En bálsamo de Canadá
Hidratación	OH70% 10min
	OH50% 10min
	OH 30% 10min
	OH 10% 10min
	Agua destilada 10min
Tinción	en Hematoxilina de Harris de 2-5 min
	Agua corriente 10min
	Agua destilada 5min
Diferenciación	en OH acidulado (ac, acético glacial 0.05%) checar la concentración***
Lavados	Dos lavados de 5 min cada uno en agua destilada
Deshidratación	OH 10% 10min
	OH 30% 10min
	OH50% 10min
	OH70% 10min
	OH96% 10min
	OH absoluto 25min
Aclarar	en salicilato de metilo de1-3 min
Montaje	En bálsamo de Canadá

Cuadro 2 Organismos parásitos del presente trabajo en aves residentes

HOSPEDERO residente (n)	MICROHÁBITAT	PARÁSITO
<i>Fulica americana</i> (24)	ciego intestinal	<i>Notocotylus pacifera</i> <i>Notocotylus pacifera</i> (1202 CNHIBUNAM)
	Cloaca, colon e intestino posterior	<i>Leucochloridium variaie</i>
<i>Gallinula galeata</i> (10)	ciego intestinal	<i>N. pacifera</i>
	cloaca	<i>Leucochloridium variaie</i>
<i>Jacana spinosa</i>	cloaca	<i>Leucochloridium variaie</i> (241-25 CNHIBUNAM)

Cuadro 3 Organismos parásitos del presente trabajo en aves migratorias

HOSPEDERO migratorio (n)	MICROHÁBITAT	PARÁSITO
<i>Anas clypeata</i> (13)	ciego intestinal	<i>Notocotylus seineti</i>
<i>Anas discors</i> (7)	ciego intestinal	<i>N. seineti</i>
		<i>Notocotylus seineti</i> (B07009 CHLSBUAEMéx)
<i>Anas cyanoptera</i> (9)	ciego intestinal	<i>Notocotylus seineti</i>
<i>Aythya affinis</i> (1)	ciego intestinal	<i>N. attenuatus</i> (B03001 CHLSBUAEMéx)

Cuadro 4 Proceso de deshidratación-inclusión de tejido histológico

3 lavados	Etanol 70%	5 min c/u
deshidratación	Etanol 70%	30min
	Etanol 80%	40min
	Etanol 80%	50min
	Etanol 96%	50min
	Etanol 100%	50min
	Etanol 100%	50min
Aclaramiento	Etanol-xileno	50min
	Xileno	50min
	Xileno	50min.
Infiltración	Paraplast-plus	3 hrs
	Paraplast-plus	9hrs
Inclusión	Paraplast-plus	

*para los trematodos se redujo el tiempo de deshidratación y aclaramiento -15min.

Cuadro 5. Técnica de tinción de hematoxilina de Gill-eosina

Desparafinar	2 cambios en xilol	15min c/u
	Dos cambios de Xilol- etanol absoluto	5min c/u
	Etanol absoluto	5min
Hidratar	Etanol 96%	5min
	Etanol 70%	5min
	Etanol 50%	5min
	Colocar los cortes en agua destilada	
Tinción	Hematoxilina de Gill	10-15min (según tejido)
Lavados	Tres con agua de la llave	
	Lavado rápido en alcohol acidulado para eliminar exceso de hematoxilina	
	En solución de Carbonato de Litio para que vire color azul	
	agua corriente tres cambios	
	con agua destilada	
Deshidratación	Etanol 50%	2 min
	Etanol 70%	2min
Tinción	Eosina	1-2 segundos (según tejido)
Deshidratación	Etanol 70% (dos cambios)	5min c/u
	Etanol 96% (dos cambios)	5min c/u
	Etanol absoluto	5 min
	Absoluto-xilol (dos cambios)	5min c/u
	Xilol (dos cambios)	5min c/u
Montar	Bálsamo de Canadá	

(Tomado de Caballero-Viñas, modificado de Rivas, 2008)

contorno de la forma y estructuras internas. Los resultados de morfometría lineal sugieren que la discriminación de grupos se basa en longitud total, longitud del acetábulo, longitud del ovario y área del acetábulo. El análisis con morfometría geométrica evidencia baja variación de la forma y un morfotipo para todos los subgrupos, sin presentar efectos en la forma, el microhábitat, hospedero o localidad. Finalmente, la morfometría geométrica podría ayudar a mejorar la identificación de *Leucochloridium variaie*.

