

00387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

“SISTEMÁTICA DEL GÉNERO *Glyphelmins*
STAFFORD 1905 (PLATYHELMINTHES: DIGENEA)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A :

ULISES JESUS RAZO MENDIVIL

DIRECTOR DE TESIS: DR. GERARDO PEREZ PONCE DE LEON

MEXICO, D.F.

JUNIO 2004

**TESIS CON
LA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES Y ENSEÑANZA DE QUÍMICA
MÉXICO, D.F.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

FIRMA:

FECHA:

NOMBRE:
Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 16 de enero del 2004, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado del Doctorado en Ciencias del alumno(a) **Ulises Jesús Razo Mendivil**, con número de cuenta 89243330 y número de expediente 3991183, con la tesis titulada: **"Sistémica del género Glythelmins Stafford, 1905 (Platyhelminthes: Digenea)"**, bajo la dirección del (la) **Dr. Gerardo Pérez Ponce de León**.

Presidente: Dr. Rafael Lamothe Argumedo
Vocal: Dra. Virginia León Rêgagnon
Vocal: Dr. Juan Pedro Laclette San Román
Vocal: Dr. Juan José Morrone Lupi
Secretario: Dr. Gerardo Pérez Ponce de León
Suplente: Dr. Adrián Nieto Montes de Oca
Suplente: Dra. Gabriela Parra Olea



Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 06 de mayo de 2004

Dr. Juan J. Morrone Lupi
Coordinador del Programa

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Ulises Jesús Razo Mendivil
FECHA: 20-Mayo-2004
FIRMA:

c.c.p. Expediente del interesado

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor Hernández y a la Dra. Tila María Pérez (exdirector y actual directora del Instituto de Biología de la UNAM, respectivamente) por permitirme el uso de las instalaciones (Laboratorios, Sala de Cómputo, Aulas, Secuenciador Automático, Microscopio electrónico, etc.).

Al Dr. Fernando Álvarez y a la Dra. Patricia Escalante (ex-jefe y jefa del Departamento de Zoología, IBUNAM, respectivamente).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por otorgarme las becas durante el desarrollo de mis estudios de Doctorado.

Al Programa de Apoyo a Estudiantes de Posgrado (PAEP, Nos. 101329 y 201326) por el apoyo económico otorgado para el desarrollo de algunas actividades en mis estudios de Doctorado.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por el apoyo otorgado para la realización del presente estudio.

Al Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, director del presente trabajo, por confiar en mí para la realización del presente estudio. Le agradezco al DOC sus enseñanzas y la mayor parte de mi formación en el campo de la Sistemática y de la Parasitología. Asimismo, le agradezco por inculcarme el interés por la investigación y la difusión de la misma. Finalmente, le agradezco su disponibilidad en todo momento para resolver mis dudas, por el intercambio de ideas y por aprender juntos. **!!!DOC Mil gracias!!!**

Al Dr. Rafael Lamothe Argumedo por permitirme utilizar las instalaciones del laboratorio de Helminología, por formar parte del jurado y por los comentarios realizados al presente manuscrito. De manera particular, agradezco al **MAESTRO** Lamothe el hecho de que siempre me brindó el tiempo para resolver todas mis dudas acerca del mundo fascinante de los parásitos y por sus enseñanzas. **!!!Mil gracias!!!**

A la Dra. Virginia León Régagnon por ser parte del jurado, por tomarse el tiempo para revisar el presente trabajo y por sus comentarios acertados al mismo. Por haberme hecho participe del proyecto CONACYT (J27985-N). Por permitirme el uso de las instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular 3. Asimismo, agradezco a la Dra. León sus consejos, comentarios y enseñanzas acerca de la Sistemática Molecular y de los Digéneos.

Al Dr. Juan Pedro Laclette San Román por formar parte del comité tutorial y del jurado del presente trabajo. Gracias por sus comentarios y correcciones hechas durante el desarrollo del proyecto y del manuscrito.

Al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca por formar parte del comité tutorial y del jurado del presente manuscrito. Gracias por sus acertados comentarios y correcciones hechas durante el desarrollo del proyecto y del presente trabajo.

Al Dr. Juan José Morrone Lupi por formar parte del jurado y por los comentarios hechos al presente manuscrito.

A la Dra. Gabriela Parra Olea por formar parte del jurado, por enriquecer el presente manuscrito con sus comentarios y correcciones al mismo.

Al Dr. Scott Gardner por las facilidades prestadas durante mi estancia en el Harold W. Manter Laboratory, Universidad de Nebraska, Lincoln, Nebraska.

Al M. en C. Luis García Prieto por el préstamo de ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* depositadas en la Colección Nacional de Helminología (CNHE), México, D. F.

Al Dr. Scott Gardner y Skip Sterner por el préstamo de ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* depositadas en el Harold W. Manter Laboratory (HWML), Universidad de Nebraska, Lincoln, Nebraska.

Al Dr. Erick Hobert y a la Dra. Patricia Pillit por el préstamo de ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* depositados en la United State National Parasite Collection (USNPC), Beltsville, USA.

A la Dra. Dely Noroña por el préstamo de ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* depositados en la Colección Helmintológica del Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC), Rio de Janeiro, Brasil.

Al Dr. Daniel Brooks, Universidad de Toronto, Canadá, por el préstamo de ejemplares de varias especies del género *Glythelmins*.

A la Dra. Beatriz Rodríguez por el préstamo de ejemplares de *Glythelmins facioi* depositados en la Colección de Helmintos de Costa Rica.

Al Dr. Rodrigo Ponce de León por el préstamo de ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* depositados en la Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias (CHDZU), Montevideo, Uruguay.

Al Dr. Rodrigo Ponce de León por la donación de varios ejemplares de distintas especies de *Glythelmins* provenientes de Uruguay.

Al Dr. James Joys por la donación de ejemplares de la especie *Glythelmins pennsylvaniensis* recolectados en Pennsylvania, USA.

A los Drs. David E. Green y Anindo Choudhury por la donación de ejemplares de la especie *Glythelmins intestinalis* recolectados en Montana, USA.

Al M. en C. Luis García Prieto por su amabilidad y disposición en todo momento para el préstamo de literatura de la CNHE.

A la M. en C. Sara Fuentes S. y a la M. en C. Berenit Mendoza Garfias, Laboratorio de Microscopía Electrónica, por sus servicios prestados en el procesamiento de material y por la obtención de microfotografías de microscopía electrónica.

A la M. en C. Laura Márquez, Laboratorio de Biología Molecular (IBUNAM), por su apoyo desinteresado e incondicional en la secuenciación de distintas especies de *Glythelmins*.

Al Dr. Adrián Nieto Montes de Oca y al Biól. Edmundo Pérez por su ayuda en la identificación de las distintas especies de huéspedes analizadas en este estudio.

A Edmundo Pérez, Agustín Jiménez, Laura Paredes, Rosario Mata, Berenit Mendoza, Serapio López, Rogelio Rosas, Elizabeth Martínez, Elisa Cabrera, Florencia Bertoni, Lorena, Sergio Guillén por su ayuda en la recolecta de huéspedes y de helmintos.

Al Dr. Martín García Varela por su ayuda en los análisis de máxima verosimilitud, por su disponibilidad e interés durante el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Gabriela Parra Olea por su ayuda en el análisis del índice de Bremer.

A la Biól. Rosario Mata López por su ayuda en las pruebas de homogeneidad.

A Lilia Espinoza (Coordinación del Posgrado en Ciencias Biológicas) por su disponibilidad y amabilidad ante los trámites en el Posgrado.

A Rocio González (Auxiliar de Posgrado en Ciencias Biológicas, IBUNAM) por su ayuda en los trámites.

A Lulú y a Cristy (Secretarías de la Jefatura del Departamento de Zoología, IBUNAM) por su disponibilidad en todo momento.

A todos y a cada uno de los compañeros del Laboratorio de Helmintología: Agustín, Rosario, Rogelio, Lorena, Elisa, Florencia, Berenit, Alejandro, Luis Feranando, Tony, Luigy, Jorgito Falcón, Gina, Hugo, Elizabeth, Laura, David y Felipe.

A todos y cada uno de mis familiares que de una u otra manera siempre mostraron interés en mi desarrollo académico. **¡¡¡Mil gracias!!!**

A mis amigos Gerardo Pérez, Luis García, Martín García Varela, Rogelio Rosas, Elizabeth Martínez, Agustín Jiménez, Georgina Lira, Jorgito Falcón, Carmen Guzmán (Mely) y Berenit Mendoza por todos los momentos agradables en el campo, en el laboratorio, en el instituto y en todas partes. **¡¡¡Mil gracias!!!**

A Tania por todo su apoyo incondicional, amistad invaluable y amor insuperable. A ti Flaca que siempre me has impulsado y apoyado para seguir adelante y concluir este trabajo. Gracias por vivir conmigo todo el desarrollo del proyecto de Doctorado, que a veces imposible siempre aligeraste con tu apoyo. Gracias por entenderme en esos días de exámenes, de tutorales, de examen de candidatura, etc., etc., etc. Gran parte de esta tesis es tuya por el tiempo compartido. Gracias por formar parte de todos los proyectos mutuos. Gracias por alentarme y por resaltar mis virtudes y mis errores. Gracias por confiar en mí. Por todos y cada uno de los momentos vividos, buenos y malos, los cuales nos han hecho crecer como personas, como amigos, como pareja. **¡¡¡Mil gracias!!!**

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formarme como Biólogo y Doctor en Ciencias. **¡¡¡Mil gracias!!!**

A todas las personas que de alguna manera contribuyeron directa o indirectamente en la conclusión de este trabajo.

Al pueblo de México, ya que gracias a sus aportaciones (impuestos) he podido realizar mis estudios de Licenciatura y de Doctorado. **¡¡¡Mil gracias!!!**

Dedicatorias

A mis padres Lourdes Mendivil Vázquez y Jesús Razo Salinas por su amor, apoyo incondicional y por alentarme a seguir adelante ante las adversidades.

A mi abuela Raquel por su apoyo y amor.

A mi hermano Edgar Razo y a su pareja Maribel Montero por su apoyo incondicional y por el amor que les tengo.

A mis niñas preciosas: Melissa Michel y Marla Paulina por su luz, inocencia, por llenar mi vida y por el gran amor que les tengo. ¡Siempre están en mis pensamientos!

A Tania Sánchez por su amor, apoyo, amistad. Por ser parte de un proyecto de vida.

A mis familiares que siempre me han alentado y apoyado en cualquier situación.

Todos y cada uno de Uds. están siempre en mis pensamientos.

ÍNDICE TEMÁTICO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REVISIÓN HISTÓRICA.....	1
1.2. CARACTERES MOLECULARES.....	21
1.2.1. COMPLEJO RIBOSOMAL.....	21
1.2.2. GENES MITOCONDRIALES.....	23
2. ANTECEDENTES	25
2.1. ESPECIES DE <i>GLYPHELMINS</i> EN MÉXICO.....	25
3. OBJETIVOS	29
3.1.0. OBJETIVO GENERAL.....	29
3.1.1. OBJETIVOS PARTICULARES.....	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS	29
4.1. RECOLECTA DE HUÉSPEDES Y HELMINTOS.....	29
4.1.1. RECOLECTA DE HUÉSPEDES.....	29
4.1.2. ESPECIES DE HUÉSPEDES RECOLECTADOS.....	30
4.1.3. OBTENCIÓN DE LOS HELMINTOS.....	30
4.1.4. OBSERVACIONES IN VIVO.....	30
4.1.5. FIJACIÓN.....	31
4.2. PROCESAMIENTO DE LOS HELMINTOS.....	31
4.2.1. ESTUDIO MORFOLÓGICO.....	31
4.2.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	31
4.2.3. SOLICITUD DE EJEMPLARES.....	31
4.2.4. ESTUDIO MORFOMÉTRICO.....	32
4.3. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS (FILOGENIA MORFOLÓGICA).....	32
4.3.1. GRUPO INTERNO.....	32
4.3.2. MATRIZ DE DATOS.....	33
4.3.3. CARACTERES EXAMINADOS.....	33
4.3.4. GRUPO EXTERNO.....	43
4.3.5. BÚSQUEDA DE CLADOGRAMAS.....	43
4.3.6. ARGUMENTACIÓN DE CARACTERES.....	43
4.4. ANÁLISIS MOLECULAR.....	43
4.4.1. EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE DNA GENÓMICO TOTAL (gDNA).....	44
4.4.2. AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE LOS GENES NUCLEARES Y MITOCONDRIALES.....	44
4.4.3. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS.....	45
4.5. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS (FILOGENIAS MOLECULARES).....	46
4.5.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE SEIS ESPECIES DE <i>GLYPHELMINS</i> BASADO EN SECUENCIAS DE MTDNA Y RDNA.....	46
4.5.2. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL GÉNERO <i>GLYPHELMINS</i> Y SU RELACIÓN CON OTROS GÉNEROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA.....	46
4.6. MONOGRAFÍA.....	46
5. RESULTADOS	84
5.1. <i>GLYPHELMINS PONCEDELEONI</i> N. SP. (TREMATODA: MACRODEROIDIDAE) OF AMPHIBIANS FROM THE NEOTROPICAL REGION OF MÉXICO. <i>JOURNAL OF PARASITOLOGY</i> , 87, 686-691.....	85
5.2. MOLECULAR DIFFERENTIATION OF TWO NEW SPECIES OF <i>GLYPHELMINS</i> STAFFORD, 1905 (DIGENEA: MACRODEROIDIDAE) IN <i>RAMA</i> SPP. FROM MEXICO.....	91
5.3. REGISTRO HELMINTOLÓGICO.....	121



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

5.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICO MORFOLÓGICO.....	125
5.4.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO.....	125
5.4.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS FILOGENÉTICO BASADO EN CARACTERES MORFOLÓGICOS.....	129
5.4.2.0. POLIFILIA DEL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i>	129
5.4.2.1. IMPLICACIONES TAXONÓMICAS.....	129
5.4.2.2. GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i>	130
5.4.2.3. <i>MARGEANA</i> E <i>HYLOTREMA</i> SINÓNIMOS DE <i>GLYPTHELMINS</i>	133
5.4.2.4. VALIDEZ Y REESTABLECIMIENTO DE LOS GÉNEROS <i>CHOLEDOCYSTUS</i> Y <i>RAUSCHIELLA</i>	135
5.4.2.5. GÉNERO <i>RAUSCHIELLA</i>	137
5.4.2.6. <i>GLYPTHELMINS AFRICANA</i> COMO MIEMBRO DE <i>PLAGIORCHIS</i>	140
5.5. ANÁLISIS FILOGENÉTICO MOLECULAR.....	144
5.5.1.0. PRODUCTOS AMPLIFICADOS Y SECUENCIADOS DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE <i>GLYPTHELMINS</i>	144
5.5.1.1. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS DE <i>GLYPTHELMINS</i> Y OTROS DIGÉNEOS.....	144
5.5.1.2. ANÁLISIS FILOGENÉTICO.....	144
5.5.1.3 MATRICES DE DISTANCIA.....	146
5.5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS FILOGENÉTICO BASADO EN CARACTERES MOLECULARES.....	155
5.5.2.0. EL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i> NO ES MONOFILÉTICO.....	155
5.5.2.1. EL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS (SENSU STRICTO)</i>	156
5.5.2.2. RATIFICACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE <i>HAPLOMETRANA INTESTINALIS</i> EN EL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i>	159
5.5.2.3. DIVERGENCIA GÉNICA INTRA, INTERESPECÍFICA Y SUPRAESPECÍFICA ENTRE LOS MIEMBROS DEL SUBORDEN <i>PLAGIORCHIATA</i>	160
5.5.2.3.0. VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA.....	160
5.5.2.3.1. VARIACIÓN INTERESPECÍFICA.....	161
5.5.2.3.2. DIVERGENCIA GÉNICA ENTRE GÉNEROS.....	163
5.5.2.4. ¿A QUÉ FAMILIA PERTENECE EL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i> ?.....	164
5.6. MONOGRAFÍA.....	168
5.6.1. DIAGNOSIS MODIFICADA DEL GÉNERO <i>GLYPTHELMINS</i>	168
5.6.2. CLAVE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE <i>GLYPTHELMINS</i>	169
5.6.3. ESPECIES DE <i>GLYPTHELMINS</i>	170
6. DISCUSIÓN GENERAL	247
6.1. DATOS MORFOLÓGICOS.....	248
6.2. DATOS MOLECULARES.....	249
6.3. DISCREPANCIA ENTRE LAS HIPÓTESIS FILOGENÉTICAS BASADAS EN DATOS MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES.....	251
6.4. ESPECIES DE <i>GLYPTHELMINS</i> EN MÉXICO.....	252
6.5. IMPLICACIONES BIOGEOGRÁFICAS Y DE RELACIÓN HUÉSPED – PARÁSITO.....	254
7. LITERATURA CITADA	262
8. APÉNDICES	277
8. APÉNDICE 1.....	277
8.1.0. ESPECIES DE HELMINTOS, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO.....	278
8.1.1. ESPECIES DE HUÉSPEDES, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO.....	281
8. APÉNDICE 2.....	283

8.2.1. TÉCNICAS DE TINCIÓN.....	284
8.2.1.0. HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ALCOHÓLICA.....	284
8.2.1.1. HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ACUOSA.....	284
8.2.1.2. PARACARMÍN DE MAYER.....	284
8.2.1.3. TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ALCOHÓLICA.....	284
8.2.1.4 TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ACUOSA.....	285
8.2.2. TÉCNICAS MOLECULARES.....	285
8.2.2.0. DIGESTIÓN DE TEJIDOS.....	285
8.2.2.1 EXTRACCIÓN DEL DNA GENÓMICO CON FORMOL/CLOROFORMO.....	285
8.2.2.2. PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK GEL EXTRACTION (QIAGEN).....	285
8.2.2.3. PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK PCR PURIFICATION (QIAGEN).....	286
8.2.2.4. REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN.....	286
8.2.2.5. PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN CON COLUMNAS CENTRISEP.....	286
8.2.2.6. PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN CON ETANOL / ACETATO DE SODIO.....	287
8. APÉNDICE 3.....	288
8.3.0. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS PARCIALES DEL GEN RIBOSOMAL 28S.....	289
8.3.1. MATRIZ DE DISTANCIAS PAREADAS DE NÚMERO DE NUCLEÓTIDOS DIFERENTES DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE GLYPHTELMINS Y OTROS MIEMBROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA.....	311
8.3.2. MATRIZ DE DISTANCIAS PAREADAS DE PORCENTAJES DE DIFERENCIAS DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE GLYPHTELMINS Y OTROS MIEMBROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA.....	318

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Registros originales de las especies del género <i>Glypthelmins</i> (Stafford, 1900) Stafford, 1905.....	16
Tabla II. Especies del género <i>Glypthelmins</i> (Stafford, 1900) Stafford, 1905 en México.....	26
Tabla III. Especies de huéspedes analizadas en busca de helmintos en México en el período 1996-2000.....	65
Tabla IV. Especies de <i>Glypthelmins</i> estudiadas, depositadas en la CNHE	71
Tabla V. Especies de <i>Glypthelmins</i> estudiadas, depositadas en la USNPC	73
Tabla VI. Especies de <i>Glypthelmins</i> estudiadas, depositadas en el HWML	74
Tabla VII. Especies de <i>Glypthelmins</i> estudiadas, depositadas en la CHIOC	76
Tabla VIII. Especies de <i>Glypthelmins</i> estudiadas, depositadas en la Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay.....	77
Tabla IX. Especies de <i>Glypthelmins</i> provenientes de la colección particular del Dr. Daniel Brooks.....	77
Tabla X. Matriz de caracteres morfológicos para las especies del género <i>Glypthelmins</i> y cinco grupos externos empleados en el análisis filogenético.....	78
Tabla XI. Especies de <i>Glypthelmins</i> a las cuales se les extrajo gDNA.....	79
Tabla XII. Especies de digéneos utilizados en este estudio, huéspedes, números de acceso al GenBank y autores que generaron las secuencias.....	80
Tabla XIII. Especies de <i>Glypthelmins</i> colectadas en diferentes huéspedes y localidades estudiadas en el período 1996-2002.....	123
Tabla XIV. Medidas de <i>G. quieta</i> referidas por algunos autores.....	236
Tabla XV. Medidas de <i>G. californiensis</i> referidas por algunos autores.....	238
Tabla XVI. Medidas de <i>G. parva</i> referidas por algunos autores.....	240
Tabla XVII. Medidas de <i>G. intestinalis</i> referidas por algunos autores.....	241
Tabla XVIII. Medidas de <i>G. shastai</i> referidas por algunos autores.....	242
Tabla XIX. Medidas de <i>G. facioi</i> referidas por algunos autores.....	243
Tabla XX. Medidas de <i>G. pennsylvaniensis</i> referidas por algunos autores.....	244
Tabla XXI. Medidas de <i>G. hyloreus</i> referidas por algunos autores.....	246
Table 1. Host and localities of isolates of <i>Glypthelmins</i> spp. collected in Mexico, Costa Rica and the U.S.A.....	107
Table 2. Pairwise distances between taxa, calculated from the <i>cox1</i> using PAUP Version 4.0 b10 (Swofford, 2000).....	107
Table 3. Pairwise distances between taxa, calculated from the 5.8 S and ITS2 using PAUP Version 4.0 b10 (Swofford, 2000).....	108
Table 4. Pairwise distances between taxa, calculated from the 28S ribosomal gene using PAUP Version 4.0 b10 (Swofford, 2000).....	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Árbol filogenético de 19 especies de <i>Glypthelmins</i> generado por Brooks (1977) a partir del estudio de 11 caracteres morfológicos.....	10
Fig. 2. Árbol filogenético obtenido por O'Grady (1987) a partir del estudio de 21 caracteres morfológicos de siete especies de <i>Glypthelmins</i> y una de <i>Haplometrana</i>	12
Figs. 3-5. Cladogramas sin enraizar obtenidos del estudio de alozimas de cuatro especies de <i>Glypthelmins</i> y una de <i>Haplometrana</i>	13
Fig. 6. Hipótesis filogenética presentada por Brooks & McLennan (1993), la cual fue combinada con información de la distribución geográfica de las especies, ciclos de vida y especies de huéspedes parasitados.....	15
Fig. 7. Distribución geográfica de las 36 especies que han sido consideradas miembros de <i>Glypthelmins</i>	19
Fig. 8. Estructura del complejo ribosomal.....	22
Fig. 9. Localidades estudiadas en 13 Estados de la República Mexicana en el período 1996-2002.....	48
Fig. 10. Carácter 5. Microfotografía de barrido mostrando la ausencia de escamas en el extremo posterior del cuerpo de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , proveniente de <i>R. dunni</i> , Lago de Pátzcuaro, Michoacán.....	50
Fig. 11. Carácter 5. Microfotografía de barrido mostrando la distribución de las espinas en el extremo posterior del cuerpo de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , proveniente de <i>B. marinus</i> , San Pedro las Playas, Guerrero.....	50
Fig. 12. Carácter 6. Microfotografía óptica de las espinas de tipo escamiforme en un ejemplar de <i>G. quieta</i> , parásito de <i>Rana</i> sp. de Coquimatlán, Colima.....	50
Fig. 13. Carácter 6. Microfotografía de barrido de las espinas de <i>G. hepatica</i> , proveniente de <i>B. marinus</i> , San Pedro las Playas, Guerrero.....	50
Figs. 14-15. Carácter 6. Microfotografía de barrido de las espinas tipo escamiforme de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> parásito de <i>R. montezumae</i> , Ciénaga de Lerma, Estado de México y de <i>G. tuxtlasensis</i> , parásito de <i>R. vaillanti</i> de Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz.....	50
Fig. 16. Caracteres 7. Relación del diámetro transversal de la ventosa oral – acetábulo. Carácter 8. Ancho de la faringe con respecto al ancho del acetábulo. Dibujo de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , parásito de <i>R. montezumae</i> proveniente del Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 1561).	52
Fig. 17. Caracteres 7 y 8. Relación del diámetro transversal de la ventosa oral – acetábulo. Carácter 8. Ancho de la faringe con respecto al ancho del acetábulo. Dibujo de un ejemplar de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , parásito de <i>B. marinus</i> proveniente de Paso Canoa, Oaxaca (4695).....	52
Fig. 18. Carácter 9. Dibujo de un acetábulo sin disco suctorial muscular de un ejemplar de <i>G. hylureus</i> , proveniente de <i>P. triseriata</i> de Nebraska, Estados Unidos. Colección personal del Dr. Daniel Brooks.....	52
Fig. 19. Carácter 9. Dibujo de un acetábulo con disco suctorial muscular de un ejemplar de <i>G. intestinalis</i> , proveniente de <i>R. luteiventris</i> de Montana, Estados Unidos.....	52
Fig. 20. Carácter 10. Microfotografía óptica mostrando la ausencia de glándulas perifaríngeas en un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , parásito de <i>R. montezumae</i> de la Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3282).....	52
Fig. 21. Carácter 10. Microfotografía óptica mostrando la presencia de glándulas perifaríngeas en un ejemplar de <i>G. quieta</i> , parásito de <i>R. neovolcanica</i> de los Manantiales de Cointzio, Michoacán (CNHE 3272).....	52
Fig. 22. Carácter 11. Glándulas mediales amorfas. Dibujo de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , parásito de <i>R. dunni</i> , Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 3280).....	54
Fig. 23. Carácter 11. Glándulas mediales en pequeños racimos. Dibujo de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> ,	

parásito de <i>B. marinus</i> , Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4069).....	54
Fig. 24. Carácter 13. Testículos simétricos. Dibujo de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , proveniente de <i>R. montezumae</i> , Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3235).....	54
Fig. 25. Carácter 13. Testículos oblicuos. Dibujo de un ejemplar de <i>G. tineri</i> , parásito de <i>L. melanonotus</i> , San Pedro las Playas, Guerrero (CNHE 4069).....	54
Figs. 26. Carácter 13. Testículos en tándem (uno detrás del otro). Dibujo de un ejemplar de <i>G. intestinalis</i> , parásito de <i>R. luteiventris</i> , Montana, Estados Unidos (CNHE 4692).....	54
Fig. 27. Carácter 18. Microfotografía óptica de una vesícula seminal entera de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , parásito de <i>B. marinus</i> , Tuxtepec, Oaxaca (CNHE 1357).....	56
Fig. 28. Carácter 18. Microfotografía óptica de una vesícula seminal bipartita de un ejemplar de <i>G. quieta</i> , parásito de <i>Rana</i> sp., Coquimatlán, Colima (CNHE 4688).....	56
Fig. 29. Carácter 18. Dibujo de la vesícula seminal bipartita de <i>G. facioi</i> , parásito de <i>R. pipiens</i> , Costa Rica (CHCR 200-22).....	56
Fig. 30. Carácter 18. Dibujo de una vesícula seminal enrollada de un ejemplar de <i>G. tineri</i> (CNHE 4068).....	56
Fig. 31. Carácter 22. Microfotografía de barrido mostrando la posición medial del poro genital con respecto al eje antero-posterior del cuerpo en un ejemplar de <i>G. quieta</i> , proveniente de <i>R. montezumae</i> de la Ciénaga de Lerma, Estado de México.....	58
Fig. 32. Carácter 22. Microfotografía de barrido mostrando la posición lateral del poro genital lateral con respecto al eje antero-posterior del cuerpo de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , proveniente de <i>B. marinus</i> de San Pedro las Playas, Guerrero.....	58
Fig. 33. Carácter 25. Asas uterinas intercecales. Dibujo de un ejemplar de <i>G. brownorumae</i> , parásito de <i>R. brownorum</i> , km. 50 Carretera 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco (CNHE 4668).....	58
Fig. 34. Carácter 25. Asas uterinas intercecales y cecales. Dibujo de un ejemplar de <i>G. facioi</i> , parásito de <i>R. pipiens</i> , Costa Rica (CHCR 200-22).....	58
Figs. 35. Carácter 25. Asas uterinas intercecales, cecales y extracecales. Dibujo de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , proveniente de <i>B. marinus</i> , Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695).....	58
Fig. 36. Carácter 31. Ausencia de glándulas vitelógenas en el extremo anterior del cuerpo. Dibujo de un ejemplar de <i>G. repandum</i> , parásito de <i>L. ocellatus</i> , Mato Grosso, Brasil.....	60
Fig. 37. Carácter 31. Extensión anterior de las glándulas vitelógenas hasta la faringe - ventosa oral. Dibujo de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , proveniente de <i>R. montezumae</i> , Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282).....	60
Figs. 38. Carácter 31. Extensión anterior de las glándulas vitelógenas al nivel de la faringe, esófago o bifurcación cecal. Dibujo de un ejemplar de <i>G. quieta</i> , parásito de <i>Rana</i> sp. Coquimatlán, Colima (CNHE 4688).....	60
Figs. 39. Carácter 31. Folículos vitelógenos posteriores a la bifurcación cecal. Dibujo de un ejemplar de <i>G. hepatica</i> , parásito de <i>B. marinus</i> , Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695).....	60
Fig. 40. Caracteres 32 y 33. Folículos vitelógenos extracecales y no confluentes. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. elegans</i> , parásito de <i>L. ocellatus</i> , Curitiba, Panamá (CHIOC 21.812 a).....	62
Fig. 41. Caracteres 32 y 33. Folículos vitelógenos intercecales y confluentes. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , proveniente de <i>R. dunni</i> , Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 3280).....	62
Fig. 42. Carácter 35. Glándulas vitelógenas acinosas. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. vitellinophilum</i> , parásito de <i>Hyla raniceps</i> , Pernambuco, Brasil (CHIOC 22.098 b).....	62
Fig. 43. Carácter 35. Glándulas vitelógenas arrosadas. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. tineri</i> , parásito de <i>L. melanonotus</i> , Teapa, Tabasco (CNHE 4072).....	62
Fig. 44. Carácter 35. Glándulas vitelógenas foliculares. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. californiensis</i> , parásito de <i>R. montezumae</i> , Ciénaga de Lerma, Estado de México, (CNHE 3282).....	62
Fig. 45. Carácter 36. Vesícula excretora en forma de "I". Dibujo de un ejemplar de <i>G. quieta</i> , parásito	

de <i>R. montezumae</i> , Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3282).....	64
Fig. 46. Carácter 36. Vesícula excretora en forma de "Y". Dibujo de un ejemplar de <i>G. poncedeleoni</i> , parásito de <i>L. melanotus</i> , Ranchería, Benito Juárez, Tabasco (CNHE 3733).....	64
Fig. 47. Carácter 44. Ciegos intestinales cercanos a los bordes laterales del cuerpo. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. quieta</i> , proveniente de <i>R. neovolcanica</i> , Manantiales de Cointzio, Michoacán (CNHE 3272).....	64
Fig. 48. Carácter 44. Ciegos intestinales distantes de los bordes laterales del cuerpo. Microfotografía de un ejemplar de <i>G. chaquensis</i> , parásito de <i>L. laticeps</i> , Chaco Argentino (Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay AP/11113).....	64
Fig. 49. Cladograma obtenido a partir del análisis de 45 caracteres morfológicos y 35 taxa.....	128
Fig. 50. Cladograma obtenido a partir del análisis de 45 caracteres morfológicos y 35 taxa. Los clados en colores diferentes corresponden a los géneros <i>Glythelmins</i> (azul), <i>Rauschiella</i> (verde) y <i>Choledocystus</i> (rojo). Los taxa en color verde corresponden a los grupos externos empleados.....	142
Fig. 51. Comparación del clado norteamericano sensu O'Grady (1987) y Brooks & McLennan (1993) con el grupo monofilético definido en este estudio perteneciente al género <i>Glythelmins</i>	143
Fig. 52-55. Cuatro árboles igualmente parsimoniosos del gen ribosomal 28S de 11 especies de <i>Glythelmins</i> y otros miembros del subórden Plagiorchiata, obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar.....	148
Fig. 56. Árbol de consenso estricto de cuatro árboles igualmente parsimoniosos obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar.....	151
Fig. 57. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos. Valores de bootstrap (en negro) obtenidos en 1000 réplicas.....	152
Fig. 58. Árbol de consenso por regla de mayoría obtenido del análisis de bootstrap con 1000 réplicas con la opción de stepwise addition y 10 réplicas al azar.....	153
Fig. 59. Comparación del clado correspondiente al género <i>Glythelmins</i> obtenido en el análisis molecular y el clado obtenido del análisis morfológico.....	154
Fig. 60. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins quieta</i> proveniente de <i>Rana neovolcanica</i> , Manantiales de Cointzio (CNHE 3272).....	167
Fig. 61. Vista dorsal de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins quieta</i> proveniente de <i>Rana catesbeiana</i> , Willow Creek, Nebraska, U.S.A. (Colección particular del Dr. Daniel Brooks).....	215
Fig. 62. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins quieta</i> proveniente de <i>Rana</i> sp., Coquimatlán, Colima (CNHE 4688).....	215
Fig. 63. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins quieta</i> proveniente de <i>Rana spectabilis</i> , Huitzo, Oaxaca (CNHE 4689).....	216
Fig. 64. Detalle de la faringe y de las glándulas perifaríngeas de <i>G. quieta</i> (CNHE 3272).....	216
Fig. 65. Vista ventral de un ejemplar inmaduro de <i>Glythelmins quieta</i> proveniente de <i>Rana montezumae</i> , Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3275).....	217
Fig. 66. Ciclo de vida de <i>Glythelmins quieta</i> , parásito intestinal de ranas y sapos de Norteamérica.....	217
Fig. 67. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins californiensis</i> , proveniente de <i>Rana montezumae</i> , Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282).....	218
Fig. 68. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins californiensis</i> parásito de <i>Rana dunni</i> , Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 1561).....	219
Fig. 69. Detalle de la faringe y de las glándulas mediales de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins californiensis</i> proveniente de <i>Rana montezumae</i> , Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282).....	219
	220

Fig. 70. Vista dorsal del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins californiensis</i> proveniente de <i>Rana dunni</i> , Lago de Zacapu, Michoacán (CNHE 4682).....	220
Fig. 71. Vista ventral de un ejemplar inmaduro de <i>G. californiensis</i> con la vesícula excretora en forma de "I" (CNHE 3281).....	220
Fig. 72. Vista dorsal de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins parva</i> parásito de <i>Rana vaillanti</i> , Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 339).....	221
Fig. 73. Vista dorsal de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins parva</i> parásito de <i>Rana vaillanti</i> , Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 4690).....	221
Fig. 74. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de <i>G. parva</i> (CNHE 4690).....	221
Fig. 75. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins intestinalis</i> parásito de <i>Rana luteiventris</i> , Glacier National Park, Montana, USA (CNHE 4692).....	222
Fig. 76. Vista dorsal de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins intestinalis</i> parásito de <i>Rana luteiventris</i> . Nótese la distribución y arreglo de los folículos vitelógenos (CNHE 4692).....	222
Fig. 77. Detalle del acetábulo y disco suctorial de <i>G. intestinalis</i> (CNHE 4692).....	223
Fig. 78. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de <i>G. intestinalis</i> . (CNHE 4692).....	223
Fig. 79. Vista ventral del Holotipo de <i>Glythelmins shastai</i> parásito de <i>Bufo boreas</i> , Shasta County, California, U.S.A. (USNPC 8925).....	224
Fig. 80. Vista ventral del holotipo de <i>Glythelmins facioi</i> , parásito de " <i>Rana pipiens</i> ", Costa Rica (CHCR 200-22).....	225
Fig. 81. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino del holotipo de <i>G. facioi</i>	225
Figs. 82-83. Vista ventral de ejemplares de <i>Glythelmins pennsylvaniensis</i> , parásito de <i>Pseudacris c. crucifer</i> , proveniente de Pennsylvania, U.S.A. (CNHE 4693).....	226
Fig. 84. Vista ventral de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins hyloreus</i> proveniente de <i>Pseudacris triseriata</i> , Nebraska, U.S.A. (Colección particular del Dr. Daniel Brooks).....	227
Fig. 85. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de <i>G. hyloreus</i>	227
Fig. 86. Vista ventral del holotipo de <i>Glythelmins brownorumae</i> n. sp. parásito de <i>Rana brownorum</i> , km. 50, carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco (CNHE 4667).....	228
Fig. 87. Vista ventral de un ejemplar de <i>G. brownorumae</i> parásito de <i>Rana brownorum</i> , Ranchería Benito Juárez, Municipio de Centla, Tabasco (4669).....	228
Fig. 88. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de <i>Glythelmins brownorumae</i> n. sp. parásito de <i>Rana brownorum</i> (CNHE 4668).....	229
Fig. 89. Huevo de <i>G. brownorumae</i>	229
Fig. 90. Vista ventral del holotipo de <i>Glythelmins tuxtlasensis</i> n. sp. parásito de <i>Rana vaillanti</i> , Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 4670).....	230
Fig. 91. Vista ventral de un paratipo de <i>Glythelmins tuxtlasensis</i> n. sp. parásito de <i>Rana vaillanti</i> (CNHE 4671).....	230
Fig. 92. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino del holotipo de <i>Glythelmins tuxtlasensis</i> n. sp., parásito de <i>Rana vaillanti</i> (CNHE 4670).....	231
Fig. 93. Ejemplar inmaduro de <i>G. tuxtlasensis</i> , vista dorsal (3285).....	231
Fig. 94. Huevo de <i>G. brownorumae</i>	231
Fig. 95. Distribución geográfica de las especies <i>G. quieta</i> y <i>G. californiensis</i>	232
Fig. 96. Distribución geográfica de las especies <i>G. parva</i> y <i>G. facioi</i>	233
Fig. 97. Distribución geográfica de las especies <i>G. shastai</i> , <i>G. intestinalis</i> , <i>G. pennsylvaniensis</i> y <i>G. hyloreus</i>	234
Fig. 98. Distribución geográfica de las especies <i>G. brownorumae</i> n. sp. y <i>G. tuxtlasensis</i> n. sp.....	235

Fig. 99. Optimización de los huéspedes en las hipótesis filogenéticas de <i>Glythelmins</i> generadas de los datos morfológicos y moleculares.....	260
Fig. 100. Optimización de las especies <i>G. quieta</i> , <i>G. californiensis</i> y <i>G. brownorumae</i> en la hipótesis filogenética del complejo " <i>R. pipiens</i> ".....	261
Figure 1. Unrooted single most parsimonious tree combining all information from mtDNA and rDNA sequences. Tree shows the position of the two new species with respect to other members of <i>Glythelmins</i> spp. Bootstrap values are shown for each branch.....	109
Figure 2. <i>Glythelmins browmorumae</i> n. sp. Holotype, ventral view.....	110
Figure 3. Detail of the male and female reproductive systems.....	110
Figure 4. Egg.....	110
Figure 5. <i>Glythelmins tuxtlasensis</i> n. sp. Holotype, ventral view.....	111
Figure 6. Detail of the male and female reproductive systems.....	111
Figure 7. Egg.....	111

RESUMEN

Stafford en 1905 estableció el género *Glyphelmins* para incluir a *Distomum quietum*, especie recolectada y descrita por el mismo en 1900 como parásito de anuros en Canadá. Desde entonces, alrededor de 36 especies parásitas de ápodos y anuros han sido descritas alrededor del mundo, la mayoría de ellas en el Continente Americano. Actualmente no hay un consenso general sobre el número de especies que constituyen a *Glyphelmins*, debido a que varias de éstas han sido incluidas en los géneros: *Margeana*, *Haplometrana*, *Choledocystus*, *Microderma*, *Repandum*, *Rauschiella*, *Reynoldstrema* e *Hylotrema*. Distintos estudios taxonómicos han considerado a algunos de los géneros como sinónimos de *Glyphelmins* o bien como géneros válidos. A pesar de ello, el esquema de clasificación nunca ha estado basado en una hipótesis filogenética con lo cual, no se tiene la certeza de que *Glyphelmins* constituya un grupo monofilético.

Con el fin de determinar la composición específica de *Glyphelmins* en México, entre diciembre de 1996 y septiembre de 2002 se recolectaron 33 especies de anuros provenientes de 50 localidades de 13 estados de la República Mexicana. A partir del estudio helmintológico de 1060 huéspedes, se obtuvieron nueve especies de *Glyphelmins* y dos tipos morfológicos (morfortipos). Trece de las 33 especies de anuros estudiados estuvieron parasitadas por una o más especies de *Glyphelmins*. En 20 de las 50 localidades estudiadas se encontraron una o más especies del género. El presente estudio amplía el rango hospedatorio y de distribución del género, ya que 13 nuevos registros de huéspedes y 25 nuevas localidades son adicionados. Tres especies de *Glyphelmins* resultaron ser nuevas para la ciencia: *Glyphelmins poncedeleoni*, parásito de *Leptodactylus melanonotus*; *G. brownorumae*, parásito de *R. brownorumae* de Tabasco, y *G. tuxtlasensis*, parásito de *R. vaillanti* de Veracruz. Las últimas dos se describieron a partir de la combinación de caracteres moleculares provenientes del mtDNA (gen *cox1*), del rDNA (genes 5.8S y 28S y del ITS2) y de caracteres morfológicos.

Con el fin de probar si el género *Glyphelmins* es un grupo monofilético y definir el número de especies que lo componen, se aplicó el método de la Sistemática Filogenética y se analizó una matriz de datos constituida por 45 caracteres morfológicos y 112 estados de carácter para 35 taxones, 30 pertenecientes al grupo interno y cinco grupos externos. El análisis filogenético empleando una búsqueda heurística bajo el criterio de máxima parsimonia, produjo un solo árbol con una longitud de 139 pasos, un índice de consistencia de 0.48 y un índice de retención de 0.75. Los resultados de dicho análisis filogenético mostraron que *Glyphelmins* no constituye un grupo monofilético, ya que el cladograma está constituido por tres clados independientes, dos de los cuales incluyen a los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella*. Asimismo, tres de los grupos externos quedan incluidos dentro del grupo interno. *Glyphelmins* puede ser definido como un grupo monofilético solo si se considera que éste lo constituyen las especies: *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. parva*, *G. intestinalis*, *G. shastai*, *G. facioi*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. Estas especies se agrupan por una sinapomorfia inequívoca relacionada con el metratermo, el cual, en su recorrido hacia el poro genital, se ubica de manera dorsal a la bolsa del cirro. En este trabajo se propone reestablecer a los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella*, considerando a éstos constituidos por ocho y 12 especies, respectivamente. El género *Choledocystus* se sustenta por una sinapomorfia, proporción entre el ancho de la ventosa oral y el ancho del acetábulo igual o mayor a 0.9 veces. Las especies que constituyen a *Rauschiella* comparten la sinapomorfia inequívoca consistente en que las glándulas vitelógenas forman grupos a lo largo de su extensión en el cuerpo.

Con el objeto de determinar la posición de las especies asignadas a *Glyphelmins* dentro del suborden Plagiorchiata, se secuenciaron parcialmente los genes ribosomales 28S de 11 especies del género *Glyphelmins*. Se secuenciaron alrededor de 1270 de nucleótidos para cada una de las especies. Al analizar la información de los genes ribosomales de *Glyphelmins*



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

spp. y otras 54 especies de digéneos, bajo el criterio de máxima parsimonia, con una búsqueda heurística con 1000 réplicas utilizando las opciones de random stepwise addition y branch swapping con TBR se obtuvieron cuatro árboles igualmente parsimoniosos. En estos cuatro árboles se observa que las 11 especies de *Glypthelmins* no constituyen un grupo monofilético, ya que las especies *G. hepatica*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni* se presentan más cercanamente emparentadas con otros géneros de digéneos que con *Glypthelmins*. Los resultados del análisis molecular concuerdan con la hipótesis obtenida de los caracteres morfológicos, ya que *G. hepatica* forma parte de *Choledocystus*, mientras que *G. tineri* y *G. poncedeleoni* de *Rauschiella*. A partir de los resultados filogenéticos de los análisis morfológicos y moleculares se establece que los géneros *Glypthelmins*, *Choledocystus* y *Rauschiella* son taxonómicamente válidos. Los géneros *Margeana*, *Haplometrana* e *Hylotrema* son considerados sinónimos de *Glypthelmins*. Asimismo, el género *Repandum* es sinónimo de *Rauschiella*. El género *Reynoldstrema* no se considera válido, ya que la especie tipo presenta una estrecha relación con la especie *Plagiorchis vespertilionis* en nuestra hipótesis filogenética basada en caracteres morfológicos.

Con base en los resultados de los análisis morfológicos y moleculares se define que únicamente cinco especies de *Glypthelmins* se distribuyen en anuros de México. Estas especies parasitan a miembros de los complejos "*R. pipiens*" y "*R. palmipes*" en localidades con influencia de las regiones biogeográficas Neártica y Neotropical. Las especies restantes, anteriormente consideradas miembros de *Glypthelmins*, pertenecen a los géneros *Choledocystus* (*C. hepatica*) y *Rauschiella* (*R. tineri*, *R. linguatula* y *R. poncedeleoni*).

ABSTRACT

Stafford in 1905 established the genus *Glypthelmins* to include *Distomum quietum*, species collected and described by himself in 1900 as a parasite of anurans from Canada. Since this time, about 36 species parasitizing apodes and anurans have been described around the world, most of them from American continent. Nowadays, there is not a general agreement about the number of species included in *Glypthelmins*, because some of them have been included in genera such as: *Margeana*, *Haplometrana*, *Choledocystus*, *Microderma*, *Repandum*, *Rauschiella*, *Reynoldstrema* e *Hylotrema*. Different taxonomic studies have considered some of these genera as synonyms of *Glypthelmins* or as valid genera. Nevertheless, the taxonomic classification has never been based on a phylogenetic hypothesis and in consequence the monophyly of the group has not been demonstrated.

In order to determinate the species richness of *Glypthelmins* in Mexico, from December, 1996 to September, 2002, 33 species of anurans from 50 localities distributed in 13 states of Mexican Republic were collected. A total of 1060 host were studied, and nine species of *Glypthelmins* and two morphotypes were obtained. Of the 33 species of anurans studied only 13 were parasitized by one or more species of *Glypthelmins*. The different species of *Glypthelmins* are distributed in 20 of the 50 studied localities. This study increases the host range and geographic distribution of the genus, because 13 new host records and 25 new locality records were added. Three new species are described: *Glypthelmins poncedeleoni*, parasitizing *Leptodactylus melanonotus* from Tabasco and Guerrero; *G. brownorumae*, parasitizing *Rana brownorum* from Tabasco, and *G. tuxtlasensis*, parasite of *R. vaillanti* from Veracruz, Mexico. The last two species were described by using a combination of molecular data from mtDNA (gen cox1), rDNA genes 5.8S y 28S, and ITS2), and morphological characters.

To probe if the genus *Glypthelmins* is a monophyletic group and to define the species composition, a phylogenetic analysis based on the principles of phylogenetic systematics was

conducted. A database including 45 morphological characters with 112 characters states was assembled. Database included 35 taxa, 30 of them belonging to the ingroup, and the remaining five were used as outgroups. The phylogenetic analysis using a heuristic search under the maximum parsimony criteria produced one single most parsimonious tree (L= 1587, CI=0.40, RI= 0.76). The results demonstrated that *Glypthelmins* not conform a monophyletic assemblage, because the tree is constituted by three main groups, two of them conformed by *Choledocystus* and *Rauschiella*. *Glypthelmins* can be defined as a monophyletic group only if it include: *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. parva*, *G. intestinalis*, *G. shastai*, *G. facioi*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. This species conform a group supported by a metratern running dorsally to the cirrus sac. In this study, it is proposed the re-establishment the genera *Choledocystus* and *Rauschiella*, and it is considered that these are represented by eight and 12 species, respectively. The genus *Choledocystus* is supported by having a ratio between oral sucker-acetabulum equal or higher to 0.9 times. The species included in *Rauschiella* share an unequivocal synapomorphy, vitelline follicles are grouped in lateral fields along the body.

With the aim of clarifying the systematic position of *Glypthelmins* within the order Plagiorchiida, partial sequences of the 28S ribosomal gene of 11 species of *Glypthelmins* were obtained. The fragment of the ribosomal gene 28S for 11 species of *Glypthelmins* was of 1270 bp. Analyzing the obtained sequences of some species of *Glypthelmins* along with other sequences of 54 species of digeneans included in Plagiorchiida, we obtained four most parsimonious trees generated through 1000 random taxa addition heuristic searches with Tree Bisection-Reconnection (TBR) branch swapping options, using a heuristic search. All the three showed that the 11 species of *Glypthelmins* do not constitute a monophyletic assemblage, since *Glypthelmins hepatica*, *G. tineri*, and *G. poncedeleoni* appear closely related to other genera of digeneans. The results of the molecular analysis agree with those of the morphological analysis. Both analyses demonstrated that *G. hepatica* belongs to *Choledocystus*, while *G. tineri* and *G. poncedeleoni* are members of *Rauschiella*. With the information we obtained in this study, we propose that the genera *Glypthelmins*, *Choledocystus* and *Rauschiella* should be considered valid taxonomically. Genera *Margeana*, *Haplometrana* and *Hylotrema* are considered synonyms of *Glypthelmins*. Additionally, the genus *Repandum* is synonymy of *Rauschiella*, and *Reynoldstrema* is not considered valid.

Following the results of the morphological and molecular studies we define that only five species of *Glypthelmins* are distributed in anurans from Mexico. These species are parasites of members of the "*R. pipiens*" and "*R. palmipes*" complex of both the nearctic and neotropical biogeographical. The remaining species, anteriorly considered members of *Glypthelmins*, should be placed in *Choledocystus* (*C. hepatica*), and in *Rauschiella* (*R. tineri*, *R. linguatula* and *R. poncedeleoni*).

1. INTRODUCCIÓN

1.1. REVISIÓN HISTÓRICA

Stafford (1900) describió a *Distomum quietum** Stafford, 1900 del intestino de anuros de Canadá. Posteriormente, el mismo autor (Stafford, 1905) erigió el género *Glythelmins* para transferir a *D. quietum*. Stafford (1905) refirió que *Glythelmins quieta* (Stafford, 1900) Stafford, 1905, la especie tipo del género, había sido colectada del intestino de *Hyla pickeringii* Holbrook, 1840†, *Rana catesbeiana* Shaw, 1802 y *Rana virescens* Kalm, 1761. A pesar de ello, no designó ni huésped ni localidad tipo para esta especie. Tampoco presentó una diagnosis completa y precisa de *Glythelmins*, ni asignó al género a una categoría taxonómica superior.

Stafford (1900 y 1905) comparó a *G. quieta* con *Opisthioglyphe endoloba* (Dujardin, 1845) Loss, 1899, debido a la semejanza morfológica existente entre ambas especies. En el primer trabajo Stafford enumeró 7 diferencias entre estas especies y en el trabajo de 1905, este autor mencionó las características compartidas entre ambos organismos. Además, adicionó otras diferencias morfológicas y consideró el tamaño, forma y ubicación de los testículos y la posición del útero como caracteres importantes en un contexto genérico. A pesar de las diferencias morfológicas entre *G. quieta* y *O. endoloba*, Stafford asoció estrechamente a ambas especies y no hizo una separación tajante entre ellas.

Travassos (1924) describió a *Glythelmins parva* Travassos, 1924 del intestino de *Cystignathus ocellatus* Wagler, 1830 de Brasil. Asimismo, redescubrió y transfirió a las especies *Distomum linguatula* Rudolphi, 1819 y *D. repandum* Rudolphi, 1819 al género *Glythelmins*. Travassos diferenció a las tres especies con base en la distribución y agrupamiento de los folículos vitelógenos, el tamaño de los testículos y del ovario, el tamaño del metratermo y de la bolsa del cirro. Posteriormente, Travassos (1926) describió a *G. elegans* Travassos, 1926 del intestino de *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758) en Sao Paulo, Brasil. El autor asoció a la nueva especie con *G. linguatula* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924 y la diferenció de ésta, basándose en la forma general del cuerpo y en la disposición extracecal de las asas uterinas.

Tubangui (1928) describió a *G. staffordi* Tubangui, 1928, proveniente de *Rana vittigera* Wiegmann, 1834 de las islas Filipinas. Este autor diferenció a la nueva especie de *G. quieta* y de las especies brasileñas estudiadas por Travassos (1924) [*G. parva*, *G. linguatula* y *G. repandum* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924], con base en la extensión de las glándulas vitelógenas, la disposición de los testículos y del ovario y el tamaño de los huevos.

* La autoridad y año de establecimiento de cada especie de helminto se presenta la primera vez que dicha especie es referida en el texto. Para una lista completa, el lector deberá remitirse al Apéndice 1.

† La autoridad y año de establecimiento de cada especie de huésped se presenta la primera vez que dicha especie es referida en el texto. Para una lista completa, el lector deberá remitirse al Apéndice 2.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Haplometra palmipedis Lutz, 1928 fue erigida para incluir en ella a ejemplares colectados de los pulmones de *Rana palmipes* Spix 1824; la descripción de esta especie consistió únicamente en una figura (Lutz, 1928). A partir de la representación esquemática de *H. palmipedis*, Travassos (1930) mencionó que tal especie pertenecía al género *Glypthelmins*, lo cual ratificó al examinar el material tipo de la especie. Por lo tanto, *H. palmipedis* fue transferida a *Glypthelmins*.

En un trabajo en el que estudió los efectos de la contracción y extensión del cuerpo, así como los cambios producidos por los procesos de fijación y aplanamiento de los parásitos, Miller (1930) encontró cambios significativos en la morfología de los ejemplares pertenecientes a *G. quieta*. Tales observaciones le permitieron demostrar un alto grado de variabilidad morfológica intra-específica en el tamaño y posición de las ventosas y de las distintas estructuras que constituyen el tubo digestivo y aparato reproductor de *G. quieta*. Adicionalmente, enfatizó que la extensión de las glándulas vitelógenas era muy variable, por lo que sugirió que este carácter no era del todo estable dentro de la especie y no debía ser considerado un rasgo diagnóstico de la especie. Por otro lado, al estudiar las descripciones originales de *G. quieta* y de *Margeana californiensis* Cort, 1919, Miller (1930) observó que ambas especies presentaban aparatos excretorios iguales y que la única diferencia notable entre ellas era la presencia de prominentes glándulas perifaríngeas en *G. quieta* y la ausencia de las mismas en *M. californiensis*. Por lo anterior, decidió transferir a *M. californiensis* a *Glypthelmins*, convirtiéndose de esta manera en *G. californiensis* (Cort, 1919) Miller, 1930. Asimismo, Miller (1930) propuso remover el carácter presencia o ausencia de glándulas perifaríngeas de la descripción original del género. Finalmente, aunque enlistó siete especies válidas de *Glypthelmins*, (*G. quieta*, *G. linguatula*, *G. parva*, *G. repandum*, *G. elegans*, *G. staffordi* y *G. californiensis*) expresó la necesidad de someter al género a una revisión exhaustiva, debido a que algunas de estas especies no correspondían con la descripción original del género establecida por Stafford (1905).

En un estudio sistemático de los tremátodos de la subfamilia Plagiorchiinae Pratt, 1902, Olsen (1937a) presentó la primera diagnosis genérica formal del género *Glypthelmins* y lo diferenció de los demás géneros de Plagiorchiinae por la presencia de un receptáculo seminal, el tamaño de la bolsa del cirro, la longitud de los ciegos y la posición y arreglo de los testículos. Adicionalmente, aceptó la propuesta de Miller (1930) de incluir en *Glypthelmins* a las especies con y sin glándulas perifaríngeas, Olsen propuso una clave para diferenciar a las siete especies consideradas por Miller y a dos más, *G. subtropica* Harwood, 1932, parásito de *Rana catesbeiana* y *Rana sphenoccephala* Cope, 1886 de Houston y Huntsville, Texas, E. U. y *G. shastai* Ingles, 1936 parásito de *Bufo boreas* Baird and Girard, 1852 de Shasta County, California, E. U. Para diferenciar a las nueve especies, Olsen (1937a) basó su clave en la presencia o

ausencia de glándulas perifaríngeas, tamaño del esófago, posición de las glándulas vitelógenas, tamaño relativo de las ventosas, faringe, gónadas, huevos, tamaño y ubicación de la bolsa del cirro y configuración del útero.

Caballero (1938)¹ realizó una revisión taxonómica de las especies de *Glythelmins* conocidas hasta ese momento. Adicionalmente, situó al género en la subfamilia Brachycoeliinae Loss, 1899, familia Brachycoeliidae Johnston, 1912. De la misma manera, propuso una clave para las especies que consideró válidas, la cual estuvo basada en la presencia o ausencia de glándulas perifaríngeas, así como de la prefaringe, relación de los diámetros de la ventosa oral y el acetábulo, y ubicación y tamaño de los testículos. En esta clave, Caballero incluyó a las nueve especies consideradas por Olsen (1937a) y adicionó a *G. rugocaudata* (Yoshida, 1916) Yahata, 1934, parásito de *Rana nigromaculata* Hallowell, 1861 de Japón. Originalmente, esta especie fue incluida en el género *Enodiotrema* Loss, 1902 por Yoshida (1916). Sin embargo, Yahata (1934) observó diferencias sustanciales entre el aparato excretor de esta especie y el aparato excretor de las demás especies de *Enodiotrema*, y resaltó la semejanza de *E. rugocaudata* Yoshida, 1916 con *G. californiensis*, por lo que decidió transferir a la especie a *Glythelmins*, convirtiéndose de esta manera en *G. rugocaudata*.

Teixeira de Freitas (1941) adicionó dos nuevas especies al género *Glythelmins*: *G. simulans* Teixeira de Freitas 1941 y *G. proximus* Teixeira de Freitas 1941, parásitos de *L. ocellatus* de Montevideo, Uruguay. Asimismo, aceptó la transferencia de *H. palmipedis* a *Glythelmins*, realizada por Travassos (1930) y consideró a la especie *Metorchis leptodactylus* Savazzini, 1930 sinónimo de *G. palmipedis*.

El género *Choledocystus* Pereira & Cuocolo, 1941 fue establecido por Pereira & Cuocolo (1941), para incluir a la especie *Choledocystus eucharis* Pereira & Cuocolo, 1941, parásito de los conductos biliares de *L. ocellatus* de Brasil. Los autores mencionaron que *Choledocystus* era similar a *Glythelmins*, pero que se podía diferenciar de éste por la ausencia de un receptáculo seminal. Además, incluyeron al nuevo género en la familia Plagiorchiidae (Lühe, 1901) Ward, 1917. Posteriormente, Ruiz & Leão (1942) aceptaron la validez de *Choledocystus* y describieron una nueva especie, *Choledocystus vesicalis* Ruiz & Leão 1942, parásito de la vesícula biliar de *Bufo marinus* (Linnaeus, 1758) en Sao Paulo, Brasil. Estos autores separaron a la nueva especie de la especie tipo, por el tamaño del cuerpo, la posición del acetábulo, la posición de los testículos, la extensión de las glándulas vitelógenas y la especie del huésped. Por su parte, Caballero *et al.* (1944), adicionaron una tercera especie al género, *Choledocystus intermedius* Caballero, Bravo & Zerecero, 1944 del hígado y vesícula biliar de *B. marinus* de Chiapas, México.

¹ Caballero, C. E. (1938) Contribución al conocimiento de la Helmintofauna de México. Tesis Doctoral Facultad de Filosofía y Estudios Superiores, UNAM, México. 149 pp.

Cordero (1944) incrementó el número de especies de *Glythelmins* a 15, al describir dos nuevas especies provenientes de Uruguay, *G. festina* Cordero, 1944 y *G. sera* Cordero 1944, parásitos de *Bufo arenarum* Hensel, 1867 y *Chthonerpeton indistinctum* (Reinhardt and Lütken, 1862), respectivamente.

Considerando la sugerencia de Miller (1930) sobre la revisión del género, Rankin (1944) realizó un estudio sistemático de las especies del género *Glythelmins*, parásitas de anfibios de Estados Unidos y Canadá y de material proveniente de Panamá. Para dicho trabajo, empleó las claves de Olsen (1937a) y Caballero (1938)¹, encontrando que al tratar de identificar a los parásitos a nivel específico, estas claves eran inoperantes, por lo cual decidió basarse en caracteres que no presentaran tanta variación, como aquellos utilizados por los autores mencionados. De esta manera, sugirió utilizar rasgos como la presencia y forma del metratermo, la extensión de las asas uterinas y de las glándulas vitelógenas, lo cual le permitió separar y diferenciar a las distintas especies. Empleando los caracteres anteriores, Rankin (1944) consideró sólo cuatro especies válidas: *G. quieta*, *G. elegans*, *G. linguatula* y *G. repandum*, y sugirió que los caracteres presentes en las últimas tres especies posiblemente las eliminarían del género *Glythelmins*. Asimismo, sinonimizó a las especies *G. californiensis*, *G. parva*, *G. rugocaudata*, *G. shastai*, *G. staffordi*, y *G. subtropica* con la especie tipo, e incluyó una discusión relacionada con la variación morfológica de los adultos de la especie *G. quieta*, basándose en la observación de cientos de ejemplares vivos colectados de *R. catesbeiana* de Seattle y Washington, E. U. Finalmente, completó experimentalmente el ciclo de vida de *G. quieta*.

Ruiz (1949) ratificó la validez de *Choledocystus* y adicionó dos diferencias morfológicas con respecto a *Glythelmins*: la configuración de las asas uterinas y la presencia de una estructura pequeña en forma de ventosa que rodea al atrio genital. Adicionalmente, realizó un estudio comparativo entre las especies descritas como *G. elegans*, *C. eucharis* y *C. vesicalis* (todas parásitas de anuros de Brasil) y concluyó que *G. elegans* no debía estar incluida en *Glythelmins*, por lo que decidió transferirla al género *Choledocystus*, con lo cual la especie se convirtió en *C. elegans* (Travassos, 1926) Ruiz, 1949. De la misma manera, sinonimizó a *C. eucharis* y *C. vesicalis* con *C. elegans* y la denominó especie tipo del género *Choledocystus*, ya que ésta tenía prioridad sobre la otra especie válida del género, *C. intermedius*.

Byrd (1950) aceptó las propuestas hechas por Rankin (1944) acerca de la variabilidad intraespecífica de la especie tipo y de la validez de las especies *G. quieta*, *G. linguatula* y *G. elegans*. Además, transfirió a *G. repandum* al género *Microderma* Mehra, 1931, argumentando que la especie presentaba características similares a las exhibidas por las demás especies de *Microderma*. Los caracteres que le llevaron a tomar tal decisión fueron: la presencia de

¹ Caballero, C. E. (1938)

testículos diagonales (un testículo completamente detrás del otro), la ubicación de los testículos con respecto al ovario y la distribución posterior de las glándulas vitelógenas. Por otro lado, puntualizó que las especies *G. linguatula* y *G. elegans* presentaban diferencias sustanciales con respecto a la especie tipo (*G. quieta*) y sugirió que éstas podían ser excluidas del género. Sin embargo, decidió mantenerlas en *Glyphelmins*.

Siguiendo con la problemática taxonómica de las especies pertenecientes al género *Glyphelmins*, Babero (1951a) mencionó dos alternativas que desde su punto de vista, podrían corregir la sistemática del grupo; por una parte, sugirió crear un género nuevo para situar a las especies de Sudamérica y por otro lado, corregir la diagnosis genérica, de forma que las características empleadas en la misma englobaran a estas especies. La propuesta de estas alternativas surgió del estudio de los tipos y paratipos disponibles de las especies asignadas a este género, del estudio de la literatura disponible hasta ese momento, así como de la discusión y comentarios personales de investigadores que habían trabajado con *Glyphelmins*. En una comunicación personal, Freitas mencionó a Babero (1951a) que las especies del género podían ser divididas en dos grupos: a) las especies con glándulas perifaríngeas y sin asas uterinas desarrolladas en la zona pretesticular y b) las especies sin glándulas perifaríngeas y con asas uterinas desarrolladas en la zona pretesticular. A partir de lo anterior, Babero mencionó que un nuevo género debía ser erigido para incluir a las especies *G. linguatula*, *G. repandum*, *G. palmipedis*, *G. simulans* y *G. proximus* ya que éstas carecían de glándulas perifaríngeas y presentaban asas uterinas desarrolladas en la zona pretesticular. Decidió retener a *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. rugocaudata*, *G. shastai*, *G. staffordi* y *G. subtropica* como especies constitutivas de *Glyphelmins*. Por otro lado, difirió de la opinión de Byrd (1950) en no considerar a *G. repandum* como un miembro más de *Microderma*, debido a que las especies que constituyen a este género se caracterizan por la ausencia de un esófago y una vesícula seminal en espiral. Asimismo, expresó la necesidad de realizar un estudio más detallado de *G. elegans*, ya que no estaba de acuerdo en la transferencia de ésta a *Choledocystus*. Por último, consideró que los géneros *Choledocystus*, *Astiotrema* Looss, 1900 y *Glyphelmins* estaban filogenéticamente relacionados, sugiriendo que *Choledocystus* representaba un estado intermedio entre *Glyphelmins* y *Astiotrema*, argumento basado en las características de la vesícula excretora.

En el mismo año, Babero (1951b) describió un digéneo colectado en el intestino de una "rana verde" de México, para el cual estableció al género *Rauschiella* Babero, 1951 con la especie *Rauschiella tineri* Babero, 1951. En este trabajo, puntualizó que el nuevo género podía diferenciarse de *Glyphelmins* por presentar una vesícula excretora en forma de "Y", un útero que no se extiende por detrás del margen posterior de los ciegos intestinales, una vesícula seminal enrollada y un arreglo característico de las glándulas vitelógenas. Además, al examinar

ejemplares de *G. repandum*, encontró ciertas semejanzas entre esta especie y *R. tineri*, por lo que decidió transferirla al género *Rauschiella*.

En su trabajo denominado *Systema Helminthum*, Yamaguti (1958) sinonimizó a los géneros *Margeana* Cort, 1919 y *Choledocystus* con *Glythelmins*, sin especificar los motivos de tal decisión. Presentó una diagnosis genérica de *Glythelmins* y lo situó en la familia Plagiorchiidae, subfamilia Plagiorchiinae. Finalmente, enlistó 17 especies válidas para *Glythelmins*, incluyendo a *G. africana* Dollfus, 1950, parásito de *Rana mascareniensis* Duméril and Bibron, 1841 del Congo Belga (Dollfus, 1950).

Al efectuar una revisión de la familia Plagiorchiidae, Skrjabin & Antipin (1958) consideraron a *Glythelmins* miembro de la subfamilia Plagiorchiinae y reconocieron 17 especies válidas de *Glythelmins*, incluyendo a *G. diana* Belous, 1958, parásito de *Rana temporaria* Linnaeus, 1758 de la ex Unión Soviética.

Más adelante, Cheng (1959) en una revisión de las especies de *Glythelmins*, estableció la subfamilia Glythelminae Cheng, 1959 y la incluyó en la familia Brachycoeliidae. Además, reestableció el género *Margeana* con base en la ausencia de glándulas perifaríngeas, con lo cual defendió el valor de este carácter como diagnóstico a nivel genérico. Por lo tanto, en su trabajo solo tomó en cuenta a las especies *G. quieta*, *G. subtropica* y *G. festina* como constitutivas de *Glythelmins*, e incluyó a las especies restantes (*G. californiensis*, *G. linguatula*, *G. repandum*, *G. parva*, *G. elegans*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. shastai*, *G. simulans*, *G. proximus* y *G. sera*) en el género *Margeana*. Finalmente, erigió el género *Reynoldstrema* Cheng, 1959 para transferir a *G. africana*, basándose en la ubicación posterior de los testículos y del útero y argumentando que tales características no correspondían con las diagnósticas de los géneros *Glythelmins* y *Margeana*.

En un estudio del desarrollo de esporocistos en el ciclo de vida de *G. quieta*, Schell (1962) removió a *Glythelmins* de la familia Plagiorchiidae y lo situó en la familia Macroderoididae McMullen, 1937, con base en las características de la cercaria y del ciclo de vida.

Byrd & Maples (1963a) rechazaron el establecimiento de la subfamilia Glythelminae por Cheng (1959) debido a que los caracteres diagnósticos de la misma eran semejantes a los de la subfamilia Plagiorchiinae. De la misma manera, no aceptaron el reestablecimiento de *Margeana* basado únicamente en la ausencia de glándulas perifaríngeas en algunas especies, ya que enfatizaron que la apariencia de las glándulas es muy variable de acuerdo a la técnica de tinción que se utilice, pues con ciertos colorantes éstas se observan perfectamente, mientras que con otros no se tiñen o se tiñen tenuemente. Adicionalmente, consideraron válido al género *Choledocystus* y transfirieron a *Glythelmins pennsylvaniensis* Cheng, 1961, parásito de *Hyla crucifer* Wied-Neuwied, 1838 de Pennsylvania, E.U., a este género, por lo que la especie pasó a

ser *C. pennsylvaniensis* (Cheng, 1961) Byrd & Maples, 1963. Finalmente, erigieron al género *Repandum* Byrd & Maples, 1963, siguiendo la sugerencia hecha por Babero (1951a) de que *G. repandum* no debía estar incluida en *Microderma*. Por lo tanto, trasladaron a las especies *G. repandum*, *G. palmipedis* y *G. sera* al género *Repandum*.

Reconociendo la propuesta hecha por Schell en 1962 de transferir a *Glypthelmins* a la familia Macroderoididae, Odening (1964) estableció la subfamilia Macroderoidinae Odening, 1964 e incluyó en ésta a los géneros *Glypthelmins*, *Choledocystus*, *Reynoldstrema* y *Repandum*.

Nasir (1966) adicionó dos nuevas especies al género *Glypthelmins*: *G. incurvatum* Nasir 1966 y *G. ramitesticularis* Nasir 1966, ambas parásitas de *Pseudis paradoxa* (Linnaeus, 1758) de Venezuela. También consideró sinónimos de *Glypthelmins* a los géneros *Margeana*, *Choledocystus*, *Reynoldstrema* y *Repandum*, y presentó una lista de 20 especies válidas de *Glypthelmins*, incluyendo en ella a *G. vitellinophilum* Dobbin, 1958 y *G. facioi* Brenes, Madrigal, Arroyo Sancho, Jiménez-Quiroz & Delgado Flores, 1959, provenientes de Brasil y Costa Rica, respectivamente (Dobbin, 1958; Brenes *et al.*, 1959). Juzgó sinónimos de *G. linguatula* a las especies *G. palmipedis*, *G. sera* y *G. simulans*. Además consideró a *G. subtropica* como sinónimo de *G. quieta*, y a *C. eucharis* como sinónimo de *G. elegans*.

Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967a y 1967b) describieron dos nuevas especies, una de Argentina y la otra de Uruguay. Ambas especies fueron incluidas en el género *Margeana*, y designadas como *M. pseudium* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967 y *M. chaquensis* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967. Los autores argumentaron que estas especies pertenecían a *Margeana* porque ambas carecían de glándulas perifaríngeas y porque se ajustaban a las diagnosis genéricas presentadas por Cort (1919) y Cheng (1959). Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967a), siguiendo la propuesta hecha por Cheng en 1959, puntualizaron que todas las especies sudamericanas pertenecían a *Margeana*, excepto *G. festina*. Por lo tanto, consideraron necesario transferir a *G. vitellinophilum* a *Margeana*, convirtiéndose de esta manera en *M. vitellinophilum* (Dobbin, 1958) Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1967.

Al describir a la especie *G. hyloreus* Martin, 1969 y su ciclo de vida, Martin (1969) difirió de la opinión de Byrd & Maples (1963a) de transferir a *G. pennsylvaniensis* al género *Choledocystus*, argumentando que Byrd & Maples habían pasado por alto la presencia de un receptáculo seminal bien desarrollado, característica sustancial utilizada por Pereira & Cuocolo (1941) y Ruiz (1949) para diferenciar a *Glypthelmins* de *Choledocystus*. Además, Martin consideró prematura la propuesta de Nasir (1966) de considerar a *C. elegans* como miembro de *Glypthelmins*.

Utilizando criterios como las proporciones entre las ventosas, la presencia o ausencia de prefaringe, el tamaño relativo de los testículos y el ovario, la forma de los testículos y la

extensión de los folículos vitelógenos, Nasir & Diaz (1970) reconocieron 13 especies dentro de *Glyphelmins*, proponiendo sinonimias entre algunas de las 20 especies consideradas válidas por Nasir (1966). Los autores incluyeron al género *Glyphelmins* en la familia Macroderoiidae[®], subfamilia Macroderoidinae.

Suriano (1968) describió a *G. bilianis* Suriano, 1968, parásito de la vesícula biliar de *Leptodactylus ocellatus* de Argentina. Posteriormente, Suriano (1970) realizó un estudio de la helmintofauna de *L. ocellatus* y registró a las especies *G. palmipedis* y *G. bilianis*. Finalmente, presentó una lista de 23 especies que consideró válidas para *Glyphelmins*.

En una revisión del ciclo de vida de *C. pennsylvaniensis*, Sullivan & Byrd (1970) no estuvieron de acuerdo con Cheng (1961a) en cuanto a algunas de las observaciones del ciclo de vida de *G. pennsylvaniensis*. Ellos encontraron diferencias importantes entre las características de los esporocistos y las cercarias descritas por Cheng y las observadas por ellos. Además, contrario a lo sugerido por Martin (1969) acerca de la no inclusión de *C. pennsylvaniensis* en el género *Choledocystus*, los autores defendieron tal posición taxonómica puntualizando que la presencia o ausencia de un receptáculo seminal no es una característica relevante a nivel genérico.

Yamaguti (1971) ratificó la sinonimia de *Margeana* y *Choledocystus* con *Glyphelmins*, adicionando a *Reperandum* como sinónimo de este último; sin embargo, al igual que en 1958, no argumentó tal decisión. En cuanto al género *Rauschiella*, lo consideró válido y lo incluyó junto con *Glyphelmins* en la familia Macroderoididae, aunque en subfamilias distintas (Haplometrinae y Glyphelminthinae, respectivamente). Asimismo, presentó una lista de 23 especies válidas para *Glyphelmins*, en la cual no incluyó a las especies descritas por Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967a y 1967b).

En su tesis doctoral, Sullivan (1972)² reconoció la validez de los géneros *Glyphelmins*, *Choledocystus* y *Rauschiella*. Asimismo, erigió al género *Hylotrema* Sullivan, 1972, para incluir a *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*, argumentando que ambas especies presentan asas uterinas bien desarrolladas en el área ventral y en la región anterior a los testículos y útero extendido hasta la zona extracecal.

En un trabajo de los tremátodos parásitos de anfibios de Uruguay, Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1974) ratificaron la validación de *Margeana* hecha por Cheng en 1959, y

[®] Nasir & Diaz (1966) menciona de manera incorrecta a la familia Macroderoididae, ya que la refiere como Macroderoiidae.

² Sullivan, J. J. (1972) The Status of the "Glyphelminth" trematodes with an account of the lifecycle of *Hylotrema pennsylvaniensis* (Cheng, 1961) n. gen., n. comb. Ph. D. Thesis, University of Georgia, USA 158 pp.

describieron a *Margeana sanmartini* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974, parásito del intestino delgado de *C. indistinctum* de Uruguay.

Sullivan (1976) mencionó que las 28 especies de *Glythelmins*, descritas hasta ese momento, podían ser divididas en dos grupos de acuerdo a la forma de la vesícula excretora que presentarían. En el primer grupo colocó a las especies descritas de Norteamérica, a una de Centroamérica y a las registradas en el sureste de Asia, Japón y Corea, que presentan una vesícula excretora en forma de "I". En el segundo grupo incluyó a las especies con vesícula excretora en forma de "Y", 13 distribuidas en Sudamérica, una en América Central y una en México. A partir de esta división, Sullivan (1976) sugirió que las especies con vesícula excretora en forma de "Y" fueran incluidas en la familia Plagiorchidae, mientras que las especies con vesícula excretora en forma de "I" debían considerarse miembros de la familia Macroderoididae. Adicionalmente, corrigió la diagnosis del género *Glythelmins* y planteó que únicamente se incluyeran en éste a las especies con vesícula excretora en forma de "I". Finalmente, propuso varias sinonimias entre las especies con vesícula excretora en forma de "I", considerando válidas a cinco especies (*G. quieta*, *G. rugocaudata*, *G. staffordi*, *G. shastai* y *G. facioi*).

Brooks (1977) aplicó por primera vez la metodología cladista en un estudio con parásitos con el fin de inferir la historia evolutiva de doce géneros de la superfamilia Plagiorchioidea: *Opisthogyph* Looss, 1899; *Opisthiogyph* Looss, 1899; *Glythelmins*; *Astiotrema*; *Mesocoelium* Odhner, 1911; *Haplometroides* Odhner, 1911; *Tremiorchis* Mehra & Negi, 1926; *Haplometrana* Lucker, 1931; *Laiogonimus* Vercammen-Grandjean, 1960; *Ostioloidea* Odening, 1960; *Metaplagiorchis* Timofeeva, 1962; *Xenopodistomum* MacNae, Rock & Makowski, 1973, todos ellos parásitos intestinales de anuros. Una conclusión importante de este estudio fue la estrecha relación entre los géneros *Haplometrana* y *Glythelmins*, a los cuales Brooks consideró grupos hermanos. Por otro lado, examinó las implicaciones acerca de la interrelación entre la hipótesis cladista y la zoogeografía de los géneros, poniendo especial atención en el género *Glythelmins*, ya que las especies que lo constituyen presentan distribución cosmopolita. Con el propósito de obtener una hipótesis filogenética entre algunas especies de *Glythelmins*, Brooks examinó 11 caracteres morfológicos de 19 especies, entre ellas *G. robustus* Brooks, 1976, parásito de *B. marinus* de Colombia. Algunas de las especies contempladas habían sido incluidas en los géneros *Choledocystus*, *Rauschiella* y *Reynoldstrema*. El resultado fue un cladograma (Fig. 1), el cual está constituido por cuatro grupos: los linajes 1 y 2 están integrados principalmente por especies que se distribuyen en Norteamérica, excepto por una de Centroamérica (*G. facioi*) y otra de Sudamérica (*G. robustus*). Los dos linajes restantes, lo conforman las especies que se distribuyen en Sudamérica, África, Asia y Europa. A partir de la hipótesis filogenética generada, Brooks (1977) consideró a *Glythelmins*, *Choledocystus*, *Rauschiella* y a un género aún no descrito, como subgéneros de *Glythelmins*. Adicionalmente,

no aceptó la validez de *Reynoldstrema*, trasladando a *R. africana* Cheng, 1959 a *Glypthelmins*. De la misma manera, transfirió a *R. tineri* al género *Glypthelmins*, argumentando que dicha especie presenta una vesícula excretora en forma de "I" en vez de "Y".

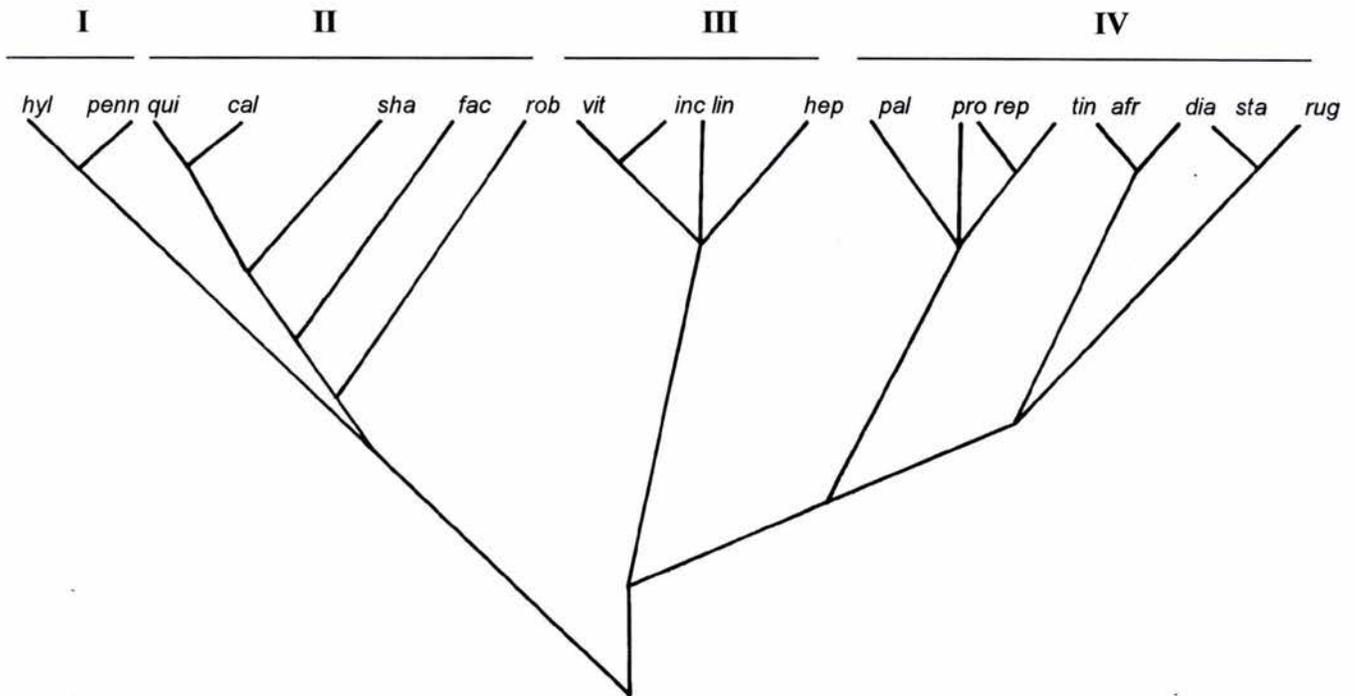


Figura 1. Árbol filogenético de 19 especies de *Glypthelmins* generado del estudio de 11 caracteres morfológicos. Constituido por cuatro linajes (I-IV). Modificado de Brooks (1977). **hyl** = *G. hyloreus*, **penn**= *G. pennsylvaniensis*, **qui**= *G. quieta*, **cal**= *G. californiensis*, **sha**= *G. shastai*, **fac**= *G. facioi*, **rob**= *G. robustus*, **vit**= *G. vitellinophilum*, **inc**= *G. incurvatum*, **lin**= *G. linguatula*, **hep**= *G. hepatica*, **pal**= *G. palmipedis*, **pro**= *G. proximus*, **rep**= *G. repandum*, **tin**= *G. tineri*, **afr**= *G. africana*, **dia**= *G. diana*, **sta**= *G. staffordi*, **rug**= *G. rugocaudata*.

En una revisión del género *Rauschiella*, Sullivan (1977a) consideró a las especies *Repandum repandum* (Rudolphi, 1819) Byrd & Maples, 1963, *G. palmipedis*, *G. sera* y *G. proximus* como miembros de *Rauschiella* y sinonimizó a *Plagiorchis lenti* Teixeira de Freitas, 1941 con *Rauschiella palmipedis* (Lutz, 1928) Sullivan, 1977. Posteriormente, Sullivan (1977b) consideró a *Plagiorchis hepaticus* Lutz, 1928 miembro de *Choledocystus*, transformando a esta especie en *C. hepaticus* (Lutz, 1928) Sullivan, 1977. A su vez, sinonimizó a *C. intermedius* con esta última especie, objetando que Caballero & Diaz-Ungria (1958) no tomaron en cuenta los artículos 12 y 16 del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, por lo que en su opinión los autores se equivocaron al designar a *P. hepaticus nomen nudum* y *C. hepaticus* tenía prioridad sobre *C. intermedius*. Adicionalmente, trasladó a *G. linguatula* a *Choledocystus* y

sinonimizó a *G. parva*, *G. simulans*, *C. eucharis*, *C. vesicalis* y *C. elegans* con *C. linguatula* (Travassos, 1924) Sullivan, 1977.

Prudhoe & Bray (1982), colocaron al género *Glyphelmins* dentro de la familia Plagiorchiidae, señalando que lo componían 27 especies, cinco de las cuales nunca habían sido incluidas en el género [*G. lenti* (Teixeira de Freitas, 1941) Prudhoe & Bray, 1982; *G. rangeli* (Artigas & Zerpa, 1961) Prudhoe & Bray, 1982; *G. pseudium* (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) Prudhoe & Bray, 1982; *G. chaquensis* (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) Prudhoe & Bray, 1982 y *G. sanmartini* (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974) Prudhoe & Bray, 1982]. Difieron de las opiniones de Yamaguti (1958), Nasir (1966), Yamaguti (1971) y Brooks (1977), en cuanto al no considerar al género *Choledocystus* como sinónimo de *Glyphelmins*, ya que para ellos la ausencia de receptáculo seminal y la extensión lateral de las ramas uterinas más allá de los bordes externos de los ciegos y cerca de las glándulas vitelógenas, son diferencias suficientes para reconocer a *Choledocystus* como un género aparte, constituido por cinco especies. Por otra parte, consideraron válido al género *Rauschiella*, argumentando que los organismos representantes de este género poseen una vesícula seminal enrollada y la extensión posterior de las ramas uterinas no ocupa la región posterior del cuerpo, como en el caso de *Glyphelmins*.

Siguiendo la propuesta de Brooks (1977) acerca de la estrecha relación entre los géneros *Haplometrana* y *Glyphelmins*, O'Grady (1987)³ decidió probar las relaciones genealógicas entre ambos géneros. Para ello, analizó 21 caracteres morfológicos (15 binarios y 6 multiestado), de los cuales 20 correspondían a características de los adultos y el restante a rasgos de la cercaria; incluyó un grupo externo compuesto y las especies que constituían a los linajes I y II de la hipótesis filogenética de Brooks (1977): *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. shastai*, *G. facioi*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. robustus*, además de *H. intestinalis* Lucker, 1931, parásito de *Rana pretiosa* Baird and Girard, 1853 en Washington, E. U. El resultado que generó fue un cladograma (Fig. 2), con una longitud de 33 pasos y un índice de consistencia de 0.84, tomando en cuenta a los caracteres autapomórficos. O'Grady encontró que el cladograma estaba constituido por cuatro clados, uno de ellos conformado por las especies *G. californiensis* + *G. quieta* (especies hermanas), + *G. facioi* como especie hermana de las dos primeras. El clado hermano de este primero, lo integran las especies *G. shastai* + *H. intestinalis*, seguido por el clado constituido únicamente por *G. robustus*. El cuarto clado lo constituyen las especies *G. hyloreus* y *G. pennsylvaniensis*. Los clados uno y cuatro, confirman las relaciones genealógicas dilucidadas por Brooks (1977). Basándose en los resultados, O'Grady (1987), concluyó que el

³ O'Grady, R. T. (1987) Phylogenetic systematics and the evolutionary history of some intestinal flatworms parasites (Trematoda: Digenea: Plagiorchiioidea) of anurans. Ph. D. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B. C., Canada. 210 pp.

género *Hylotrema* propuesto por Sullivan (1972) no era válido, a pesar de que las especies *G. hyloreus* y *G. pennsylvaniensis* fueran especies hermanas y conformaran un clado independiente de las demás especies analizadas. Por otro lado, postuló que el género *Haplometrana* (constituido solo por *H. intestinalis*) no es el grupo hermano de *Glythelmins*, si no de hecho es un miembro más de éste. Resultado de lo anterior, el autor propuso la sinonimia de *Haplometrana* con *Glythelmins*, transfiriendo *H. intestinalis* a *G. intestinalis* (Lucker, 1931) O'Grady, 1987.

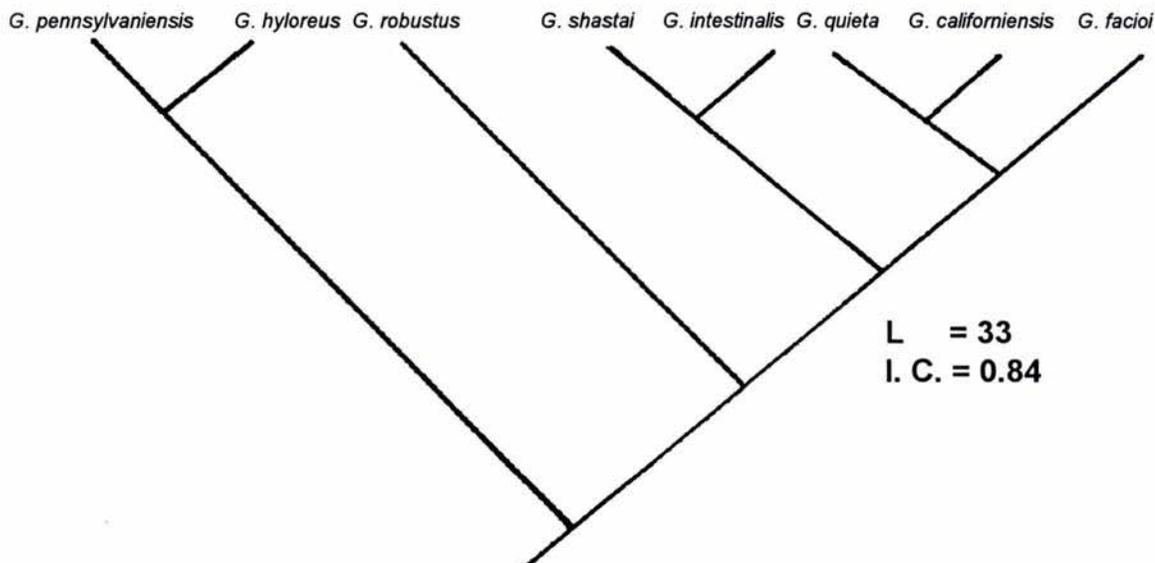
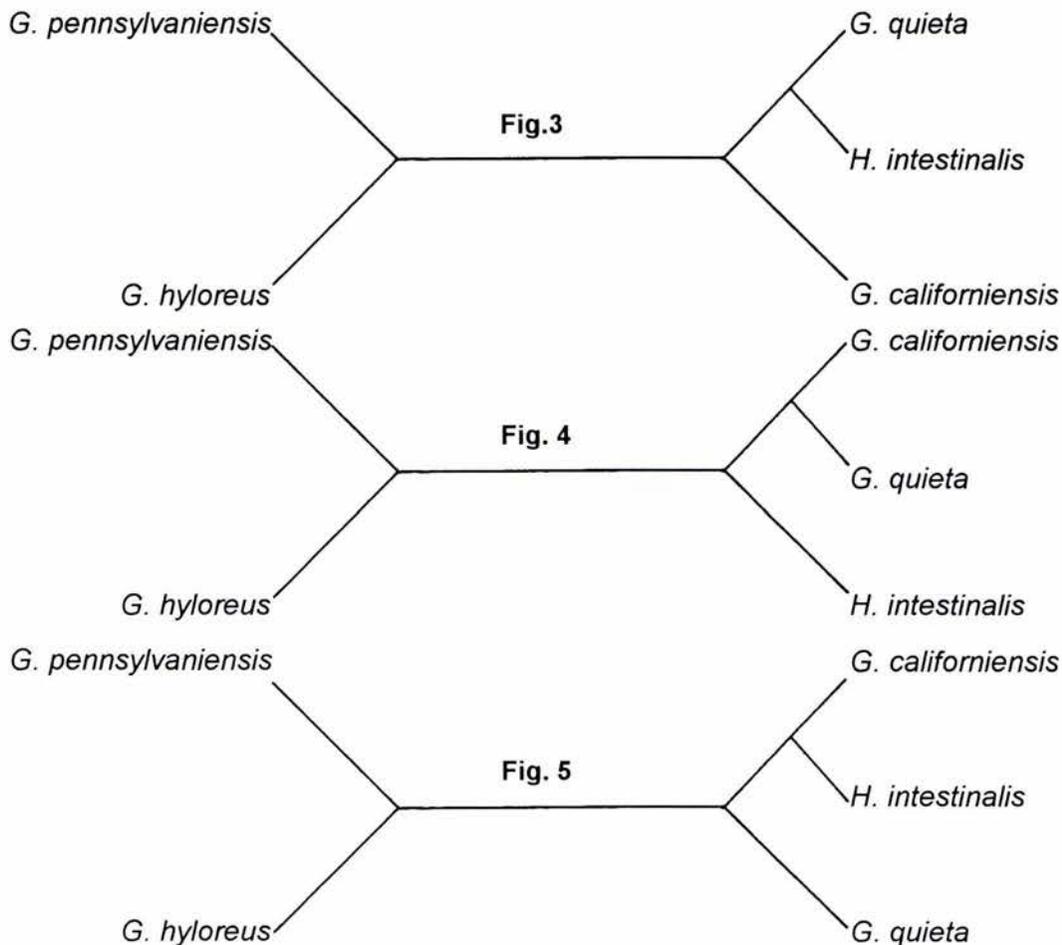


Figura 2. Árbol filogenético obtenido por O'Grady (1987) a partir del estudio de 21 caracteres morfológicos de siete especies de *Glythelmins* y una de *Haplometrana*. El clado norteamericano puede ser considerado monofilético si se incluye a *H. intestinalis* como miembro de *Glythelmins*.

Aplicando por primera vez datos moleculares en el estudio de las relaciones filogenéticas entre *Haplometrana intestinalis* y *Glythelmins californiensis*, Rannala (1990) realizó un estudio de la divergencia genética entre ambas especies utilizando alozimas. El autor, demostró que la divergencia presente entre ambas especies es característica entre especies congénéricas, más que de especies de tremátodos de géneros distintos, concluyendo que *H. intestinalis* está más relacionada con algunos miembros de *Glythelmins* que con cualquier otra especie de género distinto. Posteriormente, al estudiar la correlación entre las distancias genéticas derivadas del estudio de las alozimas de *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. hyloreus*, *G. pennsylvaniensis* y *H. intestinalis*, así como las exhibidas por los huéspedes, Rannala (1992) estimó las relaciones filogenéticas entre algunas de las especies de *Glythelmins* y *Haplometrana* por métodos cladísticos y de distancia (UPGMA). El análisis

cladístico de las alozimas generó tres árboles igualmente parsimoniosos (Figs. 3-5) en los cuales, *G. pennsylvaniensis* + *G. hyloreus* conforman un linaje, lo cual concuerda con los datos morfológicos de Brooks (1977) y O'Grady (1987). El otro linaje está constituido por *G. quieta*, *G. californiensis* y *H. intestinalis*; sin embargo, en cada uno de los árboles, *H. intestinalis* tiene una posición distinta en cuanto a las dos especies restantes. En uno de los árboles, aparece como la especie hermana de *G. californiensis*; en el otro árbol se ubica como pariente más cercano de *G. quieta* y en el último aparece como especie hermana de *G. quieta* + *G. californiensis*.



Figuras 3-5. Cladogramas sin enraizar obtenidos del estudio de alozimas de cuatro especies de *Glythelmins* y una de *Haplometrana*. Rannala (1991) ratificó la propuesta de O'Grady de que *H. intestinalis* debe ser considerada como *G. intestinalis*.

El análisis de distancia, por su parte, mostró que *H. intestinalis* es la especie hermana de las especies *G. quieta* + *G. californiensis*. Finalmente, Rannala (1992) concluyó que no existía una correlación entre las distancias genéticas de los parásitos y sus huéspedes.

