



Ciencia Nicolaita 86

ISSN: 2007-7068



Universidad
Michoacana
de San Nicolás
de Hidalgo

Vislumbrando la diversidad de clinostomidos (Platyhelminthes: Digenea), parásitos asociados a peces y aves acuáticas en México y Centroamérica mediante información obtenida de la biología molecular

Looking at the diversity of clinostomids (Platyhelminthes: Digenea), parasites associated with fish and water birds in Mexico and Central America by molecular and biological information

Ana Lucia Sereno-Urbe, Alejandra López-Jiménez, Mirza Patricia Ortega-Olivares, Leopoldo Andrade-Gómez, Marcelo Tonatiuh González-García y Martín García-Varela

Para citar este artículo: Ana Lucia Sereno-Urbe, Alejandra López-Jiménez, Mirza Patricia Ortega-Olivares, Leopoldo Andrade-Gómez, Marcelo Tonatiuh González-García y Martín García-Varela, 2022. Vislumbrando la diversidad de clinostomidos (Platyhelminthes: Digenea), parásitos asociados a peces y aves acuáticas en México y Centroamérica mediante información obtenida de la biología molecular. Ciencia Nicolaita no. 86, 33-44. DOI: <https://doi.org/10.35830/cn.vi86.661>

Historial del artículo:



Recibido: 23 de mayo de 2022

Aceptado: 28 de septiembre de 2022

Publicado en línea: diciembre de 2022



Ver material suplementario



Correspondencia de autor: garciav@ib.unam.mx



Términos y condiciones de uso: <https://www.cic.cn.umich.mx/cn/about/privacy>



Envíe su manuscrito a esta revista: <https://www.cic.cn.umich.mx/cn/about/submissions>

Vislumbrando la diversidad de clinostomidos (Platyhelminthes: Digenea), parásitos asociados a peces y aves acuáticas en México y Centroamérica mediante información obtenida de la biología molecular

Looking at the diversity of clinostomids (Platyhelminthes: Digenea), parasites associated with fish and water birds in Mexico and Central America by molecular and biological information

Ana Lucia Sereno-Urbe,¹ Alejandra López-Jiménez,^{1, 2} Mirza Patricia Ortega-Olivares,¹ Leopoldo Andrade-Gómez,¹ Marcelo Tonatihu González-García^{1, 2} y Martín García-Varela^{1*}

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Departamento de Zoología;

²Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado en Ciencias Biológicas.

Resumen

Los miembros del género *Clinostomum*, son un grupo de parásitos que en estadio adulto residen en la cavidad bucal de aves, mientras que en la fase larval o metacercaria, se encuentran en diferentes órganos de los peces. En la presente investigación, recopilamos secuencias de COI del GenBank del género *Clinostomum* distribuidos en distintas regiones biogeográficas. La base de datos se formó con 394 secuencias de las cuales, 269 fueron obtenidas de México y de dos países de Centroamérica. Los análisis filogenéticos inferidos con dos métodos probabilísticos (Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana), reconocieron ocho clados que corresponden a seis especies, más dos especies candidatas en esta región. Las seis especies de *Clinostomum* distribuidas en México y Centroamérica, se encuentran asociadas a cinco especies de aves de la familia Ardeidae, mientras que las metacercarias presentan un patrón de especificidad con peces pertenecientes a nueve familias. Aparentemente, estas asociaciones ecológicas han sido clave para la distribución de las especies de *Clinostomum* en México y Centroamérica.

Palabras clave: taxonomía, parásitos, biodiversidad, sistemática



Abstract

Members of the genus *Clinostomum* are parasites that in adult stage reside in the oral cavity of fish-eating birds, whereas that the larval stage (known as metacercaria) reside in fish. In the current study, we compiled COI sequences from the GenBank database from *Clinostomum* spp., distributed in different biogeographic regions. The database included 394 sequences, 269 of which were from the Mexican Nearctic and Neotropical regions, as well as from two countries in Middle-America. Phylogenetic analyses inferred with two probabilistic methods (maximum likelihood and bayesian inference), recognized eight clades, corresponding to six described species and two additional candidate species. All *Clinostomum* species from Mexico and Middle-America, are associated to five bird species from the family Ardeidae, whereas the metacercariae showed a host specificity pattern to fishes classified in nine families. Apparently, these ecological associations have been key on the distribution of the species of *Clinostomum* in Mexico and Middle-America.

Keywords: taxonomy, parasites, biodiversity, systematic

Introducción

El parasitismo es uno de los estilos de vida más exitoso y común en la naturaleza, el cual ha surgido de manera independiente en diversos phyla a través de la evolución de los seres vivos; se estima que aproximadamente el 10 % de la diversidad a nivel mundial son parásitos (Poulin y Morand, 2000). La asociación huésped-parásito es el resultado de adaptaciones recíprocas que permiten a los parásitos explotar características biológicas de sus huéspedes para asegurar su transmisión y supervivencia (Timi y Poulin, 2020). Como resultado, los parásitos pueden afectar la fisiología, la morfología, la reproducción y el comportamiento del huésped. Además, se ha documentado que los parásitos tienen impactos significativos en los individuos, las poblaciones, las comunidades, e incluso en los ecosistemas, ya que pueden estabilizar las redes tróficas (Poulin, 1997; Poulin y Morand, 2000; Timi y Poulin, 2020). Cabe señalar que algunos parásitos tienen ciclos de vida complejos que les permite interactuar a diferentes niveles tróficos con sus huéspedes intermediarios (invertebrados o vertebrados) o definitivos (vertebrados) en los ecosistemas, por esta razón, son considerados bioindicadores de la calidad de los ecosistemas (Poulin, 1997; Poulin y Morand, 2000).

Los digéneos están clasificados en el phylum Platyhelminthes, comúnmente conocidos como gusanos planos, los cuales son considerados como uno de los grupos más diversos de parásitos con aproximadamente 18 000 especies (Cribb *et al.*, 2001), a la vez que

son organismos de gran relevancia debido a que algunas especies causan daño a poblaciones de animales silvestres y domésticos, e incluso al ser humano (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007). Particularmente en México, los digéneos son el grupo mejor documentado con aproximadamente 503 especies clasificadas en 316 géneros (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007); sin embargo, este número podría estar subestimado, ya que la mayoría de los estudios helmintológicos están enfocados en un grupo específico de vertebrados, puntualmente en peces. Con base en esta aproximación, se estima que en México solo se ha reportado el 10 % de la biodiversidad de este grupo de parásitos. Pese a ello, el territorio mexicano es considerado como uno de los sitios con mayor biodiversidad de digéneos en el planeta junto con Australia (Poulin y Morand, 2000; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007).