Palabras clave: Trematoda; morfotipo; endoparásitos; morfometría geométrica; hospederos; humedal

ABSTRACT: *Leucochloridium variaie* (Trematoda: Digenea) is a specie of cosmopolitan endoparasites trematodes hosted in the cloaca of birds. It's identification is based on anatomical and morphometric characteristics. In this study we used traditional lineal morphometry and geometric morphometry analysis in some organisms, wich parasitize two species of ralizados birds in Chimaltepan marshes, in Lerma, México. For analysis, we formed groups according to host, microhabitat, and locality. For study of the form, 29 reference points were analyzed distributed in the shape of the organism and internal structures. Linear morphometric results suggest that discrimination groups are based on total length, acetabulum length, ovary length, and acetabulum area. Analysis with geometric morphometry showed low variation in shape and a morphotype for all groups, with no effect on shape, microhabitat, host or locality. Finally, geometric morphometry could help improve the identification of *Leucochloridium variaie*.

Key words: Trematoda; morphotype; endoparasites; geometric morphometry; host; marshes.

INTRODUCCIÓN

La familia Leucochloridiidae Poche, 1907, se caracteriza por su forma ovalada, cubierta por finas espinas, ventosas y faringe muscular bien desarrollada, ciegos largos, ovario usualmente entre los testículos, bolsa del cirro, vitelaria en dos hileras largas, el útero forma numerosas asas que se extienden en gran parte del organismo, la fase adulta parasita el tracto alimentario (cloaca y Bolsa de Fabricio) de aves, mientras la fase intermedia parasita invertebrados usualmente Gasterópodos.

El género parasita principalmente la cloaca de Passeriformes y su distribución cosmopolita. El arreglo de las gónadas en triángulo o tandem, las asas uterinas pueden extenderse hasta la parte media de la ventosa oral. La ventosa ventral o acetábulo en la parte media del organismo (Pojmanska, 2002). La taxonomía del género se ha basado en las especies de hospederos, así como la descripción y merística de adultos a partir de organismos por infección experimental, así como

descripciones de estados larvarios, lo cual ha ocasionado inestabilidad en la taxonomía del género (Bakke, 1978a; Lewis, 1974).

La morfometría geométrica es una herramienta utilizada para estudiar las formas biológicas mediante la información geométrica de la forma y la relación espacial entre sus partes o configuración geométrica (Bookstein, 1991; Toro *et al.*, 2010). Se ha evidenciado la eficiencia de esta herramienta en discriminación de especies de triatomos (Heteroptera) a partir de la configuración geométrica del borde corial y del collar de huevos (Páez-Colasante & Aldana, 2008; Aguilar-Morales *et al.*, 2022). También se ha utilizado como complemento en estudios cladistas en hemípteros, a partir del análisis de arquitectura alar (Soto-Vivas *et al.*, 2011), en el análisis de modularidad interespecífica de órganos de adhesión de platelmintos (Vignon *et al.*, 2011) y la variación intraespecífica en estructuras de fijación de acantocéfalos (Caballero-Viñas *et al.*, 2019). En trematodos, se ha analizado la forma corporal de metacercarias con morfometría geométrica (Repkin *et al.*, 2020) y en organismos adultos del género *Notocotylus* (Digenea: Notocotylidae), a partir del análisis de la forma se evidenciaron morfotipos intraespecíficos e interespecíficos (Aguilar-Morales *et al.*, 2022)

El objetivo del presente estudio fue analizar mediante morfometría tradicional y geométrica, la forma de los organismos de *Leucochloridium variaie*, parásito de aves acuáticas de los humedales de Lerma, Estado de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sitio de estudio: colecta de parásitos. Las aves se obtuvieron por donación de cazadores locales durante el periodo de febrero de 2015 a marzo 2017 en el humedal de Chimaliapan (19° 14' 31.0" N; 99° 28' 53.9" O; Martínez-Haro *et al.*, 2012) en la localidad de San Pedro Tultepec, del municipio de Lerma, en el Estado de México (Fig 1). La identificación taxonómica de las aves se realizó con guías de campo de Preston (1998) y Van Perlo (2006).

Las aves se trasladaron al laboratorio de sistemas Biosustentables de la UAEMéx, donde se realizó la disección y examen helmintológico de su aparato digestivo con ayuda de microscopio estereoscópico modelo Olympus SZX7. Los organismos del género *Leucochloridium* se extrajeron y limpiaron de materia orgánica con uso de pinceles y solución salina 0.7%, se aplanaron ligeramente entre dos portaobjetos para su fijación por capilaridad con formol 4% caliente, se enjuagaron con alcohol 70%, posteriormente se tiñeron mediante técnica modificada de Hematoxilina de Harris (Aguilar-Morales *et al.*, 2013), algunos organismos con Paracarmín de Meyer y se montaron con bálsamo de Canadá (Lamothe-Argumedo, 1997).