Brooks & McLennan (1993) presentaron un cladograma constituido por 19 especies de *Glythelmins*, similar al exhibido por Brooks (1977) excepto por la exclusión de *G. africana* y la inclusión de *G. intestinalis* (Fig. 6). Con la finalidad de descubrir posibles patrones biogeográficos y coevolutivos entre las especies de *Glythelmins* y los huéspedes que parasitan, Brooks & McLennan (1993) combinaron la hipótesis filogenética con la información conocida de la distribución geográfica de las especies, de sus ciclos de vida y de los huéspedes. Los autores optimizaron la distribución de las especies sobre un mapa de lo que fue Pangea y descubrieron dos grupos de especies tropicales. Uno de ellos, distribuido en Sudamérica quien representa el grupo hermano del clado que ocurre en lo que se conoce como Laurasia. El segundo clado tropical, está constituido por tres especies que ocurren en Eurasia y a su vez, junto con un clado constituido por especies de Norte y Centroamérica conforman un clado más grande. A partir de estos resultados, los autores postularon que el género *Glythelmins* es un linaje antiguo que se originó en Gondwana y se dispersó antes de que la Pangea se fragmentara. Al optimizar a los huéspedes en el árbol filogenético de los 19 representantes del género, elucidaron que los ránidos son el huésped plesiomórfico de las especies que se distribuyen en lo que fue Laurasia, es decir (((*G. rugocaudatus*, *G. diana*, *G. staffordi*), ((*G. hyloreus*, *G. pennsylvaniensis*)), ((*G. intestinalis*, *G. shastai*), ((*G. facioi* (*G. quieta* + *G. californiensis*)))))).

Adicionalmente, postularon que debido a que *G. hyloreus* y *G. pennsylvaniensis* parasitan a hílidos y *G. shastai* a bufónidos, esto era resultado de eventos de cambio de huésped independientes, de ránidos a hílidos y de ránidos a bufónidos, respectivamente. Finalmente, propusieron una posible explicación acerca del cambio de huésped de ránidos a hílidos por medio de los ciclos de vida conocidos para algunas de las especies. Postularon que las diferencias en los ciclos de vida de las especies que parasitan a hílidos (*G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*), representan una correlación sumamente importante entre la evolución de un nuevo patrón de ciclo de vida y la colonización de un grupo diferente de huéspedes anuros.

A partir de la revisión histórica del género *Glythelmins*, se pone de manifiesto que la clasificación de este grupo de digéneos parásitos de anuros con distribución cosmopolita, es aún inestable, desconociéndose con certeza las relaciones genealógicas entre éste y los géneros relacionados, y existiendo aún cierta incertidumbre para reconocer su validez taxonómica. Adicionalmente, diferentes autores que han trabajado con el grupo no han llegado a un acuerdo sobre el número total de especies que constituyen al género *Glythelmins*. Este desacuerdo se debe principalmente a: una caracterización genérica incompleta, insuficiente información disponible para los investigadores que han revisado a algunas de las especies del género y a que no ha sido aplicada la sistemática filogenética de manera consistente para reco-

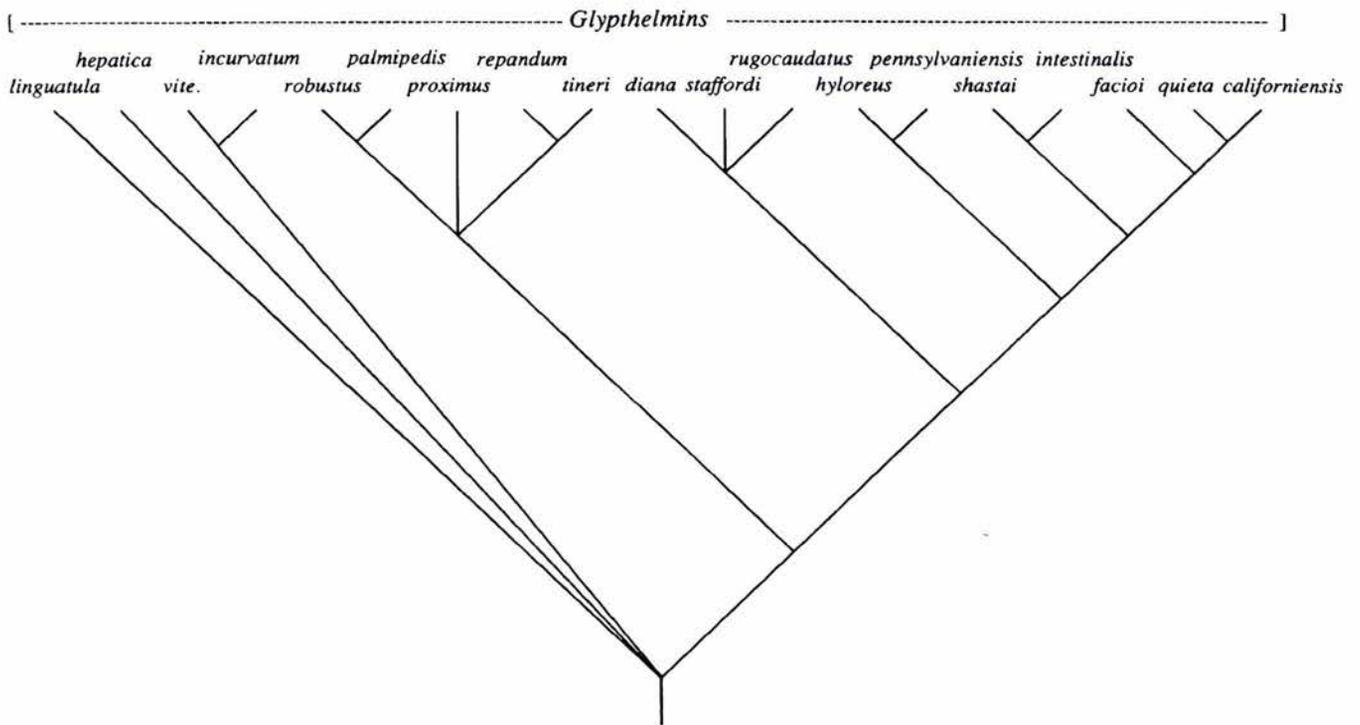


Figura 6. Hipótesis filogenética presentada por Brooks & McLennan (1993), sobre la cual fue optimizada la distribución geográfica de las especies, ciclos de vida y especies de huéspedes parasitados.

nocer los grupos monofiléticos y producir una clasificación que refleje la filogenia.

Los listados más completos de las especies válidas del género, se remontan a la década de los 70's, cuando Yamaguti (1971) enlistó un total de 23 especies. Posteriormente, Prudhoe & Bray (1982) consideraron 27 especies válidas pertenecientes a *Glyphelmins*. Sin embargo, un recuento del número de especies que en algún momento han sido incluidas en *Glyphelmins* indica que se han descrito 36 especies desde el establecimiento del género en 1905 por Stafford (Tabla I, Fig. 7).

Tabla I. Registros originales de las especies del género *Glypthelmins* Stafford, 1905

Especie	Huésped	Hábitat	Localidad	Autor
*+ <i>G. quieta</i>	<i>Hyla pickeringii</i> <i>Rana catesbeiana</i> <i>Rana virescens</i>	Intestino	Canadá	Stafford (1900) Stafford (1905)
*+ <i>G. rugocaudata</i>	<i>Rana nigromaculata</i>	Intestino	Osaka, Japón	Yoshida (1916) Yahata (1934)
*+ <i>G. californiensis</i>	<i>Rana aurora</i> Baird and Girard, 1852	Intestino	San Francisco, California, USA	Cort (1919) Miller (1930)
*+ <i>G. parva</i>	<i>Cystignathus ocellatus</i>	Intestino	Brasil	Travassos (1924)
*+ <i>G. linguatula</i>	<i>Cystignathus ocellatus</i>	Intestino delgado	Brasil	Travassos (1924)
*+ <i>G. repandum</i>	<i>Cystignathus ocellatus</i>	Intestino	Brasil	Travassos (1924)
* <i>G. elegans</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Intestino	Sao Paulo, Brasil	Travassos (1926)
*+ <i>G. staffordi</i>	<i>Rana vittigera</i>	Intestino	Los Baños and Bay, Laguna Province, Luzón, Philippine	Tubangui (1928)
*+ <i>G. palmipedis</i>	<i>Rana palmipes</i>	Pulmones	Caracas, Venezuela	Lutz (1928) Travassos (1930)
<i>G. hepatica</i> (Lutz, 1928) Sullivan, 1977	<i>Bufo marinus</i>	Conductos biliares	Maracay, Aragua, Venezuela	Lutz (1928) Travassos (1930)
<i>G. intestinalis</i>	<i>Rana pretiosa</i>	Intestino	Bothell, Washington, USA	Lucker (1931) O'Grady (1987)
*+ <i>G. subtropica</i>	<i>Rana catesbeiana</i>	Intestino	Houston & Huntsville, Texas, USA	Harwood (1932)
*+ <i>G. shastai</i>	<i>Bufo boreas</i>	Intestino	Glenburn, Shasta County, California, USA	Ingles (1936)
+ <i>G. lenti</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Estómago e intestino	Montevideo, Uruguay	Teixeira de Freitas (1941) Prudhoe & Bray (1982)

*Especies consideradas válidas por Yamaguti (1971); +Especies válidas para Prudhoe & Bray (1982)

Tabla I. (Continuación)

Especie	Huésped	Hábitat	Localidad	Autor
*+ <i>G. simulans</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Estómago, intestino y recto	Montevideo, Uruguay	Teixeira de Freitas (1941)
*+ <i>G. proximus</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Estómago e intestino	Montevideo, Uruguay	Teixeira de Freitas (1941)
* <i>G. vesicalis</i> (Ruiz & Leao, 1942) Yamaguti, 1958	<i>Bufo marinus</i>	Vesícula biliar	Butantan, Sao Paulo, Brasil	Ruiz & Leão (1942) Yamaguti (1958)
* <i>G. intermedia</i> (Caballero, Bravo-Hollis & Zerecero, 1944) Yamaguti, 1958	<i>Bufo marinus</i>	Hígado y Vesícula biliar	Río Huixtla, Huixtla, Chiapas, México	Caballero <i>et al.</i> , (1944) Yamaguti (1958)
*+ <i>G. festina</i>	<i>Bufo arenarum</i>	Vesícula biliar	Carrasco, Montevideo, Uruguay	Cordero (1944)
+ <i>G. sera</i>	<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	Intestino delgado	Carrasco, Montevideo, Uruguay	Cordero (1944)
<i>G. africana</i>	<i>Rana mascareniensis</i>	Duodeno	Sakania, Congo Belge	Dollfus (1950)
<i>G. tineri</i> (Babero, 1951) Brooks, 1977	"rana verde"	Intestino	México	Babero (1951b)
*+ <i>G. vitellinophilum</i>	<i>Hyla raniceps</i>	Intestino delgado	Água Fria, Recife, Estado de Pernambuco, Brasil	Dobbin (1958)
*+ <i>G. diana</i>	<i>Rana temporaria</i> Linnaeus, 1758	Intestino	Primorskii krai, USSR	Belous (1958) <i>in</i> Skrjabin & Antipin (1958)
*+ <i>G. facioi</i>	<i>Rana pipiens</i>	Intestino	Corís Provincia de Cartago, Costa Rica	Brenes <i>et al.</i> , (1959)
*+ <i>G. pennsylvaniensis</i>	<i>Hyla crucifer</i>	Intestino	Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA	Cheng (1961a)
+ <i>G. rangeli</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Intestino	Brasil	Artigas & Zerpa (1961) Prudhoe & Bray (1982)

*Especies consideradas válidas por Yamaguti (1971); +Especies válidas para Prudhoe & Bray (1982)

Tabla I. (Continuación)

Especie	Huésped	Hábitat	Localidad	Autor
✚ <i>G. pseudium</i>	<i>Pseudis mantidactylus</i> Boulenger, 1882	Intestino delgado	Bañados de la Coronilla, Dep. de Rocha; Bañado Tropa Vieja, Canelones, Uruguay	Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967a)
✚ <i>G. chaquensis</i>	<i>Leptodactylus laticeps</i> Boulenger, 1918	Intestino delgado	Ing. Suárez Formosa, Chaco Argentino	Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967b)
<i>G. biliaris</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Vesícula biliar	República Argentina	Suriano (1968)
*✚ <i>G. hylareus</i>	<i>Hyla regilla</i> Boulenger, 1882	Intestino	Near Corvallis, Linn County, Oregon, USA	Martin (1969)
*✚ <i>G. incurvatum</i>	<i>Pseudis paradoxa</i>	Intestino	Valle de la Pascua, Estado de Guarico, Venezuela	Nasir (1966)
*✚ <i>G. ramitesticularis</i>	<i>Pseudis paradoxa</i>	Pulmones	Valle de la Pascua, Estado de Guarico, Venezuela	Nasir (1966)
✚ <i>G. sanmartini</i>	<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	Intestino delgado	Bañado Tropa Vieja, Departamento de Canelones, Uruguay	Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1974)
✚ <i>G. robustus</i> Brooks, 1976	<i>Bufo marinus</i>	Intestino delgado	15 km. west of Neiva, Huila, Colombia	Brooks (1976a)
<i>G. poncedeleoni</i> Razo-Mendivil & León-Règagnon, 2001	<i>Leptodactylus melanonotus</i>	Intestino delgado	Ranchería Benito Juárez, km. 52, Carr. 180, Tabasco-Frontera, Tabasco	Razo-Mendivil & León-Règagnon (2001)

*Especies consideradas válidas por Yamaguti (1971); ✚Especies válidas para Prudhoe & Bray (1982)

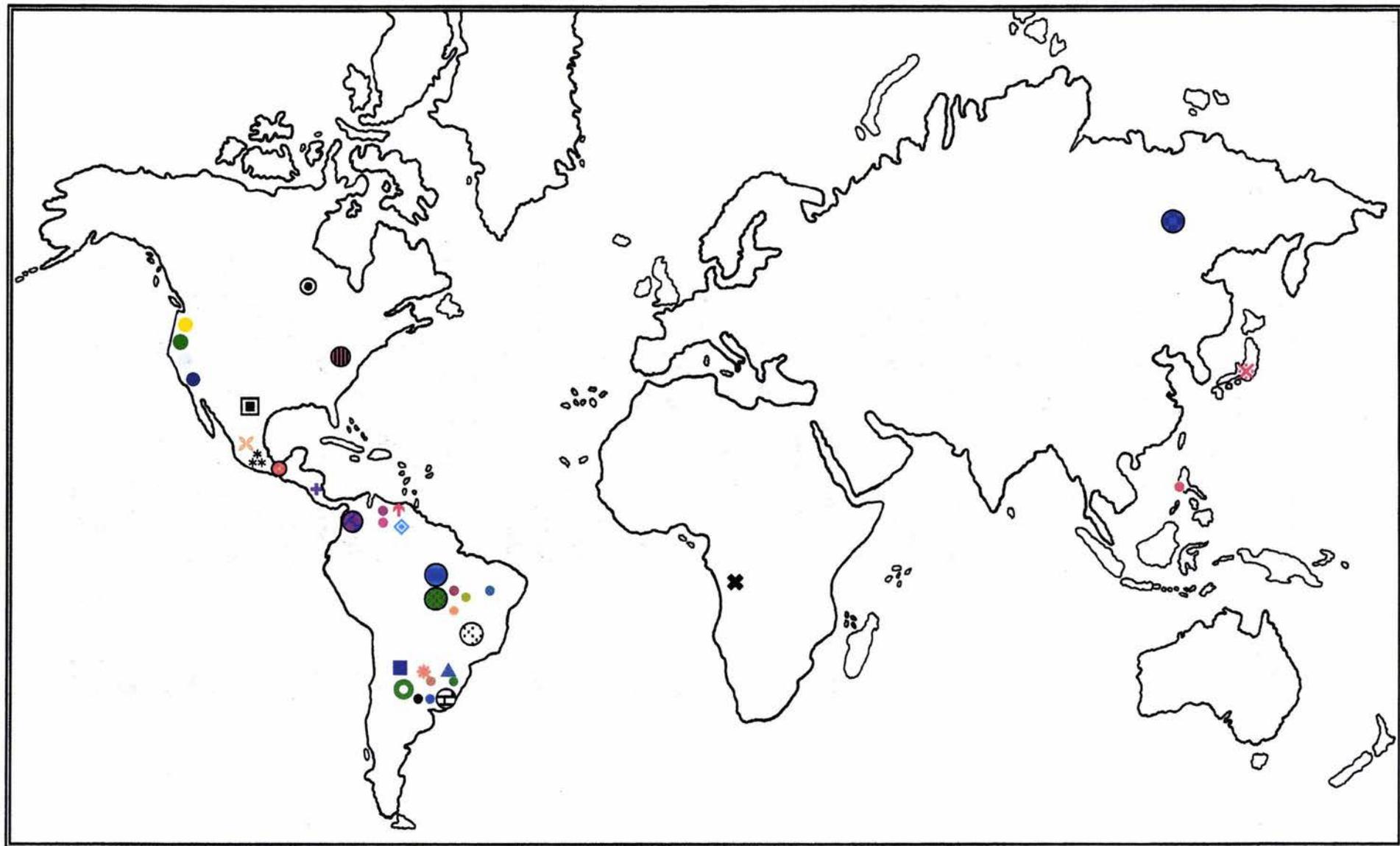


Fig. 7. Distribución geográfica de las 36 especies que han sido consideradas miembros de *Glythelmins*.

Símbolo	Especie
⊙	<i>Glyphelmins quieta</i>
✖	<i>Glyphelmins rugocaudata</i>
●	<i>Glyphelmins californiensis</i>
●	<i>Glyphelmins linguatula</i>
●	<i>Glyphelmins parva</i>
●	<i>Glyphelmins repandum</i>
●	<i>Glyphelmins elegans</i>
●	<i>Glyphelmins staffordi</i>
●	<i>Glyphelmins hepatica</i>
●	<i>Glyphelmins palmipedis</i>
●	<i>Glyphelmins intestinalis</i>
◻	<i>Glyphelmins subtropica</i>
●	<i>Glyphelmins shastai</i>
●	<i>Glyphelmins lenti</i>
●	<i>Glyphelmins simulans</i>
●	<i>Glyphelmins proximus</i>
⊙	<i>Glyphelmins vesicalis</i>
✖	<i>Glyphelmins intermedia</i>
●	<i>Glyphelmins festina</i>
⊕	<i>Glyphelmins sera</i>
✖	<i>Glyphelmins africana</i>
✖	<i>Glyphelmins tineri</i>
●	<i>Glyphelmins vitellinophilum</i>
●	<i>Glyphelmins diana</i>
+	<i>Glyphelmins facioi</i>
●	<i>Glyphelmins pennsylvaniensis</i>
●	<i>Glyphelmins rangeli</i>
✖	<i>Glyphelmins pseudium</i>
⊙	<i>Glyphelmins chaquensis</i>
■	<i>Glyphelmins biliaris</i>
●	<i>Glyphelmins hyloreus</i>
◊	<i>Glyphelmins incurvatum</i>
↑	<i>Glyphelmins ramitesticularis</i>
▲	<i>Glyphelmins sanmartini</i>
●	<i>Glyphelmins robustus</i>
●	<i>Glyphelmins poncedeleoni</i>

Símbolos que corresponden a cada una de las especies de la Figura 7.

1.2. CARACTERES MOLECULARES

Tradicionalmente, los caracteres morfológicos han constituido la única base para los estudios taxonómicos, generando el sistema básico de clasificación para gran parte de los taxones. En la medida en que los sistemas de clasificación de los seres vivos se pretenden refinar y/o robustecer, se han usado datos adicionales provenientes de: cromosomas, citoquímica, micromorfología, anatomía y ultraestructura, etc. La incorporación de los caracteres moleculares, ha sido útil en el estudio de taxones donde los caracteres morfológicos, por sí solos, no han permitido resolver los problemas taxonómicos. Estos pueden provenir de biomoléculas como las proteínas y los ácidos nucleicos, e incluyen reacciones inmunológicas, isoenzimas, secuencias de proteínas, hibridación de DNA-DNA, patrones de bandeo con enzimas de restricción tales como los RFLP's (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), los RAPD's (polimorfismo del DNA amplificado al azar), el "fingerprinting" o huella digital del DNA y las secuencias de genes particulares provenientes del DNA ribosomal o del DNA mitocondrial (González, 1997).

El perfeccionamiento de las técnicas de extracción del DNA genómico total, la aplicación de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la secuenciación de los ácidos nucleicos de los distintos genes han contribuido en la obtención de una gran cantidad de caracteres moleculares, extraordinariamente útiles en estudios sistemáticos. A finales de la década de los años 80's, estas técnicas comenzaron a aplicarse en la caracterización e identificación de helmintos parásitos de animales domésticos y del hombre, con lo cual, paulatinamente se han convertido en una herramienta complementaria en la sistemática de los distintos grupos de helmintos (Rollinson *et al.*, 1986). En los Platelminotos, particularmente en el grupo de los digéneos, el análisis de las secuencias de nucleótidos provenientes de los genes nucleares y mitocondriales han sido empleadas como fuentes de información para caracterizar y diferenciar especies e inferir la historia evolutiva de estos organismos a distintos niveles de universalidad (Luton *et al.*, 1992; Littlewood & Johnston, 1995; Fernández *et al.*, 1998; van Herweden *et al.*, 1998; León-Règagnon *et al.*, 1999; Iwagami *et al.*, 2000; Bell *et al.*, 2001).

1.2.1. COMPLEJO RIBOSOMAL

Los genes ribosomales son utilizados ampliamente como marcadores moleculares, ya que en la mayoría de los eucariontes, el RNA ribosomal (rRNA) está organizado en grupos de unidades repetidas en cadena (una tras otra), que constituyen la unidad de transcripción. La estructura del complejo ribosomal incluye una región codificadora, una región que no codifica pero que es transcrita y una región espaciadora que no se transcribe (NTS) (Fig. 8). En conjunto, estas tres regiones originan el precursor del RNA ribosomal. La región codificadora se

transcribe en la subunidad corta (gen 18S), la subunidad 5.8S (gen 5.8S) y la subunidad larga (gen 28S). La región que no codifica para rRNA pero que es transcrita, está constituida por dos espaciadores internos transcritos (ITS1 e ITS2), los cuales son degradados durante el procesamiento del RNA. El gen del rRNA de la subunidad 5.8S, generalmente es transcrito de forma independiente de los demás RNA (González, 1997). Las copias múltiples de este complejo de genes son idénticas dentro de un organismo dado (exceptuando pseudogenes fácilmente diferenciables) debido a procesos de recombinación génica que mantienen la homogeneidad de secuencia en todas las copias de los genes ribosomales (Blair *et al.*, 1996; Carranza *et al.*, 1996).

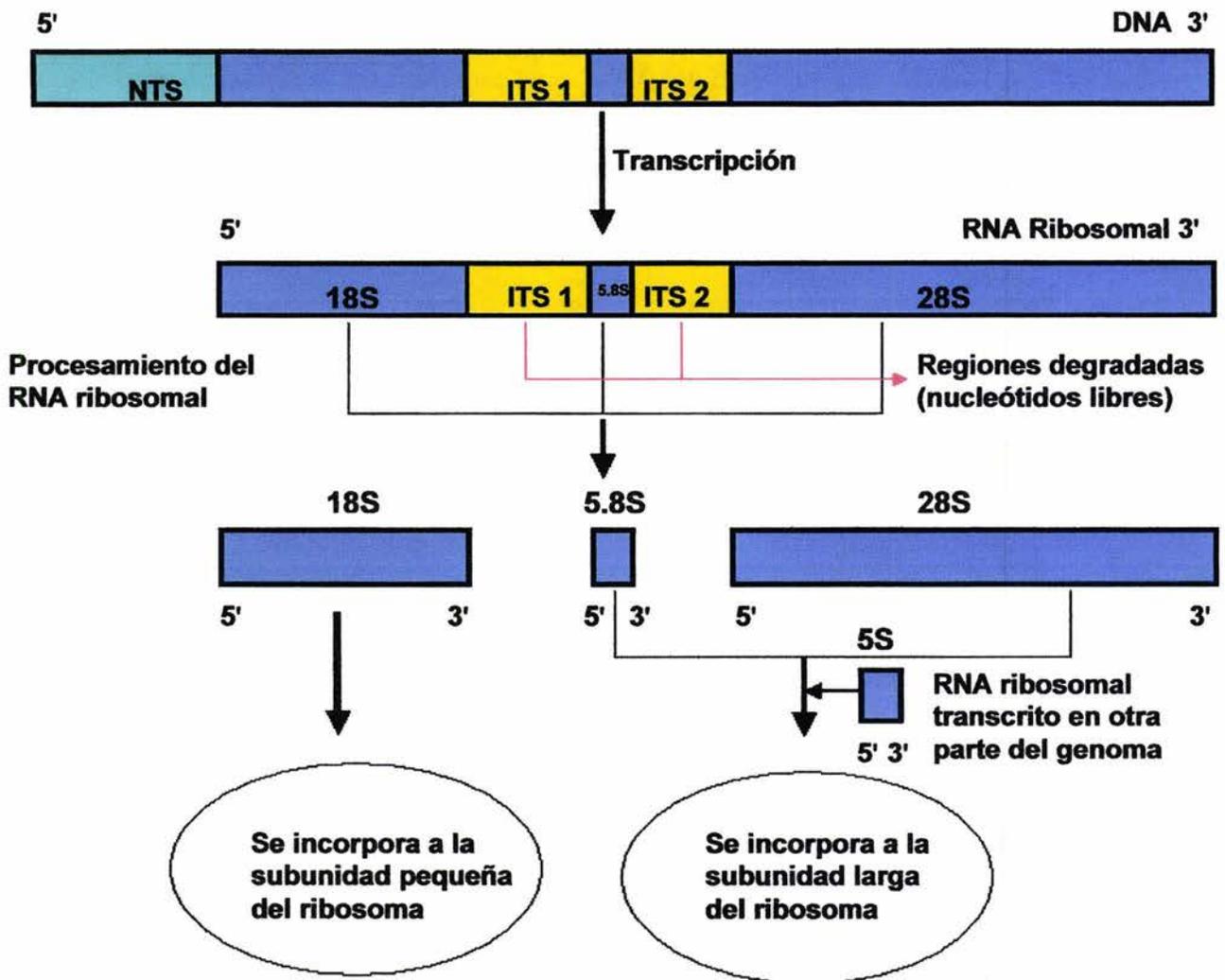


Figura 8. Estructura del complejo ribosomal, la cual incluye una región codificadora (genes 18S, 5.8S y 28S), una región que no codifica pero que es transcrita (ITS1 e ITS2) y una región espaciadora que no se transcribe (NTS).

Las diferentes tasas de evolución entre y dentro de estos genes y espaciadores, proporcionan información útil sobre un amplio rango de niveles de divergencia (Blair *et al.*, 1996). Los ITS (1 y 2) son las regiones menos conservadas usadas en la discriminación entre especies y en la reconstrucción filogenética de varios grupos de digéneos de divergencia reciente -especies, géneros- (Bowles *et al.*, 1995; Anderson & Barker, 1998; van Herweden *et al.*, 1999; Tkach *et al.*, 2000a). Por otro lado, el gen de la subunidad pequeña, el 18S (el más conservado de los genes ribosomales) ha sido ampliamente utilizado para probar la monofilia del phylum Platyhelminthes o para elucidar las relaciones filogenéticas entre familias, géneros o aún entre especies de la subclase Digenea (Johnston *et al.*, 1993; Fernández *et al.*, 1998; Campos *et al.*, 1998; Norén & Jondelius, 1999). Dado que es un gen lo suficientemente grande, proporciona una gran cantidad de información validada estadísticamente; por otro lado, aunque es una molécula que evoluciona muy lentamente; las regiones que lo constituyen, presentan tasas evolutivas desiguales. Además, la presencia de muchas copias por genoma y su homogenización a través de la evolución concertada reduce grandemente la variación intra-específica (Carranza *et al.*, 1996).

Al igual que el gen 18S, el gen que forma parte de la subunidad larga del rRNA, el gen 28S presenta distintas regiones (dominios) que poseen un patrón complejo de variación en las tasas de sustitución de nucleótidos. La diversidad de dominios (D1-D18) que conforman al gen provee un conjunto de indicadores internos que ha demostrado ser útiles en la evaluación de relaciones filogenéticas en intervalos de tiempo cortos y largos (Qu *et al.*, 1988). Generalmente, la información generada de la secuenciación de los nucleótidos del gen 28S ha permitido elucidar y robustecer hipótesis filogenéticas entre algunas familias, géneros y especies del suborden Plagiorchiata (Littlewood & Johnston, 1995; Barker & Blair, 1996; Tkach *et al.*, 2000b; Tkach *et al.*, 2001b y 2001c, León-Régagnon & Brooks, 2003). Finalmente, la información que proporciona el gen ribosomal 28S también ha comenzado a ser empleada en la delimitación de especies pertenecientes a géneros como *Haematoloechus* Looss, 1899 ó *Bolbophorus* Dubois, 1935, entre otros (León-Régagnon *et al.*, 2001; León-Régagnon & Paredes Calderón, 2002; Overstreet *et al.*, 2002).

1.2.2. GENES MITOCONDRIALES

Al igual que el genoma mitocondrial de la mayoría de los metazoarios, el DNA mitocondrial (mtDNA) de los Platelminthos es un genoma de forma circular y de tamaño pequeño (14 a 20 kilobases). Salvo ciertas excepciones, el mtDNA está constituido por 2 genes de RNA ribosomal (rRNA), 22 RNA's de transferencia (tRNA) y 13 genes que codifican para proteínas, las cuales forman parte de las enzimas del transporte de electrones o de la síntesis de ATP (González, 1997; Lee *et al.*, 2002).

El mtDNA contiene secuencias génicas con diferentes tasas evolutivas y un arreglo de genes variable entre taxa, lo cual repercute en una mayor acumulación de sustituciones con respecto a los genes nucleares (Avice, 1994; Hillis *et al.*, 1996). Estas características han sido aprovechadas en estudios de la variación inter e intraespecífica, diferenciación de especies y estudios filogenéticos en varios grupos de platelmintos. En particular, en el grupo de los digéneos los genes generalmente empleados en estudios sistemáticos han sido aquellos que codifican para las subunidad 1 de la enzima citocromo oxidasa (*cox1*), citocromo b (*cob*) y para las distintas subunidades del complejo de la NADH deshidrogenasa [NADH 1-4 ó ND 1-4] (González, 1997; Le *et al.*, 2000; Overstreet *et al.*, 2002). Las secuencias del gen *cox1* han sido usadas para delimitar especies y proponer hipótesis filogenéticas entre miembros de los géneros *Paragonimus* Braun, 1899, *Echinostoma* Rudolphi, 1809, *Ichthyocotylurus* Odening, 1969 (Iwagami, *et al.*, 2000; Morgan & Blair, 1998; Bell *et al.*, 2001). Asimismo, el gen ND1 ha sido utilizado para inferir las relaciones filogenéticas entre algunos miembros de la familia Campulidae y Nasitremitidae (Fernández *et al.*, 1998).

2. ANTECEDENTES

2.1. ESPECIES DE *GLYPHHELMINS* EN MÉXICO

En México existen alrededor de 295 especies de anfibios, de las cuales 60.7% son endémicas del país. De los tres órdenes que constituyen la clase Amphibia (Anura, Caudata y Gymnophiona), el mejor representado en nuestro país es el de los anuros, con alrededor de 195 especies registradas hasta el momento (Flores-Villela, 1993). A pesar de la gran diversidad de especies que presenta este grupo de vertebrados, el estudio de sus parásitos no ha sido tan intensivo como el de otros grupos de vertebrados, ya que únicamente 41 especies (14%) han sido estudiadas desde el punto de vista parasitológico (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000; Pérez Ponce de León & García-Prieto, 2001).

Entre los distintos grupos de helmintos que han sido registrados en las ranas y sapos de México, los digéneos son de los más abundantes, con cerca de 48 especies registradas en la actualidad (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2002). Entre los distintos géneros de digéneos parásitos de anuros de México, *Glyphelmims* es uno de los mejor representados, ya que se han registrado siete especies del mismo (Tabla II). La primera especie del género colectada en el país fue *G. californiensis*, parásito de *R. montezumae* y *R. pipiens*[⊕] del D. F. (Caballero & Sokoloff 1934). Posteriormente, Caballero *et al.* (1944) registraron y describieron a *Choledocystus intermedia*^{*}, la cual fue transferida al género *Glyphelmims* por Yamaguti (1958). La especie *G. tineri* fue inicialmente descrita como *R. tineri* a partir de material proveniente de localidad y especie de huésped desconocidas (Babero, 1951b). Posteriormente, esta especie se localizó en el intestino de una culebra del género *Coniophanes* en Tabasco (Thatcher, 1964; Sullivan, 1977a). En el catálogo de la Colección Nacional de Helmintos, Lamothe *et al.* (1997) registraron por primera vez a *G. quieta*, especie que en años subsecuentes ha sido recolectada en diferentes especies de ranas y localidades de los estados de Michoacán, Estado de México, Sinaloa y Sonora. En una revisión del material reportado como *G. californiensis* por Guillén (1992)⁴, León-Règagnon (1992) y Pulido (1994), Razo-Mendivil *et al.* (1999) reidentificaron el material de Guillén (1992)⁴ como *G. facioi*, el material de León-Règagnon (1992) como *G. quieta* y el material de Pulido (1994) como *G. quieta in part*. Asimismo, Razo-Mendivil *et al.*

[⊕] Actualmente se sabe que la especie *R. pipiens* no se distribuye en México (Hillis, 1983), por lo que la especie de huésped reportada por Caballero & Sokoloff (1934) debe pertenecer a otra especie del género *Rana*.

^{*} Sullivan (1977) sinonimizó a la especie *C. intermedia* con *C. hepaticus*.

⁴ Guillén, H. S. (1992) Comunidades de helmintos de algunos anuros de "Los Tuxtlas", Veracruz. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias, UNAM, México. 90 pp.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

(1999) recolectaron nuevamente a la especie *G. facioi* en Los Tuxtlas, Veracruz. Por su parte, Pérez-Ponce de León *et al.* (2000) y Paredes-Calderón (2000)⁵ registraron a *G. parva* en *Rana vaillantii* de la región de los Tuxtlas, Veracruz. Los registros más recientes de *Glypthelmins* en México han sido los pertenecientes a la especie *G. poncedeleoni*, de la cual se presenta la descripción en este trabajo.

Los anuros parasitados con mayor frecuencia por alguna especie de *Glypthelmins* han sido los pertenecientes al género *Rana*, ya que nueve especies de éste han sido registradas como huéspedes de *Glypthelmins*. Los registros de las especies de *Glypthelmins* en las especies de *Rana* han sido realizados en localidades del Distrito Federal, Estado de México, Michoacán, Sinaloa, Sonora y Veracruz. El género *Bufo* alberga a dos especies de *Glypthelmins* que se distribuyen en localidades de Chiapas y Oaxaca.

Las especies *G. californiensis*, *G. facioi*, *G. parva* y *G. quieta* están restringidas a huéspedes del género *Rana*, mientras que *G. intermedia* ha sido localizada solamente en *B. marinus*. Por su parte, *G. poncedeleoni* ha sido registrada en *L. melanonotus* y en *B. marinus*. El hábitat parasitado con mayor frecuencia por las cuatro especies que se hospedan en el género *Rana* y por *G. poncedeleoni*, es el intestino delgado, mientras que *G. intermedia* se ha encontrado en el hígado, vesícula biliar y conductos biliares.

La mayoría de los trabajos en los cuales se han registrado especies de *Glypthelmins*, no se han enfocado de manera particular al estudio de las mismas, excepto por el estudio realizado por Razo-Mendivil (1998)⁶, en el cual se diferenció de manera morfológica y molecular a las especies *G. quieta*, *G. californiensis* y *G. facioi*. Asimismo, en este trabajo se amplió el rango hospedatorio y la distribución geográfica de estas tres especies.

Tabla II. Especies del género *Glypthelmins* Stafford, 1905 en México.

Especie	Huésped	Localidad	Autor
<i>G. californiensis</i> ^o	<i>Rana montezumae</i> Baird, 1854 "R. pipiens" Schreber, 1782	México, D. F.	Caballero & Sokoloff, (1934)
	<i>R. montezumae</i> "R. pipiens"	Xochimilco, D. F. Ciénaga de Lerma, Estado de México	Caballero (1942)
	<i>R. montezumae</i>	San Pedro Tlaltizapán, Estado de México	León-Régagnon, (1992)

^o Intestino, ±Hígado, Φvesícula biliar, Ωconductos biliares

⁵ Paredes-Calderón, L. (2000) Helmintos parásitos de *Rana vaillantii* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la estación de biología tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México. 69 pp.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998) Utilización de caracteres morfológicos y moleculares para la diferenciación de tres especies de *Glypthelmins* (Digenea), parásitos de anuros de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 50 pp.

Tabla II. (Continuación)

Espece	Huésped	Localidad	Autor
	<i>Rana berlandieri</i> Baird, 1859	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	Guillén (1992) ⁴ Guillén <i>et al.</i> , (2000)
	<i>R. vaillanti</i> Brocchi, 1877		
	<i>R. dunni</i> Zweifel, 1957	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	Pulido (1994)
	<i>R. montezumae</i>	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Razo-Mendivil (1998) ⁶ Razo-Mendivil <i>et al.</i> , (1999)
<i>G. facioi</i> °	<i>R. dunni</i>	Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán	
	<i>R. vaillanti</i>	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	Razo-Mendivil (1998) ⁶ Razo-Mendivil <i>et al.</i> , (1999) Paredes-Calderón (2000) ⁵
<i>G. intermedia</i> ±ΦΩ	<i>B. marinus</i>	Río Huixtla, Huixtla, Chiapas.	Caballero <i>et al.</i> , 1944
<i>G. parva</i> °	<i>R. vaillanti</i>	Tuxtepec, Oaxaca Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	Bravo (1948) Pérez-Ponce de León <i>et al.</i> , (2000) Paredes-Calderón (2000) ⁵
<i>G. poncedeleoni</i> °	<i>Leptodactylus melanonotus</i>	Ranchería Benito Juárez, km. 52, Carr. 180, Tabasco-Frontera, Tabasco	Razo-Mendivil & León- Régagnon (2001)
	<i>L. melanonotus</i>	Desviación a la Barra de Sontecomapan, Veracruz	Razo-Mendivil & León- Régagnon (2001)
	<i>L. melanonotus</i>	Piscifactoría de Teapa, Teapa, Tabasco	
	<i>L. melanonotus</i>	San Pedro las Playas, Guerrero	
<i>G. quieta</i> °	<i>Bufo marinus</i>		
	<i>R. montezumae</i>	Xochimilco, D.F. y Lago de Texcoco, Estado de México	Lamothe <i>et al.</i> , (1997)
	<i>R. montezumae</i>	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Razo-Mendivil (1998) Razo-Mendivil <i>et al.</i> , (1999)
	<i>R. dunni</i>	Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán	

° Intestino, ±Hígado, Φvesícula biliar, Ωconductos biliares

⁴ Guillén, H. S. (1992)

⁵ Paredes-Calderón, L. (2000)

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

Tabla II. (Continuación)

Especie	Huésped	Localidad	Autor
<i>G. tineri</i> °	<i>Rana megapoda</i> Taylor, 1942	Manantiales de Cointzio, Michoacán	Razo-Mendivil (1998) ⁶
		Manantiales de Cointzio y Lago de Cuitzeo, Michoacán	Razo-Mendivil <i>et al.</i> , (1999)
		Manantiales de Cointzio y Lago de Cuitzeo, Michoacán	Pérez-Ponce de León <i>et al.</i> , (2000)
		Lago de Chapala, Jalisco	
	<i>R. neovolcanica</i> Hillis & Frost, 1985	Manantiales de Cointzio	
	<i>R. tarahumarae</i> Boulenger, 1917	Yécora, Sonora	Burseley & Goldberg (2001)
	<i>R. magnaocularis</i> Frost & Bagnara, 1974	Sinaloa	Goldberg & Bursey (2002)
	"rana verde"	México	Babero (1951b)
	<i>Coniophanes imperialis clavatus</i> (Peters)	Teapa, Tabasco	Thatcher (1964) Sullivan (1977a)

° Intestino, ±Hígado, Φvesícula biliar, Ωconductos biliares

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión taxonómica y un análisis filogenético del género *Glypthelmins* con el objeto de proporcionar un esquema de clasificación natural del grupo.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Investigar la monofilia del género con base en hipótesis filogenéticas obtenidas a partir del estudio de caracteres morfológicos y moleculares.
- Definir la composición específica del género *Glypthelmins*, describiendo aquellas especies que resulten ser nuevas para la ciencia.
- Determinar la posición del género *Glypthelmins* dentro del suborden Plagiorchiata con base en el estudio de secuencias del gen ribosomal 28S.
- Elaborar una monografía para las especies incluidas en el género.
- Determinar la composición de especies de *Glypthelmins* en anuros de México, estableciendo límites entre las especies a partir de la combinación de caracteres morfológicos y moleculares.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. RECOLECTA DE HUÉSPEDES Y HELMINTOS

4.1.1. RECOLECTA DE HUÉSPEDES

Para la realización del presente estudio, se efectuaron diversas recolectas de anuros (ranas y sapos), durante los meses de diciembre de 1996; marzo, abril, mayo, junio, septiembre y octubre de 1997; octubre y noviembre de 1998; marzo, mayo, junio, agosto, septiembre octubre y noviembre de 1999; enero, marzo, mayo, junio, julio y agosto de 2000; y septiembre de 2002. Se recolectó un total de 1060 individuos en 50 localidades distribuidas en 13 estados de la República Mexicana: Campeche, Colima, Chiapas, Estado de México, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Fig. 9). En particular, los anuros de los lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán, así como en la Ciénaga de Lerma, Estado de México, se obtuvieron a partir de la captura que con fines comerciales se efectúa en éstos. En las localidades restantes, los anuros fueron capturados a mano o con la ayuda de redes, depositándolos y manteniéndolos en sacos de lona, para su posterior transporte al Laboratorio de Helminología del Instituto de Biología, UNAM.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

4.1.2. ESPECIES DE HUÉSPEDES RECOLECTADOS

Las recolectas realizadas en las 50 localidades y en los distintos períodos, permitieron analizar un total de 33 especies de anuros, cuya referencia incluyendo el tamaño de muestra, especie, localidad, fecha y número de catálogo asignado, se presenta en la Tabla III. Los huéspedes fueron fijados con formol bufferado al 10% y se depositaron en la Colección Herpetológica del Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias, UNAM (MZFC).

Las distintas especies de ranas y sapos recolectados pertenecen a los géneros: *Rana* Linnaeus, 1758 (15 especies); *Bufo* Laurenti, 1768 (5 especies), *Hyla* Laurenti, 1768 (3 especies), *Gastrophryne* Fitzinger, 1843, *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (2 especies), *Eleutherodactylus* Duméril and Bibron, 1841, *Hypopachus* Keferstein, 1867, *Pachymedusa* Duellman, 1968, *Phrynohyas* Fitzinger, 1843, *Smilisca* Cope, 1865 y *Triprion* Cope, 1866 (1 especie).

4.1.3. OBTENCIÓN DE LOS HELMINTOS

Cada uno de los huéspedes recolectados se sacrificaron por el método de descerebración, introduciendo una aguja de disección en el forámen magnum o con una sobredosis de anestésico (pentobarbital sódico) inyectado en la cavidad corporal. Posteriormente, se les practicó un examen helmintológico, que consistió en principio en la revisión cuidadosa de la superficie corporal y de las cavidades bajo el microscopio estereoscópico; el examen interno, se realizó mediante una pequeña incisión longitudinal sobre uno de los costados de la región ventral del cuerpo. Previo a la extracción de los órganos internos se revisaron la cavidad corporal y los mesenterios; una vez efectuado lo anterior, los órganos se separaron del cuerpo del huésped y se colocaron en cajas de Petri con solución salina al 0.65 %. Los pulmones, estómago e intestino se revisaron desgarrándolos con agujas de disección; el hígado, bazo, riñones y corazón se revisaron comprimiéndolos entre dos vidrios y observándolos bajo el microscopio estereoscópico.

La extracción de los helmintos recolectados se realizó con la ayuda de pinces finos, colocándolos en cajas de Petri con solución salina al 0.65 % con la finalidad de realizar observaciones *in vivo* y su posterior fijación.

4.1.4. OBSERVACIONES IN VIVO

Para los fines del presente estudio, solamente se realizaron observaciones bajo el microscopio óptico de los digéneos pertenecientes al género *Glypthelmins*, recolectados en las distintas especies de ranas y sapos. Para ello, se colocó a los parásitos en una preparación temporal con solución salina al 0.65% y se observaron bajo el microscopio óptico. Los objetivos principales de dichas observaciones fueron los siguientes: a) asegurar que los gusanos recolectados pertenecieran al género en cuestión; b) separar a las distintas morfoespecies de

Glyphelmans, con el fin de realizar análisis morfológicos, de microscopía electrónica de barrido y de sistemática molecular y c) obtener imágenes digitalizadas de las diferentes especies, mediante el programa Image Pro 4.5.

4.1.5. FIJACIÓN

La fijación de los ejemplares se realizó de tres maneras de acuerdo al análisis al que serían sometidos; en el caso de los ejemplares que serían utilizados en el estudio morfológico, se les sacrificó agregándoles formol caliente al 4%, con la finalidad de que los gusanos quedaran totalmente distendidos; posteriormente, los ejemplares fueron colocados en frascos con formol al 4% o con alcohol al 70% debidamente etiquetados, conservándolos en estas sustancias hasta su posterior procesamiento. Los ejemplares destinados para microscopía electrónica de barrido fueron sacrificados en formol al 4 % o en glutaraldehído y conservados en frascos con las mismas sustancias hasta su procesamiento. Por otra parte, para el análisis molecular, los ejemplares identificados *in vivo* se desmontaron de las preparaciones semipermanentes, se les colocó en una caja de Petri con solución salina limpia y se les quitó el exceso de tejido y mucus, provenientes del huésped, con la ayuda de pinceles finos. Posteriormente, se les colocó en frascos con alcohol etílico absoluto, con el fin de conservar adecuadamente a los organismos para la subsecuente extracción y purificación del ADN genómico.

4.2. PROCESAMIENTO DE LOS HELMINTOS

4.2.1. ESTUDIO MORFOLÓGICO

Para su identificación, los digenéos conservados en formol al 4% o en alcohol al 70 % fueron teñidos con diferentes técnicas y colorantes como: paracarmin de Mayer, tricrómica de Gomori y hematoxilina de Delafield (Apéndice 1); después de su tinción, fueron aclarados con salicilato de metilo y montados entre porta y cubreobjetos con bálsamo de Canadá.

4.2.2. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Los ejemplares conservados en formol al 4% o en glutaraldehído fueron lavados en agua destilada y subsecuentemente, deshidratados con alcoholes graduales hasta alcohol absoluto. Posteriormente, los gusanos fueron llevados a punto crítico mediante CO₂ y cubiertos con oro. Finalmente, los ejemplares procesados fueron montados y observados en el microscopio electrónico de barrido marca Hitachi del Instituto de Biología de la UNAM.

4.2.3. SOLICITUD DE EJEMPLARES

Se solicitaron en préstamo ejemplares de las distintas especies identificadas como *Glypthelmins*, *Choledocystus* o *Rauschiella* a seis colecciones parasitológicas, helmintológicas y personales (Tablas IV-IX). El material fue solicitado a las siguientes colecciones:

- (CNHE) Colección Nacional de Helmintos, Instituto de Biología, UNAM
- (USNPC) United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland, USA
- (HWML) Harold W. Manter Laboratory, Lincoln, Nebraska, USA
- (CHIOC) Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil
- (CHCR) Colección de Helmintos de Costa Rica, San José
- (CHDZU) Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay.
- (CPDB) Colección Personal del Dr. Daniel Brooks.

4.2.4. ESTUDIO MORFOMÉTRICO

Esta parte del estudio consistió en medir algunas estructuras morfológicas de los ejemplares recolectados en las distintas especies de anuros analizadas, así como de los ejemplares obtenidos en préstamo de las colecciones parasitológicas y personales. Para ello, se utilizó un microscopio óptico calibrado y un ocular micrométrico, analizando las estructuras diagnósticas para posteriormente efectuar la caracterización de los ejemplares. En el caso de las especies nuevas, cada una de las medidas obtenidas de las distintas estructuras morfológicas están dadas en micrones o en milímetros, señalando la mínima, la máxima y el promedio encerrado entre paréntesis según sea el caso.

Los organismos de las diferentes especies se describieron y esquematizaron con ayuda de una cámara clara adaptada a un microscopio óptico. Para su identificación a nivel específico, se hicieron comparaciones con las descripciones de las especies del género con las que estuvieran relacionadas.

4.3. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS (FILOGENIA MORFOLÓGICA)

4.3.1. GRUPO INTERNO

Las especies contempladas en el análisis filogenético morfológico sumaron un total de 30 especies, entre ellas las especies nuevas descritas en este trabajo: *G. poncedeleoni*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. A partir del estudio morfológico de los ejemplares de las distintas especies de *Glypthelmins* y/o de la revisión de las descripciones originales se consideró a ocho de las especies sinónimos de otros taxones. La especie *G. rangeli* no fue incluida debido a que no se contó con la descripción original ni con ejemplares de este taxón. Por lo tanto, las especies estudiadas en el análisis morfológico fueron las siguientes: *G. africana*, *G. brownorumae*, *G. californiensis*, *G. chaquensis*, *G. diana*, *G. elegans*

(=*Choledocystus eucharis* *G. vesicalis* y *G. biliaris*), *G. facioi*, *G. hepatica* (= *G. intermedia* y *G. festina*), *G. hyloreus*, *G. incurvatum*, *G. intestinalis*, *G. lenti*, *G. linguatula* (= *G. palmipedis* y *G. robustus*), *G. parva*, *G. pennsylvaniensis*, *G. poncedeleoni*, *G. proximus*, *G. pseudium*, *G. quieta* (= *G. subtropica*), *G. ramitesticularis*, *G. repandum*, *G. rugocaudata*, *G. sanmartini*, *G. sera*, *G. shastai*, *G. simulans*, *G. staffordi*, *G. tineri*, *G. tuxtlasensis* y *G. vitellinophilum*. El número de ejemplares estudiados para cada taxón se presenta en las Tablas IV-IX.

4.3.2. MATRIZ DE DATOS

A partir de la información obtenida tanto de las descripciones originales de siete especies (*G. diana*, *G. pseudium*, *G. sanmartini*, *G. sera*, *Alloglossidium hirudicola*, *Laiogonimus mariavirginiae* y *Paramacroderoides echinus*), como de las observaciones realizadas a 875 ejemplares de 26 especies del género *Glypthelmins*, a 10 ejemplares de *P. vespertilionis* y a 15 ejemplares de *C. americanus*, se construyó una matriz de datos constituida por 45 caracteres, 112 estados de carácter y 35 taxones (Tabla X). Diez de los 45 caracteres son autapomorfías (3, 4, 9, 10, 14, 38, 39, 40, 41, 42). La mayoría de los caracteres son cualitativos; sin embargo, los caracteres 1, 7, 43 y 45 son cuantitativos continuos. Los caracteres multiestado fueron considerados como no aditivos (= desordenados). Para datos faltantes, se asignó el símbolo ?.

4.3.3. CARACTERES EXAMINADOS

[1] Relación entre la anchura y longitud del cuerpo (4 estados)

(0) < 2 veces; (1) \geq 2-3.5 veces; (2) > 3.6-6.5 veces; (3) > 7 veces. Los estados de carácter 0 y 1 se asocian con organismos que presentan cuerpos ovalados y/o semi-alargados. Los estados 2 y 3 se asocian a organismos con el cuerpo alargado en sentido antero-posterior.

[2] Posición de la ventosa oral (2 estados)

(0) Terminal; (1) Subterminal.

El estado de ventosa oral terminal corresponde a las ventosas orales que se ubican en el extremo anterior del cuerpo ocupando parte de las regiones ventrales y dorsales de los ejemplares, como es el caso de los ejemplares de los grupos externos, *L. mariavirginiae* y *P. echinus*. En cambio la ventosa oral subterminal solamente ocupa la región ventral de los organismos y no abarca el margen anterior del cuerpo.

[3] Espinas en la ventosa oral (2 estados)

(0) Ausentes; (1) Presentes.

La condición de espinas presentes en la ventosa oral se exhibe únicamente en los miembros de uno de los grupos externos, *P. echinus*.

[4] Espinas tegumentarias (2 estados)

(0) Ausentes; (1) Presentes.

El estado de carácter ausencia de espinas corporales se presenta en la especie *G. sera*. La condición presencia de espinas tegumentarias no hace ninguna distinción acerca de la forma de las mismas, sean éstas espiniformes o escamiformes.

[5] Distribución de las espinas tegumentarias (4 estados)

(0) Ausentes; (1) Solamente en la región de la ventosa oral; (2) Hasta la región media posterior del cuerpo (Fig. 10); (3) En todo el cuerpo (Fig. 11).

La condición de espinas distribuidas únicamente en la región oral se presenta en el grupo externo *A. hirudicola* y en un miembro del grupo interno, *G. diana*. El estado de carácter referente a la distribución de las espinas corporales hasta la región media posterior del cuerpo hace alusión a las espinas que se extienden hasta la región ecuatorial o postecuatorial del cuerpo, sin ocupar el margen posterior del mismo. Las espinas distribuidas a todo lo largo del cuerpo se extienden hasta el borde posterior tanto ventral como dorsalmente.

[6] Tipo de las espinas corporales (3 estados)

(0) Ausentes; (1) Escamiformes (Figs. 12, 14 y 15); (2) Afiladas (Fig. 13).

La condición de espinas escamiformes se refiere a las estructuras que en su porción distal no terminan en punta sino de manera semi-redondeada, independientemente de que se presenten pectinadas o completamente lisas. La observación de estas estructuras se hizo de manera frontal ya que las escamas que se presentan en los bordes laterales de los ejemplares dan la apariencia de ser estructuras puntiagudas. La condición espinas afiladas se refiere a estructuras que en su porción distal terminan en punta; ésta se presenta en los grupos externos *L. mariavirginiae* y *P. vespertilionis* y en las especies del grupo interno, *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. simulans*, *G. diana*, *G. vitellinophilum*, *G. ramitesticularis*, *G. incurvatum*.

[7] Relación del diámetro transversal de la ventosa oral – acetábulo (2 estados)

(0) 1:0.5-0.8 (Fig. 16); (1) 1:>0.9 (Fig. 17).

La condición 0 se asocia a los acetábulos que son de menor anchura que las ventosas orales. El estado de carácter 1 refiere a que el diámetro transversal del acetábulo es casi igual o mayor que el de la ventosa oral.

[8] Ancho de la faringe con respecto al ancho del acetábulo (2 estados)

(0) Mayor que el acetábulo (Fig. 16); (1) Igual o menor que el acetábulo (Fig. 17).

El estado de carácter 0 se refiere a que en los ejemplares de algunas especies estudiadas la faringe presenta una mayor anchura con respecto al acetábulo. En otras especies, el acetábulo presenta un diámetro transversal mayor que o igual al de la faringe. La condición 0 se presenta en las especies *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. parva* y *G. linguatula*.

[9] Disco suctorial muscular en el acetábulo (2 estados)

(0) Ausente (Fig. 18); (1) Presente (Fig. 19).

La condición de disco suctorial muscular hace referencia a una proyección muscular que se origina en la luz del acetábulo; el borde interno del disco suctorial presenta 9 papilas. Este estado de carácter se presenta en la especie *G. intestinalis*.

[10] Glándulas perifaríngeas (2 estados)

(0) Ausentes (Fig. 20); (1) Presentes (Fig. 21). En algunas especies de *Glypthelmins* se han identificado dos tipos de glándulas asociadas a la faringe, las mediales y las perifaríngeas. Las primeras, son pequeñas y se disponen en la región anterior, posterior y lateral de la faringe. En cambio, las segundas son grandes y en forma de racimo, dispuestas alrededor de la faringe y distribuidas desde la región anterior de ésta hasta la bifurcación cecal. Este tipo de glándulas se presenta únicamente en la especie *G. quieta*.

[11] Forma de las glándulas mediales (3 estados)

(0) Ausentes; (1) Amorfas (Fig. 22); (2) En pequeños racimos (Fig. 23).

La condición de glándulas mediales amorfas se refiere a aquellas que se presentan rodeando la faringe. La condición de glándulas en pequeños racimos se asocia a las que no rodean totalmente la faringe y que presentan pequeños grupos en los bordes laterales de esta estructura.

[12] Forma de los testículos (3 estados)

(0) Alargados transversalmente; (1) Redondeados u ovalados; (2) Ramificados.

El estado de carácter de testículos alargados transversalmente se refiere a los testículos que son más anchos que largos. Testículos redondeados u ovalados cuando miden lo mismo de largo que de ancho o a los que son más largos que anchos. El estado de carácter de testículos ramificados se asocia a las estructuras masculinas ramificadas que se presentan en *G. ramitesticularis*.

[13] Posición de los testículos con respecto al eje anteroposterior (3 estados)

(0) Simétricos (Fig. 24); (1) Oblicuos o en diagonal (Fig. 25); (2) En tándem (Fig. 26).

La condición de testículos simétricos se refiere a las estructuras masculinas ubicadas una al lado de la otra y al mismo nivel; esta condición está presente en *G. californiensis*. Los testículos oblicuos son aquellos que se presentan a distintos niveles, es decir, uno más anterior que el otro. Los testículos en tándem se refieren a los testículos ubicados uno seguido del otro. El último estado de carácter se presenta en los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus*, *C. americanus* y únicamente en una especie del grupo interno, *G. intestinalis*.

[14] Posición de los testículos con respecto a los ciegos intestinales (2 estados)

(0) Entre los ciegos; (1) Entre el ciego y el borde lateral del cuerpo.

El estado de carácter 0 se refiere a los testículos ubicados entre los ciegos intestinales. La condición de testículos extendidos en la región extracecal hace referencia a las estructuras

masculinas que se extienden hasta más allá de los bordes externos de los ciegos intestinales y que se presentan en *G. ramitesticularis*.

[15] Sobrelapamiento de testículos con los ciegos intestinales (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

La condición 0 se asocia a los testículos que se ubican en la región intercecal de los organismos sin existir contacto alguno con los ciegos intestinales. El estado de carácter testículos sobrelapados, hace referencia a las estructuras masculinas que parcial o totalmente se extienden en la región cecal de los organismos, presentándose en las especies *A. hirudicola*, *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. brownorumae*, *G. simulans*, *G. shastai*, *G. intestinalis* y *G. ramitesticularis*.

[16] Contacto entre los bordes de los testículos (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

En el estado de carácter 0 los testículos se ubican a cierta distancia uno del otro. La condición de testículos en contacto hace referencia a que los bordes de ambos testículos entran en contacto. Esta última condición se presenta en un miembro del grupo externo, *C. americanus*, y en algunas especies del grupo interno: *G. brownorumae*, *G. shastai*, *G. intestinalis*, *G. staffordi* y *G. africana*.

[17] Forma de la bolsa del cirro (3 estados)

(0) Curva; (1) Recta; (2) Lunada.

La condición de bolsa del cirro curva hace referencia a las estructuras que presentan formas de "C" ó "U" invertida, exhibida en los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus*, *C. americanus* y *P. vespertilionis*, así como en varios miembros del grupo interno, *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. hylureus*, *G. pennsylvaniensis*, *G. simulans*, *G. linguatula*, *G. vitellinophilum* y *G. africana*. La bolsa del cirro recta se presenta en *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. shastai*, *G. parva* y *G. intestinalis*. La condición bolsa del cirro lunada se refiere a una estructura con los extremos anterior y posterior ligeramente curvos, que poseen el resto de las especies del grupo interno.

[18] Forma de la vesícula seminal (3 estados)

(0) Entera (Fig. 27); (1) Bipartita (Figs. 28-29); (2) Enrollada (Fig. 30).

La vesícula seminal entera se refiere a una estructura sin plegamientos ni divisiones y se presenta en los grupos externos *L. mariavirginiae* y *P. vespertilionis*, así como en *G. hepatica*, *G. elegans*, *G. simulans* y *G. incurvatum*. En cambio, la condición bipartita hace referencia a una estructura con una constricción en la región anterior de la misma, presente en los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus* y en *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hylureus*, *G. intestinalis*, *G. parva*, *G. shastai* y *G. proximus*. El estado de carácter 2 se asocia a una estructura que presenta varios plegamientos

sobre si misma, exhibida por el grupo externo *C. americanus* y el resto de las especies del grupo interno.

[19] Atrio genital (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

El estado de carácter 0 se asocia a la condición que el metratermo y la bolsa del cirro desembocan directamente en el poro genital. La condición relacionada a la presencia de un atrio genital refiere a que metratermo y bolsa del cirro desembocan en una cavidad que antecede al poro genital, ésta se presenta en los grupos externos *L. mariavirginiae*, *A. hirudicola*, *P. echinus* y en algunos miembros del grupo interno, *G. hepatica*, *G. elegans*, *G. simulans* y *G. vitellinophilum*.

[20] Localización del poro genital con respecto a los ciegos intestinales (3 estados)

(0) Intercecal; (1) Extracecal; (2) Cecal.

La condición de poro genital localizado en la región intercecal hace referencia a la ubicación de esta estructura entre los ciegos intestinales. El estado de carácter de la localización extracecal del poro genital se refiere a su ubicación por fuera de los ciegos intestinales y se presenta en los grupos externos *L. mariavirginiae* y *C. americanus*. La localización cecal se presenta únicamente en la especie *G. diana* y se asocia a que dicha estructura se localiza ventralmente al ciego intestinal izquierdo.

[21] Ubicación del poro genital en el cuerpo (4 estados)

(0) Anteroacetabular; (1) Postbifurcal; (2) Bifurcal; (3) Anterior a la ventosa oral.

En el estado de carácter 0 el poro genital se ubica en posición anterior, a una corta distancia del acetábulo. La condición 1 alude a que el poro genital se ubica más cercanamente a la bifurcación cecal y está presente en *G. hepatica* y *G. elegans*. La ubicación bifurcal se asocia a que el poro genital se ubica ventralmente a un lado de la bifurcación cecal; se presenta en *L. mariavirginiae* y *G. diana*. Finalmente, en el estado 3 éste abre en la región cercana al borde anterior de la ventosa oral, presente en *C. americanus*.

[22] Posición del poro genital con relación al eje antero-posterior del cuerpo (3 estados)

(0) Medial (Fig. 31); (1) Submedial; (2) Lateral (Fig. 32).

La condición 0 se asocia a los poros genitales que se ubican en el eje central del cuerpo. El estado submedial refiere a los poros genitales ubicados al lado derecho o izquierdo del eje central del cuerpo; esta característica es exhibida por el grupo externo *C. americanus* y por varios miembros del grupo interno: *G. tineri*, *G. linguatula*, *G. repandum*, *G. proximus*, *G. lenti*, *G. poncedeleoni*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. sanmartini*, *G. pseudium*, *G. chaquensis* y *G. sera*. La condición lateral implica que el poro genital se ubicaba lateralmente en el cuerpo; ésta está presente en *L. mariavirginiae*, *P. vespertilionis*, *G. hepatica*, *G. elegans*, *G. simulans*, *G. vitellinophilum*, *G. africana*, *G. ramitesticularis*, *G. chaquensis*, *G. diana* y *G. incurvatum*.

[23] Posición del ovario en el cuerpo (2 estados)

(0) Dextral; (1) Sinistral.

El estado de carácter dextral indica que el ovario está en el lado derecho de los organismos. La condición sinistral se refiere a la ubicación del ovario en el lado izquierdo de los ejemplares y es exhibida por los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus* y por los miembros del grupo interno, *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. intestinalis*, *G. parva* y *G. shastai*.

[24] Receptáculo seminal (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

La ausencia de receptáculo seminal se asocia a que algunas especies no presentan una estructura definida que alberga a los espermatozoides; esta característica es exhibida por *P. vespertilionis*, *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. simulans*, *G. vitellinophilum*. En cambio, cuando existe dicha estructura es fácilmente observada, ya que los espermatozoides que contiene se tiñen adecuadamente.

[25] Disposición de las asas uterinas con respecto a los ciegos intestinales (3 estados)

(0) Intercecales (Fig. 33); (1) Intercecales y cecales (Fig. 34); (2) Intercecales, cecales y extracecales (Fig. 35).

El estado de carácter 0 se asocia a que el útero se dispone en la región comprendida entre los ciegos intestinales y se presenta en el grupo externo *P. vespertilionis* y en *G. californiensis*, *G. brownorumae*, *G. shastai*, *G. repandum*, *G. proximus*, *G. rugocaudata*, *G. diana* y *G. africana*. El estado de carácter 1 hace referencia a que el útero se ubica entre los ciegos intestinales pero algunas asas se extienden hasta la región cecal de los organismos. En cambio, en la condición 2, las asas uterinas se extienden a través de todo el cuerpo, incluyendo la región intercecal, cecal y extracecal. Este estado de carácter es exhibido por los grupos externos, *L. mariavirginiae* y *C. americanus* y en las especies *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. simulans*, *G. ramitesticularis*, *G. incurvatum*, *G. hyloreus*, *G. pennsylvaniensis* y *G. vitellinophilum*.

[26] Extensión de las asas uterinas hacia el extremo posterior del cuerpo (2 estados)

(0) Parcialmente; (1) Totalmente.

La condición 0 se asocia a que el útero no se extiende hasta el borde posterior del cuerpo y por lo tanto, no ocupa la región posterior a los ciegos intestinales; presente en *P. echinus*, *G. brownorumae*, *G. parva*, *G. tineri*, *G. repandum*, *G. linguatula*, *G. repandum*, *G. lenti*, *G. poncedeleoni*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. chaquensis*, *G. sanmartini*, *G. sera*, *G. diana* y *G. incurvatum*. La condición 1 se refiere a que el útero se extiende hasta el borde posterior del cuerpo y ocupa la región comprendida entre los ciegos intestinales y el poro excretor.

[27] Posición de las asas uterinas con respecto a los testículos (2 estados)

(0) Entre los testículos; (1) Ventrales a los testículos.

La condición de asas uterinas dispuestas entre los testículos alude a que el útero en su recorrido hacia el extremo anterior pasa por en medio de éstos. El estado de carácter 1 se refiere a que en la región testicular las asas uterinas se disponen de manera ventral a tales estructuras y se exhibe en los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus* y en las especie *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. shastai*, *G. parva*, *G. intestinalis*, *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*.

[28] Asas uterinas pretesticulares (2 estados)

(0) Ausentes; (1) Presentes.

La ausencia de asas uterinas pretesticulares se refiere a que el útero a partir de la región testicular comienza a dar origen al metratermo, por lo cual las asas uterinas no se extienden en la región anterior a los testículos, condición observada en *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. shastai* y *G. parva*.

[29] Desarrollo de las asas uterinas pretesticulares (3 estados)

(0) Ausentes; (1) Desarrolladas; (2) Poco desarrolladas.

En la condición 0 los organismos no presentan asas uterinas pretesticulares. En el estado 1 las asas uterinas se extienden hasta la región acetabular y en estos casos, ocupan longitudinal y transversalmente la región comprendida entre el ovario y los testículos. Las asas uterinas pretesticulares poco desarrolladas solamente comprenden una pequeña parte de la región intermedia entre el ovario y los testículos; esta característica se presenta en *P. echinus*, *P. vesperilionis*, *G. intestinalis*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata* y *G. sanmartini*.

[30] Ubicación del metratermo con respecto a la bolsa del cirro (2 estados)

(0) Dorsal; (1) Ventral.

La condición de metratermo ubicado dorsalmente a la bolsa del cirro alude a la manera en que el metratermo se dirige hacia el poro genital y en cuyo recorrido se ubica parcial o totalmente dorsal a la bolsa del cirro. Esta condición se presenta en las especies *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. shastai*, *G. parva*, *G. intestinalis*, *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*. El estado de carácter 1 hace referencia a que en el recorrido del metratermo hacia el poro genital, éste se dispone de manera ventral a la bolsa del cirro. Este estado se presenta en los cinco grupos externos y en el resto de los miembros del grupo interno.

[31] Extensión anterior de los folículos vitelógenos (4 estados)

(0) Ausentes (Fig. 36); (1) Al nivel de la ventosa oral (Fig. 37); (2) Al nivel de la faringe, esófago o bifurcación cecal (Fig. 38); (3) Posterior a la bifurcación cecal (Fig. 39).

La condición de glándulas vitelógenas ausentes en el extremo anterior del cuerpo se asocia a que los folículos vitelógenos solamente se extienden hasta la región ovárica, condición presente en *L. mariavirginiae*, *P. echinus*, *G. intestinalis*, *G. repandum*, *G. chaquensis*, *G. sanmartini*, *G.*

pseudium y *G. sera*. En el estado 1 los folículos vitelógenos alcanzan el borde anterior de la ventosa oral y se presenta en *G. vitellinophilum* y *G. diana*. La condición 2 se codificó cuando los folículos vitelógenos se extendían hasta la región en donde se localizan la faringe – esófago – bifurcación cecal. Esta característica es exhibida por *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. hylureus*, *G. pennsylvaniensis*, *G. africana*, *G. ramitesticularis* y *G. incurvatum*. El estado de carácter 3 se asoció a los folículos vitelógenos extendidos hasta la zona posterior de la bifurcación cecal o hasta el nivel en el cual se localiza el poro genital.

[32] Folículos vitelógenos intercecales (2 estados)

(0) Ausentes (Fig. 40); (1) Presentes (Fig. 41).

El estado de carácter 0 se asocia a la ubicación de las glándulas vitelógenas en el área entre los ciegos y el borde del cuerpo. La condición de folículos vitelógenos intercecales hace referencia a la presencia de glándulas vitelógenas ocupando la región delimitada por los ciegos intestinales; los folículos intercecales se pueden presentar en distintas regiones del cuerpo, ya sea en la bifurcación cecal, el acetábulo y/o los testículos. Esta condición se presenta en el grupo externo *P. vespertilionis* y en las especies *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hylureus*, *G. intestinalis*, *G. shastai*, *G. parva* y *G. africana*.

[33] Distribución de los folículos vitelógenos en la región intercecal (2 estados)

(0) No confluentes (Fig. 40); (1) Confluentes (Fig. 41).

La condición de folículos vitelógenos no confluentes en la región intercecal se refiere a la presencia de folículos situados entre los ciegos intestinales pero que no se unen en ningún punto en donde se extienden ambos campos de las glándulas vitelógenas. El estado de carácter 1 se asocia a los folículos que se extienden en la región intercecal y que en algún punto se unen, ya sea en la región de la bifurcación cecal, de la bolsa del cirro, del acetábulo y/o de los testículos; esta condición se presenta en *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis* y *G. parva*.

[34] Disposición de los folículos vitelógenos (2 estados)

(0) No formando cúmulos (Fig. 42 y 44); (1) Formando cúmulos (Fig. 43).

La condición de folículos vitelógenos que no forman cúmulos hace referencia a los folículos que se disponen en un continuo y no se agrupan en ninguna parte en donde se extienden las glándulas vitelógenas. El estado de carácter 1 se refiere a los folículos que se acumulan en ciertas zonas a lo largo de la distribución de las glándulas vitelógenas. Esta condición la presentan *G. tineri*, *G. poncedeleoni*, *G. repandum*, *G. linguatula*, *G. proximus*, *G. lenti*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. chaquensis*, *G. pseudium*, *G. sanmartini* y *G. sera*.

[35] Forma de las glándulas vitelógenas (3 estados)

(0) Acinosas (Fig. 42); (1) Arrosetadas (Fig. 43); (2) Foliculares (Fig. 44).

El estado de carácter glándulas vitelógenas acinosas incluye folículos delgados y largos que se orientan en todas direcciones; dicha condición se presenta en *G. elegans*, *G. hepatica*, *G. simulans* y *G. vitellinophilum*. Glándulas vitelógenas arrosetas son aquellas constituidas por una región central rodeada por varios folículos que presentan forma de abanico, dando la apariencia de una roseta. Este estado aparece en *G. tineri*, *G. linguatula*, *G. poncedeleoni*, *G. repandum*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. chaquensis*, *G. sanmartini*, *G. pseudium* y *G. sera*. El estado de carácter 2 refiere a las glándulas constituidas por folículos de forma circular o semicircular y que se disponen de manera continua.

[36] Forma de la vesícula excretora (2 estados)

(0) En forma de I (Fig. 45); (1) En forma de Y (Fig. 46).

La vesícula excretora en forma de "I" se refiere a aquellas que presentan forma tubular y que anteriormente se extienden hasta la región posterior de los testículos de donde se dividen en dos túbulos colectores delgados, dirigidos hacia el extremo anterior del cuerpo; este estado se presenta en los grupos externos *A. hirudicola*, *P. echinus* y en *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. brownorumae*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. intestinalis*, *G. shastai* y *G. parva*. La vesícula excretora en forma de "Y" también presenta una forma tubular en su inicio, solo que en el extremo anterior, el tronco principal se bifurca originando dos ramas anchas que se extienden hasta la región pretesticular; de la parte distal de cada rama parte un túbulo colector.

[37] Extensión lateral de la prefaringe (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

El estado de carácter 0 alude a las prefaringes que en su recorrido hacia la faringe no presentan proyecciones laterales. En cambio, la condición 1 hace referencia a que en ambos lados de la prefaringe se presenta una proyección lateral que se extiende más o menos hasta los márgenes derecho e izquierdo de la faringe, rasgo exhibido por *P. echinus*, *P. vespertilionis* y *G. ramitesticularis*.

[38] Distancia entre la faringe y el acetábulo (2 estados)

(0) Corta; (1) Amplia.

La condición 0 se codificó de esta manera cuando la distancia entre la faringe y el acetábulo no rebasaba las 100 μm , como en *A. hirudicola*. El estado de carácter 1 se codificó cuando la distancia entre ambas estructuras era mayor a 200 μm .

[39] Posición del acetábulo con respecto a los ciegos intestinales (2 estados)

(0) Intercecal; (1) Cecal.

La condición 0 hace referencia a que el acetábulo se encuentra ubicado entre ambos ciegos intestinales. En la condición cecal (1), los márgenes laterales del acetábulo se extienden hasta la región en donde se ubican los ciegos intestinales, como en *A. hirudicola*.

[40] Abertura del poro genital (2 estados)

(0) Dorsal; (1) Ventral.

El estado de carácter 0 se presenta en el grupo externo *C. americanus* y hace referencia a que el poro genital abre en la región dorsal. La condición ventral refiere a que el poro genital desemboca sobre la superficie ventral de los ejemplares del resto de los grupos externos y del grupo interno.

[41] Ornamentación del cirro (2 estados)

(0) Con espinas; (1) Sin espinas.

Existen cirros provistos de espinas como en *A. hirudicola* y cirros completamente lisos como en el resto de las especies.

[42] Protuberancia en la parte abo-opercular del huevo (2 estados)

(0) Ausente; (1) Presente.

Es estado de carácter 0 alude a los huevos que en la parte del opérculo son completamente redondeados. La condición 1 refiere a los huevos que presentan una pequeña protuberancia en la zona del opérculo como en *A. hirudicola*.

[43] Extensión posterior de los ciegos intestinales (3 estados)

(0) Sobrepasan el último quinto del cuerpo; (1) En la mitad anterior del 4/5 del cuerpo; (2) En la mitad posterior del 4/5.

El estado 0 se presenta en los grupos externos *L. mariavirginiae*, *P. echinus* y en varios miembros del grupo interno. El estado 1 lo exhiben el grupo externo *A. hirudicola* y *G. incurvatum*. La condición 2 está presente en los grupos externos *C. americanus* y *P. vespertilionis* así como en *G. rugocaudata* y *G. sera*.

[44] Distancia de los ciegos intestinales a los bordes laterales del cuerpo (2 estados)

(0) Cercanos a los bordes laterales (Fig. 47); (1) Alejados de los bordes laterales (Fig. 48). La condición 0 se asocia a que los ciegos intestinales se ubican a muy corta distancia de los bordes laterales del cuerpo. El estado de carácter 1 hace referencia a que los ciegos intestinales están ubicados más hacia el eje central del cuerpo que a los bordes laterales y se presentan en *G. chaquensis* y *G. pseudium*.

[45] Ancho de los huevos (4 estados)

(0) 12 – 17 μm ; (1) 18 – 24 μm ; (2) 26 – 29 μm ; (3) > a 30 μm .

La condición 1 se presenta en los grupos externos *A. hirudicola*, *C. americanus* y *P. vespertilionis* y en la mayoría de los miembros del grupo interno. La condición 1 está presente en *L. mariavirginiae*, *P. echinus*, *G. californiensis*, *G. tuxtlasensis* y *G. quieta*. El estado 2 es exhibido por *G. hylureus*, *G. pennsylvaniensis*, *G. staffordi* y *G. rugocaudata*. La única especie que presenta huevos de más de 30 μm de ancho es *G. diana*.

4.3.4. GRUPO EXTERNO

Debido a que no se conoce cuál género de digéneos del orden Plagiorchiida es el grupo hermano del género bajo estudio, ni aún las relaciones genealógicas existentes entre los distintos miembros de la familia Macroderoididae, de la cual *Glythelmins* forma parte, la elección del grupo externo no estuvo basada en una hipótesis filogenética previa. Por lo tanto, fueron utilizados cinco grupos externos, tres de los cuales forman parte de la familia Macroderoididae (*Alloglossidium hirudicola* Schmidt & Chaloupka, 1969, *Laiogonimus mariavirginiae* Vercammen-Grandjean, 1960, *Paramacroderoides echinus* Venard, 1941), un miembro de la familia Plagiorchiidae [*Plagiorchis vespertilionis* (Müeller, 1780) Braun, 1900] y el restante, un miembro de Cephalogonimidae (*Cephalogonimus americanus* Stafford, 1902), todos pertenecientes al orden Plagiorchiida.

4.3.5. BÚSQUEDA DE CLADOGRAMAS

Los árboles filogenéticos fueron generados bajo el principio de máxima parsimonia, empleando el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) versión 4.10b Swofford (2002). Todos los caracteres fueron tratados como desordenados (no aditivos) y sin asignación de peso; los árboles se obtuvieron a partir de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas de random stepwise addition y branch swapping (intercambio de ramas) con la opción (TBR) Tree Bisection and Reconnection (corte y reconexión binaria). Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998).

4.3.6. ARGUMENTACIÓN DE CARACTERES

La argumentación de caracteres se realizó *a posteriori* del análisis. La polaridad de cada uno de los caracteres se estableció a través del enraizamiento y comparación con los grupos externos.

4.4. ANÁLISIS MOLECULAR

Con el fin de caracterizar molecularmente a algunas de las especies del género *Glythelmins* de distintas localidades de México, Estados Unidos y Costa Rica, se extrajo DNA genómico de ejemplares de 11 especies del género. Se amplificaron y secuenciaron fragmentos de DNA mitocondrial (citocromo oxidasa subunidad 1, *cox1*) y de DNA nuclear (5.8S y 28S, e ITS2). La información proveniente de los genes *cox1*, 5.8S y 28S, y del espaciador interno de transcripción, ITS2 fue combinada con datos morfológicos para diferenciar a dos nuevas especies de *Glythelmins* recolectadas en algunas localidades del sureste de México.

Asimismo, las secuencias de los genes ribosomales 28S de las 11 especies del género fueron empleadas para determinar su posición filogenética dentro del suborden Plagiorchiata.

4.4.1. EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DEL DNA GENÓMICO TOTAL (gDNA)

Ejemplares adultos previamente asignados a once especies del género *Glyphelminis* (*G. quieta*, *G. californiensis*, *G. intestinalis*, *G. hepatica*, *G. tineri*, *G. facioi*, *G. hylorus*, *G. pennsylvaniensis*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis* y *G. poncedeleoni*) recolectados en 11 localidades distribuidas en Costa Rica, Estados Unidos y México (Tabla XI), fueron digeridos individualmente en una solución que contenía 20 µl de proteinasa K (25 mg/ml), 500 µl de buffer STE y 75 µl de SDS al 10% e incubados a 55 °C durante 12-24 horas. El gDNA fue extraído con fenol cloroformo y precipitado con etanol al 96% (Apéndice 2). Finalmente, el gDNA fue disuelto en 100 µl de agua destilada, desionizada y esterilizada (Hillis *et al.*, 1996). Con el fin de comprobar los resultados de la extracción y purificación se corrieron entre 1 y 5 µl de cada muestra de gDNA en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Acetato-EDTA (TAE).

4.4.2. AMPLIFICACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL MTDNA Y RDNA

Los genes mitocondriales (citocromo oxidasa subunidad I *cox1*) y los genes nucleares (5.8S, 28S y el espaciador interno de transcripción 2, ITS2) de las nueve especies de *Glyphelminis* fueron amplificados por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés). Cada una de las mezclas de reacción se prepararon a un volumen final de 25 µl (2.5 µl de buffer 10X, 2 µl de la mezcla de dNTP's (200 µM cada uno), 0.8 µl de 50mM MgCl₂, 1µl de cada oligonucleótido (10 pmol/µl), 1 µl de gDNA (10-50 ng), 0.5 µl de la Taq DNA polimerasa (5 unidades) y 16.2 µl de agua destilada, desionizada y esterilizada. Los oligonucleótidos empleados para la amplificación parcial de los genes mitocondriales y nucleares fueron los siguientes:

cox1

JB3 (5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3')

JB4.5 (5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3')

5.8S + ITS2

3S (5'-GGT ACC GGT GGA TCA CGT GGC TAG TG-3')

BD2 (5'-TAT GCT TAA ATT CAG CGG GT-3')

28S

28Sy (5' CTA ACC AGG ATT CCC TCA GTA ACG GCG AGT 3')

LO (5'-GCT ATC CTG AG(AG) GAA ACT TCG-3')

Con la excepción de las temperaturas de alineamiento de los distintos oligonucleótidos, el programa de PCR fue el mismo para los genes mitocondriales y nucleares. El programa consistió en una desnaturalización inicial a 95° C por 5 min, seguida por 30-35 ciclos de 1 min a 94° C para desnaturalizar la doble cadena de DNA, 45 s a 50° C (*cox1* y 28S) o a 55° C (5.8S e ITS2) para el alineamiento de los oligonucleótidos y 1 min a 72° para la extensión de los productos por medio de la Taq DNA polimerasa. Finalizados los 30-35 ciclos, el programa fue completado con un último ciclo de 10 min a 72° C para asegurar una completa extensión de los productos amplificados. Finalmente, las mezclas de reacción se mantuvieron a 4° C. Los productos amplificados por PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Acetato-EDTA (TAE) al 1%.

Los productos amplificados fueron purificados por medio de los kits QIAquick Gel Extraction Kit y QIAquick PCR purification Kit (Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los productos de PCR purificados fueron utilizados en la reacción de secuenciación para la cual se empleó el kit Big Dye Terminator™ (Applied Biosystems) e incorporando los mismos oligonucleótidos empleados en las PCR's previas. Los productos de la reacción de secuenciación fueron purificados por el método de precipitación con etanol/acetato de sodio o usando columnas CentriSep (Princeton Separations Inc.) [Apéndice 2]. Los productos purificados fueron secuenciados en un secuenciador automático ABI PRISM 310 de Applied Biosystems. Las secuencias fueron leídas y editadas en el programa Chromas versión 1.43 (McCarthy, 1996-1997).

4.4.3. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS

Las secuencias parciales de los genes *cox1*, 5.8S y 28S y del ITS2 de cuatro morfoespecies del género *Glypthelmins* (*G. quieta*, *G. californiensis*, *G. facioi* y *G. hylureus*), provenientes de seis localidades, fueron alineadas manualmente mediante el programa de cómputo Bioedit (Hall, 1999), y utilizadas en la diferenciación molecular de dos nuevas especies de *Glypthelmins* parásitas de *Rana* spp. de México [Resultados, Sección 5.2, Appendix A].

Por otro lado, con la finalidad de inferir las relaciones filogenéticas entre 11 especies de *Glypthelmins* y a su vez, establecer las relaciones genealógicas del género con respecto a otros incluidos en el suborden Plagiorchiata mediante el empleo de caracteres moleculares, se obtuvieron del GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>) 58 secuencias parciales de los genes ribosomales 28S, de 58 especies de digéneos pertenecientes a los órdenes Plagiochiida (54 especies), Echinostomida (3 especies) y Strigeidida (1 especie) (Tabla XII). Las 58 secuencias obtenidas del GenBank fueron alineadas junto con 15 secuencias de los genes ribosomales 28S generadas a partir de 11 especies de *Glypthelmins*. El alineamiento de las 73 secuencias se realizó por medio del programa Clustal W con los parámetros de

alineamiento por default (Gap opening y Gap extention) (Thompson *et al.*, 1994). Posteriormente, el alineamiento generado fue editado y corregido manualmente en el programa Bioedit (Hall, 1999).

4.5. ANÁLISIS FILOGENÉTICOS (FILOGENIAS MOLECULARES)

4.5.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE SEIS ESPECIES DE *GLYPHHELMINS* BASADO EN SECUENCIAS DE MTDNA Y RDNA

La base de datos de las secuencias de los genes *cox1* + 5.8S + 28S, y del espaciador interno de transcripción (ITS2) de seis especies de *Glyphelmims* fue analizada bajo el criterio de máxima parsimonia (MP) utilizando PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002). Se obtuvieron las matrices de distancias pareadas no corregidas para cada conjunto de datos. Los árboles filogenéticos para los conjuntos de datos separados y combinados se generaron a través de una búsqueda branch and bound. Con el objeto de demostrar si los distintos conjuntos de datos debían ser analizados por separado o podían ser combinados se realizó una prueba de homogeneidad de particiones (partition-homogeneity test). La prueba demostró que los datos moleculares podían ser combinados en un solo análisis ($p > 0.05$). El soporte de las ramas se estimó a través de 1000 réplicas de bootstrap. Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer (Bremer, 1994) para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998).

4.5.2. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL GÉNERO *GLYPHHELMINS* Y SU RELACIÓN CON OTROS GÉNEROS DEL SUBORDEN *PLAGIORCHIATA*

El alineamiento de las 73 secuencias de los genes ribosomales 28S de las distintas especies de digéneos fue analizado bajo el criterio de máxima parsimonia empleando PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002). Se obtuvo una matriz de distancias pareadas entre los distintos taxones y los cladogramas fueron generados por medio de búsquedas heurísticas con 1000 réplicas de random stepwise addition y branch swapping con la opción (TBR). Para enraizar los árboles se usaron 5 especies pertenecientes a los órdenes Echinostomida (*P. ovatus*, *P. oxyurus*, *E. melis* y *E. cinctum*) y Strigeidida (*A. alata*). El soporte de las ramas se estimó a través de 1000 réplicas de bootstrap. Adicionalmente, se calculó el índice de Bremer (Bremer, 1994) para cada nodo, mediante el programa de cómputo AutoDecay versión 4.0 (Eriksson, 1998).

4.6. MONOGRAFÍA

A partir de los resultados de las hipótesis filogenéticas generadas del estudio de los caracteres morfológicos y del análisis de los datos moleculares, así como de toda la información obtenida de los ejemplares depositados en las distintas colecciones y de las consultas a bases

de datos (USNPC: <http://www.lpsi.barc.usda.gov/bnpcu/> y HWML [http://manter.unl.edu/HWMLSearch old.htm](http://manter.unl.edu/HWMLSearch%20old.htm)), de las búsquedas bibliográficas en varias bases de datos electrónicas (CAB Abstracts, Biological Abstracts), de las descripciones originales de las especies y de los diversos trabajos científicos relacionados con cualquier aspecto biológico del género bajo estudio (redescripciones, ciclos de vida, hipótesis filogenéticas, taxonomía, ecología, etc.), se elaboró una monografía que incluye sólo a las especies que consideré válidas y que pertenecen al género *Glypthelmins*. La monografía que aquí se presenta incluye la siguiente información para cada una de las especies.

*Nombre de la especie y autor.

*Historia taxonómica. Ésta incluye la lista de sinónimos de las especies, las referencias en las que éstas se han mencionado y el tipo de estudio que se realizó con la especie.

*Huésped tipo.

*Hábitat en el cual fue registrada por primera vez la especie.

*Localidad tipo.

*Referencia del holotipo (si existiera). Esto es, la colección que lo alberga y número de catálogo o acceso que le fue asignado.

*Diagnos. En ésta se incluyen los caracteres distintivos de cada especie.

*Descripción. En la mayoría de los casos, es una descripción cualitativa, excepto en los taxones recién descritos.

*Huéspedes y distribución geográfica. Reúne las especies de huéspedes en que han sido recolectadas las especies de *Glypthelmins*, su distribución geográfica y la referencia bibliográfica.

*Ejemplares depositados en las distintas colecciones helmintológicas o parasitológicas. En este rubro se incluye los datos de los registros de cada colección (localidad, huésped, localidad, hábitat, número de catálogo, tipo taxonómico, número de ejemplares o preparaciones).

*Ciclos de vida (solo de aquellas especies para las cuales éste se ha estudiado).

*Números de acceso al GenBank de los genes de las especies que han sido secuenciadas.

*Páginas Web relacionadas con los taxones.

*Dibujo de las especies y detalles de las mismas.

*Mapas en los cuales se esquematiza el intervalo de distribución geográfica de las especies.

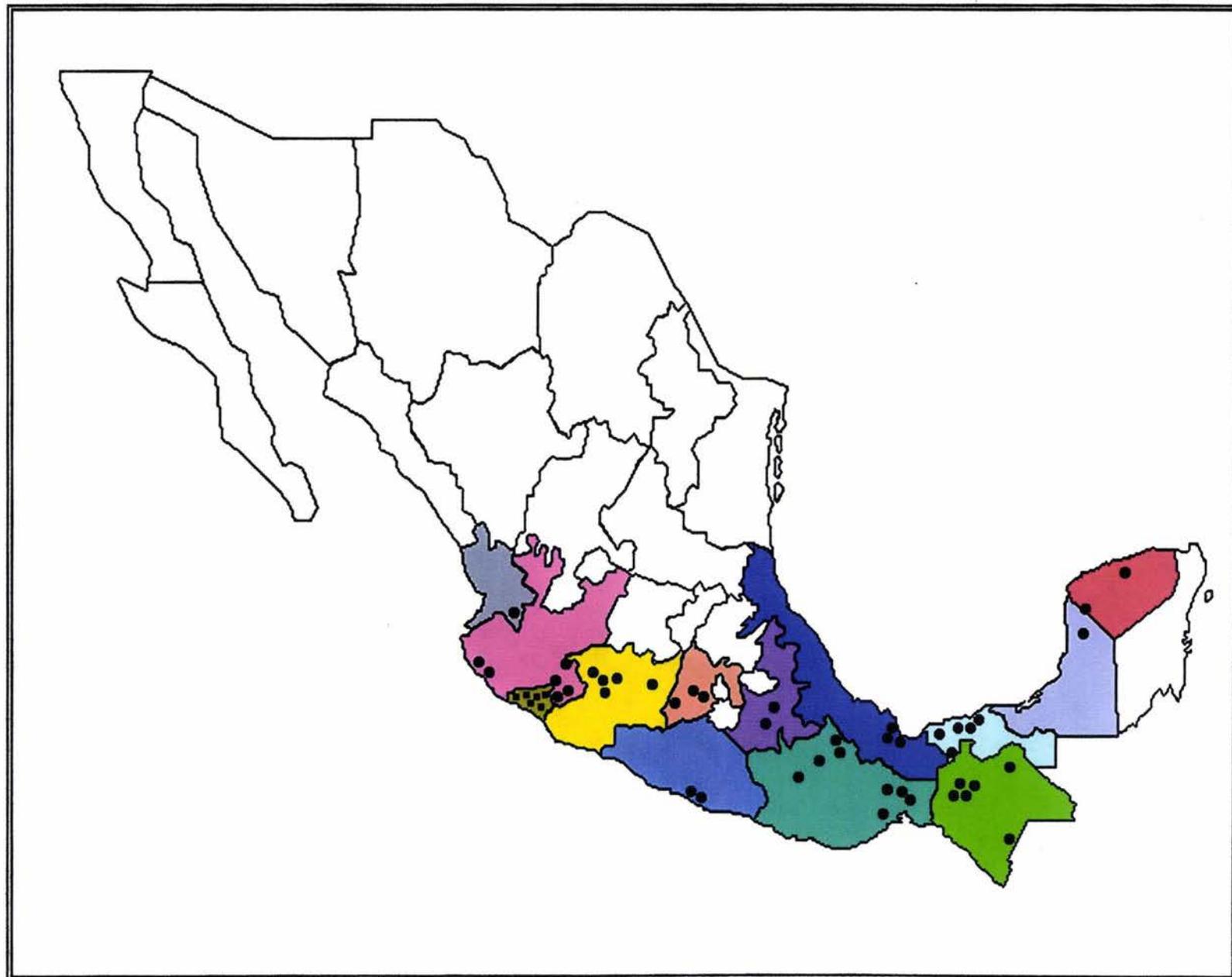


Figura 9. Localidades estudiadas en 13 Estados de la República Mexicana en el período 1996-2002.

Figura 10. Carácter 5. Microfotografía de barrido mostrando la ausencia de escamas en el extremo posterior del cuerpo de un ejemplar de *G. californiensis*, proveniente de *R. dunnii*, Lago de Pátzcuaro, Michoacán.

Figura 11. Carácter 5. Microfotografía de barrido mostrando la distribución de las espinas en el extremo posterior del cuerpo de un ejemplar de *G. hepatica*, proveniente de *B. marinus*, San Pedro las Playas, Guerrero.

Figura 12. Carácter 6. Microfotografía óptica de las espinas de tipo escamiforme en un ejemplar de *G. quieta*, parásito de *Rana* sp., Coquimatlán, Colima.

Figura 13. Carácter 6. Microfotografía de barrido de las espinas de *G. hepatica*, proveniente de *B. marinus*, San Pedro las Playas, Guerrero.

Figuras 14-15. Carácter 6. Microfotografía de barrido de las espinas tipo escamiforme de un ejemplar de *G. californiensis* parásito de *R. montezumae*, Ciénaga de Lerma, Estado de México y de *G. tuxtlasensis*, parásito de *R. vaillanti* de Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz.