Clinostomum Leidy, 1856 es un género de digéneos clasificados en la familia Clinostomidae Lühe, 1901 junto con otros seis géneros, de acuerdo con Kanev *et al.* (2002). Los parásitos pertenecientes a la familia Clinostomidae tienen un ciclo de vida complejo donde participan dos huéspedes intermediarios y un huésped definitivo. Los parásitos adultos habitan en la cavidad bucal, faringe o esófago de aves, reptiles y raramente en mamíferos, incluyendo el humano (Wang *et al.*, 2017) (Figura 1). El primer huésped intermediario son gasterópodos dulceacuícolas, mientras que el segundo huésped intermediario son peces o anfibios en

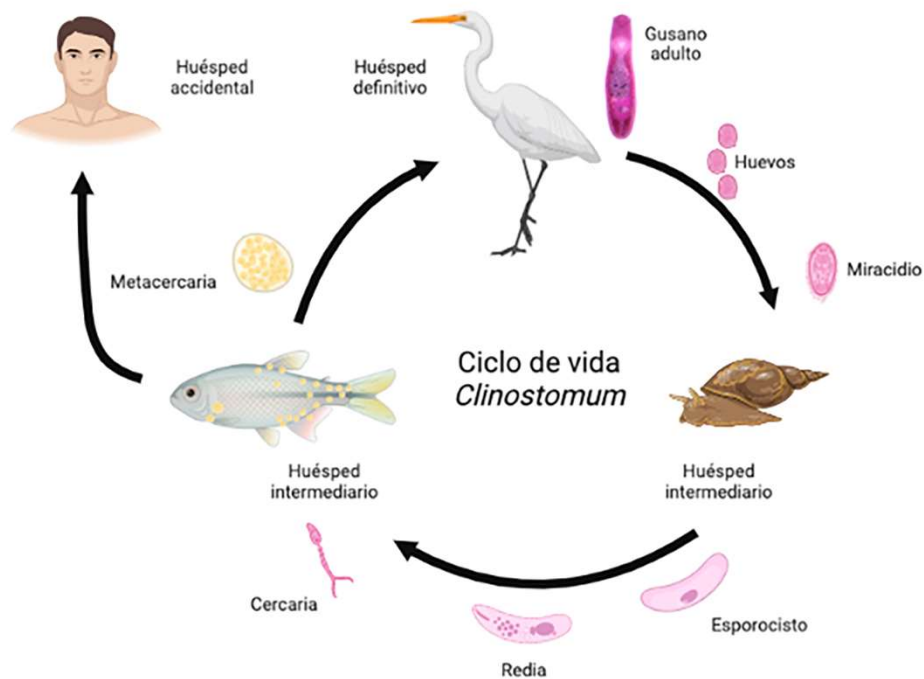


Figura 1. Ciclo de vida de *Clinostomum* spp. Primer huésped intermediario (caracoles), segundo huésped intermediario (peces) y huésped definitivo (aves).

donde reside en la etapa larval denominada metacercaria, la cual se encuentra enquistada, causando manchas de color amarillo en diferentes órganos como músculo, cavidad oral, ojos, branquias, tejido subcutáneo, gónadas, intestino, hígado, entre otros órganos. Las infecciones masivas de estos parásitos pueden causar deformaciones en la piel, provocando la pérdida de vigor, apetito, inmovilidad y nado errático (Figura 2) (Lo *et al.*, 1985; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007, 2016; Sereno-Urbe *et al.*, 2018; Caffara *et al.*, 2020).

Algunas especies del género *Clinostomum* pueden parasitar al humano y son responsables del síndrome de Halzoun, un raro padecimiento transmitido por consumir pescado crudo infectado con metacercarias (Lee *et al.*, 2017), causando laringofaringitis; se han reportado casos en países como Corea y Japón donde se consume pescado crudo (Hara *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2018) (Figura 2). En México no se han reportado casos de clinostomiasis humana; no obstante, Garrido-Olvera *et al.* (2022) han señalado que la clinostomiasis en México es latente y para prevenirla se recomienda evitar el consumo de pescado crudo y fresco. Cabe señalar que en México se ha registrado la metacercaria de *Clinostomum* en 27 especies de peces de las familias Cichlidae, Eleotridae, Poeciliidae, Characidae, Ictaluridae, Pimelodidae, Centropomidae,

Goodeidae y Cyprinidae, algunas de ellas de importancia económica (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2016). Las diferentes especies de *Clinostomum* han sido registradas globalmente y han sido sujetos a numerosos estudios relacionados con su ecología, asociación huésped-parásito, patogenicidad, taxonomía y sistemática (Caffara *et al.*, 2014; Pinto *et al.*, 2015; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2016; Sereno-Urbe *et al.*, 2013, 2016; Briosio-Aguilar *et al.*, 2018).

Tradicionalmente, la identificación taxonómica de las especies en digéneos, incluyendo las especies del género *Clinostomum*, se ha basado principalmente en los rasgos morfológicos de los adultos. Sin embargo, la incertidumbre sobre la validez de los caracteres morfológicos, la plasticidad fenotípica definida como expresión morfológica inducida por el ambiente —en este caso por el huésped—, así como la limitación de los caracteres morfológicos que permitan asociar los distintos estadios larvarios con el estadio adulto y la similitud morfológica entre especies estrechamente relacionadas, son factores que han generado controversias y dificultan la determinación taxonómica de las especies (Nolan y Cribb, 2005).