La identificación de los organismos parásitos se realizó mediante claves taxonómicas (Pojmanska, 2002) y descripciones específicas (Bakke, 1978a; Lewis, 1974) (Cuadro 1). Además, se incluyeron

ejemplares de *Leucochloridium variae*, de la Colección Nacional de Helminthos de la Universidad Nacional Autónoma de México, los cuales parasitaban *Jacana spinosa* Linnaeus, 1758. En total se analizaron 51 individuos de la especie *Leucochloridium variae*, obtenidos de cloaca y algunos de la sección cloaca-colon de diferentes hospederos. Los organismos se agruparon bajo los siguientes criterios: hospedero, microhábitat y localidad (Cuadro II). Se tomaron fotografías de cada ejemplar mediante un microscopio estereoscópico Olympus SZX7® conectado a una cámara Olympus E620 IS® para su posterior análisis por morfometría lineal y geométrica.

Morfometría lineal. Mediante la paquetería ImageJ 1.43u® se obtuvieron las siguientes variables: Longitud total (LT), ancho total (AT), longitud de vitelaria (LV), longitud de ventosa oral (LVo), ancho de ventosa oral (AVo), área de ventosa oral (ArVo), longitud faringe (LF), ancho de faringe (AF), longitud de acetábulo (LA), ancho de acetábulo (AA), longitud de ovario (LOva), ancho de ovario (AOva), longitud testicular (LTest), ancho testicular (ATest), área testicular (ArTest) y área total del organismo (ArT) (Fig 2).

Los datos obtenidos se procesaron mediante Análisis de componentes principales para conocer el porcentaje de variación de los datos y reducir la dimensionalidad o número de variables. Para visualizar agrupaciones se realizó un Análisis de Funciones Discriminantes (McGarigal *et al.*, 2000). Todos los análisis se realizaron en el software Statgraphics Centurion XVI.I®.

Morfometría geométrica. Se analizó la forma para los organismos de *L. variae* con base en puntos de referencia de tipo III y semi-landmarks ubicados en estructuras anatómicas y el contorno de la forma, bajo los criterios de homología, consistencia, repetitividad y coplanaridad para cada organismo (Toro *et al.*, 2010). El análisis de la forma se llevó a cabo mediante los diferentes módulos de la paquetería IMP8 (Integrated Morphometrics Package) y la serie TPS, la cual genera coordenadas (x,y) para cada punto de referencia (Zelditch *et al.*, 2004).

Se ubicaron en total 29 puntos anatómicos para cada organismo (Fig 2). Diez landmarks como se describe a continuación: 1- parte anterior del organismo y de la ventosa oral; 5 y 6- inicio de vitelaria; 11 y 12- ubicación de testículos; 13- Ovario; 14–16- contorno de la bolsa del cirro y 23- parte posterior del organismo. Los semilandmarks 2–4- contorno de la ventosa oral; 7–10- contorno del acetábulo, 17–22 y 24 –29- contorno de la forma del organismo, puntos homólogos en toda la muestra (Toro *et al.*, 2010). La ubicación de semilandmarks se realizó con apoyo de 8 peines transversales repartidos entre la parte anterior y posterior del individuo, así como cuatro radios para la ventosa oral y acetábulo, trazados en el módulo MakeFan8 de la paquetería IMP. Todos los puntos de referencia se digitalizaron en TPSDig. Se realizó el Análisis de Procrustes o ajuste de datos en Coordgen8 para eliminar el efecto del tamaño y rotación, mientras que la alineación de landmarks y semilandmarks se realizó en Semiland8. Para obtener el porcentaje de varianza de cada

variable, se realizó un Análisis de Componentes Principales en el módulo PCAGen8 y para la obtención del morfotipo con la herramienta de interpolación de placas delgadas o Thin Plate Spline (Bookstein, 1991). Se realizó un Análisis de Variables Canónicas para visualizar los subgrupos. Todos los análisis se efectuaron a un nivel de significancia menor o igual a 0.05.

RESULTADOS

Leucochloridium variaie McIntosh, 1932 se caracteriza por su tamaño medio, forma ovalada y convexa dorsalmente, una ventosa ventral que ocupa la parte media del organismo, enseguida de la faringe y ésta de la ventosa oral. Un testículo anterior junto al ciego derecho, testículo posterior junto a ciego izquierdo e inmediatamente anterior se encuentra el ovario, dichas gónadas en arreglo triangular y útero forma asas hasta la parte media de la ventosa oral y ocupa la parte intercecal (Lewis, 1974).