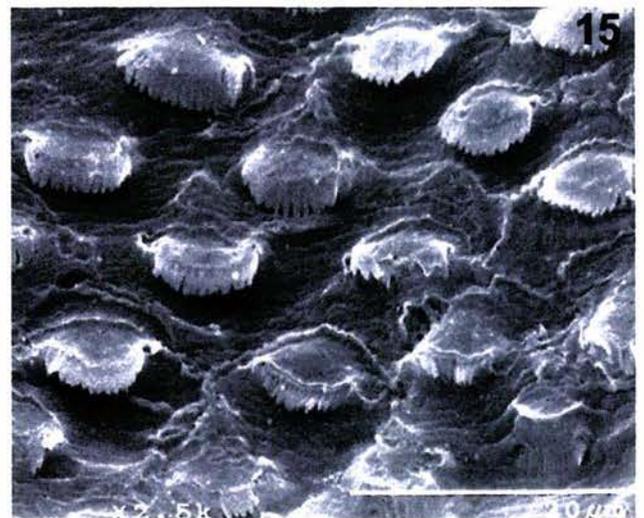
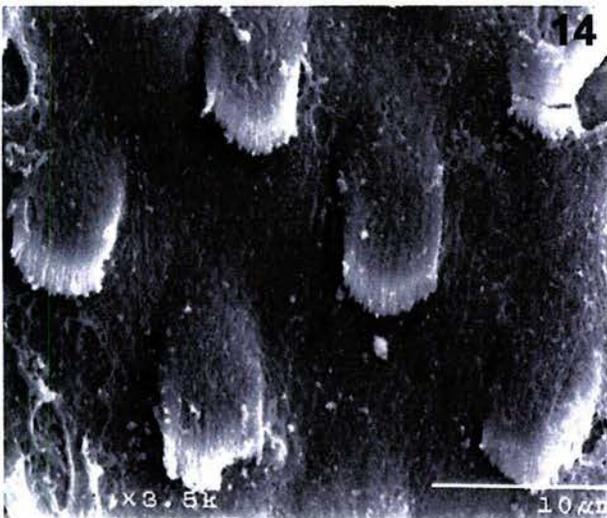
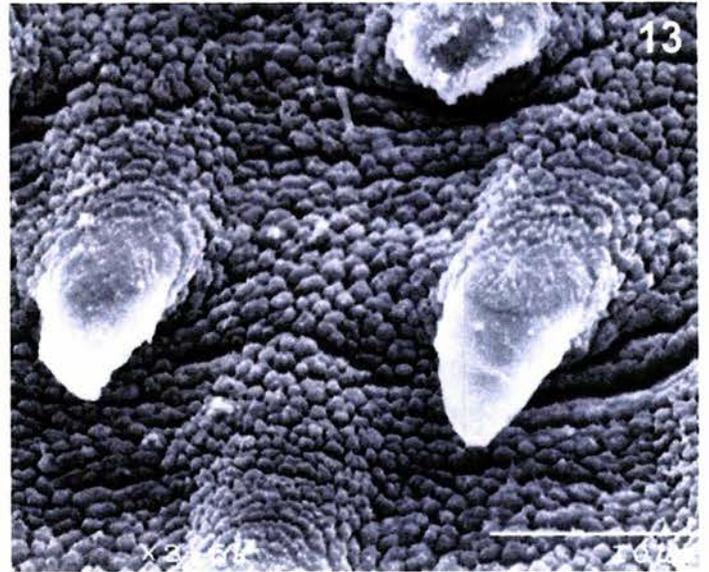
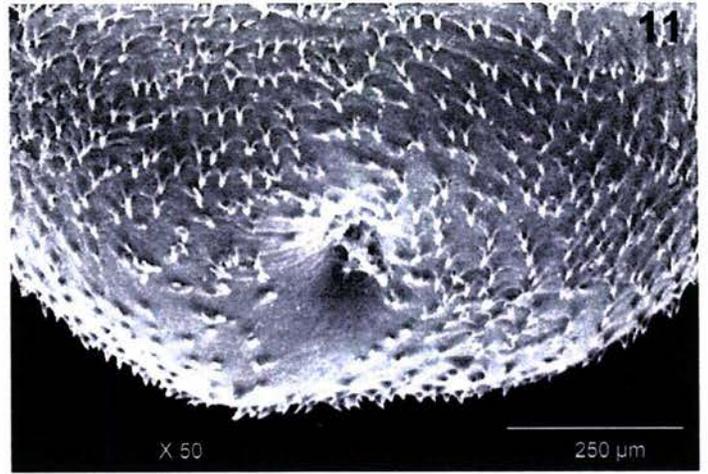


Figura 16. Carácter 7. Relación del diámetro transversal de la ventosa oral – acetábulo. Carácter 8. Ancho de la faringe con respecto al ancho del acetábulo. Dibujo de un ejemplar de *G. californiensis*, parásito de *R. montezumae* proveniente del Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 1561). Escala = 250 μm .

Figura 17. Carácter 7. Relación del diámetro transversal de la ventosa oral – acetábulo. Carácter 8. Ancho de la faringe con respecto al ancho del acetábulo. Dibujo de un ejemplar de *G. hepatica*, parásito de *B. marinus* proveniente de Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695). Escala = 250 μm .

Figura 18. Carácter 9. Dibujo de un acetábulo sin disco suctorial muscular de un ejemplar de *G. hylureus*, proveniente de *P. triseriata* de Nebraska, Estados Unidos. Colección personal del Dr. Daniel Brooks. Escala = 50 μm .

Figura 19. Carácter 9. Dibujo de un acetábulo con disco suctorial muscular de un ejemplar de *G. intestinalis*, proveniente de *R. luteiventris* de Montana, Estados Unidos (CNHE 4692). Escala = 50 μm .

Figura 20. Carácter 10. Microfotografía óptica mostrando la ausencia de glándulas perifaríngeas en un ejemplar de *G. californiensis*, parásito de *R. montezumae* de la Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3282). Escala = 300 μm .

Figura 21. Carácter 10. Microfotografía óptica mostrando la presencia de glándulas perifaríngeas en un ejemplar de *G. quieta*, parásito de *R. neovolcanica* de los Manantiales de Cointzio, Michoacán (CNHE 3272). Escala = 300 μm .

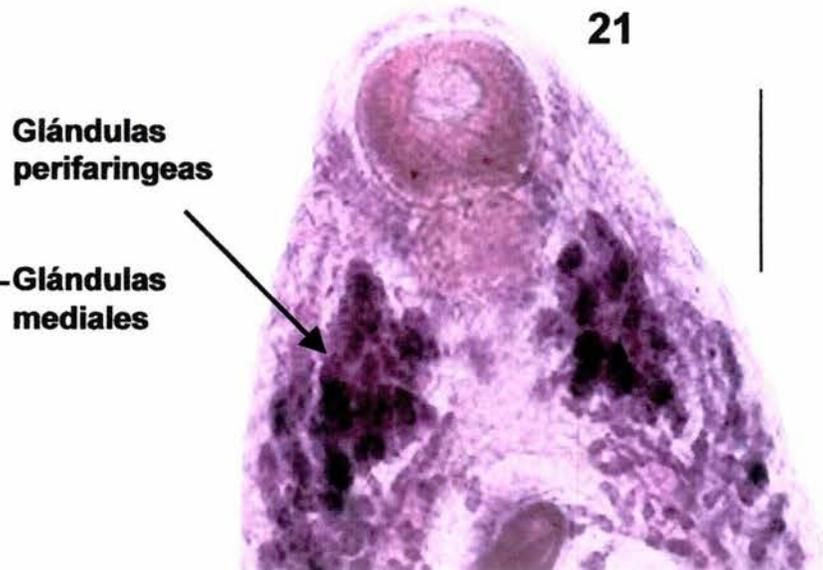
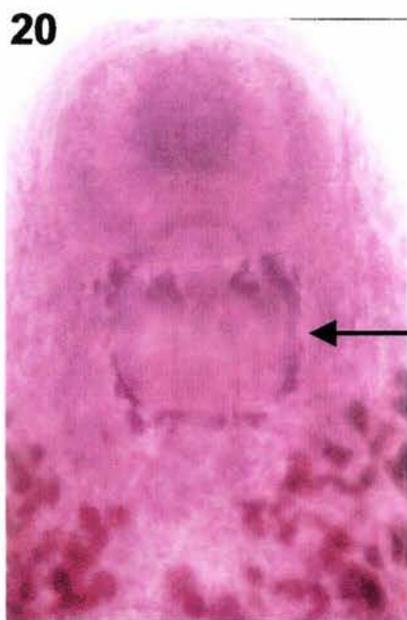
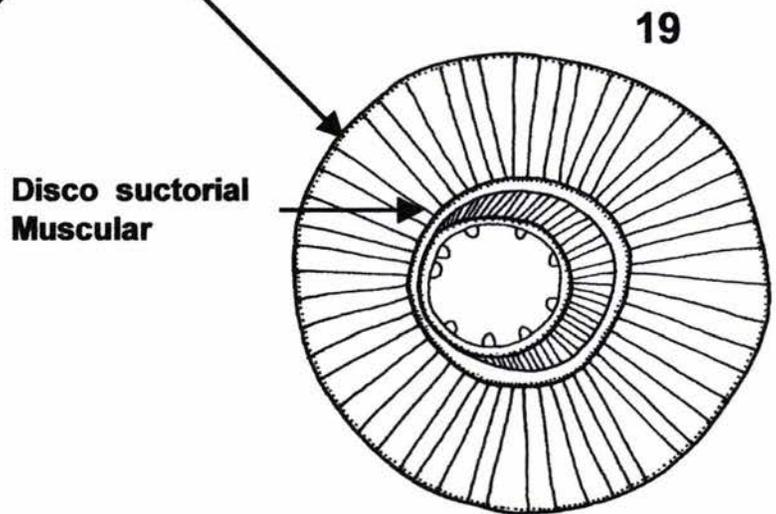
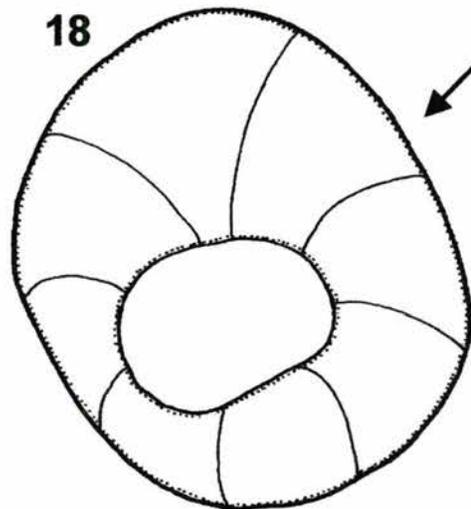
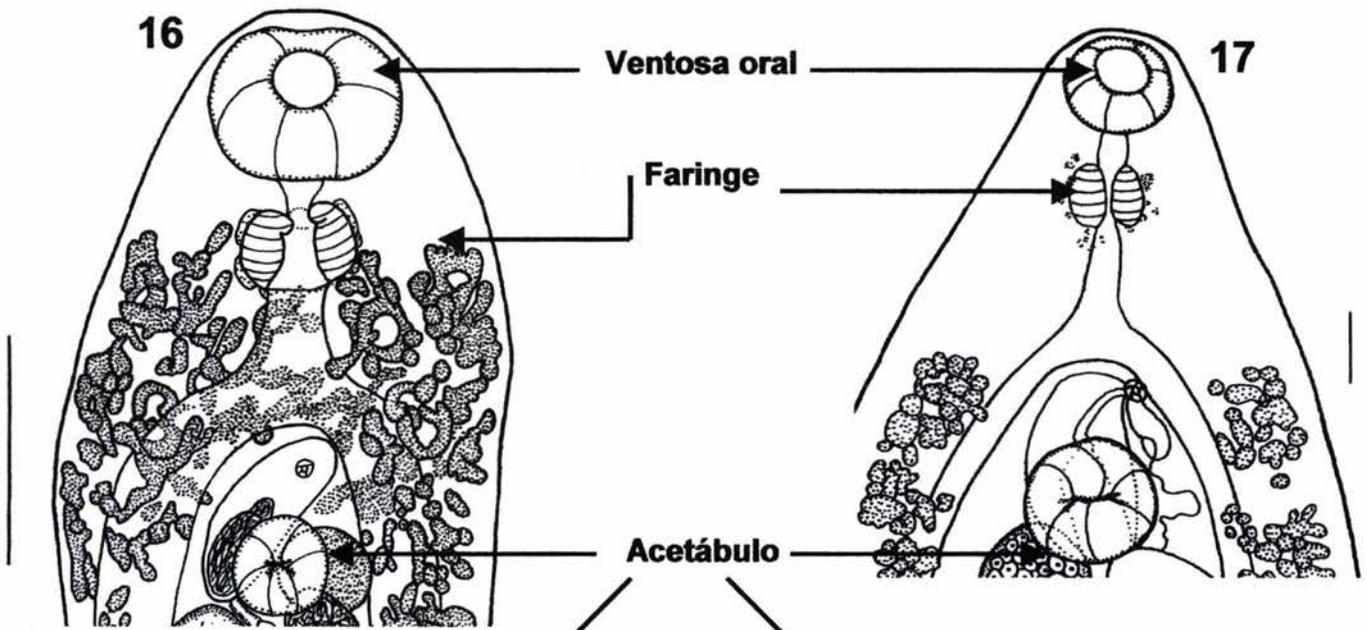


Figura 22. Carácter 11. Glándulas mediales amorfas. Dibujo de un ejemplar de *G. californiensis*, parásito de *R. dunnii*, Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 3280). Escala = 100 µm.

Figura 23. Carácter 11. Glándulas mediales en pequeños racimos. Dibujo de un ejemplar de *G. hepatica*, parásito de *B. marinus*, Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695). Escala = 100 µm.

Figura 24. Carácter 13. Testículos simétricos. Dibujo de un ejemplar de *G. californiensis*, proveniente de *R. montezumae*, Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3235). Escala = 100 µm.

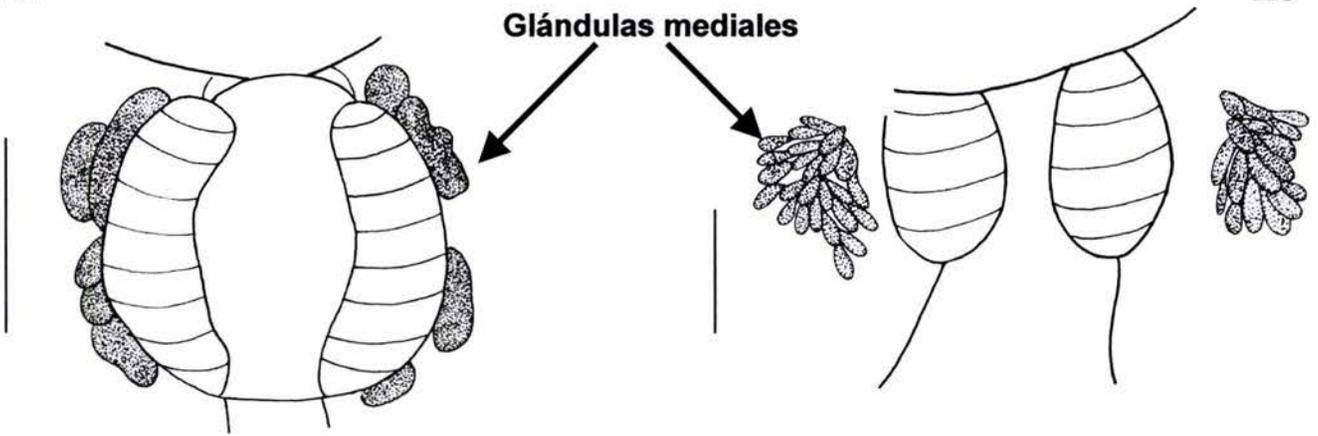
Figura 25. Carácter 13. Testículos oblicuos. Dibujo de un ejemplar de *G. tineri*, parásito de *L. melanonotus*, San Pedro las Playas, Guerrero (CNHE 4069). Escala = 100 µm.

Figura 26. Carácter 13. Testículos en tándem (uno detrás del otro). Dibujo de un ejemplar de *G. intestinalis*, parásito de *R. luteiventris*, Montana, Estados Unidos (CNHE 4692). Escala = 100 µm.

22

23

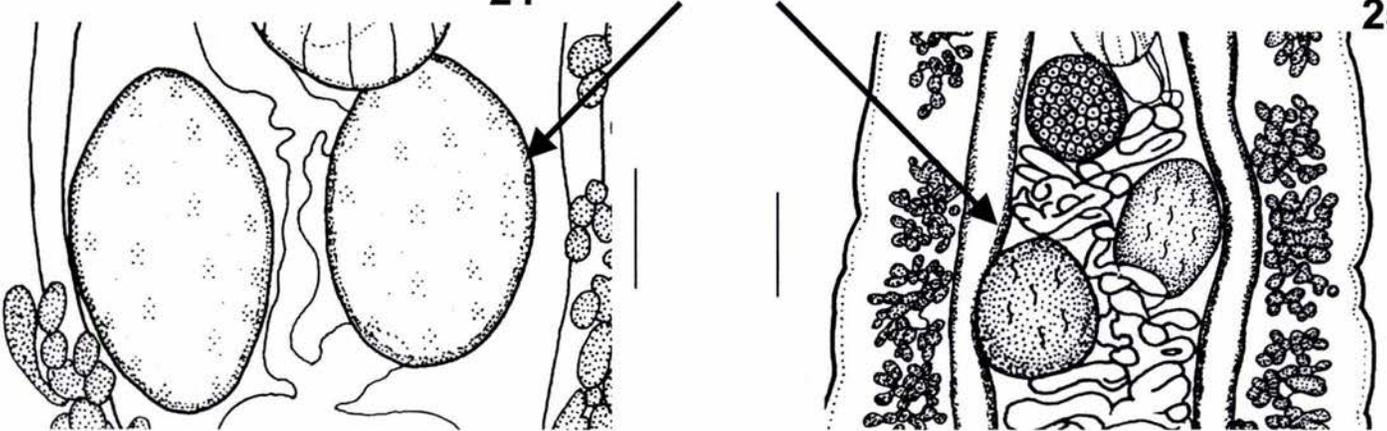
Glándulas mediales



24

Testículos

25



26

Testículos

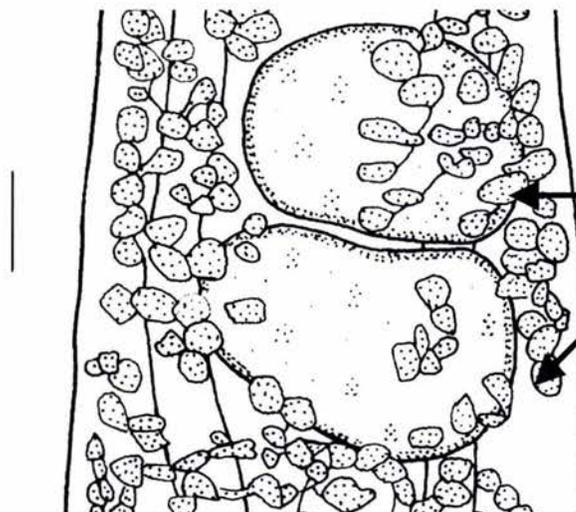
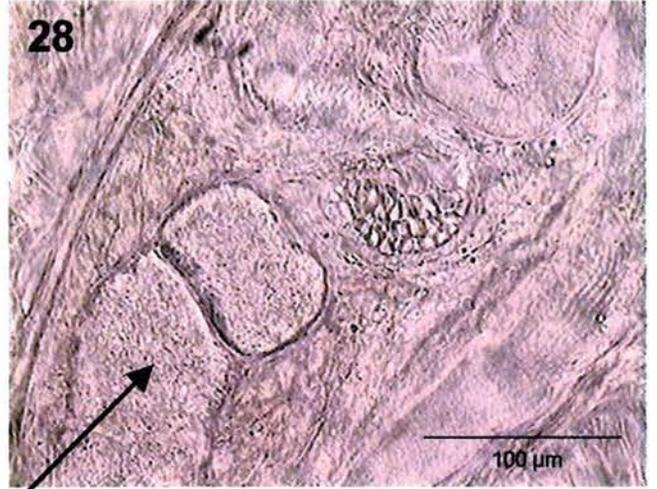
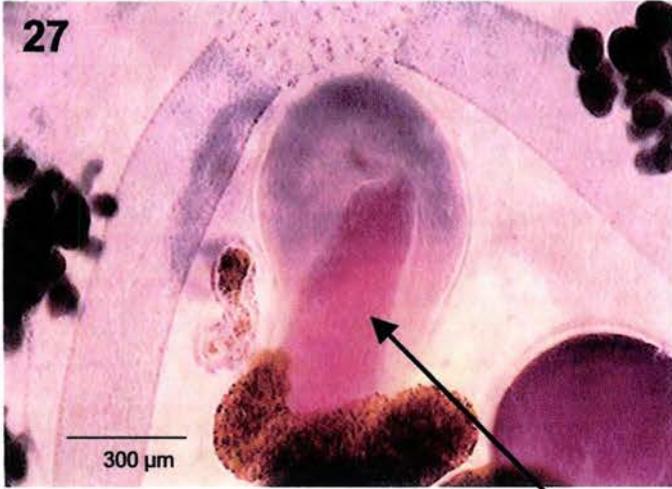


Figura 27. Carácter 18. Microfotografía óptica de una vesícula seminal entera de un ejemplar de *G. hepatica*, parásito de *B. marinus*, Tuxtepec, Oaxaca (CNHE 1357).

Figura 28. Carácter 18. Microfotografía óptica de una vesícula seminal bipartita de un ejemplar de *G. quieta*, parásito de *Rana* sp., Coquimatlán, Colima (CNHE 4688).

Figura 29. Carácter 18. Dibujo de la vesícula seminal bipartita de *G. facioi*, parásito de *R. pipiens*, Costa Rica (CHCR 200-22). Escala = 100 μ m.

Figura 30. Carácter 18. Dibujo de una vesícula seminal enrollada de un ejemplar de *G. tineri* (CNHE 4068). Escala = 100 μ m.



**Vesícula
seminal**

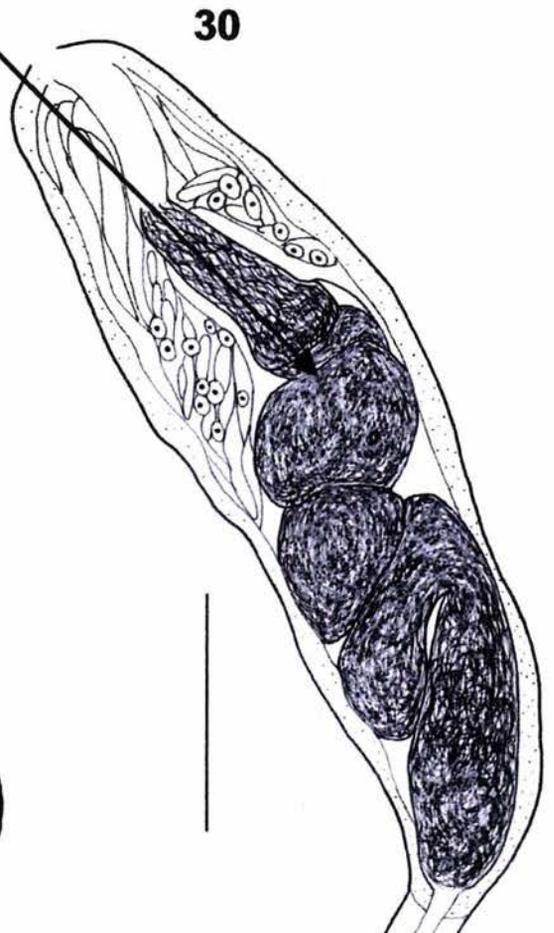
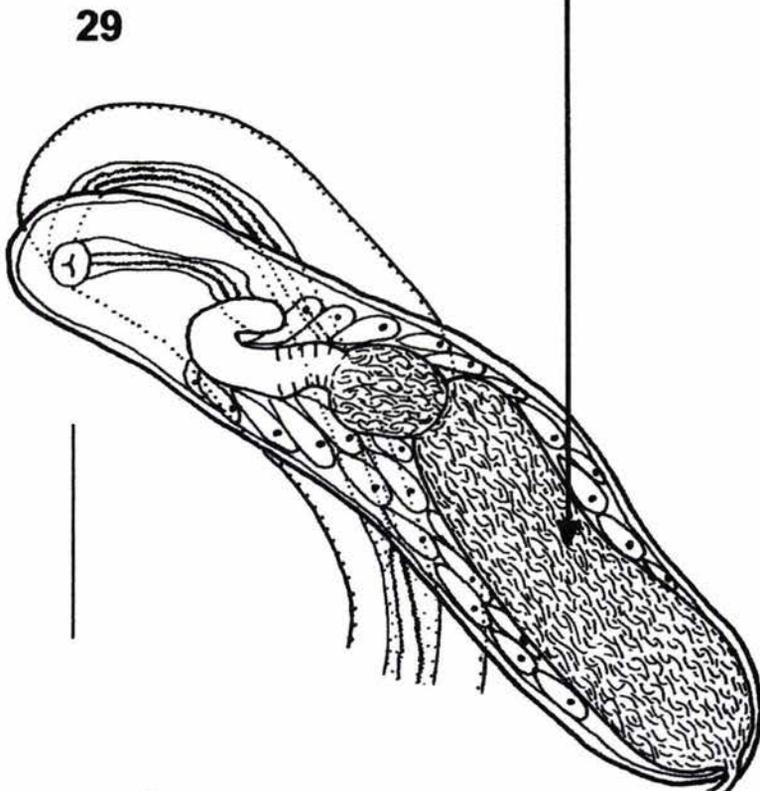


Figura 31. Carácter 22. Microfotografía de barrido mostrando la posición medial del poro genital con respecto al eje antero-posterior del cuerpo en un ejemplar de *G. quieta*, proveniente de *R. montezumae* de la Ciénaga de Lerma, Estado de México.

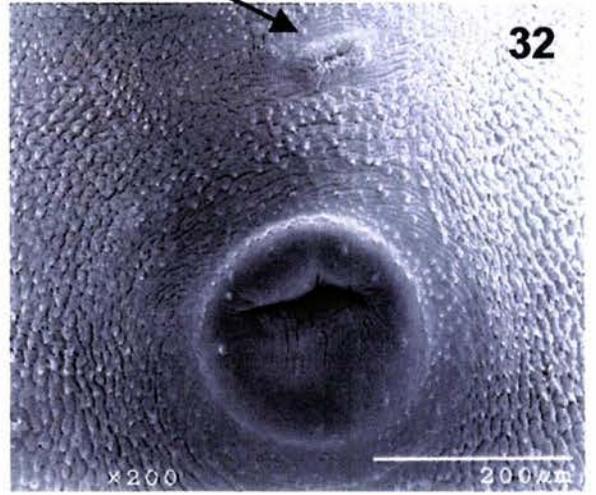
Figura 32. Carácter 22. Microfotografía de barrido mostrando la posición lateral del poro genital con respecto al eje antero-posterior del cuerpo de un ejemplar de *G. hepatica*, proveniente de *B. marinus* de San Pedro las Playas, Guerrero.

Figura 33. Carácter 25. Asas uterinas intercecales. Dibujo de un ejemplar de *G. brownorumae*, parásito de *R. brownorumae*, km. 50 Carretera 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco (CNHE 4668). Escala = 300 μ m.

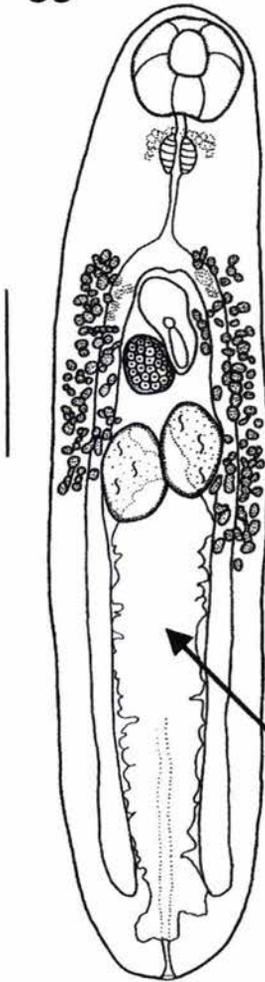
Figura 34. Carácter 25. Asas uterinas intercecales y cecales. Dibujo de un ejemplar de *G. facioi*, parásito de *R. pipiens*, Costa Rica (CHCR 200-22). Escala = 300 μ m.

Figura 35. Carácter 25. Asas uterinas intercecales, cecales y extracecales. Dibujo de un ejemplar de *G. hepatica*, proveniente de *B. marinus*, Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695). Escala = 300 μ m.

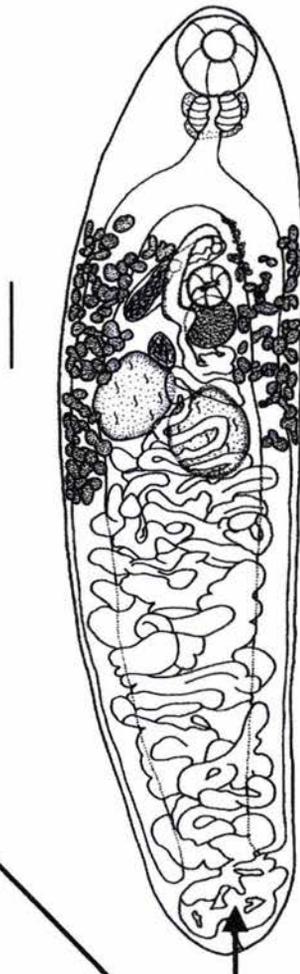
Poro genital



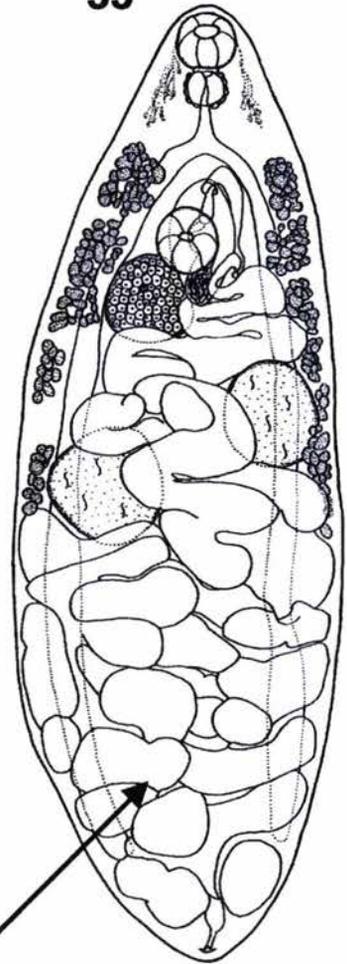
33



34



35



Asas uterinas

Figura 36. Carácter 31. Ausencia de glándulas vitelógenas en el extremo anterior del cuerpo. Dibujo de un ejemplar de *G. repandum*, parásito de *L. ocellatus*, Mato Grosso, Brasil. Escala = 500 µm.

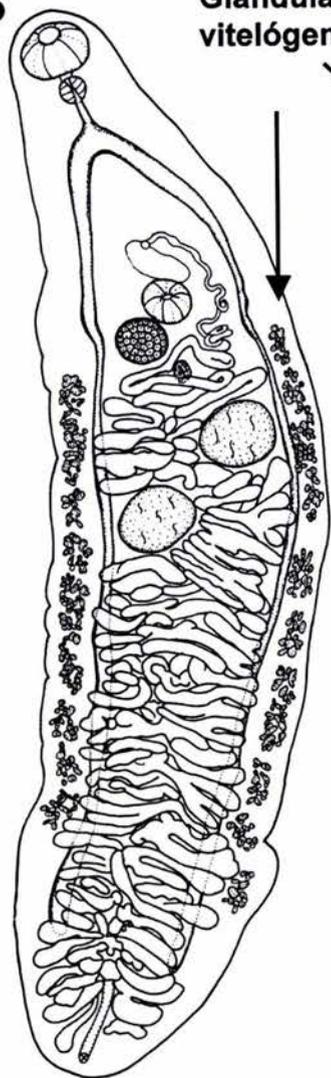
Figura 37. Carácter 31. Extensión anterior de las glándulas vitelógenas hasta la faringe - ventosa oral. Dibujo de un ejemplar de *G. californiensis*, proveniente de *R. montezumae*, Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282). Escala = 300 µm.

Figura 38. Carácter 31. Extensión anterior de las glándulas vitelógenas al nivel de la faringe, esófago o bifurcación cecal. Dibujo de un ejemplar de *G. quieta*, parásito de *Rana* sp. Coquimatlán, Colima (CNHE 4688). Escala = 300 µm.

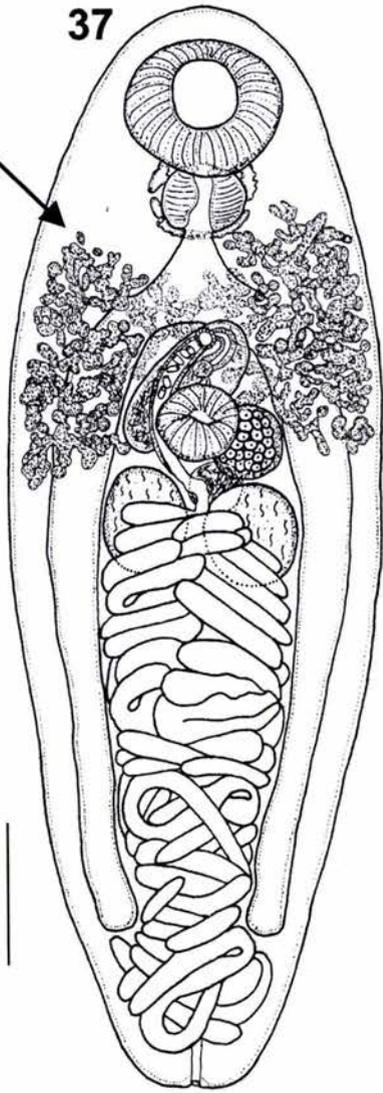
Figura 39. Carácter 31. Folículos vitelógenos posteriores a la bifurcación cecal. Dibujo de un ejemplar de *G. hepatica*, parásito de *B. marinus*, Paso Canoa, Oaxaca (CNHE 4695). Escala = 500 µm.

36

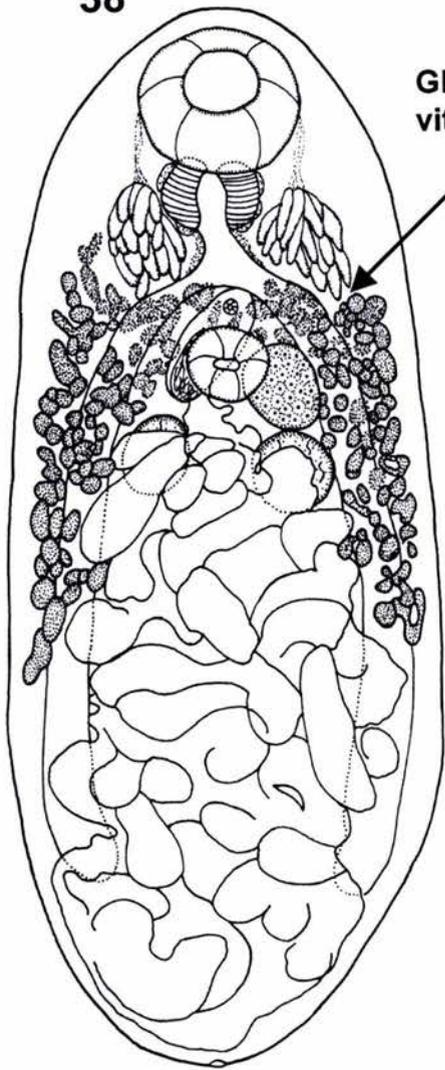
Glándulas vitelógenas



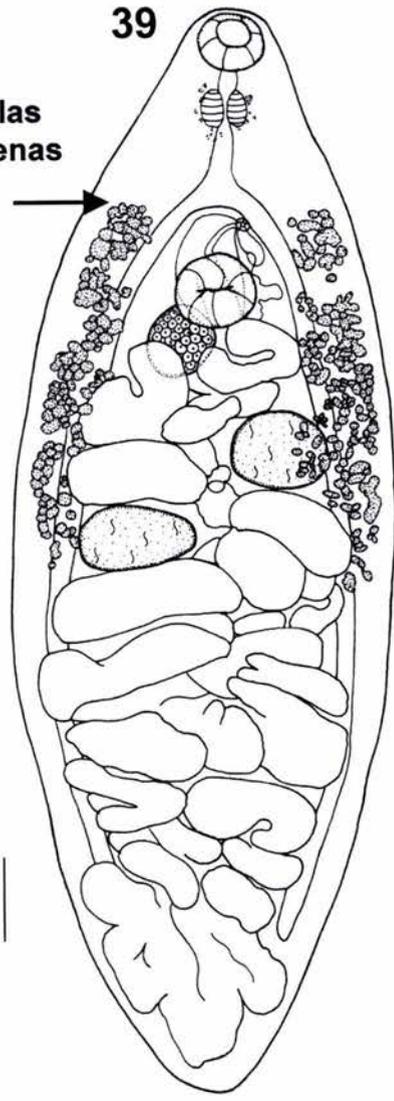
37



38



39



Glándulas vitelógenas

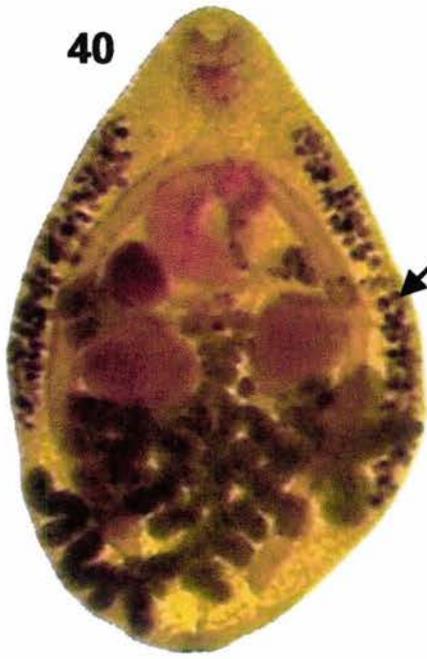
Figura 40. Caracteres 32 y 33. Folículos vitelógenos extracecales y no confluentes. Microfotografía de un ejemplar de *G. elegans*, parásito de *L. ocellatus*, Curitiba, Panamá (CHIOC 21.812 a). Escala = 300 μm .

Figura 41. Caracteres 32 y 33. Folículos vitelógenos intercecales y confluentes. Microfotografía de un ejemplar de *G. californiensis*, proveniente de *R. dunnii*, Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 3280). Escala = 300 μm .

Figura 42. Carácter 35. Glándulas vitelógenas acinosas. Microfotografía de un ejemplar de *G. vitellinophilum*, parásito de *Hyla raniceps*, Pernambuco, Brasil (CHIOC 22.098 b). Escala = 500 μm .

Figura 43. Carácter 35. Glándulas vitelógenas arrosetadas. Microfotografía de un ejemplar de *G. tineri*, parásito de *L. melanonotus*, Teapa, Tabasco (CNHE 4072). Escala = 500 μm .

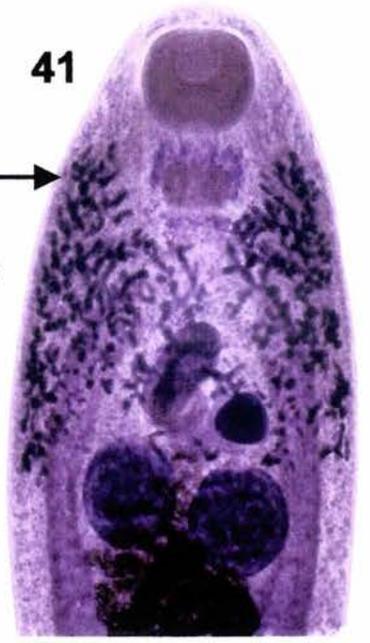
Figura 44. Carácter 35. Glándulas vitelógenas foliculares. Microfotografía de un ejemplar de *G. californiensis*, parásito de *R. montezumae*, Ciénaga de Lerma, Estado de México, (CNHE 3282). Escala = 400 μm .



40

Extracecales
y no
confluentes

Folículos
vitelógenos



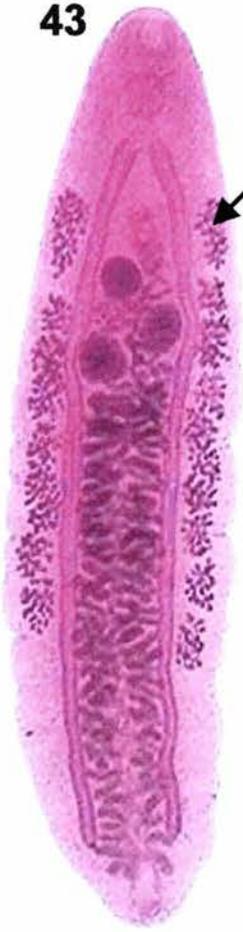
41

Intercecales
y confluentes



42

Glándulas
vitelógenas:
acinosas



43

Glándulas
vitelógenas:
arrosetadas



44

Glándulas
vitelógenas:
foliculares

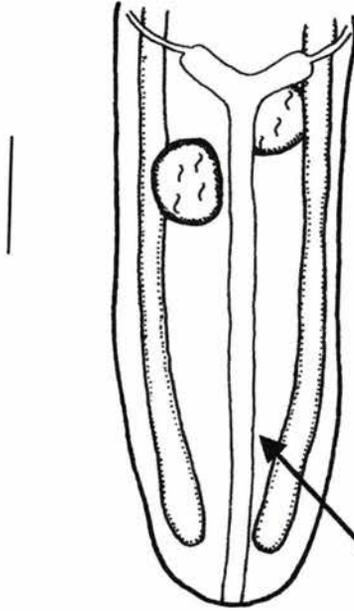
Fig. 45. Carácter 36. Vesícula excretora en forma de "I". Dibujo de un ejemplar de *G. quieta*, parásito de *R. montezumae*, Ciénaga de Lerma, Estado de México. (CNHE 3282).

Fig. 46. Carácter 36. Vesícula excretora en forma de "Y". Dibujo de un ejemplar de *G. poncedeleoni*, parásito de *L. melanonotus*, Ranchería, Benito Juárez, Tabasco. (CNHE 3733).

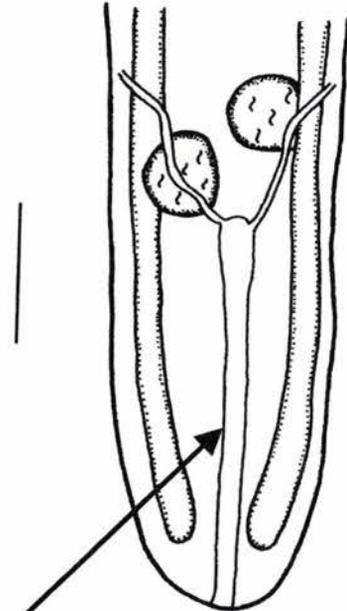
Figs. 47. Carácter 44. Ciegos intestinales cercanos a los bordes laterales del cuerpo. Microfotografía de un ejemplar de *G. quieta*, proveniente de *R. neovolcanica*, Manantiales de Cointzio, Michoacán (CNHE 3272). Escala = 300 μ m.

Figs. 48. Carácter 44. Ciegos intestinales distantes de los bordes laterales del cuerpo. Microfotografía de un ejemplar de *G. chaquensis*, parásito de *L. laticeps*, Chaco Argentino (Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay AP/11113). Escala = 300 μ m.

45

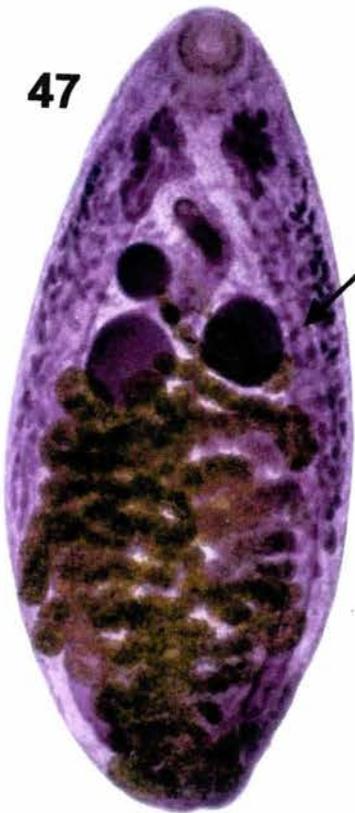


46



Vesícula excretora

47



Ciegos intestinales

48



Tabla III. Especies de huéspedes analizadas en busca de helmintos en México en el período 1996-2000.

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
12	<i>Bufo gemmifer</i> Taylor, 1940	San Pedro Las Playas, Acapulco, Guerrero.	9/ VI /2000	
18	<i>Bufo marinus</i>	Presa Miguel de la Madrid, Tuxtepec, Oaxaca	20/ IV /1997	
1		Estero Chamela, Chamela, Jalisco	15/ X /1997	
14		San Pedro Las Playas, Acapulco, Guerrero	25/ III /1999	
14			2/ IX /1999	
1		Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	
3		Carretera Acapulco- Aeropuerto, Acapulco, Guerrero	8/ VI /2000	
3		Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	
12		Paso Canoa, Oaxaca	5/ III /2000	
3		Corozal, Chiapas	IX / 2002	
1	<i>Bufo marmoratus</i> Wiegmann, 1833	Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	
5	<i>Bufo valliceps</i> Wiegmann, 1833	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	17/ IX /1997	
10		Límite entre los Estados de Yucatán-Campeche	19/ VI /1999	
9		Campeche	19/ VI /1999	
1		Totolapa, Municipio de Huauchinango, Puebla	28/ VII /2000	
2	<i>Bufo sp.</i>	Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	
2		Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	
2		Campeche	19/ VI /1999	
1	<i>Eleutherodactylus rhodopsis</i> (Cope, 1867)	Laguna El Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
2	<i>Gastrophryne elegans</i> (Boulenger, 1882)	Laguna El Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
2		Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	14760, 14761
4	<i>Gastrophryne usta</i> (Cope, 1866)	Carretera Acapulco- Aeropuerto, Acapulco, Guerrero	8/ VI /2000	
5	<i>Hypopachus variolosus</i> (Cope, 1866)	Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	14821- 14824
6	<i>Hyla arenicolor</i> Cope, 1866	Manantiales de Cointzio, Michoacán	7/ X /1997	
4	<i>Hyla eximia</i> Baird, 1864	Manantiales de Cointzio, Michoacán	7/ X /1997	

Tabla III. (Continuación)

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
3	<i>Hyla</i> sp.	Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	
8		Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	
2		Camotepec, Zacatlán, Puebla	20/ I /2000	
1		El Desmonte, Colima	4/ VIII /2000	14420
12		La Parotita, Colima	4/ VIII /2000	14421-14431
1	<i>Leptodactylus labialis</i> (Cope, 1877)	Laguna el Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
2		Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
7		Piscifactoría de Teapa, Teapa, Tabasco	21/ VI /1999	14850-14856
1		Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	17/ IX /1997	
1		Santiago Tamazola, Oaxaca	24/ V /2000	
2	<i>Leptodactylus melanonotus</i> Hallowell, 1861	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
8		Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	14759
1		Escuela de Ciencias Biológicas, UJAT, Villahermosa, Tabasco	21/ VI /1999	14884
22		Piscifactoría de Teapa, Teapa, Tabasco	21/ VI /1999	14857-14878
5		Rancharía Benito Juárez, km 52, Carretera Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	14858, 14880-14883
40		San Pedro Las Playas, Acapulco, Guerrero	2/ XI /1999	
20		Carretera Acapulco-Aeropuerto, Acapulco, Guerrero	25/ III /1999 2/ XII /1999	
2		Paso Canoa, Oaxaca	5/ III /2000	
13		Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	
1	<i>Pachymedusa dactinicolor</i> (Cope, 1864)	Chamela, Jalisco	9/ VI /1997	
1			16/ VIII /1997	
2	<i>Phrynohyas venulosa</i> (Laurenti, 1768)	Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	14830, 14843
1	<i>Rana berlandieri</i> Baird, 1859	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	X / 1998	

Tabla III. (Continuación)

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
10		San Antonio Chimalapa, Oaxaca	17/ IX /1999 15/ IX /1999	
1		Paso Canoa, Oaxaca	5/ III /2000	
6		Totolapa, Municipio de Huauchinango, Puebla	28/ VII /2000	14672- 14677
5	<i>Rana brownorum</i> Hillis, 1981	Laguna el Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz	13/ V /1997	
5		Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	14906- 14910
3		Piscifactoría de Teapa, Teapa, Tabasco	21/ VI /1999	14590, 14591, 14770
7		Pozo Exploratorio Gualas, Carretera 180, km 39 ½, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	14769, 14589
7		Carretera 180, km 50, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	14762- 14764
10		Ranchería Benito Juárez, Carretera 180, km 52, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	14588, 14765- 14767, 14846,
8		San Fernando, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	17/ IX /1999	14167
2		Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	18/ IX / 1999	12196
4		Paso Canoa, Oaxaca	5/ III /2000	14577- 14580
7		San Antonio Chimalapa, Oaxaca	14/ IX /99	
1		Colonia Rodulfo Figueroa, Cerro Baúl, Oaxaca	26/ XI /1999	14399
18	<i>Rana dunni</i>	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	17/ IV/1997	
26		Lago de Zacapu, Michoacán	23/ III /1999	
73			25/ IV /1997	
23	<i>Rana forreni</i> Boulenger, 1883	Carretera Acapulco- Aeropuerto, Acapulco, Guerrero	13/ X /1999	14021- 14029
2			10/ VI /2000	
15		San Pedro las Playas, Acapulco, Guerrero	25/ III /2000	12831- 12839 14015- 14018
2		Colima	3/ VI /2000	
5		Estación Ciudad Ruiz, Colima	3/ VI /2000	13043, 13045,

Tabla III. (Continuación)

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
				13046,
1		Tapalpa, Jalisco	5/ VI /2000	
1	<i>Rana maculata</i> Brocchi, 1877	San Antonio Chimalapas, Oaxaca	17/ IX /1999	
7	<i>Rana magnaocularis</i> Frost & Bagnara, 1974	Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	14771- 14777
14	<i>Rana megapoda</i> Taylor, 1942	Lago de Cuitzeo, Michoacán	6/ III /1997	
20		Manantiales de Cointzio, Michoacán	12/ X /1997	
10		Lago de Chapala, Jalisco	18/ XI / 1997	
50	<i>Rana montezumae</i> Baird, 1854	Ciénaga de Lerma, Estado de México	15/ XII /1996	
39			12/ IV /1997	
6			22/ III /1999	
3		San Pedro Tlaltizapan, Estado de México	20/ I / 2000	14664
34	<i>Rana neovolcanica</i> Hillis and Frost, 1985	Manantiales de Cointzio, Michoacán	7/ X /1997	
2		Huajimic, Nayarit	5/ VI /2000	
2		Tapalpa, Jalisco	7/ VIII /2000	14559- 14560
8	<i>Rana psilonota</i> Webb, 2001	Río El Naranjo, Atenquique, Jalisco	7/ VIII /2000	14712- 14719
4	<i>Rana spectabilis</i> Hillis and Frost, 1985	Huitzo, Oaxaca	16/ IX /1999	
2		Santiago Tamazola, Oaxaca	17/ IX /1999	14710 – 14711
1		San Pedro Tlaltizapan, Estado de México	20/ I /2000	14665
18		Santiago Tamazola, Oaxaca	5/ III /2000	14593, 14610
29		Santiago Tamazola, Oaxaca	24/ V /2000	14612- 14614
30			27/ VII /2000	14615- 14618, 14620- 14624
22	<i>Rana vaillanti</i> Brocchi, 1877	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	17/ IX /1997	
10			13/ V /1997	
48			11/ X /1998	14745- 14751, 14753- 14757
28		Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	25/ XI /1998	14158, 14159
1		Cascadas de Agua Azul, Chiapas	IX / 1999	
7			9/ VII /2000	

Tabla III. (Continuación)

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
3		Ranchería Benito Juárez, Carretera 180, km 52, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	
1	<i>Rana zweifeli</i> Hillis, Frost & Webb, 1984	Santiago Tamazola, Oaxaca	24/ V /2000	14611
12			27/ VII /2000	14627- 14638, 14645
2	<i>Rana</i> sp.	Agostitlán, Michoacán	12/ V /1999	
9		San Pedro las Playas, Acapulco, Guerrero	26/ III /1999	
1		Escuela de Ciencias Biológicas, UJAT, Villahermosa, Tabasco	21/ VI /1999	
3		Ranchería Benito Juárez, Carretera 180, km 52, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	
4		Villa Guerrero, Estado de México	09/ IX /1999	
2		Tehuantepec, Oaxaca	16/ IX /1999	
4		Colonia El Jobo, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	17/ IX /1999	
4		Jardín Botánico, Instituto de Historia Natural, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	17/ IX /1999	
4		7 km NE Zanacatepec, Oaxaca	26/ XI/1999	
9		Santiago Tamazola, Oaxaca	27/ VII /2000	
10		Atenquique, Jalisco	7/ VIII /2000	
7		Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	
13	<i>Rana</i> sp. "Forma Colima"	Carretera Acapulco- Aeropuerto, Acapulco, Guerrero	13/ X /1999	14678- 14690
2		Juluapan, Colima	4/ VIII /2000	14901- 14902
4		La Parotita, Colima	4/ VIII /2000	14565- 14568
7		Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima	7/ VIII /2000	14897- 14900
4	<i>Smilisca baudinii</i> Duméril & Bibron, 1841	Laguna el Zacatal, Municipio San Andrés Tuxtla, Veracruz	13/ V /1997	
5		Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	10/ X /1998	14911- 14912

Tabla III. (Continuación)

No.	Huésped	Localidad	Fecha	MZFC
12		Cenote Chaa-mac, Mérida, Yucatán	16/ VI /1999	14831- 14839
3		Ranchería Benito Juárez, Carretera 180, km 52, Villahermosa-Frontera, Tabasco	22/ VI /1999	14847- 14849
2		Santiago Tamazola, Oaxaca	24/ V /2000	
1		Granjas Montegrande, Coquimatlán, Colima		14432
3	<i>Triprion petasatus</i> (Cope, 1865)	Campeche	20/ VI /1999	14844- 14845

Tabla IV. Especies de *Glythelmins* estudiadas, depositadas en la CNHE.

Especie	Huésped	Localidad	CNHE	Tipo taxonómico	Ejemplares
<i>Glythelmins californiensis</i>	<i>Rana montezumae</i>	1	1181	V	17
	<i>R. montezumae</i>	1	1461	V	10
	<i>Rana dunni</i>	2	1561	V	10
	<i>Rana berlandieri</i>	3	1514	V	5
	<i>R. montezumae</i>	4	2495	V	8
	<i>R. montezumae</i>	1	3235	V	5
	<i>Rana dunni</i>	2	3280	V	4
	<i>R. dunni</i>	5	3281	V	10
	<i>R. montezumae</i>	1	3282	V	6
	<i>R. dunni</i>	5	3283	V	8
	<i>R. dunni</i>	5	3284	V	9
	<i>G. facioi</i>	<i>R. berlandieri</i>	3	3285	V
<i>Rana vaillanti</i>		6	4083	V	5
<i>G. intermedia</i>	<i>Bufo marinus</i>	7	741	H	1
	<i>B. marinus</i>	7	742	P	1
	<i>B. marinus</i>	7	743	P	12
	<i>B. marinus</i>	8	744	V	3
	<i>Bufo horribilis</i>	9	808	V	30
	<i>B. marinus</i>	10	1166	V	2
	<i>B. marinus</i>	8	1357	V	19
<i>G. linguatula</i>	<i>Leptodactylus bolivianus</i>	9	809	V	1
	Boulenger, 1898				
<i>G. palmipedis</i>	<i>Rana palmipedis</i>	11	1057	V	1
<i>G. parva</i>	<i>R. vaillanti</i>	6	3391	V	1
			4115	V	1
<i>G. poncedeleoni</i>	<i>Leptodactylus melanonotus</i>	6	3392	V	1
	<i>L. melanonotus</i>	12	3733	H	1
	<i>L. melanonotus</i>	13	3734	P	1
	<i>L. melanonotus</i>	13	3735	P	1
	<i>B. marinus</i>	14	3736	P	1
	<i>L. melanonotus</i>	15	3737	P	2
	<i>L. melanonotus</i>	12	3738	P	1
	<i>B. marinus</i>	14	3905	P	2
	<i>L. melanonotus</i>	14	3906	P	1
	<i>L. melanonotus</i>	14	4062	V	8
	<i>L. melanonotus</i>	14	4063	V	1
	<i>L. melanonotus</i>	14	4064	V	3
	<i>L. melanonotus</i>	16	4065	V	2
	<i>B. marinus</i>	14	4066	V	6
	<i>G. quieta</i>	<i>R. montezumae</i>	4	1562	V
<i>R. montezumae</i>		17	1562	V	4
<i>R. montezumae</i>		1	3271	V	7
<i>Rana neovolcanica</i>		18	3272	V	14
<i>R. dunni</i>		2	3273	V	41
<i>R. dunni</i>		5	3274	V	5

Tabla IV. (Continuación)

Especie	Huésped	Localidad	CNHE	Tipo taxonómico	Ejemplares
	<i>Rana montezumae</i>	1	3275	V	10
	<i>R. montezumae</i>	1	3276	V	11
	<i>R. montezumae</i>	1	3277	V	5
	<i>R. montezumae</i>	1	3278	V	6
	<i>R. montezumae</i>	1	3279	V	11
	<i>Rana megapoda</i>	19	3346	V	4
	<i>R. megapoda</i>	20	32406	V	1
	<i>R. megapoda</i>	18	3416	V	24
<i>G. tineri</i>	<i>Leptodactylus melanonotus</i>	14	4067	V	5
	<i>L. melanonotus</i>	14	4068	V	6
	<i>L. melanonotus</i>	14	4069	V	10
	<i>L. melanonotus</i>	16	4070	V	1
	<i>Bufo marinus</i>	14	4071	V	2
	<i>L. melanonotus</i>	15	4072	V	1
Total					376

Localidades

1. Ciénaga de Lerma, Estado de México
 2. Lago de Pátzcuaro, Michoacán
 3. Estación Los Tuxtlas, Veracruz
 4. Lago de Xochimilco, Distrito Federal
 5. Lago de Zacapu, Michoacán
 6. Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz
 7. Río Huixtla, Chiapas
 8. Tuxtepec, Oaxaca
 9. La Carrasquilla, Panamá
 10. Río Oro, Costa Rica
 11. Aragua, Venezuela
 12. Ranchería Benito Juárez, Tabasco
 13. Desviación a la Barra de Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz
 14. San Pedro las Playas, Guerrero
 15. Piscifactoria de Teapa, Teapa, Tabasco
 16. Jardines del Hotel Mayan Palace, Acapulco, Guerrero
 17. Lago de Texcoco, Estado de México
 18. Manantiales de Coitzio
 19. Lago de Cuitzeo, Michoacán
 20. Lago de Chapala Jalisco
- H= Holotipo
P= P
V= Voucher

Tabla V. Especies de *Glythelmins* estudiadas, depositadas en la USNPC.

Especie	Huésped	Localidad	USNPC	Tipo taxonómico	Ejemplares
<i>Glythelmins facioi</i>	<i>Rana pipiens</i>	lica Turrialba, Costa Rica	72275	V	2
<i>C. hepaticus</i>	<i>Bufo marinus</i>	Sucre, Venezuela	72276	V	2
<i>G. hylareus</i>	<i>Hyla regilla</i> Baird & Girard, 1852	Oregon, USA	70464	P	2
<i>C. incurvatum</i>	<i>Pseudis paradoxa</i>	Los Guaraunos Sucre, Venezuela	72277	V	1
<i>C. intermedius</i>	<i>B. marinus</i>	Huixtla, Chiapas	36894	C	1
<i>H. intestinalis</i>	<i>Rana pretiosa</i>	Washington, USA	29904	P	2
<i>R. palmipedis</i>	<i>Leptodactylus bolivianum</i>	Bordonas, Venezuela	72279	V	2
<i>G. pennsylvaniensis</i>	<i>Pseudacris crucifer crucifer</i> Wied-Neuwied, 1838	Pennsylvania, USA	59515	H	1
<i>G. quieta</i>	<i>Rana clamitans</i> Latreille, 1801	Indianapolis, USA	51635	V	2
	<i>R. clamitans</i>	New Jersey, USA			
	<i>R. clamitans</i>	WInsconsin, USA	72268	V	2
	<i>R. clamitans</i>	Texas, USA			
	<i>R. clamitans</i>	Louisiana, USA	75450	V	1
	<i>Rana utricularia</i> Pace, 1974		84281	V	1
	<i>Rana catesbeiana</i>		84814	V	1
<i>G. ramitesticularis</i>	<i>P. paradoxa</i>	Venezuela	60736	H	1
<i>G. robustus</i>	<i>B. marinus</i>	15 k W Neiva, Colombia	73483	P	1
<i>G. rugocaudata</i>	<i>Rana plancyifukienensis</i> Boring, 1938	Ping-Tung Prefecture, Taiwan	75618	V	1
<i>G. shastai</i>	<i>Bufo boreas</i>	California, USA	8925	H	1
<i>G. subtropica</i>	<i>R. catesbeiana</i>	Houston, Texas, USA	30878	H	1
<i>G. staffordi</i>	<i>Rana limnocharis vittigera</i> Inger, 1954	Luzon Island, Philippines,	61702	V	4
	<i>Rana vittigera</i>	Philippines, Manila	51636	V	1
<i>R. tineri</i>	Green frog	México	47089	P	1
<i>C. vitellinophilum</i>	<i>Leptodactylus bolivianum</i>	Guaraunos, Sucre, Venezuela	72278.01	V	2
	<i>Leptodactylus pentadactylus</i> (Laurenti, 1768)		72278.02	V	2
Total					39

H= Holotipo, P= Paratipo, V= Voucher C= Cotipo

Tabla VI. Especies de *Glythelmins* estudiadas, depositadas en el HWML.

Especie	Huésped	Localidad	HWML	Tipo Taxonómico	Ejemplares
<i>Glythelmins africana</i>		Zimbabwe	38785	V	1
<i>G. californiensis</i>	<i>Rana montezumae</i>	México	1208	V	1
	<i>Rana catesbeiana</i>		21695	V	1
	<i>R. catesbeiana</i>		31390	V	5
<i>G. hylareus</i>	<i>Pseudacris triseriata</i> (Wied-Neuwied, 1838)	Nebraska, USA	20080	V	5
<i>G. hylareus</i>	<i>Lymnaea</i> sp.	Nebraska, USA	20209	V	2
	<i>Pseudacris triseriata</i>	Colorado, USA	33823	V	1
	<i>P. triseriata</i>	Nebraska, USA	33824	V	1
<i>G. intermedia</i>	<i>Bufo horridus</i> Daudin, 1802	Costa Rica	24901	V	1
<i>H. intestinalis</i>	<i>Rana pretiosa</i>	Idaho, USA	20835	V	1
	<i>R. pretiosa</i>		23754	V	1
	<i>R. pretiosa</i>	Idaho, USA	23755	V	1
<i>H. uthaensis</i>	<i>Rana aurora</i>	Estados Unidos	20652	V	1
<i>G. palmipedis</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Mato Grosso, Brasil	21697	V	1
<i>G. pennsylvaniensis</i>	<i>Hyla crucifer</i>	Wisconsin, USA	21343	V	1
			38397	V	1
			39470	V	1
<i>G. quieta</i>			1089	V	1
	<i>P. triseriata</i>		1090	V	1
	<i>Rana pipiens</i>	Wisconsin, USA	1209-1210	V	3
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20174	V	10
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20175	V	1
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20176	V	6
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20177	V	23
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20178	V	20
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20179	V	2
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20180	V	5
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20181	V	5
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20182	V	3
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20183	V	4
	<i>Rana blairi</i> Mecham, Littlejohn, Old-ham, Brown & Brown, 1973	Nebraska, USA	20184	V	4
	<i>Rana blairi</i>	Nebraska, USA	20185	V	4
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20186	V	4
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	20187	V	1
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20188	V	79
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20189	V	1
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20190	V	4
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20191	V	30

Tabla VI. (Continuación)

Especie	Huésped	Localidad	HWML	Tipo Taxonómico	Ejemplares
	<i>Rana blairi</i>	Nebraska, USA	20192	V	10
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20193	V	6
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20194	V	11
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	21095	V	11
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20196	V	3
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20197	V	11
	<i>Rana pipiens</i>	Nebraska, USA	20198	V	1
	<i>R. pipiens</i>	Nebraska, USA	20199	V	1
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20200	V	6
	<i>R. blairi</i>	Nebraska, USA	20201	V	4
	<i>Rana catesbeiana</i>	Oklahoma, USA	20229	V	12
	<i>Rana utricularia</i>	Mississippi, USA	20890	V	1
	<i>R. pipiens</i>	West Virginia, USA	20897	V	3
	<i>R. catesbeiana</i>	Oklahoma, USA	20925	V	1
	<i>R. catesbeiana</i>	Georgia, USA	20938	V	2
	<i>R. utricularia</i>	Mississippi, USA	20954	V	1
	<i>R. catesbeiana</i>	Mississippi, USA	20956	V	2
	<i>R. pipiens</i>	Wisconsin, USA	22473	V	1
	<i>R. catesbeiana</i>	Louisiana, USA	22675	V	5
	<i>R. catesbeiana</i>	Oregon, USA	20643	V	3
	<i>R. clamitans</i>	Wisconsin, USA	23829	V	2
	<i>R. catesbeiana</i>	Nebraska, USA	19721	V	4
	<i>R. catesbeiana</i>		31273	V	4
<i>G. repandum</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Mato Grosso, Brasil	21696	V	1
<i>G. shastai</i>			23661	V	1
<i>G. staffordi</i>	<i>Rana cancrivora</i> Gravenhorst, 1829	Negros Oriental, Philippines	20038	V	1
<i>Glythelmins</i> <i>sp.</i>			19722	V	1
			19723	V	1
			21752	V	1
			23830-	V	1
			23831	V	1
			33152	V	1
Total					350

H= Holotipo, P= Paratipo, V= Voucher

Tabla VII. Especies de *Glythelmins* estudiadas, depositadas en la CHIOC.

Especie	Huésped	Localidad	CHIOC	Tipo taxonómico	Ejemplares
<i>Glythelmins elegans</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Curitiba, Panamá	21.812 a-c	V	3
<i>G. lenti</i>	<i>L. ocellatus</i>	Montevideo Uruguay	10.763 10.764 10.765 10.766 a-b	C	1 1 1 3
<i>G. linguatula</i>	<i>Leptodactylus pentadactylus</i>	Pernambuco, Brasil	21.823 a-e	V	5
<i>G. palmipedis</i>	<i>Rana palmipes</i>	Perernambuco Brasil	21.794	V	1
	<i>L. ocellatus</i>	Pernambuco, Brasil	21.802 a-f	V	6
<i>G. parva</i>			4746	H P	1 1
<i>G. proximus</i>	<i>L. ocellatus</i>	Montevideo Uruguay	10.756 10.757 10.758 10.759 10.760 10.761	C	1 1 1 2 1 1
<i>G. simulans</i>	<i>L. ocellatus</i>	Montevideo, Uruguay	10.751 10.752	C	2 1
<i>G. vitellinophilum</i>	<i>Hyla raniceps</i>	Pernambuco, Brasil	22.098 b-m 22.099 a-f	P P	12 6
Total					51

C= Cotipo, H= Holotipo, P= Paratipo, V= Voucher

Tabla VIII. Especies de *Glypthelmins* estudiadas, depositadas en la Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay.

Especie	Huésped	Localidad	No. de Catálogo	Tipo taxonómico	Ejemplares
<i>Glypthelmins chaquensis</i>	<i>Leptodactylus laticeps</i>	Chaco	AP/11113	H	1
		Argentino	AP/11114	P	1
			AP/11115	P	1
<i>G. linguatula</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Departamento Coronilla, Río Negro,	AP/11156	V	1
			AP/11157- AP/11159	V	3
		Departamento Tropa Vieja, Uruguay	AP/11161	V	7
<i>G. simulans</i>	<i>L. ocellatus</i>	Departamento Tropa Vieja,	AP/11162- AP/11166	V	5
		Departamento Carrasco, Uruguay	AP/11167 AP/11168	V	2
<i>G. festina</i>	<i>Bufo arenarum</i>	Departamento Carrasco, Uruguay	AP/11155	H	1
<i>G. proximus</i>	<i>L. ocellatus</i>	Departamento Tropa Vieja, Uruguay	AP/11176- AP/11184	V	19
Total					41

H= Holotipo, P= Paratipo, V= Voucher

Tabla IX. Especies de *Glypthelmins* provenientes de la colección particular del Dr. Daniel Brooks.

Especie	Huésped	Localidad	Tipo taxonómico	Ejemplares
<i>Glypthelmins californiensis</i>	<i>Rana aurora</i>	Columbia	V	2
		Britanica, Canadá		
<i>G. hylareus</i>	<i>Pseudacris triseriata</i>	Nebraska, E. U.	V	9
<i>G. quieta</i>	<i>Rana catesbeiana</i>	Willow Creek, Nebraska, E.U.	V	6
<i>G. staffordi</i>	<i>Rana vittigera</i>	Filipinas	V	1
Total				18

V= Voucher

Tabla X. Matriz de caracteres morfológicos para las especies del género *Glypthelmins* y cinco grupos externos empleados en el análisis filogenético.

CARACTERES	1	1111111112	222222223	333333334	4444
TAXONES	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	12345
<i>A. hirudicola</i> •	21011?1100	2120100110	0011111111	3000200011	01100
<i>L. mariavirginiae</i> •	1001221100	111000?011	2201210111	0000210101	10001
<i>P. echinus</i> •	20112?0100	?120000110	0011101121	0000201101	10001
<i>C. americanus</i> •	21012?0100	0120010201	3101210111	3000210100	10200
<i>P. vespertilionis</i> •	2101220100	2110000000	0200010121	31002?1101	10200
<i>G. elegans</i>	0101321100	2010100010	1200210111	3000010101	10000
<i>G. hepatica</i>	0101321100	2010100010	1200210111	3000010101	10000
<i>G. californiensis</i>	1101210000	1100001100	0011011000	2110200101	10001
<i>G. tuxtlasensis</i>	2101210000	1110001100	0011111000	3110200101	10001
<i>G. facioi</i>	2101210000	1110001100	0011111000	3110200101	10000
<i>G. brownorumae</i>	2101210100	1110111100	0011001000	3100200101	10000
<i>G. quieta</i>	1101210001	1110001100	0011111000	2110200101	10001
<i>G. shastai</i>	1101210100	1110111100	0011011000	3100200101	10000
<i>G. hyloraus</i>	1101210100	1110000100	0011211110	2100200101	10002
<i>G. pennsylvanienis</i>	1101210100	1110000100	0011211110	2100200101	10002
<i>G. intestinalis</i>	3101210110	1120111100	0011111120	0110200101	10000
<i>G. simulans</i>	1101321100	2010100010	0200210111	3000010101	10000
<i>G. parva</i>	1101210000	1110001100	0011101000	3110200101	1000?
<i>G. tineri</i>	2101210100	1110002200	0101100111	3001110101	10000
<i>G. linguatula</i>	2101210000	1110000200	0101100111	3001110101	10000
<i>G. repandum</i>	2101210100	1010002200	0101000111	0001110101	10000
<i>G. lenti</i>	2101210100	1110002200	0101100111	3001210101	10000
<i>G. proximus</i>	2101210100	1110002100	0101010111	3001210101	10000
<i>G. vitellinophilum</i>	1101220100	1110000210	0200210111	1000010101	10000
<i>G. poncedeleoni</i>	2101210100	1110002200	0101100111	3001110101	10000
<i>G. staffordi</i>	2101210100	1110012200	0101100121	3001110101	10002
<i>G. africana</i>	11012?0100	?120010?00	0201010111	21002?0101	1000?
<i>G. rugocaudata</i>	2101210100	1110002200	0101000121	3001110101	10202
<i>G. ramitesticularis</i>	1101321100	1211102200	0201210111	2000?11101	10000
<i>G. chaquensis</i>	0101211100	1010002200	0201100111	00011?0101	10010
<i>G. sanmartini</i>	1101210100	?010002?00	0101100121	00011?0101	10000
<i>G. pseudium</i>	1101?10100	?010002200	0101110111	00011?0101	10010
<i>G. sera</i>	2100000100	0010002200	0101100111	0001110101	1020?
<i>G. diana</i>	11?1121100	011000?2?2	220?00011?	100???0101	10003
<i>G. incurvatum</i>	1101321100	1110002000	020?200111	2000210101	10100

• Grupos externos

Tabla XI. Especies de *Glythelmins* a partir de cuyos representantes se extrajo gDNA.

Especie	Huésped	Localidad
<i>Glythelmins quieta</i>	<i>Rana montezumae</i>	Ciénaga de Lerma, Estado de México
<i>G. quieta</i>	<i>Rana</i> sp.	Coquimatlán, Colima
<i>G. quieta</i>	<i>R. catesbeiana</i>	Lincoln, Nebraska
<i>G. quieta</i>	<i>R. clamitans</i>	Louisiana, E. U.
<i>G. californiensis</i>	<i>R. montezumae</i>	Ciénaga de Lerma, Estado de México
<i>G. californiensis</i>	<i>R. dunni</i>	Lago de Zacapu, Michoacán
<i>G. hepatica</i>	<i>B. marinus</i>	San Pedro las Playas, Acapulco, Guerrero
<i>G. intestinalis</i>	<i>Rana luteiventris</i> Thompson, 1913	Glacier National Park, Montana, E.U.
<i>G. tineri</i>	<i>L. melanonotus</i>	San Pedro las Playas, Acapulco, Guerrero
<i>G. facioi</i>	<i>R. palmipes</i>	Guanacaste, Costa Rica
<i>G. tuxtlasensis</i>	<i>R. vaillanti</i>	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz
<i>G. brownorumae</i>	<i>R. brownorum</i>	km 50, Carretera 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco
<i>G. hylareus</i>	<i>P. triseriata</i>	Lincoln, Nebraska, E.U.
<i>G. pennsylvaniensis</i>	<i>P. crucifer crucifer</i>	Cabell County, West Virginia,
<i>G. poncedeleoni</i>	<i>L. melanonotus</i>	San Pedro las Playas, Acapulco, Guerrero

Tabla XII. Especies de digéneos utilizados en este estudio, huéspedes, números de acceso al GenBank y autores que generaron las secuencias

Familia y Especie	Huésped	GenBank	Autor
Allassogonoporidae			
<i>Allassogonoporus amphoraeformis</i> (Mödlinger, 1930) Odening, 1964	<i>Pipistrellus kuhli</i> (Natterer, 1819)	AF151924	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
Brachycoeliidae Johnston, 1912			
<i>Brachycoelium salamandrae</i> (Froelich, 1789) Lühe, 1909	<i>Salamandra salamandra</i> (Linnaeus 1758)	AF151935	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Mesocoelium sp.</i> Odhner, 1911	<i>Sibon nebulata</i> (Linnaeus, 1758)	AF433677	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
Dicrocoeliidae Odhner, 1910			
<i>Dicrocoelium dendriticum</i> (Looss, 1899)	<i>Marmota bobak</i> (Müller, 1776)	AF151939	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Dicrocoelium hospes</i> Looss, 1907		AY251233	
<i>Lyperosomum transcarpathicus</i> Bychovskaya-Pavlovskaja, Vyzotzkaja et Kulakova, 1970	<i>Sorex minutus</i> Linnaeus, 1766	AF151943	Tkach <i>et al.</i> , (2001c)
Diplostomidae Poirier, 1886			
‡ <i>Alaria alata</i> (Goeze, 1782) Krause, 1914	<i>Nyctereutes procyonoides</i> (Gray, 1834)	AF184263	Tkach <i>et al.</i> , (2001c)
Echinostomatidae Poche, 1926			
‡ <i>Euparyphium mehlis</i> (Schränk 1788)	<i>N. procyonoides</i>	AF151941	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
‡ <i>Echinoparyphium cinctum</i> (Rudolphi, 1803)	<i>Anas platyrhynchos</i> Linnaeus, 1758	AF184260	Tkach <i>et al.</i> , (2001c)
Gorgoderidae Looss, 1901			
<i>Gorgodera cygnoides</i> (Zeder, 1800) Looss, 1899	<i>Rana lessonae</i> Camerano, 1882	AF151938	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
Haematoloechidae Odening, 1964			
<i>Haematoloechus abbreviatus</i> (Bychowsky, 1932)	<i>Bombina variegata</i> (Linnaeus, 1758)	AF184251	Tkach <i>et al.</i> , (2001c)
<i>Haematoloechus asper</i> Looss, 1899	<i>Rana arvalis</i> Nilsson, 1842	AF151934	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Haematoloechus breviplexus</i> Stafford, 1902	<i>R. catesbeiana</i>	AF387800	Snyder & Tkach, (2001)
<i>Haematoloechus complexus</i> (Seely, 1906) Krull, 1933	<i>R. blairi</i>	AF387797	Snyder & Tkach, (2001)
<i>Haematoloechus longiplexus</i> Stafford, 1902	<i>R. catesbeiana</i>	AF387801	Snyder & Tkach, (2001)
<i>Haematoloechus medioplexus</i> Stafford, 1902	<i>R. pipiens</i>	AF387799	Snyder & Tkach, (2001)
<i>Haematoloechus variegatus</i> (Rudolphi, 1819) Looss, 1899	<i>R. arvalis</i>	AF151916	Tkach <i>et al.</i> , (1999)
<i>Haematoloechus varioplexus</i> Stafford, 1902	<i>R. catesbeiana</i>	AF151916	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
Lecithodendriidae (Lühe, 1901) Odhner, 1910			
<i>Lecithodendrium linstowi</i> Dollfus, 1931	<i>Nyctalus noctula</i> (Schreber, 1774)	AF151919	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)

Tabla XII. (Continuación)

Familia y Especie	Huésped	GenBank	Autor
<i>Prosthodendrium chilostomum</i> (Mehlis, 1831)	<i>N. noctula</i>	AF151920	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>P. hurkova</i> (Mehlis, 1831)	<i>Myotis daubentoni</i> (Kuhl, 1819)	AF151922	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Prosthodendrium longiforme</i> (Bhalerao, 1926)	<i>M. daubentoni</i>	AF151921	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Pycnoporus heteroporus</i> (Dujardin, 1845) Looss, 1899	<i>P. kuhli</i>	AF151918	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>P. megacotyle</i> (Ogata, 1939)	<i>P. kuhli</i>	AF151917	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>Ophiosacculus mehelyi</i> (Mödlinger, 1930) Macy, 1935	<i>Eptesicus serotinus</i> (Schreber, 1774)	AF480167	Tkach <i>et al.</i> , (2002)
Macroderidae (Goodman, 1952)			
<i>Macrodera longicollis</i> (Abildgaard, 1788) Lühe, 1909	<i>Natrix natrix</i> (Linnaeus, 1758)	AF151913	Tkach <i>et al.</i> , (1999)
Macroderoididae McMullen, 1937			
<i>Glyphelmis brownorumae</i>	<i>R. brownorum</i>	AY278048	Este estudio
<i>G. californiensis</i> Lerma	<i>R. montezumae</i>	AY278051	Este estudio
<i>G. californiensis</i> 1 (Zacapu)	<i>R. dunni</i>	AY278052	Este estudio
<i>G. facioi</i>	<i>R. vaillanti</i>	AY278046	Este estudio
<i>G. hepatica</i>	<i>B. marinus</i>		Este estudio
<i>G. hyloreus</i>	<i>P. triseriata</i>	AY278050	Este estudio
<i>G. intestinalis</i>	<i>R. luteiventris</i>		Este estudio
<i>G. pennsylvaniensis</i> 1 (Pennsylvania)	<i>P. triseriata triseriata</i>		Este estudio
<i>G. pennsylvaniensis</i> 2 (Pennsylvania)	<i>R. catesbeiana</i>	AF433676	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
<i>G. poncedeleoni</i>	<i>L. melanonotus</i>		Este estudio
<i>G. quieta</i> 1 (Colima)	<i>Rana</i> sp.		Este estudio
<i>G. quieta</i> 2 (Lerma)	<i>R. montezumae</i>	AY278049	Este estudio
<i>G. quieta</i> 3 (Louisiana)	<i>R. clamitans</i>		Este estudio
<i>G. quieta</i> 4 (Nebraska)	<i>R. catesbeiana</i>		Este estudio
<i>G. quieta</i> 5 (Louisiana)	<i>R. clamitans</i>	AF433675	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
<i>G. tineri</i>	<i>L. melanonotus</i>		Este estudio
<i>G. tuxtlasensis</i>	<i>R. vaillanti</i>	AY278047	Este estudio
<i>Macroderoides spiniferus</i> Pearse, 1924	<i>Lepisosteus osseus</i> (Linnaeus, 1758)	AF433674	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
<i>M. typicus</i> (Winfield, 1929) Van Cleave & Mueller, 1932	<i>Lepisosteus platostomus</i> Rafinesque, 1820	AF433673	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
Microphallidae (Ward, 1961)			
Travassos, 1920			
<i>Maritrema subdolum</i> Jägerskiöld, 1909	<i>Tringa erythropus</i> (Pallas, 1764)	AF151926	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
<i>M. neomi</i> Tkach, 1998	<i>Neomys anomalus</i> Cabrera, 1907	AF151927	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)
Ochetosomatiidae Leao, 1944			
<i>Ochetosoma kansense</i> (Crow, 1913) Skrjabin & Antipin, 1957	<i>Drymarchon corais</i> (Boie, 1827)	AF433671	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)
<i>Dasymetra nicolli</i> Hall & Allison, 1935	<i>Nerodia rhombifer</i> (Hallowell, 1852)	AF433672	Tkach <i>et al.</i> , (2001a)

Tabla XII. (Continuación)

Familia y Especie	Huésped	GenBank	Autor
Omphalometridae Bittner & Sprehn, 1928			
<i>Omphalometra flexuosa</i> (Rudolphi, 1809) Looss, 1899	<i>Planorbis planorbis</i> (Linnaeus, 1758)	AF300333	Tkach et al., (2001b)
Opecoeliidae			
<i>Opecoeloides furcatus</i> (Bremser in Rudolphi, 1819) Odhner, 1928	<i>Mullus surmuletus</i> Linnaeus, 1758	AF151937	Tkach et al., (2000b)
Plagiorchiidae (Lühe, 1901) Ward, 1917			
<i>Astiotrema monticellii</i> Stossich, 1904	<i>N. natrix</i>	AF184253	Tkach et al., (2001c)
<i>Haplometra cylindracea</i> (Zeder, 1800) Looss, 1899	<i>R. arvalis</i>	AF151933	Tkach et al., (2000b)
<i>Lecithopyge rastellus</i> Perkins, 1928	<i>B. variegata</i>	AF151932	Tkach et al., (2000b)
<i>Leptophallus nigrovenosus</i> (Bellingham, 1844) Lühe, 1909	<i>N. natrix</i>	AF151914	Tkach et al., (2000b)
<i>Metaleptophallus gracillimus</i> (Lühe, 1909) Yamaguti, 1958	<i>N. natrix</i>	AF151912	Tkach et al., (2000b)
<i>Neoglyphe locellus</i> (Kossack, 1910) Yamaguti, 1958	<i>Sorex araneus</i> Linnaeus, 1758	AF300330	Tkach et al., (2001b)
<i>Neoglyphe sobolevi</i> Schaladybin, 1953	<i>S. araneus</i>	AF300329	Tkach et al., (2001b)
<i>Paralepoderma cloacicola</i> (Lühe, 1909)	<i>N. natrix</i>	AF151910	Tkach et al., (2000b)
<i>Plagiorchis elegans</i> (Rudolphi, 1802) Braun, 1902	<i>Lanius collurio</i> Linnaeus, 1758	AF151911	Tkach et al., (1999)
<i>P. koreanus</i> Ogata, 1938	<i>P. kuhli</i>	AF151930	Tkach et al., (2000b)
<i>P. muelleri</i> Tkach & Sharpilo, 1990	<i>E. serotinus</i>	AF184250	Tkach et al., (2001c)
<i>P. vespertilionis</i> (Müller, 1780) Braun, 1900	<i>M. daubentoni</i>	AF151931	Tkach et al., (2000b)
<i>Rubenstrema exasperatum</i> (Rudolphi, 1819) Dollfus, 1949	<i>S. araneus</i>	AF300331	Tkach et al., (2001b)
<i>Rubenstrema opisthovitellinum</i> (Soltys, 1954) Yamaguti, 1971	<i>S. araneus</i>	AF300332	Tkach et al., (2001b)
Pleurogenidae Looss 1899			
<i>Parabascus semisquamosus</i> (Braun, 1900)	<i>P. kuhli</i>	AF151923	Tkach et al., (2000b)
<i>Pleurogenes claviger</i> (Rudolphi, 1819) Looss, 1899	<i>R. temporaria</i>	AF151925	Tkach et al., (2000b)
<i>Pleurogenoides medians</i> (Olsson, 1876)	<i>R. lessonae</i>	AF433670	Tkach et al., (2001c)
Prosthogonimidae (Lühe, 1909) Lahille, 1922			
‡ <i>Prosthogonimus ovatus</i> (Rudolphi, 1803) Lühe, 1899	<i>Pica pica</i> (Linnaeus, 1758)	AF151928	Tkach et al., (2000b)
Psilostomidae Looss, 1900			
‡ <i>Psilochasmus oxyurus</i> (Creplin, 1825) Lühe, 1909	<i>A. platyrhynchus</i>	AF151940	Tkach et al., (2000b)
Telorchidae Dollfus, 1925			
<i>Telorchis assula</i> (Dujardin, 1845) Dollfus, 1957	<i>N. natrix</i>	AF151915	Tkach et al., (2000b)
<i>Opisthioglyphe ranae</i> (Fröhlich, 1791) Looss, 1907	<i>R. arvalis</i>	AF151929	Tkach et al., (2000b)

Tabla XII. (Continuación)

Familia y Especie	Huésped	GenBank	Autor
Troglotrematidae (Odhner, 1914)			
Ward, 1918			
<i>Nephrotrema truncatum</i> (Leuckart, 1842)	<i>N. anomalus</i>	AF151936	Tkach <i>et al.</i> , (2000b)

‡ Grupos externos

5. RESULTADOS

Los resultados del presente estudio están divididos en seis secciones: en las dos primeras se presentan los artículos derivados de este trabajo. En ellos se aborda la descripción de tres nuevas especies del género *Glyphelmins*. En el primer artículo (Journal of Parasitology, **87**, 686-691, 2001) se describe a *G. poncedeleoni*, parásito de *Leptodactylus melanonotus* y *Bufo marinus* de varias localidades de México. Tal descripción estuvo basada en características morfológicas. En el segundo artículo (Systematic Parasitology [en prensa]) se caracterizan y describen de manera molecular y morfológica a las especies *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*, colectadas en el intestino de ejemplares pertenecientes al género *Rana* del sureste de México.

La sección tres trata de las especies de *Glyphelmins* colectadas en los distintos huéspedes y localidades estudiadas en seis años de muestreo. Se presentan nuevos registros de especies del género en México, así como las especies de huéspedes parasitados y las localidades donde se encontraron, las cuales amplían la distribución geográfica de algunos miembros del género.

En la cuarta sección se presentan los resultados del análisis filogenético derivado del estudio de 45 caracteres morfológicos para 35 taxa (30 del grupo interno y 5 grupos externos). Se muestra la hipótesis filogenética obtenida del análisis de máxima parsimonia empleando una búsqueda heurística. Asimismo, se presenta una discusión de los resultados obtenidos en este capítulo.

La quinta sección trata de las relaciones filogenéticas entre 11 especies de *Glyphelmins* y otros digéneos pertenecientes a los subórdenes Plagiorchiata, Echinostomida y Strigeidida, obtenidas a partir de los datos de las secuencias parciales de los genes ribosomales 28S y generadas bajo el criterio de máxima parsimonia. Además, se presentan las relaciones de grupos hermanos entre algunas de las especies de *Glyphelmins* que se distribuyen en Centroamérica y Norteamérica. Igual que en el capítulo precedente se presenta una discusión de los datos obtenidos.

La última sección recopila toda la información derivada de las secciones anteriores y se presenta una monografía que incluye solo a las especies que consideramos válidas y que pertenecen al género *Glyphelmins*. La monografía incluye una diagnosis del género, una clave de identificación de las especies del género y toda la información obtenida de cada una de las especies.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

GLYPHELMS PONCEDELEONI N. SP. (TREMATODA: MACRODEROIDIDAE) OF AMPHIBIANS FROM THE NEOTROPICAL REGION OF MÉXICO

Ulises J. Razo-Mendivil and Virginia León-Règagnon

Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ap. Postal 70-153, Del. Coyoacán, C.P. 04510 México, D.F. México

ABSTRACT: A new species of *Glyphelmis* (Trematoda: Macroderoididae) is described from the intestine of *Bufo marinus* and *Leptodactylus melanonotus* from several localities of the Neotropical Region of México. *Glyphelmis poncedeleoni* n. sp. can be differentiated from other species of the genus by having extracecally distributed vitellaria, ovary always larger than testes, and vitelline follicles grouped in 7 post-testicular, nonoverlapping, rosette-like clusters and 5 pretesticular overlapping clusters.

A substantial number of plagiorchiform digeneans inhabit anuran intestines throughout the world. Despite their common occurrence, the systematics of these species is confused. *Glyphelmis* was established by Stafford (1905) to include *Distotum quietum* Stafford, 1900, parasitic in *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, *Rana virescens* Kalm, 1878, and *Hyla pickeringii* Holb, 1890, all from Canada. At the present time, there is controversy about the species comprising *Glyphelmis*, but recent synoptic treatments consider that there are approximately 28 species parasitizing amphibians around the world (Yamaguti, 1971; Sullivan, 1976; Prudhoe and Bray, 1982).

In this paper, we describe a new species of *Glyphelmis* parasitizing 2 species of amphibians in the lowlands of the Neotropical Region of México.

MATERIALS AND METHODS

From 1997 to 1999, 120 *Leptodactylus melanonotus* Hallowell and 27 *Bufo marinus* Linnaeus were collected from 6 localities in México (Table 1). Hosts were killed with an overdose of anesthetic (sodium pentobarbital), and all organs were examined under the stereoscope. Worms collected from freshly killed amphibians were initially placed in saline (0.65%) and fixed by sudden immersion in hot formalin (4%). Unflattened specimens were stained with Mayer's paracarmine or Ehrlich's hematoxylin, dehydrated, cleared in methyl salicylate, and mounted in Canada balsam. Some of the specimens were permanently mounted between coverslips and held in Cobb slides. Measurements are presented as the range with means in parentheses and expressed in micrometers, unless otherwise stated. Figures were drawn with the aid of a drawing tube.

The following species of *Glyphelmis* were examined for comparison: *Rauschiella tineri* Babero, 1951 (= *Glyphelmis tineri* (Brooks, 1977)) United States National Parasite Collection, Beltsville (USNPC) 47089, paratype; *Glyphelmis robustus* Brooks, 1976 USNPC 73483 paratype; *Rauschiella repandum* (= *Glyphelmis repandum*) Harold W. Manter Laboratory, Lincoln (HWML) 21696, voucher; *Glyphelmis proximus* Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (FIOCRUZ) 10756, cotype, 10757–10761, vouchers, and *Rauschiella palmipedis* (= *Glyphelmis palmipedis*) (USNPC) 72279, voucher, Colección Nacional de Helmintos, México (CNHE) 001057 voucher, (HWML) 21697, voucher, and (FIOCRUZ) 21794, 21802a–f, vouchers.

DESCRIPTION

Glyphelmis poncedeleoni n. sp. (Figs. 1–3)

Description (based on 10 mature adult specimens): Body elongate 2.31–6.77 (3.83) mm long, 0.55–1.36 (0.94) mm wide. Maximum width in equatorial region; anterior end rounded, posterior end slightly tapered. Tegument covered with small, thin scales (Fig. 3a) extending

from anterior end to posterior margin of right testis. Oral sucker sub-terminal, rounded, 176–382 (261) long, 211–398 (292) wide, opening directed anteroventrally. No tegumental papillae observed. Prepharynx short. Pharynx 112–229 (156) long, 112–214 (160) wide. Gland cells surrounding pharynx extending posterior to cecal bifurcation; ducts opening in prepharynx. Esophagus 61–112 (74) long, 35–112 (62) wide. Two groups of gland cells on both sides of cecal bifurcation present; ducts opening in the anterior margin of oral sucker. Cecal bifurcation 12.4–19.1% (16.02%) of total body length (TBL) from anterior end. Cecal long, narrow, occupying 72–83% (79%) of body length. Distance between posterior ends of ceca, posterior extremity of body 76–371 (193). Acetabulum medial, 19.2–32.4% (25.06%) of TBL from anterior end; 112–229 (164) long, 141–260 (185) wide, bearing 6 papillae (Fig. 3b). Oral sucker: pharynx: acetabulum ratio 1:0.52–0.71 (0.58):0.5–0.73 (0.61) long, 1:0.48–0.58 (0.52):0.58–0.67 (0.63) wide. Testes intercecal, subspherical, oblique, preequatorial, 30.2–43.24% (34.45%) of TBL from anterior end; anterior testis sinistral, 140–275 (195) long, 121–240 (182) wide; posterior testis dextral, 128–245 (180) long, 134–245 (170) wide. Genital pore midventral, 20.84–27.99% (25.19%) of TBL from anterior end. Cirrus pouch extending from preacetabular region sinistrodorsally to acetabular region, occasionally reaching beyond posterior acetabular margin, not curved, 169–307 (224) long, 51–122 (84) wide, containing coiled seminal vesicle occupying more than half of pouch, followed by a prostatic duct surrounded by numerous glandular cells and an unarmed, eversible cirrus. Ovary dextral, spherical 166–321 (242) by 166–336 (241); overlapping posterior half of acetabulum. Seminal receptacle usually posterodorsal to ovary, subspherical, 64–121 (87) by 64–107 (82). Laurer's canal present, opening ventrally. Mehlis's gland posterodorsal to seminal receptacle. Transverse uterine loops intercecal, some of them ventral to ceca, occupying 58.1–72.38% (65.27%) of TBL, and extending to cecal posterior ends. Ascending uterus running ventrally between testes; well developed pretesticular transverse uterine loops. Metraterm slender, poorly developed, approximately as long as cirrus pouch. Vitellaria extracecal, follicles arranged in 11–12 rosette-like clusters, extending from level of genital pore or slightly preperal to beginning of last third of body. Pretesticular vitelline clusters overlapping with each other; post-testicular vitelline clusters clearly separated from each other. Eggs operculate, 25–36 (29) long, 9–15 (12) wide, developed eggs tanned. Excretory vesicle Y-shaped; stem bifurcating between testes; arms reaching ovary. Excretory pore sub-terminal, ventral.

Taxonomic summary

Type host: *Leptodactylus melanonotus* Hallowell, 1861 (Anura: Leptodactylidae).

Type locality: Ranchería Benito Juárez, Km 52, Carr. 180 Tabasco-Frontera, Tabasco (17°32'N, 92°57'W).