Los problemas de diagnóstico y reconocimiento de la biodiversidad de las especies pueden abordarse con la

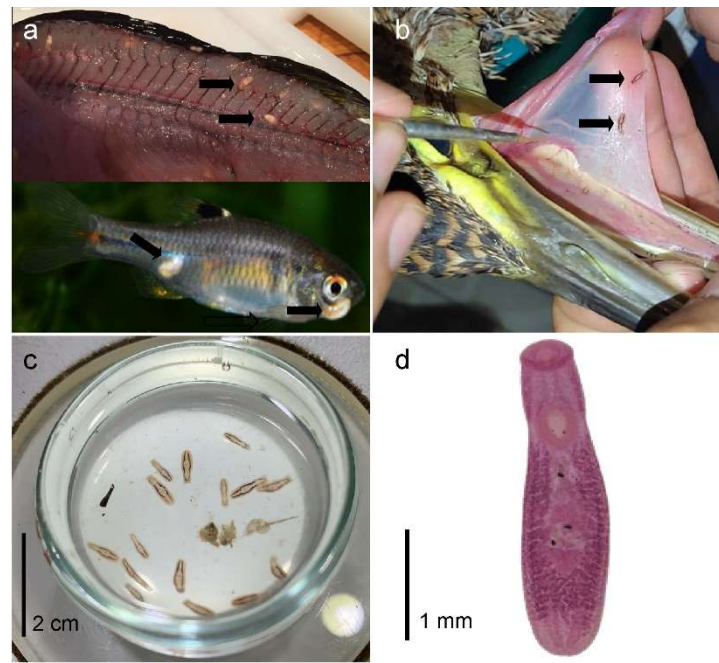


Figura 2. a) Metacercaria de *Clinostomum* spp., en peces (Foto modificada de <https://www.naturalista.mx>); b) Especímenes adultos de *Clinostomum* spp., parasitando la cavidad bucal de un ave ictiófaga; c) Especímenes adultos de *Clinostomum* spp., recolectados de una garza; d) Parásito adulto teñido con Paracarmín de Meyer. Flechas indican la fase larval (metacercaria) y adulto en figura 2a y 2b, respectivamente.

ayuda de herramientas alternativas como los marcadores moleculares, los cuales se definen como cualquier secuencia de ADN que presenta un polimorfismo y que puede detectarse mediante técnicas de biología molecular. Los marcadores moleculares ofrecen varias ventajas que se enumeran a continuación: 1) Diferentes regiones del genoma pueden ser usadas para identificar a las poblaciones, especies, géneros, etc.; 2) La generación de secuencias de ADN es relativamente rápida; 3) El número de sitios variables de la secuencia de ADN que se analizan es mucho mayor que el de los caracteres morfológicos; y 4) La variación en las secuencias de ADN no está influenciada por el fenotipo ni por el ambiente (Nolan y Cribb, 2005). No obstante, los datos moleculares pueden plantear retos metodológicos como el aislamiento del ADN, o el diseño de *primers* (oligonucleótidos específicos de una región del ADN) universales para la amplificación de regiones de interés (Perkins *et al.*, 2011).

Particularmente uno de los marcadores moleculares empleados para delimitar a las especies de parásitos son los del ADN mitocondrial (DNAm_t por sus siglas en inglés), el cual tiene una tasa de mutación alta, nula recombinación genética y se hereda vía materna (Avise, 2000). En especial, el gen citocromo oxidasa subunidad I (COI) del DNAm_t, ha venido ganando

adeptos debido a que es un gen que permite diferenciar poblaciones y delimitar especies de parásitos. El aumento reciente en la generación de información molecular ha permitido combinar marcadores moleculares con el propósito de identificar, delimitar y entender la evolución de las especies de parásitos (Avise, 2000; Moszczyńska *et al.*, 2009; Locke *et al.*, 2010; Cafara *et al.*, 2011, 2014).

En este sentido, en la presente investigación recopilamos información molecular de las especies disponibles del género *Clinostomum* con el fin de evaluar los siguientes puntos: 1) La sistemática de las especies; 2) Comprender los patrones de distribución; y 3) Reconocer las asociaciones ecológicas entre los parásitos y sus huéspedes intermediarios (peces dulceacuícolas) y definitivos (aves acuáticas de la familia Ardeidae), con un especial énfasis en las especies distribuidas en México. Para ello, obtuvimos secuencias del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI) del ADN mitocondrial disponibles en la base de datos del GenBank. La base de datos del COI incluyó secuencias de 19 especies del género *Clinostomum*, más cinco linajes (grupos ancestro-descendientes) sin identificar o especies candidatas, distribuidas en varios continentes: América, Europa, Asia y África.

Dada la gran diversidad de las especies evaluadas (19 especies, más cinco linajes), esperamos recuperar 24 linajes independientes, a la vez que, con base en la filogenia derivada, también esperamos reconocer especies hermanas en la misma región biogeográfica. Finalmente, la evidencia actual sugiere que las especies de *Clinostomum* presentan una afinidad con sus huéspedes, por lo tanto, en este análisis se espera validar estas asociaciones ecológicas.

Metodología

Un total de 394 secuencias del gen citocromo oxidasa subunidad I (COI) fueron obtenidas de la base de datos del GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Cuadro 1). Posteriormente, se realizó la reconstrucción filogenética con las secuencias del ADN mitocondrial (COI) de las especies de *Clinostomum* utilizando dos aproximaciones estadísticas: Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Para realizar dichos análisis

Cuadro 1
Especies utilizadas en la presente investigación. Huésped= Ave (A); Caracol (C); Pez (P); Rana (R).
Estadio= Adulto (A); Metacercaria (larva) (M); Cercaria (larva) (C).