Morfometría lineal

Se identificó la especie *Leucochloridium variaie* McIntoch, 1932, parásito de cloaca y segmento de cloaca-colon de las aves *Gallinula galeata* Lichtenstein, 1818 y *Fulica americana* Gmelin, 1789. *Leucochloridium variaie* es ovalado, aplanado ventralmente y convexo dorsalmente, posee una ventosa oral subterminal, acetábulo ligeramente post ecuatorial, faringe musculosa, ciegos intestinales que se prolongan casi hasta la parte posterior del organismo, gónadas esféricas similares en tamaño, post acetabular y en área intercecal, forman un triángulo, el testículo anterior cerca del ciego derecho, el testículo posterior cerca del ciego izquierdo y el ovario inmediatamente anterior al testículo posterior. La bolsa del cirro es ovalada y se encuentra entre la parte final de los ciegos intestinales, la vitelaria inicia a la altura de la faringe y en algunos casos desde la parte media de la ventosa oral y se extiende hasta la parte posterior a nivel de la bolsa del cirro, el útero en área intercecal con asas hasta los lados de la ventosa oral. Sus medidas lineales corresponden al promedio de referencia (Cuadro 1)

En el análisis de morfometría lineal se obtuvo 66.32% de variación de los datos en los dos primeros componentes principales. Los organismos forman subgrupos de acuerdo con los siguientes caracteres: longitud total y longitud del ovario para la Función Discriminante 1 (FD1 61.55%, Wilk's $\lambda = 0.0009$, CANCOR=0.98, $p < 0.0001$), mientras que longitud del acetábulo y área del acetábulo discriminan para la Función discriminante 2 (FD2 33.83%, Wilk's $\lambda = 0.024$, CANCOR=0.964, $p < 0.0001$; Fig. 3). Los especímenes fueron clasificados correctamente en 100% de acuerdo con las distancias de Mahalanobis.

Morfometría geométrica

En el análisis de la forma de *Leucochloridium variaie*, se obtuvo el 51.27% de la variación de los datos en los dos primeros componentes. Los cuatro subgrupos de organismos de estudiados se concentraron en una nube de puntos (Fig. 4). El análisis de variables canónicas (VC1: 1.09 y VC2: 0.93; eje 1: $\lambda=0.158$, $x^2=84.85$, $df=12$, $p<4.8 \times 10^{-13}$; eje 2: $\lambda=0.331$, $x^2=50.81$, $df=6$, $p<3.2 \times 10^{-9}$) confirma la no variación de la forma de los organismos de la especie *L. variaie* (Fig. 5), así como un morfotipo para los organismos del presente estudio (Fig. 6).

DISCUSIÓN

El presente estudio sugiere que las variaciones intraespecíficas de *L. variaie* se limitan a la morfometría lineal.

Morfometría lineal

Las claves taxonómicas e identificación de especies se basada en características de morfometría lineal, así como presencia de estructuras, coloración, características de fases larvarias, incluso especies de hospederos (Pojmanska, 2002; Bakke, 1982). Estudios recientes de trematodos han incluido el análisis de forma y tamaño de estructuras con morfometría tradicional para describir nuevas especies como es el caso de *Notocotylus sindhensis* n. sp. (Khan *et al.*, 2017); mientras otros trabajos basan la identificación de especies con análisis moleculares que corroboran con identificación tradicional (Repkin *et al.*, 2020)

La longitud total, longitud del acetábulo, longitud de ovario y área de acetábulo son los caracteres de mayor variación y permiten la discriminación de organismos de *L. variaie* en el presente estudio y que corresponde con Falconer (1981; tomado de Soto-Vivas, 2011) quien indica que los caracteres métricos son los primeros que cambian en el transcurso de la evolución, como respuesta a la demanda del entorno y del genoma.

Morfometría geométrica

El análisis con morfometría geométrica es utilizado por primera vez en estos organismos. A partir del análisis de la variación de los datos proporcionados por los puntos de referencia de la forma, se obtuvo el 51% de variación (CP1 y CP2) y los organismos se concentraron en una nube de puntos, así, en el análisis de variables canónicas no se obtuvieron agrupaciones de organismos y de forma similar sólo se obtuvo una nube de puntos, lo que sugiere que no hay variación de la forma de los organismos de *L. variaie*, así sean de especies hospederas distinto, diferente microhábitat o diferente localidad y refuta los resultados del análisis con morfometría lineal.

Lo anterior sugiere revisar los caracteres a considerar para mejorar la identificación de las especies e incluir las herramientas de morfometría geométrica en los análisis morfológicos.

En conclusión, se propone incluir la metodología de morfometría geométrica en la identificación y estudio de especies de organismos de la familia Leucochloridiidae en futuras investigaciones.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México por el financiamiento otorgado al Proyecto de investigación 3831/2014CIA, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a la autora principal con beca núm 288637, al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el préstamo de algunos ejemplares incluidos en el presente trabajo, a los lugareños de la zona de San Pedro Tultepec, Lerma por la donación de aves.