Type material: CNHE 3733 holotype. Paratypes 3734–3738, 3905, and 3906.

Etymology: This species is named for Dr. Gerardo Pérez-Ponce de León in recognition of his work in the study of the Mexican helminthological fauna.

Previous records: Material mentioned by Pérez-Ponce de León et al. (2000) as *Glyphelmis* sp. from *L. melanonotus* from Laguna Escondida, Los Tuxtlas (CNHE 3392) belongs to *G. poncedeleoni*.

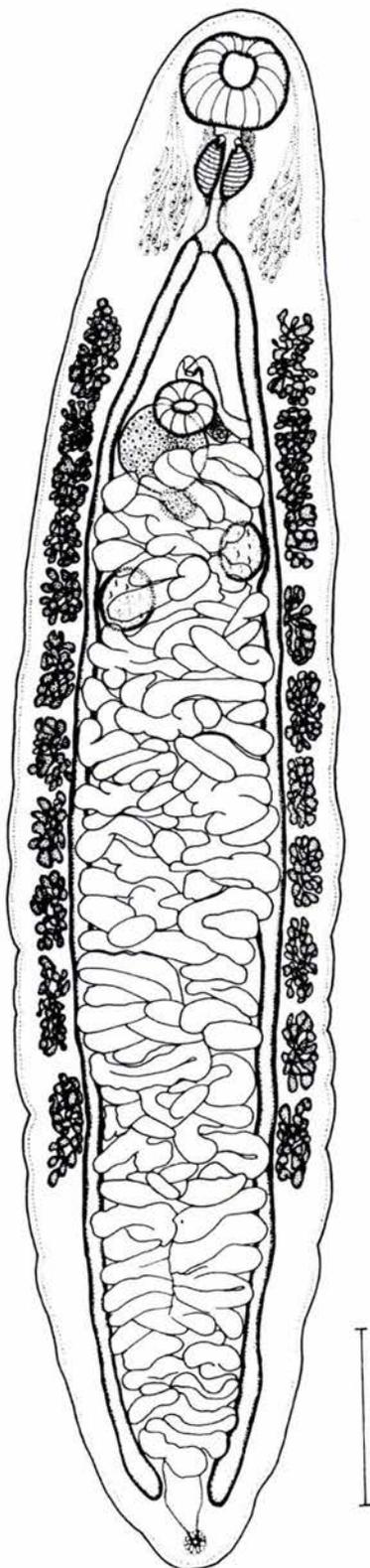


FIGURE 1. *Glypthelmins poncedeleoni* n. sp. Holotype, ventral view. Bar = 500 μ m.

Remarks

Glypthelmins poncedeleoni shares with *G. tineri* (Babero, 1951) Brooks, 1977, *G. repandum* (Rudolphi, 1818) Travassos, 1924, *G. palmipedis* (Lutz, 1928) Travassos, 1930, *G. proximus* Teixeira de Freitas, 1941, *Glypthelmins sera* Cordero, 1944, and *G. robustus* Brooks, 1976, the vitellaria that are distributed extracecally. These characteristics differentiate them from all other members of the genus.

The new species can be differentiated from the listed species by the following diagnostic characteristics: (1) ovary always larger than testes; and (2) vitelline follicles grouped in 7 post-testicular, nonoverlapping, rosette-like clusters and 5 pretesticular overlapping clusters.

Glypthelmins poncedeleoni also differs from *G. repandum* and *G. sera* in the extension of the vitellaria, which is broader in the new species and in the position of the cirrus pouch and genital pore, which is more posterior in the new species. Additionally, in *G. sera*, the intestinal caeca do not reach the posterior part of the body. *Glypthelmins poncedeleoni* differs from *G. palmipedis* and *G. robustus* by a shorter vitellaria extension and by the shape of the cirrus pouch, which in those species is strongly curved, whereas in the new species it is not curved.

Glypthelmins poncedeleoni differs from *G. tineri* by having uterine loops ventral to the testes. *Glypthelmins poncedeleoni* also differs from *G. proximus* by having a coiled rather than bipartite seminal vesicle and by having a relatively shorter cirrus pouch and the genital pore situated more posteriorly.

DISCUSSION

The species composition of *Glypthelmins* has been controversial. This confusion has resulted in investigators creating nonphylogenetic groups, and some species that should be included in *Glypthelmins* were assigned to other genera such as *Margeana* Cort, 1919, *Microderma* Mehra, 1931, *Choledocystus* Pereira and Cuocolo, 1941, *Rauschiella* Babero, 1951, *Reynoldstrema* Cheng, 1959, and *Repandum* Byrd and Maples, 1963 (see Cort, 1919; Pereira and Cuocolo, 1941; Babero, 1951; Byrd, 1950; Cheng, 1959; Byrd and Maples, 1963).

Particularly controversial have been those species that were assigned to *Rauschiella*. Babero (1951) proposed *Rauschiella* for *R. tineri*, inhabiting the intestine of a host identified only as a green frog in México. The new species was most similar to members of *Glypthelmins* Stafford, 1905 by having an intercecal distribution of the uterus but differed by having a coiled seminal vesicle and well developed pretesticular uterine loops. Babero (1951) also transferred *G. repandum* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924 from *Cystignatus ocellatus* (= *Leptodactylus ocellatus* Linnaeus) from Brazil to *Rauschiella*. Sullivan (1977) declared *Repandum* Byrd and Maples, 1963 a junior synonym of *Rauschiella* and transferred the following species to it: *Glypthelmins palmipedis* (Lutz, 1928) Travassos, 1930 from *Rana palmipes* Spix from Venezuela, *G. sera* Cordero, 1944 from *Chthonerpeton indistinctum* Reinhardt and Lütken, and *G. proximus* Teixeira de Freitas, 1941 from *L. ocellatus*, both from Uruguay. Sullivan (1977) recognized the following species in *Rauschiella*: *R. tineri*, *R. repandum*, *R. palmipedis*, *R. proximus*, and *R. sera*. This grouping was supported by the phylogenetic hypotheses proposed by Brooks (1977) and Brooks and McLennan (1993) that grouped the species of *Rauschiella* sensu Sullivan (1977) in a clade with *G. robustus* Brooks, 1976. The present study indicates that the extracecal distribution of the vitellaria, together with the presence of a coiled seminal vesicle (except of *G. proximus*), can be considered synapomorphic traits for this clade.

Brooks (1977) mentioned that his proposed phylogenetic tree was not completely resolved, presumably because the number

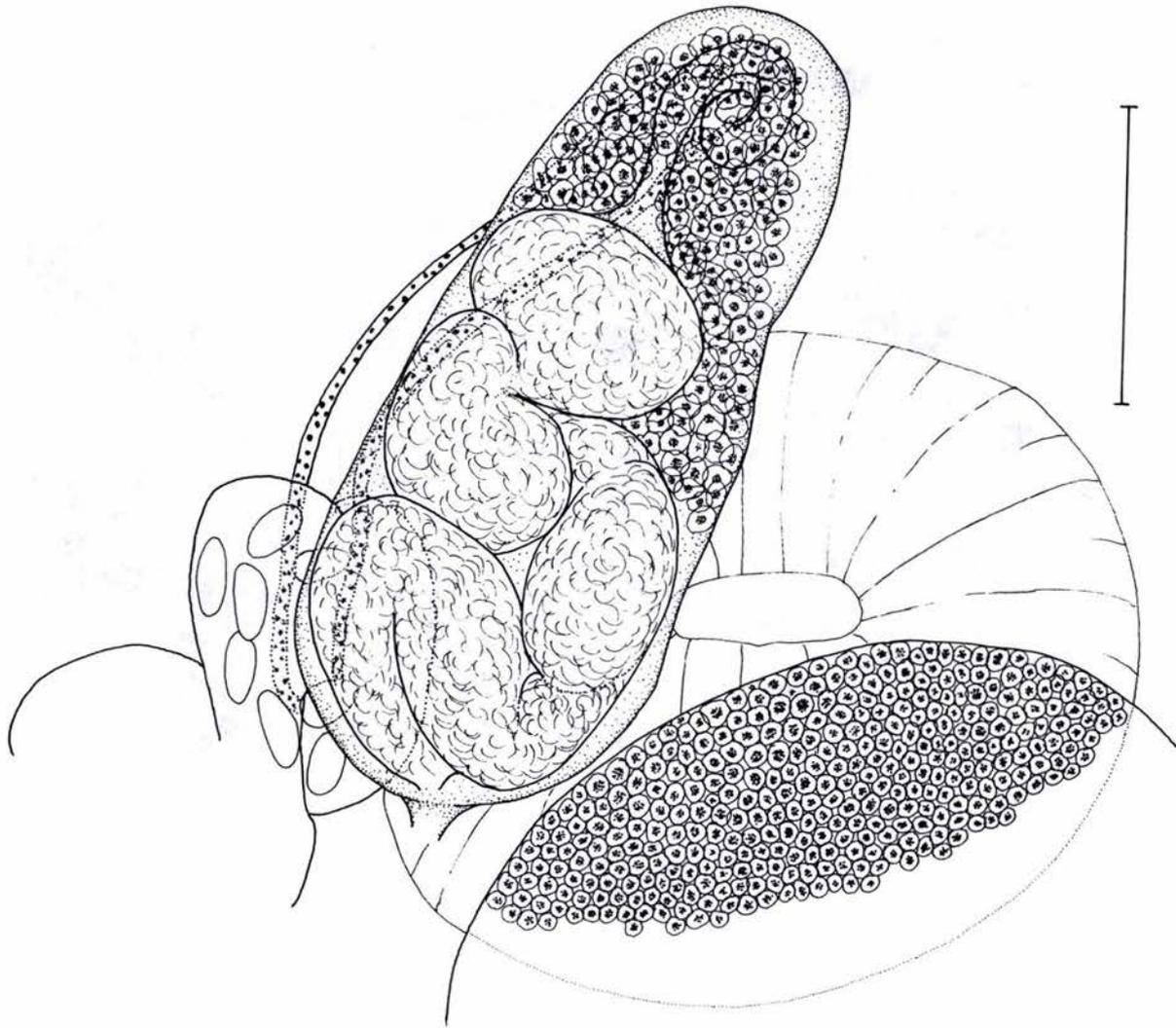


FIGURE 2. *Glythelmins poncedeleoni* n. sp. Terminal genitalia, dorsal view. Bar = 100 μ m.

of characters he could use was not large enough. It is necessary to update that hypothesis, in the light of additional evidence. Only by doing so can the monophyly and the validity of *Rauschiella* and *Glythelmins* be tested.

Most species of the *Rauschiella* clade (*G. tineri*, *G. repandum*, *G. palmipedis*, *G. proximus*, *G. sera*, and *G. robustus*) are distributed in South America, Central America, and southern México (Table II). This is the northernmost record of a species in this genus. *Glythelmins tineri* was first collected in a green

frog from an unknown, but presumably southern region of México (Babero, 1951). *Glythelmins proximus* was reported by Thatcher (1964) from *Coniophanes imperialis clavatus* Kennicott from Tabasco. Sullivan (1977) examined specimens identified by Thatcher as *G. proximus* and concluded they belonged to *Rauschiella tineri* (= *G. tineri*). Specimens collected by Thatcher to confirm Sullivan's assertion could not be obtained.

The boundaries of the Nearctic and Neotropical regions come in contact in Mexican territory, giving rise to a highly diverse

TABLE I. Localities, host species, and infection parameters of *Glythelmins poncedeleoni* n. sp.

Locality	Host (n)	Prevalence/abundance
Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz	<i>Leptodactylus melanonotus</i> (8)	12.5/0.13
Sontecomapan, Los Tuxtlas, Veracruz	<i>L. melanonotus</i> (8)	25/0.25
Laguna de Tres Palos, Guerrero	<i>L. melanonotus</i> (76)	7.9/0.07
	<i>Bufo marinus</i> (27)	11.1/0.30
Villahermosa, Tabasco	<i>L. melanonotus</i> (1)	0/0
Teapa, Tabasco	<i>L. melanonotus</i> (21)	9.5/0.10
Ranchería Benito Juárez, Tabasco	<i>L. melanonotus</i> (6)	33.3/0.3

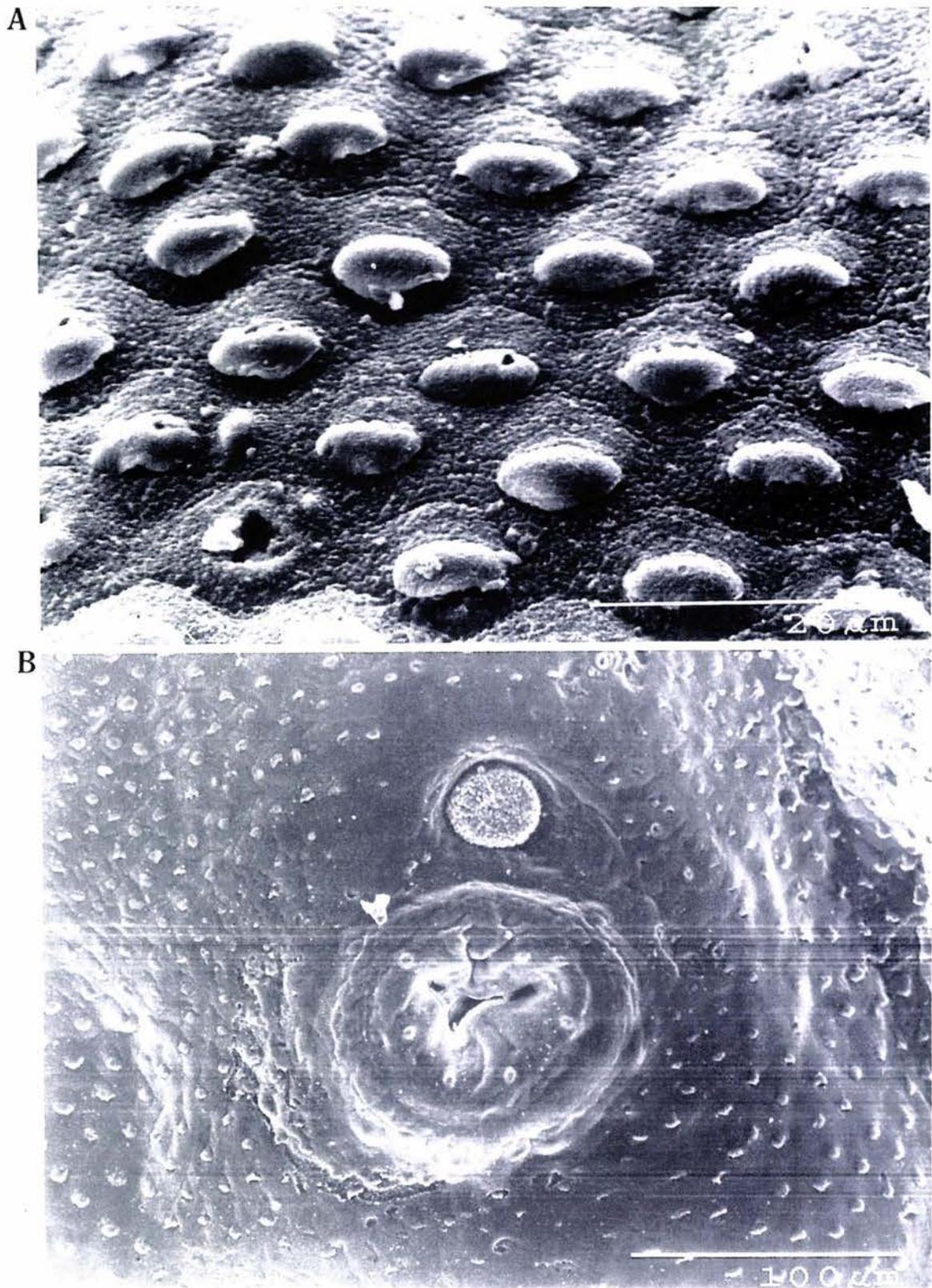


FIGURE 3. Anterior region of *Glythelmins poncedeleoni* n. sp (scanning electron micrographs). **A.** Tegumental scales. **B.** Acetabulum bearing 6 papillae.

TABLE II. Hosts and geographic distribution of *Glythelmins* species included in the *Rauschiella* clade.

Helminth species	Host species	Geographic distribution	References
<i>Glythelmins tineri</i>	Green frog	México	Babero, 1951
	<i>Coniophanes imperialis clavatus</i>	México	Thatcher, 1964 (originally recorded as <i>G. proximus</i> and transferred by Sullivan [1977])
<i>Glythelmins repandum</i>	<i>Leptodactylus ocellatus</i>	Brazil	Travassos, 1924
<i>Glythelmins palmipedis</i>	<i>Bufo granulosus</i> Spix	Brazil	Travassos et al., 1969
	<i>Bufo marinus</i>	Brazil, Costa Rica, Venezuela	Teixeira de Freitas, 1941; Brenes and Arroyo, 1960; Sullivan, 1977
	<i>Leptodactylus bolivianus</i> Boulenger	Panamá, Venezuela	Caballero et al. 1956; Sullivan, 1977
	<i>L. ocellatus</i> (= <i>Leptodactylus caliginosus</i> Girard)	Argentina, Brazil, Uruguay	Savazzini (1930)*; Teixeira de Freitas, 1941; Dobbin, 1957
	<i>Leptodactylus pentadactylus</i> Laurenti	Brazil	Fahel, 1952*, Dobbin, 1957
	<i>Pseudis paradoxa</i> Linnaeus	Brazil	Travassos and Teixeira de Freitas, 1940, 1941*
	<i>Rana palmipes</i>	Venezuela, Brazil	Lutz, 1928; Caballero et al., 1956; Dobbin, 1957
<i>Glythelmins proximus</i>	<i>B. paracnemis</i> Lutz	Uruguay	Mañe-Garzón and Holcman-Spector, 1974
	<i>L. ocellatus</i>		Teixeira de Freitas, 1941
<i>Glythelmins sera</i>	<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	Uruguay	Cordero, 1944
<i>Glythelmins poncedeleoni</i>	<i>L. melanotus</i> , <i>B. marinus</i>	México	This study

* In Sullivan (1977).

amphibian helminthological fauna, composed of Nearctic, Neotropical, and endemic elements (Pérez-Ponce de León et al., 2000). *Glythelmins poncedeleoni* is an endemic element of the neotropical lowlands of México. The most common hosts of this and other species in the *Rauschiella* clade (members of *Leptodactylus*) are typically South American amphibians. According to the phylogenetic hypotheses of Brooks (1977) and Brooks and McLennan (1993), *Glythelmins* originated in Gondwana. This suggests a possible history of coevolution between *Leptodactylus* and the *Rauschiella* clade in *Glythelmins*.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to Laura Paredes, Rosario Mata, Berenit Mendoza, Elizabeth Martínez, Luis García, Agustín Jiménez, David Osorio, and Serapio López for their help in the collection of specimens, Edmundo Pérez and Adrián Nieto for identification of hosts, and Sara Fuentes S. for the scanning electron micrograph plates. We thank Patricia Pilit, USNPC, Beltsville, Maryland; Skip Sterner, H. W. Manter Laboratory, Lincoln, Nebraska; and Luis C. Muniz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, for the loan of specimens. We are especially grateful to Daniel Brooks, University of Toronto, Toronto, Canada, for his thoughtful revision to early versions of the manuscript and discussions on frog parasite evolution. Finally, we thank Anindo Choudhury, USGS, Madison, Wisconsin, and an anonymous reviewer for their careful revision to the manuscript. This study was funded by CONACYT project J27985-N to V.L.R. and PAPIIT-UNAM project IN219198 to G. Pérez-Ponce de León and V.L.R.

LITERATURE CITED

- BABERO, B. B. 1951. *Rauschiella tineri* n. g., n. sp., a trematode (Plagiorchiinae) from a frog. *Journal of Parasitology* **37**: 560–562.
- BRENES, R., AND G. ARROYO. 1960. Helminths of the República de Costa Rica. XVII. Descripción de *Ochetosoma bravoii* n. sp. y redescrpción de *Glythelmins palmipedis* (Lutz, 1928) Travassos, 1930. *Revista de Biología Tropical* **8**: 239–245.
- BROOKS, D. R. (1977) Evolutionary history of some plagiorchoid trematodes of anurans. *Systematic Zoology* **26**: 277–289.
- , AND D. A. MCLENNAN. 1993. Parasitoid Parasites and the language of evolution. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., 429 p.
- BYRD, E. E. 1950. *Alloglyptus crenshawii*, a new genus and species of digenetic trematode (Plagiorchiinae) from the chameleon. *Transactions of the American Microscopical Society* **69**: 280–287.
- , AND W. P. MAPLES. 1963. The glythelminths (Trematoda: Digenetea), with a redescription of one species and the erection of a new genus. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **22**: 521–536.
- CABALLERO C., E., L. FLORES-BARROETA, AND R. G. GROCOTT. 1956. Helminths of the República de Panamá. V. Redescrpciones de algunos tremátodos ya conocidos pero nuevos en la fauna helminológica de este país. *Revista de Biología Tropical* **4**: 161–177.
- CHENG, T. C. 1959. Studies on the trematode family Brachycoeliidae, II. Revision of the genera *Glythelmins* (Stafford, 1900) Stafford, 1905, and *Margeana* Cort, 1919; and the description of *Reynoldstrema* n. g. (Glythelminae, n. subfam.). *American Midland Naturalist* **61**: 68–88.
- CORDERO, H. E. 1944. Dos nuevas especies de tremátodos del género *Glythelmins* de los batracios del Uruguay. *Anais de Academia Brasileira de Ciências* **16**: 1–8.
- CORT, W. W. 1919. A new distome from *Rana aurora*. *University of California Publications in Zoology* **8**: 283–298.
- DOBBIN, J. E. 1957. Fauna helminológica de batráquios de Pernambuco, Brasil. I. Trematoda. *Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco* **15**: 29–61.
- LUTZ, A. 1928. Estudios de zoología y parasitología venezolana. Rio de Janeiro, 133 p.
- MAÑE-GARZÓN, F., AND B. HOLCMAN-SPECTOR. 1974. Tremátodos de los anfibios del Uruguay, I. *Revista de Biología del Uruguay* **2**: 101–117.
- PEREIRA, C., AND R. CUOCOLO. 1941. Processo papilomatoso das vias biliares de "*Leptodactylus ocellatus* (L.)", determinado por "*Choledocystus eucharis*", n. g., n. sp. (Trematoda: Plagiorchiidae). *Arquivos do Instituto Biológico* **12**: 311–324.
- PÉREZ-PONCE DE LEÓN, G., V. LEÓN-RÉGAGNON, L. GARCÍA-PRÍETO, U. RAZO-MENDIVIL, AND A. SÁNCHEZ. 2000. Digenetic fauna of amphibians from central México: Nearctic and neotropical influences. *Comparative Parasitology* **67**: 283–302.
- PRUDHOE, S., AND R. A. BRAY. 1982. Platyhelminth parasites of the Amphibia. Oxford University Press, Oxford, U.K., 217 p.
- STAFFORD, J. 1905. Trematodes from Canadian vertebrates. *Zoologischer Anzeiger* **28**: 681–694.
- SULLIVAN, J. J. 1976. The trematode genus *Glythelmins* Stafford, 1905

- (Plagiorchioidea: Macroderoididae) with a redescription of *G. fa-cioi* from Costa Rican frogs. Proceedings of the Helminthological Society of Washington **43**: 116–125.
- . 1977. Revision of the genus *Rauschiella* Babero, 1951 (Digenea: Plagiorchiidae) with a redescription of *R. palmipedis* (Lutz, 1928) n. comb. from Venezuelan frogs. Proceedings of the Helminthological Society of Washington **44**: 82–86.
- TEIXEIRA DE FREITAS, J. 1941. Sobre alguns trematódeos parasitos de rãs. Revista Brasileira de Biologia **1**: 31–40.
- THATCHER, V. E. 1964. Estudios sobre los tremátodos de reptiles de Tabasco, México: Lista de huéspedes y sus parásitos. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas **13**: 91–96.
- TRAVASSOS, L. 1924. Contribuições para o conhecimento dos helmintos dos batraquios do Brasil. Sciencia Medica **2**: 1–11.
- , J. F. TEIXEIRA DE FREITAS, AND A. KOHN. 1969. Trematódeos do Brasil. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz **67**: 1–886.
- YAMAGUTI, S. 1971. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Keigaku Publishing Co., Tokyo, Japan, 1,074 p.

5.2. Description of two new species of *Glypthelmins* Stafford, 1905 (Digenea: Macroderoididae) in *Rana* spp. from Mexico, based on morphology and mtDNA and rDNA sequences. Artículo aceptado para su publicación en la revista *Systematic Parasitology*.

Ulises J. Razo-Mendivil, Virginia León- Règagnon & Gerardo Pérez-Ponce de León

Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ap. Postal 70-153, Del. Coyoacán, CP 04510 México D. F., Mexico

Running title: Description of two new species of *Glypthelmins*

Corresponding author:

Gerardo Pérez Ponce de León

Laboratorio de Helminología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ap. Postal 70-153. Del. Coyoacán. C. P. 04510 México, D. F. México.

Email: ppdleon@servidor.unam.mx

Tel (525) 622 9131 Fax (525) 5500164

Abstract

Glythelmins Stafford, 1905 includes 29 putative species commonly found in the intestine and liver of anurans from all over the world but mainly in the Americas. Partial sequences of the cytochrome *c* oxidase subunit 1 (*cox1*), ribosomal internal transcribed spacer region 2 (ITS2) and the large subunit 28S rDNA gene were obtained and analysed using pairwise distance matrices and parsimony methods in order to characterise the interrelationships between 14 isolates of four nominal species of *Glythelmins* recognised on morphological grounds. The highest intra-specific sequence divergence occurred in the *cox1* (18.53%) sequence, followed by that of the ITS2 (5.44%) and 28S (4.63%). Genetic variability was detected between the three isolates originally identified as *G. facioi* Brenes et al., 1959 from two localities in Mexico and one locality in Costa Rica. Sequence divergence exhibited among these isolates ranged from 10.70 to 11.22%, from 0.48 to 0.97% and from 1.33 to 1.88% for *cox1*, ITS2 and 28S, respectively. Phylogenetic analysis combining all three data-sets generated a single most parsimonious tree. The three isolates of *G. facioi* form a clade, with an isolate collected from frogs in Veracruz State as the sister group to an isolate from Tabasco State + *G. facioi* from Costa Rica. The information derived from pairwise distance of independent data-sets plus the phylogenetic information indicate that each of the two isolates from Mexico, identified *a priori* as *G. facioi*, represent separate species. A re-examination of specimens was carried out and a re-evaluation made of the morphological characters to find reliable differences that had been overlooked. As a consequence, *G. brownorumae* n. sp. from Tabasco and *G. tuxtlasensis* n. sp. from Veracruz are described based on molecular and morphological differences.

Introduction

Helminth parasites of amphibians have been surveyed in Mexico since the 1940s, but more intensively during the last 10 years. Current data indicate that 119 species of helminths have been described, 26% of which were new species (Pérez-Ponce de León et al., 2002). One of the most species-rich groups of helminths in Mexican anurans is represented by *Glythelmins* Stafford, 1905. This genus was established by Stafford (1905) to include *Distomum quietum* Stafford, 1900, parasitic in *Rana catesbeiana* Shaw, *R. viriscens* Kalm and *Hyla pickeringii* Holb, all from Canada. Twenty-nine nominal species have been described from around the world (Yamaguti, 1971; Sullivan, 1976; Prudhoe & Bray, 1982; Razo-Mendivil & León-Règagnon, 2001). Descriptions have been based on morphological characters. However, diagnostic traits in some species have shown several degrees of intra-specific variability (Miller, 1930; Rankin, 1944).

Recent studies have demonstrated that morphological data alone may not provide enough information to establish clear limits between species of digeneans, and the use of molecular markers has been proposed (Tkach et al., 2000a). Closely related species of digeneans and monogeneans, without obvious morphological differentiation (cryptic species), have been characterised and discriminated by data from sequences of mitochondrial DNA (mtDNA) and ribosomal DNA (rDNA) (Anderson & Barker, 1998; van Herwerden et al., 1998, 1999; Iwagami et al., 2000; Cunningham et al., 2001; Jousson and Bartoli, 2001; León-Règagnon & Paredes-Calderón, 2002).

Species of *Glythelmins* in Mexican anurans have been intensively surveyed over the past four years in order to obtain new information which would enable a re-examination of the an existing phylogenetic hypothesis for the group (Brooks & McLennan, 1993) in light of new evidence from both molecular and morphological data. Based on a combination of results from both sources, we determined the presence of two new species of *Glythelmins* infecting anurans from the lowlands of the Gulf of Mexico slope. These new taxa are described below.

Materials and methods

Sampling

As a part of an ongoing systematic study of *Glythelmins*, specimens of 29 species of frogs and toads were collected from 35 localities in Mexico between July, 1996 and April, 2002. Anurans were captured by hand or with seine nets and kept alive prior to parasitological examination. Hosts were killed with an overdose of sodium pentobarbitol and all organs were examined under a stereo-microscope.

Digeneans belonging to *Glythelmins* were initially placed in a 0.65% saline solution, and some worms from each host were mounted as semipermanent slides in saline and allocated to morphospecies *in vivo*.

Molecular study

For molecular work, the following specimens were morphologically identified as: *Glythelmins facioi* Brenes, Jiménez-Quirós, Arroyo-Sancho & Delgado-Flores, 1959 from Veracruz and Tabasco, Mexico, and from Guanacaste, Costa Rica; *G. quieta* (Stafford, 1900) from Estado de Mexico; *G. californiensis* (Cort, 1919) from Estado de Mexico and Michoacán, Mexico; and *G. hyloreus* Martin, 1969 from Nebraska, USA. They were fixed in 100% ethanol (Table 1) and all gravid worms were digested. In most cases, two or three individuals per species were sequenced. Worms were digested with proteinase K (25mg/ml) in 500µl of STE buffer, 75µl of 10% SDS and incubated during 12-24 h at 55°C. Genomic DNA was extracted with phenol/chloroform, precipitated with 96% ethanol and dissolved in 100 µl of deionised sterile distilled water (Hillis et al., 1996). We chose *cox1*, 28S and ITS2 following (Anderson & Barker, 1998; Itagaki & Tsutsumi, 1998; Bell et al., 2001; León-Règagnon et al., 2001), where these molecular markers demonstrated their utility to differentiate digenean species. Mitochondrial and nuclear fragments were amplified by PCR in a final volume of 25µl (2.5µl 10X PCR buffer, 0.5µl 10mM dNTP mixture (200µM each), 0.8µl 50mM MgCl₂, 1µl of each primer (10pmol), 1µl template DNA, 0.5µl Taq DNA polymerase (5 units) and 17.7µl of sterile distilled water. Primers used to generate partial fragments of mitochondrial and nuclear genes were: *cox1*, JB3 (5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3') and JB4.5 (5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3') (Morgan & Blair, 1998); 5.8S + ITS2, 3S (5'-GGT ACC GGT GGA TCA CGT GGC TAG TG-3') and BD2 (5'-TAT GCT TAA ATT CAG CGG GT-3') (Bowles et al., 1995); and 28S, 28Sy (5'-CTA ACC AGG ATT CCC TCA GTA ACG GCG AGT 3') (Palumbi, 1996) and LO (5'-GCT ATC CTG AG(AG) GAA ACT TCG-3') (Tkach et al., 2000b). With the exception of annealing temperatures, reaction conditions used were the same regardless of primer set employed. An initial denaturation at 95°C for 5 min was followed by 30-35 cycles of 94°C for 1 min, primers annealing for 45s at 50° (*cox1* and 28S) or at 55° C (5.8S and ITS2) and extension at 72°C for 1 min; the mixes were held at 72°C for 10 min to complete elongation and then dropped to 4°C. PCR products were visualised on ethidium-bromide-stained 1% TRIS-acetate-EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) agarose gels and subsequently purified with the QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) according to manufacturer's instructions. The purified PCR products were sequenced on an ABI PRISM 310 automated DNA sequencer (Applied Biosystems) using the Big Dye Terminator™ chemistry and incorporating the same primers as those used in previous PCRs. Sense and anti-sense strands were sequenced. Chromatogram files were

initially checked using the computer program *Chromas* (version 1.43). Subsequently, sense and anti-sense sequences were assembled, and aligned using the software Bioedit (Hall, 1999).

Sequence analysis

Pairwise distance matrices and phylogenetic analyses were performed using PAUP (version 4.0b10 Swofford, 2002). Trees were found using a branch and bound search for the separate and combined data sets (*cox1*, ITS2 and 28S). The partition-homogeneity test was used to demonstrate whether or not distinct character sets could be combined (Farris et al., 1995). Branch support was evaluated using bootstrap and jack-knife analyses with 1,000 replicates and Jac emulation, respectively, and also Bremer support was calculated for each internal branch (Bremer, 1994). The sequences obtained in this study were submitted to GenBank and assigned the following accession numbers AY278046-AY 278052 (28S), AY278053-AY278059 (*cox1*) and AY278060-AY278066 (ITS2).

Morphological study

Several specimens were fixed by sudden immersion in hot formalin (4%) and stored in 70% ethanol. Unflattened worms were stained with Ehrlich's haematoxylin and Mayer's paracarmine, dehydrated, cleared in methyl salicylate and mounted in Canada balsam. Some of the specimens were permanently mounted between cover-slips and held in Cobb slides. Measurements are given in micrometres, unless otherwise stated. Illustrations were made with a drawing tube.

For comparison, the following species of *Glypthelmins* were examined: *G. quieta*, Colección Nacional de Helminthos, Mexico (CNHE) 1461, 1562-1563, 3275-3279, 3346, 3416, 3406, vouchers; United States National Parasite Collection, Beltsville, Maryland (USNPC), 51635, 72268, 84184, vouchers, and Harold W. Manter Laboratory, Lincoln, Nebraska (HWML) 20174 to 20201, vouchers; *G. hylorius*, (USNPC) 70464, paratypes; *G. californiensis*, (CNHE) 1181, 1561, 2495, 3280-3283, 3294, vouchers; and *G. facioi*, Colección de Helminthos de Costa Rica, San José (CHCR) 202-22, lectotype; (USNPC) 72275, vouchers; (CNHE) 1514, 3285, 4083, vouchers; and specimens from Costa Rica borrowed from Dr Daniel R. Brooks.

Specimens of the present material were deposited on some of the above-mentioned collections and The Natural History Museum, London [BM(NH)].

Results

All targeted DNA was successfully amplified and sequenced. The analysed data-sets of the *cox1*, ITS2 (5.8S + ITS2) and 28S rDNA of 14 isolates of four nominal species of *Glypthelmins*

spp. produced a total alignment of 2,077 nucleotide sites, 231 of which were variable and 138 of which were phylogenetically informative. The alignment is available from *FTP.EBI.AC.UK* in directory */pub/databases/embl/align*, or at <http://www3ebi.ac.uk/Services/align/listali.html> under the number ALIGN_000530. Pairwise distance matrices are presented in Tables 2-4. In cases where more than one individual worm was sequenced, the sequences obtained were identical, except for *G. californiensis*, where some variation was observed.

cox1

A total of 383 bp of *cox1* were sequenced and aligned for four nominal species, one isolate of *G. californiensis* and two isolates identified as *G. facioi* from Tabasco and Veracruz, Mexico. No gaps were required to align this gene. The sequence divergence between *G. facioi* (Costa Rica), *G. californiensis*, *G. quieta* and *G. hyloraeus* ranged from 15.92 to 18.53%, with the highest disparity between the Veracruz isolate and *G. hyloraeus* (71 sites, 55 of which were in the third codon position); these species present three different encoded amino acids (Table 2). Intra-specific variability was observed between two isolates of *G. californiensis* at six nucleotides (1.56%). When comparing the sequences of the distinct samples identified as *G. facioi* from Costa Rica and Mexico, we observed a high level of divergence between these samples. Guanacaste isolate differs in 41 and 43 sites (10.70-11.22 %) with respect to isolates from Veracruz and Tabasco, respectively. The Veracruz isolate differed at 41 different nucleotides (10.70%) from the Tabasco sample.

ITS2

The alignment of the 5.8S gene and ITS2 was 416 bp, with 38 variable positions. The length of the fragment among the 14 OTUs varied from 406 to 414 sites. The percentage of genetic divergence between the 14 OTUs ranged from 0.24 to 5.44% (Table 3). *G. californiensis* isolates from Lerma and Zacapu differ at only one nucleotide along the ITS2. Again, isolates identified as *G. facioi* from Guanacaste, from Veracruz and from Tabasco differed by two and three nucleotides, respectively. The Tabasco sample differed at four different nucleotides (0.97%) from the Veracruz isolate.

28S

The studied fragment of the *lsrDNA* region in 14 OTUs of *Glythelmins* spp. was 1,275 bp. The entire alignment was 1,278 bp, which included the domains D1-D3 as identified by Littlewood &

Johnston (1995). Sequence divergence between the 14 isolates ranged from 0.78 to 4.63%. Isolates of *G. facioi* from Costa Rica and Mexico (Veracruz and Tabasco) diverged in their sequences from 1.33 to 1.88%.

Phylogenetic analysis

To determine the relationships between the 14 isolates of the four nominal species of *Glythelmins*, phylogenetic analyses of the independent and combined data-sets were conducted under the optimality criterion of maximum parsimony (MP). In all three analyses (*cox1*, ITS2, 28S) (trees not shown), the isolates of *G. facioi* from Costa Rica, Tabasco and Veracruz, Mexico, conform to a monophyletic clade with bootstrap support values higher than 70%. However, some differences were found when considering sister-group relationships within this clade. A partition-homogeneity test supported combining all of the molecular data partitions ($p \geq 0.05$). When gaps were treated as missing characters, the combined analysis generated a single most parsimonious tree (L = 232, CI = 0.78, RI = 0.73) with strongly supported branch topology (Figure 1). Treating alignment gaps as fifth characters produced an identical tree. The tree shows that the three isolates of *G. facioi* (formerly recognised on morphological grounds) form a monophyletic group, with the isolates from Tabasco as the sister group to the Veracruz isolate + *G. facioi* (Costa Rica, from which the original description of the species was made), albeit with a low bootstrap support (70%). Information on other molecular markers, as well as the inclusion of the remainder *Glythelmins* members in a phylogenetic analysis is needed in order to clearly define the affinities of these taxa.

These results, in addition to the information derived from pairwise distance matrices of independent data-sets (*cox1*, ITS2 and 28 srDNA) show that the isolates from Mexico identified *a priori* as *G. facioi* in fact represent separate species from the Costa Rican isolate [i.e. *G. facioi* (*sensu stricto*)]. Based on these results, we re-examined specimens, and a re-evaluation of the morphological characters was carried out to determine whether there were reliable differences which might have been overlooked. As a consequence of this study, the description of these two new species is presented below.

***Glythelmins brownorumae* n. sp.**

Description (Figures 2-4)

[Based on 15 mature specimens.] Body elongate 1.5-2.125 mm long, 328-528 wide. Maximum width in testicular region; anterior and posterior ends rounded. Tegument covered with small,

thin scale-like spines extending from anterior end to second third of body. Oral sucker subterminal, round, 148-209 × 169-216, with opening directed anteroventrally. Ventral sucker well developed, medial, 442-599 from anterior end, 92-119 × 97-129. Sucker-length ratio 1:0.55-0.67; sucker-width ratio 1:0.52-0.65. Prepharynx short, wider than long. Pharynx globular, 72-119 long, 47-57% of oral sucker length, 97-122 wide, 45-60% of oral sucker width. Medial glands surround anterior and posterior margins of pharynx. Oesophagus thin, longer than pharynx, 93-140 long, 3-18 wide, with external cell-glands on both sides. Intestinal bifurcation at 414-528 from anterior extremity. Caeca narrow, symmetrical, occupy 65-75% of body length (BL); right caecum ends at 21-185 and left caecum at 57-171 from posterior extremity. Testes intercaecal or sometimes overlapping caeca, oval, slightly oblique, equatorial, located at 671-1128 from posterior end. Anterior testis dextral, 137-198 × 104-148; posterior testis sinistral, 144-212 × 104-158. Genital pore mid-ventral, just anterior to ventral sucker, 429-571 from anterior end. Cirrus-sac straight, larger than ventral sucker, extends dorsally from posterior forebody to slightly posterior the to hind margin of ventral sucker, 108-234 long, 68-97 wide, containing bipartite seminal vesicle measuring 79-137 × 21-57, followed by elongate, coiled pars prostatica.

Ovary sinistral, ovoid, 104-137 × 75-119, extends dorsally to posterior margin of ventral sucker. Seminal receptacle subspherical, 43-75 × 46-90, usually posterodorsal to ovary. Mehlis' gland ventral to seminal receptacle. Uterus intercaecal, without distinct uterine loops, extends back close to posterior end of body, reaching to about level of end of right caecum; ascending loops pass ventrally to testes. Metraterm poorly developed, approximately as long as cirrus-sac. Eggs operculate, tanned, 32-39 × 14-21. Vitellarium follicular; lateral fields commence at level of intestinal bifurcation and extend to posterior margin of left testis or extending far beyond posterior margin of right testis, mainly extracaecal but overlap caeca, testes and cirrus-sac dorsally, never confluent. Excretory vesicle I-shaped, reaches posterior margin of testes. Excretory pore terminal.

Type-host: *Rana brownorum* Sander.

Site: Anterior intestine

Type-locality: Km. 50, Carr. 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, Mexico.

Other locality: Ranchería Benito Juárez, km. 52 Carr. 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, Mexico.

Type-material: Holotype, CNHE 4667; paratypes, CNHE 4668-4669, USNPC 93039 and BM(NH) 2004.3.3.1.

Etymology: The species is named *brownorumae* after its host.

***Glyphelmims tuxtlasensis* n. sp.**

Description (Figures 5-7)

[Based on 18 mature specimens.] Body elongate, 1.44-2.77 mm long, 314-614 wide. Maximum width in testicular region, 400-740; anterior and posterior end rounded. Tegument with small scale-like spines, extending from anterior end to second third of body. Oral sucker subterminal, round, 158-252 × 162-270, with opening directed anteroventrally. Ventral sucker well developed, spherical, located medially at 428-871 from anterior end; diameter 86-144. Sucker-length ratio 1:0.48-0.65, sucker-width ratio 1:0.44-0.57. Prepharynx short. Pharynx globular, 79-133 × 104-158; oral sucker/pharynx length ratio 42.30-59.67%, width ratio 51.78-68.85%; pharynx 1.02-1.40 times wider than ventral sucker. Anterior and posterior margins of pharynx surrounded by medial glands. Oesophagus longer than pharynx, 90-162 × 54-72; cell-glands present on both sides of oesophagus. Intestinal bifurcation at 385-685 from anterior extremity. Caeca narrow, symmetrical, occupying 60.47-78.46% of BL; right caecum ends at 114-299 and left caecum at 28-285 from posterior extremity. Testes intercaecal, subspherical, slightly overlapping caeca, equatorial, oblique, 699-1485 from posterior end. Anterior testis opposite ovary, 90-234 × 79-199; posterior testis 83-238 × 72-228. Genital pore mid-ventral, between ventral sucker and intestinal bifurcation, 399-813 from anterior end. Cirrus-sac straight, extends from just posterior to ventral sucker and to right of ovary, dorsally to ventral sucker, towards left side of posterior hindbody, 162-399 long, 54-119 wide, contains bipartite seminal vesicle and sinuous pars prostatica; seminal vesicle 86-191 × 21-79. Ovary sinistral, oval, 83-228 × 68-221, overlaps with posterior margin of ventral sucker. Seminal receptacle subspherical, 28-99 × 32-79, situated between testes and ovary. Mehlis' gland ventral to seminal receptacle. Uterus located intercaecally, with some transverse loops reaching caeca, and fills entire postcaecal area; ascending uterine loops pass ventrally to testes; pretesticular uterine loops absent. Metraterm poorly developed, approximately as long as cirrus-sac. Eggs operculate, tanned, 21-28 × 14-18. Vitellarium follicular; lateral fields reach from region between intestinal bifurcation and genital pore; posteriorly to beyond level of posterior margin of testes, also present dorsally to caeca, testes and cirrus-sac, sometimes confluent at level of cirrus-sac. Excretory vesicle I-shaped, reaches posterior margin of testes. Excretory pore terminal.

Type-host: *Rana vaillanti* Brocchi.

Type-locality: Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz, Mexico.

Site: Anterior intestine

Type-deposited: Holotype, 4670; paratypes, CNHE 4671-4672, USNPC 39040 and BM(NH) 2004.3.3.2.

Etymology: The species is named after Los Tuxtlas, the region where the worms were collected

Remarks

The two species described herein, *Glypthelmins brownorumae* n. sp. and *G. tuxtlasensis* n. sp. differ from their congeners by a combination of features, such as the posterior extent of the uterus in the hindbody, the anterior and posterior extent of the vitelline fields and their distribution in relation to the caeca. Nevertheless, both species most closely resemble *G. facioi*, and DNA analysis indicates that these three species form a monophyletic assemblage.

G. facioi differs from *G. brownorumae* in the distribution of vitellarium, the confluence of the vitelline follicles and the posterior extent of the uterus. *G. brownorumae* possesses an asymmetrical arrangement of the vitelline fields along the body, the vitellarium is not confluent anteriorly, and the posterior region of the uterus does not reach the inner margins of the caeca. *G. facioi* differs from *G. tuxtlasensis* in the level of the body at which the vitelline follicles are confluent, i.e. in the post-testicular region rather than further anteriorly in the region between the cirrus-sac and the intestinal bifurcation.

G. tuxtlasensis differs from *G. brownorumae* in possessing a wider oesophagus (54-72 vs 3-18 μ m) and smaller eggs (21-28 vs 32-39 μ m). In addition, the former species from Veracruz invariably exhibits both lateral vitelline fields ending posteriorly at the same level, the testes never overlap and the uterine loops in the post-testicular region reach the caeca laterally. In the latter species from Tabasco, the vitelline fields are asymmetrical in the posterior region of the body in all specimens (right field extends beyond the posterior margin of the left testis; left field scarcely reaches the posterior margin of the anterior testis), the testicular margins overlap and the uterine loops are entirely intercaecal.

Discussion

The application of molecular tools combined with a detailed morphological study of specimens from different localities has permitted a reliable differentiation of the two new species, *G. brownorumae* and *G. tuxtlasensis*, from the neotropical region of Mexico. These two species exhibit a morphological resemblance to *G. facioi*; however, molecular evidence clearly shows that they are distinct lineages. Additionally, *G. facioi* is distributed in Central America (Costa Rica) and parasitises *Rana vaillanti*, whereas the two new species are found in *R. vaillanti* from

Los Tuxtlas, Veracruz and *R. brownorum* from the state of Tabasco, respectively. All three species are found in the neotropical region within the distributional limits of their type-hosts.

Sequence comparison across the *cox1* and 28S genes and ITS2 (Tables 2-4) indicate that the highest inter-specific divergence among the six putative species of *Glypthelmins* which we analysed occurs in *cox1* (18.53%), followed by ITS2 (5.44%) and 28S (4.63%).

Mitochondrial DNA sequencing has proved to be a useful marker for differentiating species within *Glypthelmins*. Intraspecific variability was found to be very low between isolates of *G. californiensis* from two localities (1.56%). The intra-specific genetic variation found in *G. californiensis* is comparable with that shown between populations of digeneans using the same gene, e.g. in isolates of *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) from China, Taiwan, Korea and Japan. Iwagami et al. (2000) found a variation of 0.26-1.82%. Samples of *Ichthyocotylurus variegatus* (Creplin, 1825) from distinct localities in Scotland showed null variation, and only one had a single nucleotide difference when compared with isolates from Finland (Bell et al., 2001).

When comparing variation in closely related species, higher values of sequence divergence were found between *G. facioi*, *G. brownorumae* and *G. tuxtlasensis* (10.70-11.22%). This level of variation is similar to that found between congeneric species of other digeneans, such as *Echinostoma* Rudolphi, 1809, *Ichthyocotylurus* Odening, 1969 and *Paragonimus* Braun, 1899, i.e. genera in which species differentiation can be achieved using non-molecular criteria. Morgan & Blair (1998) observed a variability of 6.3-14.8% when studying a fragment of 257 sites of the *cox1* of seven species of *Echinostoma*. Similarly, *I. variegatus*, *I. platycephalus* (Creplin, 1825) and *I. erraticus* (Rudolphi, 1809) showed divergences of 9.56-12.84% along 366 bp of *cox1* (Bell et al., 2001). Finally, three species of *Paragonimus* (*P. westermani*, *P. ohirai* Miyazaki, 1939 and *P. miyazakii* Kamo, Nishida, Hatsushika & Tomimura, 1961) exhibited a variation of 9.39-15.92% (Iwagami et al., 2000). This study has also shown that the mitochondrial gene used is variable enough to achieve species differentiation.

ITS2 was also used to discriminate intra- and inter-specific genetic variation between isolates of *G. californiensis* and closely related species of *Glypthelmins*. Only one variable nucleotide was found in the ITS2 sequences of two isolates of *G. californiensis* from two localities. These results concur with the variation levels displayed in *Fasciola gigantica* Cobbold, 1855 isolates from geographically distant localities (Adlard et al., 1993). The application of ITS2 sequences to discriminate closely related species of *Glypthelmins* was limited because the percentage of sequence divergence found between *G. facioi*, *G. brownorumae* and *G. tuxtlasensis* was strikingly low (<1%). This may be due to the fact that this gene is conservative in this particular group of species, or, alternatively, that these species diverged recently. Similar levels of variation have been found in other digeneans such as *Indodidymozoon* Madhavi, 1982, *Fasciola* Linnaeus, 1869 and *Ichthyocotylurus* (see Anderson & Barker, 1998; Itagaki &

Tsutsumi, 1998; Bell et al., 2001). Considering the low intra- and inter-specific variability shown by ITS2, the apparent discrimination of closely related species should be treated with caution.

The 28S ribosomal gene has been demonstrated to be a good molecular marker for studies at different taxonomic levels, because it contains several variable and conservative fragments (Tkach et al., 2000b). In this case, the intra-specific variation between *G. californiensis* isolates is also very low (only one variable site), while divergence values between *G. facioi* and the two new species ranged from 1.33 to 1.88%. This range is higher than that between *G. quieta* and *G. hylareus* (1.1%, Table 4), species that can be readily differentiated on morphological grounds. Using the 28S ribosomal gene, León-Règagnon et al. (2001) and León-Règagnon & Paredes Calderón (2002) found similar values of sequence divergence in closely related species of *Haematoloechus* (*H. meridionalis* León-Règagnon, Brooks & Zelmer, 2001 and *H. danbrooksi* León-Règagnon & Paredes-Calderón, 2002). Therefore, the 28S gene is slightly more useful than the ITS2 for differentiating species belonging to the same monophyletic group.

Based solely on morphology, several authors have recognised the species from Veracruz (*G. tuxtlasensis*) as either *G. californiensis* or *G. facioi*. Guillén-Hernández et al. (2000) reported *G. californiensis* (CNHE 1514) in *Rana berlandieri* and *R. vaillanti* from Los Tuxtlas, Veracruz State. Razo-Mendivil et al. (1999) and Pérez-Ponce de León et al. (2000) identified specimens from Los Tuxtlas as *G. facioi* (CNHE 3285), and re-assigned specimens of Guillén et al. (2000) to this species. Finally, Goldberg et al. (2002), in a study of the helminth parasites from six species of anurans in the Los Tuxtlas region, reported *G. facioi* from *R. vaillanti* and *Leptodactylus melanonotus*. These authors indicated that the specimens were deposited in the CNHE, but they never were, and they are not available for examination. In this paper, we have provided molecular data showing that species of *Glypthelmins* from that particular region of the country represent an independent monophyletic group. The re-evaluation of morphological characters also indicates that they represent a new species, which we have named *G. tuxtlasensis*. Considering this, the voucher specimens from the CNHE labelled as *G. facioi* (Nos 1514, 3285 and 4013) should, to in future, be referred as *G. tuxtlasensis*. Identification of specimens reported by Goldberg and co-workers will be corroborated once specimens are available for examination.

Acknowledgements

We are grateful to Marcelo Paxtián, Agustín Jiménez, Laura Paredes, Rosario Mata, Berenit Mendoza and Serapio López for their help in the collection of hosts and worms, and Edmundo

Pérez and Adrián Nieto for the identification of the hosts. Special thanks are due to Gabriela Parra Olea and Rosario Mata for their help performing Bremer support analysis and homogeneity tests, respectively. We thank Patricia Pillit, USNPC, Beltsville, Maryland, and Luis García, CNHE, Mexico City, for the loan of specimens. We are especially grateful to Daniel Brooks, University of Toronto, Toronto, Canada, for his thoughtful revision of the specimens. This study was undertaken at the Molecular Biology Lab. No. 3, Instituto de Biología, UNAM, and at the Molecular Systematics Lab., Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Thanks to Laura Márquez V. (IBUNAM) for her technical assistance and the sequencing of the samples, and to Dave Gernandt for his review of the manuscript. URM thanks PAEP Nos 101329 and 201326 for financial support, and DGEP and CONACyT for a doctoral scholarship. This study was partly funded by CONACyT Proj. J27985-N to VLR, PAPIIT-UNAM No. IN205501 to GPPL and NSF grant no. DEB0102383 to Jonathan Campbell and VLR.

References

- Adlard, R.D., Barker, S.C., Blair, D. & Cribb, T.H. (1993) Comparison of the second internal transcribed spacer (ribosomal DNA) from populations and species of Fasciolidae (Digenea). *International Journal of Parasitology*, **23**, 423-425.
- Anderson, G.R. & Barker, S.C. (1998) Inference of phylogeny and taxonomy within the Didymozoidae (Digenea) from the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA. *Systematic Parasitology*, **41**, 87-94.
- Bell, A.S., Sommerville, C. & Valtonen, E.T. (2001) A molecular phylogeny of the genus *Ichthyocotylurus* (Digenea, Strigeidae). *International Journal for Parasitology*, **31**, 833-842.
- Bowles, J., Blair, D. & McManus, D.P. (1995) A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **2**, 103-109.
- Bremer, K. (1994) Branch support and tree stability. *Cladistics*, **10**, 295-304.
- Brooks, D. & McLennan, D.A. (1993) *Parascript. Parasites and the language of evolution*. Smithsonian Institution Press, Washington. 429 pp.
- Cunningham, C.O., Mo, T.A., Collins, C.M., Buchmann, K., Thiery, R., Blanc, G. & Lutraite, A. (2001) Redescription of *Gyrodactylus teuchis* Lutraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae); a species identified by ribosomal RNA sequences. *Systematic Parasitology*, **48**, 141-150.

- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G. & Bult, C. (1995) Testing significance of incongruence. *Cladistics*, **10**, 315-319.
- Goldberg, S.R., Bursey, C.R., Salgado-Maldonado, G., Báez-Vale, R. & Cañeda-Guzmán, C. (2002) Helminth parasites of six species of anurans from los Tuxtlas and Catemaco Lake, Veracruz, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, **47**, 293-299.
- Guillén-Hernández, S., Salgado-Maldonado, G. & Lamothe-Argumedo, R. (2000) Digeneans (Plathelminthes: Trematoda) of seven sympatric species of anurans from Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, **35**, 10-13.
- Hall, T.A. (1999) Bioedit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95-98.
- Hillis, D., Mable, B.K. & Moritz, C. (1996) Nucleic acids IV: Sequencing and cloning. In Hillis, D., Moritz, C. & Mable B.K. (Eds) *Molecular systematics*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, pp. 321-383.
- Itagaki, T. & Tsutsumi, K. (1998) Triploid form of *Fasciola* in Japan: genetic relationships between *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* determined by ITS-2 sequence of nuclear rDNA. *International Journal for Parasitology*, **28**, 777-781.
- Iwagami, M., Ho, L.Y., Su, K., Lai, P.F., Fukushima, M., Nakano, M., Blair, D., Kawashima, K. & Agatsuma, T. (2000) Molecular phylogeographic studies on *Paragonimus westermani* in Asia. *Journal of Helminthology*, **74**, 315-322.
- Jousson, O. & Bartoli, P. (2001) Molecules, morphology and morphometrics of *Cainocreadium labracis* and *Cainocreadium dentecis* n. sp. (Digenea: Opecoelidae) parasitic in marine fishes. *International Journal for Parasitology*, **31**, 706-714.
- León-Règagnon, V., Brooks, D.R. & Zelmer, D.A. (2001) Morphological and molecular description of *Haematoloechus meridionalis* n. sp. (Digenea: Plagiorchioidea: Haematoloechidae) from *Rana vaillanti* Brocchi of Guanacaste, Costa Rica. *Journal of Parasitology*, **87**, 1423-1427.
- León-Règagnon, V. & Paredes-Calderón, L. (2002) *Haematoloechus danbrooksi* n. sp. (Digenea: Plagiorchioidea) from *Rana vaillanti* from Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. *Journal of Parasitology*, **88**, 1215-1221.
- Littlewood, D.T. & Johnston, D.A. (1995) Molecular phylogenetics of the four *Schistosoma* species groups determined with partial 28S ribosomal RNA gene sequences. *Parasitology*, **111**, 167-175.
- Miller, E.L. (1930) Studies on *Glypthelmins quieta* Stafford. *Journal of Parasitology*, **16**, 237-243.
- Morgan, J.A.T. & Blair, D. (1998) Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial CO1 and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). *Parasitology*, **116**, 289-297.

- Palumbi, S.R. (1996) Nucleic acids II. The polymerase chain reaction. *In*: Hillis, D., Moritz, C. & Mable B.K. (Eds) *Molecular systematics*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, pp. 205-247.
- Pérez-Ponce de León, G., García-Prieto, L. & Razo-Mendivil, U. (2002) Species richness of helminth parasites in mexican amphibians and reptiles. *Diversity and Distributions*, **8**, 211-218.
- Pérez-Ponce de León, G., León-Règagnon, V., García-Prieto, L., Razo-Mendivil, U. & Sánchez-Alvarez, A. (2000) Digenean fauna of amphibians from central Mexico: nearctic and neotropical influences. *Comparative Parasitology*, **67**, 92-106.
- Prudhoe, S. & Bray, R.A. (1982) *Platyhelminth parasites of the Amphibia*. Oxford: Oxford University Press, 217 pp.
- Rankin J.S., Jr (1944) A review of the trematode genus *Glyphelmims* Stafford, 1905, with an account of the life cycle of *G. quieta* (Stafford, 1900) Stafford, 1905. *Transactions of the American Microscopical Society*, **63**, 30-43
- Razo-Mendivil, U., Laclette, J. P. & Pérez-Ponce de León, G. (1999) New host and locality records for three species of *Glyphelmims* (Digenea: Macroderoididae) in anurans of Mexico. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **66**, 197-201.
- Razo-Mendivil, U. & León-Règagnon, V. (2001) *Glyphelmims poncedeleoni* n. sp. (Trematoda: Macroderoididae) of amphibians from neotropical region of México. *Journal of Parasitology*, **87**, 686-691.
- Stafford, J. (1905) Trematodes from Canadian vertebrates. *Zoologischer Anzeiger*, **28**, 681-694.
- Sullivan, J. J. (1976) The trematode genus *Glyphelmims* Stafford, 1905 (Plagiorchioidea: Macroderoididae) with a redescription of *G. facioi* from Costa Rican frogs. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, **43**, 116-125.
- Swofford, D. L. (2002) *PAUP**. *Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods)*. Version 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tkach, V., Pawlowski, J. & Sharpilo, V. (2000a) Molecular and morphological differentiation between species of the *Plagiorchis vespertilionis* group (Digenea, Plagiorchiidae) occurring in European bats, with a re-description of *P. vespertilionis* (Müller, 1780). *Systematic Parasitology*, **47**, 9-22.
- Tkach, V., Pawlowski, J. & Mariaux, J. (2000b) Phylogenetic analysis of the suborder Plagiorchiata (Platyhelminthes, Digenea) based on partial 18S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, **30**, 83-93.

- van Herwerden, L., Blair, D. & Agatsuma, T. (1998) Intra- and inter-specific variation in nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 of the *Schistosoma japonicum* species complex. *Parasitology*, **116**, 311-317.
- van Herwerden, L., Blair, D. & Agatsuma, T. (1999) Intra- and interindividual variation in ITS1 of *Paragonimus westermani* (Trematoda: Digenea) and related species: Implications for Phylogenetic Studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12**, 67-73.
- Yamaguti, S. (1971) *Synopsis of the digenetic trematodes of vertebrates*. Tokyo: Keigaku Publishing Co.,. Vol. 1, 1074 pp.

Table 1. Hosts and localities of isolates of *Glyphelmings* spp. collected in Mexico, Costa Rica and the USA.

Isolate	Host	Locality
<i>G. facioi</i>	<i>Rana vaillanti</i> Brocchi	Guanacaste, Costa Rica
<i>G. facioi</i>	<i>Rana brownorum</i> Sanders	Km. 50 Carretera 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, Mexico
<i>G. facioi</i>	<i>Rana vaillanti</i>	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico
<i>G. quieta</i>	<i>Rana montezumae</i> Baird	Ciénaga de Lerma, Estado de Mexico, Mexico
<i>G. californiensis</i>	<i>Rana dunni</i> Zweifel	Lago de Zacapu, Michoacán, Mexico
<i>G. californiensis</i>	<i>Rana montezumae</i>	Ciénaga de Lerma, Estado de Mexico
<i>G. hyloureus</i>	<i>Pseudacris triseriata</i> (Wied-Neuwied)	Nebraska, USA

Table 2. Pairwise distances between taxa, calculated from the *cox1*. Percentage of nucleotide differences above the diagonal, and number of nucleotide differences below, with the second value referring to the number of amino acid sequence differences.

Species	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>G. facioi</i>	-	10.70	11.22	16.71	17.23	16.97	18.27
2. <i>Glyphelmings</i> sp., Veracruz	41/0	-	10.70	15.40	17.49	16.97	18.53
3. <i>Glyphelmings</i> sp., Tabasco	43/1	41/1	-	15.40	17.49	17.23	17.49
4. <i>G. quieta</i>	64/3	59/3	59/2	-	15.92	15.92	16.97
5. <i>G. californiensis</i> , Lerma	66/2	67/2	67/1	61/1	-	1.56	17.49
6. <i>G. californiensis</i> , Zacapu	65/1	65/2	66/1	61/1	6/0	-	17.23
7. <i>G. hyloureus</i>	70/4	71/3	67/3	65/2	67/3	66/3	-

Table 3. Pairwise distances between taxa calculated from 5.8S and ITS2 combined sequences. Number of nucleotide differences below the diagonal and the percentage of nucleotide differences above.

Species	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>G. facioi</i>	-	0.48	0.72	3.65	2.97	3.21	3.40
2. <i>Glypthelmins</i> sp., Veracruz	2	-	0.97	4.14	3.47	3.72	3.65
3. <i>Glypthelmins</i> sp., Tabasco	3	4	-	4.40	2.98	3.23	3.91
4. <i>G. quieta</i>	15	17	18	-	5.19	5.44	4.63
5. <i>G. californiensis</i> , Lerma	12	14	12	21	-	0.24	4.71
6. <i>G. californiensis</i> , Zacapu	13	15	13	22	1	-	4.96
7. <i>G. hyloreus</i>	14	15	16	19	19	20	-

Table 4. Pairwise distances between taxa, calculated from the 28S ribosomal gene. Number of nucleotide differences below the diagonal and the percentage of nucleotide differences above.

Species	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>G. facioi</i>	-	1.33	1.88	2.19	4.55	4.63	2.82
2. <i>Glypthelmins</i> sp., Veracruz	17	-	1.57	1.49	3.93	4.01	2.12
3. <i>Glypthelmins</i> sp., Tabasco	24	20	-	1.49	3.92	4.00	2.23
4. <i>G. quieta</i>	28	19	19	-	3.06	3.14	1.10
5. <i>G. californiensis</i> , Lerma	58	50	50	39	-	0.78	3.69
6. <i>G. californiensis</i> , Zacapu	59	51	51	40	1	-	3.77
7. <i>G. hyloreus</i>	36	27	30	14	47	48	-

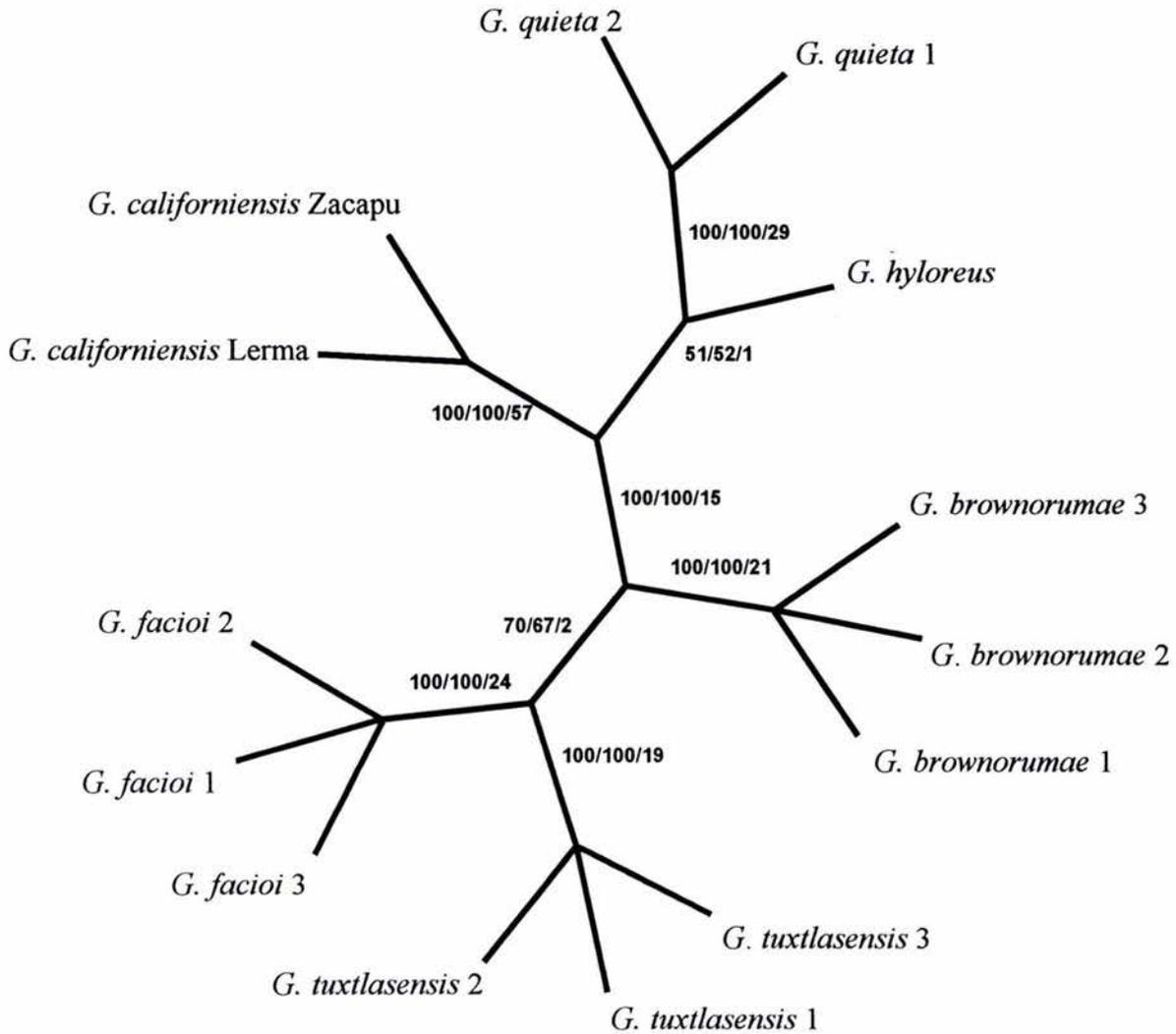
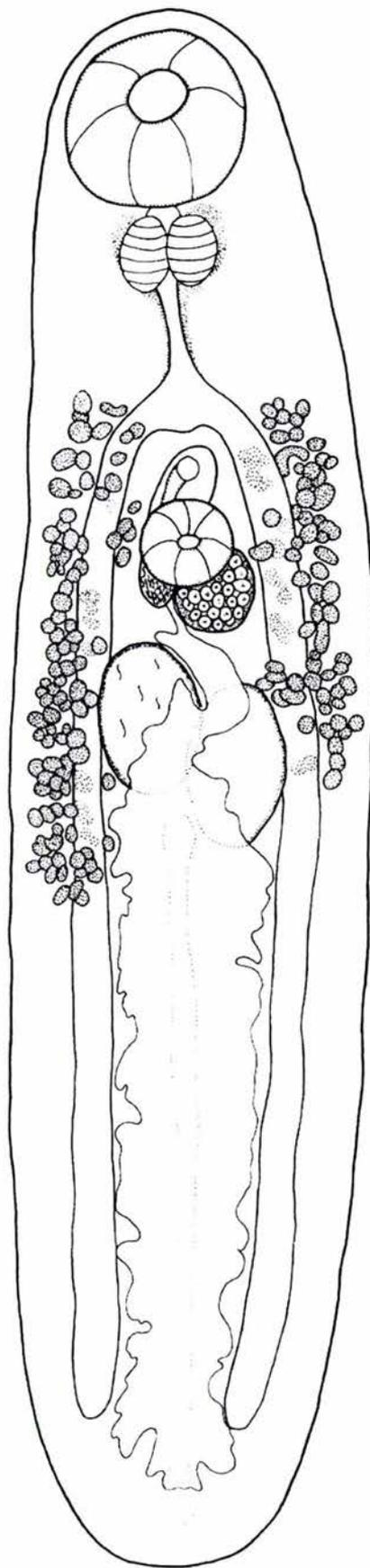
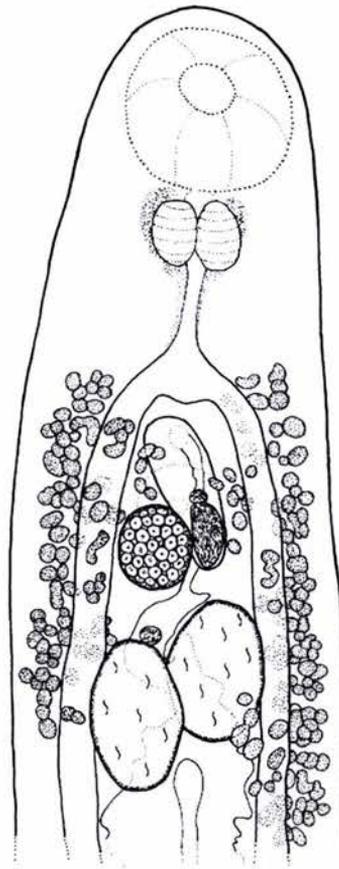


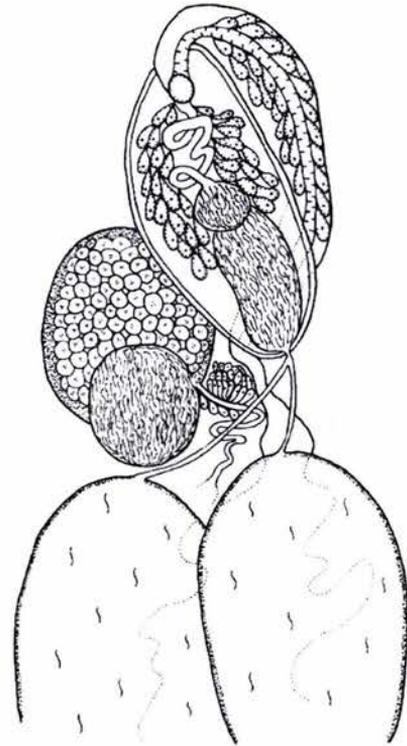
Figure 1. Unrooted single most parsimonious tree combining all information from mtDNA and rDNA sequences. Tree shows the position of the two new species with respect to other members of *Glyphelmins* spp. Support for each node is indicated by bootstrap values (1,000 replicates), followed by jackknife (JAC emulation) and Bremer's support.



2



3



4

Figures 2-4. *Glythelmins browmorumae* n. sp. Holotype, ventral view. Detail of the non-confluence of the vitelline fields, dorsal view. Detail of the male and female reproductive systems, dorsal view. Scale-bars: 2, 300 μ m; 3, 200 μ m; 4, 100 μ m.

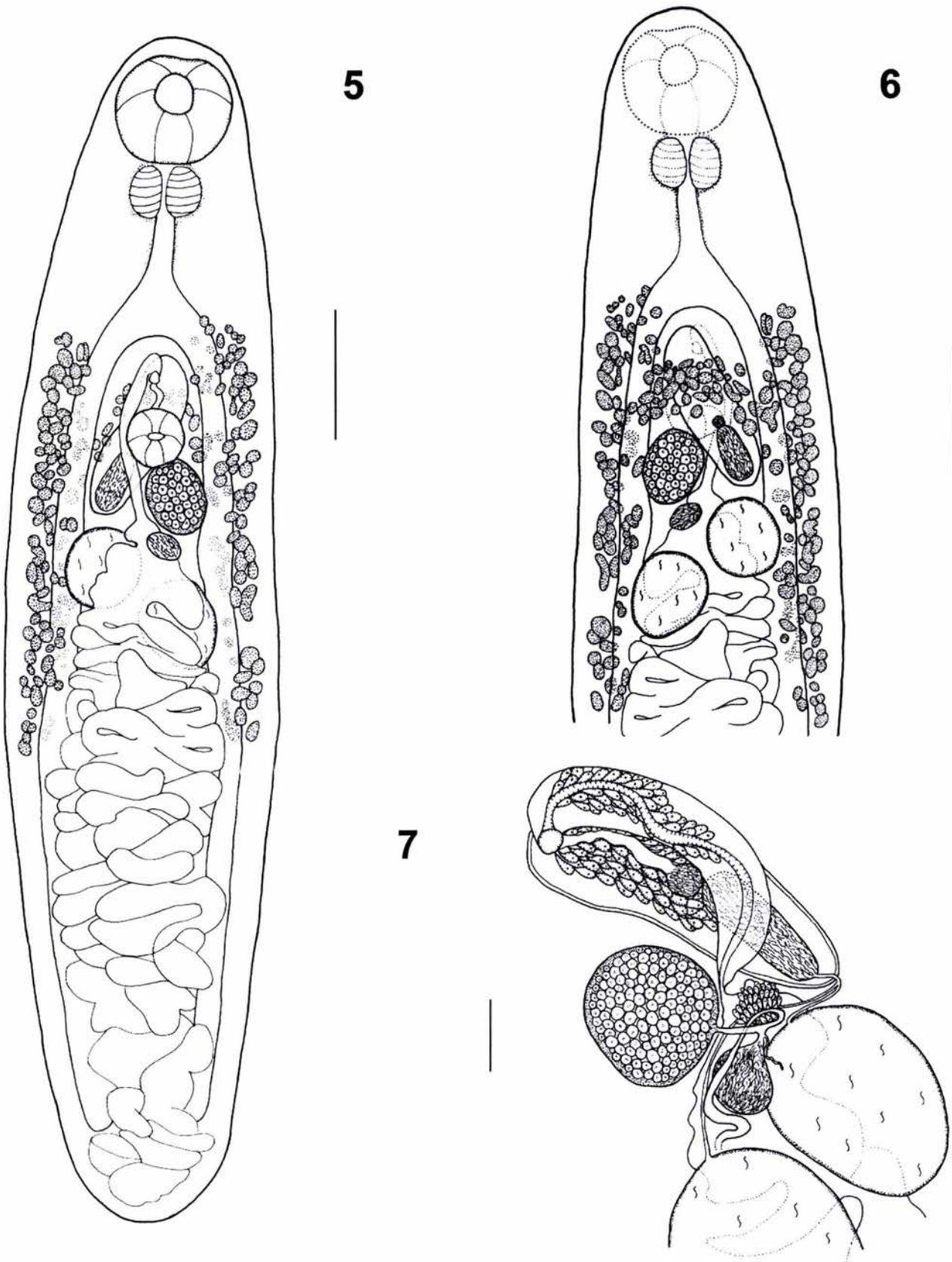


Figure 5-7. *Glythelmins tuxtlasensis* n. sp. Holotype, ventral view. Detail of the confluence of the vitelline fields, dorsal view. Detail of the male and female reproductive systems. Scale-bars: 5, 300 μ m; 6, 200 μ m; 7, 100 μ m.

	<u>cox1</u>								
<i>G. facioi</i>	GTGTTAATAT	TGCCGGGTTT	TGGGGTTGTT	AGCCATGTTT	GTGTTAGCCT	AACTAATAAA	GATTCTTTGT		70
<i>G. brownorumae</i>	..T.....	.A..T.....T.....C.G..C...C...		
<i>G. tuxtlasensis</i>	..T.....T.A.....T.....G..	G.....		
<i>G. quieta</i>	..T..G..TC	.T..T.....	...T..C...	..T.....	.C.....T.	G.....C..T	..C.....		
<i>G. californiensis</i> Lerma	..T..G...C	.T..T..G..G.....G..A..	T..G.....	..C..C...		
<i>G. californiensis</i> Zacapu	..T..G...C	.T..T..G..G.....G..A..	T..G.....C...		
<i>G. hyloreus</i>	..T.....CC	.T..T..A..G.....GT.	G.....CC.A.		
<u>cox1</u>									
<i>G. facioi</i>	TTGGTTATTT	TGGTCTTGTT	TTTGCTATGG	GGGCGATAGT	TTGTTTAGGA	AGTGTGGTGT	GGGCACACCA		140
<i>G. brownorumae</i>	G..C.....CT..A.		
<i>G. tuxtlaesensis</i>CGT...G.....		
<i>G. quieta</i>G..A..GT..T..T..G...T.	...C.....		
<i>G. californiensis</i> Lerma	...G.....	...T.G...A..T..C..G...	..A..T...	...C.....		
<i>G. californiensis</i> Zacapu	...G.....	...T.G...A..T..C..G...	..A..T...	...C.....		
<i>G. hyloreus</i>T.A..G	..C.....	.A..T..T..	...CC.....T..T.	.A.....T..		
<u>cox1</u>									
<i>G. facioi</i>	CATGTTTATG	GTTGGGCTGG	ATATTAAGAC	TGCTGTTTTT	TTTAGCTCTG	TTACCATGGT	TATTGGTATC		210
<i>G. brownorumae</i>AT...	..G.....	...A..C...T.....T		
<i>G. tuxtlaesensis</i>TT.A.	G.....C...G.	.C..T.....T		
<i>G. quieta</i>	T.....CT...	..G.....G...T...T.....T		
<i>G. californiensis</i> Lerma	T.....	..A.....T.	..G.....	A..A..G...G..A.	.G..G.....A..T		
<i>G. californiensis</i> Zacapu	T.....	..A.....T.	..G.....	...A..G...G..A.	.G..G.....A..T		
<i>G. hyloreus</i>	T.....T..T.	..G.....G...T.....	A..A..G..T		
<u>cox1</u>									
<i>G. facioi</i>	CCCACGGGGA	TTAAGGTGTT	TTCTTGGCTG	TATATGCTTG	GGGGGTGCTA	TATGCGTTTA	TGAGATCCGG		280
<i>G. brownorumae</i>	..A.....A.T.A	..C...T.A.T..T..G	..G.....C.		
<i>G. tuxtlasensis</i>	..T..C....A..	C.....T..	..C.....A.T..T..C...	..G.....T.		
<i>G. quieta</i>	..A..A..C.T..AT.AT.A.TA....G..G	..G.....T.		
<i>G. californiensis</i> Lerma	..G.....A..T.AT.A.CA....	C.....	..G.....		
<i>G. californiensis</i> Zacapu	..G.....A..T.AT.A.TA....	C.....	..G.....		
<i>G. hyloreus</i>T.A..T..A.	.C...G.G..	..C.....	..G..C..T.		

Appendix A. Aligned sequences of combined data (*cox1*, 5.8S, ITS 2 and 28S). Dots (.) indicate sequence identical to *G. facioi*. Dashes (-) indicate alignment gaps.

		<u>cox1</u>							
<i>G. facioi</i>		TGATTTGGTG	GATTATTGGT	TTTATCTTTT	TGTTTACTGT	TGGGGGGGTT	ACTGGAATTG	TTTGTCTGC	350
<i>G. brownorumae</i>	A..	A.....C.....	..G..G....G..	
<i>G. tuxtlasensis</i>		A.....T....T.....	..C..G....A..G..	
<i>G. quieta</i>	A..	A.....T....	.A.....	G.....G	..A..CG...A..A..	
<i>G. californiensis</i> Lerma		.C.....	A.....GA.....G..	...T..T..A	..A..T....A..G..	
<i>G. californiensis</i> Zacapu		.T.....	A.....GA.....G..	...T..C..A	..A..T....A..G..	
<i>G. hyloreus</i>		.A..A..A..	A.....C.	.A.....	A..A....A	..G..TG...	.A..A..A..	
		<u>cox1</u>		<u>5.8S</u>					
<i>G. facioi</i>		TTCTATCCTT	GATATGTTGT	TACACGACAC	TTGCGATGAA	GAGCGCAGCC	AACTGTGTGA	ATTAATGTGA	420
<i>G. brownorumae</i>		...G....CA.T..	A.....	
<i>G. tuxtlasensis</i>		...G..T...G.....	
<i>G. quieta</i>		G....T...G..T..T..	G.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma		C....A...C.T.	.G..T..T..	G.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu		C..C..A...C.T.	.G..T..T..	G.....	
<i>G. hyloreus</i>		C.....T.GC.T.	.G.....T..	A.....	
		<u>5.8S</u>							
<i>G. facioi</i>		ACTGCATACT	GCTTTGAACA	TCGACATCTT	GAACGCACAT	TGCGGCCATG	GGTTGTCCCA	TGGCCACGCC	490
<i>G. brownorumae</i>		
<i>G. tuxtlasensis</i>		
<i>G. quieta</i>		
<i>G. californiensis</i> Lerma		
<i>G. californiensis</i> Zacapu		
<i>G. hyloreus</i>	A.....	
		<u>5.8S</u>	<u>ITS2</u>						
<i>G. facioi</i>		TGTCCGAGGG	TCGGCTTATA	AACTATCACG	ACGCCCAATT	AGTCGTGGCT	TGGGTCTTGC	CAGCTGACAT	560
<i>G. brownorumae</i>		
<i>G. tuxtlasensis</i>		
<i>G. quieta</i>		
<i>G. californiensis</i> Lerma		
<i>G. californiensis</i> Zacapu		
<i>G. hyloreus</i>		

Appendix A. Continued...

	ITS2							
<i>G. facioi</i>	GATTTCCCC-	TTATTGGTTA	TTGATTATTT	ATTAAGGGGC	GTCAGATCTA	TGGCTTCTCC	CTAATGTATC	630
<i>G. brownorumae</i>-C..	
<i>G. tuxtlasensis</i>-	
<i>G. quieta</i>-...TC	A.....G...TT	
<i>G. californiensis</i> LermaT	...C...---	----.....-A....	
<i>G. californiensis</i> ZacapuT	...C...---	----.....-A....	
<i>G. hylorus</i>T	..-.....	

	ITS2							
<i>G. facioi</i>	CGGTTGCAAC	CACATATTGG	TAAATGTCTT	TATGCGGGTG	TAGCTGCGGA	GTCGTGGCTC	AATGGTTATG	700
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	.A.....G...CT..G.....-	
<i>G. californiensis</i> Lerma-...C..A..	.G.....-	
<i>G. californiensis</i> Zacapu-...C..A..	.G.....-	
<i>G. hylorus</i>CT..G.....-..T	

	ITS2							
<i>G. facioi</i>	TTTTTATGTG	CGCGCTCCGT	ACCTTCACCT	GTTCTATTGT	GGTGTAAC TG	TTTTATGCG-	AAAATCGCAT	770
<i>G. brownorumae</i>	...--.....G.....	...T.....-	
<i>G. tuxtlasensis</i>	...--.....T.....T.T	
<i>G. quieta</i>A..G...T	...-.....	
<i>G. californiensis</i> LermaT..	...T.T...G...	...C...T	.TT.....	
<i>G. californiensis</i> ZacapuT..	.G.T.T...G...	...C...T	.TT.....	
<i>G. hylorus</i>	A.....A.....	...GG...G	TT.....	..C...T	..-.....	

	ITS2			28S				
<i>G. facioi</i>	TACCCCTGAC	CTCGGATCAG	ACGTGAATAG	AACAGGGAAA	AGCCCAGCGC	CGAAGCCTGT	GGCCAATTGG	840
<i>G. brownorumae</i>?	??????????	??????????	??????????	??????????	
<i>G. tuxtlasensis</i>A.	
<i>G. quieta</i>	.TTT.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma	T.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	T.....	
<i>G. hylorus</i>	..T.....	

Appendix A. Continued...

28S								
<i>G. facioi</i>	TCACTAGGCA	ATGTGGCGTT	AAGGTTGTTC	CGCGGAGGTT	CCGCCCCACC	CTAAGTCCAT	CAATGAGTAC	910
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	
<i>G. tuxtlasensis</i>	.T.....	
<i>G. quieta</i>	CT.....	T...C...	...A.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma	CT.....	T...C...T	.ATA.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	CT.....	T...C...T	.ATA.....	
<i>G. hyloreus</i>	.T.....	T...C...	...A.....	

28S								
<i>G. facioi</i>	GGTAGTATGG	ACATGG-CCC	ATAGAGGGTG	AAAGGCCCGT	GGGGGTGGGG	ATTCGATTGG	CCGGAATCTC	980
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	
<i>G. tuxtlasensis</i>A...GC...	
<i>G. quieta</i>-...GC...	
<i>G. californiensis</i> LermaG...-...	.G.....GCT..	
<i>G. californiensis</i> ZacapuG...-...	.G.....GCT..	
<i>G. hyloreus</i>-...GC...	

28S								
<i>G. facioi</i>	TCTGGATAGA	CCTTGGAGTC	GGGTTGTTTG	TGAATGCAGC	CCAAAGTGGG	TGGTAAACTC	CATCCAAGGC	1050
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	
<i>G. californiensis</i> Lerma	...AG....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	...AG....	
<i>G. hyloreus</i>	

28S								
<i>G. facioi</i>	TAAATACTAG	CACGAGTCCG	ATAGCGAACA	AGTACCGTGA	GGGAAAGTTG	AAAAGTACTT	TGAAGAGAGA	1120
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	
<i>G. californiensis</i> Lerma	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	
<i>G. hyloreus</i>C	

Appendix A. Continued...

	28S							
<i>G. facioi</i>	GTAAACAGTG	CGTGAAACCG	CTCAGAAGTA	AACGGGTAGA	GTTGAACTGC	AAGCGCTGAG	AATTCAGCTG	1190
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	????????-..	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	
<i>G. californiensis</i> LermaT.....	
<i>G. californiensis</i> ZacapuT.....	
<i>G. hyloraus</i>	

	28S							
<i>G. facioi</i>	ATGAGTGTGA	TTTGTGCTTG	GCCAAATTGG	TGGACTCCGG	GGTCTGCGTA	GTAGCAGGTC	TCTGCCTTCG	1260
<i>G. brownorumae</i>G.....	
<i>G. tuxtlasensis</i>T.....	
<i>G. quieta</i>G.....TG.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma	G.....T	.A..G.....TG.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	G.....T	.A..G.....TG.....	
<i>G. hyloraus</i>G.....TG.....T..	

	28S							
<i>G. facioi</i>	GGTGGGGATG	CGCGATACAC	TTATCAAGTG	TTGCACGCTC	CGGTTGTTTT	TCGGCCTTCT	CGTCAGTGCA	1330
<i>G. brownorumae</i>G...T	...G.....A..	
<i>G. tuxtlasensis</i>AA..	
<i>G. quieta</i>A.C.A..	
<i>G. californiensis</i> LermaG.....A.C.G..	
<i>G. californiensis</i> ZacapuG.....A.C.G..	
<i>G. hyloraus</i>C.A..	

	28S							
<i>G. facioi</i>	CTTTCTCAGT	GTG TTCACCA	CGACCAGCAC	CGCTGTCTGG	CTGCTATGGT	TAAACCGGTT	ATGCACAATC	1400
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>T.....	
<i>G. californiensis</i> LermaAA.....AC.G..	
<i>G. californiensis</i> ZacapuAA.....AC.G..	
<i>G. hyloraus</i>T.....	

Appendix A. Continued...

28S								
<i>G. facioi</i>	CTTGTGGTTA	TGCATAGACG	GGATGGCAGG	TGACTCGTTA	GCAGGCTTGT	GGCTTTGCCG	CATTCATTGC	1470
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>C...T...-...	
<i>G. quieta</i>T...T...	
<i>G. californiensis</i> LermaC..G.....-	...A.T...T...	
<i>G. californiensis</i> ZacapuC..G.....-	.T.A.T...T...	
<i>G. hyloreus</i>T...	...A...T.	
28S								
<i>G. facioi</i>	TATTGAAAGT	TATTAGCTGA	CCATAGTGGT	TCTGTGCAGT	GTGTTGGAGG	CGGCGGCTTT	AGTTGT-TGC	1540
<i>G. brownorumae</i>-	
<i>G. tuxtlasensis</i>-	
<i>G. quieta</i>-	
<i>G. californiensis</i> LermaAGG...	
<i>G. californiensis</i> ZacapuAGG...	
<i>G. hyloreus</i>G.....A-	
28S								
<i>G. facioi</i>	AGGTGTTTCT	GCTTGCTGAC	TTGTCCGGGT	CTGGTTATTT	TGTTGCCTGT	TTCCACA-GG	CCTAGTGATG	1610
<i>G. brownorumae</i>	T.....A..	
<i>G. tuxtlasensis</i>	T.....A...-	...G.....	
<i>G. quieta</i>C...	T.....A...-	
<i>G. californiensis</i> LermaT.....	TC.....AA...-	...T...A	
<i>G. californiensis</i> ZacapuT.....	TC.....AA...-	...T...A	
<i>G. hyloreus</i>	G.....C...	T.....A...-	
28S								
<i>G. facioi</i>	GCTCGGGTTC	GTTCGGTGGG	TTGTTGCATT	TGTGACTTCA	TTTCTGGGGC	CAATAGTCTG	TGGTGTAGTG	1680
<i>G. brownorumae</i>A.	.G.....	
<i>G. tuxtlasensis</i>G.....	
<i>G. quieta</i>A...A.	.G.....	
<i>G. californiensis</i> LermaA...A.	.G.....A.....	
<i>G. californiensis</i> ZacapuA...A.	.G.....A.....	
<i>G. hyloreus</i>A...AA	.G.....	..C.....	

Appendix A. Continued...

28S								
<i>G. facioi</i>	GTAGACTTTC	TACCTGACCC	GTCTTGAAAC	ACGGACCAAG	GAGAGGAACA	TGTGCGCGAG	TCATTGGGCG	1750
<i>G. brownorumae</i>T.....	
<i>G. tuxtlasensis</i>T.....	
<i>G. quieta</i>T.....	
<i>G. californiensis</i> LermaT.....	
<i>G. californiensis</i> ZacapuT.....	
<i>G. hyloreus</i>A.....TG.....	
28S								
<i>G. facioi</i>	TTACGAAACC	CACAGGCGAA	GTGAAAGTAA	AGGTCTGACT	TGTTTCAGACT	GAGGTGAGAT	CCTGTCGTTT	1820
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>G.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma	A.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	A.....	
<i>G. hyloreus</i>G.....	
28S								
<i>G. facioi</i>	CCCACGCGCG	GTACTACCAA	GCATCGAGCG	GCAGGCGCAT	CACCGGCCCG	TCCCATGGCA	TTTGGTTTTT	1890
<i>G. brownorumae</i>	GGG.....T..C...C	
<i>G. tuxtlasensis</i>-...C	
<i>G. quieta</i>A-...C	
<i>G. californiensis</i> Lerma	.T.....	G...A...C	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	.T.....	G...A...C	
<i>G. hyloreus</i>A...-C	
28S								
<i>G. facioi</i> Costa Rica	GACCAGTTTT	CGGTCGGGGC	GGAGCATGAG	CGTACATGTT	GAGACCCGAA	AGATGGTGAA	CTATGCTTGC	1960
<i>G. brownorumae</i>	.GT.....	
<i>G. tuxtlasensis</i>	.GT.....	
<i>G. quieta</i>	.GT.....	
<i>G. californiensis</i> Lerma	.GT.....	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	.GT.....	
<i>G. hyloreus</i>	.GT.....	

Appendix A. Continued...

	28S							
<i>G. facioi</i> Costa Rica	GCAGGTTGAA	GCCAGAGGAA	ACTCTGGTGG	AGGACCGCAG	CGATTCTGAC	GTGCAAATCG	ATCGTCAAAC	2030
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	
<i>G. californiensis</i> Lerma	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	
<i>G. hyloreus</i>	

	28S					
<i>G. facioi</i> Costa Rica	GTGAGTATAG	GGGCGAAAGA	CTAATCGAAC	CATCTAGAGC	GGTCCCC	2077
<i>G. brownorumae</i>	
<i>G. tuxtlasensis</i>	
<i>G. quieta</i>	
<i>G. californiensis</i> Lerma	
<i>G. californiensis</i> Zacapu	
<i>G. hyloreus</i>	

<i>G. facioi</i>	V L I L P G F G V V S H V C V S L T N N D S L F G Y F G L V F A
<i>G. brownorumae</i>
<i>G. tuxtlasensis</i>
<i>G. quieta</i>
<i>G. californiensis</i> Lerma
<i>G. californiensis</i> Zacapu
<i>G. hyloreus</i>
<i>G. facioi</i>	M G A I V C L G S V V W A H H M F M V G L D I K T A V F F S S V
<i>G. brownorumae</i> V
<i>G. tuxtlasensis</i>
<i>G. quieta</i> V
<i>G. californiensis</i> Lerma V
<i>G. californiensis</i> Zacapu V
<i>G. hyloreus</i> V
<i>G. facioi</i>	T M V I G I P T G I K V F S W L Y M L G G C Y M R L W D P V I W
<i>G. brownorumae</i>
<i>G. tuxtlasensis</i>
<i>G. quieta</i> S
<i>G. californiensis</i> Lerma S
<i>G. californiensis</i> Zacapu S
<i>G. hyloreus</i> G . T
<i>G. facioi</i>	W I I G F I F L F T V G G V T G I V L S A S I L D M L L H D T
<i>G. brownorumae</i>
<i>G. tuxtlasensis</i>
<i>G. quieta</i> V
<i>G. californiensis</i> Lerma
<i>G. californiensis</i> Zacapu
<i>G. hyloreus</i> V

Appendix B. Amino acid sequence alignment for *cox1* region. Dots (.) indicate sequence identical to *G. facioi*.