Especie	Secuencias utilizadas	Familia del Huésped	Estadio	Distribución
<i>Euclinostomum</i> sp.	3	Osphronemidae (P)	M	Asia (Tailandia)
<i>Clinostomum album</i>	4	Cyprinidae (P); Planorbidae (C)	M, C	Norteamérica (EUA)
<i>C. arquus</i>	29	Ardeidae (A); Profundulidae (P); Poeciliidae (P)	A; M	Norteamérica (México)
<i>C. attenuatum</i>	2	Ranidae (R)	M	Norteamérica (EUA)
<i>C. brienii</i>	4	Clariidae (P)	M	África (Sudáfrica)
<i>C. caffarae</i>	10	Ardeidae (A); Characidae (P)	A; M	Norteamérica (México)
<i>C. cichlidorum</i>	96	Ardeidae (A); Cichlidae (P)	A; M	Norteamérica (México) Centroamérica (Costa Rica)
<i>C. cocoii</i>	1	Ardeidae (A)	A	Sudamérica (Argentina)
<i>C. complanatum</i>	8	Centrarchidae (P)	M	Europa (Italia)
<i>C. cutaneum</i>	2	Ardeidae (A); Cichlidae (P)	M	África (Kenia)
<i>C. detruncatum</i>	3	Synbranchidae (P)	M	Sudamérica (Brasil)
<i>C. fergallarii</i>	2	Ardeidae (A)	A	Sudamérica (Argentina)
<i>C. heluans</i>	4	Ardeidae (A)	A; M	América (Argentina, Brasil y México)
<i>C. cf. marginatum</i>	1	Percidae (P)	M	Norteamérica (EUA)
<i>C. marginatum</i>	38	Ardeidae (A)	A	Norteamérica (Canadá y EUA)
<i>C. marginatum</i>	17	Goodeidae, Cyprinidae, Catostomidae (P)	M	Norteamérica (México)
<i>C. phalacrocoracis</i>	8	Cichlidae (P)	M	Asia (Israel)
<i>C. philippinense</i>	1	Osphronemidae (P)	M	Asia (Tailandia)
<i>C. poteae</i>	3	Phalacrocoracidae (A)	A	Norteamérica (EUA)
<i>C. sinensis</i>	9	Cyprinidae	M	Asia (China)
<i>C. tataxumui</i>	80	Ardeidae (A); Cichlidae (P), Eleotridae (P)	A; M	Norteamérica (México)
<i>C. ukolli</i>	5	Mochokidae (P)	M	África (Nigeria)
<i>Clinostomum</i> sp. (Linaje 1)	4	Heptapteridae (P)	M	Norteamérica (México) Centroamérica (Honduras)
<i>Clinostomum</i> sp. (Linaje 3)	47	Ardeidae (A); Cichlidae (P), Eleotridae (P)	A; M	Norteamérica (México) Centroamérica (Costa Rica)
<i>Clinostomum</i> sp. 5	3	Cichlidae (P)	M	Sudamérica (Bolivia)
<i>Clinostomum</i> sp. 4	1	Cichlidae (P)	M	Sudamérica (Perú)
<i>Clinostomum</i> sp.	6	Planorbidae (C)	C	Sudamérica (Brasil)

sis, las secuencias del COI fueron alineadas con el programa Clustal W (Kumar *et al.*, 2016), el alineamiento que se conformó con un total de 394 secuencias y 474 pares de bases (pb). El mejor modelo de evolución para la base de datos del COI fue General Time Reversible (GTR+G+I), con una distribución gamma y sitios variables, el cual fue inferido con el Criterio de Información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés) (Kumar *et al.*, 2016). Los análisis filogenéticos fueron inferidos con el método de Máxima Verosimilitud (ML, por sus siglas en inglés) con el programa RAxML v7.0.4 (Silvestro y Michalak, 2011) y con el método de Inferencia Bayesiana (BI, por sus siglas en inglés) en el programa MrBayes v3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), empleando el modelo de evolución obtenido con el criterio de AIC. Los parámetros utilizados en el análisis de Inferencia Bayesiana fueron dos corridas independientes con cuatro cadenas de cinco millones de generaciones muestreadas cada 1 000 generaciones. La probabilidad posterior de cada clado fue obtenida con el 50 % de la mayoría del árbol consenso. Mientras que, para el método de ML, los nodos de los árboles fueron soportados estadísticamente con 10 000 réplicas de bootstrap.

Resultados

En la presente investigación recopilamos información disponible en la base de datos del GenBank de las especies del género *Clinostomum*, con un especial énfasis en la biodiversidad de México y en países de Centroamérica (Sereno-Urbe *et al.*, 2013, 2018; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2016; Briosio-Aguilar *et al.*, 2018). De la información recopilada se obtuvieron 269 secuencias del gen mitocondrial (COI) de 19 especies del género *Clinostomum* asociados a huéspedes definitivos (aves acuáticas de la familia Ardeidae) e intermediarios (peces no relacionados de las familias Catostomidae, Cyprinidae, Goodeidae, Cichlidae, Eleotridae, Pimelodidae, Characidae, Profundulidae y Poeciliidae) de 51 localidades de la región neártica y neotropical de México y de dos países de Centroamérica (Honduras y Costa Rica) (Cuadro 1) (Figura 3).

Los análisis filogenéticos inferidos con los métodos probabilísticos de ML y BI, fueron congruentes con filogenias previamente propuestas con el gen COI (ver Pérez-Ponce de León *et al.*, 2016); se reconocieron 26 clados que corresponden con las especies analizadas globalmente. Particularmente en México, Honduras y