LITERATURA CITADA

Aguilar-Morales, A., Sánchez-Nava, P., Aguilar-Ortigoza, C. J., Rodríguez-Romero, F. (2022) Variaciones morfológicas del Género *Notocotylus* (Digenea: Notocotylidae), parásitos de aves acuáticas (Rallidae y Anatidae) en las ciénegas de Lerma, Estado de México. *Acta Zoológica Mexicana (n. s.)* 38(1), 1–16. <https://doi.org/10.21829/azm.2022.3812402>

Aguilar-Morales, M., Coutiño-Bello, B., Salinas-Rosales, M. P. (2013) *Técnicas histológicas y citoquímicas: manual general de laboratorio*. 2ª ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 144pp.

Bakke, T. A. (1982) The morphology and taxonomy of *Leucochloridium (L.) varia* McIntosh (Digenea, Leucochloridiidae) of the Nearctic and revealed by light and scanning electron microscopy. *Zoologica Scripta*. 11(2): 87–100. DOI 10.1111/j.1463-6409.1982.tb00521.x

Bakke, T. A. (1978a) Intraspecific variation of adult *Leucochloridium sp.* (Digenea) from natural and experimental infections. *Can J. Zool.* 56: 94-102. <https://doi.org/10.1139/z78-013>

Bakke, T. A. (1978b) Taxonomy of *Leucochloridium sp.* (Digenea) Infecting *Succinea pfeifferi* Rossmässler, 1835. *Z. Parasitenkd.* 55: 153–164. <https://www.researchgate.net/publication/22497488>

Bookstein, F. L. (1991) *Morphometric tools for landmarks Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 435 pp.

Caballero-Viñas, C., Sánchez-Nava, P., Aguilar-Ortigoza, C., Rodríguez-Romero, F. (2019) Variación intraespecífica en la probóscide de *Polymorphus trochus* (Polymorphyda: Polymorphyidae) de dos especies de aves dulceacuícolas (Gruiformes: Rallidae) en el estado de México. *Acta Zoológica Mexicana n.s.*, 35,1–12. <https://doi.org/10.21829/azm.2019.3502057>

Khan, A., Waheed S., Ghazi, R., Khatoon, N., Noor-Un-Nisa. (2017) *Notocotylus sindhensis* n. sp. (Trematoda:Notocotylidae) from mallard (*Anas platyrhynchos*) in Sindh, Pakistan. *FUFAST Journal of Biology*, 7(2), 177–181.

Krupenko, D., Gonchar, A. (2017) Ventral concavity and musculature arrangement in notocotylid maritae (Digenea: Notocotylidae). *Parasitology International*, 66(5), 660–665. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.06.008>.

- Lamothe-Argumedo, R.** (1997) *Manual de Técnicas para preparar y estudiar los parásitos de animales silvestres*. A. G. T. Editor S. A. UNAM. México, D. F., 43 pp.
- Lewis, P. D.** (1974) Helminths of terrestrial molluscs in Nebraska. II. Life cycle of *Leucochloridium variae* McIntosh, 1972 (Digenea: Leucochloridiidae). *The Journal of Parasitology*. 60 (2): 251–255.
- Martínez-Haro, M., Sánchez-Nava, P., Salgado-Maldonado, G., Rodríguez-Romero, F.** (2012) Helmintos gastrointestinales en aves acuáticas de la subcuenca alta del río Lerma, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 36–41.
- McGarigal, K., Cushman, S., Stafford, S.** (2000) *Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research*. Springer, New York, 283 pp.
- McIntosh, A.** (1932) Some new species of trematode worms of the Genus *Leucochloridium* Carus, parasitic in birds from Northern Michigan, with a key and notes on other species of the genus. *The Journal of Parasitology*. 19(1): 32–53pp. DOI: [10.2307/3271429](https://doi.org/10.2307/3271429)
- Morgan, A., Gandon, S., Buckling, A.** (2005) The effect of migration on local adaptation in a coevolving host-parasite system. *Nature*, 437(8), 253–256. <https://doi.org/10.1038/nature03913>
- Páez-Colasante, X., Aldana, E.** (2008) Morfometría Geométrica del Borde Borial y del Collar de huevos de cinco especies del género *Rhodnius* Stal (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae). *EntomoBrasilis*, 1(3), 57–61
- Pojmanska, T.** (2002) “Family Leucochloridiidae Poche, 1907”. Pp. 47-51. En: D. I. Gibson, A. Jones, R. A. Bray (Eds.). *Keys to the Trematoda*. Vol. 1. CABI Publishing and the Natural History Museum. London, United Kingdom.
- Preston, E.** (1998) *A field guide to the birds of México and adjacent areas Belize, Guatemala and El Salvador*. University of Texas, Austin. 209 pp.
- Repkin, E. A., Maltseva, A. L., Varfolomeeva, M. A., Aianka, R. V., Mikhailova, N. A., Granovitch, A. I.** (2020) Genetic and morphological variation of metacercariae of *Microphallus piriformes* (Trematoda, Microphallidae): Effects of paraxenia and geographic location. *IJP: Parasites and Wildlife*. 11, 235–245.
- Soto-Vivas, A., Liria, J., De Luna, E.** (2011) Morfometría Geométrica y Filogenia en *Rhodnius* (Hemiptera, Reduviidae) de Venezuela. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 27(1), 87–102.
- Toro, I. M. V., Manriquez, S. G., Suazo, G. I.** (2010) Morfometría Geométrica y el Estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977–990.
- Valero, M. A., Perez-Crespo, I., Khoubbane, M., Artigas, P., Panova, M., Ortiz, P., Maco, V., Espinoza, J. R., Mas-Coma, S.** (2012) *Fasciola hepatica* phenotypic characterization in Andean