5.3. REGISTRO HELMINTOLÓGICO

A partir del estudio helmintológico de 1060 individuos pertenecientes a 33 especies de ranas y sapos distribuidas en 50 localidades de 13 estados de la República Mexicana, se recolectó un total de nueve morfoespecies (Tabla XIII). Asimismo, se reconocieron dos tipos morfológicos (morfotipos) entre el material obtenido de *Rana vaillanti* de Chiapas y Oaxaca. Las nueve morfoespecies de *Glythelmins* fueron identificadas como: *G. brownorumae*, *G. californiensis*, *G. hepatica*, *G. linguatula*, *G. parva*, *G. poncedeleoni*, *G. quieta*, *G. tineri* y *G. tuxtlasensis*. De las nueve morfoespecies, tres representan nuevas especies (*G. poncedeleoni*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*). Cinco de las especies (*G. californiensis*, *G. hepatica*, *G. parva*, *G. quieta* y *G. tineri*) fueron nuevamente recolectadas en las localidades y huéspedes en donde ya habían sido registradas o en nuevas localidades y/o nuevas especies de huéspedes. Los ejemplares de *G. facioi*, registrados por Razo-Mendivil *et al.* (1999), fueron reidentificados y transferidos a la especie *G. tuxtlasensis*. Finalmente, *G. linguatula* representa un nuevo registro de especie del género en México, ya que ésta solamente había sido registrada en países de Centro y Sudamérica.

Con respecto a los dos morfotipos de *Glythelmins* recolectados en *R. vaillanti* de los estados de Chiapas y Oaxaca, éstos no pudieron ser identificados a nivel específico debido a la variación morfológica que presentan y al escaso número de ejemplares recolectados (1 en el caso del morfotipo de Chiapas y 4 en el caso de Oaxaca).

Las especies con el mayor número de nuevos hallazgos tanto de localidades como de especies de huéspedes son *G. quieta*, *G. tineri* y *G. hepatica*. La especie *G. quieta* se registró en cuatro nuevas localidades (Tapalpa y Atenquique, Jalisco; Coquimatlán, Colima y Huitzo, Oaxaca) y en igual número de especies de ranas (*R. psilonota*, *R. spectabilis*, *Rana* sp. y *Rana* sp. "forma Colima"), seguida por *G. tineri*, la cual se recolectó en cuatro localidades de los estados de Guerrero y Tabasco y en dos especies de anuros (*Bufo marinus* y *Leptodactylus melanonotus*). Por último, *G. hepatica* se localizó en tres nuevas localidades de los estados de Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

Glythelmins quieta es la especie más ampliamente distribuida en el territorio nacional, ya que con los nuevos registros de localidades se incrementa el número de las mismas de 9 a 13. Asimismo, es la especie que parasita a un mayor número de huéspedes debido a que el número total de especies de anuros que la albergan asciende a 10, todas pertenecientes al género *Rana*.

Con relación a las especies de huéspedes parasitados por algún miembro de *Glyphelmings*, únicamente 13 (39.39 %) de las 33 especies de huéspedes analizadas estuvieron parasitadas por una o más especies del género. Con lo anterior, se adicionan 13 nuevos registros de especies de huéspedes parasitados por especies de *Glyphelmings*. Las especies *Bufo marinus* y *Leptodactylus melanonotus* son los huéspedes que albergan el mayor número de especies de *Glyphelmings*, ya que ambas hospedan tres especies; *B. marinus* aloja a *G. hepatica*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni*, mientras que *L. melanonotus* es parasitada por las dos últimas especies mencionadas y por *G. linguatula*. Las especies de *Glyphelmings* en México parasitan principalmente a miembros del género *Rana*, ya que 13 especies del mismo albergan a estos digéneos.

En cuanto a las localidades estudiadas, solamente en 20 (38 %) se obtuvieron una o más especies del género. Con esto se adicionan 25 nuevos registros de localidades para algunas de las morfoespecies y morfotipos de *Glyphelmings*. San Pedro las Playas en el estado de Guerrero, es la localidad en la que habitan el mayor número de especies de *Glyphelmings*, ya que se obtuvieron cuatro especies de ésta, seguida por Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, con tres especies.

Tabla XIII. Especies de *Glythelmins* colectadas en diferentes huéspedes y localidades estudiadas en el período 1996-2002

ESPECIE	HUÉSPED	HÁBITAT	LOCALIDAD
<i>Glythelmins brownorumae</i> ①	<i>Rana brownorum</i> ②	Intestino	Km 50, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco③ Ranchería Benito Juárez, km. 52, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México③
<i>G. californiensis</i>	<i>R. montezumae</i>	Intestino	Ciénaga de Lerma, Estado de México
<i>G. hepatica</i>	<i>R. dunni</i>	Intestino	Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán
	<i>Bufo marinus</i>	Conductos biliares	San Pedro las Playas, Guerrero③ Paso Canoa, Oaxaca③ Corozal Chiapas, Chiapas③
<i>G. linguatula</i> ④	<i>Leptodactylus melanonotus</i> ②	Intestino	San Pedro las Playas, Guerrero③
<i>G. parva</i>	<i>R. vaillanti</i>	Intestino	Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz
<i>G. poncedeleoni</i> ①	<i>L. melanonotus</i> ②	Intestino	San Pedro las Playas, Guerrero③ Jardín del Hotel Mayan Palace, Acapulco, Guerrero③ Laguna Escondida, Los Tuxtlas③ y Desviación a la Barra de Sontecomapan③, Veracruz Piscifactoría de Teapa, Tabasco③ Ranchería Benito Juárez, Tabasco③
<i>G. quieta</i>	<i>B. marinus</i> ②	Intestino	San Pedro las Playas, Guerrero
	<i>R. dunni</i>	Intestino	Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán
	<i>R. dunni</i>	Intestino	Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán
	<i>R. montezumae</i> <i>R. megapoda</i>	Intestino Intestino	Ciénaga de Lerma, Estado de México Lago de Cuitzeo, Michoacán

① Nueva especie; ② Nuevo registro de especie de huésped; ③ Nuevo registro de localidad; ④ Primer registro de la especie en México.

Tabla XII. (Continuación)

ESPECIE	HUÉSPED	HÁBITAT	LOCALIDAD
	<i>R. neovolcanica</i>	Intestino	Manantiales de Cointzio, Michoacán Tapalpa, Jalisco ^③
	<i>R. magnaocularis</i>	Intestino	Coquimatlán, Colima ^③
	<i>R. psilonota</i> ^②	Intestino	Atenquique, Jalisco ^③
	<i>R. spectabilis</i> ^②	Intestino	Huitzo, Oaxaca ^③
	<i>Rana</i> sp. "forma Colima" ^②	Intestino	Coquimatlán, Colima ^③
	<i>Rana</i> sp. ^②	Intestino	Coquimatlán, Colima Atenquique, Jalisco, México
<i>G. tineri</i>	<i>L. melanotus</i> ^②	Intestino	San Pedro las Playas, Guerrero ^③ Jardín del Hotel Mayan Palace, Acapulco, Guerrero ^③ Piscifactoría de Teapa, Tabasco ^③ Ranchería Benito Juárez, Tabasco ^③
	<i>B. marinus</i> ^②	Intestino	San Pedro las Playas, Guerrero ^③
<i>G. tuxtlasensis</i> ^①	<i>R. vaillanti</i> ^②	Intestino	Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz ^③
<i>Glythelmins</i> sp. 1	<i>R. vaillanti</i> ^②	Intestino	Cascadas de Agua Azul, Chiapas ^③
<i>Glythelmins</i> sp. 2	<i>R. vaillanti</i> ^②	Intestino	7 Km de Zanatepec, Oaxaca ^③

① Nueva especie; ② Nuevo registro de especie de huésped; ③ Nuevo registro de localidad.

5.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICO MORFOLÓGICO

5.4.1. ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El análisis filogenético de la matriz de datos (Tabla X), empleando una búsqueda heurística y analizando los 45 caracteres, produjo un solo árbol bajo el criterio de máxima parsimonia (Fig. 49), con una longitud de 139 pasos, un índice de consistencia (IC) de 0.48 y un índice de retención (IR) de 0.75. Al excluir los caracteres no informativos (caracteres autopomórficos 3, 4, 9, 10, 14, 38, 39, 40, 41, 42) se obtuvo el mismo árbol con una longitud de 129 pasos, un IC = 0.44 y un IR = 0.75.

En el cladograma obtenido se observa que las 30 especies del grupo interno, consideradas como miembros de *Glypthelmins*, no conforman un grupo monofilético, ya que algunos de los grupos externos como *C. americanus*, *P. vespertilionis* y *L. mariavirginiae* se ubican como especies hermanas de algunas de las especies de *Glypthelmins* y muestran al género como polifilético.

El árbol filogenético está conformado por tres clados principales (I, II y III), sin considerar a *A. hirudicola* y a *P. echinus*. El clado I, el más basal, está integrado por 10 especies que en su mayoría se distribuyen en Norteamérica, excepto por *G. facioi* que se encuentra en Centroamérica y *G. parva*, distribuida en México y Sudamérica (Brasil y Perú). Las relaciones genealógicas entre los miembros del clado I se presentan de la siguiente manera: ((*G. pennsylvaniensis*, *G. hyloraus*), ((*G. intestinalis*, (*G. shastai*, *G. brownorumae*)), (*G. facioi*, (*G. tuxtlasensis*, (*G. parva*, (*G. quieta*, *G. californiensis*)))))) (Fig. 49). Este grupo monofilético está sustentado por dos sinapomorfías, una correspondiente al carácter 30[0] (ubicación del metratermo dorsal a la bolsa del cirro) y por el carácter 32[1] (presencia de folículos vitelógenos intercecales), siendo este último homoplástico. Como se puede apreciar las 10 especies están reunidas en tres subgrupos. El primero, integrado por las especies hermanas *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloraus*, está apoyado por cuatro sinapomorfías: Proporción de 2 a 3.5 veces entre el ancho y el largo del cuerpo (1[1]), asas uterinas intercecales, cecales y extracecales (25[2]), glándulas vitelógenas extendidas hasta el nivel de la faringe, esófago o bifurcación cecal (31[2]) y la anchura de los huevos entre 26 y 29 μm (45[2]). Este subgrupo es seguido por aquel conformado por *G. intestinalis* y las especies hermanas *G. shastai* + *G. brownorumae*. Los caracteres que sustentan dicha agrupación son el carácter 15[1], testículos que se enciman con los ciegos intestinales, y el carácter 16[1] testículos encimados entre sí o con sus bordes haciendo contacto. El último subgrupo, con una

sinapomorfía (presencia de una faringe más ancha que el acetábulo 8[0]), está integrado por las especies ((*G. facioi*, (*G. tuxtlasensis*, (*G. parva*, (*G. quieta*, *G. californiensis*))))).

El segundo clado es sustentado por dos caracteres, el primero homoplásico: Presencia de una bolsa del cirro lunada (17[2]) y por la agrupación de las glándulas vitelógenas (34[1]). Éste está constituido por las especies *G. proximus*, *G. lenti*, *G. staffordi*, *G. rugocaudata*, *G. poncedeleoni*, *G. sera*, *G. repandum*, *G. sanmartini*, *G. pseudium*, *G. chaquensis*, *G. linguatula* y *G. tineri*. Seis de las 10 especies que integran a este clado se han registrado únicamente en localidades de Sudamérica. Las especies restantes se distribuyen en México (*G. poncedeleoni* y *G. tineri*) y en Asia (*G. staffordi* y *G. rugocaudata*). Este clado es el que exhibe la menor resolución del cladograma. La especie *G. proximus* representa el miembro más basal del clado, seguido por *G. lenti*. Esta última especie constituye el grupo hermano del resto de las especies que en conjunto conforman una politomía que incluye algunos grupos resueltos. Dentro de la politomía, *G. staffordi* y *G. rugocaudata* aparecen como especies hermanas y se agrupan con base al escaso desarrollo de las asas pretesticulares (29[2]) y al ancho de los huevos, 26 a 29 μm (45[2]). Otro grupo relativamente resuelto dentro de la politomía y que es apoyado por los caracteres 12[0] (testículos alargados transversalmente) y 31[0] (ausencia de asas uterinas en el extremo anterior del cuerpo), está formado por las especies *G. sera*, *G. repandum*, *G. sanmartini*, *G. pseudium* y *G. chaquensis*. *Glythelmins sanmartini* se presenta como el grupo hermano de *G. pseudium* + *G. chaquensis*, especies agrupadas por compartir el carácter 44[1] (ciegos intestinales alejados de los bordes laterales del cuerpo). Finalmente, las relaciones de las especies *G. poncedeleoni*, *G. linguatula* y *G. tineri* no están resueltas.

El clado III, constituido por los grupos externos *C. americanus*, *P. vespertillionis* y *L. mariavirginiae* y las nueve especies de *Glythelmins* restantes, se sustenta por 2 sinapomorfías inequívocas que incluyen a los caracteres 6[2] (espinas tegumentarias afiladas) y 25[2] (asas uterinas intercecales, cecales y extracecales). El clado presenta la siguiente topología ((*C. americanus*, ((*P. vespertillionis*, *G. africana*), ((*G. incurvatum*, *G. ramitesticularis*), ((*L. mariavirginiae* (*G. simulans*, (*G. hepatica* y *G. elegans*), (*G. vitellinophilum*, *G. diana*)))))) (Fig. 49). Las especies hermanas *P. vespertillionis* y *G. africana* se agrupan por la ausencia de glándulas mediales (11[2]), útero intercecal (25[0]) y por la presencia de folículos vitelógenos entre los ciegos intestinales (32[1]). El subgrupo ((*G. incurvatum*, *G. ramitesticularis*), ((*L. mariavirginiae*, (*G. diana*, *G. vitellinophilum*), (*G. simulans*, (*G. hepatica*, *G. elegans*)))) se forma únicamente con base en un carácter, la proporción entre el ancho de la ventosa oral y el ancho del acetábulo es igual o mayor a 0.9 veces (7[1]). Las especies hermanas *G. ramitesticularis* y *G. incurvatum* comparten la presencia de espinas distribuidas en la totalidad

de la superficie corporal (5[3]), una bolsa del cirro lunada (17[2]) y folículos vitelógenos extendidos anteriormente hasta la región faringe – bifurcación cecal (31[2]). Las relaciones entre grupos hermanos, ((*L. mariavirginiae* ((*G. diana*, *G. vitellinophilum*), (*G. simulans*, (*G. hepatica*, *G. elegans*))))), están basadas en la presencia de un atrio genital (19[1]).

La ausencia de un receptáculo seminal (24[0]) y la forma acinosa de las glándulas vitelógenas (35[0]) son los caracteres que permiten el agrupamiento de ((*G. diana*, *G. vitellinophilum*), (*G. simulans*, (*G. hepatica*, *G. elegans*))). Las especies *G. diana* y *G. vitellinophilum* comparten una vesícula seminal enrollada y la extensión anterior de las glándulas vitelógenas hasta la ventosa oral. Por otro lado, el grupo (*G. simulans*, (*G. hepatica*, *G. elegans*)) se ve sustentado por cuatro sinapomorfías: la presencia de espinas en la totalidad de la superficie corporal (5[3]), la forma en racimo de las glándulas mediales (11[2]), testículos alargados transversalmente (12[0]) y testículos ventrales a los ciegos intestinales (15[1]). Finalmente, las especies hermanas *G. hepatica* y *G. elegans* comparten la proporción del cuerpo menor a 2 veces entre el ancho y el largo del cuerpo (1[0]) y la ubicación postbifurcal del poro genital (21[1]).

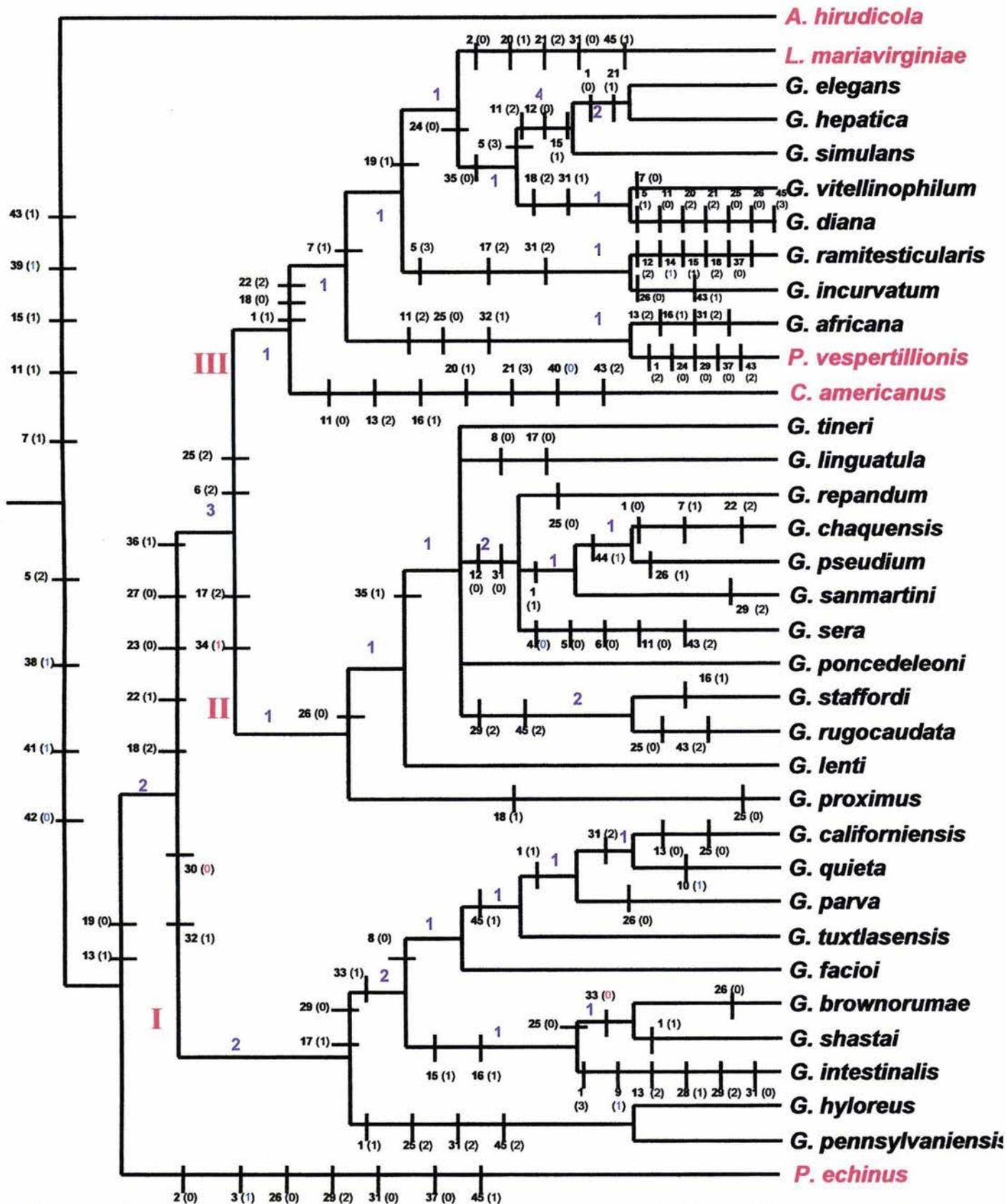


Figura 49. Cladograma obtenido a partir del análisis de 45 caracteres morfológicos y 35 taxones con una longitud de 139 pasos, un índice de consistencia (IC) de 0.48 y un índice de retención (IR) de 0.75. Los estados de carácter en color azul representan los caracteres no informativos, los de color rojo representan sinapomorfias y los restantes en negro, homoplasias. Los valores en morado representan los índices de Bremer para cada clado. Los taxones en color rojo representan los grupos externos empleados. Los números romanos muestran a cada uno de los grupos reconocidos en este estudio.

5.4.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS FILOGENÉTICO BASADO EN CARACTERES MORFOLÓGICOS

En la actualidad existen dos preguntas sin resolver en cuanto a la sistemática del género *Glypthelmins*. Una de ellas está relacionada con el número total de especies que componen al mismo y la otra, referente a si todas las especies incluidas en él constituyen un grupo monofilético. La taxonomía del grupo ha sido objeto de controversia y las razones de tales cuestionamientos se deben principalmente a los siguientes factores: a) una inadecuada diagnosis genérica, ya que ésta no puntualiza los caracteres distintivos del género; b) la estrecha similitud morfológica de las especies de *Glypthelmins* con otros géneros de la familia Plagiorchiidae; c) la descripción de nuevas especies con un escaso número de ejemplares; d) los pocos estudios sistemáticos, en particular aquellos relacionados con la obtención de hipótesis filogenéticas, que solamente han contemplado parte de las especies y e) el esquema de clasificación del género que nunca estuvo basado en una hipótesis filogenética que incluyera a todas las especies. Los resultados generados en este estudio a partir del análisis filogenético de 45 caracteres morfológicos y 35 taxones nos permiten responder éstas y otras preguntas.

5.4.2.0. POLIFILIA DEL GÉNERO GLYPTHELMINS

La hipótesis filogenética basada en caracteres morfológicos que aquí presentamos proporciona evidencias de que el género *Glypthelmins*, como ha sido concebido en los distintos tratamientos taxonómicos y sistemáticos efectuados por Yamaguti (1958, 1971), Nasir (1966), Nasir & Diaz (1970), Brooks (1977), Prudhoe & Bray (1982) y Brooks & McLennan (1993), no conforma un grupo monofilético. (Fig. 49).

El cladograma obtenido muestra claramente que las 30 especies de *Glypthelmins* están agrupadas en tres clados independientes (Fig. 50), dos de los cuales incluyen a varias de las especies que diversos autores han considerado como miembros de los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella*. Las especies de ambos géneros habían sido considerados sinónimos del género *Glypthelmins* en los esquemas de clasificación propuestos por Yamaguti (1958, 1971), Brooks (1977) y Brooks & McLennan (1993). El clado restante, integra a las especies que en la mayoría de los estudios taxonómicos han sido incluidas dentro del género *Glypthelmins* (*sensu lato*).

5.4.2.1. IMPLICACIONES TAXONÓMICAS

Al igual que en otros grupos de digéneos y como se mencionó anteriormente, la clasificación actual del género *Glypthelmins* no refleja las relaciones filogenéticas entre las diversas especies del mismo. Con la finalidad de rectificar la situación taxonómica de *Glypthelmins* y con base en los resultados obtenidos en este estudio, se proponen las siguientes modificaciones: 1) El género *Glypthelmins* puede ser concebido como un grupo monofilético si y solo si consideramos que éste incluye únicamente a 10 de las 30 especies estudiadas. 2) La validez de los géneros *Margeana* Cort, 1919 e *Hylotrema* Sullivan (1972)² no se sustenta con los datos actuales. 3) Los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella* deben ser reestablecidos y reconsiderados taxonómicamente, ya que la hipótesis filogenética que presentamos demuestra que estos géneros son válidos y tentativamente puede considerarse que están constituidos por 8 y 12 especies, respectivamente. 4) Los resultados no sustentan la inclusión de *G. africana* en *Glypthelmins*, sino más bien refuerzan la propuesta de Vercammen-Grandjean (1960) de incluir a la especie en el género *Plagiorchis*.

5.4.2.2. GÉNERO GLYPTHELMINS

Diferentes autores que efectuaron revisiones del género *Glypthelmins* en el pasado han sugerido que varias especies, consideradas como miembros del género, pudieran realmente no pertenecer al mismo (Rankin, 1944; Ruiz, 1949; Babero 1951a; Sullivan, 1976; Prudhoe & Bray, 1982). De cierta manera, estos autores han sugerido de manera implícita la no monofilia del género, sin embargo no lo comprobaron debido a que sus estudios no estuvieron basados en análisis filogenéticos. Lo anterior es comprensible ya que la mayoría de los estudios fueron realizados antes de 1965, año en que Hennig propuso la metodología de la sistemática filogenética. Rankin (1944) fue el primero en sugerir que las especies *G. elegans*, *G. linguatula* y *G. repandum* podían ser excluidas de *Glypthelmins* debido a que los caracteres presentes en tales especies no correspondían con los expresados en la diagnosis del género. Babero (1951a), puntualizó que en una comunicación personal con Texeira de Freitas, éste último le expresó que las especies de *Glypthelmins* descritas hasta ese momento podían ser divididas en dos grupos de acuerdo a la siguiente combinación de caracteres: a) las especies con glándulas perifaríngeas y carentes de asas uterinas pretesticulares y b) las especies sin glándulas perifaríngeas y con asas uterinas pretesticulares desarrolladas. Basándose en la

² Sullivan, J. J. (1972) The Status of the "Glypthelminth" trematodes with an account of the lifecycle of *Hylotrema pennsylvaniensis* (Cheng, 1961) n. gen., n. comb. Ph. D. Thesis, University of Georgia, USA 158 pp.

segunda combinación de caracteres, Babero sugirió la necesidad de establecer un nuevo género para incluir a las especies *G. linguatula*, *G. repandum*, *G. palmipedis*, *G. simulans* y *G. proximus*. Por otro lado, en su tratamiento sistemático del género *Glypthelmins*, Sullivan (1976) dividió a las 28 especies incluidas en el género en dos grupos de acuerdo a la forma de la vesícula excretora que presentaban tales especies. En uno de los grupos incluyó a las especies que se distribuían en Sudamérica y que presentaban una vesícula excretora en forma de "Y"; en el otro grupo, ubicó a las especies con vesícula excretora en forma de "I" y las cuales se distribuían principalmente en Norteamérica, salvo una registrada en Centroamérica. Bajo estos argumentos, Sullivan propuso que las especies con vesícula excretora en "Y" debían ser incluidas en la familia Plagiorchiidae y las especies restantes, con vesícula excretora en "I", en Macroderoididae. A pesar de que Sullivan no definió en qué género debían ser incluidas las especies con aparato excretor en forma de "Y", dejó claro que las especies que conformaban a *Glypthelmins* eran *G. quieta*, *G. rugocaudata*, *G. staffordi*, *G. shastai* y *G. facioi*.

En su trabajo sistemático y biogeográfico de *Glypthelmins*, Brooks & McLennan (1993) puntualizaron que el género carecía de sinapomorfías y que posiblemente era parafilético, ya que existía la posibilidad de que algunas especies incluidas en los géneros *Astiotrema*, *Haplometroides*, *Laiogonimus*, *Metaplagiorchis*, *Opisthioglyphe*, *Ostiolooides*, *Plagiorchis*, *Tremiorchis* y *Xenopodistomum* fueran miembros de *Glypthelmins*. A pesar de haber expresado la posibilidad anterior, Brooks & McLennan (1993) no emplearon ninguna especie de los géneros antes mencionados ni grupos externos para probar tal sugerencia.

De acuerdo a los resultados de este estudio el género *Glypthelmins* (*sensu lato*) puede considerarse como un grupo polifilético debido a que la mayoría de las especies descienden de ancestros distintos y adicionalmente, el clado que en su mayoría está integrado por las especies norteamericanas constituye un grupo monofilético, independiente de los otros dos grupos integrados por el resto de las especies. En consecuencia, proponemos que el género *Glypthelmins* (*sensu stricto*) se considere constituido solamente por las especies: *G. pennsylvaniensis*, *G. hyloreus*, *G. intestinalis*, *G. shastai*, *G. brownorumae*, *G. facioi*, *G. tuxtlasensis*, *G. parva*, *G. quieta* y *G. californiensis*. Asimismo, se demuestra que *Glypthelmins* es un grupo monofilético debido a que las 10 especies que lo conforman comparten una sinapomorfía inequívoca, referente a que el metratermo, en su recorrido hacia el poro genital, se ubica de manera dorsal a la bolsa del cirro. Finalmente, la razón por la cual juzgamos que este clado corresponde al género *Glypthelmins* se debe a que *G. quieta*, especie tipo del género, forma parte de este grupo de especies estrechamente emparentadas.

Las relaciones filogenéticas entre grupos hermanos de *Glyphelminis* (*sensu stricto*) obtenidas en este estudio son muy parecidas a las propuestas en las hipótesis filogenéticas parciales de O'Grady (1987)³ y Brooks & McLennan (1993), a pesar de las diferencias sustanciales en cuanto a la utilización o no de grupos externos, a la inclusión de algunas especies y a las diferencias en el número de caracteres empleados (Fig. 51). Las tres hipótesis coinciden en las relaciones genealógicas de las siguientes especies: *G. pennsylvaniensis* y *G. hylureus* como especies hermanas; *G. quieta* está más relacionada con *G. californiensis* que con cualquier otra especie del género. Las partes en las cuales no hay congruencia entre los árboles filogenéticos son las siguientes: En la hipótesis de O'Grady (1987)³, *G. robustus* se ubica como especie hermana del grupo constituido por *G. intestinalis* + *G. shastai*, en cambio en la hipótesis de Brooks & McLennan (1993), la cual contempló 19 especies, *G. robustus* se presenta como especie hermana de *G. palmipedis*. En este estudio se definió desde un principio que *G. robustus* era sinónimo de *G. linguatula*, con base en la revisión y comparación de ejemplares de ambas especies y además, la hipótesis filogenética que aquí presentamos demuestra que *G. linguatula* forma parte de un clado distinto a *Glyphelminis*. En las hipótesis anteriores a este trabajo se observa que *G. intestinalis* y *G. shastai* son especies hermanas. En contraste, en este análisis, que incluye a la nueva especie *G. brownorumae*, ésta se ubica como especie hermana de *G. shastai* y a su vez, *G. intestinalis* como grupo hermano de ambas especies. Otra diferencia entre la hipótesis reciente y las ya existentes radica en que *G. facioi* se ubica como el grupo hermano de las especies *G. tuxtlasensis*, *G. parva* y *G. quieta* + *G. californiensis*, mientras que en las hipótesis anteriores *G. facioi* se presentaba como grupo hermano de *G. quieta* + *G. californiensis*. Esto último se debe a que *G. tuxtlasensis* representa una nueva especie del género y *G. parva* no fue contemplada en los estudios de O'Grady (1987) y Brooks & McLennan (1993).

Otra diferencia sustancial entre las tres hipótesis radica en la utilización de grupos externos. En su tesis doctoral, O'Grady (1987)³ usó un grupo externo compuesto y Brooks & McLennan (1993) no especificaron al grupo externo empleado. En contraste, en nuestro estudio se emplearon 5 grupos externos con el fin de evitar ambigüedades en cuanto al reconocimiento de la monofilia del género. Por lo tanto, se utilizaron miembros de las familia Macroderoididae (*Laiogonimus*, *Paramacroderoides* y *Alloglossidium*), Plagiorchiidae

³ O'Grady, R. T. (1987) Phylogenetic systematics and the evolutionary history of some intestinal flatworms parasites (Trematoda: Digenea: Plagiorchioidea) of anurans. Ph. D. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B. C., Canada. 210 pp.

(*Plagiorchis*) y Cephalogonimidae (*Cephalogonimus*), todos ellos miembros del orden Plagiorchiida (suborden Plagiorchiata), como grupos externos.

Otro punto importante que hay que resaltar, es la diferencia en el número de caracteres empleados en los tres estudios. Un total de 21 caracteres (49 estados de carácter) y 11 caracteres (49 estados de carácter) fueron usados en los análisis filogenéticos de O'Grady y de Brooks & McLennan, respectivamente. En este estudio se emplearon 45 caracteres y 112 estados de carácter. La relevancia de esto es que a pesar de las diferencias en la cantidad de caracteres empleados, las relaciones filogenéticas obtenidas en todos los estudios son muy parecidas. Sin embargo, los caracteres que soportan al "clado norteamericano" (*sensu* Brooks, 1977 y Brooks & McLennan, 1993) en las hipótesis anteriores no son los mismos que sustentan al género *Glyphelmins* (*sensu stricto*) en este estudio. En la hipótesis de O'Grady (1987)³, la sinapomorfía que sustenta al "clado norteamericano" es la vesícula excretora bifurcada al nivel de los testículos o en la región posterior de los mismos. Brooks & McLennan (1993) especificaron que los caracteres que agrupan a las especies que constituyen al "clado norteamericano" son: longitud de los huevos mayor a 40 µm y vesícula excretora bifurcada al nivel de los testículos o en la región posterior de los mismos. En este estudio ambos caracteres no sustentan la agrupación de las especies de *Glyphelmins*. El carácter que comparten las 10 especies de *Glyphelmins* es él referente al metratermo, que en su recorrido hacia el poro genital, se ubica de manera dorsal a la bolsa del cirro. Cabe mencionar que el carácter relacionado con la vesícula excretora tal y como fue propuesto por O'Grady (1987)³ no fue empleado de la misma manera en nuestro análisis, debido a que en las especies con vesícula excretora bifurcando al nivel de los testículos o en la región posterior de los mismos, ésta siempre tiene una forma de "I" y además, no solamente se presenta en estas especies, sino también en los grupos externos *A. hirudicola* y *P. echinus*.

5.4.2.3. MARGEANA E HYLOTREMA SINÓNIMOS DE GLYPHELMINS

Los resultados del análisis filogenético concuerdan con la propuesta de Miller (1930) de sinonimizar al género *Margeana* con *Glyphelmins* y con la de O'Grady (1987)³ de no reconocer como válido a *Hylotrema*, género establecido en 1972 por Sullivan para incluir a *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*. El género *Margeana* fue establecido por Cort (1919) para incluir a la especie *Margeana californiensis*, parásito de *R. aurora* de California, E. U; el género fue erigido bajo el argumento de que los ejemplares de *M. californiensis* carecían de glándulas perifaríngeas, carácter presente únicamente en *G. quieta* hasta ese momento. Sin embargo,

³ O'Grady, R. T. (1987)

en una revisión de *G. quieta* y *M. californiensis* Miller (1930), notó que la única diferencia entre ambas era la presencia o ausencia de dichas glándulas. Por ello, decidió transferir a *M. californiensis* a *Glypthelmins*, convirtiéndose de esta manera en *G. californiensis*. A pesar de que la mayoría de los autores han considerado correcta la sinonimia de *Margeana* con *Glypthelmins*, hay algunos que han propuesto el reestablecimiento y validez del género, entre ellos Cheng (1959) y Mañé-Garzón & Holcman-Spector (1967a, 1967b, 1974). Estos autores, mencionaron que la ausencia de glándulas perifaríngeas era suficiente para diferenciar a *Margeana* de *Glypthelmins*. De cierta manera, Cheng y otros acertaron en cuanto a que la mayoría de las especies no presentaban dichas glándulas como son observadas en *G. quieta*. Sin embargo, estos autores no consideraron que estas especies poseían otro tipo de glándulas estrechamente asociadas con la faringe, a las cuales O'Grady (1987)³ denominó como glándulas mediales.

Las diferencias entre ambos tipos de glándulas radican en la forma de las mismas y en la orientación en que están dirigidos sus conductos. Las glándulas perifaríngeas son más grandes y están arregladas en racimos constituidos por 10 o más folículos, con sus conductos dirigidos hacia el extremo anterior de la ventosa oral y ubicadas desde el nivel de la faringe hasta el nivel de la bifurcación cecal. En contraste, las glándulas mediales son pequeñas, amorfas o ligeramente agrupadas en pequeños racimos, rodeando la faringe y sus conductos orientados hacia la prefaringe.

El carácter referente a la ausencia o presencia de glándulas perifaríngeas no tiene valor taxonómico a nivel genérico, ya que este tipo de glándulas son una autapomorfía de *G. quieta* y las glándulas mediales están presentes en la mayoría de las especies que han sido consideradas miembros de *Glypthelmins* (*sensu lato*). Adicionalmente, en todos los análisis filogenéticos realizados hasta el momento, *M. californiensis*, especie tipo de *Margeana*, queda incluida en el "clado norteamericano" (*sensu* Brooks) o en *Glypthelmins* (*sensu stricto*, este estudio). En consecuencia, *Margeana* efectivamente es sinónimo de *Glypthelmins*.

Con relación al género *Hylotrema*, O'Grady (1987)³ argumentó que éste no era válido debido a que había sido propuesto en una tesis doctoral (Sullivan 1972)², lo cual violaba el artículo 9 del Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Otro aspecto que le permitió a O'Grady invalidar a *Hylotrema*, fue que tanto en el análisis filogenético de Brooks (1977) como en el que él realizó, las especies *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus* (especies consideradas miembros de *Hylotrema* según Sullivan) se ubicaban dentro del clado constituido por especies

³ O'Grady, R. T. (1987)

² Sullivan, J. J. (1972)

de *Glypthelmins*, con distribución principalmente norteamericana. Los caracteres principales que llevaron al establecimiento de *Hylotrema* fueron la distribución extracecal de las de asas uterinas y la presencia de las mismas en el área pretesticular. Ambos caracteres son exhibidos por *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*. Los resultados del análisis filogenético demuestran que *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus* forman parte del género *Glypthelmins*, por lo que no se sustenta la validez del género *Hylotrema*. Adicionalmente, los caracteres propuestos para establecer a *Hylometra* no son sinapomorfias, ya que también se presentan en todas las especies que en algún momento han sido consideradas como miembros de *Choledocystus*.

5.4.2.4. VALIDEZ Y REESTABLECIMIENTO DE LOS GÉNEROS CHOLEDOCYSTUS Y RAUSCHIELLA

El género *Choledocystus* fue establecido por Pereira & Cuocolo (1941) para incluir a la especie *C. eucharis*, parásito de los conductos biliares de *L. ocellatus* de Pinheiros, Brasil. Los autores mencionaron que había una gran semejanza entre el nuevo género y *Glypthelmins*, pero que podían ser diferenciados ya que *Choledocystus* carecía de un receptáculo seminal. En años posteriores se describieron a las especies *C. vesicalis* y *C. intermedia*, ambas parásitas de los conductos biliares de *B. marinus*. En un estudio del género *Choledocystus*, Ruiz (1949) transfirió a la especie descrita originalmente como *G. elegans* a dicho género y la denominó especie tipo ya que esta tenía prioridad sobre las demás especies congénéricas. A su vez, Ruiz (1949) sinonimizó a *C. eucharis* y *C. vesicalis* con *C. elegans* y consideró que el género solamente estaba constituido por *C. elegans* y *C. intermedius*. Adicionalmente, agregó dos diferencias más por las cuales podían ser separados *Choledocystus* y *Glypthelmins*: La configuración del útero ascendente y la presencia de una estructura en forma de ventosa que rodea al atrio genital.

En su *Systema Helminthum*, Yamaguti (1958, 1971) sinonimizó al género *Choledocystus* con *Glypthelmins*; sin embargo, en ninguno de sus trabajos argumentó tal decisión, lo cual llevó a varios autores ignorar tal propuesta. Por otra parte, Byrd & Maples (1963a), transfirieron a *G. pennsylvaniensis* a *Choledocystus*, argumentando que esta especie carecía de receptáculo seminal, lo cual la situaba mejor en dicho género. Además, consideraron a *G. linguatula* y *G. festina* como *C. linguatula* y *C. festina*. Cambiando de opinión acerca de la inclusión de *G. pennsylvaniensis* en el género *Hylotrema*, Sullivan & Byrd (1970) defendieron la validez de *Choledocystus* y estuvieron de acuerdo con Byrd & Maples al considerar a *G. pennsylvaniensis* como *C. pennsylvaniensis*. En una redescrición de *C. hepaticus*, Sullivan (1977b) consideró a *C. intermedius* sinónimo de *C. hepaticus*, ya que ésta

tenía prioridad sobre la primera y a *C. elegans* sinónimo de *C. linguatula*. Finalmente, consideró a las siguientes especies como miembros de *Choledocystus*: *C. linguatula*, *C. hepatica* y *C. festina*. El último trabajo en donde se defiende la validez del género es el de Prudhoe & Bray (1982). En este trabajo, los autores puntualizan que la ausencia de un receptáculo seminal y la extensión de las asas uterinas en la región externa de los ciegos intestinales, eran rasgos determinantes para separar a *Choledocystus* de *Glythelmins*. Asimismo, consideraron que el género estaba constituido por *C. elegans*, *C. eucharis*, *C. hepaticus*, *C. vesicalis* y *C. intermedius*.

Con base en nuestros resultados, consideramos que el género *Choledocystus* es un taxón válido, ya que el análisis filogenético demuestra que éste conforma un linaje independiente del género *Glythelmins* (*sensu stricto*) y del resto de las especies estudiadas. Lo anterior, implica que se transfiera a *Choledocystus* a las siguientes especies: *G. incurvatum*, *G. ramitesticularis*, *G. diana*, *G. vitellinophilum*, *G. simulans*, *G. hepatica*, *G. elegans* y *L. mariavirginiae*. Sin embargo, este linaje únicamente está sustentado por el carácter 7[1] (relación del diámetro transversal de la ventosa oral-acetábulo >0.9), mismo que es homoplásico, pues también se presenta en el grupo externo *A. hirudicola* y es perdido secundariamente en la especie *G. vitellinophilum*. Podríamos considerar al género *Choledocystus* como un grupo monofilético únicamente si incluimos a *L. mariavirginiae* como miembro de éste, pues de otra manera *Choledocystus* sería parafilético, ya que no incluiría a todos sus descendientes. Considerando todo lo anterior, se propone la siguiente diagnosis del género:

***Choledocystus* Pereira & Cuocolo, 1941**

Sinónimos: *Margeana* (*in partí*)

***Glythelmins* (*in partí*)**

Cuerpo ovalado o semialargado. Tegumento espinoso; espinas distribuidas en la totalidad del cuerpo, excepto en la ventosa oral y acetábulo. Ventosa oral terminal o subterminal. Acetábulo casi del mismo tamaño o más grande que la ventosa oral. Faringe muscular, rodeada de glándulas mediales generalmente en forma de pequeños racimos. Ciegos intestinales extendidos hasta la región posterior del cuerpo. Testículos más anchos que largos o semicirculares. Bolsa del cirro curva o lunada. Vesícula seminal entera. Ovario dextral. Receptáculo seminal generalmente ausente. Útero constituido por múltiples asas uterinas transversales; asas uterinas extendidas lateralmente hasta la región extracecal. Presencia de asas uterinas pretesticulares bien desarrolladas. Metratermo ubicado en la parte ventral de la

bolsa del cirro o independiente a la misma en su recorrido al atrio genital. Atrio genital presente, ubicado lateralmente al acetábulo, postbifurcal o extracecal. Glándulas vitelógenas principalmente acinosas aunque pueden ser foliculares, extracecales. Extensión anterior y posterior de las glándulas vitelógenas a distintos niveles. Vesícula excretora en forma de "Y". Parásitos de los conductos biliares, vesícula biliar, hígado o intestino de anuros de México, Centro y Sudamérica, Europa y África. Especie tipo *C. elegans* (Travassos, 1926) Ruiz, 1949

ESPECIES

Choledocystus elegans (Travassos, 1926) Ruiz, 1949 (Sinónimos: *Glypthelmins elegans* Travassos, 1926; *Choledocystus eucharis* Pereira & Cuocolo, 1941; *Choledocystus vesicalis* Ruiz & Leao, 1942, *Glypthelmins biliaris* Suriano, 1968).

Choledocystus hepaticus (Lutz, 1928) Sullivan, 1977 (Sinónimos: *Choledocystus intermedius* Caballero, Bravo-Hollis & Zerecero, 1944, *Glypthelmins intermedia* Yamaguti, 1958; *Glypthelmins festina* Cordero, 1944).

Choledocystus simulans (Teixeira de Freitas, 1941) n. comb. (Sinónimos: *Glypthelmins simulans* Teixeira de Freitas, 1941).

Choledocystus ramitesticularis (Nasir, 1966) n. comb. (Sinónimos: *Glypthelmins ramitesticularis* Nasir, 1966).

Choledocystus incurvatum (Nasir, 1966) n. comb. (Sinónimos: *Glypthelmins incurvatum* Nasir, 1966).

Choledocystus vitellinophilum (Dobbin, 1958) n. comb. (Sinónimos: *Glypthelmins vitellinophilum* Dobbin, 1968).

Choledocystus diana (Belous, 1958) n. comb. (Sinónimos: *Glypthelmins diana* Belous, 1958).

Choledocystus mariavirginiae (Vercammen-Grandjean, 1960) n. comb. (Sinónimos: *Laiogonimus mariavirginiae* Vercammen-Grandjean, 1960).

5.4.2.5. GÉNERO RAUSCHIELLA

Al igual que el género anterior, la validez del género *Rauschiella* ha sido motivo de debate entre distintos autores. El género fue establecido por Babero en 1951 para incluir a *R. tineri*, parásito del intestino de una especie de anuros no identificada de México. Asimismo, transfirió a *Glypthelmins repandum* a *Rauschiella* argumentando que ésta presentaba una estrecha semejanza con *R. tineri*. En sus trabajos, Yamaguti (1958, 1971), Prudhoe & Bray (1982) y Schell (1985) lo consideraron como un género válido, constituido únicamente por la especie tipo. Sin embargo, Brooks (1977) consideró al género *Rauschiella* un subgénero de

Glythelmins por lo que *R. tineri* se convirtió en *Glythelmins (Rauschiella) tineri*. En una revisión del género *Rauschiella*, Sullivan (1977a), hizo la transferencia de las siguientes especies al género: *G. palmipedis*, *G. sera*, *G. proximus*. Por lo tanto, consideró al género constituido por *R. tineri*, *R. repandum*, *R. sera*, *R. palmipedis* y *R. proximus*.

Con base en nuestros resultados, estas cinco y otras siete especies (que nunca habían sido consideradas como miembros de *Rauschiella*) conforman un linaje independiente de los géneros *Glythelmins* y *Choledocystus*. Este linaje está sustentado por una sinapomorfia inequívoca, glándulas vitelógenas formando grupos a lo largo de su extensión (carácter 34[1]). Por lo tanto, proponemos que sea reestablecido el género *Rauschiella* ya que se demuestra su monofilia y sugerimos se considere que está conformado por las siguientes especies: *R. tineri*, *R. linguatula*, *R. repandum*, *R. lenti*, *R. proximus*, *R. poncedeleoni*, *R. sera*, *R. pseudium*, *R. chaquensis*, *R. sanmartini*, *R. rugocaudata* y *R. staffordi*. Por otro lado, no debe considerarse a *R. tineri* como especie tipo del género sino a *R. linguatula* debido a que esta fue descrita en 1819 por Rudolphi como *D. linguatula* y por lo tanto, ésta tiene prioridad sobre la primera. Asimismo, es importante mencionar que a partir de las observaciones realizadas a los ejemplares de *G. linguatula* [(CNHE 809), (CHIOC 21.823 a-e), (Colección Helmintológica del Departamento de Zoología de Invertebrados de la Facultad de Humanidades y Ciencias, Montevideo, Uruguay AP11156, AP11157, AP11159 y 11161)], *G. palmipedis* [(CNHE 1057), (HWML 21697), (CHIOC 21794 Y 21.802 a-f), (USNPC 72279)] y *G. robustus* (USNPC 73483), se llegó a la conclusión de que las dos últimas especies son sinónimos de *R. linguatula*, ya que no existen diferencias morfológicas entre éstas y la especie tipo.

Rauschiella poncedeleoni fue descrita por Razo-Mendivil & León-Règagnon (2001) [Resultados, capítulo 5.1] como *G. poncedeleoni*, debido a que en ese momento no se había demostrado la monofilia y validez taxonómica de *Rauschiella*, aunque estos autores comentan la afinidad de esa especie con otras descritas como miembros de *Rauschiella*. Asimismo, las especies *R. linguatula*, *R. lenti*, *R. pseudium*, *R. chaquensis*, *R. sanmartini*, *R. rugocaudata* y *R. staffordi* nunca habían sido relacionadas con *Rauschiella*, sino más bien como miembros de *Margeana*, de *Glythelmins* e incluso hasta de *Plagiorchis*. A la luz de los nuevos resultados se demuestra que éstas son miembros de *Rauschiella*.

***Rauschiella* Babero, 1951**

Sinónimos: *Margeana (in partí)*

Glythelmins (in partí)

***Repandum* Bryrd & Maples, 1963**

Diagnosis: Organismos con cuerpo ovalado o alargado. Espinas tegumentarias extendidas hasta la región postecuatorial del cuerpo. Ventosa oral subterminal. Acetábulo preecuatorial de menor tamaño que la ventosa oral. Faringe muscular, generalmente de menor anchura que el acetábulo; rodeada por glándulas mediales amorfas. Ciegos intestinales extendidos hasta la región posterior del cuerpo. Testículos oblicuos, ovalados o más anchos que largos. Bolsa del cirro lunada o curva. Vesícula seminal principalmente enrollada o en algunas ocasiones bipartita. Ovario dextral, ubicado al nivel del acetábulo. Receptáculo seminal ovalado. Útero generalmente intercecal y cecal, aunque en algunas especies se extiende hasta la región extracecal. Extensión posterior de las asas uterinas hasta el final de los ciegos intestinales o en algunas ocasiones hasta el borde posterior del cuerpo. Asas uterinas pretesticulares presentes. Metratermo ventral o independiente a la bolsa del cirro. Poro genital submedial, preacetabular. Glándulas vitelógenas arrosadas, extracecales; folículos vitelógenos formando grupos compactos a lo largo de la extensión de las glándulas vitelógenas. Extensión anterior y posterior de los folículos vitelógenos a distintos niveles. Vesícula excretora en forma de "Y". Parásitos del intestino de anuros de México, Centro y Sudamérica y Asia. Especie tipo *R. linguatula* (Rudolphi, 1819) n. comb.

ESPECIES

Rauschiella linguatula (Rudolphi, 1819) n. comb. (Sinónimos: *Distomum linguatula* Rudolphi, 1819; *Glythelmins linguatula* Travassos, 1924; *Metorchis leptodactylus* Savazzini, 1928; *Haplometra palmipedis* Lutz, 1928; *Glythelmins palmipedis*, Tavassos, 1930; *Margeana linguatula* Cheng, 1959; *Choledocystus linguatula* Byrd & Maples, 1963).

Rauschiella repandum (Rudolphi, 1819) Babero, 1951 (Sinónimos: *Distoma repandum* Rudolphi, 1819; *Microderma repandum* Byrd, 1950; *Margeana repandum*, Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974; *Margeana repandum*, Cheng, 1959; *Margeana repandum*, Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974; *Glythelmins proximus* Babero, 1951; *Repandum repandum* Byrd & Maples, 1963).

Rauschiella rugocaudata (Yoshida, 1916) n. comb. (Sinónimos: *Enodiotrema rugocaudatum* Yoshida, 1916; *Glythelmins rugocaudata*, Yahata, 1934; *Margeana rugocaudata*, Cheng, 1959).

Rauschiella staffordi (Tubangui, 1928) n. comb. (Sinónimos: *Glyptelmins staffordi* Tubangui, 1928; *Margeana staffordi* Cheng, 1959).

Rauschiella lenti (Teixeira de Freitas, 1941) n. comb. (Sinónimos: *Plagiorchis lenti* Teixeira de Freitas, 1941; *Metaplagiorchis lenti* Timofeeva, 1962; *Glythelmins lenti* Prudhoe & Bray, 1982).

Rauschiella proximus (Teixeira de Freitas, 1941) Sullivan, 1977 (Sinónimos: *Glythelmins proximus* Teixeira de Freitas, 1941; *Margeana proximus*, Cheng, 1959).

Rauschiella sera (Cordero, 1944) Sullivan, 1977 (Sinónimos: *Glythelmins sera* Cordero, 1944; *Margeana sera* Cheng, 1959; *Repandum sera* Byrd & Maples, 1963).

Rauschiella tineri Babero, 1951 (Sinónimos: *Glythelmins tineri* Brooks, 1977)

Rauschiella chaquensis (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) n. comb. (Sinónimos: *Margeana chaquensis* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974; *Glythelmins chaquensis* Prudhoe & Bray, 1982).

Rauschiella pseudium (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) n. comb. (Sinónimos: *Margeana pseudium* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967; *Glythelmins pseudium* Travassos, Teixeira de Freitas & Kohn, 1969).

Rauschiella sanmartini (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974) n. comb. (Sinónimos: *Margeana sanmartini* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974; *Glythelmins sanmartini* Prudhoe & Bray, 1982).

Rauschiella poncedeleoni (Razo-Mendivil & León-Règagnon, 2001) n. comb. (Sinónimo: *Glythelmins poncedeleoni* Razo-Mendivil & León-Règagnon, 2001).

5.4.2.6. GLYPTHELMINS AFRICANA COMO MIEMBRO DE PLAGIORCHIS

La especie *G. africana* fue descrita por Dollfus (1950) para incluir en ella a los ejemplares colectados en el duodeno de *R. mascareniensis* del Congo Belga. Yamaguti (1958) consideró válida a la especie y la incluyó en la lista de las especies de *Glythelmins* reconocidas hasta ese momento. Por su parte, en una revisión del género *Glythelmins*, (Cheng, 1959) no estuvo de acuerdo en considerar a esta especie como miembro de *Glythelmins*. Por ello, estableció al género *Reynoldstrema* para transferir a *G. africana*, argumentando que los ejemplares presentaban los testículos y el útero ubicados en la región post-ecuatorial del cuerpo, con lo cual *G. africana* se convirtió en *R. africana*. Deblock & Capron (1962), no estuvieron de acuerdo en el establecimiento de *Reynoldstrema*, ya que tal propuesta carecía de suficientes argumentos. De la misma manera, Beverly-Burton (1963) no compartió la idea de Cheng (1959) e hizo una redesccripción de *G. africana*. Otro género con el cual ha sido asociada la especie *G. africana* es *Haplometra*; Manter & Pritchard (1964) puntualizaron la estrecha semejanza entre esta especie y aquella incluida en el último género mencionado, considerando la posición en tándem de los testículos, su ubicación post-ecuatorial y la extensión de las glándulas vitelógenas. Sin embargo, los autores no transfirieron a *G. africana* a *Haplometra*. Retomando la sugerencia de Manter & Pritchard (1964), Nasir & Diaz (1970) consideraron a *G. africana* como la segunda especie de *Haplometra*. Por otro lado, Byrd & Maples (1963a) y Fischthal & Thomas (1968) reconocieron la validez de *Reynoldstrema*. Los últimos dos autores además de reestablecer a *R. africana*, adicionaron a

R. laurenti (Vercamen-Grandjean, 1960) Fischthal & Thomas, 1968 y *R. berghei* (Vercamen-Grandjean, 1960) Fischthal & Thomas, 1968 al género. Sin tomar como válidas las propuestas de Dollfus (1950) y Cheng (1959), Vercamen-Grandjean (1960) transfirió a la especie *G. africana* al género *Plagiorchis* por lo que ésta pasó a ser *P. africana*. En su *Systema Helminthum* Yamaguti (1971), estuvo de acuerdo en la propuesta de Vercamen-Grandjean e incluyó a la especie en el género *Plagiorchis*.

En el primer análisis filogenético del género *Glyphelmins*, Brooks (1977) reveló que *G. africana* era la especie hermana de *G. diana*. Sin embargo, Brooks & McLennan (1993) en el estudio sistemático y biogeográfico del género ya no incluyeron a la especie en su hipótesis filogenética y no argumentaron los motivos de tal decisión. Nuestros resultados del análisis filogenético demuestran que *G. africana* no presenta ninguna asociación con el resto de las especies contempladas como miembros del grupo interno. En cambio, *G. africana* presenta una estrecha relación con *Plagiorchis vespertilionis*, especie utilizada como grupo externo. Asimismo, nuestro análisis concuerdan con las propuestas de Vercamen-Grandjean (1960) y Yamaguti (1971) de que *G. africana* pertenece al género *Plagiorchis*. Por lo tanto, debe ser referida como *Plagiorchis africana* (Dollfus, 1950) Vercamen-Grandjean, 1960.

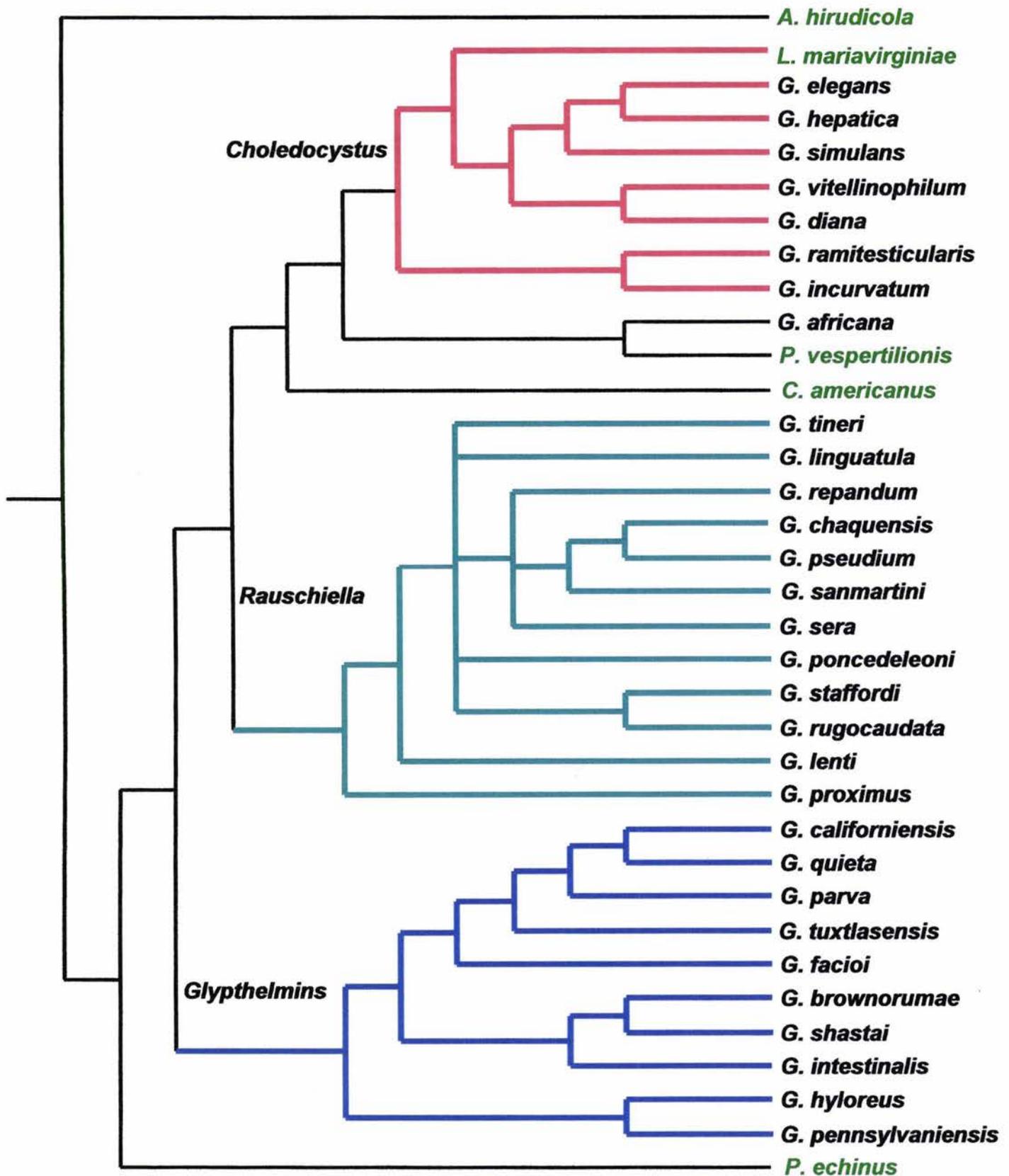


Figura 50. Cladograma obtenido a partir del análisis de 45 caracteres morfológicos y 35 taxones. Los clados en colores diferentes corresponden a los géneros *Glypthelmins* (azul), *Rauschiella* (verde) y *Choledocystus* (rojo). Los taxones en color verde corresponden a los grupos externos empleados.

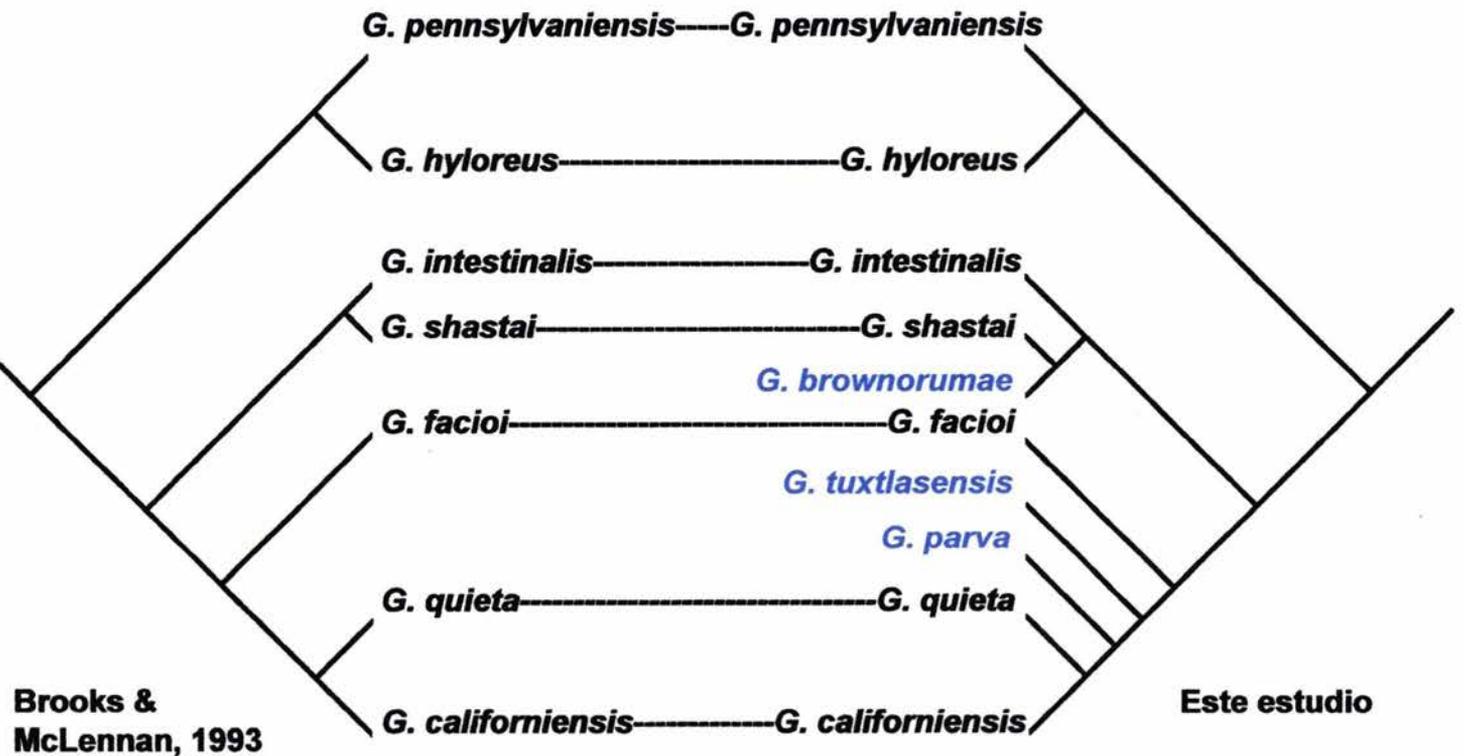
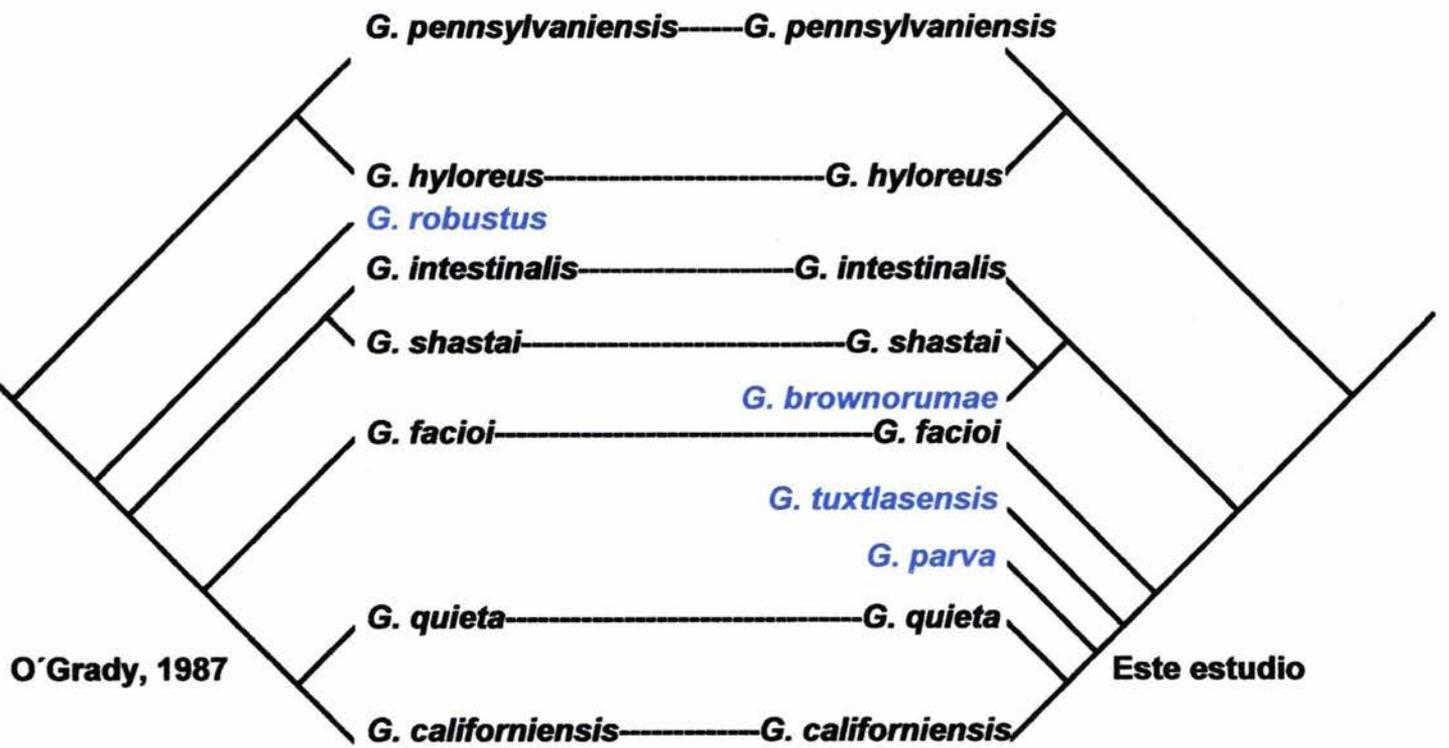


Figura 51. Comparación del clado norteamericano sensu O'Grady (1987) [A] y Brooks & McLennan (1993) [B] con el grupo monofilético definido en este estudio perteneciente al género *Glythelmins*.

5.5. ANÁLISIS FILOGENÉTICO MOLECULAR

5.5.1.0. PRODUCTOS AMPLIFICADOS Y SECUENCIADOS DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE *GLYPHHELMINS*.

A partir del gDNA de 11 especies de *Glyphelmings*, incluyendo las especies nuevas, provenientes de 11 localidades de México, Estados Unidos y Costa Rica, se obtuvieron 15 secuencias parciales de los genes ribosomales 28S, con una longitud de alrededor de 1271-1275 pares de bases (pb), excepto 348 pb en dirección 5'-3' de los ejemplares identificados como *G. brownorumae* y 133 pb en dirección 5'-3' de *G. intestinalis*. Por lo tanto, los productos amplificados y secuenciados de ambas especies consistieron solamente de 920 pb y 1139 pb, respectivamente. En el resto de las especies, los productos secuenciados constaron de 1271 pb en el caso de *G. poncedeleoni*, 1272 pb en *G. tineri* y 1274 en el resto de las especies, excepto *G. facioi* donde la longitud de la secuencia fue de 1275 pb.

5.5.1.1. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS DE *GLYPHHELMINS* Y OTROS DIGÉNEOS

Los fragmentos de DNA secuenciados en el presente trabajo al igual que las secuencias obtenidas de GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) para otros 58 digéneos, incluyeron los dominios variables D1-D3 identificados por Littlewood & Johnston (1995), así como regiones moderadamente variables y altamente conservadas. Las 73 secuencias utilizadas fueron variables en longitud, 1190-1275 pb.

El alineamiento total constó de 1293 sitios (Apéndice 3). Las secuencias no pudieron ser alineadas en pequeñas zonas hipervariables o en éstas, el alineamiento fue ambiguo. Por lo tanto, estas regiones, al igual que los sitios presentes solo en alguna(s) de las 73 secuencias restantes y los sitios con bases indeterminadas, no fueron contemplados en el análisis filogenético. El número total de sitios excluidos del análisis fue de 47, por lo que únicamente 1246 fueron considerados en este estudio. Los sitios excluidos fueron los correspondientes a las posiciones 1-8, 128, 138, 362, 393, 431, 530, 548, 636, 666, 711, 732, 752, 761-762, 793, 809, 822, 836, 892, 995, 1086, 1126-1143, del alineamiento total. De los 1246 caracteres, 590 fueron constantes, 137 no informativos y 519 fueron parsimoniosamente informativos.

5.5.1.2 ANÁLISIS FILOGENÉTICO

El análisis cladístico del alineamiento de 2046 pares de bases de los genes ribosomales 28S de las distintas especies de digéneos por medio de una búsqueda heurística, con la opción de random stepwise addition con 1000 réplicas al azar, produjo cuatro árboles igualmente parsimoniosos (Figs. 52-55), con una longitud de 2724 pasos, un índice de consistencia (IC) de

0.38 y un índice de retención (IR) de 0.71. Las diferencias en los cuatro árboles radicarón en las relaciones entre las especies de los géneros *Rubenstrema* (Dollfus, 1949) Yamaguti, 1971 y *Neoglyphe* (Shaldybin, 1954) Yamaguti, 1958 y en la posición de la especie *Glypthelmins hepatica* con respecto a los miembros de las familias Telorchidae y Ochetosomatidae. Por lo tanto, en el árbol de consenso estricto (Fig. 56) se presentan dos politomias, una constituida por *Telorchis assula*, *Opisthioglyphe ranae*, *Ochetosoma kansense*, *Dasymetra nicolli* y *G. hepatica* y la segunda, conformada por *Neoglyphe locellus*, *Rubentrema exasperatum*, *Neoglyphe sobolevi* y *Rubenstrema opisthovitellinum*.

En los árboles obtenidos se observa que las especies de *Glypthelmins* (en azul) no conforman un grupo monofilético, ya que en dos de los cuatro árboles la especie *G. hepatica* se ubica como grupo hermano del clado constituido por *O. kansense* + *D. nicolli* y en el resto de los árboles, *G. hepatica* se presenta como grupo hermano del clado integrado por *O. ranae* + *T. assula*. Adicionalmente, en los cuatro árboles las especies *G. poncedeleoni* y *G. tineri* forman un clado independiente de las demás especies de *Glypthelmins*, sustentado con un alto valor de bootstrap (100%). Este clado (*G. poncedeleoni* + *G. tineri*) se ubica como grupo hermano de un gran número de plagiorquidos incluidos en siete u ocho familias diferentes (Figs. 56 y 57), con un soporte de 98%.

Las especies *G. quieta*, *G. hylorus*, *G. pennsylvaniensis*, *G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis* y *G. californiensis*, constituyen un clado independiente de los demás géneros del suborden Plagiorchiata. Éste se ve fuertemente apoyado por un valor de bootstrap de 100% (Fig. 57). El clado está conformado por dos grupos principales y por dos especies basales, representadas por dos poblaciones de *G. californiensis* y por una de *G. intestinalis*. Los valores de bootstrap que apoyan las relaciones de grupos hermanos entre las ocho especies de *Glypthelmins* alcanzaron porcentajes del 70% al 100%. Uno de los grupos principales formado por las especies *G. facioi* + *G. brownorumae* y la especie hermana de ambas, *G. tuxtlasensis*, se presenta como el grupo hermano del clado constituido por *G. hylorus*, las dos poblaciones de *G. pennsylvaniensis* y las cinco poblaciones de *G. quieta*. La especie *G. hylorus* se presenta como la especie hermana de las dos poblaciones de *G. pennsylvaniensis*. Finalmente, las dos especies anteriores constituyen el grupo hermano del subgrupo constituido por cinco poblaciones de *G. quieta*. En este subgrupo, la población de Louisiana (*G. quieta* 5, Tkach et al., 2001a) queda como grupo hermano del resto de las poblaciones de *G. quieta*.

En los cuatro árboles y en el árbol de consenso estricto, el clado constituido por las ocho especies de *Glypthelmins* aparece como grupo hermano de los géneros *Macroderoides*, *Paralepoderma*, *Macrodera*, *Leptophallus* y *Metaleptophallus*. En cambio, en el árbol de

consenso por regla de mayoría con 50% (Fig. 58) derivado del análisis de bootstrap, el clado aparece como grupo hermano del género *Haematoloechus* con un bajo soporte (43%).

En cuanto a las relaciones genealógicas entre el clado principal de *Glypthelmins* y las familias en las cuales ha sido incluido en distintas ocasiones (Plagiorchiidae y Macroderoididae), se observa que *Glypthelmins* queda separado de los géneros que constituyen a la familia Plagiorchiidae, los cuales guardan una estrecha relación con los miembros de la familia Brachycoelidae (*Brachycoelium* y *Mesocoelium*) (Fig. 56). Con respecto a la familia Macroderoididae, el clado principal de *Glypthelmins* está más relacionado con *Macroderoides*, género por el cual se erigió dicha familia. Sin embargo, este último se ubica como el grupo hermano de los integrantes de la familia Leptophallidae y no forma un grupo monofilético con *Glypthelmins* (Figs. 56).

5.5.1.3. MATRICES DE DISTANCIA

Al analizar las matrices de distancias pareadas de las secuencias de los genes ribosomales 28S entre poblaciones de algunas especies de *Glypthelmins* generadas en este estudio, se observó que la variación intra-específica fue nula o muy baja. Las secuencias de los ejemplares de *G. quieta* de cuatro localidades distintas (2 de México y 2 de Estados Unidos) no mostraron variación alguna; por su parte, en los organismos de la especie *G. californiensis* del Estado de México y Michoacán hubo un nucleótido diferente entre sí. Cabe puntualizar que al comparar las cuatro secuencias de *G. quieta* con la secuencia de la misma especie generada por Tkach *et al.*, (2002), se encontró que diferían en ocho sitios. Asimismo, se detectaron 2 diferencias entre las secuencias de *G. pennsylvaniensis* 1 y *G. pennsylvaniensis* 2, ésta última obtenida por el autor antes mencionado.

La variación génica interespecífica entre los miembros de *Glypthelmins* varió de 0.08% (1 nucleótido, *G. poncedeleoni* vs. *G. tineri*, especies hermanas) a 12.4% (108 nucleótidos, *G. tineri* vs. *G. brownorumae*). La especie *G. hepatica* mostró menor divergencia en su secuencia con respecto a las especies de los géneros *Opisthioglyphe*, *Ochetosoma*, *Telorchis* y *Dasymetra* (3.6%, 4.5%, 4.7% y 5.2%, respectivamente) que con las demás especies de *Glypthelmins*, en donde el porcentaje de variación fluctuó entre 7.2% (89 nucleótidos, *G. hepatica* vs. *G. poncedeleoni*) y 12.1% (106 nucleótidos, *G. hepatica* vs. *G. brownorumae*). De la misma manera, *G. poncedeleoni* y *G. tineri* presentaron una mayor divergencia génica con respecto a las demás especies de *Glypthelmins* (12.4%, 108 nucleótidos), que con la especie *Neoglyphe locellus* de la cual, difirieron en un 6.0% (74 nucleótidos). Entre *G. hepatica* y las especies *G. poncedeleoni* y *G. tineri* la divergencia génica alcanzó un 7.2% (89 nucleótidos) y

un 7.3% (90 nucleótidos), respectivamente. La variación existente entre las especies de *Glythelmins*, sin tomar en cuenta a *G. poncedeleoni*, *G. tineri* y *G. hepatica*, varió entre 0.81% (10 nucleótidos, *G. quieta* 1, 2, 3, 4 vs. *G. pennsylvaniensis* 1) y 4.4% (55 nucleótidos, *G. facioi* vs. *G. californiensis*).

Por otro lado, al comparar la divergencia de las secuencias del linaje constituido por ocho de las 11 especies de *Glythelmins* con las secuencias de los miembros de las familias Macroderoididae y Plagiorchiidae, se observó que la variación génica alcanzó valores entre 9.3% y 12.1% así como entre 9.6% y 14.5%, respectivamente. Porcentajes similares fueron detectados en promedio entre las especies de este linaje y los miembros de las familias Haematoloechidae (9.6 % - 14.9%), Ochetosomatidae (9.2% - 11.6%), Telorchidae (9.3% - 12.7%), etc.

1

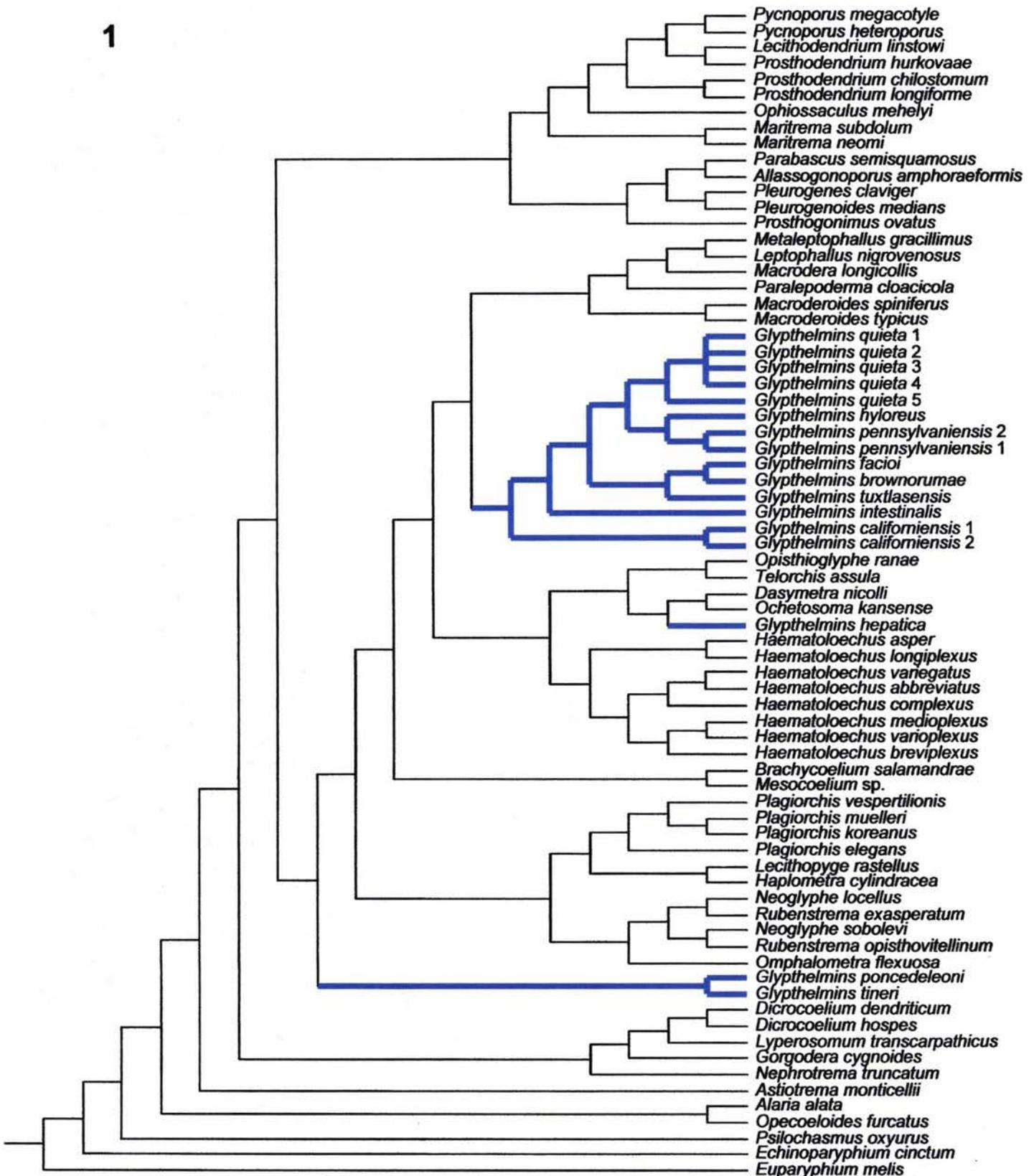


Figura 52. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos del gen ribosomal 28S de 11 especies de *Glythelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata, obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar. Longitud del árbol = 2724 pasos, índice de consistencia (I. C.) = 0.38 e índice de retención (I. R.) = 0.715.

2

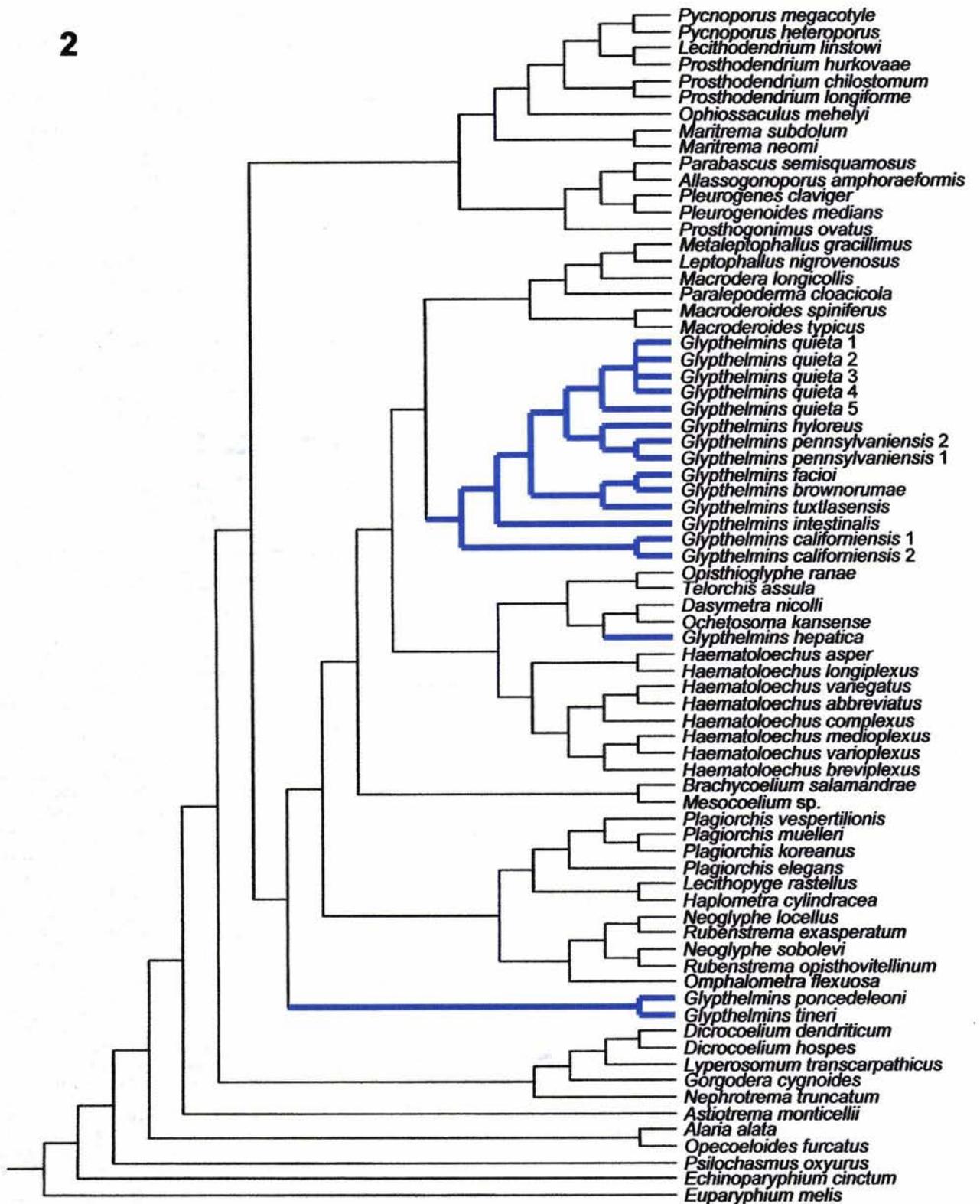


Figura 53. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos del gen ribosomal 28S de 11 especies de *Glythelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata, obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar. Longitud del árbol = 2724 pasos, índice de consistencia (I. C.) = 0.38 e índice de retención (I. R.) = 0.715.

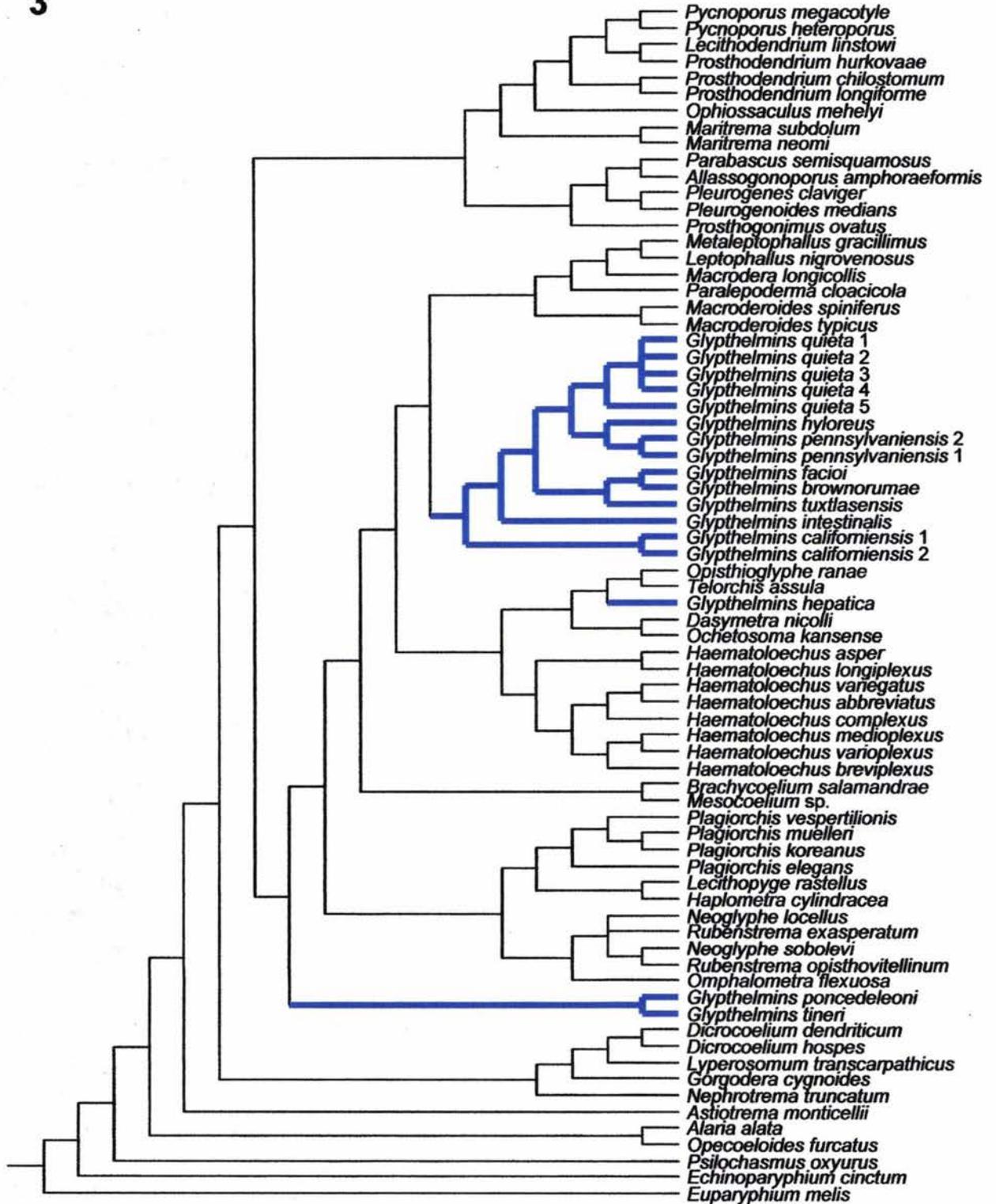


Figura 54. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos del gen ribosomal 28S de 11 especies de *Glythelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata, obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar. Longitud del árbol = 2724 pasos, índice de consistencia (I. C.) = 0.38 e índice de retención (I. R.) = 0.715.

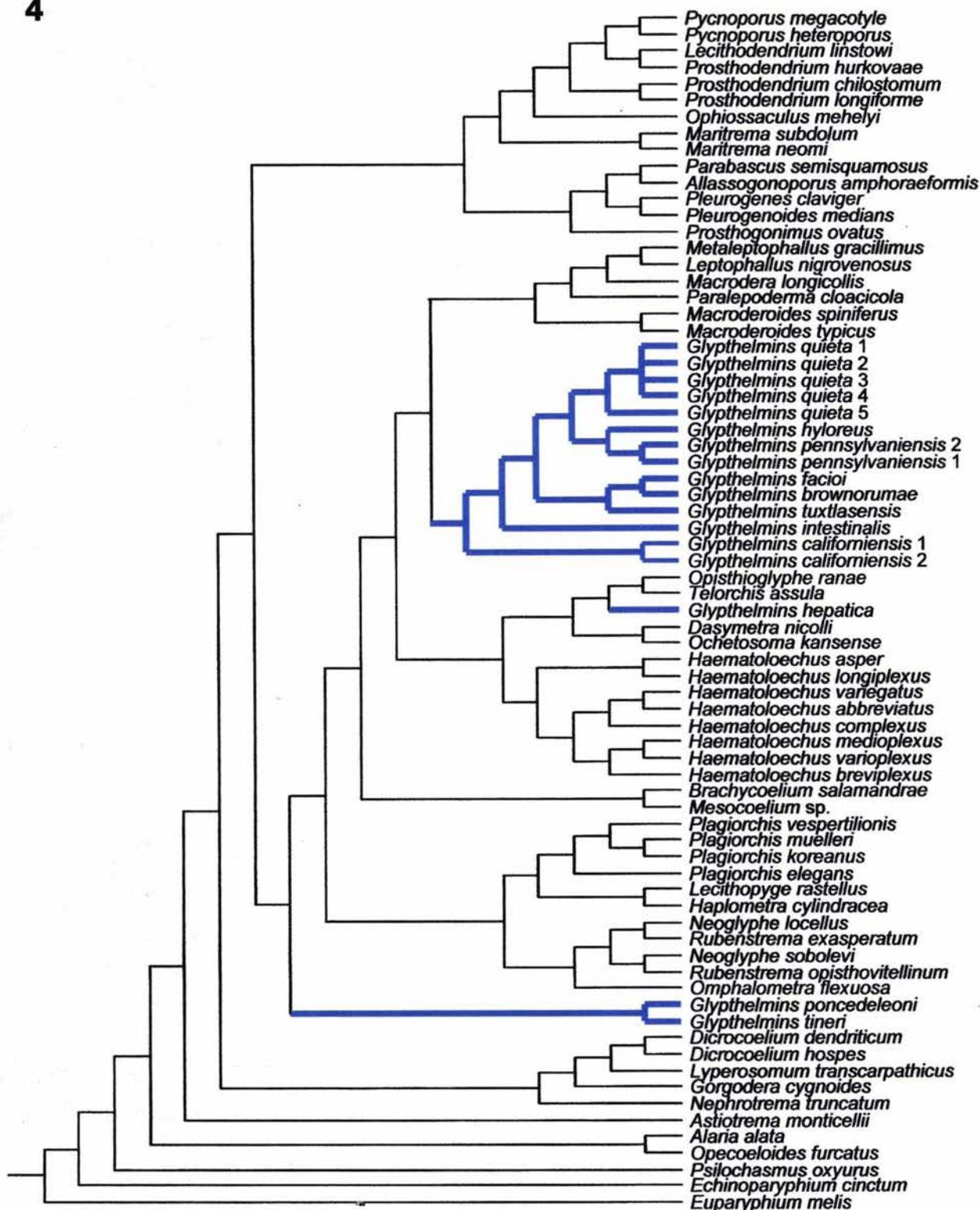


Figura 55. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos del gen ribosomal 28S de 11 especies de *Glythelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata, obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar. Longitud del árbol = 2724 pasos, índice de consistencia (I. C.) = 0.38 e índice de retención (I. R.) = 0.715.