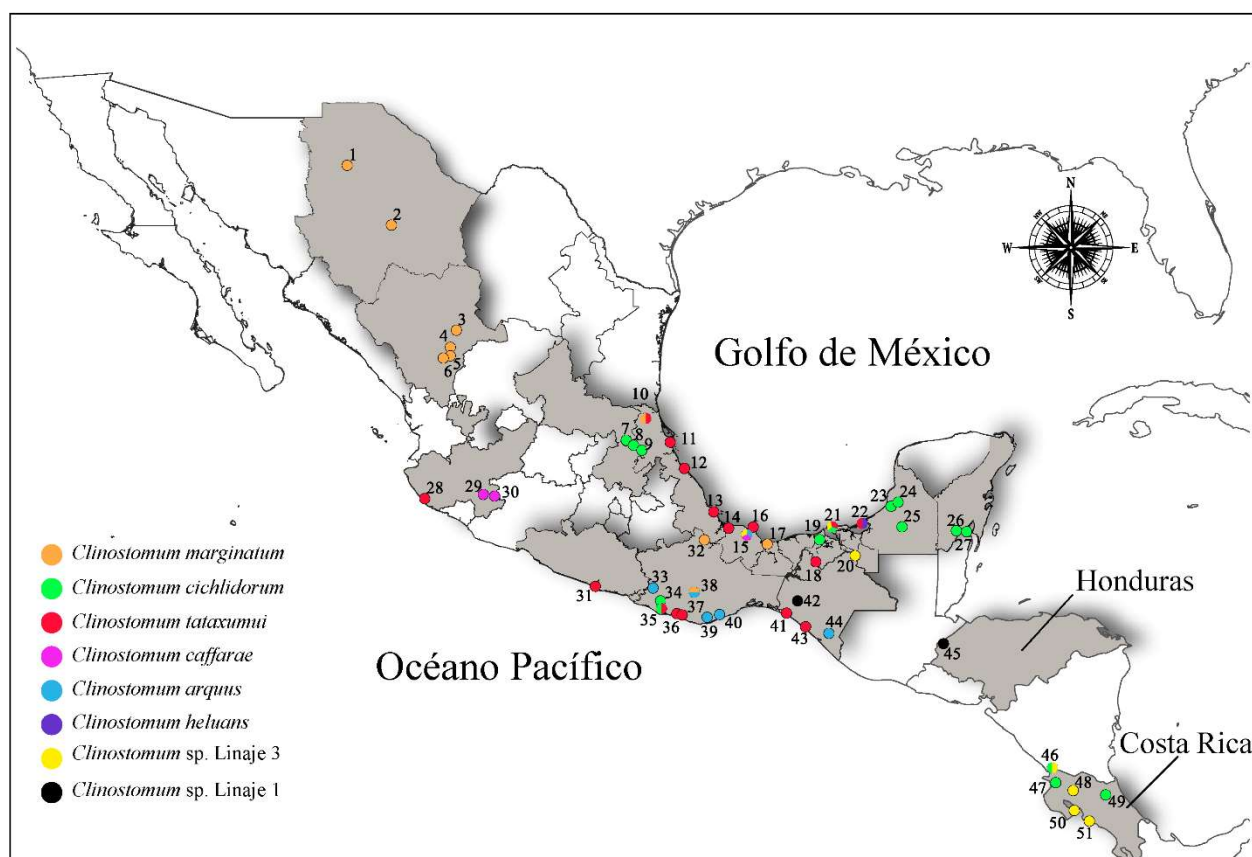


Figura 3. Mapa de la distribución de las especies y linajes de *Clinostomum* spp. en México y Centroamérica.



Figura 4. Fotos de microscopía de luz de *Clinostomum* spp.: a) *Clinostomum heluans*; b) *Clinostomum arquus*; c) *Clinostomum cichlidorum*; d) *Clinostomum intermedialis*; e) *Clinostomum tataxumui*; f) *Clinostomum caffarae*; g) *Clinostomum marginatum*; h) *Clinostomum* sp. Linaje 1; i) *Clinostomum* sp. Linaje 3. Escala, a= 2 mm, b–i = 1 mm.

Costa Rica, se reconocieron ocho clados o grupos independientes que corresponde a seis especies previamente descritas tales como: *C. tataxumui*, *C. heluans*, *C. cichlidorum*, *C. arquus*, *C. caffarae* y *C. marginatum*, más dos especies no descritas *Clinostomum* sp. (Linaje 1 y 3) (Figuras 4 y 5).

Las especies registradas en México y Centroamérica se encuentran distribuidas simpátricamente, es decir, se distribuyen en la misma región biogeográfica. La especie *C. tataxumui* cuenta con un amplio rango de distribución debido a que se ha registrado en 16 localidades (10-14, 16, 18, 21, 22, 28, 31, 35, 36, 41 y 43. Ver Figura 3) en siete estados de la República mexicana asociados a peces de la familia Cichlidae, Eleotridae y a tres especies de aves de la familia Ardeidae (*Ardea alba*, *A. herodias* y *Tigrisoma mexicanum*). Por su parte, la especie *C. marginatum* se ha registrado frecuentemente en la región neártica (Sereno-Urbe *et al.*, 2013); en este trabajo, fue registrada en seis localidades (localidades 1-6 ver Figura 3) del norte de México, en los estados de Chihuahua y Durango que corresponde a la región neártica, así como en una localidad de Veracruz y en dos presas del estado de Oaxaca pertenecientes a la región neotropical (localidades 10, 32 y 38 respectivamente en Figura 3).

Asimismo, se confirmó la especificidad entre los parásitos y sus huéspedes del género *Clinostomum*, por ejemplo, la metacercaria o fase larval de *C. cichlidorum*, es específica a peces de la familia Cichlidae, mientras que los adultos se han registrado en tres especies de aves de la familia Ardeidae (*A. alba*, *T. mexicanum* y *Cochlearius cochlearius*) en 14 localidades de

México (en los estados de San Luis Potosí, Hidalgo, Tabasco, Campeche, Quintana Roo y Oaxaca, localidades 7-9, 19, 21, 23-27, 34 y 35 en Figura 3) y en tres localidades de Costa Rica (46, 47 y 49 en Figura 3). Las especies como *C. caffarae* y *C. arquus* también muestran cierto patrón de especificidad en su fase larval o metacercaria, por ejemplo, *C. caffarae* se ha encontrado en peces de la familia Characidae en dos localidades del estado de Jalisco (localidades 29 y 30 en Figura 3), mientras que la metacercaria de la especie *C. arquus* ha sido registrada en peces de las familias Profundulidae y Poeciliidae (localidades 33, 38, 39, 40 y 44 en Figura 3). El adulto de la especie *C. heluans* fue registrado en una sola localidad del estado de Campeche en aves de la familia Ardeidae (localidad 22 en Figura 3), mientras que la metacercaria fue registrada en Brasil y Argentina asociada a peces de la familia Cichlidae.

Por otra parte, las dos especies candidatas o linajes 1 y 3, no se han reconocido debido a la falta de especímenes adultos para su caracterización morfológica. Por ejemplo, el linaje 3, se ha registrado en los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche, en México, mientras que en Costa Rica (localidades 15, 20, 23, 46, 48, 50 y 51 en Figura 3) las metacercarias se han registrado en peces de la familia Eleotridae y Heptapteridae, en tanto que los adultos se han registrado en dos especies de aves de la familia Ardeidae (*A. herodias* y *T. mexicanum*, localidad 20 en Figura 3). Finalmente, el linaje 1 fue registrado en estadio larval asociado a peces de la familia Heptapteridae en México y Honduras (localidades 42 y 45 en Figura 3).