human endemic áreas: Valley versus altiplanic patterns analysed in liver flukes from sheep from Cajamarca and Mantaro, Peru. *Infection, Genetics and Evolution*, 12, 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.01.009>

Van Perlo, B. (2006) *Birds of Mexico and Central America*. Princeton and Oxford. Princeton University Press, New Jersey. 336pp.

Vignon, M., Pariselle, A., Vanhove, M. P. M. (2011) Modularity in attachment organs of African *Cichlidogyrus* (Platyhelminthes: Monogenea: Ancyrocephalidae) reflects phylogeny rather than host specificity or geographic distribution. *Biological Journal of the Linnean Society*, 102, 694–706.

Zelditch, M., Donald, L. Davis, S., William, L. (2004) *Geometric Morphometrics for biologists: a primer*. Elsevier Academic Press, USA, 443pp.

Zepeda-Gómez, C., Lot-Helgueras, A., Nemiga, X., Madrigal-Uribe, D. (2012) Florística y Diversidad de las Ciénegas del río Lerma Estado de México, México. *Acta Botánica Mexicana*. 98, 23–49.

Cuadros y figuras

Cuadro I. Medidas morfométricas comparativas (mínimo, máximo, media y desviación estándar) de adultos de *Leucochloridium variaie* en hospederos y microhábitat (n= núm. de individuos). Se incluye medidas de referencia de *Leucochloridium* sp y *L. variaie* (Bakke, 1978; Lewis, 1974)

Cuadro II. Agrupación de individuos de *Leucochloridium variaie* del presente estudio de acuerdo con hospedero, microhábitat y localidad

Fig1. Ubicación de zona de estudio. Tomado de Zepeda-Gómez y col. (2012)

Fig 2. Ubicación de estructuras anatómicas, puntos de referencia y semimarcas. Puntos de referencia: 1, 5–6, 11–16 y 23; semimarcas: 2–4, 7–10, 17–22 y 24–29. *Leucochloridium variaie* (Vo: ventosa oral; F: faringe; C: ciegos intestinales; A: acetábulo; Vit: vitelaria; U: útero; Ov: ovario; Test: testículo; Bc: bolsa del cirro; Barra=1mm), hospedero *Gallinula galeata*.

Fig 3. Discriminación de grupos con morfometría lineal. Separación de cuatro subgrupos de *Leucochloridium variaie* de acuerdo con hospedero y microhábitat.

Fig 4. Variación de los datos de la forma de *Leucochloridium variaie* en tres especies hospederos, dos microhábitats y dos localidades.

Fig 5. Análisis de variación canónica. Grupo de organismos homogéneo de acuerdo con su forma.

Fig 6. Gradillas de deformación de *Leucochloridium variaie*. Morfotipo único para diferentes hospederos, microhábitat y localidades. Los puntos indican el promedio y las flechas la dirección del desplazamiento de la forma.

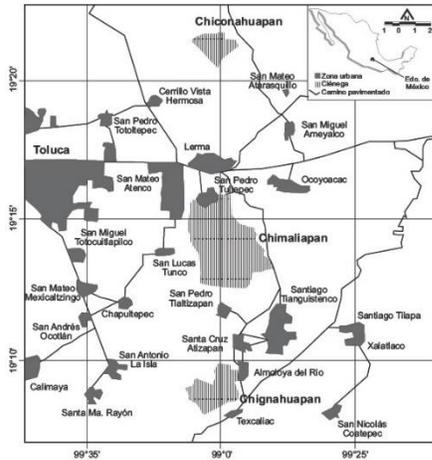


Figura1 Ubicación de zona de estudio. Tomado de Zepeda-Gómez y col. (2012)