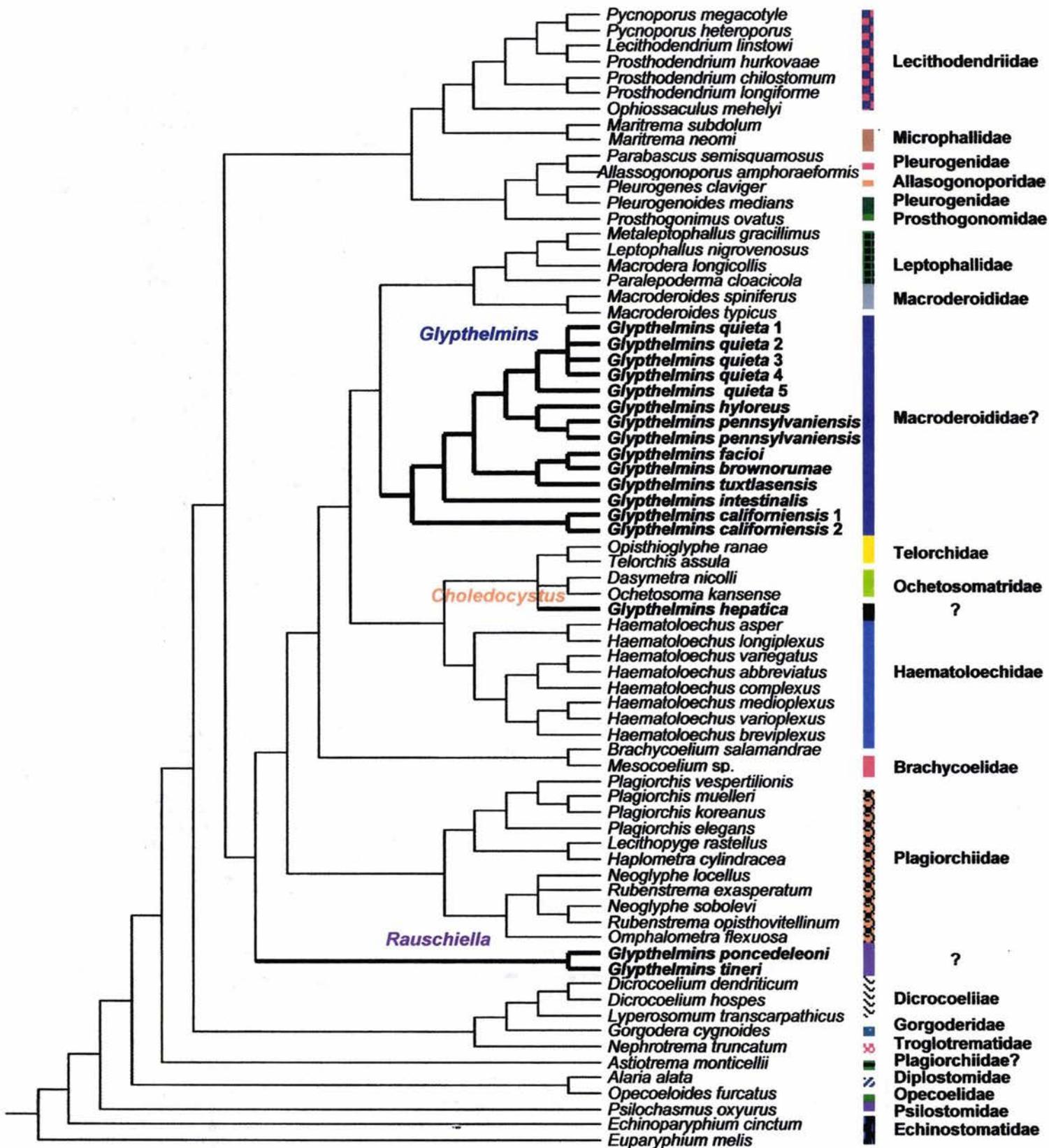


Figura 56. Árbol de consenso estricto de cuatro árboles igualmente parsimoniosos obtenidos en las búsquedas heurísticas con la opción de stepwise addition y 1000 réplicas al azar. Se indica la familia a la cual pertenecen los taxones terminales de acuerdo Tkach *et al.*, 2000b y 2001b

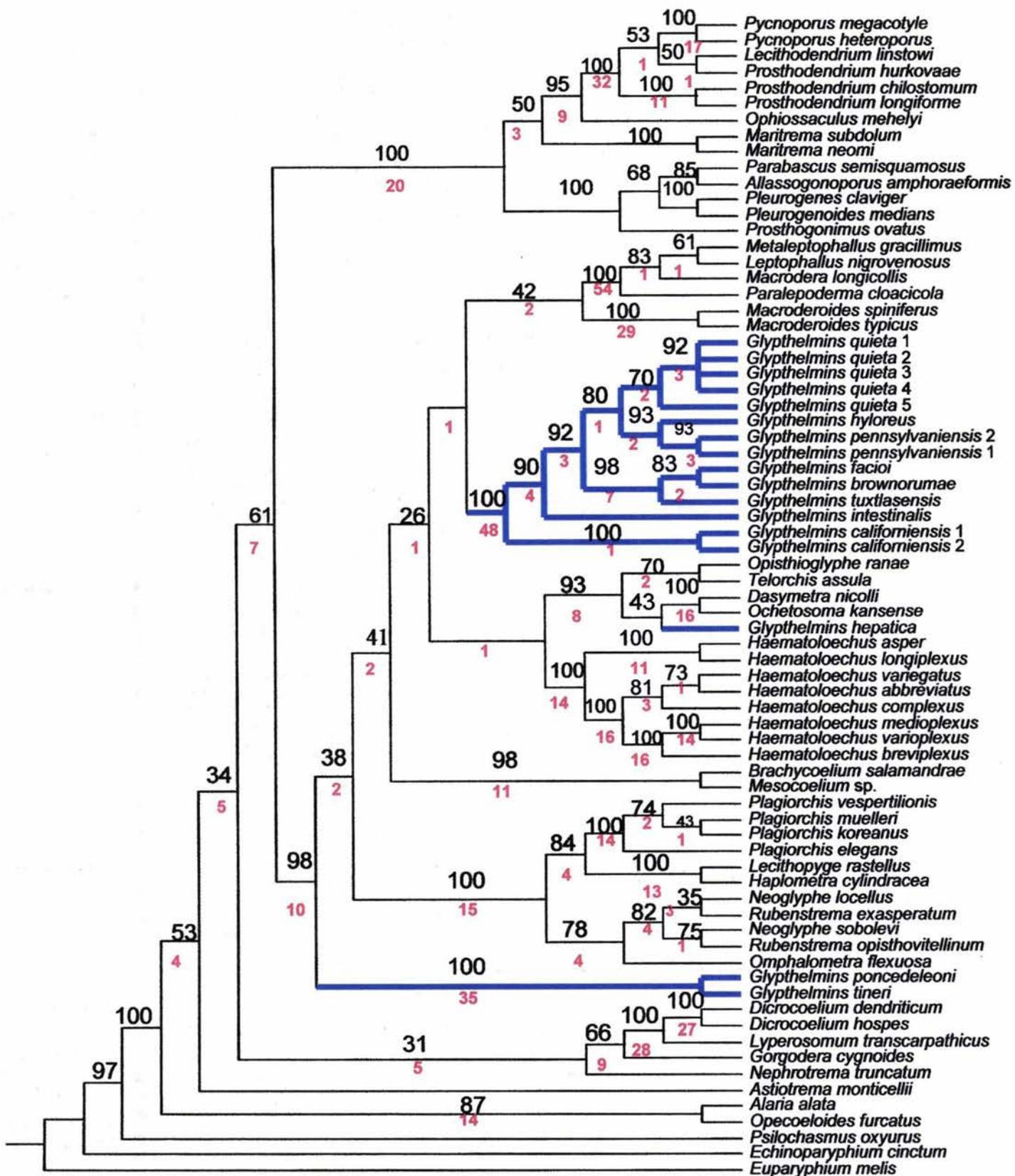


Figura 57. Uno de los cuatro árboles igualmente parsimoniosos. Valores de bootstrap (en negro) obtenidos de 1000 réplicas. Valores en rojo, índice de Bremer, obtenido para cada clado mediante el programa AutoDecay versión 4.0. Las ramas que no presentan valores se debe a que en el árbol de consenso por regla de mayoría 50%, éstas no se presentan de la misma manera que en los árboles de parsimonia.

5.5.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS FILOGENÉTICO BASADO EN CARACTERES MOLECULARES

5.5.2.0. EL GÉNERO *GLYPTHELMINS* NO ES MONOFILÉTICO

Las relaciones filogenéticas entre los diversos géneros de digéneos elucidadas en este estudio son muy parecidas o en algunos casos iguales a las hipótesis filogenéticas obtenidas entre algunas familias del suborden Plagiorchiata (Tkach *et al.*, 2000b, 2001c) o entre géneros y especies particulares de este suborden (Snyder & Tkach, 2001; Tkach *et al.*, 2001b, 2002), derivadas del análisis de secuencias de los genes ribosomales 28S y de los espaciadores internos de transcripción (ITS1 e ITS2).

Con el fin de establecer las relaciones genealógicas entre 11 especies consideradas como miembros de *Glypthelmins* (*G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis*, *G. hylorius*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hepatica*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni*) y otros géneros del suborden Plagiorchiata se utilizaron secuencias del gen ribosomal 28S. Nuestro análisis demostró que las 11 de *Glypthelmins* consideradas no conforman un grupo monofilético. Las especies *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis*, *G. hylorius* y *G. pennsylvaniensis*, integran un linaje independiente de las especies *G. hepatica*, *G. poncedeleoni* y *G. tineri*, apoyado con valores de 100% de bootstrap. En dos de los cuatro cladogramas obtenidos, la especie *G. hepatica* está cercanamente relacionada con los miembros de la familia Telorchidae y en los dos árboles restantes se asocia de manera estrecha con los representantes de Ochetosomatidae. Por su parte, las especies hermanas *G. tineri* y *G. poncedeleoni* se ubican como el grupo hermano de un grupo que incluye por lo menos 20 géneros pertenecientes a las familias: Plagiorchiidae, Brachycoeliidae, Haematoloechidae, Ochetosomatidae, Telorchidae, Macroderoididae y Leptophallidae, las cuales, en este análisis, conforman a la superfamilia Plagiorchioidea.

A pesar de que no se contó con la totalidad de las especies que se han incluido en *Glypthelmins*, las ocho especies que se agrupan en un clado independiente han sido incluidas en dicho género en varios estudios taxonómicos y sistemáticos y su posición ha sido estable (Stafford, 1905; Miller, 1930; Ingles, 1936; Brenes *et al.*, 1859; Cheng, 1961; Martin, 1969; O'Grady, 1987³, etc.). En cambio, las especies *G. hepatica* y *G. tineri* han sido consideradas miembros de los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella*, respectivamente (Yamaguti, 1958,

³ O'Grady, R. T. (1987) Phylogenetic systematics and the evolutionary history of some intestinal flatworms parasites (Trematoda: Digenea: Plagiorchioidea) of anurans. Ph. D. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B. C., Canada. 210 pp.

1971; Sullivan, 1977a, 1977b; Prudhoe & Bray, 1982; Schell, 1985). Todo lo anterior, pone de manifiesto que el género no es monofilético, lo cual concuerda y robustece los resultados del capítulo precedente, referente a la hipótesis de relaciones genealógicas generada del estudio de 45 caracteres morfológicos. De la misma manera que en el análisis filogenético morfológico, las especies *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis*, *G. hylorius* y *G. pennsylvaniensis* quedan agrupadas en el clado que hemos considerado como el género *Glypthelmins* (*sensu stricto*), debido a que la especie tipo (*G. quieta*) está incluida en el mismo. Además, como resultado de la hipótesis filogenética derivada del estudio morfológico, se propuso que *G. hepatica* forma parte del linaje correspondiente al género *Choledocystus* y en el análisis molecular ésta no presenta ninguna asociación directa con *Glypthelmins* (*sensu stricto*), ya que se ubica como grupo hermano de los miembros de Telorchidae y/o de Ochetosomatidae. Por su parte, las especies *G. tineri* y *G. poncedeleoni* forman parte del clado que corresponde al género *Rauschiella* y en este análisis, ambas constituyen un grupo distinto de *Glypthelmins* y *Choledocystus*. Por lo tanto, las especies *G. hepatica*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni* deben ser referidas como *Choledocystus hepatica*, *Rauschiella tineri* y *Rauschiella poncedeleoni*, respectivamente.

5.5.2.1. EL GÉNERO GLYPTHELMINS (SENSU STRICTO)

Al comparar y combinar la información derivada de los resultados del análisis filogenético de morfología y del análisis de los caracteres moleculares, se llegó a la conclusión que el género *Glypthelmins* es un grupo monofilético si y solo si se considera que éste está constituido por las especies: *G. californiensis*, *G. quieta*, *G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis*, *G. intestinalis*, *G. hylorius*, *G. pennsylvaniensis*, *G. parva* y *G. shastai*. En ambos análisis de parsimonia (morfológico y molecular) estas especies conforman un clado, el cual, en el caso de los datos moleculares, está soportado por valores de 100% del análisis de bootstrap y 48 de índice de Bremer. En el análisis morfológico, los miembros del clado comparten la sinapomorfia inequívoca relacionada con la posición dorsal del metratermo con respecto a la bolsa del cirro; el soporte de este clado por el índice de Bremer es de 2.

Las relaciones filogenéticas en el clado correspondiente al género *Glypthelmins*, definidas a partir del análisis molecular, muestran similitudes y diferencias con respecto a las relaciones presentes en el denominado "clado norteamericano" [*sensu* Brooks (1977), Brooks & McLennan (1993)] y del clado delimitado como *Glypthelmins* (*sensu stricto*), cuyas relaciones fueron determinadas a partir del estudio filogenético de 45 caracteres morfológicos en el capítulo anterior. Las similitudes existentes entre las distintas hipótesis corresponden a las

especies que integran al género *Glypthelmins*, ya sea éste definido como “clado norteamericano” o como *Glypthelmins (sensu stricto)*, con excepción de las especies no incluidas en el análisis molecular (*G. parva* y *G. shastai*) así como la inclusión de las dos especies que resultaron ser nuevas en el desarrollo del presente trabajo (*G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*). Asimismo, en todas las hipótesis las especies *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloraus* guardan una estrecha relación, ya que siempre aparecen como especies hermanas. En un estudio de alozimas de cuatro especies de *Glypthelmins* y una de *Haplometrana*, Rannala (1992) también demostró que *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloraus* están estrechamente relacionadas.

Las diferencias entre las hipótesis morfológicas del “clado norteamericano” y del grupo delimitado como *Glypthelmins* (capítulo anterior) radican principalmente en el número de especies y en los integrantes que los constituyen. El “clado norteamericano” definido por Brooks (1977) está integrado por siete especies, entre ellas *G. robustus*, *G. facioi*, *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. shastai*, *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloraus*. Los estudios de O’Grady (1987)³ y Brooks & McLennan (1993) definieron que el “clado norteamericano” lo constituían ocho y siete especies, respectivamente. El clado propuesto por O’Grady (1987)³ es semejante al obtenido por Brooks (1977) con excepción de que el primero también incluye a *G. intestinalis*. En cambio, el “clado norteamericano” de Brooks & McLennan (1993) incluye a todas las especies anteriores excepto a *G. robustus*. Asimismo, el clado definido en el análisis filogenético morfológico en este trabajo está constituido por 10 especies. Siete de estas son las mismas del clado denominado como “norteamericano”. Al contrastar lo anterior con el linaje definido en el análisis molecular se puede observar que este último está conformado por ocho especies, la mayoría de ellas constitutivas del grupo definido por Brooks (1977) y Brooks & McLennan (1993) o del perteneciente al género *Glypthelmins*.

Debido a que las relaciones de grupos hermanos entre las especies del clado norteamericano (*sensu* Brooks 1977 y Brooks & McLennan, 1993) son muy parecidas en general a las definidas a partir del análisis filogenético de 45 caracteres morfológicos, esta última se utilizará para contrastar las relaciones de grupos hermanos definidas a partir de los caracteres moleculares. Las relaciones entre las especies en ambos análisis presentan diferencias sustanciales (Fig. 59). En la hipótesis molecular la especie *G. californiensis* aparece como la especie basal del clado, lo cual no concuerda con la hipótesis morfológica ya que en ésta, el grupo basal está constituido por *G. pennsylvaniensis* + *G. hyloraus*. Morfológicamente, *G. californiensis* está estrechamente relacionada con *G. quieta* y ambas, como hermanas,

³ O’Grady, R. T. (1987)

constituyen las especies más derivadas. En cambio, con los datos moleculares la especie más derivada del linaje corresponde a *G. quieta*, cuyo grupo hermano lo integran *G. pennsylvaniensis* + *G. hyloreus*. Otra diferencia sustancial es la relación de las especies *G. facioi*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. En la hipótesis morfológica, *G. brownorumae* aparece estrechamente relacionada con las especies *G. shastai* y *G. intestinalis*, mientras que *G. facioi* aparece como grupo hermano del clado (*G. tuxtlasensis*, (*G. parva*, (*G. quieta*, *G. californiensis*))). En la filogenia molecular, *G. brownorumae* forma parte del grupo constituido por (*G. tuxtlasensis*, (*G. brownorumae*, *G. facioi*)). Las relaciones genealógicas entre estas tres especies elucidadas del análisis de los genes ribosomales 28S concuerdan con las obtenidas en la diferenciación molecular de las especies *G. tuxtlasensis* y *G. brownorumae* a partir de la combinación de los genes mitocondriales (*cox1*), del espaciador interno de transcripción 2 (ITS2) y de los genes ribosomales (5.8S y 28S) (Ver Cap. Resultados, sección 5.2 este trabajo).

Hasta el momento no existen trabajos en donde se prueben las relaciones filogenéticas entre especies de un género particular de digéneos empleando caracteres morfológicos y moleculares. Los únicos trabajos en que se han hecho comparaciones entre estos tipos de datos son los relacionados con la posición sistemática de algunos géneros de las familia Omphalometridae y de Fellodistomidae (Tkach *et al.*, 2001b; Hall *et al.*, 1999). Por lo tanto, no existen antecedentes que demuestren que las relaciones de grupos hermanos entre las especies de un género específico, derivadas de la morfología y del estudio de secuencias génicas, difieran tanto como en las obtenidas en este estudio.

Como se ha visto, en todas las hipótesis filogenéticas morfológicas del clado norteamericano y del clado perteneciente al género *Glypthelmins* las especies presentan casi las mismas relaciones entre grupos hermanos, independientemente del número y tipo de caracteres empleados. Esto sugiere que por más que se eliminen o se adicionen caracteres morfológicos, la topología del cladograma se mantendrá constante. Una explicación acerca de las diferencias entre las hipótesis morfológicas y moleculares puede ser que algunos de los caracteres morfológicos que están relacionado a algunas especies sean adaptativamente plásticos y estén ocultando las verdaderas relaciones genealógicas entre las especies. En varias especies de digéneos se ha demostrado la plasticidad y adaptabilidad de algunos caracteres morfológicos en respuesta a factores externos. Por ejemplo, O'Grady (1987)³ demostró que la morfología de *G. intestinalis* se veía modificada cuando ejemplares de esta especie eran desarrollados experimentalmente en especies de huéspedes distintos a *R. pretiosa*. Lo anterior no quiere decir que los caracteres morfológicos no funcionen en la

³ O'Grady, R. T. (1987)

obtención de hipótesis filogenéticas entre los distintos grupos de digéneos. Más bien, lo que se desea resaltar es la necesidad de generar más hipótesis del género *Glypthelmins* a partir de otros genes (nucleares y mitocondriales) con el fin de comprobar si las relaciones entre grupos hermanos se siguen manteniendo de la misma manera que las elucidadas con el gen 28S. Finalmente, es necesario contar con información molecular de un mayor número de taxones para realizar un análisis de evidencia total con el fin de combinar la información derivada de distintas fuentes.

5.5.2.2. RATIFICACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE HAPLOMETRANA INTESTINALIS EN EL GÉNERO GLYPTHELMINS

La validez de la especie *H. intestinalis* y por ende del género *Haplometrana* (género monotípico), ha sido defendida por autores como Lucker (1931), Olsen (1937a) Yamaguti (1958, 1971), Schell (1962), Brooks (1977) y Prudhoe & Bray (1982), con base en las características morfológicas tan particulares que presentan los miembros de esta especie. Por otro lado, O'Grady (1987)³, Rannala (1990) y Brooks & McLennan (1993) demostraron con hipótesis filogenéticas derivadas del análisis de caracteres morfológicos y de alozimas que *Haplometrana* no es un género válido y que *H. intestinalis* es un miembro más de *Glypthelmins*. De hecho, O'Grady (1987)³ había transferido a *H. intestinalis* al género *Glypthelmins*. Los resultados originados del análisis de las secuencias de los genes ribosomales de *H. intestinalis* y de las otras especies de *Glypthelmins*, ratifican la inclusión de *H. intestinalis* como miembro de *Glypthelmins* (*sensu stricto*), ya que ésta forma parte del clado principal de *Glypthelmins* y su divergencia génica es menor con respecto a las demás especies del género que con cualquier otra especie del suborden Plagiorchiata. En consecuencia, nuestros datos robustecen la transferencia de *H. intestinalis* a *G. intestinalis*.

En general, la morfología de *G. intestinalis* es sumamente diferente a las demás especies de *Glypthelmins*, ya que la forma alargada del cuerpo, la presencia de un disco suctorial muscular en el acetábulo, la presencia de nueve papilas alrededor del disco suctorial, la disposición en tándem de los testículos y la extensión anterior y posterior de las glándulas vitelógenas, son rasgos únicos (autopomorfías) que no se presentan en ninguna otra especie del género. Sin embargo, a nivel molecular la secuencia del gen ribosomal 28S de esta especie muestra una menor variación génica con respecto a algunas especies del clado principal de *Glypthelmins* que entre las secuencias de las especies con morfología semejante (ej. *G. quieta* vs. *G. californiensis*). Asimismo, en los cuatro árboles filogenéticos, derivados de los datos moleculares, *G. intestinalis* presenta una relación más estrecha con seis de las especies de

³ O'Grady, R. T. (1987)

Glythelmins que con la misma especie *G. californiensis* y sus contrapartes morfológicamente similares (*G. quieta* y *G. facioi*).

Una posible explicación de la diferenciación morfológica que presenta *G. intestinalis*, es que ésta sea resultado de la variación y adaptabilidad de algunos de los rasgos morfológicos en respuesta al ambiente, es decir, "variabilidad inducida por el huésped". Como se mencionó anteriormente, O'Grady (1987)³ demostró experimentalmente que la morfología de *G. intestinalis* se veía modificada cuando ejemplares de esta especie eran desarrollados en especies de huéspedes distintos a *R. pretiosa*, el huésped original.

5.5.2.3. DIVERGENCIA GÉNICA INTER, INTRA Y SUPRAESPECÍFICA ENTRE LOS MIEMBROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA

En reiteradas ocasiones, las secuencias de los genes ribosomales 28S han sido empleadas para reconstruir la historia evolutiva de distintas especies y géneros de digéneos (Littlewood & Johnston, 1995; Barker & Blair, 1996; León-Règagnon *et al.*, 1999; Snyder & Tkach, 2001; Tkach *et al.*, 2000b, 2001b, 2001c, 2002). Pocos son los trabajos que han usado los porcentajes de variabilidad génica para caracterizar poblaciones o diferenciar especies pertenecientes al suborden Plagiorchiata (León-Règagnon *et al.*, 1999, 2001; León-Règagnon & Paredes Calderón 2002).

5.5.2.3.0. VARIACIÓN INTRAESPECÍFICA

A partir de la base de datos constituida por 73 secuencias de los genes ribosomales 28S, derivadas de 68 especies de digéneos, se puede observar que la variación intra-específica entre las poblaciones de las especies *G. quieta*, *G. californiensis* y *G. pennsylvaniensis* es nula o muy baja. Las secuencias de los individuos de *G. quieta*, colectados en distintas especies de huéspedes y en cuatro localidades separadas por cientos o miles de kilómetros no mostraron variación alguna a lo largo de 1274 nucleótidos. Sin embargo, al comparar las secuencias generadas en este estudio con la obtenida por Tkach *et al.* (2002), a partir de ejemplares de *R. clamitans* de Estados Unidos, se detectó que éstas diferían en 8 sitios (0.6%). Tal variación indicaría que algunas de las secuencias podrían presentar errores, ya sea las generadas en este estudio o la de Tkach y colaboradores. Recientemente, Olson *et al.* (2003) obtuvieron la secuencia del gen 28S de ejemplares de *G. quieta* colectados en *R. catesbeiana* de Nebraska. Al comparar esta nueva secuencia con las cinco existentes, nos percatamos que ésta era igual a las secuencias obtenidas en este trabajo, lo cual sugiere que las variaciones presentes en la

³ O'Grady, R. T. (1987)

secuencia de Tkach no se deben a variación intra-específica en *G. quieta* sino más bien a errores metodológicos.

Las poblaciones de las especies *G. californiensis* y *G. pennsylvaniensis* presentaron variación intra-específica notablemente baja, con uno y dos nucleótidos respectivamente. Actualmente no existe información acerca de la variabilidad del gen 28S entre individuos del suborden Plagiorchiata, salvo el trabajo realizado por León-Règagnon *et al.* (1999) para diferenciar las especies mexicanas del género *Haematoloechus*, a partir de la información de los espaciadores internos de transcripción (ITS 1 y 2) y de los genes ribosomales 5.8S y 28S. Los autores encontraron porcentajes de divergencia génica de 1.7% entre las especies *H. macrorchis* vs. *H. longiplexus* y de 2.0% entre un aislado (no identificado a nivel específico) proveniente de Veracruz vs. *H. medioplexus*. Los bajos niveles de diferenciación molecular fueron interpretados como variación intra-específica e hicieron suponer a los autores, que *H. macrorchis* era sinónimo de *H. longiplexus* y que el aislado de Veracruz era una población divergente de *H. medioplexus*. Sin embargo, León-Règagnon & Paredes-Calderón (2002) reconocieron que los niveles bajos de diferenciación molecular eran suficientes para diferenciar especies. En conclusión, en algunas de las especies de los géneros *Glypthelmins* y *Haematoloechus* la variación intra-específica del gen ribosomal 28S existe; sin embargo, ésta no excede del 0.15% (*G. californiensis*, *G. pennsylvaniensis* y *H. complexus*).

5.5.2.3.1. VARIACIÓN INTERESPECÍFICA

Los valores de diferenciación molecular presentes entre las ocho especies de *Glypthelmins* (*sensu stricto*) variaron entre 0.81% y 4.4%. La especie basal en nuestro análisis molecular resultó ser *G. californiensis*, la cual alcanzó los mayores valores de divergencia génica con respecto a las demás especies. Valores de 4.4% (55 nucleótidos) y 4.6% (40 nucleótidos) fueron alcanzados entre *G. californiensis* vs. *G. facioi* y *G. brownorumae*, respectivamente. En este punto es necesario mencionar que a pesar de que *G. californiensis* y *G. brownorumae* variaron en 40 sitios, el porcentaje es mayor al exhibido entre *G. californiensis* y *G. facioi*, las cuales difirieron en 55 nucleótidos. Lo anterior se debe a que el algoritmo utilizado para obtener las matrices de distancias pareadas, solo hizo la comparación de las secuencias en 920 pb, debido a que la secuencia de *G. brownorumae* carecía de los primeros 360 nucleótidos de la secuencia. Entonces, el porcentaje de variación se incrementa al comparar una cantidad menor de nucleótidos, que entre los 1270 de *G. californiensis* y *G. facioi*.

Los valores menores de divergencia génica se presentaron entre las especies cercanamente emparentadas y que constituyen los clados (*G. quieta*, (*G. pennsylvaniensis*, *G.*

hyloreus) y (*G. tuxtlasensis*, (*G. facioi*, *G. brownorumae*)). La especie *G. quieta* varió en un 0.8% con respecto a *G. pennsylvaniensis* y 1.1% con respecto a *G. hyloreus*. Entre las especies hermanas *G. hyloreus* y *G. pennsylvaniensis* se presentó una divergencia del 0.9%. Las tres especies pueden ser fácilmente diferenciadas con base en rasgos morfológicos distintivos, tales como la presencia o ausencia de glándulas perifaríngeas, la relación en el diámetro de la ventosa oral y el acetábulo, la forma de la bolsa del cirro, y la presencia o ausencia de asas uterinas extracecales y pretesticulares.

Las especies hermanas *G. facioi* y *G. brownorumae* variaron en 1.4% con respecto a la especie hermana de éstas dos, *G. tuxtlasensis* 1.1% y 1.7%, respectivamente. La diferenciación molecular de estas tres especies ha sido ratificada a través del análisis de las secuencias parciales de los genes mitocondriales *cox 1* (citocromo oxidasa subunidad 1), las cuales exhibieron altos valores de divergencia génica. Morfológicamente, estas especies se diferencian por el tamaño de la faringe con respecto al acetábulo, longitud del esófago, extensión posterior de los folículos vitelógenos, confluencia o no de los folículos vitelógenos y la región del cuerpo en que éstos se unen. Finalmente, *G. intestinalis* presentó valores de divergencia en su secuencia de 1.8% con las cuatro poblaciones de *G. quieta* y 3.3% - 3.4% con las dos poblaciones de *G. californiensis*.

Valores similares de diferenciación molecular exhibidos entre las especies de *Glypthelmins*, han sido encontrados por León-Règagnon *et al.* (2001) y León-Règagnon & Paredes Calderón (2002) en las secuencias de los genes ribosomal 28S (~880 pb) de algunas especies de *Haematoloechus* descritas recientemente, *H. meridionalis* y *H. danbrooksi*. Los autores mostraron que *H. meridionalis* difiere de *H. illimis* en 1.85% y de *H. medioplexus* en 4.91%. Por su parte, *H. danbrooksi* difiere en 1.1% de *H. parviplerus*, 1.2% de *H. medioplexus* y 2.5% de *H. meridionalis*. No existen otros estudios que muestren los valores de divergencia génica entre especies de un género específico. Sin embargo, derivado del presente trabajo se observan valores comparativos entre las ocho especies de *Haematoloechus* (1.13% - 8.71%), entre las cuatro especies de *Plagiorchis* (0.48% - 1.86%) y entre las tres especies de *Prosthodendrium* (2.86% - 5.14%).

Tomando en cuenta que la variación intra-específica entre algunas poblaciones de *Glypthelmins* es nula o muy baja y que los porcentajes de diferenciación génica entre las ocho especies de este género son similares a los exhibidos entre especies de otros géneros del suborden Plagiorchiata, podemos aseverar que 10 nucleótidos distintos a lo largo de ~1270 pb del gen 28S, comprendiendo los dominios D1-D3, son suficientes para distinguir especies de *Glypthelmins*, las cuales, además, pueden ser diferenciadas con base en su morfología. A pesar

de ello, lo más recomendable es contar con otras fuentes de información que presenten mayor divergencia génica, tales como el ITS 1 ó de los genes mitocondriales (*cox 1*) con el fin de robustecer la diferenciación molecular de las especies. Asimismo, es sumamente importante combinar esta información con la derivada de la morfología para tener la certeza de la identidad específica de los organismos y para examinar la correlación entre la divergencia molecular y la divergencia morfológica de las especies.

5.5.2.3.2. DIVERGENCIA GÉNICA ENTRE GÉNEROS

Otro aspecto importante que resalta en los resultados moleculares es la elevada divergencia molecular que presentan las especies *G. hepatica* (= *Choledocystus hepatica*), *G. tineri* (= *Rauschiella tineri*) y *G. poncedeleoni* (= *Rauschiella poncedeleoni*) con respecto a los demás miembros de *Glythelmins*. Las divergencias de las secuencias de estas especies son menores cuando se les compara con algunos de los géneros pertenecientes a las familias Plagiorchiidae, Telorchidae y Ochetosomatidae. Las especies *R. tineri* y *R. poncedeleoni* difirieron de las ocho especies de *Glythelmins*, en un 10.77% (126-128 nucleótidos) en promedio y solamente en 6.0% de *Neoglyphe* y en 7.6% de *Omphalometra*, ambos miembros de Plagiorchiidae. Comparativamente, *C. hepatica* difirió en 3.6%, 4.5%, 4.7% y 5.2% de los géneros *Opisthioglyphe*, *Ochetosoma*, *Telorchis* y *Dasymetra*, respectivamente y en 10.17% (108 nucleótidos) en promedio de los miembros de *Glythelmins*. Resulta interesante que valores menores de divergencia génica se presentan entre géneros válidos que son diferenciados morfológicamente dentro de las familias Plagiorchiidae, Pleurogenidae, Lecithodendriidae y Leptophallidae. Ejemplo de ello, es que entre los seis géneros de Plagiorchiidae (*Plagiorchis*, *Lecithopyge*, *Neoglyphe*, *Rubenstrema*, *Haplometra* y *Omphalometra*) la variación génica no excede el 5.6%. Entre los cinco géneros de Pleurogenidae (*Pleurogenes*, *Pleurogenoides*, *Allassogonoporus*, *Parabascus* y *Prosthogonimus*) la diferenciación molecular fluctuó entre 2.1% y 8.1%. Entre los cuatro géneros de la familia Lecithodendriidae (*Pycnopus*, *Lecithodendrium*, *Prosthodendrium* y *Ophiossaculus*) la variación molecular alcanzó valores de 3.2% y 11.8%. Finalmente, en Leptophallidae (*Leptophallus*, *Metaleptophallus*, *Paralepoderma* y *Macrodera*) la variación entre los géneros es extremadamente baja, ya que exhiben valores de 0.3% a 0.9%. Con todo lo anterior se puede observar que los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella* pueden ser validados y que las propuestas de Yamaguti (1958 y 1977) de considerar a *Choledocystus* sinónimo de *Glythelmins* y la de Brooks (1977) de juzgar a *Choledocystus* y *Rauschiella* como subgéneros de *Glythelmins* no se sustentan con las nuevas evidencias.

5.5.2.4. ¿A QUÉ FAMILIA PERTENECE EL GÉNERO GLYPTHELMINS?

La posición del género *Glypthelmins* dentro del orden Plagiorchiida ha sido controversial. Al establecer a *Glypthelmins*, Stafford (1905) no asignó al género a una categoría taxonómica superior; fue hasta 1926 que Travassos lo incluyó en la familia Plagiorchiidae. A partir de ese momento, la posición sistemática de *Glypthelmins* a nivel supraespecífico ha sido inestable, ya que diferentes autores han considerado al género como miembro de las familias Plagiorchiidae (Olsen, 1937a; Skrjabin & Antipin, 1958; Yamaguti, 1958; Prudhoe & Bray, 1982), Brachycoeliidae (Caballero, 1938; Dollfus, 1950; Cheng, 1959 y 1961a) ó Macroderoididae (Schell, 1962; Odening, 1964; Yamaguti, 1971). El género *Glypthelmins* fue considerado miembro de Plagiorchiidae con base en los rasgos morfológicos similares que exhibe con respecto a otros miembros de la familia. Cheng (1959), colocó al género en la familia Brachycoeliidae argumentando que *Glypthelmins* presentaba varias similitudes con el género *Brachycoelium*. Entre ellas, un solo huésped intermediario en su ciclo de vida, los grupos de huéspedes parasitados y el parecido morfológico. Por otro lado, Schell (1962) transfirió a *Glypthelmins* a la familia Macroderoididae debido a que las características de la cercaria y del ciclo de vida diferían de los miembros de Plagiorchiidae.

Nuestros resultados demuestran que el género *Glypthelmins* aparece como un linaje independiente de las familias Plagiorchiidae, Brachycoeliidae y Macroderoididae. En los cuatro árboles generados por la búsqueda heurística, los miembros de *Glypthelmins* guardan cierta relación con el otro miembro de Macroderoididae incluido en el análisis (*Macroderoides*) (Figs. 52-55). Sin embargo, éstos no conforman un grupo monofilético, ya que *Macroderoides* aparece como grupo hermano de los géneros de la familia Leptophallidae. En cambio, en el árbol de consenso por regla de mayoría de 50% obtenido del análisis de bootstrap (Fig. 58), *Glypthelmins* presenta una estrecha relación con la familia Haematoloechidae aunque el nodo que une a ambos linajes presenta un bajo valor de bootstrap (43%). En un análisis molecular con el gen 28S de las familias Ochetosomatidae y Macroderoididae, Tkach *et al.* (2001a) notaron que las especies *G. quieta* y *G. pennsylvaniensis* no constituían un grupo monofilético con los otros dos miembros de Macroderoididae (*Macroderoides typicus* y *M. spiniferus*), resultados que concuerdan con los obtenidos en este trabajo. Adicionalmente, en un análisis filogenético de la subclase Digenea basado en los genes 18S y 28S, Olson *et al.* (2003) encontraron a *G. quieta* como un linaje independiente de los miembros de las familias Macroderoididae y Plagiorchiidae. Con todo lo anterior, la evidencia molecular sugiere que *Glypthelmins* forma parte de una familia aun no establecida. Sin embargo, es necesario contar

con mayor información acerca de los ciclos de vida de los miembros de *Glypthelmins* y de su morfología para poder erigir una nueva familia que incluya a este género.

De la misma manera, nuestros resultados demuestran que los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella* no forman parte del clado principal de Plagiorchiidae, familia en la cual ambos géneros fueron incluidos en el momento de su establecimiento (Pereira & Cuocolo, 1941; Babero, 1951b). No se tiene información de las características de los ciclos de vida de los dos géneros y su inclusión en Plagiorchiidae fue basada solamente en la similitud morfológica con otros géneros de la familia. En nuestro análisis *C. hepatica* forma parte de un clado fuertemente apoyado (93% de bootstrap) constituido además por miembros de las familias Telorchidae y Ochetosomatidae. En el árbol de consenso estricto el clado se presenta como no resuelto, ya que en dos de los árboles *Choledocystus* aparece como grupo hermano de los géneros *Ochetosoma* y *Dasymetra* y en los otros dos como grupo hermano de *Telorchis* y *Opisthioglyphe*. Sin embargo, en el árbol derivado del análisis de bootstrap *Choledocystus* aparece como grupo hermano de los géneros de la familia Ochetosomatidae, con un valor de bootstrap de 43% (Fig. 58). La estrecha relación filogenética entre *Choledocystus* con los miembros de Ochetosomatidae parece sorprendente debido a las diferencias morfológicas entre estos organismos. Sin embargo, es necesario continuar adicionando taxones de otras familias al análisis para aclarar la posición filogenética de *C. hepatica*.

El género *Rauschiella*, representado en este trabajo por *R. tineri* y *R. poncedeleoni*, presenta una posición basal con respecto a los demás géneros de las siete familias que constituyen a la superfamilia Plagiorchioidea. El nodo que conecta a *Rauschiella* con el resto de los miembros de Plagiorchiidae presenta valores bajos de soporte de ramas (38%). La mayoría de los autores que han considerado válido al género *Rauschiella* lo han incluido en la familia Plagiorchiidae (subfamilia Plagiorchiinae), basándose únicamente en características morfológicas, ya que el ciclo de vida de las especies se desconoce. Uno de los caracteres de mayor peso que ha asociado a *Rauschiella* con Plagiorchiidae es la forma en "Y" de la vesícula excretora. Observaciones de ejemplares recién colectados de *R. tineri* y de *R. poncedeleoni* ratifican que ambas especies presentan claramente una vesícula excretora en forma de "Y", la cual está constituida por un tronco principal que anteriormente se extiende hasta la región pretesticular en donde se bifurca originando dos ramas que alcanzan la región ovárica; posteriormente el tronco desemboca en el poro excretor terminal.

A pesar de que varios autores han colocado al género *Rauschiella* en Plagiorchiidae, nuestros datos moleculares demuestran que la familia Plagiorchiidae así concebida es

polifilética, debido a que los géneros *Rauschiella*, *Choledocystus* y *Astiotrema* no forman parte del clado principal de dicha familia, teniendo un origen independiente.

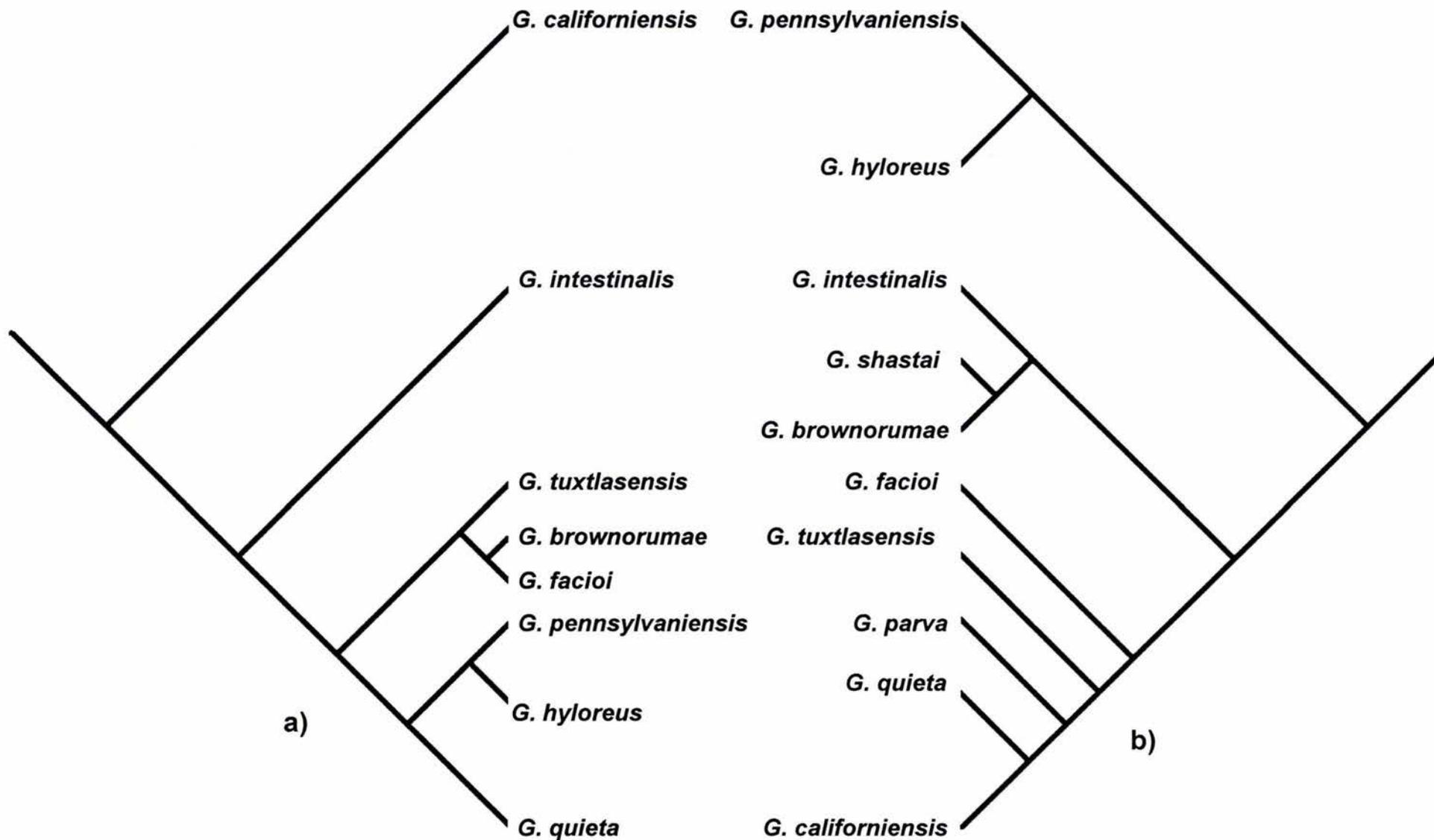


Figura 59. Comparación del linaje definido en el estudio de las secuencias del gen ribosomal 28S (a) y el linaje constitutivo del género *Glyphelmis* delimitado a través del estudio de 45 caracteres morfológicos (b).

5. 6. MONOGRAFÍA

5.6.1. DIAGNOSIS MODIFICADA DEL GÉNERO *GLYPTHELMINS*

Organismos de cuerpo alargado, cilíndrico o subcilíndrico. Espinas o escamas presentes en la superficie corporal, distribuidas parcialmente en el cuerpo o extendiéndose hasta el último tercio del mismo. Ventosa oral subterminal de mayor tamaño que el acetábulo, el cual es semiredondo y está ubicado en la región preecuatorial. Faringe muscular bien desarrollada, rodeada por pequeñas glándulas mediales amorfas o agrupadas en pequeños racimos. Presencia o ausencia de prominentes glándulas perifaríngeas en forma de racimo. Esófago presente. Bifurcación cecal ubicada a la mitad de la región comprendida entre la faringe y el poro genital. Ciegos intestinales largos, extendidos hasta el último cuarto del cuerpo. Testículos redondos, ovalados o elípticos, postacetabulares y dispuestos simétricamente, oblicuamente o en tándem. Bolsa del cirro alargada, recta o curva y generalmente ubicada de manera ventral al acetábulo. Alberga una vesícula seminal bipartita, una pars prostática bien desarrollada y un cirro liso. Poro genital medial, situado entre la bifurcación cecal y el margen anterior del acetábulo. Ovario semiredondo, pretesticular, ubicado al lado o ligeramente por debajo del acetábulo, sinistral y de menor tamaño que los testículos. Receptáculo seminal, canal de Laurer y glándula de Melhis presentes, dorsales a las asas úterinas. Útero intercecal, cecal o extracecal, generalmente constituido por múltiples asas uterinas longitudinales, las cuales se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo. Anteriormente, en la región ecuatorial las asas uterinas corren ventralmente a los testículos, por lo que en algunas ocasiones los ocultan por completo. Asas uterinas pretesticulares presentes o ausentes. Metratermo muscular, localizado dorsalmente a la bolsa del cirro. Glándulas vitelógenas foliculares, ubicadas lateralmente a los ciegos intestinales. Folículos vitelógenos distribuidos anteriormente a distintos niveles entre el margen posterior de la ventosa y la región posterior a la bifurcación cecal. Posteriormente alcanzan los bordes anteriores de los testículos o llegan a extenderse hasta más allá de los bordes posteriores de éstos. Los folículos se sitúan dorsal, ventral o lateralmente a los ciegos intestinales. Confluyentes o no en distintas regiones del cuerpo, dorsalmente a la bifurcación cecal, al acetábulo o en la región testicular o posttesticular de los organismos. Vesícula excretora en forma de "I", que desemboca en un poro excretor terminal. Huevos operculados. Parásitos del intestino de anuros pertenecientes a las familias, Ranidae, Bufonidae, Hylidae y Leptodactylidae, con distribución en Norte, Centro y Sudamérica.

5.6.2. CLAVE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE *GLYPHHELMINS*

1. Relación anchura – longitud del cuerpo y disco suctorial en el acetábulo
 - 1a Mayor a 7 veces y presencia de disco suctorial muscular en el acetábulo.....*G. intestinalis*
 - 1b Menor a 6 veces y ausencia de disco suctorial muscular en el acetábulo.....2

2. Glándulas perifaríngeas
 - 2a Presentes.....*G. quieta*
 - 2b Ausentes.....3

3. Relación del diámetro de la ventosa oral / acetábulo
 - 3a Menor a 1:0.64
 - 3b Mayor a 1:0.79

4. Tamaño de la faringe con respecto al tamaño del acetábulo
 - 4a Anchura de la faringe mayor que el acetábulo.....5
 - 4a Anchura de la faringe igual o menor que el acetábulo.....8

5. Posición de los testículos
 - 5a Simétricos.....*G. californiensis*
 - 5b Oblicuos.....6

6. Folículos vitelógenos intercecales
 - 6a Confluyen dorsalmente en la región comprendida entre la bifurcación cecal y el acetábulo.....*G. tuxtlasensis*
 - 6b Confluyen en la región testicular o posttesticular.....7

7. Distribución posterior de las asas uterinas
 - 7a Ocupan totalmente el extremo posterior del cuerpo.....*G. facioi*
 - 7b Ocupan parcialmente el extremo posterior.....*G. parva*

8. Extensión posterior de los folículos vitelógenos
 - 8a Se extienden hasta el segundo tercio de la longitud de los ciegos intestinales.....*G. brownorumae*
 - 8b Se extienden hasta el inicio del último tercio de la longitud de los ciegos intestinales.....*G. shastai*

9. Asas uterinas pretesticulares y extracecales
 - 9a Las asas pretesticulares ocupan totalmente la región comprendida entre el acetábulo y los testículos; asas uterinas extracecales presentes en la mayor parte de la longitud de los ciegos intestinales.....*G. pennsylvaniensis*
 - 9b Las asas pretesticulares ocupan parcialmente la región comprendida entre el acetábulo y los testículos; asas uterinas presentes principalmente en la región acetábulo-testicular..... *G. hyloraus*

5.6.3. ESPECIES DE *GLYPHELMINS*

Glythelmins quieta (Stafford, 1900) Stafford, 1905

Figs. 60 – 66 y 95. Tabla XIV.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Distomum quietum Stafford (1900): 403-406. Fig. 4

Glythelmins quieta Stafford (1905: 686-687); Tubanguí (1928: 355) [Comparación]; Miller (1930: 237, 242-243) [Comparación].

Glythelmins subtropica, Harwood (1932: 13-15 Fig. 6) [Descripción].

Glythelmins quieta, Yahata (1934: 85) [comparación]; Miller (1935: 563) [Ciclo de vida, *Cercaria mesotyphla*].

Glythelmins subtropica, Brandt (1936: 501-502) [Especie válida].

Glythelmins quieta, Olsen (1937a: 318-319) Lámina II, Fig. 16 [Clave taxonómica]; Caballero (1938: 122-125 y 146)¹ Figs. 1 y 2 [Descripción y clave taxonómica]; Walton (1938: 12, 14, 15, 20, 21) [Listado]; Manter (1938: 31, 36) [Sinonimiza a *G. subtropica* con *G. quieta*].

Glythelmins subtropica, Parker (1941: 39) [Considera válida a esta especie].

Glythelmins quieta, Rankin (1944: 30-43) Láminas 1 y 2. Figs. 1-19 [Ciclo de vida y sinonimia de *G. subtropica* con *G. quieta*]; Cordero (1944: 4) [Comparación]; Leigh & Van Cleave (1945: 205) [cercarias]; Leigh (1946: 460-464, 466, 474, 476-480) Lámina 1, Figs. 1-8, Lámina 2, Figs. 9-16 [Ciclo de vida, *Cercaria mesotyphla*]; Walton (1947: 26) [Listado]; Britt (1947: 281, 285 y 286) Fig. 13 [Cromosomas]; Byrd (1950: 4) [Mención]; Babero (1951a: 104) [Divide al género en dos grupos basados en la presencia o ausencia de glándulas perifaríngeas y asas uterinas pretesticulares; sugiere que debe ser erigido un nuevo género]; Yamaguti (1958: 403) Lámina 41, Fig. 503 [Lista de especies]; Skrjabin & Antipin (1958: 413- 414-433, 444) Figs. 116-120 [descripción, listado y clave]; Cheng (1959: 71-74, 76, 77, 80) Lámina 1, Fig. 1 [Revisión del género *Glythelmins*]; Brenes *et al.*, (1959: 194) [Comparación]; Cheng (1960: 464-465, 469) [Comparación de ciclo de vida]; Cheng (1961b: 20) [Mención]; Cheng (1961a: 470, 471, 473, 474) [Comparación]; Odening (1961:445) [Vesícula excretora]; Byrd & Maples (1963a: 521, 528-530, 532) [Comparación]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas].

Glythelmins subtropica, Campbell (1968: 15-16, 19) [Considera válida esta especie].

Glythelmins quieta, Martin (1969: 751) [Mención]; Suriano (1970: 232) [Lista de especies]; Ulmer (1970: 41, 46-47, 53) [Fig. 13]; Sullivan & Byrd (1970: 393) [Mención]; Nasir & Diaz (1970: 268, 270-272) [Clave basada en estadios larvarios y adultos]; Yamaguti (1971: 354) [Lista de especies]; Babero & Golling (1974: 211-212, 219) [Fig. 9].

¹ Caballero, C. E. (1938) Contribución al conocimiento de la Helmintofauna de México. Tesis Doctoral Facultad de Filosofía y Estudios Superiores, UNAM, México. 149 pp.

Glyphelmis proximus, Babero & Golling (1974: 212-213) [Brooks (1976b) identifica tales ejemplares como *G. quieta*].

Glyphelmis sera, Babero & Golling (1974: 213) [Brooks (1976b) identifica estos ejemplares como *G. quieta*].

Glyphelmis subtropica, Babero & Golling (1974: 212) [Consideran válida esta especie].

Glyphelmis quieta, Yamaguti (1975: 100-102) Lámina 53, Figs. 483-489 [Ciclo de vida]; Uchida & Itagaki (1975: 88) [Mención]; Sullivan (1976: 117-118, 120, 122) [Listado, divide al género en dos grupos con base a la forma de la vesícula excretora]; Brooks (1976a: 432) [Comparación]; Brooks (1976b: 67, 83-86, 89) Fig. 31 [Considera a *G. subtropica* sinónimo de *G. quieta*]; Brooks (1977: 279-281, 285) Fig. 4 (2) [Hipótesis filogenética]; Prudhoe & Bray (1982: 73, 119-120) Fig. 67 a, b y c [Listado]; Schell (1985: 176-177) Fig. 508 [Ciclo de vida]; Rannala (1990: 746) [Estudio de alozimas]; Rannala (1991: 805-808) [Estudio de alozimas]; Rannala (1992: 994-999) [Estudio de alozimas].

Glyphelmis californiensis, León-Regagnon (1990: 42-46)⁷ Fig. 10 [Redescripción]; León-Règagnon (1992: 152) [Reitera identificación]. Pulido (1992: 20-23)⁸ Figs. 4a y 4b [*in parti*, Redescripción].

Glyphelmis quieta, Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43-45, 47, 48, 271-272) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13-2.15, 34 [Hipótesis filogenética].

Glyphelmis californiensis, Pulido (1994: 205-206) [*in parti*; reitera identificación]; Lamothe *et al.*, (1997: 68) [Listado].

Glyphelmis quieta, Razo-Mendivil (1998: 1-50)⁶ [Estudio morfológico y molecular]; Razo-Mendivil *et al.*, (1999: 197-201) (Reevaluación de material); Pérez-Ponce de León *et al.*, (2000: 93, 94, 97, 102-103) Fig. 13 [Listado; en el pie de figura el número 13 hace referencia a la especie *G. californiensis*].

HUÉSPED TIPO: Stafford (1900) no menciona el nombre científico del huésped. Sin embargo, en 1905 hace referencia a las especies *Rana catesbeiana*, *Rana virescens* e *Hyla pickeringii* como huéspedes de *G. quieta*

HÁBITAT: Intestino delgado

LOCALIDAD TIPO: Canadá (Localidad no especificada)

⁷ León-Règagnon, V. (1990) Contribución al conocimiento de la helmintofauna de vertebrados acuáticos de San Pedro Tlaltzapán, Estado de México. Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México. 85 pp.

⁸ Pulido-Flores, G. (1992) Helmintos de *Rana dunni* Zweifel, 1957, especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México. 72 pp.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998) Utilización de caracteres morfológicos y moleculares para la diferenciación de tres especies de *Glyphelmis* (Digenea), parásitos de anuros de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 50 pp.

HOLOTIPO: Stafford (1900 y 1905) no hace mención si depositó el holotipo en alguna colección parasitológica.

DIAGNOSIS: La característica distintiva de esta especie es la presencia a ambos lados de la faringe de prominentes glándulas perifaríngeas (Figs. 21 y 64), agrupadas en forma de racimo; anteriormente, se extienden hasta el borde anterior de la faringe y posteriormente sobrepasan la región de la bifurcación cecal. Adicionalmente, posee testículos simétricos o ligeramente oblicuos. Glándulas vitelógenas foliculares, que se extienden desde el esófago o bifurcación cecal hasta el segundo tercio del cuerpo (Fig. 38). En la región anterodorsal del acetábulo, los folículos vitelógenos confluyen medialmente (Fig. 61). Útero conformado por múltiples asas uterinas transversales, las cuales ocupan totalmente la región intercecal y algunas de ellas se extienden hasta la zona cecal.

DESCRIPCIÓN: Los ejemplares presentan cuerpo alargado, siendo ligeramente más ancho en la región posterior a los testículos; los extremos son redondeados, aunque el posterior es más pronunciado que el anterior, que es aguzado; el tegumento es grueso y se encuentra provisto de pequeñas espinas, excepto en el extremo posterior del cuerpo; las espinas son más abundantes en la región anterior y conforme se van aproximando al extremo posterior, disminuyen en número hasta desaparecer. Las espinas dispuestas en los bordes del cuerpo se presentan afiladas, mientras que las situadas en la superficie corporal asemejan escamas. La ventosa oral es subterminal, esférica y ligeramente más ancha que larga; el acetábulo se sitúa en el primer tercio del cuerpo, anterior a los testículos y por debajo de la bifurcación cecal. Es de forma circular y de menor tamaño que la ventosa oral. La relación existente entre las dos ventosas es de 1:0.63 de largo por 1:0.54 de ancho. En el centro de la ventosa oral se abre la boca. La faringe es grande, redonda y musculosa; a cada lado presenta prominentes glándulas perifaríngeas, agrupadas en forma de racimo; anteriormente se extienden hasta el borde anterior de la faringe y posteriormente sobrepasan el nivel de la bifurcación cecal; los conductos de las mismas se dirigen anteriormente y desembocan en el borde anterior de la ventosa oral. A continuación se ubica el esófago, generalmente igual de largo que la faringe; no posee paredes musculosas y se bifurca para dar origen a los ciegos intestinales que se localizan laterodorsalmente, extendiéndose casi hasta el borde posterior del cuerpo. El ciego izquierdo es ligeramente más ancho y más largo que el derecho. El aparato reproductor masculino consta de un par de testículos intercecales, localizados en la región preecuatorial del cuerpo y posteriores al acetábulo; son de forma esférica, casi simétricos y situados uno al lado del otro. El testículo derecho es ligeramente más anterior que el izquierdo. La bolsa del cirro es alargada y voluminosa, generalmente dispuesta a la derecha y por debajo del acetábulo, extendiéndose

más allá del borde anterior del mismo; aloja a la vesícula seminal que es bipartita, la cual se continúa con la glándula prostática y ésta a su vez con el cirro, el cual es sinuoso, liso y desemboca en el poro genital, situado por delante del acetábulo y posterior a la bifurcación cecal. El ovario es esférico u ovoide, intercecal, ventral, preecatorial y está situado hacia el lado izquierdo del acetábulo, al mismo nivel o ligeramente hacia atrás de éste; en algunas ocasiones su borde interno invade el área del acetábulo o puede estar ligeramente separado del mismo. El receptáculo seminal se localiza en el área que dejan entre sí el ovario, el testículo izquierdo, el acetábulo y la porción posterior de la bolsa del cirro, siendo de menor tamaño que el ovario; de forma esférica, posterior al acetábulo y de difícil observación. El útero es sinuoso, constituido por numerosas asas transversales que van desde la región anterior de los testículos, hasta el borde posterior del cuerpo. El útero ocupa el área intercecal y cecal de los organismos. En el área testicular, las asas uterinas corren ventralmente a los testículos. Anteriormente a los testículos, el útero asciende mediante un asa delgada, la cual corre ventral al receptáculo seminal y al nivel del acetábulo forma el metratermo, el cual es glandular y abre en el poro genital. Formadas por numerosos folículos de formas diversas, las glándulas vitelógenas presentan gran variabilidad con respecto a su distribución a lo largo del cuerpo, ya que en algunas ocasiones pueden extenderse hasta el nivel anterior de la faringe, localizarse en la región media del esófago o bien, a nivel de la bifurcación cecal. Posteriormente, sobrepasan el borde posterior de los testículos. Los folículos ocupan una posición dorsal, ventro-lateral y extracecal e intercecal, correspondiendo al área extracecal el mayor conjunto de ellos. En la región anterodorsal del acetábulo, las glándulas vitelógenas confluyen medialmente. Los huevos operculados presentan cáscara amarilla y miden entre 36-51 μm de largo por 14-21 μm de ancho. La vesícula excretora en forma de "I" abre en un poro excretor, localizado en el extremo posterior del cuerpo.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Acris crepitans Baird, 1854:

West Lake Okoboji, Dickinson County, Iowa, USA, (Ulmer, 1970: 41, 46-47).

Bufo americanus Holbrook, 1836:

Presque Isle, Aroostook, Maine, USA, (Bouchard, 1951: 246,248).

Bufo microscaphus Cope, 1867:

Utah, USA, (Parry & Grundmann, 1965:274).

Bufo woodhousii Girard, 1854:

Utah, USA, (Parry & Grundmann, 1965: 274); 0.25 miles north of Davey; 5 miles south of Spencer, Nebraska, USA, (Brooks, 1976b: 67, 83, 89).

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

Hyla crucifer (= *Pseudacris crucifer*):

Canada (Walton, 1938: 12). Western Massachusetts, USA, (Rankin, 1945: 145). Ohio, USA, (Odlaug, 1954: 126). Michigan, USA, (Najarian, 1955: 195). Fulton, Hancock, Lucas, Ottawa and Wood Counties, NW Ohio, USA, (Ashton & Rabalais, 1978: 141-142).

Hyla crucifer crucifer Harper, 1939 (= *Pseudacris crucifer crucifer*):

Canada, (Stafford, 1905: 686).

Hyla pickeringii (= *Pseudacris crucifer*)

Canada, (Stafford, 1905: 686).

Pseudacris nigrita (LeConte, 1825):

Athens, Georgia, USA, (Byrd & Maples, 1963a: 521).

Pseudacris triseriata:

North America, (Walton, 1946: 19). West Lake Okoboji, Dickinson County, Iowa, USA, (Ulmer, 1970: 41, 46-47). Fulton, Hancock, Lucas, Ottawa and Wood Counties, NW Ohio, USA, (Ashton & Rabalais, 1978: 141-142).

Rana blairi:

3 miles south of Lincoln; 0.25 miles north of Davey; Waverly; 2 miles south, 1 mile west of Mead; 3 miles west of Fremont; 1.5 miles north, 2.5 miles east of Burchard; 5 miles south of Genoa; 0.75 miles east of Ashland; 10 miles south of Humboldt; 0.75 miles north of Winslow; 1.5 miles south of Sprague; 0.5 miles south, 0.5 miles west of Oakland; 2 miles south, 2 miles east of Ceresco; 0.25 miles northwest of Callaway; 3 miles east of Guide Rock; 4.5 miles east, 0.75 miles north of Red Cloud; 2 miles north, 2 miles east of Davenport, Nebraska, USA, (Brooks, 1976b: 67, 83-84 y 89). Yuma County, Colorado; Cherokee County, Kansas; Douglas, Lincoln and Sarpy Counties, Nebraska & Carson County, Texas, USA, (Goldberg *et al.*, 2000: 362-365).

Rana catesbeiana:

Canada, (Stafford, 1905: 686). Urbana, Illinois, USA, (Miller, 1930: 237). Cleveland County, Oklahoma, USA, (Trowbridge & Hefley, 1934: 17). Illinois, USA, (Leigh, 1937: 423). Louisiana, USA, (Bennett, 1938: 179). Florida, USA, (Manter, 1938: 31, 36). USA and Canadá, (Walton 1938: 14), (Walton, 1947: 26). Georgia, USA, (Parker, 1941: 39). Amherst, Massachusetts; North Carolina; New England and Seattle, Washington, USA & Gaspé Peninsula, Canada, (Rankin 1944: 30). USA, (Leigh & Van Cleave, 1945: 205). USA, (Walton 1947: 26). Virginia, USA, (Britt, 1947: 281, 285-286). Ohio, USA, (Odlaug, 1954: 127). Michigan, USA (Najarian, 1955: 195). Wisconsin, USA, (Schell, 1962: 387). Pocahontas State Park, Chesterfield County, Virginia, USA, (Campbell, 1968: 15). Provinz Habana, Binnen-fischereistation bei Loma de Tierra, Cuba, (Odening, 1968: 294-296). Fig. 5. West Lake Okoboji, Dickinson County, Iowa, USA, (Ulmer, 1970: 41, 46-47). Glendale, Daviess County; Willow Slough, Newton County; Tri, Kosciusko and Noble Counties, Indiana, USA, (Lank, 1971: 361-362). Kansas, USA, (Jinks &

Johnson, 1971: 519). Burke, Oconee, Screven, Chatham and Taliaferro Counties, Georgia; Terrebone and East Baton Rouge Parishes, Louisiana y Oktibbeha County, Mississippi, USA, (Sullivan, 1972: 35)². East Texas, USA, (Hollis, 1972: 198). Ash Meadow, Nye County, Nevada, USA, (Babero & Golling, 1974: 212) Fig. 9. 2 miles west of Lincoln; 1.5 miles north, 2.5 miles east of Burchard; 8 miles south, 2 miles east of Humboldt; 10 miles south of Humboldt; 0.25 miles west of Verdon; 0.5 miles north, 1 mile west of Atkinson; 5 miles north, 2 miles west of Springview; 1 mile north, 3.5 miles west of Guide Rock, Nebraska, USA, (Brooks 1976b: 67, 84 y 89). Georgia, Mississippi and Louisiana, USA, (Sullivan, 1976: 118). Fulton, Hancock, Lucas, Ottawa, Ohio, USA (Ashton & Rabalais, 1978: 141-142). Arkansas, USA, (Rossen & Manis, 1976: 834). Big Muddy River, Illinois, USA, (Andrews *et al.*, 1992).

Rana chiricahuensis Platz and Mecham, 1979:

Arizona, USA, (Goldberg *et al.*, 1998).

Rana clamitans:

Illinois, USA, (Miller, 1930: 237, 243). USA, (Walton 1938: 15). Massachusetts, USA, (Rankin, 1945: 145). Isla Presque, Aroostook, Maine, USA, (Bouchard, 1951: 246,248). Michigan, USA, (Najarian, 1955: 195). Pocahontas State Park, Chesterfield County, Virginia, USA, (Campbell, 1968: 15). Dekalb & Oglethorpe Counties, Georgia and Warren County, New Jersey, USA, (Sullivan, 1972: 35)². Connecticut, USA, (Brooks, 1976b: 83, 86). Georgia and New Jersey, USA, (Sullivan, 1976: 118). Red Cedar River, S. Baron and N. Dunn Counties NW Wisconsin, USA, (Williams & Taft, 1980: 278). Battle Creek, Michigan, USA, (Rannala, 1990: 746-747), Rannala, 1991: 805-808), (Rannala, 1992: 993-1000).

Rana dunnii:

Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, (Pulido, 1992* y 1994*). Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán, México, (Razo-Mendivil, 1998: 1-50)⁶; (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 197-200); (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102).

Rana magnaocularis:

Sinaloa, México, (Goldberg & Bursley, 2002: 160-162, 164, 169). Coquimatlán, Colima[‡].

Rana megapoda:

Manantiales de Cointzio, Michoacán, México, (Razo-Mendivil, 1998: 1-50)⁶. Lago de Cuitzeo y Manantiales de Cointzio, Michoacán, México, (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 197-200). Lago de

² Sullivan, J. J. (1972) The Status of the "Glythelminth" trematodes with an account of the lifecycle of *Hylotrema pennsylvaniensis* (Cheng, 1961) n. gen., n. comb. Ph. D. Thesis, University of Georgia, USA 158 pp.

* Pulido, F. G. (1992 y 1994) identificó a los ejemplares como *G. californiensis*. Sin embargo, Razo-Mendivil, U. J. (1998) y Razo-Mendivil *et al.*, (1999) reidentificaron a uno de los ejemplares como *G. quieta*.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

‡ Nuevo registro de localidad

Cuitzeo y Manantiales de Cointzio, Michoacán y Lago de Chapala, Jalisco, México, (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102).

***Rana montezumae*:**

México, (Walton, 1938: 18). Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, (León-Règagnon, 1990[♦]: 42-46 y 1992: 152). Xochimilco, Distrito Federal y Lago de Texcoco, Estado de México, (Lamothe *et al.*, 1997: 68); Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, (Razo-Mendivil, 1998 1-50)⁶ Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 197-200). Ciénaga de Lerma y Lago de Texcoco, Estado de México; Xochimilco, Distrito Federal, México, (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102).

***Rana neovolcanica*:**

Manantiales de Cointzio, Michoacán, México, (Razo-Mendivil, 1998: 1-50)⁶; (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 197-200); (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102). Tapalpa, Jalisco[‡].

Rana palustris LeConte, 1825:

Isla Presque, Aroostook, Maine, USA, (Bouchard, 1951: 246,248). Arkansas, USA, (McAllister *et al.*, 1995: 111-116).

***Rana pipiens*:**

Illinois, USA, (Miller, 1930: 237, 243). Illinois, USA, (Leigh, 1937a: 423). Illinois, USA, (Leigh, 1937b: 563). Illinois, USA, (Leigh & Van Cleave, 1945: 205). Illinois, USA, (Leigh, 1946: 462). Utah, USA, (Parry & Grundmann, 1965: 274). USA, (Walton, 1938: 20). USA, (Rankin, 1944: 32, 33, 39) Fig. 4. Brazos County, Texas, USA, (Slagel, 1966 *in* <http://brooksweb.zoo.utoronto.ca/index.html>). West Lake Okoboji, Dickinson County, Iowa, USA, (Ulmer, 1970: 41, 46-47) Fig. 16. 1 mile north of Louisville; 5 miles north, 2 miles west of Springview; 7 miles north, 1 mile west of Springview; 12 miles east of Marsland; 10 miles north of Whitman; 12 miles west of Mullen; 0.25 miles northwest of Callaway; 5 miles north, 2 miles west of Springview Nebraska, USA, (Brooks, 1976b: 67, 84, 89). Franklin County, Ohio; Alamance County, North Carolina and Franklin County, Tennessee, USA, (Sullivan, 1972: 35)². Arkansas, USA, (Rosen & Manis, 1976: 384). White Earth River, Mountrail County, North Dakota and Southeast Nebraska, USA, (O'Grady, 1987: 52-53, 139)³. Barnes and Sargent County, North Dakota, Beadle and Manlin County, South Dakota, USA, (Goldberg *et al.*, 2001: 248-251).

[♦] León-Règagnon, V. (1990 y 1992) identificó a los ejemplares como *G. californiensis*. Sin embargo, Razo-Mendivil, U. J. (1998) y Razo-Mendivil *et al.*, (1999) transfirieron los ejemplares a la especie *G. quieta*.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

[‡] Nuevo registro de localidad

² Sullivan, J. J. (1972)

³ O'Grady, R. T. (1987) Phylogenetic systematics and the evolutionary history of some intestinal flatworms parasites (Trematoda: Digenea: Plagiorchioiidea) of anurans. Ph. D. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B. C., Canada. 210 pp.

Rana pipiens sphenoccephala Stejneger and Barbour, 1943:

Oklahoma, USA, (Trowbridge & Hefley, 1934: 17).

Rana psilonota:

Atenquique, Jalisco[□].

Rana septentrionalis Baird, 1854:

Isla Presque, Aroostook, Maine, USA, (Bouchard, 1951: 246,248)

Rana spectabilis:

Huitzo, Oaxaca, México[□].

Rana sylvatica LeConte, 1825:

Rose Lake Wildlife Area, Shiawassee and Clinton Counties, Michigan, USA, (Muzzall & Peebles, 1991: 264).

Rana sphenoccephala:

USA (Walton, 1938: 21).

Rana tarahumarae Boulenger, 1917:

Yecora, Sonora, México, (Burse & Goldberg, 2001: 341).

Rana utricularia (= *R. sphenoccephala*):

Vicinity of Nemo, Somerville County, Texas (O'Grady, 1987:139)³

Rana virescens (= *R. sphenoccephala*):

Canada, (Stafford, 1905: 686).

Rana yavapaiensis Platz and Frost, 1984:

Arizona, USA, (Goldberg *et al.*, 1998).

***Rana* sp.:**

Coquimatlán, Colima, México[□]. Atenquique, Jalisco, México[□].

***Rana* sp. "forma Colima"**

Coquimatlán, Colima, México[□].

***Rana* spp.:**

Toronto, Canada, (Cheng, 1959: 71).

Frog

Canada, (Stafford, 1900: 403).

Frogs

Georgia, Louisiana, Mississippi and North Carolina, USA, (Byrd & Maples, 1963a: 522).

Physa gyrina Say, 1821:

Seattle, Washington, USA, (Rankin 1944: 30). Charlie's Pond, North Carolina, USA, (Snyder & Esch, 1993: 205-215).

[□] Nuevo registro de huésped y localidad

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]

COLECCIÓN NACIONAL DE HELMINTOS (CNHE) DISTRITO FEDERAL, MÉXICO.

San Pedro Tlaltizapan, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 1461[‡] vouchers, 8 ejemplares. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dumni*, intestino, CNHE 1561* voucher, 1 ejemplar. Lago de Xochimilco, Distrito Federal, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 1562 vouchers, 3 ejemplares. Lago de Texcoco, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 1563 vouchers, 4 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3271 vouchers, 7 ejemplares. Manantiales de Cointzio, Michoacán, México, *R. neovolcanica*, intestino, CNHE 3272 vouchers, 14 ejemplares. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dumni*, intestino, CNHE 3273 vouchers, 41 ejemplares. Lago de Zacapu Michoacán, México, *R. dumni*, intestino, CNHE 3274 vouchers, 5 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3275 vouchers, 10 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3276 vouchers, 11 ejemplares. Ciénaga de Lerma Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3277 vouchers, 5 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3278 vouchers, 6 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3279 vouchers, 11 ejemplares. Lago de Cuitzeo, Michoacán, México, *R. megapoda*, intestino, CNHE 3346 vouchers, 4 ejemplares. Lago de Chapala, Jalisco, México, *R. megapoda*, intestino, CNHE 3406 voucher, 1 ejemplar. Manantiales de Cointzio, Michoacán, México, *R. megapoda*, intestino, CNHE 3416 vouchers, 24 ejemplares. Manantiales de Cointzio, Michoacán México, *R. megapoda*, intestino, CNHE 3421 vouchers, 8 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 4686[□] vouchers, 12 ejemplares. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dumni*, intestino, CNHE 4687 vouchers, 18 ejemplares. Coquimatlán, Colima, México, *Rana* sp., intestino, CNHE 4688[□], vouchers, 3 ejemplares. Huitzo, Oaxaca, México, *R. spectabilis*, intestino, CNHE 4689[□], vouchers, 6 ejemplares. Tapalpa, Jalisco, *R. neovolcanica*, intestino, CNHE 5028^{□‡}, voucher, 1 ejemplar. Atenquique, Jalisco, *Rana psilonota*, intestino, CNHE 5029[□], voucher, 1 ejemplar. Coquimatlán, Colima, *R. magnaocularis*, intestino, CNHE 5030^{□‡}, voucher, 1 ejemplar. Atenquique, Jalisco, *Rana* sp., intestino, CNHE 5031[□], voucher, 1 ejemplar. Coquimatlán, Colima, *Rana* sp., intestino, CNHE

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[‡] Originalmente, los ejemplares fueron identificados como *G. californiensis*

* Solo un ejemplar del lote original, pertenece a *G. quieta*.

□ Este estudio

□ Nuevo registro de huésped y localidad

□ Este estudio

‡ Nuevo registro de localidad

5032[□], voucher, 1 ejemplar. Coquimatlán, Colima, *Rana* sp. "forma Colima", intestino, CNHE 5033[□], voucher, 1 ejemplar.

UNITED STATES NATIONAL PARASITE COLLECTION (USNPC) BELTSVILLE, MARYLAND.

Winona Lake, Indianapolis, USA, *R. clamitans*, intestino, USNPC 51635 voucher, 1 preparación. Mcfadden Swamp, Oregon, USA, *R. catesbeiana*, intestino, USNPC 66142. Warren County, Oxford, New Jersey, USA, *R. clamitans*, intestino, USNPC 72268, voucher, 1 preparación. Watkinsville, Georgia, USA, *R. catesbeiana*, intestino, USNPC 72269 voucher, 1 preparación. Oconee County, Georgia, USA, *R. catesbeiana*, intestino, USNPC 72270 voucher, 1 preparación. St. Andrew's, Franklin County, Tennessee, USA, *R. pipiens*, intestino, USNPC 72271, voucher, 1 preparación. Red Cedar River, Barron County, Wisconsin, USA, *R. clamitans*, USNPC 75450 voucher, 1 preparación. Turkey, Kalamazoo County, Michigan, USA, *R. clamitans*, USNPC 81462 voucher, 1 preparación. Rose Lake, Shiawassee County, Michigan, USA, *R. sylvatica*, USNPC 81868 voucher, 1 preparación. Jackson County, Illinois, USA, *R. catesbeiana*, estómago, USNPC 82012 voucher, 1 preparación. 12.1 km NW Possum Grape and Gold Mine Springs, Independence County, Arkansas, USA, *R. palustris*, piel, USNPC 84217 voucher, 1 preparación, metacercarias. 2.4 km W Desoto, Dallas County, Texas, USA, *R. utricularia*, intestino, USNPC 84280 voucher, 1 preparación. Vicinity of Nemo, Somervelle County, Texas, USA, *R. utricularia*, intestino, USNPC 84281 voucher, 1 preparación. 4.2 km NE Nemo, Somervelle County, Texas, USA, *R. catesbeiana*, USNPC 84282 voucher, 1 preparación. 12.1 km NW Possum Grape at Gold Mine Springs, Independence County, Arkansas, USA, *R. catesbeiana*, intestino, USNPC 84283 voucher, 1 preparación. 18 Mile Creek, Anderson County, South Carolina, USA, *R. catesbeiana*, intestino, USNPC 84802 voucher, 1 preparación. Louisiana, USA, *R. catesbeiana*, USNPC 84814 voucher, 1 preparación. Pima County, Arizona, USA, *Bufo microscaphus* x *Bufo woodhousii*, USNPC 85921 voucher, 1 vial. Portal, Southwest Research Station, Cochise County, Arizona, USA, *R. chiricahuensis*, USNPC 87074 voucher, 1 vial. Avra Valley, Pima County, Arizona, USA, *R. yavapaiensis*, intestino, USNPC 87080 voucher, 1 vial. Yuma County, Colorado, USA, *R. blairi*, intestino, USNPC 88033 voucher, 1 vial. Cherokee County, Kansas, USA, *R. blairi*, intestino, USNPC 88043 voucher, 1 vial. Lincoln County, Nebraska, USA, *R. blairi*, intestino, USNPC 88051 voucher, 1 vial. Carson County, Texas, USA, *R. blairi*, intestino, USNPC 88059 voucher, 1 vial. Ransom County, North Dakota, USA, *R. pipiens*, USNPC 88785 voucher, 1 vial, metacercarias y adultos. Southwestern, Michigan, USA, *R. clamitans*, USNPC 90977 voucher, 1 preparación. Ranchito Pinos Altos, Sierra Naeyori, Sonora, México, *R. tarahumarae*, USNPC 89181 voucher, 1 preparación. Moctazuma Cattle Tank, Sonora, México, *R. magnaocularis*, USNPC 89820 voucher, 1 preparación, 1 vial. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *Rana montezumae*, intestino

anterior, USNPC 93034, voucher, 1 preparación, 1 ejemplar. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *Rana montezumae*, intestino, USNPC 93035, vouchers, 1 preparación, 2 ejemplares.

HAROLD W. MANTER LABORATORY (HWML) LINCOLN, NEBRASKA.

HWML 1089, USA, voucher, 1 preparación. USA, *Pseudacris triseriata*, HWML 1090, voucher, 1 preparación. Wisconsin, USA, *R. pipiens*, intestino, HWML 1209, vouchers, 2 ejemplares. USA, HWML 1210, voucher, 1 ejemplar. USA, HWML 1211, 3 ejemplares. Waukesha County, Wisconsin, USA, *R. clamitans*, intestino delgado, HWML 15355, voucher, 1 ejemplar. Ozaukee County, Wisconsin: 43° 23' N 88° 2' W, USA, *R. clamitans*, intestino delgado, HWML 15379, voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, HWML 19721 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20174 vouchers, 10 ejemplares. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20175 voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20176 vouchers, 6 ejemplares. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20177 vouchers, 23 ejemplares. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20178 vouchers, 20 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20179 vouchers, 2 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20180 vouchers, 5 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20181 vouchers, 5 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20182 vouchers, 3 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20183 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20184 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20185 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20186 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20187 voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20188 vouchers, 79 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20189 voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20190 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20191 vouchers, 30 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20192 vouchers, 10 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20193 vouchers, 6 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20194 vouchers, 11 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20195 vouchers, 11 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20196 vouchers, 3 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20197 vouchers, 11 ejemplares. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20198 voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. pipiens*, aparato digestivo, HWML 20199 voucher, 1 ejemplar. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20200 vouchers, 6 ejemplares. Nebraska, USA, *R. blairi*, aparato digestivo, HWML 20201 vouchers, 4 ejemplares. Oklahoma, USA, *R. catesbeiana*, aparato digestivo, HWML 20229 vouchers, 12 ejemplares. Oregon, USA, *R.*

catombeiana, intestino, HWML 20643 vouchers, 3 ejemplares. Mississippi, USA, *R. utricularia*, intestino, HWML 20890 voucher, 1 ejemplar. West Virginia, USA, *R. pipiens*, intestino, HWML 20897 vouchers, 3 ejemplares. Oklahoma, USA, *R. catombeiana*, intestino, HWML 20925 voucher, 1 ejemplar. Georgia, USA, *R. catombeiana*, intestino, HWML 20938 vouchers, 2 ejemplares. Mississippi, USA, *R. utricularia*, intestino, HWML 20954 voucher, 1 ejemplar. Mississippi, USA, *R. catombeiana*, intestino, HWML 20956 vouchers, 2 ejemplares. Wisconsin, USA, *R. pipiens*, intestino, HWML 22473 voucher, 1 ejemplar. Louisiana, USA, *R. catombeiana*, intestino, HWML 22675 vouchers, 5 ejemplares. Wisconsin, USA, *R. clamitans*, intestino, HWML 23829 voucher, 2 ejemplares. *R. catombeiana*, USA, intestino, HWML 31273 voucher, 4 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, HWML 39954 vouchers, 1 ejemplar. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, HWML 39955 voucher, 1 ejemplar.

COLECCIÓN PARTICULARES:

DR. DANIEL BROOKS, UNIVERSIDAD DE TORONTO, TORONTO CANADA.

Nebraska, USA, *R. catombeiana*, intestino, 6 ejemplares sin número de catálogo.

CICLO DE VIDA:

Elucidado por Rankin (1944) y Leigh (1946). Los adultos habitan el intestino delgado de distintas especies de Anuros, liberan los huevos embrionados que salen al exterior con las heces de las ranas. En el medio acuático, los huevos son ingeridos por caracoles de la especie *Physa gyrina* (Physidae); dentro de los caracoles, los huevos eclosionan y liberan al miracidio el cual, rápidamente, se transforma en esporocistos madre e hijo, éstos últimos dan origen a xifidiocercarias armadas con estiletes. Las xifidiocercarias abandonan el caracol y nadan activamente hacia la superficie del agua en busca de ranas y sapos. Al detectar al huésped, las xifidiocercarias se adhieren a la piel por medio de la ventosa oral y el acetábulo, posteriormente penetran la piel y pierden la cauda (cola), enquistándose en la epidermis del huésped y transformándose en metacercarias, las cuales son las formas infectivas. La rana o el sapo al ingerir o consumir su piel, durante la muda de la misma, se infecta con las metacercarias, las cuales alcanzan la madurez sexual al alojarse en el intestino del huésped definitivo.

GENBANK

Número de acceso: AJ287517
Secuencia: Gen ribosomal 18S
Longitud: 1951 pb

Número de acceso:	AF433675
Secuencia:	Gen ribosomal 28S
Longitud:	1270 pb
Número de acceso:	AY278049 [□]
Secuencia:	Gen ribosomal 28S
Longitud:	1274 pb
Número de acceso:	AY278056 [□]
Secuencia:	Gen citocromo oxidasa 1 (cox1)
Longitud:	383 pb
Número de acceso:	AY278063 [□]
Secuencia:	Espaciador interno de transcripción (ITS2)
Longitud:	413 pb

SITIOS WEB RELACIONADOS CON *G. QUIETA*:

<http://brooksweb.zoo.utoronto.ca/index.html>

<http://academic.emporia.edu/zelderde/paralab/trema/glyphelmins.jpg>

Glyphelmins californiensis (Cort, 1919) Miller, 1930.

Figs. 67-71 y 95. Tabla XV.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Margeana californiensis Cort, 1919: 283-298.

Glyphelmins californiensis, Miller (1930: 242) [Sinonimiza al género *Margeana* con *Glyphelmins*].

Margeana californiensis, Yahata (1934: 84, 85) [Similitud de la vesícula excretora con *G. rugocaudata*].

Glyphelmins californiensis, Caballero y Sokoloff (1934: 337-340) Figs. 1-4 [Descripción]; Ingles (1936: 81,82) [Registro y comparación]; Olsen (1937a: 314-315, 318-319) Lámina I, Fig. 12 [Clave]; Walton (1938: 13, 18, 20) [Listado]; Caballero (1938: 135-138 y 147)¹ Fig. 8. [Descripción y Clave].

[□] Este estudio

¹ Caballero, C. E. (1938)

Glythelmins quieta, Rankin (1944: 31, 41) [Considera a *G. californiensis* sinónimo de *G. quieta*].

Glythelmins californiensis, Babero (1951a: 104) [Mención]; Yamaguti (1958: 403) [Lista de especies válidas]; Skrjabin & Antipin (1958: 413-415, 434, 437-439, 441, 443) Figs. 122, 123 [Descripción, listado y clave].

Margeana californiensis, Cheng (1959: 73, 74, 76, 77, 80, 84) Lámina 1. Fig. 4 [Reestablece al género *Margeana*].

Glythelmins californiensis, Brenes *et al.*, (1959: 194) [Comparación]; Odening, (1961: 445) [Mención]; Byrd & Maples (1963a: 532) [Lista de especies válidas]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas]; Martin (1969: 751) [Comparación]; Suriano (1970: 232) [Lista de especies válidas].

Glythelmins quieta, Nasir & Diaz (1970: 268) [Sinonimizan *G. californiensis* con *G. quieta*].

Glythelmins californiensis, Yamaguti (1971: 354) [Listado].

Glythelmins quieta, Sullivan (1976: 117) [Sinonimiza a *G. californiensis* con *G. quieta*].

Glythelmins californiensis, Brooks (1976a: 432) [Comparación]; Brooks (1977: 279) [Hipótesis filogenética]; Prudhoe & Bray (1982: 69-70) [Listado]; O'Grady (1987: 52-53, 134)³ [Hipótesis filogenética]; Rannala (1990: 746-747) [Estudio de alozimas]; Rannala (1991: 805-808) [Estudio de alozimas]; Rannala (1992: 993-1000) [Estudio de alozimas]; Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43-45, 47-49, 271, 273) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13-2.15, 34 [Hipótesis filogenética].

Glythelmins californiensis, Pulido (1992: 20-23; 1994: 205-206)⁸ [*In parti*].

Glythelmins californiensis, Lamothe *et al.*, (1997: 67) [Listado]; Razo-Mendivil (1998: 1-50)⁶ [Estudio morfológico y molecular]; Razo-Mendivil *et al.*, (1999: 197-201) [re-evaluación de material].

Glythelmins californiensis, Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 93, 94, 97, 102, Fig. 14 [Listado; en el pie de figura, la Fig. 14 hace referencia a *G. quieta*].

HUÉSPED TIPO: *Rana aurora* Baird and Girard, 1852.

HÁBITAT: Intestino

LOCALIDAD TIPO: San Francisco, California, USA

HOLOTIPO: La descripción hecha por Cort (1919) estuvo basada en ejemplares observados *in vivo* y no hace ninguna mención acerca del depósito del material en alguna colección.

³ O'Grady, R. T. (1987)

⁸ Pulido, F. G. (1992)

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

DIAGNOSIS: El rasgo distintivo de esta especie es la distribución de las glándulas vitelógenas, cuyos folículos se extienden desde la faringe hasta el margen anterior de los testículos o ligeramente por detrás de los bordes posteriores de los mismos. Los folículos vitelógenos de ambos campos confluyen dorsalmente al nivel de la bifurcación cecal-poro genital (Figs. 16 y 41). Adicionalmente, la especie presenta la siguiente combinación de caracteres: faringe más ancha que el acetábulo; testículos simétricos; asas uterinas intracecales.

DESCRIPCIÓN: Los individuos pertenecientes a esta especie presentan cuerpo alargado u ovalado, con los extremos redondeados. Poseen numerosas espinas escamiformes, abundantes en la región anterior, con excepción de la ventosa oral; en la región posterior al acetábulo, éstas van disminuyendo en número hasta desaparecer en el segundo tercio del cuerpo. La ventosa oral es subterminal y subesférica. El acetábulo es esférico y de menor tamaño que la ventosa oral; se ubica en la región preecuatorial, por delante de los testículos y posterior al poro genital. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.58 de largo por 1:0.55 de ancho. El aparato digestivo se inicia con la boca, que se abre en el centro de la ventosa oral y se continúa con una pequeña prefaringe que desemboca en una faringe globosa y muscular, rodeada ventral, dorsal y lateralmente por pequeñas glándulas mediales. Estas glándulas son amorfas y sus conductos están dirigidos hacia la prefaringe. El esófago es corto y ancho, dando origen a los ciegos intestinales, los cuales se extienden paralelamente al cuerpo hasta terminar cerca del extremo posterior. El ciego izquierdo es ligeramente más largo que el derecho, pero de menor anchura que este último. Los testículos son esféricos, localizados en la región ecuatorial del cuerpo, completamente intercecales y dispuestos simétricamente. La bolsa del cirro es larga y voluminosa, situada ventralmente y hacia el lado derecho del acetábulo; aloja a la vesícula seminal bipartita, a la glándula prostática y a un cirro liso. El ovario, situado al lado izquierdo del acetábulo, es de forma redonda y de menor tamaño que los testículos. Posteriormente al ovario y anterior a los testículos, se localiza el receptáculo seminal, el cual es de forma esférica. El útero sinuoso y completamente intercecal, está formado por numerosas asas dispuestas transversalmente, que se extienden desde el borde anterior de los testículos y llegan casi hasta el final del cuerpo. En la región testicular, el útero se dispone ventralmente a los testículos. Las glándulas vitelógenas están constituidas por numerosos folículos, distribuidos anteriormente hasta la faringe o el borde posterior de la ventosa oral. Posteriormente, se extienden hasta la región en donde se localiza el borde posterior del ovario; en algunas ocasiones alcanzan el borde anterior de los testículos o el borde posterior del testículo izquierdo. Los folículos están distribuidos dorsal, ventral y lateralmente a los ciegos intestinales. En la región dorsal, al nivel de la bifurcación cecal, los folículos confluyen entre sí, formando un

continuo entre ambos campos del cuerpo. Los huevos son operculados, de color amarillo; siendo más largos que anchos, 37-48 µm de largo por 14-21 µm de ancho. El aparato excretor está constituido por una vesícula excretora en forma de "I", que se extiende anteriormente hasta el borde posterior de los testículos; el poro excretor está situado en el extremo posterior del cuerpo.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Hyla regilla Baird and Girard, 1852(= *Pseudacris regilla*):

USA, (Lehmann, 1965: 285).

Rana aurora Baird and Girard, 1852:

San Francisco, California, USA, (Cort 1919: 283-298) Figs.1-5. San Diego & Butte Counties, California, USA, (Ingles 1936: 81). USA, (Walton 1938: 13); USA, (Walton, 1947: 26). Vancouver Island, British Columbia, Western Canada, (Moravec, 1984: 280). Bonsall Creek, Duncan, Vancouver Island and Langley, British Columbia, Canada, (O'Grady, 1987: 52-53, 134)³. Victoria, Columbia Britanica, Canadá, (Rannala, 1990: 746-747), (Rannala, 1991: 805-808); (Rannala, 1992: 993-1000).

Rana aurora draytoni Camp, 1917:

USA, (Walton 1947: 26).

Rana berlandieri:

Los Tuxtlas, Veracruz, (Lamothe *et al.*, 1997: 67)

Rana boylei Baird, 1854:

San Diego and Butte Counties, California, USA, (Ingles 1936: 81. USA, (Walton 1938: 13); (Walton, 1947: 26). Marin & Sonoma Counties, California, USA, (Lehmann, 1960: 10).

Rana dunni :

Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, (Pulido, 1992: 20-23⁸; Pulido, 1994: 205-207; Lamothe *et al.*, 1997: 67). Lagos de Pátzcuaro y Zacapu, Michoacán, México, (Razo-Mendivil 1998: 1-50)⁶; Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 198-200); (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102).

Rana montezumae:

Xochimilco, Distrito Federal, México, (Caballero y Sokoloff, 1934: 337-340); Caballero, 1942: 78). México, (Walton 1938: 18). Xochimilco, Distrito Federal y Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, (Lamothe *et al.*, 1997: 67). Ciénaga de Lerma, Estado de México, México,

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

³ O'Grady, R. T. (1987)

⁸ Pulido F. G. (1992)

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

(Razo-Mendivil, 1998: 1-50)⁶; (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 198-200). Ciénaga de Lerma, Estado de México y Xochimilco, Distrito Federal, México, (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 102).

“*Rana pipiens*”⁷:

Distrito Federal, México, (Caballero y Sokoloff, 1934: 337-340). México, (Walton 1938: 20). Ciénaga de Lerma, Estado de México, México (Caballero, 1942: 78). Virginia, USA, (Cheng, 1959: 74).

***Rana pretiosa*:**

USA, (Lehmann, 1965: 285).

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]

(CNHE)

Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 1181 vouchers, 17 ejemplares. San Pedro Tlaltizapan, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 1461⁺ vouchers, 8 ejemplares. Los Tuxtlas, Veracruz, *R. berlandieri*, intestino, CNHE 1514^x vouchers, 5 ejemplares. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 1561[■] vouchers, 10 ejemplares. Lago de Xochimilco, Distrito Federal, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 2495 vouchers, 8 ejemplares. San Pedro Tlaltizapán, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3235 vouchers. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 3280 vouchers, 4 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 3281 vouchers, 10 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, CNHE 3282 vouchers, 6 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 3283 vouchers, 8 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 3284, vouchers, 9 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 4682[□], vouchers, 12 ejemplares. Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 4683[□], vouchers, 8 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 4684[□], vouchers, 3 ejemplares. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *R. dunni*, intestino, CNHE 4685[□], vouchers, 5 ejemplares.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

⁷ La distribución geográfica de *Rana pipiens* no abarca la República Mexicana

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

⁺ Todos los ejemplares de este lote pertenecen a la especie *G. californiensis*

^x Los ejemplares de este lote pertenecen a la especie *G. tuxtlasensis*.

[■] Un ejemplar de este lote pertenece a *G. quieta*.

[□] Este estudio

(HWML)

México, *R. montezumae*, intestino, HWML 1208 voucher, 1 ejemplar. México, *R. montezumae*, intestino, *R. montezumae*, HWML 21695 voucher, 1 ejemplar. México, *R. montezumae*, intestino, *R. catesbeiana*, HWML 31390 vouchers, 5 ejemplares. Ciénaga de Lerma, Estado de México, México, *R. montezumae*, intestino, HWML 33956 y 33957 vouchers, 2 ejemplares.

(USNPC)

Lago de Zacapu, Michoacán, México, *Rana dunni*, intestino, USNPC 93031, voucher, 1 ejemplar. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *Rana dunni*, intestino, USNPC 93032, voucher, 1 ejemplar. Lago de Zacapu, Michoacán, México, *Rana dunni*, intestino, USNPC 93033, voucher, 1 ejemplar.

CICLO DE VIDA:

Parcialmente descrito por O'Grady (1987). Los adultos que habitan el intestino delgado de *Rana aurora*, liberan los huevos que contienen a un miracidio completamente desarrollado. En el exterior, los huevos son ingeridos por caracoles de las especies *Physa gyrina* y *P. propinqua* Tyron (Physidae); dentro de los caracoles, los miracidios abandonan los huevos y posteriormente, se transforman en esporocistos; no se sabe si hay generaciones de esporocistos madre e hijo. Los esporocistos generan xifidiocercarias que abandonan los caracoles y nadan activamente hasta localizar a las ranas; enseguida se adhieren a la piel y penetran el epitelio, perdiendo la cauda y transformándose en metacercarias que se enquistan en la piel de las ranas. Las metacercarias, alcanzan el estado adulto dentro del intestino de las ranas, después de que han sido ingeridas junto con la piel en los periodos de muda.

GENBANK

Número de acceso: AY278051 – AY278052[□]

Secuencia: Gen ribosomal 28S

Longitud: 1275 pb

Número de acceso: AY278057 – AY278058[□]

Secuencia: Gen citocromo oxidasa 1 (*cox1*)

Longitud: 383 pb

Número de acceso: AY278064 – AY278065[□]

Secuencia: Espaciador interno de transcripción (ITS2)

Longitud: 406 pb

[□] Este estudio

SITIOS WEB RELACIONADOS CON *G. CALIFORNIENSIS*:

<http://brooksweb.zoo.utoronto.ca/index.html>

Glypthelmins parva Travassos, 1924

Figs. 72-74 y 96. Tabla XVI.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glypthelmins parva Travassos, 1924: 3. Fig. 3.