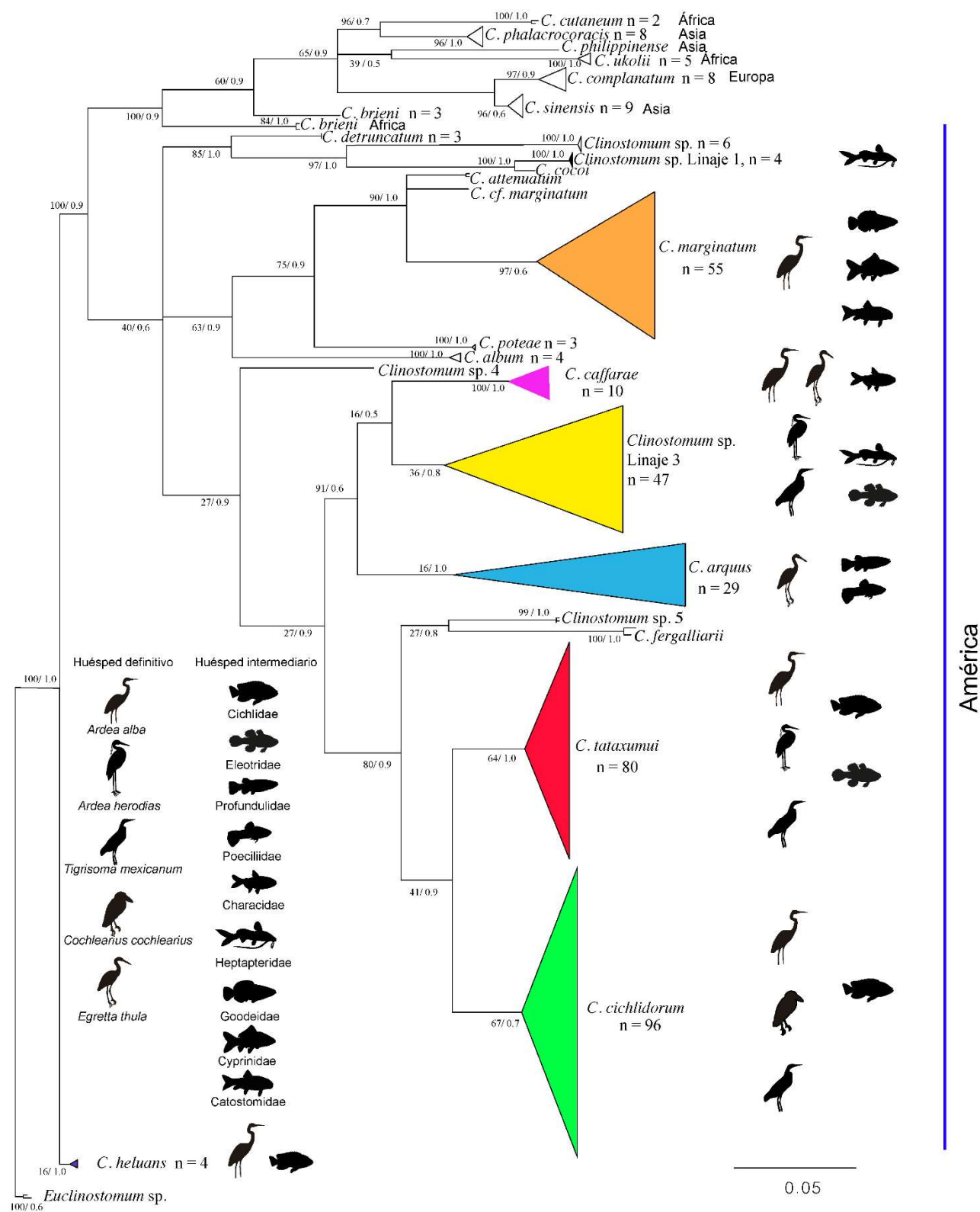


Figura 5. Árbol filogenético obtenido con el método de máxima verosimilitud, inferido a partir de la base de datos del citocromo oxidasa subunidad I de ADN mitocondrial. Números en los nodos representan los valores de bootstrap y probabilidades posteriores del análisis bayesiano.

Discusión

Los análisis filogenéticos obtenidos en este trabajo reconocieron 26 linajes, dos linajes más de los esperados, a la vez que se reconocieron a las 19 especies analizadas y las cinco especies sin describir. No obstante, algunas secuencias identificadas como *C. brieni* y *C. marginatum*, de África y Asia respectivamente, se dividieron en dos linajes cada uno, sugiriendo que estas secuencias deben ser reclasificadas (Figura 5). Uno de los resultados que se observan en la filogenia, fue la división de dos grandes clados: el primero contiene siete especies distribuidas en África, Asia y Europa, mientras que el segundo contiene 11 especies más las cinco especies sin describir distribuidas a lo largo del continente americano. Es de llamar la atención que, aunque la especie *C. heluans* se distribuye en América, en la filogenia no se agrupa con los otros 16 linajes presentes en este continente (Figura 5). La posición filogenética de esta especie sugiere que debería ser reevaluada y posiblemente reclasificada en otro género.

En México, el primer registro del adulto de *Clinostomum*, fue *C. complanatum* en la cavidad bucal de la garcita verde (*Butorides virescens*) en el estado de Chiapas, mientras que la fase larvaria fue registrada en 69 especies de peces (Caballero, 1946; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007, 2016). Posteriormente, Caffara *et al.* (2011) realizaron un estudio comparativo en donde concluyeron que *C. complanatum* es una especie restringida al Viejo Mundo, reasignando los registros previos de *C. complanatum* a *C. marginatum* en América (Estados Unidos y Canadá). En México, Sereno-Uribe *et al.* (2013) encontraron este mismo patrón y reasignaron varios individuos clasificados como *C. complanatum* a *C. marginatum*; además, confirmaron que *C. marginatum* se distribuye principalmente en la región neártica y en algunas localidades de la región neotropical en México y, finalmente, describieron una nueva especie nombrándola *C. tataxumui*. En el presente análisis filogenético, recuperamos estas tres especies validando los trabajos previos (Figura 5).

Recientemente, Pérez-Ponce de León *et al.* (2016) realizaron un estudio donde se incluyeron fases larvares y adultos de *Clinostomum* colectadas en peces y aves de 26 localidades de México, Honduras y Costa Rica. El estudio reveló una gran biodiversidad dentro del género en la región neotropical, reconociendo

cinco linajes. Posteriormente, tres de ellas fueron descritas como *C. cichlidorum*, *C. arquus* y *C. caffarae*, dejando dos especies sin describir debido a la falta de especímenes adultos (Sereno-Uribe *et al.*, 2018). El árbol filogenético obtenido en el presente estudio apoya lo reportado previamente, en donde se recuperó a las tres especies y a los dos linajes sin describir (Linaje 1 y 3).