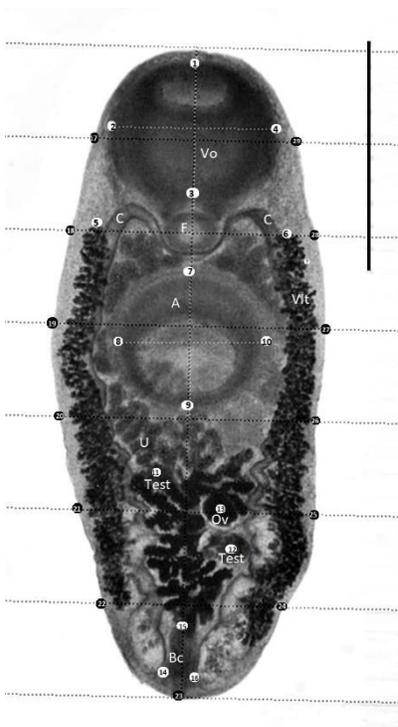


Figura 2. Ubicación de estructuras anatómicas, puntos de referencia y semimarcas. Puntos de referencia: 1, 5–6, 11–16 y 23; semimarcas: 2–4, 7–10, 17–22 y 24–29. *Leucochloridium variae* (Vo: ventosa oral; F: faringe; C: ciegos intestinales; A:acetábulo;Vit: vitelaria; U: útero; Ov: ovario; Test: testículo; Bc: bolsa del cirro; Barra=1mm), hospedero *Gallinula galeata*.

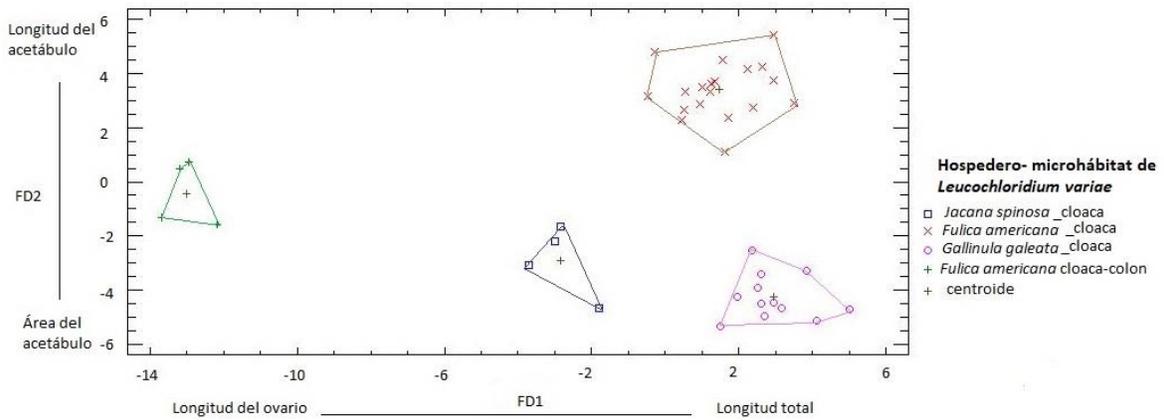


Figura 3 Discriminación de grupos con morfometría lineal. Separación de cuatro subgrupos de *Leucochloridium variae* de acuerdo con hospedero y microhábitat.

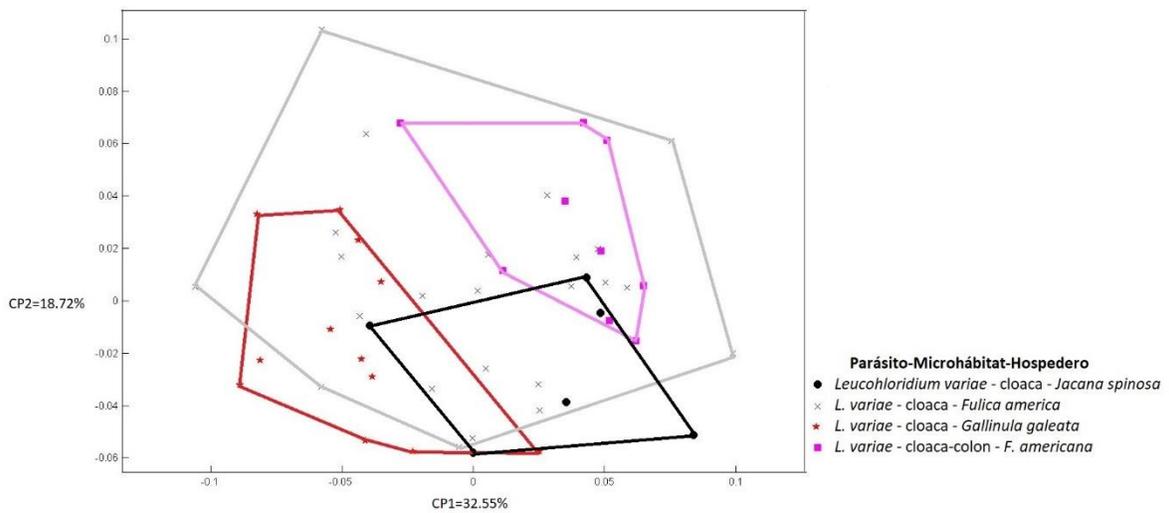


Figura 4. Variación de los datos de la forma de *Leucochloridium variae* en tres especies hospederos, dos microhábitats y dos localidades.