Glypthelmins parva, Miller (1930: 242) [Lista de especies]; Ingles (1936: 82) [Comparación]; Olsen (1937a: 318-320). Lámina II, Fig. 15 [Clave]; Caballero (1938: 130-131 y 147)¹ Fig. 5 [Descripción y clave]; Walton (1938: 10) [Listado]; Rankin (1944: 31, 41) [Considera a *G. parva* como sinónimo de *G. quieta*]; Babero (1951: 104a) [Mención]; Yamaguti (1958: 404) [Lista de especies]; Skrjabin & Antipin (1958: 414, 458-459) Fig. 129 [Descripción]; Belous in Skrjabin & Antipin (1958: 444) [Comparación];

Margeana parva, Cheng (1959: 76, 78-79 y 84) Lámina 2: Fig. 1 [Diagnosis].

Glypthelmins parva Brenes *et al.*, (1959: 194) [Mención]; Byrd & Maples (1963a: 532) [Lista de especies]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas]; Travassos *et al.*, (1969: 232-233) Fig. 157 [Descripción]; Suriano (1970: 232) [Lista de especies]; Nasir & Diaz (1970: 268, 272) [Lista de especies y clave]; Yamaguti (1971: 355) [Lista de especies].

Choledocystus linguatula, Sullivan (1977b: 168) [Considera a *G. parva* sinónimo de *C. linguatula*].

Glypthelmins parva, Arandas-Rego *et al.*, (1979: 22) [Listado de holotipos en el CHIOC]; Prudhoe & Bray (1982: 72) [Listado de especies]; Pérez-Ponce de León *et al.*, (2000: 92, 93, 94, 97, 98, 103) Fig. 11 [Listado de digéneos parásitos de anuros de anfibios de México].

HUÉSPED TIPO: *Cystygnatus ocellatus* (= *Leptodactylus ocellatus*)

HÁBITAT: Intestino

LOCALIDAD TIPO: Brasil

HOLOTIPO: CHIOC 4746

DIAGNOSIS: Esta especie se puede diferenciar por la siguiente combinación de caracteres: Espinas tegumentarias en forma de escamas, que se extienden desde la ventosa oral hasta ligeramente por detrás del margen posterior de los testículos; faringe de menor tamaño que el acetábulo; testículos simétricos, ubicados en la región ecuatorial del cuerpo, intercecales. Bolsa del cirro voluminosa, la cual aloja a una vesícula seminal bipartita (Fig. 74). Útero conformado

¹ Caballero, E. (1938)

por asas uterinas transversales, que ocupan totalmente la región intercecal y en algunos casos llegan a extenderse hasta los ciegos intestinales; las asas uterinas ocupan el extremo posterior del cuerpo. Las glándulas vitelógenas están constituidas por pequeños folículos, los cuales comienzan al nivel de la bifurcación cecal y se extienden por detrás de los bordes posteriores de los testículos (Fig. 72 y 73). Los folículos vitelógenos se sitúan intercecal, cecal y extracecalmente; los folículos intercecales se disponen dorsalmente a los testículos y confluyen en esta misma región (Fig. 72). Los huevos son operculados y miden 26-30 μm de largo por 11-18 μm de ancho.

DESCRIPCIÓN: Los organismos pertenecientes a esta especie presentan cuerpos ovalados, con ambos extremos redondeados, siendo el extremo anterior más aguzado que el extremo posterior. El tegumento está cubierto por pequeñas escamas que se presentan desde el nivel de la ventosa oral y se extienden hasta ligeramente por detrás del borde posterior de los testículos. El acetábulo es esférico, situado en la región preecuatorial y medial del cuerpo. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.49-0.61 de largo por 1:0.53-0.64 de ancho. La prefaringe es inconspicua. La faringe es globosa, siendo más ancha que larga y de menor tamaño que el acetábulo. Los márgenes laterales y el extremo posterior de la faringe están rodeados por glándulas mediales. El esófago, ligeramente más largo que la faringe, se bifurca para originar a los ciegos intestinales. Los ciegos intestinales son delgados, similares en longitud y se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo. Los testículos son más anchos que largos, ovalados, intercecales y dispuestos simétricamente en la región ecuatorial del cuerpo. La bolsa del cirro es voluminosa, coniforme; ubicada dorsalmente al acetábulo y dirigida de derecha a izquierda hasta la región preecuatorial. En su interior, aloja a una vesícula seminal bipartita y a un cirro enrollado. El poro genital es medial, situado entre la bifurcación cecal y el borde anterior del acetábulo. El ovario es casi triangular, ubicado en el extremo izquierdo y dorsal del acetábulo. El receptáculo seminal es ovoide, ubicado entre el margen posterior del ovario y el borde anterior del testículo izquierdo. El útero está constituido por asas uterinas transversales, las cuales ocupan la región intercecal; alcanzando en algunos casos hasta la región cecal; posteriormente, se extienden hasta el final del cuerpo abarcándolo totalmente. En la región testicular, las asas uterinas corren ventralmente a los testículos cubriéndolos casi por completo. Pretesticularmente, el asa uterina ascendente origina al metratermo, el cual es muscular y casi de la misma longitud que la bolsa del cirro. No se presentan asas uterinas pretesticulares. Las glándulas vitelógenas están constituidas por folículos pequeños, los cuales se distribuyen desde la región comprendida entre la bifurcación cecal y poro genital hasta por detrás de los bordes posteriores de ambos testículos. Los folículos se disponen dorsal, lateral y ventralmente a los ciegos intestinales. Los folículos intercecales se ubican dorsalmente a los

testículos y confluyen en la región dorsal a los mismos. Los huevos son operculados y miden 26-30 µm de largo por 11-18 µm de ancho. Vesícula excretora en forma de "I" que desemboca en un poro excretor terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Hyla leucophyllata (Beireis, 1783):

Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, (Burseley *et al.*, 2001: 24, 28).

***Leptodactylus ocellatus*:**

Brasil, (Travassos, 1924: 3). Fig. 3. Brasil, (Walton 1938: 10). Brasil, (Travassos *et al.*, 1969: 233).

Phrynohyas coriacea (Peters, 1867):

Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, (Burseley *et al.*, 2001: 24, 29).

***Rana vaillanti*:**

Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 103); (Paredes, 2000: 33, Fig. 14)⁵.

Scinax pedromedinai (Henle, 1991):

Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, (Burseley *et al.*, 2001: 25, 29).

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]

(CNHE)

Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz, México. *Rana vaillanti*, intestino; CNHE 3391 voucher, 1 ejemplar. Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz, México; *Rana vaillanti*, intestino; CNHE 4115 voucher, 1 ejemplar. Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz, México; *Rana vaillanti*, intestino; CNHE 4690 vouchers, 4 ejemplares[□].

INSTITUTO OSWALDO CRUZ (CHIOC) SAO PAULO, BRASIL

Brasil, *Cystygnatus ocellatus*, intestino, CHIOC 4746, holotipo, 1 preparación.

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

⁵ Paredes-Calderón, L. (2000) Helmintos parásitos de *Rana vaillanti* Brocchi, 1877 (Anura: Ranidae) de la estación de biología tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias, UNAM, México. 69 pp.

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[□] Este estudio

(USNPC)

Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, *Hyla leucophyllata*, intestino delgado, USNPC 89522, voucher, 1 preparación. Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, *Phrynohyas coriacea*, intestino delgado, USNPC 89536, voucher, 1 preparación. Reserva Cuzco Amazónico, 15 Km NE Puerto Maldonado, Departamento Madre de Dios, Perú, *Scinax pedromediani*, quiste estomacal, USNPC 89565, voucher, 1 vial, metacercarias.

Glyphelmins intestinalis (Lucker, 1931), O'Grady, 1987

Figs. 75-78 y 97. Tabla XVII.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Haplometrana intestinalis Lucker, 1931: 1-7. Figs. 1-4.

Haplometrana utahensis, Olsen, 1937b: 13-28 (Descripción y ciclo de vida)

Haplometrana intestinalis, Olsen (1937a): 318-319 y 321. Lámina II, Fig. 24. [Especies válidas y clave].

Haplometrana utahensis, Olsen (1937a: 318-319 y 321) Lámina II, Fig. 25 [Especies válidas y clave]; Yamaguti (1958: 495) [Especie válida]; Skrjabin & Antipin (1958: 499-500, 503, 505-507, 509) Figs. 144, 145 [descripción, clave y ciclo de vida].

Haplometrana intestinalis, Yamaguti (1958: 405) Lámina 55 Fig. 671 [Diagnosis genérica]; Skrjabin & Antipin (1958: 496, 499-501) Fig. 143 [descripción y clave]; Waitz (1959: 385-387) [Sinonimiza a *Haplometrana utahensis* con *Haplometrana intestinalis*]; Walton (1962: 24) [listado]; Yamaguti (1971: 353) Lámina 162, Fig. 826 [Diagnosis genérica]; Prudhoe & Bray (1982: 78, 123-124) Fig. 69 [Diagnosis genérica y ciclo de vida]; Schell (1985: 176, 178) Fig. 512 [Ciclo de vida]

Glyphelmins intestinalis, O'Grady (1987: 52)³ [Transfiere a *Haplometrana intestinalis* a *Glyphelmins intestinalis*].

Haplometrana intestinalis, Rannala (1990: 746-747) [Estudio de alozimas]; Rannala (1991: 805-808) [Estudio de alozimas]; Rannala (1992: 993-1000) [Estudio de alozimas].

Glyphelmins intestinalis, Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43-46, 49, 271-273). Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13, 34 [Hipótesis filogenética].

HUÉSPED TIPO: *Rana pretiosa*

HÁBITAT: Intestino

LOCALIDAD TIPO: Bothell, King County, Washington, USA.

³ O'Grady, R. T. (1987)

HOLOTIPO: USNPC 29903

DIAGNOSIS: Las características que distinguen a esta especie de las demás especies del género *Glyphelmins* son, cuerpo alargado; relación entre la anchura- longitud del cuerpo mayor a 7 veces (Figs. 75-76); esófago más largo que la ventosa oral, acetábulo con disco suctorial muscular y con 9 papilas alrededor del mismo (Fig. 77); testículos ovalados, situados en tándem, glándulas vitelógenas foliculares que comienzan en el margen posterior del ovario y se extienden hasta el último tercio del cuerpo. Folículos vitelógenos, intercecales, cecales y extracecales. Los folículos intercecales confluyen en la región posterodorsal de los testículos (Fig. 76).

DESCRIPCIÓN: Organismos de cuerpo alargado con el extremo anterior y posterior redondeados. Relación entre el ancho y el largo del cuerpo mayor a 6 veces. El tegumento presenta pequeñas escamas, que se extienden desde el extremo anterior del cuerpo y hasta el último tercio del cuerpo. La ventosa oral es subterminal y casi esférica; presenta una evaginación en el borde anterior y un par de papilas en la abertura bucal. El acetábulo se ubica en la región pre-ecuatorial y medial del cuerpo; es esférico y de menor tamaño que la ventosa oral; presenta un disco suctorial muscular, cuyo margen exterior está rodeado por 9 pequeñas papilas. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.58. La prefaringe es conspicua. La faringe globosa y muscular, de menor tamaño que el acetábulo. La faringe se encuentra rodeada por pequeñas glándulas mediales, las cuales se extienden también a lo largo del esófago. El esófago es delgado y de mayor longitud que la ventosa oral; a su vez, el esófago da origen a los ciegos intestinales que se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo. Los testículos son esféricos u ovals, dispuestos en tándem y ubicados en la región ecuatorial del cuerpo. Principalmente, se sitúan en la región intercecal; sin embargo, en algunas ocasiones se sitúan ventralmente a los ciegos intestinales y alcanzan la región externa de los mismos. La bolsa del cirro es voluminosa y alargada; en su interior, aloja a una vesícula seminal bipartita, que se continúa con la glándula prostática y un cirro liso y sinuoso que desemboca en el poro genital. Este último, está situado medialmente y por delante del margen anterior del acetábulo. El ovario ovoide, se ubica en el lado izquierdo del cuerpo y dorsalmente al acetábulo; de menor tamaño que los testículos. El receptáculo seminal es ovalado, situado en la parte postero-dorsal del ovario. La glándula Mehlis es poco evidente, ya que se encuentra cubierta casi en su totalidad por el receptáculo seminal. El útero está constituido por numerosas asas uterinas intercecales y cecales, que ocupan totalmente el extremo posterior del cuerpo. En la región en donde se ubican los testículos, el receptáculo seminal y el margen posterior del ovario, las asas uterinas corren ventralmente a estas estructuras y enseguida dan origen al

metratermo, el cual es muscular y casi del mismo tamaño que la bolsa del cirro. Las glándulas vitelógenas son foliculares, comienzan en la región en donde se sitúa el receptáculo seminal y se extienden posteriormente hasta más allá del borde posterior de los testículos. Los folículos intercecales, se disponen dorsalmente a los testículos y confluyen en la región posterior a los mismos. Los huevos son operculados y miden de 48-58 µm de largo por 18-26 µm de ancho. La vesícula excretora es en forma de "I" y se extiende anteriormente hasta por detrás del testículo posterior; el poro genital es terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

***Bufo boreas*:**

Idaho, USA, (Waitz, 1959: 387); Idaho, USA, (Waitz, 1961: 98). USA, (Walton 1962: 24) como *Haplometra*.

***Rana luteiventris*:**

Glacier National Park, Montana, USA[▪].

***Rana pretiosa*:**

Bothell, Washington, USA, (Lucker, 1931: 1-7). Springville, Utah, USA, (Olsen, 1937b: 15). Idaho, USA, (Waitz, 1959: 387). Idaho, USA, (Waitz, 1961: 89). North West, USA, (Pratt & McCauley, 1961: 74). Idaho, USA, (Waitz, 1962: 153). Spokane County, Washington, USA, (Current & Lang, 1975: 681). Postill Lake, Kelowna, British Columbia (Holmes com. per. in O'Grady, 1987: 133)³ [Ejemplares identificados como *Glypthelmins* sp. y re-identificados como *Haplometrana intestinalis* por O'Grady, 1987: 133]³. Coleman, Alberta, Canada, (Holmes com. per. in O'Grady, 1987: 133)³. Manning Park, Okanagan Falls, Wilgress Lake, Champion Lakes, Creston and Loon Lake, British Columbia, Canada and Pelican Creek, Wyoming, USA (O'Grady, 1987: 52, 135, 139)³. Trail, Columbia Britanica, Canadá, (Rannala, 1990: 746-747); (Rannala, 1991: 806-807); (Rannala, 1992: 995). Northern Idaho, USA, (Russell & Wallace, 1991: 122-127).

***Rana pipiens*:**

Lake and Flathead counties, Montana, USA, (Holmes com. per. in O'Grady, 1987: 133)³.

***Rana pretiosa* x *Rana sylvatica*:**

Idaho, USA, (Waitz, 1959: 387).

***Rana sylvatica*:**

Gorge Creek, Alberta, Canada, (Holmes com. per. in O'Grady, 1987: 133)³.

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

[▪] Nuevo registro de huésped y localidad

³ O'Grady, R. T. (1987)

Lymnaea stagnalis urasatchensis (Linnaeus, 1758):

Spokane County, Washington, USA (Current & Lang, 1975: 681)

Lymnaea bulimoides Lea, 1841

Spokane County, Washington, USA (Current & Lang, 1975: 681)

Helisoma trivolvis (Say, 1816):

Spokane County, Washington, USA (Current & Lang, 1975: 681)

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

(CNHE)

Glacier National Park, Montana, U.S.A., *R. luteiventris*, intestino, CNHE 4692[□] vouchers, 2 ejemplares.

(USNPC)

Bothell, Washington, USA, *R. pretiosa*, intestino, USNPC 29903 holotipo, 1 preparación; USNPC 29904 paratipos, 2 preparaciones; USNPC 31021, vouchers, 5 preparaciones. Springville, Utah, USA, *R. pretiosa*, intestino, USNPC 9025* holotipo, 1 preparación; USNPC 9026[†] paratipos, 2 preparaciones.

CICLO DE VIDA:

Elucidado por Olsen (1937b), Schell (1965) y Current and Lang (1975). Los adultos, habitan el intestino delgado de *Rana pretiosa*, liberan huevos embrionados que llegan al medio acuático a través de las heces. Los huevos son ingeridos por caracoles pertenecientes a los géneros *Physa*, *Helisoma* y *Lymnaea*; dentro de los huéspedes intermediarios los huevos eclosionan y liberan a los miracidios, los cuales penetran el epitelio del estómago o de la parte anterior del intestino y se aloja entre la base epitelial y la membrana superior del mismo. Los miracidios originan esporocistos madre, que a su vez producen esporocistos hijos. En estos últimos, se desarrollan xifidiocercarias lofocercas, que emergen del caracol y nadan libremente buscando a las ranas; al encontrarlas, las cercarias penetran la piel de las ranas, pierden la cauda y se transforman en metacercarias que se enquistan en la epidermis de los anuros. Las metacercarias son ingeridas junto con la piel que va siendo mudada por el huésped, cerrándose de esta manera el ciclo de vida.

Glythelmins shastai Ingles, 1936

Figs. 79 y 97. Tabla XVIII.

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[□] Este estudio

* Los lotes USNPC 9025 y 9026 están identificados bajo el nombre de *Haplometrana utahensis*

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glyphelmims shastai Ingles, 1936: 81-82, Lámina XVI, Fig. 1. (Descripción)

Glyphelmims shastai, Olsen (1937a: 318-320), Lámina II, Fig. 18 [Clave]; Walton (1938: 8) [Listado]; Caballero (1938: 144-145 y 148)¹. Fig. 11 [Descripción y clave]; Teixeira de Freitas (1941: 40) [Comparación]; Rankin (1944: 31, 41) [Sinonimiza *G. shastai* con *G. quieta*]; Babero (1951a: 104) [Mención]; Skrjabin & Antipin (1958: 413-415, 471, 473) Fig. 134 [descripción y clave]; Cheng (1959: 80, 82- 84) Lámina 3, Fig. 1 [Reestablece el género *Margeana* y transfiere a *G. shastai* a este género]; *Glyphelmims shastoi*, Yamaguti (1958: 404) [Lista de especies].

Glyphelmims shastai, Skrjabin & Antipin (1958: 444, 465, 471, 473) Fig. 134 [Descripción]; Brenes *et al.*, (1959: 194) [Mención]; Byrd & Maples (1963a: 533) [Lista de especies]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas]; Suriano (1970: 232) [Lista de especies].

Glyphelmims linguatula, Nasir & Diaz (1970: 263) [Sinonimizan a *G. shastai* con *G. linguatula*]

Glyphelmims shastai, Yamaguti, (1971: 355) [Lista de especies]; Sullivan (1976: 117, 119, 120, 122-123) [descripción]; Brooks (1976a: 432) [Comparación]; Brooks 1977: 279 [Hipótesis filogenética]; Prudhoe & Bray (1982: 74) [Listado]; O'Grady (1987)³ [Hipótesis filogenética]; Rannala (1992: 994) [Mención]; Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43-46, 271-273) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13, 34 [Hipótesis filogenética]

HUÉSPED TIPO: *Bufo boreas*

HÁBITAT: Intestino

LOCALIDAD TIPO: Glenburn, Shasta County, California USA

HOLOTIPO: USNPC 8925

DIAGNOSIS: Esta especie se puede diferenciar por la siguiente combinación de caracteres: Espinas tegumentarias en forma de escamas, que se extienden desde la ventosa oral hasta el extremo posterior del testículo izquierdo; faringe globosa más chica que el acetábulo; testículos oblicuos con los bordes laterales internos juntos; bolsa del cirro extremadamente larga, dirigida desde la región opuesta al ovario hasta por delante del acetábulo. Asas uterinas intercecales; se extienden posteriormente y ocupan en su totalidad el extremo posterior del cuerpo. Metratermo muscular, más corto que la bolsa del cirro. Glándulas vitelógenas foliculares; intercecales, cecales y extracecales. Anteriormente, se distribuyen hasta el nivel del poro genital y posteriormente alcanzan la región intermedia entre los testículos y el extremo final de los ciegos intestinales (Fig. 79). Huevos operculados, 41-46 µm de largo por 14-17 µm de ancho.

¹ Caballero, C. E. (1938)

³ O'Grady, R. T. (1987)

DESCRIPCIÓN: Organismos alargados con ambos extremos redondeados. Tegumento cubierto por pequeñas escamas que se originan desde la región de la ventosa oral y se extienden hasta el último tercio del cuerpo. La ventosa oral es subterminal y esférica. El acetábulo se ubica en la región preecuatorial y medial del cuerpo; es redondo y de menor tamaño que la ventosa oral. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.75. La prefaringe es corta y se continúa con una faringe globosa, la cual es más larga que ancha. La faringe está rodeada por pequeñas glándulas mediales. El esófago es largo y se encuentra rodeado en toda su extensión por células glandulares. Los ciegos intestinales son delgados, simétricos y se extienden hasta el extremo posterior del cuerpo. Los testículos son ovalados, de borde lisos, dispuestos oblicuamente en la región ecuatorial y con los bordes internos haciendo contacto entre sí. El testículo derecho es anterior al testículo izquierdo y ligeramente se sobrepone con el ciego intestinal. La bolsa del cirro es voluminosa, recta y muy larga; dirigida desde el lado derecho de la región ovárica, pasando por debajo del acetábulo y alcanzando el área intermedia entre el margen anterior del acetábulo y la bifurcación cecal. En su interior, se aloja una vesícula seminal bipartita, seguida por una glándula prostática y un cirro alargado y liso. El poro genital es medial, situado entre la bifurcación cecal y el borde anterior del acetábulo. El ovario es subesférico u ovalado, situado en el lado izquierdo del cuerpo y posterior al acetábulo, nunca por debajo de esta última estructura. El receptáculo seminal es subesférico, ubicado por delante del margen anterior del testículo derecho y a la derecha del ovario. El útero está constituido por asas uterinas transversales que ocupan totalmente la región intercecal y se extienden hasta la región posterior a los ciegos intestinales. Al nivel de los testículos, corre el útero ascendente que ventralmente cubre de manera parcial al testículo izquierdo y que da origen al metratermo. El metratermo es muscular, de menor tamaño que la bolsa del cirro y se dirige dorsalmente a la bolsa del cirro, curvándose ligeramente y desembocando en el poro genital. No existen asas uterinas pretesticulares. Las glándulas vitelógenas son foliculares; anteriormente, se extienden desde el nivel en donde se ubica el poro genital y alcanzan la región intermedia entre el borde posterior del testículo izquierdo y el margen posterior de los ciegos intestinales. Los folículos se disponen dorsal, lateral y ventralmente a los ciegos. Los folículos intercecales se ubican por delante y por detrás de los testículos; sin embargo nunca llegan a confluir. Los huevos son operculados y miden 41-46 μm de largo por 14-17 μm de ancho. La vesícula excretora tiene forma de "I" y se extiende hasta la región posterior al testículo izquierdo; desembocando en el poro excretor terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

***Bufo boreas*:**

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

Shasta County, California, USA, (Ingles, 1936: 81). USA, (Walton 1938: 8). Gorge Creek, R. B. Miller Biological Station. 60 km SW of Calgary, Alberta; Nelson, British Columbia, Canada, (Holmes, com. per. in O'Grady, 1987: 130-131)³.

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

(USNPC)

Glenburn, Shasta County, California, *Bufo boreas*, intestino, USNPC 8925 holotipo 1 preparación.

(HWML)

HWML 23661, sin datos.

Glythelmins facioi Brenes, Jiménez-Quiroz, Arroyo & Delgado, 1959
Figs. 80-81 y 96. Tabla XIX.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glythelmins facioi Brenes, Jiménez-Quiroz, Arroyo & Delgado, 1959: 193-194, Fig 2 (Descripción)

Glythelmins facioi, Brenes (1961: 72) [Catálogo]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas]; Suriano (1970: 233) [Lista de especies].

Glythelmins proximus, Nasir & Diaz (1970: 268) [Sinonimizan a *G. facioi* con *G. proximus*].

Glythelmins facioi, Yamaguti (1971: 354) [Lista de especies]; Sullivan (1976: 119-120) Figs. 1-4 [Redescripción]; Brooks (1976a: 431-432) [Comparación]; Brooks (1977: 279-280) [Hipótesis filogenética]; Sullivan (1977: 169) [Comparación de la vesícula excretora]; Prudhoe & Bray (1982: 70) [Listado]; Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43, 44, 45, 47, 49, 271, 273) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13-2.15, 34 [Hipótesis filogenética].

HUÉSPED TIPO: *Rana pipiens*

HÁBITAT: Intestino delgado

LOCALIDAD TIPO: Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica

HOLOTIPO: CHCR 200-22

DIAGNOSIS: Esta especie se puede diferenciar por la siguiente combinación de caracteres: Espinas tegumentarias en forma de escamas, que se extienden desde la ventosa oral hasta el extremo posterior de los testículos; faringe más ancha que el acetábulo; testículos oblicuos;

³ O'Grady, R. T. (1987)

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

bolsa del cirro larga y voluminosa (Fig. 81); asas uterinas intercecales y cecales, las cuales ocupan totalmente el extremo posterior del cuerpo. Las glándulas vitelógenas son foliculares; inician en la región comprendida entre la bifurcación cecal – poro genital y se extienden hasta ligeramente por detrás del borde posterior de los testículos. Los folículos vitelógenos se disponen intercecal, cecal y extracecalmente (Fig. 80); los folículos intercecales confluyen dorsalmente en la región posterior a los testículos. Huevos con longitudes mayores a 30 μm .

DESCRIPCIÓN: Organismos de cuerpo alargado con los extremos anterior y posterior redondeados, siendo el extremo posterior más aguzado que el anterior. El tegumento se encuentra cubierto parcialmente por escamas, que se distribuyen desde el nivel de la ventosa oral hasta la región testicular. La ventosa oral es subterminal y casi esférica. El acetábulo es casi esférico; preecuatorial y medialmente situado. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.58. La prefaringe es corta y se continúa con una faringe globosa, la cual es más ancha que el acetábulo. Los extremos anterior y posterior de la faringe se encuentran rodeados por glándulas mediales. El esófago es largo y ancho, al igual que la faringe el esófago está rodeado por células glandulares. Los ciegos intestinales delgados, terminan a corta distancia del extremo posterior del cuerpo. Los testículos casi esféricos, son de borde lisos y están dispuestos oblicuamente en la región ecuatorial. Testículo derecho anterior al testículo izquierdo. La bolsa del cirro es recta y larga; se dirige desde la región post-acetabular derecha hacia la región pre-acetabular izquierda; alberga una vesícula seminal bipartita, seguida por una glándula prostática y un cirro liso. El poro genital es medial, situado entre la bifurcación cecal y el margen anterior del acetábulo. El ovario esférico, se ubica al lado izquierdo del acetábulo y es de menor tamaño que los testículos. El receptáculo seminal es subesférico, ubicado por delante del margen anterior del testículo derecho. El útero está constituido por numerosas asas uterinas transversales que ocupan totalmente la región intercecal y en algunos casos, se extienden hasta la región cecal; posteriormente, ocupan totalmente la región posterior a los ciegos intestinales. En la región ecuatorial, las asas uterinas corren ventralmente a los testículos y dan origen al metratermo. Asas uterinas pretesticulares ausentes. El metratermo es muscular, ligeramente más largo que la bolsa del cirro y se dispone dorsalmente a esta estructura. Las glándulas vitelógenas son foliculares; anteriormente, se extienden hasta la región en donde se ubican el poro genital y la bifurcación cecal; posteriormente, sobrepasan el borde posterior del testículo izquierdo. Los folículos se disponen dorsal, lateral y ventralmente a los ciegos. Los folículos intercecales se ubican dorsalmente a los testículos y confluyen en la región posterior de los mismos. Los huevos son operculados y miden 33-47 μm de largo por 12-20 μm de ancho. La vesícula excretora tiene forma de "I" y se extiende hasta la región posterior al testículo izquierdo; del extremo anterior de la vesícula excretora nacen dos túbulos colectores

principales, que se dirigen anteriormente y dan origen a túbulos secundarios. Posteriormente, la vesícula excretora desemboca en el poro excretor, el cual es terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

“Rana pipiens”

Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica, (Brenes *et al.*, 1959: 194).

Coris y Turrialba, Provincia de Cartago, Costa Rica, (Sullivan, 1976: 119).

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

COLECCIÓN DE HELMINTOS DE COSTA RICA, SAN JOSÉ (CHCR)

Corís, Provincia de Cartago, Costa Rica, *R. pipiens*, CHCR 202-22, holotipo 1 preparación.

(USNPC)

Coris and Turrialba, Cartago Province, Costa Rica, *Rana pipiens*, USNPC 72275, vouchers, 2 preparaciones.

GENBANK

Número de acceso: AY278046[□]

Secuencia: Gen ribosomal 28S

Longitud: 1275 pb

Número de acceso: AY278053[□]

Secuencia: Gen citocromo oxidasa 1 (*cox1*)

Longitud: 383 pb

Número de acceso: AY278060[□]

Secuencia: Espaciador interno de transcripción (ITS2)

Longitud: 414 pb

SITIOS WEB RELACIONADOS CON *G. FACIOI*:

<http://brookswb.zoo.utoronto.ca/index.html>

***Glythelmins pennsylvaniensis* Cheng, 1961**

Figs. 82-83 y 97. Tabla XX.

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[□] Este estudio

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glyphelmims pennsylvaniensis, Cheng, 1961a: 469-477, Lámina 1, Figs. 1-7 y Lámina 2, Figs. 8-15 (Descripción y ciclo de vida)

Glyphelmims pennsylvaniensis, Cheng (1961b: 10-22) Lámina 1 Figs. 1-16, Lámina 2, Figs. 2-14 [Morfogénesis y desarrollo de células germinales en esporocistos y cercarias]; Cheng & Snyder (1962: 327-331) Figs. 5-8 [Huésped intermediario y cercarias]; Walton (1962: 25) [Listado].

Choledocystus pennsylvaniensis Byrd & Maples (1963a: 521-536) Figs. 1-8 [Transfieren a *Glyphelmims pennsylvaniensis* al género *Choledocystus*]; Byrd & Maples (1963b: 42) [Sistema excretor].

Glyphelmims pennsylvaniensis, Cheng & Cooperman (1964: 12-23) Figs. 5-12 [Esporcistos y cercarias]; Nasir (1966: 169) [Lista de especies válidas]; Martin (1969: 747 y 751) [Comparación].

Choledocystus pennsylvaniensis, Sullivan & Byrd (1970: 384-396) Figs. 1-16 [Ciclo de vida].

Glyphelmims pennsylvaniensis, Suriano (1970: 233) [Lista de especies válidas]. Nasir & Diaz (1970: 268 y 272) [Lista de especies y clave]; Yamaguti (1971: 355) [Lista de especies].

Hylotrema pennsylvaniensis, Sullivan (1972: 1-158)² [Transfiere a *G. pennsylvaniensis* al género *Hylotrema*].

Glyphelmims pennsylvaniensis, Yamaguti (1975: 102-103) Lámina 53, Figs. 476-482 [Ciclo de vida]; Brooks (1977: 279, 283) [Hipótesis filogenética].

Choledocystus pennsylvaniensis, Sullivan (1977b: 169) [Considera que la especie debe ser removida del género *Choledocystus*].

Glyphelmims pennsylvaniensis, Prudhoe & Bray (1982: 72) [Listado].

Hylotrema pennsylvaniensis, Schell (1985: 176) [Ciclo de vida]

Glyphelmims pennsylvaniensis, Rannala (1990: 746) [Estudio de alozimas]; Rannala (1991: 805-808) [Estudio de alozimas]; Rannala (1992: 993-1000) [Estudio de alozimas]; Muzzall & Peebles (1991: 263-264) [Registro]; Brooks & McLennan (1993: 40-46, 271-272) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13, 34 [Hipótesis filogenética]; Joy & Dowell (1994: 227-229) [Infracomunidad]; Tucker & Joy (1996: 42-46) [Relación infección-tamaño del huésped]; Bolek & Coggins (1998: 212-218) [Infracomunidad].

HUÉSPED TIPO: *Pseudacris crucifer* (= *Hyla crucifer*)

HÁBITAT: Intestino

LOCALIDAD TIPO: Lake Warren, Pennsylvania, USA

HOLOTIPO: USNPC 59515

² Sullivan, J. J. (1972)

DIAGNOSIS: Las características distintivas de los organismos pertenecientes a ésta especies son: Espinas tegumentarias escamiformes, las cuales cubren totalmente la superficie corporal; la relación ventosa oral – acetábulo $1: \geq 0.7$. Glándulas mediales bien desarrolladas y situadas a ambos lados de la faringe. Bolsa del cirro curvada. Útero constituido por numerosas asas uterinas transversales. Las asas uterinas ocupan el área intercecal, cecal y extracecal. Posteriormente, ocupan el final del cuerpo. Asas pretesticulares presentes, las cuales ocupan totalmente el área en donde se ubican el receptáculo seminal y el ovario y se extienden hasta el borde posterior del acetábulo. Las glándulas vitelógenas están constituidas por pequeños folículos; los folículos vitelógenos se distribuyen lateralmente a los ciegos intestinales. El área que ocupan las glándulas vitelógenas va desde la región esófago-bifurcación cecal hasta ligeramente por detrás del borde posterior del testículo izquierdo (Figs. 82).

DESCRIPCIÓN: Los organismos pertenecientes a esta especie presentan cuerpos alargados, con ambos extremos redondeados. Tegumento cubierto por pequeñas espinas que ocupan la totalidad de la superficie corporal. La ventosa oral es subterminal, esférica y de mayor tamaño que la faringe y el acetábulo. El acetábulo es de forma esférica; se ubica en la región ecuatorial y medial del cuerpo. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de $1: \geq 0.7$. La boca abre en el centro de la ventosa oral. La prefaringe es pequeña y se continúa con una faringe globosa, la cual es menos ancha que el acetábulo. La faringe está rodeada por glándulas mediales, que llegan a extenderse hasta la región esofágica. El esófago es corto y ancho. Los ciegos intestinales son delgados y se extienden a cierta distancia del extremo posterior del cuerpo. Los testículos son casi esféricos, oblicuos; ubicados en la región ecuatorial del cuerpo, completamente intercecales y de difícil observación ya que las asas uterinas los cubren totalmente. La bolsa del cirro es ligeramente curvada; alberga en su interior a la vesícula seminal y a un cirro enrollado. El poro genital se ubica enseguida del margen anterior del acetábulo y sobre la línea media del cuerpo. El ovario se sitúa al lado izquierdo del acetábulo o ligeramente posterior a éste, es de forma ovalada y de menor tamaño que los testículos. El receptáculo seminal es ovoide y se ubica por detrás del margen posterior del acetábulo. El útero es sinuoso; constituido por numerosas asas uterinas transversales, ocupa totalmente las regiones intercecal, cecal y la mayor parte de la región extracecal de los ejemplares. Posteriormente, el útero se extiende por detrás del final de los ciegos intestinales, ocupando totalmente esta región. Las asas uterinas en la región testicular se disponen ventralmente a los testículos. Los organismos presentan asas uterinas pretesticulares bien desarrolladas que, en algunos casos, llegan a cubrir al receptáculo seminal y al ovario; a la altura del borde posterior del acetábulo el asa uterina descendente da origen al metratermo muscular que desemboca en el poro genital. Las glándulas vitelógenas están constituidas por folículos pequeños que se

distribuyen desde la región esófago-bifurcación cecal; posteriormente, sobrepasan ligeramente el extremo posterior del testículo izquierdo. Los folículos se sitúan lateral y dorsalmente a los ciegos intestinales. Los huevos son operculados de color amarillento; miden 30-38 µm de largo por 15-21 µm de ancho. El aparato excretor está conformado por una vesícula excretora tubular en forma de "I", que se extiende anteriormente hasta la región posterior a los testículos. El poro excretor desemboca en el extremo posterior del cuerpo.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Hyla cinerea (Schneider, 1799):

Savannah River Plant, South Carolina, USA, (Sullivan, 1972: 47)²

Hyla crucifer Wied-Neuwied, 1838: = *Pseudacris crucifer*

Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA, (Cheng, 1961a: 469-477). USA (Walton, 1962: 25). Bucks County, Pennsylvania and Clarke and Chatham Counties, Georgia, USA, (Byrd & Maples, 1963a: 42), (Byrd & Maples, 1963b: 521, 524). Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA, (Martin, 1969: 747). Farmington, Oconee County, Georgia and Franklin Counties, Tennessee, USA (Sullivan & Byrd, 1970: 384, 390). Savannah River Plant, South Carolina y Chatham County Georgia, USA (Sullivan, 1972: 47)². Haliburton, Ontario, Canadá, (Rannala, 1990: 746-747), (Rannala 1991: 805-808), (Rannala 1992: 993-1000).

Hyla chrysoscelis Cope, 1880:

Waukesha County, Wisconsin, USA, (Bolek & Coggins, 1998).

Pseudacris crucifer crucifer.

Otis Lake, Barry Game Area, Barry County, Michigan, USA, (Muzzall & Peebles, 1991: 263-264). Wayne County, West Virginia, USA, (Joy & Dowell, 1994: 227-229). Marshes Beech Fork and Shoals, Wayne County; Marsh Green Bottom Wildlife Management Area, Cabell County, West Virginia, USA, (Tucker & Joy, 1996).

Pseudacris nigrita:

Bucks County, Pennsylvania; Athens, Clarke and Chatham Counties, Georgia, USA, (Byrd & Maples, 1963a: 42), (Byrd & Maples 1963b: 521, 524). Oconee County, Georgia, USA, (Sullivan, 1972: 47)². Savannah River Plant, South Carolina, USA, (Sullivan, 1972: 47)².

Pseudacris triseriata:

Colorado, USA, (Ubelaker *et al.*, 1967: 177). Rose Lake Wildlife Area, Shiawassee & Clinton Counties, Michigan, USA, (Muzzall & Peebles, 1991: 263-264).

Pseudacris triseriata triseriata Schwartz, 1957:

Waukesha County, Wisconsin, USA, (Bolek & Coggins, 1998: 212-215).

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

² Sullivan, J. J. (1972)

***Rana sylvatica*:**

Fairfield County, Ohio, USA, (Sullivan, 1972: 47)².

Helisoma trivolvis (Say, 1817):

Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA, (Cheng, 1961b: 10-22), (Cheng & Snyder, 1962: 327-331).

Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA, (Cheng & Cooperman, 1964: 12-23).

***Physa gyrina*:**

Infección experimental (Sullivan & Byrd, 1970: 384).

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]

(CNHE)

Cabell County, West Virginia, U.S.A., *P. c. crucifer*, intestino, CNHE 4693[□], vouchers, 3 ejemplares.

(USNPC)

State Game Preserve #56, Lake Warren, Bucks County, Pennsylvania, USA, *Hyla crucifer*, intestino delgado, USNPC 59515 holotipo y paratipos. Savannah River Plant, Aiken county, South Carolina, USA, *Hyla cinerea*, intestino delgado, USNPC 72272, voucher, 1 preparación (= *Hylotrema pennsylvaniensis*). Farmington, Oconee County, Georgia, USA, *Pseudacris nigrita*, intestino delgado, USNPC 72273 voucher, 1 preparación (= *Hylotrema pennsylvaniensis*). Farmington & Bishop Counties, Georgia, USA, *Hyla crucifer*, intestino delgado, USNPC 72274, vouchers, 3 preparaciones (= *Hylotrema pennsylvaniensis*). Vestal Nature Preserve, Binghamton, New York, USA, *Hyla crucifer*, intestino delgado, USNPC 76745, vouchers, 5 preparaciones (= *Choledocystus pennsylvaniensis*). Rose Lake, Shiawassee County, Michigan; USA, *Pseudacris triseriata*, USNPC 81867, voucher, 1 preparación. Beech Fork Lake, Wayne County, West Virginia USA, *Pseudacris crucifer crucifer*, intestino delgado, USNPC 83429, vouchers, 2 preparaciones. 6 Km SW Melbourne, Izard County, Arizona, USA, *Pseudacris crucifer*, intestino delgado, USNPC 84279, voucher, 1 preparación. Psicataway, North Dakota, USA, *Hyla crucifer*, USNPC 90918, vouchers, 4 preparaciones, 17 ejemplares.

(HWML)

Ozaukee County (43°23'N, 88°2' W), Wisconsin, USA, *Pseudacris crucifer*, intestino delgado, HWML 15240, voucher, 1 ejemplar. Wisconsin, USA, *Hyla crucifer*, intestino; HWML 21343, voucher, 1 ejemplar. –Wisconsin, USA, *Pseudacris crucifer*, intestino delgado, HWML 38397, voucher, 1 ejemplar. –Wisconsin, USA, *Pseudacris triseriata*, intestino, HWML 39470, voucher, 1 ejemplar.

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[□] Este estudio

CICLO DE VIDA:

Descrito por Cheng (1961a), Sullivan & Byrd (1970) y Sullivan (1972)². Los adultos habitan el intestino delgado de algunos miembros de la familia Hylidae; los huevos, con el miracidio completamente formado, son liberados al medio acuático a través de las heces del huésped definitivo. En el exterior, los huevos son ingeridos por caracoles de las especies *Helisoma trivolvis* y *Physa gyrina*; al entrar en contacto con los jugos intestinales del huésped intermediario, los huevos eclosionan liberando al miracidio. Los miracidios se transforman en esporocistos madre, que se ubican a todo lo largo de la superficie intestinal exterior del caracol. Los esporocistos madre dan origen a esporocistos hijos, que en etapas tempranas se ubican libremente en la cavidad corporal y posteriormente, migran hacia el hepatopáncreas. Los esporocistos hijos, originan cercarias que carecen de estiletes; éstas emergen del caracol y nadan activamente hasta encontrar a los renacuajos que funcionan a su vez como segundo huésped intermediario y huésped definitivo. Se especula, que las cercarias penetran la piel de los renacuajos y alcanzan la cavidad corporal, en donde se transforman en metacercarias que permanecen sin enquistarse hasta la metamorfosis del renacuajo. Después de que el huésped se metamorfosea, las metacercarias migran hacia el intestino en donde se desarrollan en adultos. Sin embargo, esto no ha sido demostrado experimentalmente.

GENBANK:

Número de acceso: AF433676
Secuencia: Gen ribosomal 28S
Longitud: 1250 pb

Glythelmins hyloreus Martin, 1969

Figs. 84-85 y 97. Tabla XXI.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glythelmins hyloreus Martin, 1969: 747-752. Figs. 1-6 (Descripción y ciclo de vida).

Glythelmins hyloreus, Nasir & Diaz (1970: 266, 271, 272) [Clave]; Sullivan & Byrd (1970: 393-394) [Comparación]; Yamaguti (1971: 354) [Lista de especies].

Hylotrema hyloreus, Sullivan (1972: 46)² [Transfiere a la especie *G. hyloreus* al género *Hylotrema*].

Glythelmins hyloreus, Yamaguti (1975: 103-104) Lámina 54, Figs. 490 [Ciclo de vida]; Brooks (1977: 279, 281, 283, 286) Fig. 1 y 5 [Hipótesis filogenética]; Prudhoe & Bray (1982: 70)

² Sullivan, J. J. (1972)

[Listado]; Schell (1985: 176) [Ciclo de vida]; Rannala (1990: 746) [Estudio de alozimas]; Rannala (1991: 805-808) [Estudio de alozimas]; Rannala (1992: 993-1000) [Estudio de alozimas]; Brooks & McLennan (1993: 40, 41, 43-46, 271-272) Figs. 2.8, 2.9, 2.11, 2.13, 34 [Hipótesis filogenética].

HUÉSPED TIPO: *Hyla regilla*
HÁBITAT: Intestino
LOCALIDAD TIPO: 5 MI E Corvallis, Oregon, USA,
HOLOTIPO: USNPC 70463

DIAGNOSIS: Los organismos de esta especie pueden ser diferenciados por la siguiente combinación de caracteres: Cuerpo alargado, con los extremos redondeados. Tegumento con escamas que se extienden hasta casi el final del cuerpo. Faringe de menor tamaño que el acetábulo, seguida de un esófago largo y ancho. Relación entre la ventosa oral – acetábulo 1:≥0.8. Testículos simétricos o ligeramente oblicuos. Bolsa del cirro curva (Fig. 85). Asas uterinas transversales distribuidas en la región intercecal y cecal; sin embargo hay asas uterinas que alcanzan la región extracecal del cuerpo. Las asas uterinas ocupan el área posterior de los ciegos intestinales; en la región testicular el útero corre ventralmente a los testículos. Presencia de asas uterinas pretesticulares. Las glándulas vitelógenas son foliculares, dispuestas lateralmente a los ciegos; se extienden desde la bifurcación cecal hasta la región intermedia entre los testículos y el final de los ciegos intestinales (Fig. 84).

DESCRIPCIÓN: Organismos con cuerpos alargados, con ambos extremos redondeados; extremo posterior más aguzado que el extremo anterior. Tegumento cubierto por pequeñas escamas, distribuidas hasta el extremo posterior del cuerpo. La ventosa oral es subterminal, esférica y de mayor tamaño que la faringe y el acetábulo. El acetábulo es de forma esférica; ubicado en la región ecuatorial y medial del cuerpo. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:≥0.8. El aparato digestivo se inicia con una boca que abre en el centro de la ventosa oral y se continúa con una pequeña prefaringe, la cual desemboca en la faringe. La faringe es globosa y muscular, rodeada lateralmente por glándulas mediales. Faringe menos ancha que el acetábulo. La relación que hay entre la ventosa oral y la faringe es de 1:0.50 de largo por 1:0.53 de ancho. El esófago es largo y ancho, se bifurca y da origen a los ciegos intestinales, que se extienden paralelamente al cuerpo hasta una distancia de 183 a 897 μm del extremo posterior del cuerpo. Los testículos son ovalados, simétricos o ligeramente oblicuos; se sitúan en la región ecuatorial e intercecal del cuerpo. La bolsa del cirro es ligeramente curva, contiene una vesícula seminal que es bipartita y un cirro liso y largo. El poro genital se ubica a corta distancia del margen

anterior del acetábulo, sobre la línea media del cuerpo. El ovario, situado en el lado izquierdo del acetábulo, es de forma ovalada y de menor tamaño que los testículos. El receptáculo seminal es ovoide y se ubica entre el ovario y el testículo izquierdo. El útero es sinuoso, constituido por asas uterinas transversales que se ubican en las regiones intercecal y cecal; sin embargo, hay algunas asas que llegan a extenderse hasta la región extracecal. Las asas uterinas se distribuyen desde la región anterior a los testículos (asas pretesticulares) hasta la región posterior de los ciegos intestinales, sin ocupar totalmente el final del cuerpo. Los folículos que conforman las glándulas vitelógenas se distribuyen desde la bifurcación cecal hasta alcanzar la parte media entre los testículos y el final de los ciegos intestinales; los folículos se sitúan lateral y dorsalmente a los ciegos intestinales; no se presentan folículos vitelógenos intercecales por lo que en ninguna parte del cuerpo confluyen ambos campos de vitelógenas. Los huevos son operculados de color amarillento; miden 47-52 μm de largo por 24-27 μm de ancho. El aparato excretor se constituye por una vesícula excretora tubular en forma de "I", que alcanza la región posterior de los testículos y desemboca en el poro excretor que se sitúa en la parte final del cuerpo.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

***Hyla regilla*:** (= *Pseudacris regilla*)

Near Corvallis, Linn County, Oregon, USA, (Martin, 1969: 747-752) Figs. 1-6. Spokane County, Washington, USA, (Lang, com. per. in O'Grady 1987: 129)³.

***Pseudacris triseriata*:**

Colorado, USA, (Ubelaker *et al.*, 1967: 187) [Reportado como *G. pennsylvaniensis* e identificado como *G. hylareus* por Brooks 1976b: 86]. 3 miles south of Lincoln, Nebraska, USA; 0.25 miles north of Davey, Nebraska, USA; 5 miles south of Genoa, Nebraska, USA; 8 miles south, 2 miles east of Humboldt, Nebraska, USA; Peru, Nebraska, USA; 5 miles north, 2 miles west of Springview, Nebraska, USA; 2 miles north, 3 miles east of Valentine; 0.5 miles south, 1 mile west of Bloomington, Nebraska, USA; 2 miles south, 1 mile west of Mead; 10 miles west of Lincoln, Nebraska, USA, (Brooks, 1976b: 67, 86-89). George Lake, Alberta, Canada (Holmes, com. per. in O'Grady 1987: 129)³. Ogallala, Nebraska, USA, (Rannala, 1990: 746-747), (Rannala 1991: 805-808), (Rannala, 1992: 993-1000).

Lymnaea stagnalis (Linnaeus, 1758):

Near Corvallis, Linn County, Oregon, USA, (Martin, 1969: 747-752) Figs. 1-6. USNM Helm. Coll. No. 70463, 70464.

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

³ O'Grady R. T. (1987)

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

(USNPC)

5 MI E Corvallis, Oregon, USA, *Hyla regilla*, intestino, USNPC 70463, holotipo 1 preparación; USNPC 70464, paratipos 2 preparaciones.

(HWML)

Nebraska, USA, *Pseudacris triseriata*, intestino, HWML 20080 vouchers, 86 ejemplares. Nebraska, USA, Sistema digestivo, *Lymnaea* sp., HWML 20209 vouchers, 9 ejemplares. Nebraska, USA, *Pseudacris triseriata*, piel, HWML 21334 vouchers, 9 ejemplares. Colorado, USA, *Pseudacris triseriata*, intestino, HWML 33823 vouchers, 4 ejemplares. Nebraska, USA, *Pseudacris triseriata*, intestino; HWML 33824 vouchers, 2 ejemplares.

CICLO DE VIDA:

Descrito por Martin (1969). Los adultos habitan el intestino delgado de hílidos del género *Pseudacris*; los huevos son liberados al exterior a través de las heces del huésped. Afuera del huésped definitivo, los huevos son ingeridos por caracoles de la especie *Lymnaea stagnalis* (Lymneadae); en el intestino del caracol los huevos eclosionan liberando al miracidio, el cual se transforma en esporocistos madre e hijos. Los esporocistos hijos dan origen a cercarias gimnocéfalas, que abandonan al caracol y buscan a renacuajos de las especies *P. regilla* y *P. triseriata*. Al estar en contacto con los estadios larvarios de estas especies de hílidos, las cercarias se desplazan por la superficie corporal hasta alcanzar las narinas de los renacuajos. Las cercarias, alcanzan el interior del cuerpo de los renacuajos a través de las narinas; dentro del renacuajo, las cercarias pierden las caudas y migran hacia la cavidad celómica en donde se transforman en metacercarias, las cuales permanecen sin enquistarse hasta la metamorfosis del renacuajo. La manera en que las metacercarias alcanzan el aparato digestivo de los hílidos, no ha sido determinada; sin embargo, se especula que las metacercarias penetran la pared intestinal debido a la retención de prominentes glándulas de penetración. En el intestino, las metacercarias alcanzan la madurez sexual y se cierra el ciclo.

GENBANK:

Número de acceso: AY278050[□]
Secuencia: Gen ribosomal 28S
Longitud: 1274 pb

Número de acceso: AY278059[□]

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[□] Este estudio

Secuencia: Gen citocromo oxidasa 1 (*cox1*)
Longitud: 383 pb
Número de acceso: AY278066[□]
Secuencia: Espaciador interno de transcripción (ITS2)
Longitud: 413 pb

***Glythelmins brownorumae* n. sp. Razo-Mendivil, León-Règagnon & Pérez-Ponce de León**

Figs. 86-89 y 98.

HUÉSPED TIPO: *R. brownorum* Hillis, 1981
HÁBITAT: Intestino anterior
LOCALIDAD TIPO: Km. 50, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México.
HOLOTIPO: CNHE 4667

DIAGNOSIS: Los organismos de esta especie pueden ser diferenciados de las demás especies por la siguiente combinación de caracteres: Ancho de la faringe menor o igual que el acetábulo; esófago delgado y largo; testículos ovalados o elípticos, ligeramente oblicuos, con los bordes encimados entre si y con los ciegos intestinales; útero completamente intercecal, ocupando parcialmente el extremo posterior del cuerpo, sin asas uterinas bien definidas; glándulas vitelógenas que comienzan al final del esófago y se extienden posteriormente hasta los testículos o por detrás de ellos. Los folículos vitelógenos del lado derecho se extienden hasta más allá del borde posterior del testículo anterior y los folículos del lado izquierdo no sobrepasan el margen posterior del testículo situado en el mismo lado (Figs. 86-87). Folículos vitelógenos intercecales que se sitúan posteriormente a los testículos y dorsalmente a la bolsa del cirro, nunca confluyen. Huevos 32-39 μ m de largo (Fig. 89).

DESCRIPCIÓN: (Basada en 15 ejemplares adultos): Cuerpo alargado, 1.499-2.127 de largo por 328-528 de ancho. Anchura máxima en la región testicular; extremos anterior y posterior redondeados. Tegumento cubierto con pequeñas escamas que se extienden desde el extremo anterior hasta el segundo tercio del cuerpo. Ventosa oral subterminal, redonda, 148-209 de diámetro anteroposterior por 169-216 de diámetro transversal; abertura bucal dirigida anteroventralmente. Prefaringe corta, más ancha que larga. La faringe es globular y mide 72-119 de largo, 47.05 – 56.89% de la longitud de la ventosa oral por 97-122 de ancho, 45-60% de la anchura de la ventosa oral. Glándulas mediales rodeando los márgenes anterior y posterior

de la faringe. Esófago delgado, más largo que la faringe, 93-140 de largo, 3-18 de ancho; rodeado en toda su extensión por células glandulares. Bifurcación cecal a una distancia de 414-528 del extremo anterior (22.14-28.46% de la longitud del cuerpo). Ciegos angostos, simétricos, ocupando 64.75-75.17% de la longitud del cuerpo; ciego derecho terminando a una distancia de 21-185 del extremo posterior del cuerpo; ciego izquierdo a una distancia de 57-171 del extremo posterior del cuerpo. Acetábulo muscular bien desarrollado, medial a 442-599 del extremo anterior del cuerpo (23.48-33.33% de la longitud del cuerpo); mide 92-119 de largo, por 97-129 de ancho. La relación entre la ventosa oral y el acetábulo es de 1:0.549-0.666 de largo por 1:0.517-0.647 de ancho. Los testículos son elípticos u ovals, ligeramente oblicuos e intercecales, con los bordes externos ocupando la región cecal; localizados en la región ecuatorial del cuerpo; a una distancia de 671-1128 del extremo posterior (36.87-75.23 de la longitud del cuerpo). Testículo anterior dextral, 137-198 de largo por 104-148 de ancho; testículo posterior sinistral, 144-212 de largo por 104-158 de ancho. Poro genital, medial, preacetabular y posterior a la bifurcación cecal, 24.43-31.2% del extremo anterior. La bolsa del cirro es recta, se extiende desde la región preacetabular hasta ligeramente por detrás del borde posterior del acetábulo, siempre dorsal al acetábulo; 108-234 de largo, por 68-97 de anchura; en su interior alberga a una vesícula seminal bipartita, 79-137 de largo, por 21-57 de ancho, la cual se continúa por una glándula prostática y por un cirro largo y plegado.

El ovario es sinistral, ovoide, cubierto en parte por el borde posterior del acetábulo; mide 104-137 de largo por 75-119 de ancho. El receptáculo seminal es casi esférico, mide 43-75 de largo por 46-90 de ancho; situado de manera posterodorsal al ovario y anterodorsal al testículo izquierdo. Glándula de Mehlis ventral al receptáculo seminal. El útero es intercecal, sin asas uterinas evidentes; posteriormente, se extiende ligeramente por detrás de los márgenes de los ciegos intestinales sin ocupar totalmente el final del cuerpo. El útero ascendente corre ventralmente a los testículos, cubriéndolos parcialmente; asas pretesticulares ausentes. En la región pretesticular, el útero da origen a un metratermo muscular, ligeramente más largo que la bolsa del cirro; el metratermo se ubica dorsalmente a la bolsa del cirro y desemboca en el poro genital. Las glándulas vitelógenas son foliculares; anteriormente se extienden hasta el final del esófago, posteriormente se distribuyen asimétricamente; el campo del lado derecho sobrepasa el borde posterior del testículo anterior y en el lado opuesto, los folículos vitelógenos únicamente llegan hasta la mitad del testículo izquierdo. Los folículos se distribuyen de forma lateral y dorsalmente a los ciegos intestinales. Asimismo, se presentan folículos vitelógenos intercecales, los cuales se ubican dorsalmente a los testículos y a la bolsa del cirro; nunca confluyen. Los huevos son operculados, miden 32-39 de largo por 14-21 de ancho. La vesícula excretora es tubular y tiene forma de "I", alcanza el margen posterior de los testículos. El poro excretor es terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Rana brownorum:

Km. 50, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México[▣]. Ranchería Benito Juárez, km. 52, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México[▣].

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

(CNHE)

Km. 50, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México, *R. brownorum*, intestino, CNHE 4667 holotipo, 1 ejemplar; CNHE 4668 paratipos 6 ejemplares. Ranchería Benito Juárez, km. 52, Carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México, *R. brownorum*, intestino, CNHE 4669 paratipos, 6 ejemplares.

(USNPC)

Km. 50, Carretera, 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco, México, *R. brownorum*, intestino, USNPC 93039 paratipo, 1 ejemplar.

GENBANK:

Número de acceso: AY278048[▣]

Secuencia: Gen ribosomal 28S

Longitud: 927 pb

Número de acceso: AY278055[▣]

Secuencia: Gen citocromo oxidasa subunidad 1 (*cox1*)

Longitud: 383 pb

Número de acceso: AY278062[▣]

Secuencia: Espaciador interno de transcripción 2 (ITS2)

Longitud: 413 pb

Glythelmins tuxtlasensis n. sp. Razo-Mendivil, León-Règagnon & Pérez-Ponce de León

Figs. 90-94 y 98.

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

[▣] Este estudio

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

HISTORIA TAXONÓMICA:

Glypthelmins californiensis, Guillén (1992: 1-90)⁴ [Comunidades].

Glypthelmins facioi, Razo-Mendivil (1998: 1-50)⁶ [Estudio morfológico y molecular]; Razo-Mendivil *et al.*, (1999: 198-200) [Transfieren el material identificado como *G. californiensis* por Guillén (1992)⁴ a *G. facioi*].

Glypthelmins californiensis, Guillén *et al.*, (2000: 10-13) [Ratifica identificación].

Glypthelmins facioi, Pérez-Ponce de León *et al.*, (2000: 92, 93, 94, 97, 98, 102 Fig. 15) [Listado]; Paredes (2000: 31-32)⁵ Fig. 13.

HUÉSPED: *R. vaillanti*

HÁBITAT: Intestino anterior

LOCALIDAD TIPO: Laguna Escondida, "Los Tuxtlas", Veracruz, México.

HOLOTIPO: CNHE 4670

DIAGNOSIS: Esta especie puede diferenciarse por la siguiente combinación de rasgos morfológicos: Faringe más ancha que el acetábulo; esófago ancho; testículos oblicuos, separados uno del otro; bolsa del cirro recta y voluminosa; poro genital situado entre el acetábulo y la bifurcación cecal; receptáculo seminal ovoide, situado entre el testículo izquierdo y el ovario (Fig. 92); asas uterinas transversales, ubicadas intercecal y cecalmente; extendidas hasta el extremo posterior del cuerpo. Las glándulas vitelógenas se distribuyen anteriormente hasta la bifurcación cecal y posteriormente, se extienden hasta por detrás de los testículos; los folículos vitelógenos se distribuyen lateral y dorsalmente a los ciegos intestinales y se extienden hasta la región intercecal (Figs. 90-91); los folículos intercecales se sitúan dorsalmente a la bolsa del cirro, a los testículo y por detrás de su margen posterior. En la región posterior a la bifurcación cecal confluyen ambos campos. Los huevos miden 21-28 μm de largo por 14-18 μm .

DESCRIPCIÓN: (Basada en 18 ejemplares maduros). Los ejemplares poseen cuerpos alargado, 1.442-2.77 de largo por 314-614 de ancho. Anchura máxima corporal en la región testicular, 399-742; extremidades anterior y posterior redondeadas. El tegumento es delgado y se encuentra cubierto por pequeñas escamas que se extienden desde el extremo anterior del cuerpo hasta el segundo tercio del mismo. La ventosa oral es subterminal y esférica, dirigida anteroventralmente, mide 158-252 de diámetro anteroposterior por 162-270 de diámetro transversal. En el centro de la ventosa oral abre la boca, la cual se continúa con una pequeña

⁴ Guillén, H. S. (1992) Comunidades de helmintos de algunos anuros de "Los Tuxtlas", Veracruz. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias, UNAM, México. 90 pp.

⁶ Razo-Mendivil, U. J. (1998)

⁵ Paredes-Calderón, L. (2000)

prefaringe. La faringe es globosa y muscular, mide 79-133 de largo (42.30-59.67 % de la longitud de la ventosa oral), por 104-158 de ancho (51.78-68.85% de ancho de la ventosa oral); 1.02-1.40 veces más ancha que el acetábulo. Bordes anterior y posterior de la faringe rodeados por glándulas mediales. El esófago es más largo que la faringe, mide 90-162 de largo por 54-72 de ancho; rodeado por células glandulares en toda su extensión. La bifurcación cecal se ubica a una distancia de 385-685 del extremo anterior (21.02-28.34% de la longitud del cuerpo). Los ciegos intestinales son delgados, simétricos y ocupan 60.47-78.46% de la longitud del cuerpo; el ciego derecho termina a una distancia de 114-299 del extremo posterior. El ciego izquierdo se ubica a 28-285 del extremo final del cuerpo. El acetábulo es muscular, situado medialmente a 428-871 del extremo anterior; mide 86-144 de diámetro anteroposterior por 86-144 de diámetro transversal. Relación entre la ventosa oral-acetábulo: 1: 0.480-0.652 largo, 1: 0.438-0.571 ancho. Los testículos son esféricos, oblicuos, localizados en la región ecuatorial; ubicados a una distancia de 699-1485 del extremo posterior. El testículo anterior es opuesto al ovario, mide 90-234 de largo por 79-199 de ancho; el testículo posterior mide 83-238 de largo por 72-228 de ancho. El poro genital es medial y se ubica entre el acetábulo y la bifurcación cecal, a 399-813 del extremo anterior del cuerpo. La bolsa del cirro es recta, se extiende de la región postacetabular hacia el lado derecho y anterior del acetábulo, algunas veces se sitúa dorsalmente al acetábulo, mide 162-399 de largo por 54-119 de ancho; alberga en su interior a una vesícula seminal bipartita, que mide 86-191 de largo por 21-79 de ancho, seguida por una glándula prostática y un cirro sinuoso.

El ovario ovoide, se ubica en el lado izquierdo del cuerpo y de manera dorsal al acetábulo, mide 83-228 de largo por 68-221 de ancho. El receptáculo seminal es oval, mide 28-99 de longitud por 32-79 de anchura; situado en medio de los testículos y el ovario. La glándula de Mehlis es ventral al receptáculo seminal. El útero está constituido por numerosas asas uterinas transversales, intercecales y cecales; posteriormente, se extiende hasta el extremo posterior del cuerpo ocupándolo totalmente. En la región testicular, las asas uterinas corren ventralmente a los testículos y en la región pretesticular dan origen al metratermo, el cual es muscular y corre dorsalmente a la bolsa del cirro hasta desembocar en el poro genital. Las glándulas vitelógenas están constituidas por numerosos folículos que alcanzan la región de la bifurcación cecal; posteriormente, sobrepasan los bordes posteriores de los testículos. Los folículos están distribuidos lateral y dorsalmente a los ciegos intestinales. Adicionalmente, los folículos vitelógenos se extienden hasta la región intercecal, situándose dorsalmente a la bolsa del cirro y a los testículos, en estas últimas estructuras, los folículos se sitúan por detrás de ellas. En algunos ejemplares los folículos intercecales confluyen en la región posterior a la bifurcación cecal. Los huevos son operculados, de color amarillo y miden 21-28 de largo por 14-

18 de ancho. La vesicular excretora es tubular en forma de "I", extendiéndose hasta el borde posterior de los testículos y desembocando en el poro genital que es terminal.

HUÉSPEDES Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA^Ψ:

Rana berlandieri Baird, 1859.

Laguna El Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz, México, (Guillén *et al.*, 2000: 10-13). Laguna El Zacatal, "Los Tuxtlas", Veracruz, México (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000: 103).

Rana vaillanti:

Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, México, (Razo-Mendivil *et al.*, 1999: 197-200).

Laguna El Zacatal, Los Tuxtlas, Veracruz, México, (Guillén *et al.*, 2000: 10-12). Laguna

Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, México, (Paredes, 2000: 31-32. Fig. 13)⁵; (Pérez-Ponce de

León *et al.*, 2000: 103). Cascadas de Agua Azul, Chiapas[†]. Laguna Escondida, Los Tuxtlas,

Veracruz, México[□].

EJEMPLARES DEPOSITADOS EN COLECCIONES PARASITOLÓGICAS[†]:

(CNHE)

Estación Los Tuxtlas, Veracruz, México, *R. berlandieri*, intestino, CNHE 1514[◇] vouchers, 5

ejemplares. Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, *R. vaillanti*, intestino, CNHE 3285^{*}

vouchers, 7 ejemplares. Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz, México, *R. vaillanti*,

intestino, CNHE No. 4083^{*} vouchers, 5 ejemplares. Cascadas de Agua Azul, Chiapas, México,

R. vaillanti, intestino, CNHE 4061^{*} voucher, 1 ejemplar. Laguna Escondida, Los Tuxtlas,

Veracruz, *R. vaillanti*, intestino, CNHE 4670 holotipo, 1 ejemplar; CNHE 4671 paratipo, 1

ejemplar; CNHE 4672 paratipos, 10 ejemplares.

(USNPC)

Laguna Escondida Los Tuxtlas, Veracruz, México, *R. vaillanti*, intestino, USNPC 93040 paratipo,

1 ejemplar.

GENBANK:

Número de acceso: AY278047[□]

Secuencia: Gen ribosomal 28S

Longitud: 1274 pb

^Ψ Se incluye la localidad en el idioma original.

⁵ Paredes-Calderón, L. (2000)

[†] Nuevo registro de localidad

[□] Este estudio

[†] Se incluye la información de las especies tal cual existe en cada una de las colecciones.

[◇] Material identificado como *G. californiensis*

^{*} Material identificado como *G. facioi*

[□] Este estudio

Número de acceso: AY278054[□]
Secuencia: Gen citocromo oxidasa subunidad 1 (*cox1*)
Longitud: 383 pb

Número de acceso: AY278061[□]
Secuencia: Espaciador interno de transcripción (ITS2)
Longitud: 413 pb

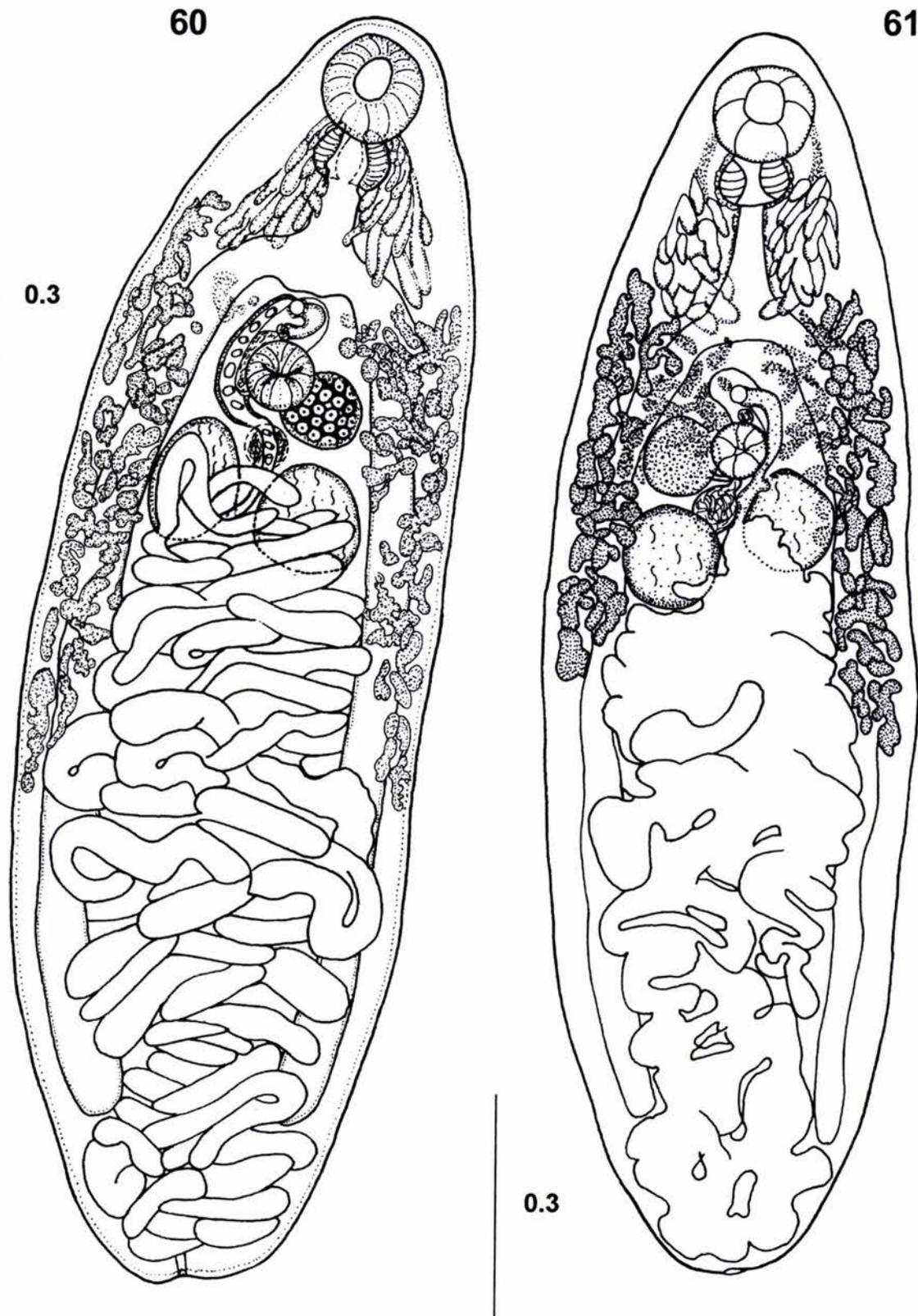
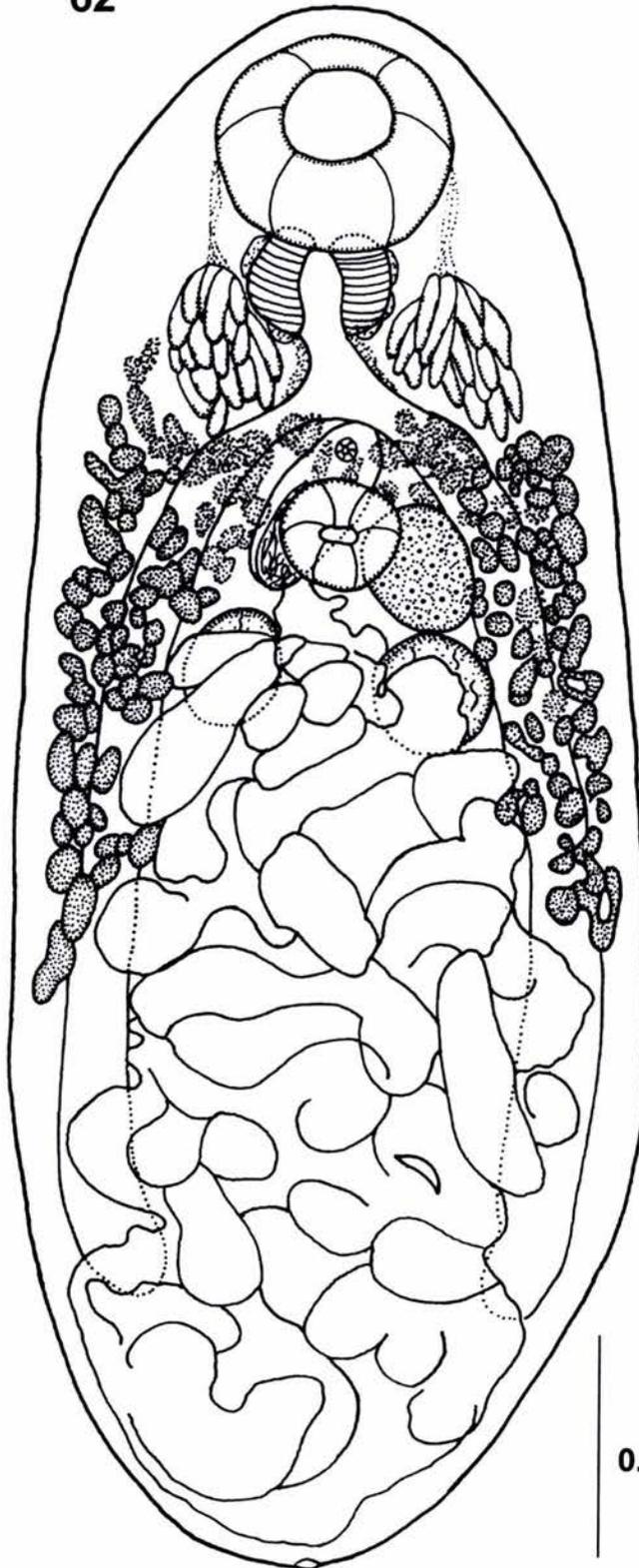


Figura 60. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins quieta* proveniente de *Rana neovolcanica*, Manantiales de Cointzio (CNHE 3272).

Figura 61. Vista dorsal de un ejemplar adulto de *Glythelmins quieta* proveniente de *Rana catesbeiana*, Willow Creek, Nebraska, U.S.A. (Colección particular del Dr. Daniel Brooks).

62



63

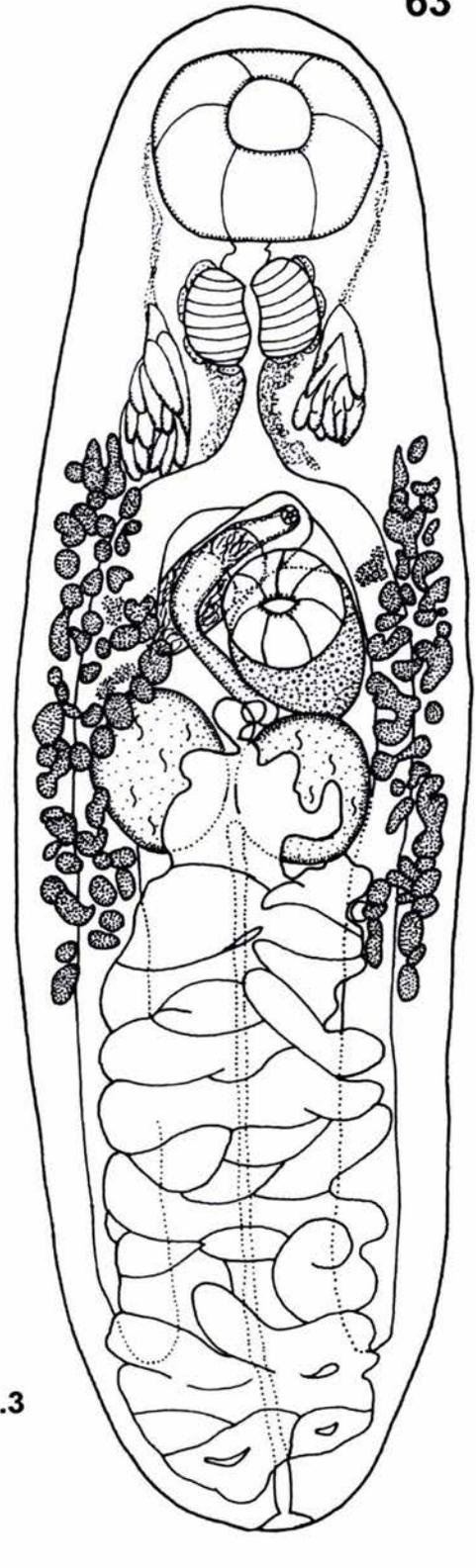
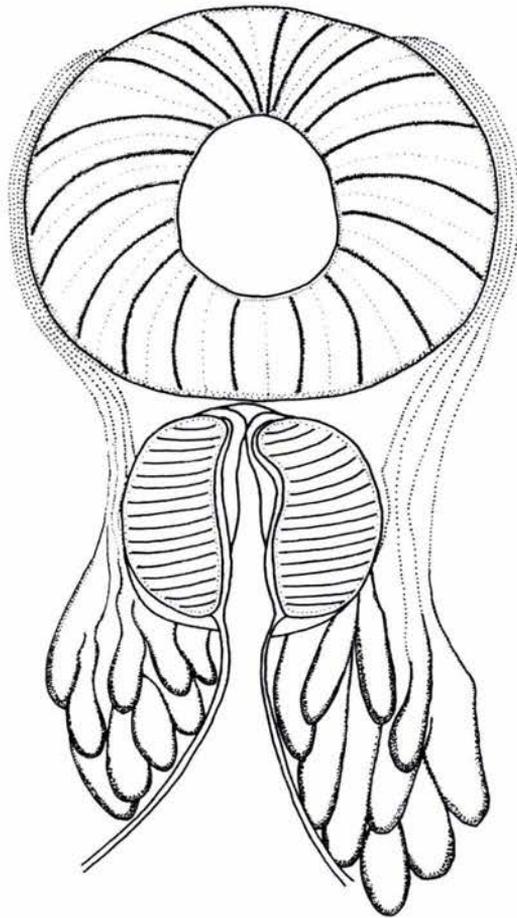


Figura 62. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins quieta* proveniente de *Rana* sp., Coquimatlán, Colima (CNHE 4688).

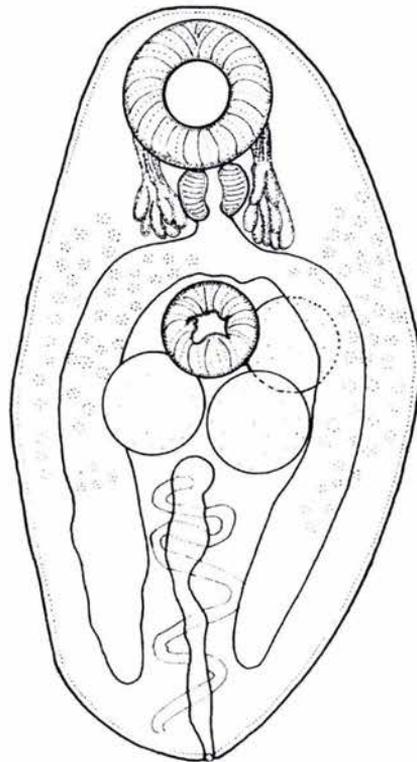
Figura 63. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins quieta* proveniente de *Rana spectabilis*, Huitzo, Oaxaca (CNHE 4689).

64



0.1

65



0.3

Figura 64. Detalle de la faringe y de las glándulas perifaríngeas de *G. quieta* (CNHE 3272).

Figura 65. Vista ventral de un ejemplar inmaduro de *Glythelmins quieta* proveniente de *Rana montezumae*, Ciénaga de Lerma, Estado de México (CNHE 3275).

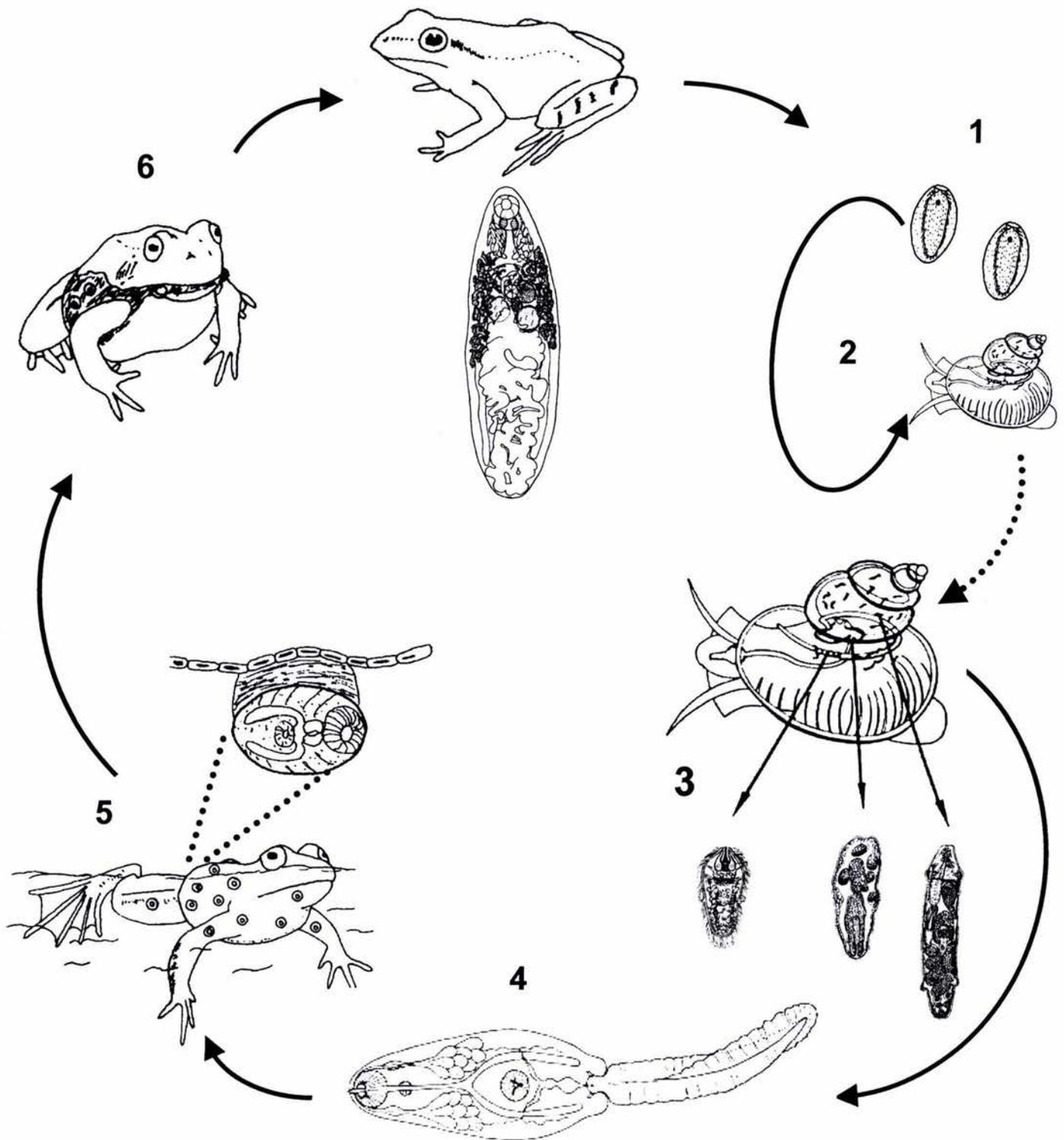


Figura 66. Ciclo de vida de *Glythelmins quieta*, parásito intestinal de ranas y sapos de Norteamérica. (1) Los huevos de los gusanos adultos se diseminan con las excretas del huésped. (2) Un caracol (primer huésped intermediario) ingiere los huevos. (3) Los huevos eclosionan en el intestino del caracol y liberan los miracidios, el cual da origen a un esporocisto que produce dos generaciones de redias (madres e hijas), todo esto por reproducción asexual. (4) Las redias perforan el cuerpo del caracol y salen al medio acuático en busca del segundo huésped intermediario y definitivo (ranas y sapos). (5) Al localizar al huésped adecuado se adhieren a la piel por medio de las dos ventosas que poseen y terminan por penetrarla. Pierden la cauda y se enquistan en la piel, dando origen a lo que se conoce como metacercaria. (6) Finalmente, los sapos y ranas se infectan con este gusano cuando ingieren su piel llena de metacercarias.

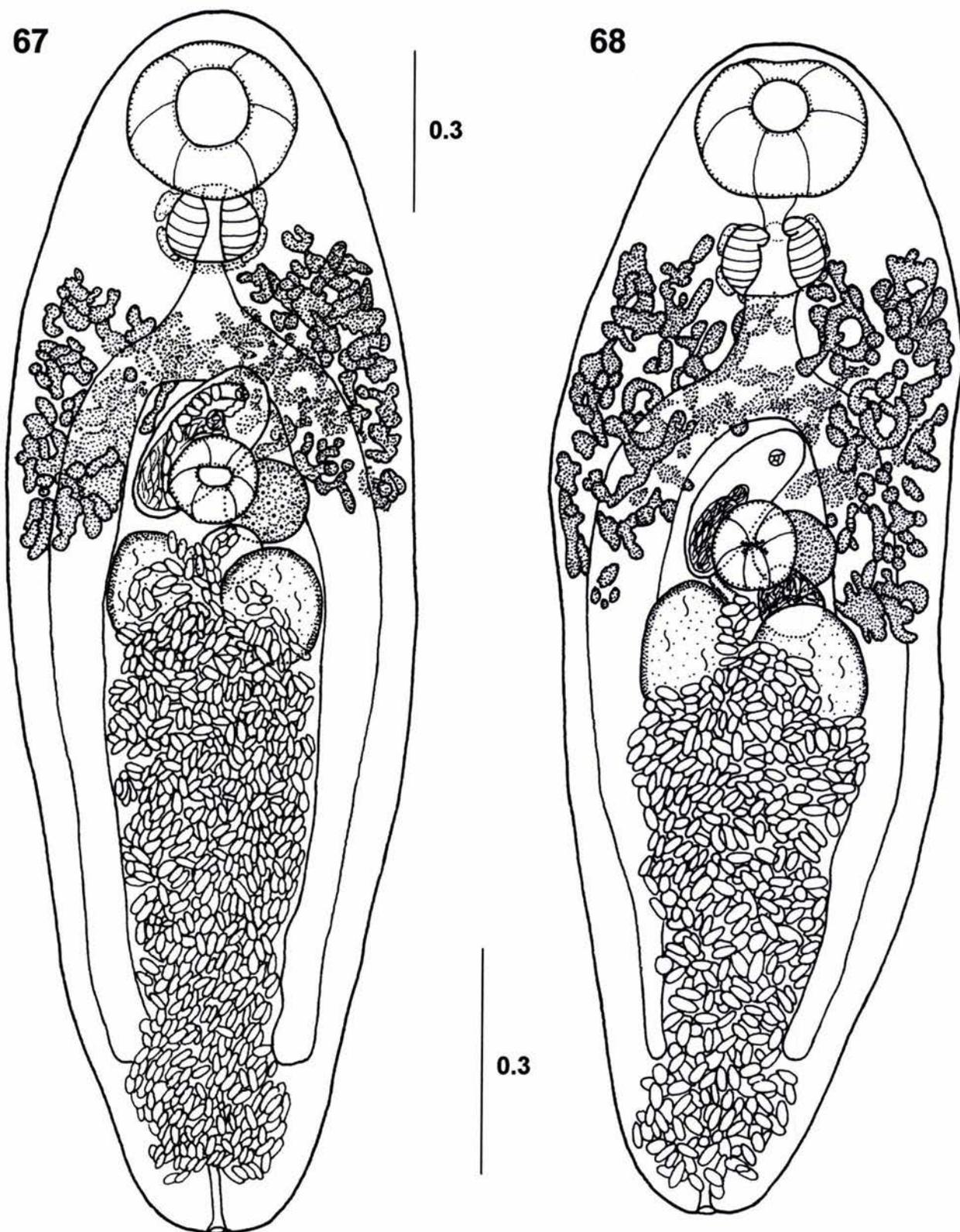


Figura 67. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins californiensis*, proveniente de *Rana montezumae*, Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282).

Figura 68. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins californiensis* parásito de *Rana dunni*, Lago de Pátzcuaro, Michoacán (CNHE 1561).

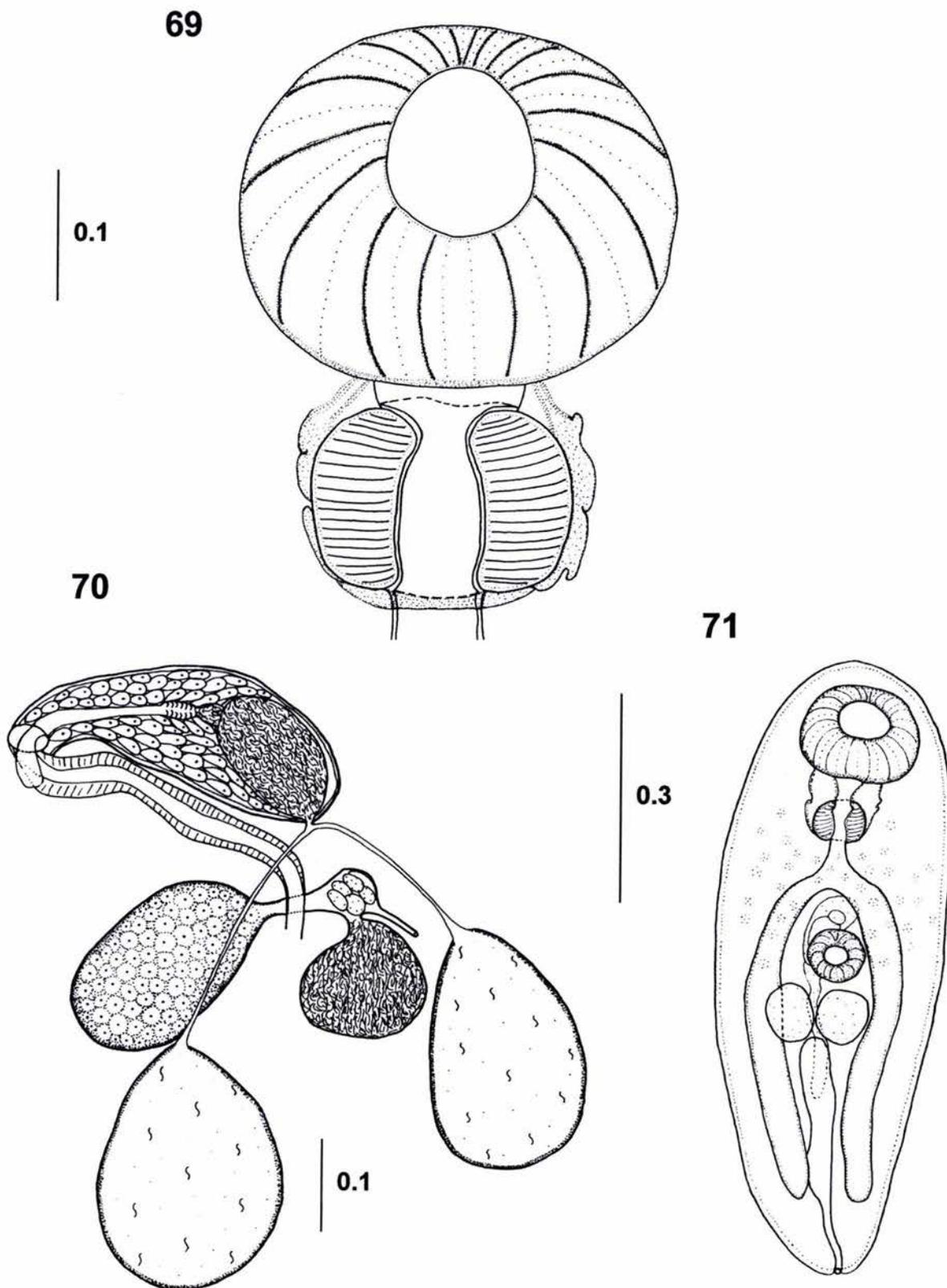


Figura 69. Detalle de la faringe y de las glándulas mediales de un ejemplar adulto de *Glythelmins californiensis* proveniente de *Rana montezumae*, Ciénaga de Lerma Estado de México (CNHE 3282).

Figura 70. Vista dorsal del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de *Glythelmins californiensis* proveniente de *Rana dunni*, Lago de Zacapu, Michoacán (CNHE 4682)

Figura 71. Vista ventral de un ejemplar inmaduro de *G. californiensis* con la vesícula excretora en forma de "I" (CNHE 3281).

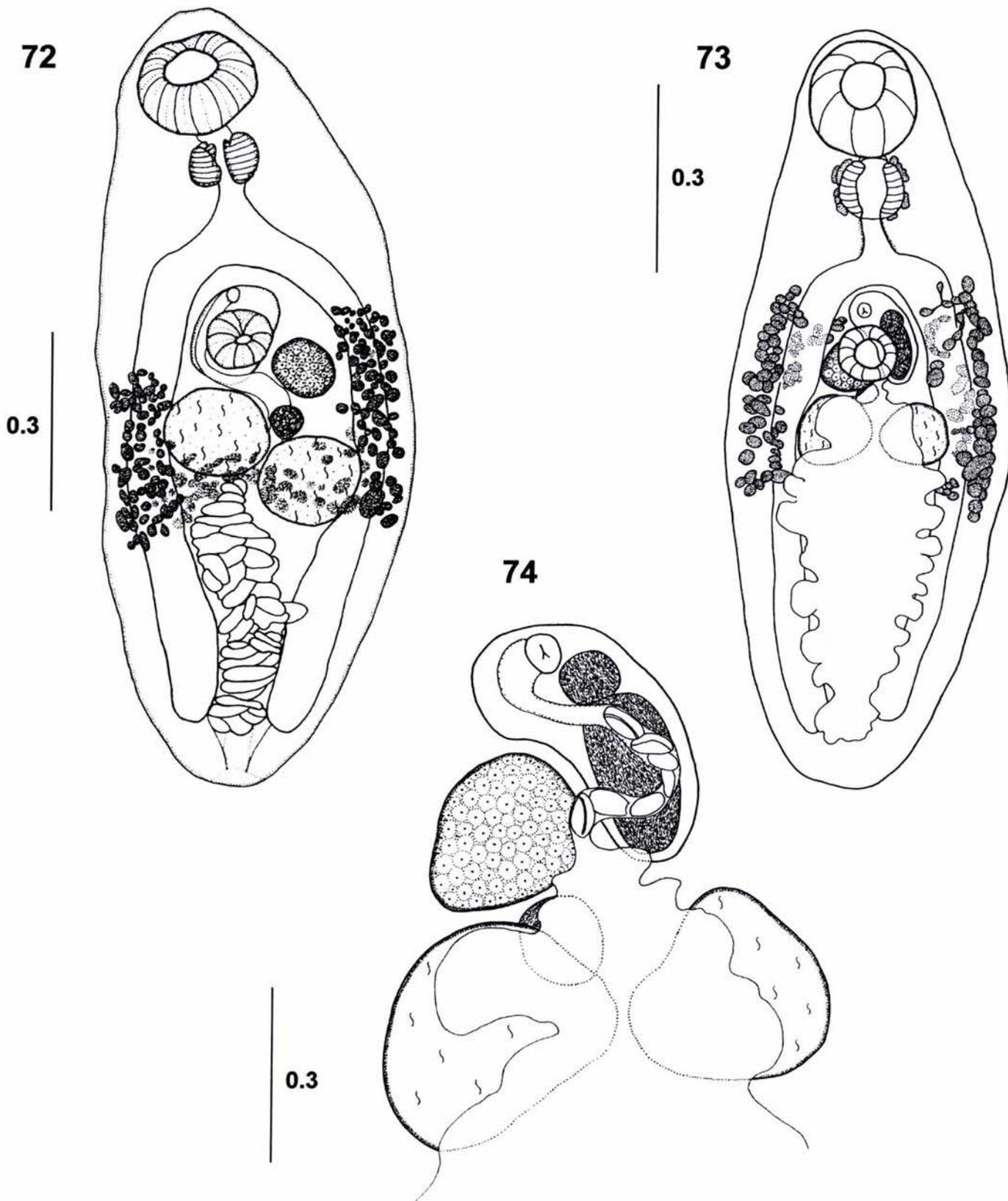


Figura 72. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glypthelmins parva* parásito de *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 3396).