Actualmente el género *Clinostomum* está compuesto por 31 especies distribuidas en todo el mundo, en México y Centroamérica se han reconocido siete especies de *Clinostomum*, *C. tataxumui*, *C. heluans*, *C. cichlidorum*, *C. arquus*, *C. caffarae*, *C. marginatum* y *C. intermedialis* (solo con caracteres morfológicos), por lo que esta región alberga el 22 % de la biodiversidad del género (Figura 4) (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2007, 2016; Sereno-Uribe *et al.*, 2013, 2018; Briosio-Aguilar *et al.*, 2018). Sin embargo, se reconoce que existen otros dos linajes en esta región (1 y 3), los cuales no han sido nombrados formalmente hasta que se obtengan los adultos para realizar la descripción morfológica.

La evidencia actual sugiere que las especies del género *Clinostomum* presentan una estrecha relación ecológica con aves de la familia Ardeidae, debido a que nueve especies y el linaje 3 se recolectaron de estas aves, solamente *C. potae* fue recolectada del pato buzo (Phalacrocoracidae) (Cuadro 1). Además, las metacercarias (fase larval) muestran cierto patrón de especificidad, por ejemplo, las metacercarias de *C. cichlidorum* se encuentran solamente en peces de la familia Cichlidae, mientras que las metacercarias de *C. arquus* se hallan en peces ciprinodontiformes, particularmente en poeciliidos y profundulidos (Figura 5). Este patrón de especificidad a nivel del segundo huésped intermediario ha sido encontrado en otros grupos de parásitos, por ejemplo, López-Jiménez *et al.* (2017) encontraron la presencia de tres linajes del género *Uvulifer* asociadas a peces de las familias Characidae, Cyprinidae, y Poeciliidae respectivamente, distribuidas en México y Centroamérica.

Finalmente, hay que mencionar que las metacercarias de *Clinostomum* forman quistes de color amarillo en diferentes partes del cuerpo en peces cultivados, lo que causa pérdidas económicas (Lo *et al.*, 1985; Sutili *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2018). En México, se cultivan peces para consumo humano, como lobina, tilapia, bagre, entre otros (Instituto Nacional de



Pesca, 2018). Hasta la fecha, no se han documentado epizootias severas en estos peces; sin embargo, son potenciales huéspedes del género *Clinostomum*, por lo tanto, conocer la biología, taxonomía, sistemática y ciclo de vida de estos parásitos, es preponderante para crear estrategias de prevención, erradicación, control y para poder reducir el impacto negativo que podrían ocasionar a las granjas acuícolas que cultivan peces de consumo humano.

Agradecimientos

Los autores ALJ y MTGG agradecen el apoyo del Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM y CONACYT (ALJ. CVU. No. 706119; MTGG CVU No. 956064).

El actual proyecto de investigación recibió financiamiento por parte del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM) IN201122.

Referencias

- Awise, J.C., 2000, *Phylogeography: The history and formation of species: Harvard University Press, Cambridge, MA, USA*, p. 228.
- Briosio-Aguilar, R., Pinto, H.A., Rodríguez-Santiago, M.A., López-García, K., García-Varela, M., and Pérez Ponce de León, G., 2018, Link Between the adult and the metacercaria of *Clinostomum heluans* Braun, 1899 (Trematoda: Clinostomidae) through DNA sequences, and its phylogenetic position within the Genus *Clinostomum* Leidy, 1856: *Journal of Parasitology*, 104, 292-296. ISSN: 1937-2345. DOI: 10.1645/17-183.
- Caballero, E.C., 1946, Estudios helmintológicos de la región oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Trematoda II. Presencia de *Paragonimus* en reservorios naturales y descripción de un nuevo género: *Anales del Instituto de Biología*, 17, 138-165.
- Caffara, M., Locke, S.A., Gustinelli, A., Marcogliese, D.J., and Fioravanti, M.L., 2011, Morphological and molecular differentiation of *Clinostomum complanatum* and *Clinostomum marginatum* (Digenea: Clinostomatidae) metacercariae and adults: *Journal of Parasitology*, 97, 884-891. ISSN: 1937-2345. DOI: 10.1645/GE-2781.1.
- Caffara, M., Davidovich, N., Falk, R., Smirnov, M., Ofek, T., Cummings, D., Gustinelli, A., and Fioravanti, M.L., 2014, Redescription of *Clinostomum phalacrocoracis* metacercariae (Digenea: Clinostomidae) in cichlids from Lake Kinneret, Israel: *Parasite*, 21, 32. ISSN: 1776-1042. DOI: 10.1051/parasite/2014034.
- Caffara, M., Locke, S.A., Echi, P.C., Halajian, A., Luus-Powell, W.J., Benini, D., Tedesco, P., and Fioravanti, M.L., 2020, A new species of *Clinostomum* Leidy, 1856 based on molecular and morphological analysis of metacercariae from African siluriform fishes: *Parasitology Research*, 119, 885-892. ISSN 0031-1820. DOI: 10.1007/s00436-019-06586-2.
- Cribb, T.H., Bray, R.A., Littlewood, D.T.J., Pichelin, S., and Herniou, E.A., 2001, "The Digenea", in *Interrelationships of the Platyhelminthes*, London, Taylor and Francis, pp. 168-185. ISBN: 9780367397852.
- Garrido-Olvera, L., García-Prieto, L., Osorio-Sarabia, D., Sánchez-Martínez, J.G., Rábago-Castro, J.L., Hernández-Mena, D.I., and Pérez-Ponce de León, G., 2022, Parasites with zoonotic potential found in commercially important fish in Tamaulipas, Northeastern Mexico: *Parasitology International*, 88. ISSN: 1383-5769. DOI: 10.1016/j.parint.2022.102550.
- Hara, H., Miyauchi, Y., Tahara, S., and Yamashita, H., 2014, Human laryngitis caused by *Clinostomum complanatum*: *Nagoya Journal of Medicine Sciences*, 76, 181-185. ISSN: 2186-3326.
- Kanev, I., Radev, V., and Fried, B., 2002, Family Clinostomidae Lühe, 1901: *Keys to the Trematoda*, vol. I, CAB International, Wallingford, United Kingdom, pp. 113-120. <https://doi.org/10.1079/9780851995472.0113>
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K., 2016, MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets: *Molecular Biology and Evolution*, 33, 1870-1874. ISSN: 1537-1719. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- Lee, G.S., Park, S.W., Kim, J., Seo, K.S., You, K.W., Chung, J.H., Moon, H.C., and Hong, G.Y., 2017, A case of endoscopically treated laryngopharyngitis resulting from *Clinostomum complanatum* infection: *Korean Journal of Gastroenterology*, 69, 177-180. ISSN: 2233-6869.
- Lo, C.F., Chen, S.C., and Wang, C.H., 1985, The study of *Clinostomum complanatum* (Rud., 1814) V. The influences of metacercaria of *Clinostomum complanatum* on fish: *Fish Pathology*, 20, 305-312. ISSN: 1881-7335.
- Locke, S.A., McLaughlin, J.D., Dayanandan, S., and Marcogliese, D.J., 2010, Diversity and specificity in *Diplostomum* spp. Metacercariae in freshwater fishes revealed by cytochrome c oxidase I and internal transcribed spacer sequences: *International Journal for Parasitology*,