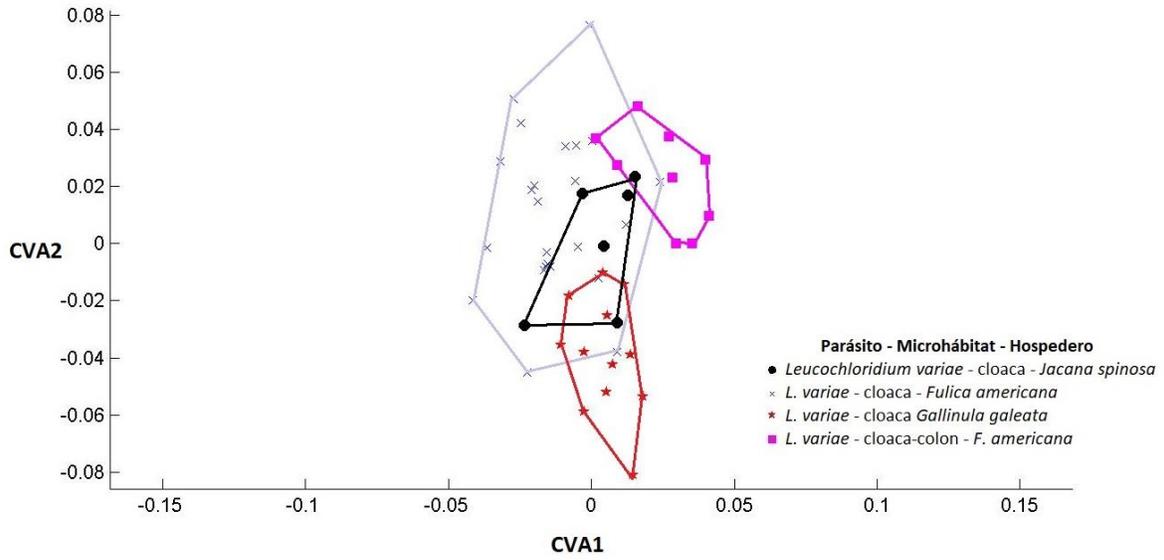


Figura 5. Análisis de variación canónica. Grupo de organismos homogéneo de acuerdo con su forma.

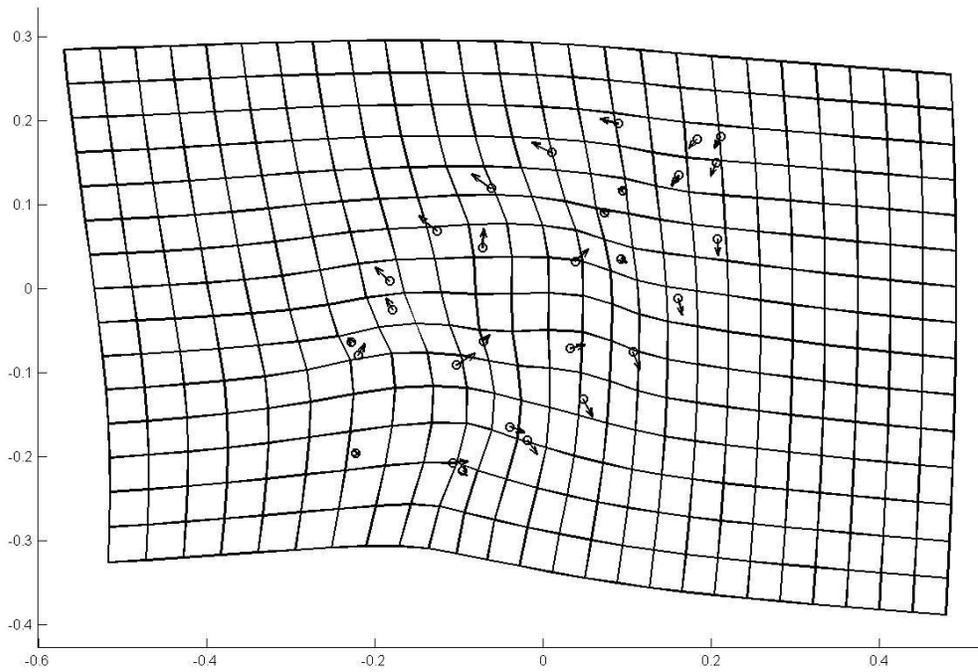


Figura 6. Gradillas de deformación de *Leucochloridium varia*. Morfotipo único para diferentes hospederos, microhábitat y localidades. Los puntos indican el promedio y las flechas la dirección del desplazamiento de la forma.