- 40, 333-343. ISSN: 0020-7519. DOI: 10.1016/j.ijpara.2009.08.12.
- López-Jiménez, A., Pérez-Ponce de León, G., and García-Varela, M., 2017, Molecular data reveal high diversity of *Uvulifer* (Trematoda: Diplostomidae) in Middle America, with the description of a new species: *Journal of Helminthology*, 92, 725-739. ISSN: 0022-149X. DOI: 10.1017/S0022149X17000888.
- Moszczyńska, A., Locke, S.A., McLaughlin, J.D., Marcolli, D.J., and Crease, T.J., 2009, Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths: *Molecular Ecology Resource*, 9, 75-82. ISSN: 1755-0998. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02634.x.
- Nolan, M.J., and Cribb, T.H., 2005, The use and implications of ribosomal DNA sequencing for the discrimination of digenetic species: *Advances Parasitology*, 60, 101-163. ISSN: 0065308X.
- Perkins, S.L., Martinsen, E.S., and Falk, B.G., 2011, Do molecules matter more than morphology? Promises and pitfalls in parasites: *Parasitology*, 138, 1664-1674. ISSN: 1469-8161. DOI: 10.1017/S0031182011000679.
- Pérez-Ponce de León, G., García-Prieto, L., and Mendoza-Garfias, B., 2007, Trematode parasites (Platyhelminthes) of wildlife vertebrates in Mexico: *Zootaxa*, 1534, 247-260. ISSN: 1175-5326.
- Pérez-Ponce de León, G., García-Varela, M., Pinacho-Pinacho, C.D., Sereno-Urbe, A.L., and Poulin, R., 2016, Species delimitation in trematodes using DNA sequences: Middle-American *Clinostomum* as a case study: *Parasitology*, 30, 1-17. ISSN: 1469-8161. DOI: 10.1017/S0031182016001517.
- Pinto, H.A., Caffara, M., Fioravanti, M.L., and Melo, A.L., 2015, Experimental and molecular study of cercariae of *Clinostomum* sp. (Trematoda: Clinostomidae) from *Biomphalaria* spp. (Mollusca: Planorbidae) in Brazil: *Journal of Parasitology*, 101, 108-113. ISSN: 1937-2345. DOI: 10.1645/14-497.1.
- Poulin, R., 1997, *Evolutionary Ecology of Parasites*: Princeton, New Jersey, Princeton University Press. ISBN 13-978-0-691-12085-0. DOI: 10.1017/S0031182007003113.
- Poulin, R., and Morand, S., 2000, The diversity of parasites: *Quarterly Review Biology*, 75, 277-293. ISSN: 0033-5770. DOI: 10.1086/393500. PMID: 11008700.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., and Huelsenbeck, J.P., 2012, MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space: *Systematic Biology*, 61, 539-542. ISSN: 1063-5157. DOI: 10.1093/sysbio/sys029.
- Sereno-Urbe, A.L., Pinacho-Pinacho, C.D., García-Varela, M., and Pérez-Ponce de León, G., 2013, Using mitochondrial and ribosomal DNA sequences to test the taxonomic validity of *Clinostomum complanatum* Rudolphi, 1814 in fish-eating birds and freshwater fishes in Mexico, with the description of a new species: *Parasitology Research*, 112, 2855-2870. ISSN: 1432-1955. DOI: 10.1007/s00436-013-3457-5.
- Sereno-Urbe, A.L., García-Varela, M., Pinacho-Pinacho, C.D., and Pérez-Ponce de León, G., 2018, Three new species of *Clinostomum* Leidy, 1856 (Trematoda) from Middle American fish-eating birds: *Parasitology Research*, 177, 2171-2185. ISSN: 1432-1955. DOI: 10.1007/s00436-018-5905-8.
- Silvestro, D., and Michalak, I., 2011, RaxmlGUI: a graphical front-end for RAxML: *Organisms Diversity and Evolution*, 12, 335-337. ISSN: 1439-6092. DOI: 10.1007/s13127-011-0056-0.
- Sutili, F.F., Gressler, L.T., and Vilani de Pelegrini, L.F., 2014, *Clinostomum complanatum* (Trematoda, Digenea): a parasite of birds and fishes with zoonotic potential in southern Brazil: *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 8, 99-114. ISSN: 191-2965. DOI: 10.5935/1981-2965.20140007.
- Song, H.B., Choi, M.H., and Chung, E.J., 2018, Human laryngeal infection by *Clinostomum complanatum*: *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, 7-8. ISSN: 0002-9637. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0718.
- Timi, J.T., and Poulin, R., 2020, Why ignoring parasites in fish ecology is a mistake: *International Journal for Parasitology*, 50, 755-761. ISSN: 0020-7519. DOI: 10.1016/j.ijpara.2020.04.007.
- Wang, M.L., Chen, H.Y., and Shih, H.H., 2017, Occurrence distribution of yellow grub trematodes (*Clinostomum complanatum*) infection in Taiwan: *Parasitology Research*, 116, 1761-1771. ISSN: 1432-1955. DOI: 10.1007/s00436-017-5457-3.