Figura 73. Vista dorsal de un ejemplar adulto de *Glypthelmins parva* parásito de *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 4690)

Figura 74. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de *G. parva* (CNHE 4690).

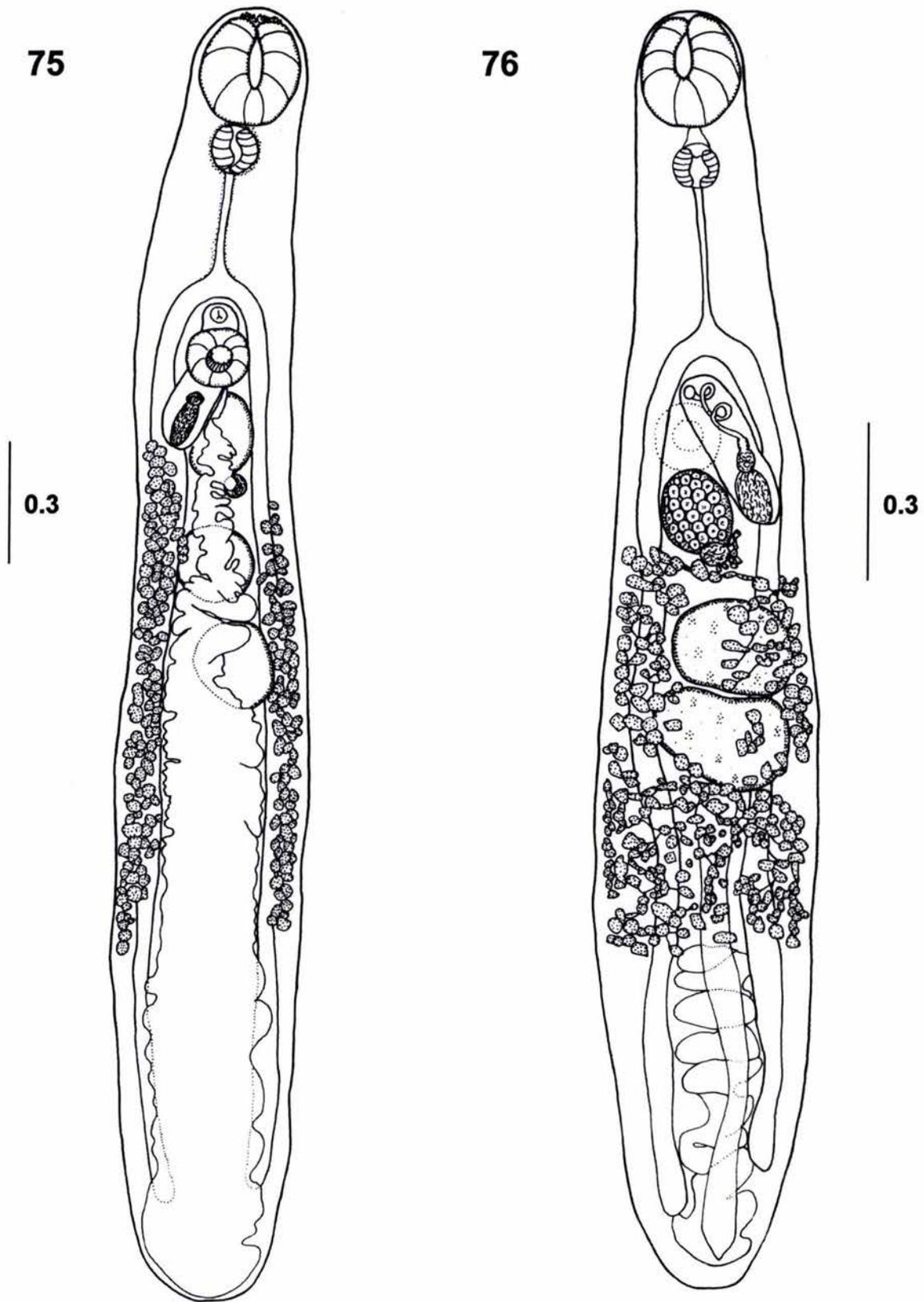


Figura 75. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins intestinalis* parásito de *Rana luteiventris*, Glacier National Park, Montana, USA (CNHE 4692).

Figura 76. Vista dorsal de un ejemplar adulto de *Glythelmins intestinalis* parásito de *Rana luteiventris*. Nótese la distribución y arreglo de los folículos vitelógenos (CNHE 4692).

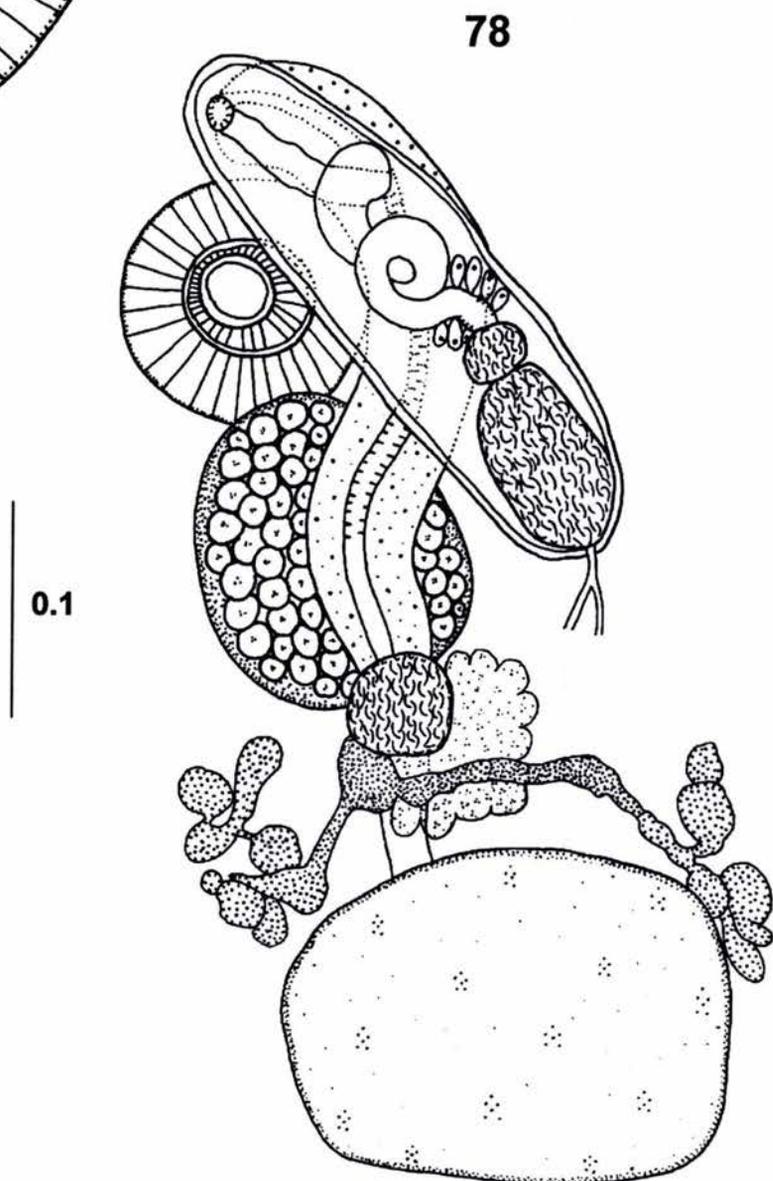
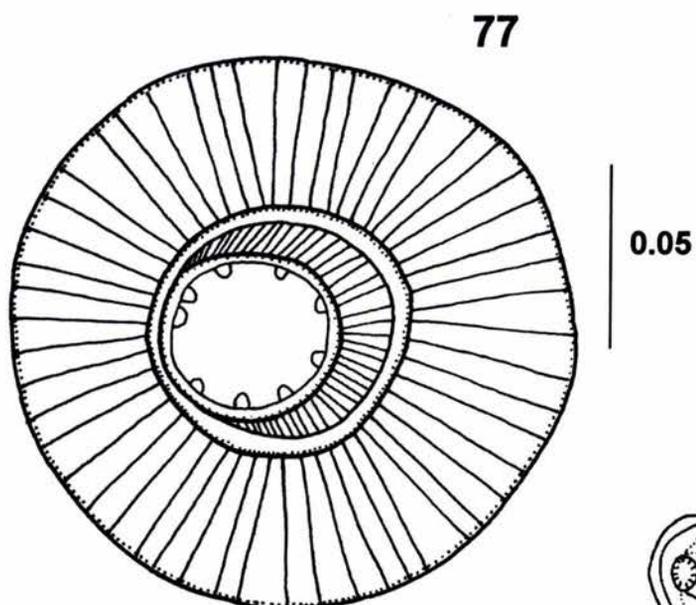


Figura 77. Detalle del acetábulo y disco succionador de *G. intestinalis*. Nótese la presencia de 9 papilas alrededor del disco succionador (CNHE 4692).

Figura 78. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de *G. intestinalis*. (CNHE 4692).

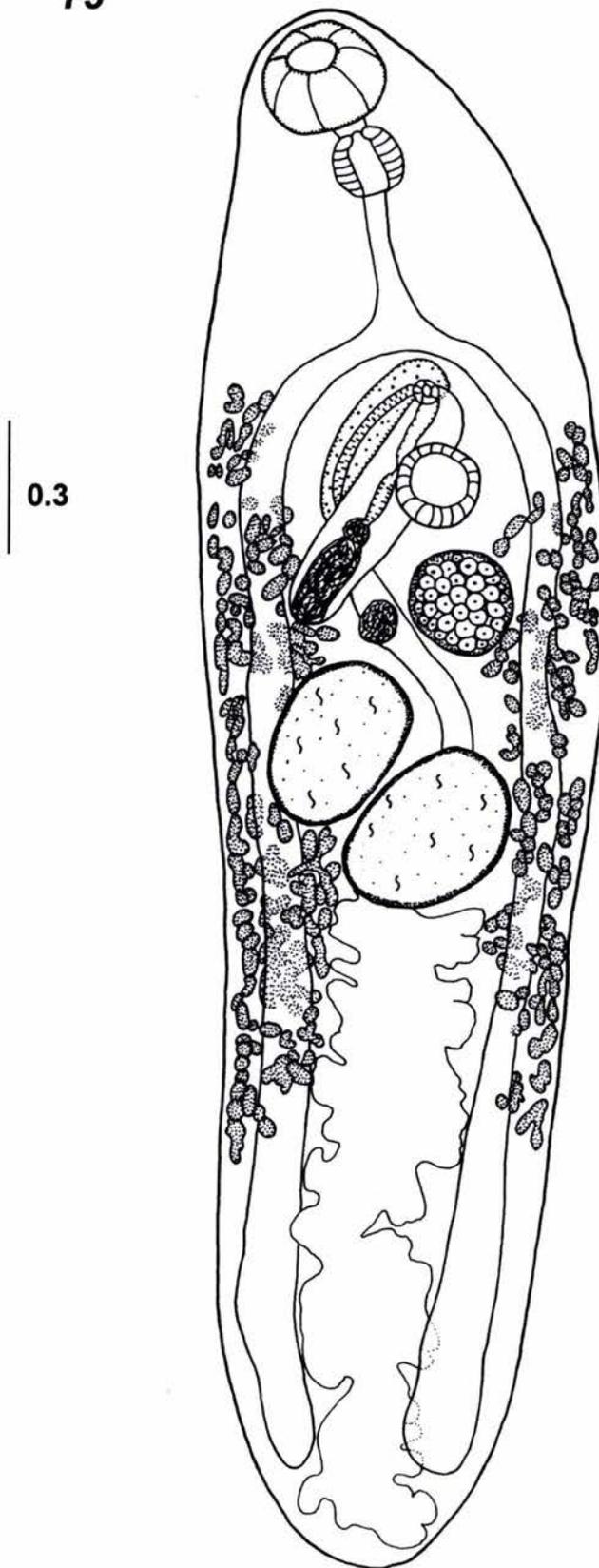
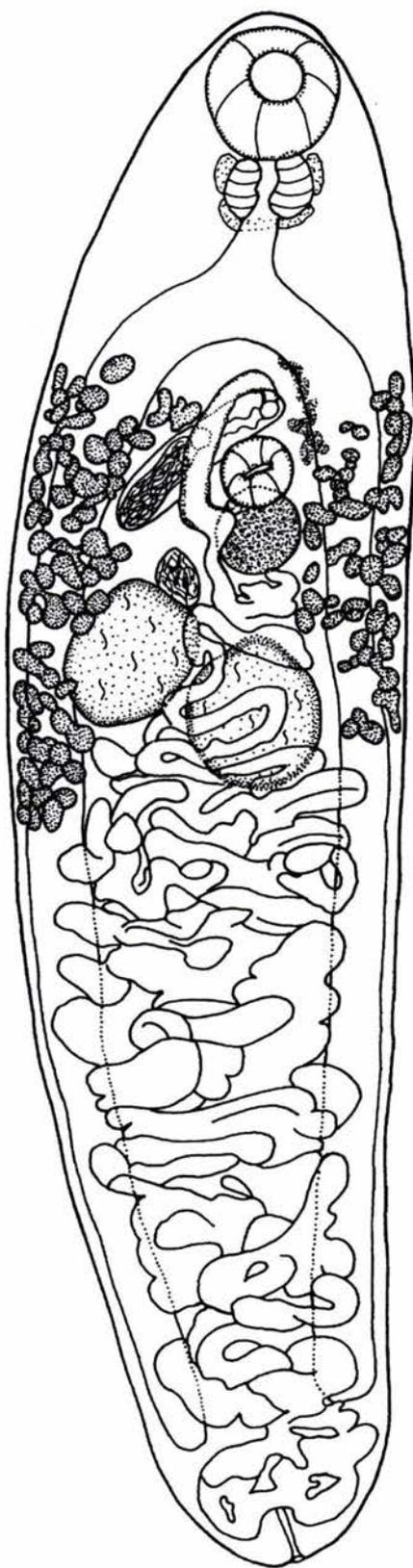


Figura 79. Vista ventral del Holotipo de *Glythelmins shastai* parásito de *Bufo boreas*, Shasta County, California, U.S.A. (USNPC 8925).

80



0.3

81

0.1

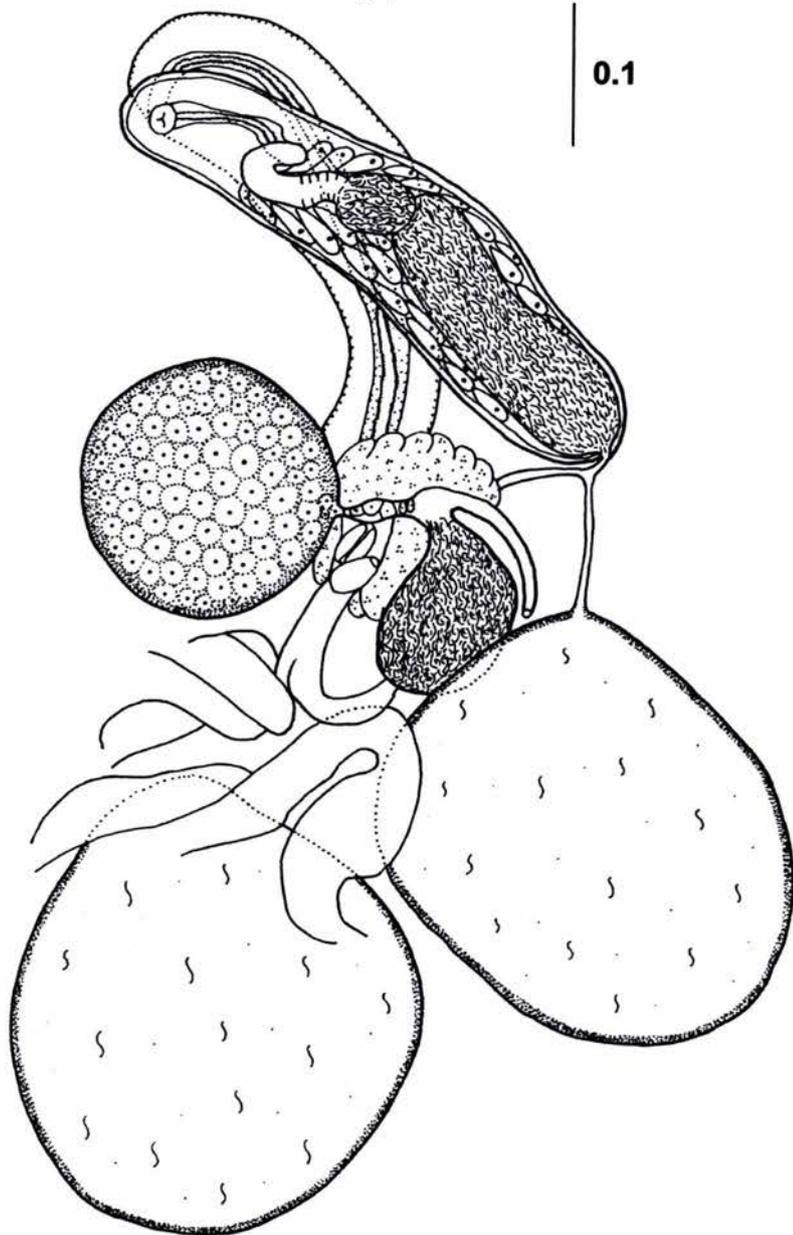
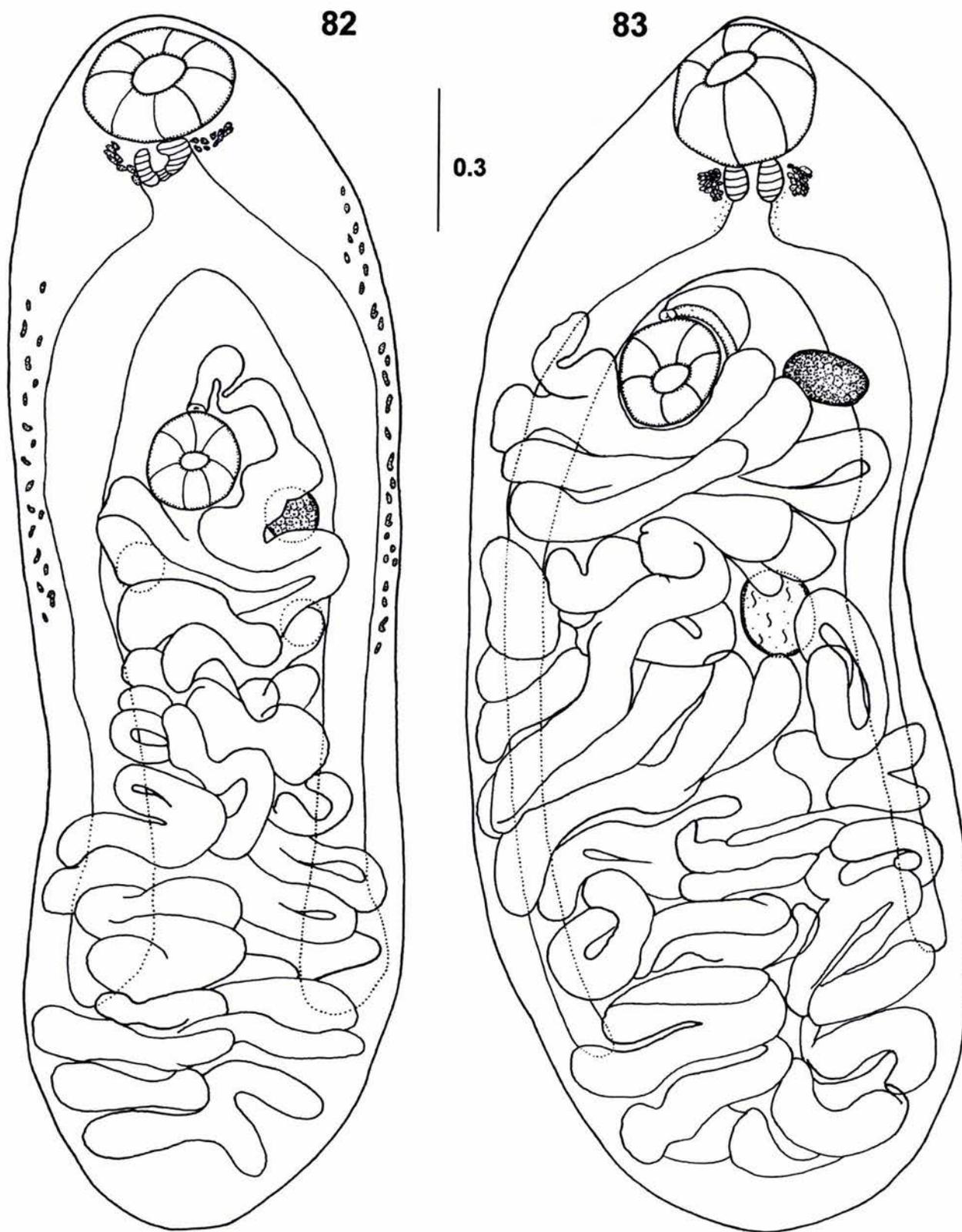


Figura 80. Vista ventral del holotipo de *Glythelmins facioi*, parásito de "*Rana pipiens*", Costa Rica (CHCR 200-22).

Figura 81. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino del holotipo de *G. facioi*.



Figuras 82-83. Vista ventral de ejemplares de *Glythelmins pennsylvaniensis*, parásito de *Pseudacris c. crucifer*, proveniente de Pennsylvania, U.S.A. (CNHE 4693).

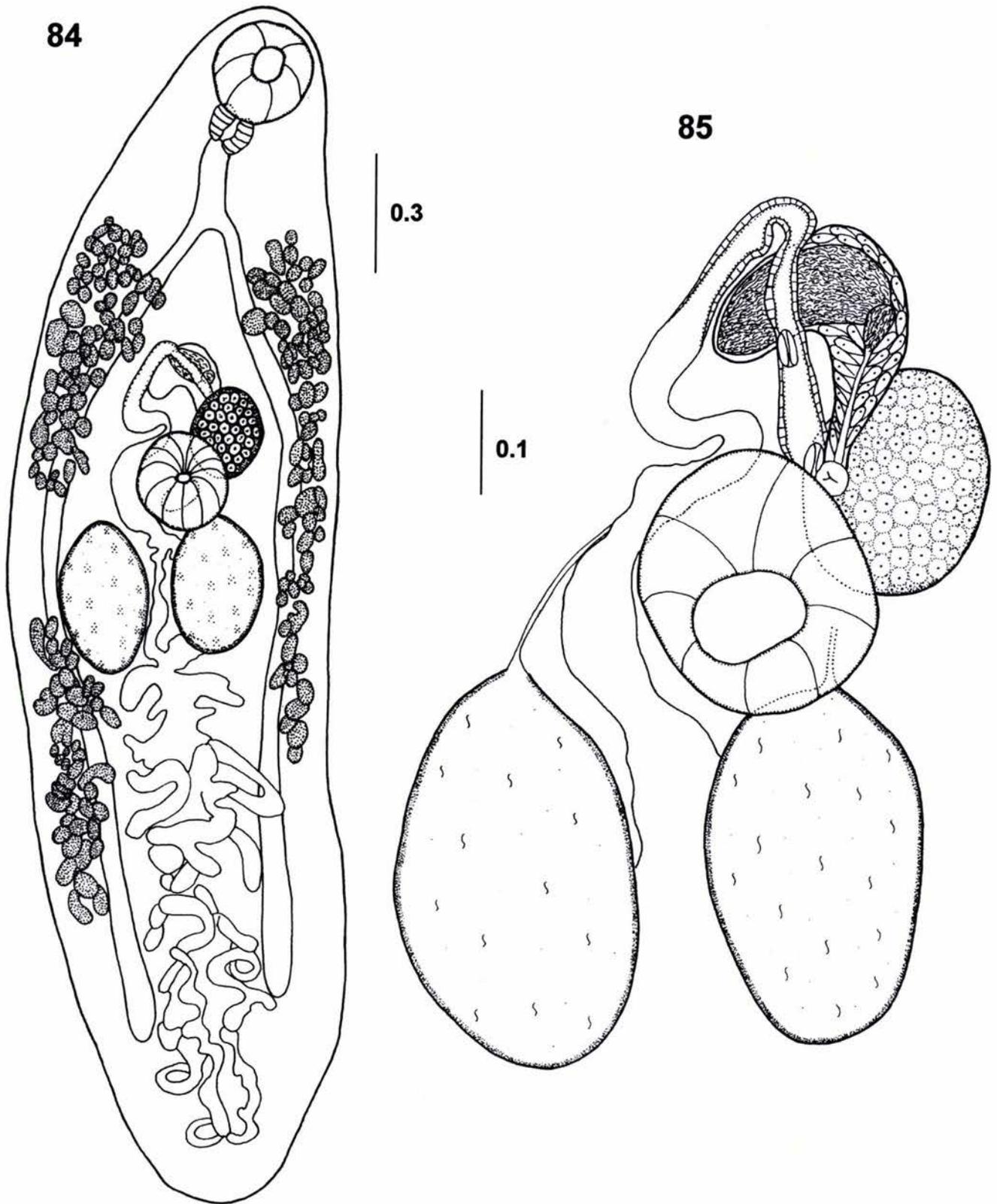


Figura 84. Vista ventral de un ejemplar adulto de *Glythelmins hyloreus* proveniente de *Pseudacris triseriata*, Nebraska, U.S.A. (Colección particular del Dr. Daniel Brooks).
Figura 85. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de *G. hyloreus*. Nótese la forma de la bolsa del cirro.

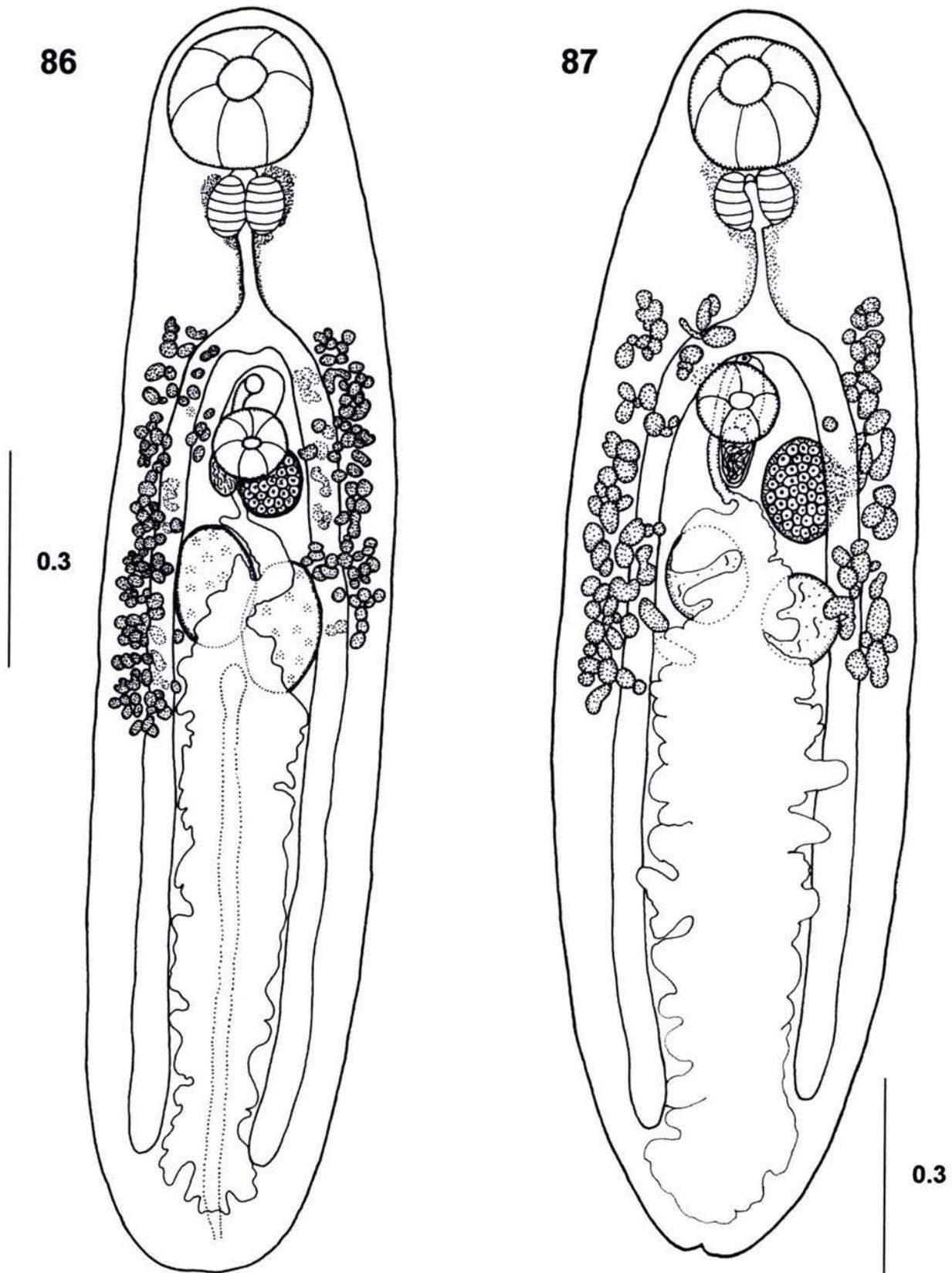


Figura 86. Vista ventral del holotipo de *Glythelmins brownorumae* n. sp. parásito de *Rana brownorum*, km. 50, carretera # 180, Villahermosa-Frontera, Tabasco (CNHE 4667).

Figura 87. Vista ventral de un ejemplar de *G. brownorumae* parásito de *Rana brownorum*, Ranchería Benito Juárez, Municipio de Centla, Tabasco (CNHE 4669).

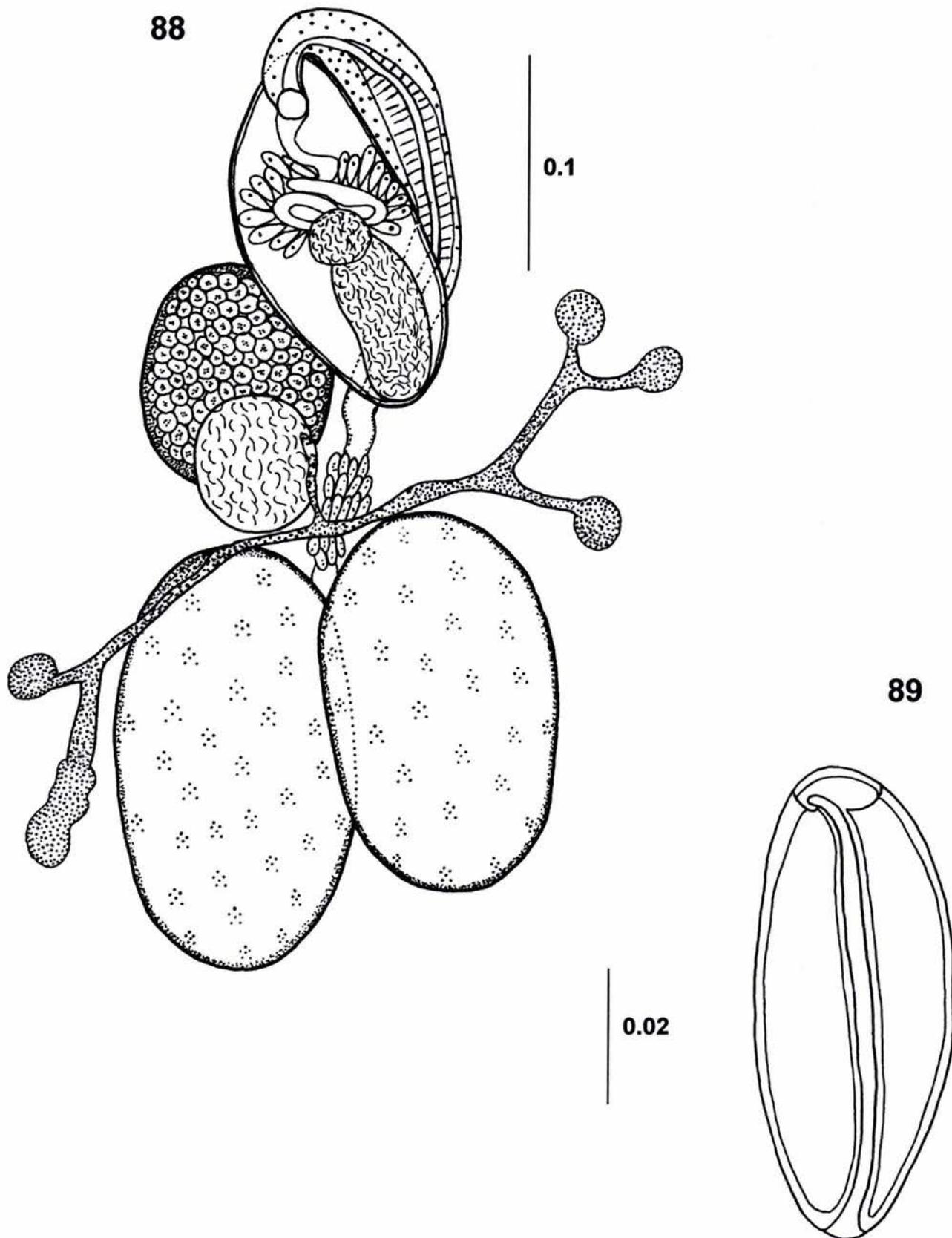
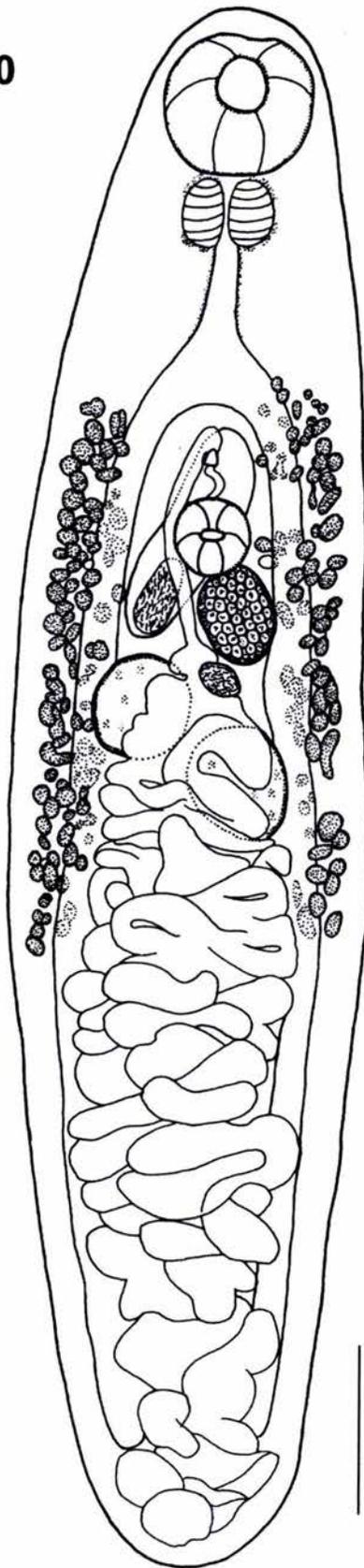


Figura 88. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino de un ejemplar adulto de *Glythelmins brownorumae* n. sp. parásito de *Rana brownorum*, (CNHE 4668).
Figura 89. Huevo de *G. brownorumae*.

90



91

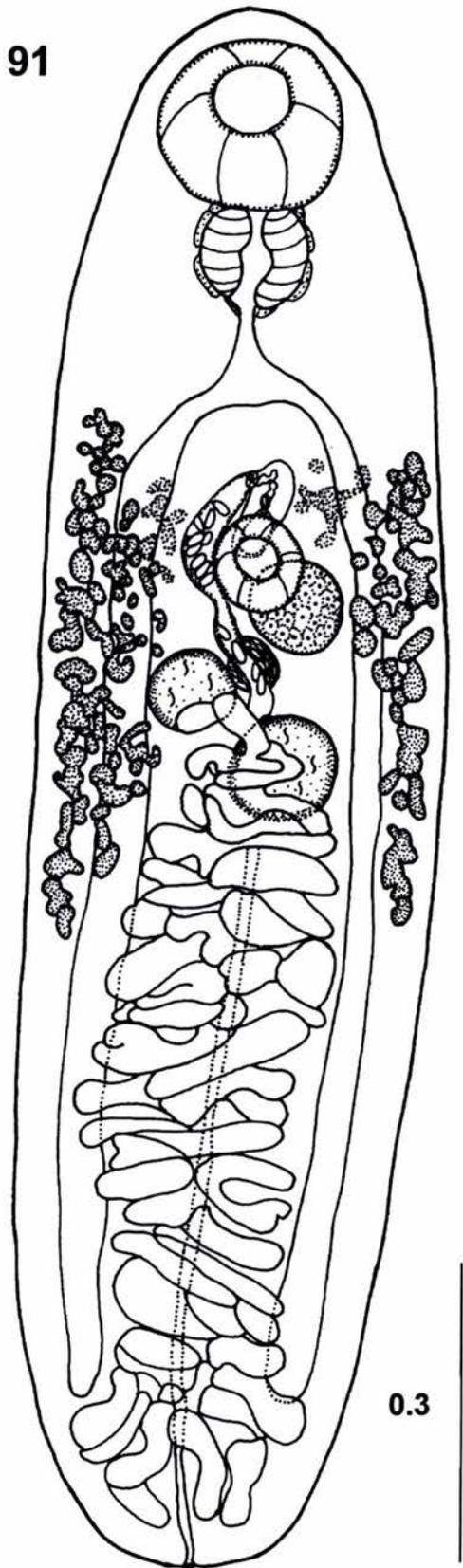
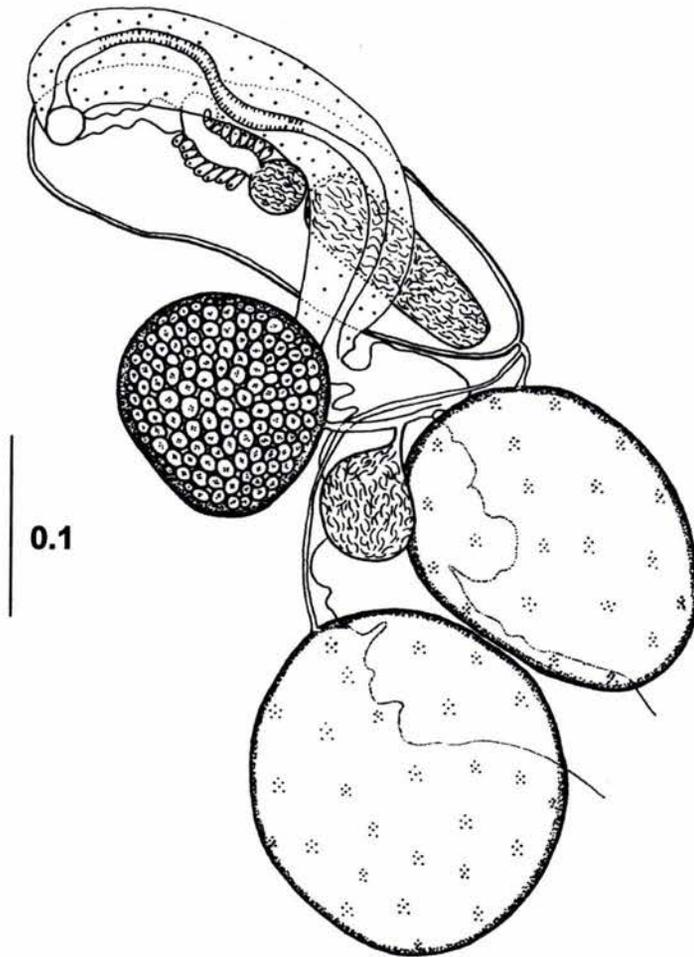


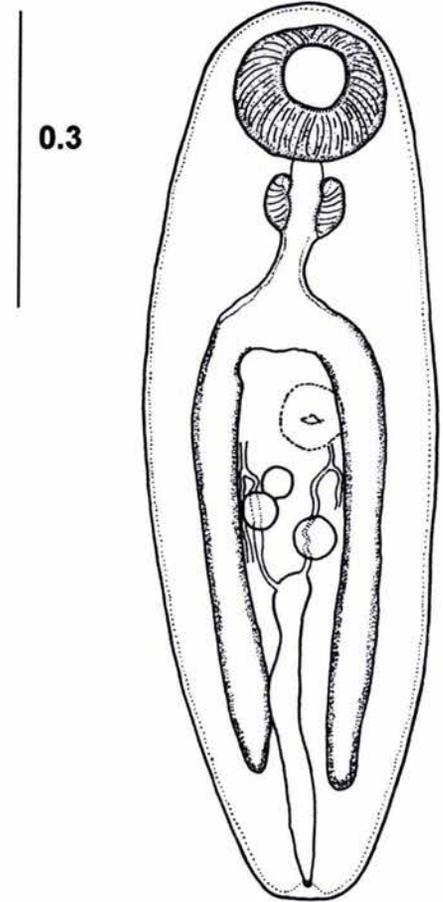
Figura 90. Vista ventral del holotipo de *Glythelmins tuxtlasensis* n. sp. parásito de *Rana vaillanti*, Laguna Escondida, Los Tuxtlas, Veracruz (CNHE 4670).

Figura 91. Vista ventral de un paratipo de *Glythelmins tuxtlasensis* n. sp. parásito de *Rana vaillanti* (CNHE 4671).

92



93



94

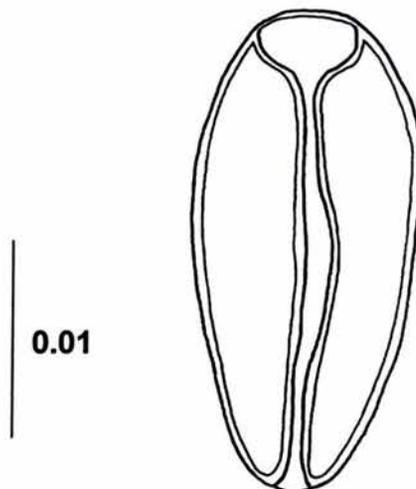


Figura 92. Detalle del sistema reproductor masculino y femenino del holotipo de *Glypthelmins tuxtlasensis* n. sp., parásito de *Rana vaillanti* (CNHE 4670).

Figura 93. Ejemplar inmaduro de *G. tuxtlasensis*, vista dorsal (CNHE 3285).

Figura 94. Huevo de *G. brownorumae*.

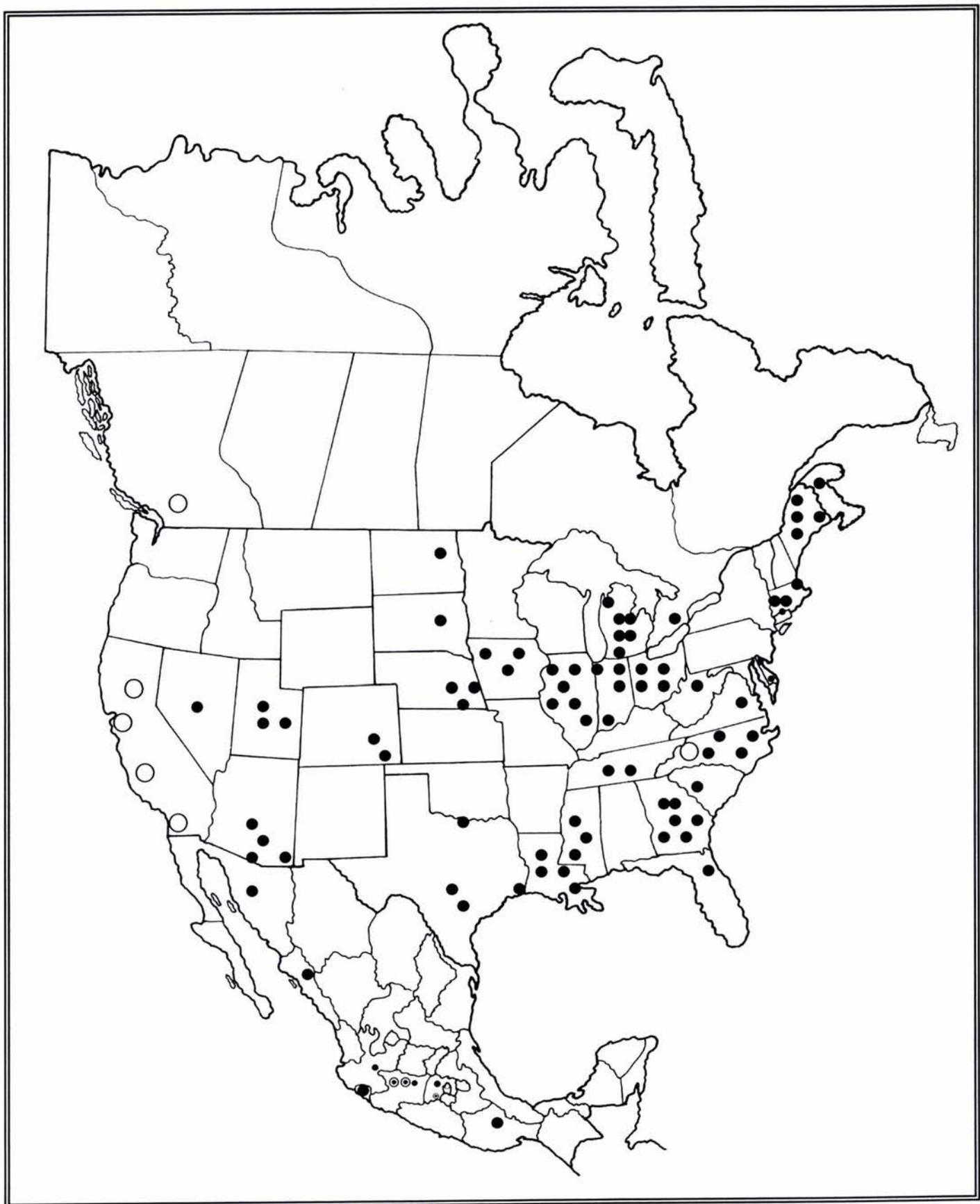


Figura 95. Distribución geográfica de las especies *G. quieta* (●) y *G. californiensis* (○).



Fig. 96. Distribución geográfica de las especies *G. facioi* (◆) y *G. parva* (♣)



Figura 97. Distribución geográfica de las especies *G. shastai* (◻), *G. intestinalis* (▲), *G. pennsylvaniensis* (✱), y *G. hyloueus* (○).



Figura 98. Distribución geográfica de las especies *G. brownorumae* n. sp.(○) y *G. tuxtlasensis* n. sp. (■).

Tabla XIV. Medidas de *G. quieta* referidas por algunos autores.

Autor	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Brooks, 1976
Huésped	<i>R. neovolcanica</i>	<i>R. montezumae</i>	<i>R. dunnii</i>	<i>R. dunnii</i>	<i>R. catesbeiana</i>	<i>R. blairi</i>
Localidad	Manantiales de Cointzio, Michoacán	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	Lago de Zacapu, Michoacán	Nebraska, Estados Unidos	Nebraska, Estados Unidos
Cuerpo						
Largo	1.775 - 2.925 (2.465)	1.299 - 3.375 (2.446)	1.587 - 2.45 (2.151)	1.875 - 2.262 (2.068)	2.675 - 3.862 (3.452)	1.253 - 3.724
Ancho a nivel del acetábulo	0.637 - 0.987 (0.796)	0.400 - 1.037 (0.735)	0.525 - 0.787 (0.650)	0.525 - 0.75 (0.652)	0.725 - 1.112 (0.919)	
Ancho máximo	0.687 - 1.125 (0.902)	0.437 - 1.125 (0.795)	0.550 - 0.912 (0.735)	0.575 - 0.812 (0.712)	0.737 - 1.2 (0.972)	0.453 - 1.207
Ventosa oral						
Largo	0.171 - 0.234 (0.202)	0.156 - 0.300 (0.237)	0.180 - 0.261 (0.215)	0.186 - 0.228 (0.206)	0.216 - 0.315 (0.259)	0.157 - 0.321
Ancho	0.180 - 0.258 (0.213)	0.198 - 0.375 (0.294)	0.198 - 0.279 (0.237)	0.231 - 0.267 (0.244)	0.252 - 0.333 (0.29)	0.155 - 0.325
Boca						
Largo	0.045 - 0.096 (0.081)	0.060 - 0.153 (0.091)	0.069 - 0.111 (0.092)	0.072 - 0.108 (0.084)	0.084 - 0.153 (0.114)	
Ancho	0.063 - 0.108 (0.083)	0.075 - 0.162 (0.120)	0.075 - 0.126 (0.101)	0.099 - 0.114 (0.107)	0.093 - 0.177 (0.129)	
Faringe						
Largo	0.081 - 0.129 (0.107)	0.090 - 0.216 (0.149)	0.093 - 0.141 (0.117)	0.099 - 0.135 (0.115)	0.132 - 0.186 (0.145)	
Ancho	0.111 - 0.171 (0.142)	0.117 - 0.225 (0.173)	0.120 - 0.189 (0.155)	0.141 - 0.174 (0.154)	0.159 - 0.228 (0.196)	
Diámetro						0.091 - 0.181
Relación ventosa oral - faringe						
Largo	1 : 0.52	1 : 0.62	1 : 0.54	1 : 0.55	1 : 0.65	1:0.55 - 0.59
Ancho	1 : 0.66	1 : 0.58	1 : 0.65	1 : 0.63	1 : 0.55	
Esófago						
Largo	0.081 - 0.15 (0.110)	0.018 - 0.174 (0.090)	0.069 - 0.18 (0.124)	0.060 - 0.123 (0.099)	0.135 - 0.294 (0.224)	
Ancho	0.06 - 0.12 (0.093)	0.033 - 0.186 (0.076)	0.084 - 0.135 (0.109)	0.114 - 0.123 (0.117)	0.114 - 0.225 (0.157)	
Distancia de la bifurcación cecal al extremo anterior del cuerpo	0.357 - 0.537 (0.442)	0.324 - 0.657 (0.508)	0.414 - 0.567 (0.492)	0.411 - 0.462 (0.438)	0.567 - 0.855 (0.703)	
Ciego izquierdo						
Largo	1.137 - 2.137 (1.761)	0.812 - 2.187 (1.505)	1.0 - 1.762 (1.358)	1.165 - 1.625 (1.335)	1.875 - 2.812 (2.509)	
Ancho	0.087 - 0.15 (0.116)	0.048 - 0.126 (0.089)	0.060 - 0.120 (0.092)	0.066 - 0.12 (0.084)	0.084 - 0.195 (0.133)	
Distancia al extremo posterior del cuerpo	0.225 - 0.487 (0.386)	0.177 - 0.612 (0.394)	0.215 - 0.450 (0.357)	0.325 - 0.475 (0.391)	0.275 - 0.637 (0.437)	
Ciego derecho						
Largo	1.137 - 2.162 (1.712)	0.825 - 2.15 (1.507)	0.987 - 1.737 (1.357)	1.1 - 1.475 (1.262)	1.937 - 2.775 (2.325)	
Ancho	0.075 - 0.15 (0.108)	0.045 - 0.186 (0.090)	0.066 - 0.141 (0.093)	0.069 - 0.12 (0.088)	0.081 - 0.138 (0.113)	
Distancia al extremo posterior del cuerpo	0.312 - 0.525 (0.397)	0.180 - 0.687 (0.407)	0.125 - 0.462 (0.352)	0.325 - 0.487 (0.416)	0.250 - 0.662 (0.470)	
Acetábulo						
Largo	0.108 - 0.159 (0.131)	0.093 - 0.225 (0.160)	0.096 - 0.147 (0.123)	0.114 - 0.156 (0.135)	0.129 - 0.195 (0.164)	
Ancho	0.105 - 0.165 (0.134)	0.111 - 0.213 (0.162)	0.111 - 0.141 (0.125)	0.096 - 0.168 (0.136)	0.126 - 0.192 (0.162)	
Diámetro						0.091 - 0.165
Relación ventosa oral - acetábulo						
Largo	1 : 0.64	1 : 0.67	1 : 0.57	1 : 0.65	1 : 0.63	1:0.51 - 0.59
Ancho	1 : 0.62	1 : 0.55	1 : 0.52	1 : 0.55	1 : 0.55	

Tabla XIV. (Continuación)

Autor	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Brooks, 1976
Huésped	<i>R. neovolcanica</i>	<i>R. montezumae</i>	<i>R. dunnii</i>	<i>R. dunnii</i>	<i>R. catesbeiana</i>	<i>R. blairi</i>
Localidad	Manantiales de Cointzio, Michoacán	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	Lago de Zacapu, Michoacán	Nebraska, Estados Unidos	Nebraska, Estados Unidos
Testículo izquierdo						
Largo	0.153 - 0.3 (0.238)	0.126 - 0.362 (0.223)	0.102 - 0.243 (0.169)	0.135 - 0.225 (0.165)	0.282 - 0.475 (0.358)	
Ancho	0.141 - 0.267 (0.226)	0.138 - 0.35 (0.227)	0.093 - 0.240 (0.173)	0.108 - 0.201 (0.153)	0.216 - 0.362 (0.295)	
Distancia del poro genital al acetábulo	0.039 - 0.075 (0.057)	0.024 - 0.084 (0.054)	0.024 - 0.069 (0.045)	0.042 - 0.066 (0.055)	0.057 - 0.108 (0.051)	
Testículo derecho						
Largo	0.153 - 0.291 (0.236)	0.132 - 0.375 (0.217)	0.105 - 0.25 (0.171)	0.135 - 0.212 (0.158)	0.246 - 0.425 (0.308)	
Ancho	0.138 - 0.249 (0.205)	0.111 - 0.375 (0.195)	0.081 - 0.225 (0.156)	0.087 - 0.187 (0.131)	0.192 - 0.312 (0.251)	
Bolsa del cirro						
Largo	0.156 - 0.315 (0.232)	0.210 - 0.412 (0.321)	0.183 - 0.258 (0.222)	0.177 - 0.3 (0.222)	0.264 - 0.423 (0.340)	0.132 - 0.494
Ancho	0.063 - 0.102 (0.082)	0.090 - 0.150 (0.124)	0.060 - 0.090 (0.078)	0.06 - 0.105 (0.082)	0.090 - 0.150 (0.117)	
Relación bolsa del cirro - acetábulo						
Largo	1.444 - 2.10 (1.762)	1.600 - 2.5 (1.894)	1.477 - 2.312 (1.824)		1.571 - 2.604 (2.115)	
Ancho	0.545 - 0.688 (0.619)	0.624 - 0.854 (0.719)	0.525 - 0.75 (0.630)		0.600 - 0.900 (0.744)	
Vesícula seminal (extremo anterior)						
Largo	0.033 - 0.051 (0.040)	0.030 - 0.072 (0.051)	0.018 - 0.051 (0.033)	0.033 - 0.06 (0.043)	0.045 - 0.075 (0.063)	
Ancho	0.03 - 0.045 (0.034)	0.045 - 0.084 (0.056)	0.027 - 0.057 (0.038)	0.036 - 0.06 (0.044)	0.036 - 0.081 (0.056)	
Vesícula seminal (extremo posterior)						
Largo	0.111 - 0.174 (0.144)	0.096 - 0.246 (0.178)	0.090 - 0.165 (0.130)	0.09 - 0.174 (0.116)	0.105 - 0.261 (0.211)	
Ancho	0.039 - 0.072 (0.048)	0.060 - 0.123 (0.090)	0.036 - 0.075 (0.053)	0.048 - 0.18 (0.083)	0.036 - 0.117 (0.089)	
Distancia poro genital extremo anterior del cuerpo	0.45 - 0.712 (0.596)	0.399 - 0.862 (0.604)	0.500 - 0.737 (0.629)		1.087 - 1.112 (0.44)	
Ovario						
Largo	0.120 - 0.183 (0.160)	0.108 - 0.262 (0.179)	0.120 - 0.192 (0.163)	0.105 - 0.18 (0.143)	0.174 - 0.300 (0.218)	
Ancho	0.132 - 0.183 (0.163)	0.099 - 0.252 (0.178)	0.102 - 0.201 (0.166)	0.123 - 0.18 (0.157)	0.177 - 0.240 (0.209)	
Receptáculo seminal						
Largo	0.062 - 0.111 (0.080)	0.057 - 0.111 (0.086)	0.051 - 0.087 (0.070)	0.051 - 0.072 (0.059)	0.096 - 0.159 (0.126)	
Ancho	0.075 - 0.096 (0.087)	0.060 - 0.132 (0.091)	0.066 - 0.102 (0.080)	0.054 - 0.081 (0.068)	0.108 - 0.189 (0.133)	
Extensión de glándulas vitelógenas						
Largo	0.750 - 1.4 (1.187)	0.512 - 1.41 (0.980)	0.612 - 1.225 (0.924)	0.712 - 0.95 (0.864)	0.875 - 1.65 (1.382)	
Ancho	0.775 - 1.462 (1.162)	0.462 - 1.462 (0.931)	0.585 - 1.175 (0.882)	0.687 - 1.1 (0.802)	0.937 - 1.7 (1.357)	
Huevos						
Largo	0.039 - 0.042 (0.040)	0.036 - 0.044 (0.040)	0.039 - 0.051 (0.040)	0.036 - 0.042 (0.040)	0.036 - 0.042 (0.039)	0.038 - 0.050
Ancho	0.015 - 0.018 (0.016)	0.014 - 0.018 (0.016)	0.015 - 0.039 (0.017)	0.015 - 0.018 (0.017)	0.015 - 0.021 (0.018)	0.017 - 0.024

Tabla XV. Medidas de *G. californiensis* referidas por algunos autores.

Autor	Caballero y Sokoloff (1934)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)
Huésped	<i>Rana montezumae</i>	<i>Rana montezumae</i>	<i>Rana dunni</i>	<i>Rana dunni</i>	<i>Rana aurora</i>
Localidad	México, D. F.	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	Lago de Zacapu, Michoacán	Estados Unidos
Cuerpo					
Largo	3-795 – 1.320	1.625 - 2.975 (1.991)	1.725 - 2.100 (1.871)	1.675 - 2.662 (2.049)	3.212 - 3.612 (3.412)
Ancho a nivel del acetábulo		0.625 - 0.95 (0.793)	0.725 - 0.900 (0.840)	0.525 - 0.850 (0.687)	0.887 - 1.0 (0.943)
Ancho máximo	0.990 – 2.090	0.637 - 0.975 (0.815)	0.812 - 0.925 (0.875)	0.562 - 0.875 (0.717)	0.900 - 1.062 (0.981)
Espinas					
Largo	0.006 – 0.008				
Ancho	0.002				
Ventosa oral					
Largo		0.138 - 0.325 (0.243)	0.234 - 0.300 (0.264)	0.174 - 0.272 (0.220)	0.288 - 0.297 (0.292)
Ancho		0.258 - 0.400 (0.288)	0.258 - 0.309 (0.282)	0.210 - 0.327 (0.264)	0.300 - 0.325 (0.312)
Diámetro	0.353 – 0.457				
Boca					
Largo		0.099 - 0.141 (0.122)	0.087 - 0.147 (0.118)	0.072 - 0.147 (0.096)	0.126 - 0.135 (0.130)
Ancho		0.114 - 0.174 (0.138)	0.099 - 0.135 (0.111)	0.078 - 0.141 (0.105)	0.138 - 0.165 (0.151)
Faringe					
Largo	0.353	0.096 - 0.171 (0.127)	0.114 - 0.153 (0.134)	0.084 - 0.162 (0.110)	0.129 - 0.141 (0.135)
Ancho	0.270	0.129 - 0.195 (0.152)	0.153 - 0.204 (0.176)	0.096 - 0.204 (0.143)	0.144 - 0.168 (0.156)
Relación ventosa oral - faringe					
Largo		1 : 0.522	1 : 0.507	1 : 0.5	1 : 0.462
Ancho		1 : 0.527	1 : 0.624	1 : 0.541	1 : 0.5
Esófago					
Largo		0.045 - 0.117 (0.079)	0.078	0.030 - 0.105 (0.064)	0.216
Ancho		0.069 - 0.138 (0.099)	0.093	0.045 - 0.120 (0.073)	0.171
Distancia de la bifurcación cecal al extremo anterior del cuerpo					
		0.375 - 0.552 (0.472)	0.486	0.312 - 0.537 (0.426)	0.654
Ciego derecho					
Largo		0.95 - 1.712 (1.227)	1.200 - 1.412 (1.265)	1.025 - 1.700 (1.301)	2.075 - 2.325 (2.200)
Ancho máximo		0.063 - 0.135 (0.098)	0.084 - 0.138 (0.102)	0.060 - 0.120 (0.079)	0.087 - 0.105 (0.096)
Distancia al extremo posterior del cuerpo		0.275 - 0.562 (0.345)	0.200 - 0.287 (0.246)	0.212 - 0.475 (0.348)	0.675 - 0.812 (0.743)
Ciego izquierdo					
Largo		0.950 - 1.700 (1.213)	1.137 - 1.350 (1.228)	1.012 - 1.687 (1.262)	1.650 - 2.412 (2.031)
Ancho máximo		0.069 - 0.144 (0.100)	0.066 - 0.165 (0.106)	0.060 - 0.111 (0.081)	0.090 - 0.120 (0.105)
Distancia al extremo posterior del cuerpo	0.416 – 0.478	0.300 - 0.562 (0.349)	0.175 - 0.275 (0.228)	0.225 - 0.462 (0.339)	0.650 - 0.837 (0.743)
Acetábulo					
Largo		0.102 - 0.187 (0.132)	0.123 - 0.153 (0.136)	0.105 - 0.165 (0.134)	0.186 - 0.189 (0.187)
Ancho		0.144 - 0.200 (0.164)	0.153 - 0.186 (0.170)	0.096 - 0.174 (0.140)	0.162 - 0.189 (0.175)
Diámetro	0.200 – 0.220				

Tabla XV. (Continuación)

Autor	Caballero (1938)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)	Razo Mendivil (1998)
Huésped	<i>Rana montezumae</i>	<i>Rana montezumae</i>	<i>Rana dunni</i>	<i>Rana dunni</i>	<i>Rana aurora</i>
Localidad	México, D. F.	Ciénaga de Lerma, Estado de México	Lago de Pátzcuaro, Michoacán	Lago de Zacapu, Michoacán	Estados Unidos
Relación ventosa oral - acetábulo					
Largo	2:1	1 : 0.543	1 : 0.515	1 : 0.609	1 : 0.640
Ancho		1 : 0.569	1 : 0.602	1 : 0.530	1: 0.560
Distancia del poro genital al acetábulo	0.040	0.027 - 0.111 (0.054)	0.033 - 0.084 (0.061)	0.033 - 0.084 (0.061)	0.057
Testículo derecho					
Largo		0.108 - 0.261 (0.196)	0.183 - 0.255 (0.207)	0.150 - 0.287 (0.220)	0.285 - 0.387 (0.336)
Ancho		0.150 - 0.250 (0.197)	0.225 - 0.309 (0.268)	0.156 - 0.275 (0.202)	0.189 - 0.312 (0.250)
Diámetro	0.270 - 0.312				
Testículo izquierdo					
Largo		0.174 - 0.262 (0.209)	0.168 - 0.262 (0.220)	0.137 - 0.300 (0.219)	0.240 - 0.375 (0.307)
Ancho		0.153 - 0.225 (0.191)	0.187 - 0.27 (0.232)	0.129 - 0.237 (0.183)	0.183 - 0.287 (0.235)
Diámetro	0.291 - 0.395				
Bolsa del cirro					
Largo	0.880 - 1.155	0.189 - 0.348 (0.276)	0.201 - 0.279 (0.238)	0.102 - 0.285 (0.227)	0.255 - 0.285 (0.270)
Ancho	0.385 - 0.440	0.090 - 0.171 (0.119)	0.096 - 0.135 (0.12)	0.063 - 0.213 (0.111)	0.117 - 0.132 (0.124)
Relación bolsa del cirro - acetábulo					
Largo		1.565 - 2.619 (2.088)	1.704 - 2.024 (1.850)	0.809 - 2.162 (1.717)	1.370 - 1.507 (1.438)
Ancho		0.545 - 1.134 (0.736)	0.725 - 0.754 (0.754)	0.564 - 1.690 (0.805)	0.698 - 0.722 (0.710)
Vesícula seminal (extremo anterior)					
Largo		0.030 - 0.051 (0.043)	0.042	0.027 - 0.054 (0.041)	-
Ancho		0.036 - 0.054 (0.046)	0.051	0.03 - 0.054 (0.044)	-
Vesícula seminal (extremo posterior)					
Largo		0.090 - 0.216 (0.148)	0.111	0.090 - 0.162 (0.131)	-
Ancho		0.045 - 0.102 (0.072)	0.072	0.051 - 0.099 (0.070)	-
Distancia poro genital extremo anterior del cuerpo		0.425 - 0.780 (0.527)	0.600 - 0.725 (0.650)	0.489 - 0.887 (0.605)	1.025
Ovario					
Largo		0.111 - 0.186 (0.143)	0.129 - 0.153 (0.141)	0.114 - 0.189 (0.143)	0.237 - 0.270 (0.253)
Ancho		0.099 - 0.171 (0.141)	0.144 - 0.180 (0.166)	0.090 - 0.180 (0.137)	0.204 - 0.240 (0.222)
Diámetro	0.550 - 0.660				
Receptáculo seminal					
Largo	0.180 - 0.184	-	0.081 - 0.186 (0.117)	0.033 - 0.120 (0.091)	0.090 - 0.123 (0.106)
Ancho	0.132 - 0.160	-	0.093 - 0.165 (0.124)	0.075 - 0.123 (0.100)	0.111 - 0.129 (0.12)
Extensión de glándulas vitelógenas					
Izquierda		0.337 - 0.950 (0.532)	0.587 - 0.650 (0.617)	0.487 - 0.937 (0.612)	1.0 - 1.050 (1.025)
Derecha		0.354 - 0.800 (0.503)	0.525 - 0.675 (0.582)	0.429 - 0.812 (0.579)	0.800 - 0.875 (0.837)
Huevos					
Largo	0.044 - 0.048	0.038 - 0.046 (0.043)	0.045 - 0.048 (0.045)	0.037 - 0.043 (0.039)	0.045
Ancho	0.016 - 0.020	0.015 - 0.018 (0.016)	0.015 - 0.018 (0.016)	0.014 - 0.019 (0.015)	0.018 - 0.021 (0.019)

Tabla XVI. Medidas de *G. parva* referidas por algunos autores.

Autor	Travassos, 1924
Huésped	<i>Cystignathus ocellatus</i>
Localidad	Brasil
Cuerpo	
Largo	1.3
Ancho	0.460
Ventosa oral	
Diámetro	0.140
Acetábulo	
Diámetro	0.130
Faringe	
Largo	0.100
Ancho	0.120
Testículo derecho	
Largo	0.170
Testículo izquierdo	
Largo	0.150
Bolsa del cirro	
Largo	0.300 – 0.400
Metratermo	
Largo	0.150
Huevos	
Largo	0.028

Tabla XVII. Medidas de *G. intestinalis* referidas por algunos autores.

Autor	Lucker (1931)	O'Grady (1987)
Huésped	<i>Rana pretiosa</i>	<i>Rana pretiosa</i>
Localidad	Bothell, Washington, E. U.	British Columbia, Canadá
Cuerpo		
Largo	5.0	2.70 – 5.28 (4.03)
Ancho	0.48 – 0.63	0.550 – 0.670 (0.620)
Ventosa oral		
Largo	0.256 – 0.32	0.270 – 0.350 (0.290)
Ancho		0.250 – 0.380 (0.290)
Acetábulo		
Largo	0.176 – 0.240	
Faringe		
Largo	0.08 – 0.100	0.100 – 0.140 (0.120)
Ancho	0.110 – 0.140	0.110 – 0.140 (0.120)
Testículo anterior		
Largo		0.230 – 0.320 (0.280)
Ancho		0.190 – 0.260 (0.230)
Testículo posterior		
Largo		0.250 – 0.350 (0.290)
Ancho		0.210 – 0.280 (0.240)
Diámetro	0.320 – 0.368	
Ovario	0.220 – 0.240	
Largo		0.170 – 0.210 (0.190)
Ancho		0.140 – 0.190 (0.170)
Bolsa del cirro		
Largo		0.350 – 0.760 (0.450)
Huevos		
Largo	0.048 – 0.058	0.045 – 0.053 (0.050)
Ancho	0.018 – 0.026	

Tabla XVI. Medidas de *G. parva* referidas por algunos autores.

Autor	Travassos, 1924
Huésped	<i>Cystignathus ocellatus</i>
Localidad	Brasil
<hr/>	
Cuerpo	
Largo	1.3
Ancho	0.460
Ventosa oral	
Diámetro	0.140
Acetábulo	
Diámetro	0.130
Faringe	
Largo	0.100
Ancho	0.120
Testículo derecho	
Largo	0.170
Testículo izquierdo	
Largo	0.150
Bolsa del cirro	
Largo	0.300 – 0.400
Metratermo	
Largo	0.150
Huevos	
Largo	0.028

Tabla XVII. Medidas de *G. intestinalis* referidas por algunos autores.

Autor	Lucker (1931)	O'Grady (1987)
Huésped	<i>Rana pretiosa</i>	<i>Rana pretiosa</i>
Localidad	Bothell, Washington, E. U.	British Columbia, Canadá
Cuerpo		
Largo	5.0	2.70 – 5.28 (4.03)
Ancho	0.48 – 0.63	0.550 – 0.670 (0.620)
Ventosa oral		
Largo	0.256 – 0.32	0.270 – 0.350 (0.290)
Ancho		0.250 – 0.380 (0.290)
Acetábulo		
Largo	0.176 – 0.240	
Faringe		
Largo	0.08 – 0.100	0.100 – 0.140 (0.120)
Ancho	0.110 – 0.140	0.110 – 0.140 (0.120)
Testículo anterior		
Largo		0.230 – 0.320 (0.280)
Ancho		0.190 – 0.260 (0.230)
Testículo posterior		
Largo		0.250 – 0.350 (0.290)
Ancho		0.210 – 0.280 (0.240)
Diámetro	0.320 – 0.368	
Ovario		
Largo	0.220 – 0.240	0.170 – 0.210 (0.190)
Ancho		0.140 – 0.190 (0.170)
Bolsa del cirro		
Largo		0.350 – 0.760 (0.450)
Huevos		
Largo	0.048 – 0.058	0.045 – 0.053 (0.050)
Ancho	0.018 – 0.026	

Tabla XVIII. Medidas de *G. shastai* referidas por algunos autores.

Autor	Ingles, 1936	O'Grady, 1987
Huésped	<i>Bufo boreas</i>	<i>Bufo boreas</i>
Localidad	Shasta County, California, E. U.	Shasta County, California, E. U. Nelson, British Columbia; Gorge Creek, Alberta, Canada
Cuerpo		
Largo	1.2 – 2.3	1.62 – 5.87 (4.14)
Ancho	0.54 – 0.77	0.60 – 1.15 (1.12)
Ventosa oral		
Largo	0.130 – 0.220	0.25 – 0.39 (0.32)
Ancho		0.25 – 0.40 (0.32)
Acetábulo		
Largo	0.120 – 0.160	0.16 – 0.27 (0.22)
Ancho		0.16 – 0.27 (0.22)
Relación ventosa oral- acetábulo	4:3	
Faringe		
Largo	0.100 - 0.130	0.14 – 0.26 (0.18)
Ancho		0.14 – 0.27 (0.21)
Esófago		
Largo	0.060 – 0.180	
Testículo derecho		
	0.22 – 0.29	
Largo		0.21 – 0.45 (0.36)
Ancho		0.34 – 0.41 (0.35)
Testículo izquierdo		
Largo		0.35 – 0.52 (0.42)
Ancho		0.25 – 0.44 (0.35)
Ovario		
Largo	0.130 – 0.190	0.20 – 0.31 (0.26)
Ancho		0.19 – 0.31 (0.25)
Bolsa del cirro		
Largo	0.260 – 0.400	0.460 – 0.920 (0.680)
Ancho	0.080 – 0.110	
Huevos		
Largo	0.031 – 0.032	0.041 – 0.050 (0.044)
Ancho	0.014 – 0.017	

Tabla XIX. Medidas de *G. facioi* referidas por algunos autores.

Autor	Brenes et al., 1959	Sullivan, 1976
Huésped	<i>Rana pipiens</i>	<i>Rana pipiens</i>
Localidad	Coris, Provincia de Cartago, Costa Rica	Coris y Turrialba, Provincia de Cartago, Costa Rica
Cuerpo		
Largo	3.225 – 3.816	1.820 – 3.440 (2.800)
Ancho	0.834 – 0.861	390 – 900 (640)
Espinas		
Largo	0.006	
Ancho	0.003	
Ventosa oral		
Largo	0.293 – 0.300	0.170 – 0.240 (200)
Ancho	0.293	0.170 – 0.250 (220)
Acetábulo		
Largo	0.163 – 0.177	0.090 – 0.140 (0.120)
Ancho	0.156 – 0.163	0.080 – 0.150 (0.120)
Relación ventosa oral-acetábulo	2:1	1:0.58 ± 0.03
Faringe		
Largo	0.115 – 0.136	0.070 – 0.110 (0.090)
Ancho	0.204 – 0.218	0.110 – 0.160 (0.130)
Esófago		
Largo	0.136 – 0.204	0.110 – 0.280
Ancho	0.102	
Ciego derecho		
Largo	2.626 – 2.850	
Ancho	0.122 – 0.150	
Distancia al extremo posterior del cuerpo	0.184 – 0.272	
Ciego izquierdo		
Largo	2.366 – 2.803	
Ancho	0.115	
Distancia al extremo posterior del cuerpo	0.293 – 0.341	
Testículo derecho		
Largo	0.286 – 0.320	0.130 – 0.240 (0.200)
Ancho		0.100 – 0.230 (0.170)
Testículo izquierdo		
Largo	0.334 – 0.341	0.130 – 0.290 (0.240)
Ancho		0.110 – 0.250 (0.190)
Ovario		
Largo	0.195 – 0.204	0.100 – 0.240 (0.170)
Ancho		0.090 – 0.210 (0.160)
Bolsa del cirro		
Largo	0.347 – 0.451	0.150 – 0.340 (0.270)
Ancho	0.095 – 0.163	0.050 – 0.100 (0.070)
Huevos		
Largo	0.033 – 0.047	0.027 – 0.032 (0.029)
Ancho	0.020 – 0.021	0.012 – 0.020 (0.015)

Tabla XX. Medidas de *G. pennsylvaniensis* referidas por algunos autores.

Autor	Martin, 1969	Byrd & Maples, 1963	Sullivan & Byrd, 1970
Huésped	<i>Hyla crucifer</i>	<i>Hyla crucifer</i>	<i>Hyla crucifer</i>
Localidad	Lake Warren, State Game Reserve No 56, Bucks County, Pennsylvania, E. U.	Bucks County, Pennsylvania; Clarke y Chatham Counties, Georgia, E. U.	Framington Oconee County, Georgia, E.U.
Organismos	Adultos	Adultos	Adultos inmaduros
Cuerpo			
Largo	1.314 – 2.88 (1.841)	0.800 – 3.650 (2.140)	0.790 – 1.150 (1.00)
Ancho	0.450 – 0.900 (0.641)	0.450 – 1.260 (0.750)	0.200 – 0.450 (0.380)
Ventosa oral			
Largo	0.132 – 0.264 (0.193)	0.170 – 0.310 (0.240)	0.093 – 0.120 (0.110)
Ancho	0.145 – 0.264 (0.189)	0.150 – 0.300 (0.230)	0.097 – 0.140 (0.120)
Prefarínge			
Largo			0.034 – 0.054 (0.047)
Ancho			0.051 – 0.087 (0.074)
Faringe			
Largo	0.099 – 0.139 (0.115)	0.070 – 0.140 (0.110)	
Ancho		0.050 – 0.120 (0.070)	
Glándulas perifaríngeas			
Largo	0.029 – 0.053 (0.045)		
Ancho	0.026 – 0.042 (0.033)		
Acetábulo			
Largo	0.125 – 0.198 (0.150)	0.130 – 0.280 (0.190)	0.077 – 0.099 (0.089)
Ancho	0.132 – 0.231 (0.168)	0.132 – 0.231 (0.168)	0.077 – 0.110 (0.085)
Distancia del acetábulo al extremo anterior del cuerpo		0.290 – 0.940 (0.630)	
Esófago			
Largo	0.066- 0.165 (0.102)	0.110 – 0.330 (0.220)	(0.096)
Distancia esófago acetábulo	0.010 – 0.260		
Distancia de la bifurcación cecal al extremo anterior del cuerpo	0.462		
Ciegos terminando a una distancia del extremo posterior del cuerpo		0.150 – 0.460	
Testículo derecho			
Largo	0.086 – 0.224 (0.170)	0.120 – 0.250 (0.190)	0.034– 0.060 (0.048)
Ancho	0.072 – 0.165 (0.135)	0.090 – 0.160 (0.120)	0.029– 0.054 (0.045)
Testículo izquierdo			
Largo	0.092 – 0.298 (0.181)	0.140 – 0.280 (0.210)	0.034 – 0.068 (0.053)
Ancho	0.086 – 0.168 (0.126)	0.090 – 0.170 (0.120)	0.034– 0.060 (0.049)
Bolsa del cirro			
Largo	0.075 – 0.165 (0.118)		
Ancho	0.042 – 0.077 (0.061)		
Vesícula seminal			
Largo	(0.091)		
Ancho	(0.047)		
Cirro			
Largo	(0.118)		
Ancho	(0.061)		

Tabla XX. (Continuación)

Autor	Martin, 1969	Byrd & Maples, 1963	Sullivan & Byrd, 1970
Huésped	<i>Hyla crucifer</i>	<i>Hyla crucifer</i>	<i>Hyla crucifer</i>
Localidad	Lake Warren, State Game Reserve No 56, Bucks County, Pennsylvania, E. U.	Bucks County, Pennsylvania; Clarke y Chatham Counties, Georgia, E. U.	Framington Oconee County, Georgia, E.U.
Ovario			
Largo	0.059 – 0.152 (0.092)	0.070 – 0.220 (0.120)	0.025 – 0.043 (0.037)
Ancho	0.046 – 0.099 (0.073)	0.050 – 0.150 (0.090)	0.025 – 0.041 (0.038)
Ootipo			
Diámetro	0.033		
Receptáculo seminal			
Diámetro	(0.072)		
Huevos			
Largo	0.030 – 0.038 (0.034)	0.021 – 0.043 (0.034)	
Ancho	0.015 – 0.021 (0.019)	0.013 – 0.035 (0.021)	

Tabla XXI. Medidas de *G. hylareus* referidas por algunos autores.

Autor	Martin, 1969	Brooks, 1976
Huésped	<i>Hyla regilla</i>	<i>Pseudacris triseriata</i>
Localidad	Near Corvallis, Linn County, Oregon, E.U.	Nebraska, E.U.
Cuerpo		
Largo	2.023 – 3.959 (3.00)	1.253 – 3.724
Ancho	0.514 – 1.252 (0.928)	0.453 – 1.207
Forebody	0.695 – 1.223 (0.955)	
Hind body	1.092 – 2.507 (1.790)	
Ventosa oral		
Largo	0.201 – 0.335 (0.279)	0.157 – 0.321
Ancho	0.210 – 0.351 (0.279)	0.155 – 0.325
Prefarínge		
Largo	0.016 – 0.033	
Faringe		
Largo	0.082 – 0.123 (0.102)	
Ancho	0.096 – 0.168 (0.126)	
Diámetro		0.091 – 0.181
Acetábulo		
Diámetro	0.159 – 0.293 (0.234)	0.091 – 0.165
Relación ventosa oral-acetábulo	1:0.8	1 : 0.55 – 0.59
Esófago		
Largo	0.112- 0.596 (0.295)	
Ancho	0.073 – 0.177 (0.118)	
Ciegos terminando a una distancia del extremo posterior del cuerpo	0.183 – 0.897 (0.452)	
Testículo derecho		
Largo	0.155 – 0.336 (0.264)	
Ancho	0.106 – 0.271 (0.269)	
Testículo izquierdo		
Largo	0.155 – 0.369 (0.269)	
Ancho	0.099 – 0.293 (0.188)	
Bolsa del cirro		
Largo	0.225 – 0.555 (0.366)	0.132 – 0.494
Ancho	0.067 – 0.122 (0.102)	
Vesícula seminal		
Largo	0.074 – 0.161 (0.141)	
Ancho	0.060 – 0.085 (0.074)	
Ovario		
Largo	0.075 – 0.217 (0.165)	
Ancho	0.057 – 0.226 (0.156)	
Receptáculo seminal		
Largo	0.052 – 0.171 (0.119)	
Ancho	0.036 – 0.138 (0.085)	
Huevos (<i>in vivo</i>)		
Largo	0.047 – 0.052 (0.048)	
Ancho	0.024 – 0.027 (0.025)	
Huevos (montados)		
Largo	0.038 – 0.051 (0.045)	0.038 – 0.050
Ancho	0.021 – 0.030 (0.025)	0.017 – 0.024

6. DISCUSIÓN GENERAL

La historia taxonómica del género *Glyphelmins* ha sido controversial desde su establecimiento en 1905 por Stafford, debido en gran parte a que en la descripción de la especie tipo, *G. quieta*, el autor no puntualizó los caracteres diagnósticos del género. Lo anterior, trajo como consecuencia que algunas de las especies que iban siendo descubiertas y que debían ser incluidas en *Glyphelmins*, fueran empleadas para establecer nuevos géneros de digéneos, a pesar de la similitud morfológica que presentaban con la especie tipo de *Glyphelmins*. Este fue el caso de las especies *G. californiensis* y *G. intestinalis*, las cuales constituyeron las especies tipo de los géneros *Margeana* y *Haplometrana*, respectivamente. La descripción de nuevas especies con un número reducido de ejemplares, en algunos casos hasta un solo ejemplar, también ha contribuido en la problemática del género, debido a que en la mayoría de las especies no se ha estudiado la variación intra-específica de los ejemplares. Esto, ha repercutido en la descripción de varias especies que han resultado ser sinónimos de especies previamente descritas (ej. *G. subtropica*, sinónimo de *G. quieta*).

Otro aspecto que no ha permitido resolver la controversia taxonómica de *Glyphelmins* ha sido el desacuerdo entre distintos autores en cuanto al número total de especies que constituyen al género, a pesar de que éste ha sido sometido a diversos tratamientos taxonómicos y sistemáticos (Nasir, 1966; Sullivan, 1976; Yamaguti, 1958 y 1971; Brooks 1977; Prudhoe & Bray 1982; O'Grady, 1987³, Brooks & McLennan, 1993). Lo anterior se debe a que ninguno de los estudios ha contemplado a la totalidad de las especies incluidas en *Glyphelmins* o en los géneros *Margeana*, *Haplometrana*, *Choledocystus*, *Rauschiella*, *Reynoldstrema*, *Repandum* e *Hylotrema*. Varios de estos géneros fueron establecidos con especies que no se ajustaban con la diagnosis genérica de *Glyphelmins*. Asimismo, algunos de estos trabajos han sido ambiguos, debido a que en ellos se han propuesto las sinonimias de los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella* con *Glyphelmins* sin especificar y sin discutir los motivos de tales decisiones (Yamaguti, 1958 y 1971; Brooks, 1977). Por otro lado, las hipótesis filogenéticas del género no habían definido si *Glyphelmins* constituye un grupo natural o no, ya que los estudios filogenéticos solo habían incluido a una parte de las especies, aunado a que no se utilizaron grupos externos que pusieran a prueba la monofilia del género (Brooks, 1977; O'Grady, 1987³;

³ O'Grady, R. T. (1987) Phylogenetic systematics and the evolutionary history of some intestinal flatworms parasites (Trematoda: Digenea: Plagiorchioidea) of anurans. Ph. D. Thesis, University of British Columbia, Vancouver, B. C., Canada. 210 pp.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Brooks & McLennan, 1993). Finalmente, el esquema de clasificación nunca ha estado basado en una hipótesis filogenética, por lo que actualmente no hay un acuerdo entre las distintas autoridades en cuanto a la validez de los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella* o de su sinonimia con *Glypthelmins*.

El presente trabajo pretendió cubrir desde varias perspectivas los distintos aspectos que han sido motivo de la problemática taxonómica del género. La observación de los holotipos, los paratipos y los ejemplares voucher de las diferentes especies consideradas miembros de *Glypthelmins*, depositados en varias colecciones parasitológicas y helmintológicas (CNHE, USNPC, HWML, CHIOC, etc.), así como de colecciones personales (Dr. Daniel Brooks), nos ayudó a estudiar de manera directa a la mayoría de las especies del género. El trabajo de campo realizado durante seis años de muestreo en 50 localidades de la República Mexicana, distribuidas en 13 estados, nos permitió estudiar 33 especies de anuros de las cuales se recolectaron nueve morfoespecies de *Glypthelmins* y dos morfotipos. Estas especies fueron identificadas en primera instancia como: *G. brownorumae*, *G. californiensis*, *G. hepatica*, *G. linguatula*, *G. parva*, *G. poncedeleoni*, *G. quieta*, *G. tineri* y *G. tuxtlasensis*. En cuanto a los morfotipos provenientes de los estados de Oaxaca y Chiapas, no fue posible su identificación a nivel de especie, debido al escaso número de ejemplares y a la variación morfológica de los mismos. Los ejemplares de las especies de *Glypthelmins* colectadas en México, así como de las especies provenientes de los Estados Unidos (*G. intestinalis*, *G. pennsylvaniensis* y *G. hylareus*) y de Costa Rica (*G. facioi*) fueron empleados en los estudios morfológicos. De la misma manera, parte de estas especies fueron empleadas en el estudio molecular. No todas las especies recién recolectadas o donadas fueron sometidas a los análisis moleculares, ya que en algunos casos se recolectó un solo ejemplar de las mismas. De la misma manera, la búsqueda y recopilación de un extenso número de publicaciones relacionadas con *Glypthelmins* y con los distintos temas tratados en este estudio contribuyó en la conformación del presente trabajo. Finalmente, la integración de los estudios morfológicos y moleculares nos permitió proponer varias modificaciones a la sistemática del género *Glypthelmins*.

6.1. DATOS MORFOLÓGICOS

Los resultados obtenidos del análisis filogenético basado en el estudio de 45 caracteres morfológicos, 30 especies del género *Glypthelmins* (*sensu lato*) y cinco grupos externos, nos permiten concluir que el género *Glypthelmins*, tal y como ha sido concebido por varios autores en distintos tratamientos taxonómicos y sistemáticos, no constituye un grupo monofilético. El análisis morfológico demostró que las 30 especies consideradas como miembros de

Glypthelmins no conforman un grupo monofilético, debido a que no todas descienden de un ancestro común. Aunado a esto, en el grupo interno se incluyeron algunos de los taxones empleados como grupos externos. La hipótesis filogenética basada en caracteres morfológicos refleja que las distintas especies estudiadas constituyen tres grupos monofiléticos que corresponden con los géneros que mayor controversia han presentado a lo largo de la historia de *Glypthelmins* (*Glypthelmins*, *Choledocystus* y *Rauschiella*). El género *Glypthelmins* es un grupo monofilético si y solo si se considera que está constituido por las especies: *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. parva*, *G. intestinalis*, *G. shastai*, *G. pennsylvaniensis*, *G. facioi*, *G. hylorus*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. Las diez especies que constituyen a *Glypthelmins* comparten una sinapomorfía inequívoca, referente a que el metratermo, en su recorrido hacia el poro genital, se ubica de manera dorsal a la bolsa del cirro (carácter 30[0]).

La hipótesis filogenética morfológica apoya la revalidación de los géneros *Choledocystus* y *Rauschiella*, constituidos por ocho y doce especies respectivamente. Ambos géneros aparecen en el árbol filogenético como linajes independientes de *Glypthelmins*. El género *Choledocystus* puede reconocerse como un grupo natural si y solo si se considera a *Laiogonimus mariavirginiae* como miembro de éste. *Choledocystus* está conformado por las especies: *C. elegans*, *C. hepatica*, *C. simulans*, *C. ramitesticularis*, *C. incurvatum*, *C. vitellinophilum*, *C. diana* y *C. mariavirginiae*. Las especies constitutivas de *Choledocystus* comparten el carácter referente a la proporción entre los diámetros transversales de la ventosa oral y el acetábulo de $1 > 0.9$ veces (carácter 7 [1]). Por su parte, el linaje considerado como el género *Rauschiella* se sustenta por la sinapomorfía inequívoca referente a que las glándulas vitelógenas a lo largo de su distribución forman grupos (carácter 34[1]). Se considera que *Rauschiella* está constituido por las especies: *R. linguatula*, *R. repandum*, *R. rugocaudata*, *R. staffordi*, *R. lenti*, *R. proximus*, *R. sera*, *R. tineri*, *R. chaquensis*, *R. pseudium*, *R. sanmartini* y *R. poncedeleoni*.

6.2. DATOS MOLECULARES

La obtención de las secuencias parciales de los genes mitocondriales que codifican para la enzima citocromo oxidasa subunidad 1 (*cox1*), del espaciador interno de transcripción (ITS2) y de los genes nucleares 5.8S y 28S de algunas especies de *Glypthelmins* y su combinación con la morfología de las mismas, nos llevó a proponer dos nuevas especies del género: *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*.

A pesar de que el análisis filogenético de las secuencias parciales de los genes ribosomales 28S no incluyó a la totalidad de las especies empleadas en el análisis morfológico,

éste contempló 11 especies de *Glypthelmins* junto con otras 58 especies pertenecientes a los órdenes Plagiochiida (54 especies), Echinostomida (3 especies) y Strigeidida (1 especie). La hipótesis filogenética mostró que las 11 especies de *Glypthelmins* no integran un grupo monofilético, ya que las especies consideradas como *G. hepatica*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni* no están cercanamente emparentadas con las especies: *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. intestinalis*, *G. facioi*, *G. pennsylvaniensis*, *G. hylorius*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*, las cuales constituyen un clado soportado por altos valores de bootstrap y de índice de Bremer, 100% y 48 respectivamente. En los árboles filogenéticos la especie *G. hepatica* se ubica como grupo hermano de los géneros de la familia Telorchidae (*Telorchis* y *Opisthioglyphe*) o de los géneros de la familia Ochetosomatidae (*Ochetosoma* y *Dasymetra*). Por su parte, las especies *G. tineri* y *G. poncedeleoni* conforman un clado que se ubica como el grupo hermano de por lo menos 20 géneros que forman parte de la superfamilia Plagiorchioidea. Estos resultados concuerdan con la información obtenida en el análisis filogenético morfológico, en donde *G. hepatica* queda incluida en el clado correspondiente al género *Choledocystus* y las especies *G. tineri* y *G. poncedeleoni* como miembros de *Rauschiella*. Adicionalmente, la posición de estas especies en los árboles filogenéticos es equivalente a la de las demás especies representantes de los diversos géneros de plagiorquidos empleados en este trabajo. Por lo que debe considerarse a *G. hepatica* como *Choledocystus hepatica*, a *G. tineri* como *Rauschiella tineri* y a *G. poncedeleoni* como *Rauschiella poncedeleoni*.

Otro aspecto relevante del estudio de marcadores moleculares es el alto porcentaje de divergencia génica de los genes ribosomales 28S que muestran *C. hepatica*, *R. tineri* y *R. poncedeleoni* con respecto a los miembros de *Glypthelmins*. Entre las ocho especies de *Glypthelmins* los porcentajes de divergencia génica variaron entre 0.81% y 4.4%. En contraste, *C. hepatica*, *R. tineri* y *R. poncedeleoni* variaron entre 10.17% y 10.77% con respecto a los miembros de *Glypthelmins*. Valores menores a 10.17% y 10.77% son exhibidos entre varios géneros de las familias Plagiorchiidae, Pleurogenidae, Lecithodendriidae y Leptophallidae, de los cuales no hay duda de su validez taxonómica. Actualmente se cuenta con un gran número de trabajos que han empleado los datos de las secuencias de los genes ribosomales 28S para elucidar las relaciones filogenéticas de diversos géneros de digéneos (Littlewood & Johnston, 1995; Barker & Blair, 1996; Tkach *et al.*, 2000b; Tkach *et al.*, 2001b y 2001c; Olson *et al.*, 2003). Sin embargo, en ninguno de estos trabajos se ha asociado la información de los porcentajes de divergencia génica con la diferenciación morfológica presente entre las especies o géneros de las distintas familias estudiadas. Por lo tanto, se hace necesario combinar ambas fuentes de

información con el objetivo de caracterizar a las especies y/o géneros, lo cual dará mayor certeza de la validez taxonómica de las entidades biológicas que sean analizadas.

6.3. DISCREPANCIA ENTRE LAS HIPÓTESIS FILOGENÉTICAS BASADAS EN DATOS MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES

Las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Glythelmins* (*sensu stricto*) obtenidas en los distintos estudios morfológicos (Brooks, 1977; O'Grady, 1987³; Brooks & McLennan, 1993; este estudio) difieren de la hipótesis obtenida a partir de los datos moleculares. La única correspondencia entre todas las hipótesis es la referente a la estrecha relación que guardan las especies hermanas *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*. Esta cercana relación también se ha demostrado con datos de alozimas (Rannala, 1992). Una explicación de las diferencias entre las hipótesis morfológicas y moleculares es que algunos de los caracteres morfológicos que producen relaciones entre especies sean adaptativamente plásticos. En varias especies de digéneos se ha demostrado experimentalmente que rasgos morfológicos tales como: la forma y el tamaño del cuerpo, el tamaño relativo de las ventosas, la distribución de las glándulas vitelógenas y la localización de los órganos sexuales, pueden modificarse cuando los organismos son inducidos a desarrollarse en huéspedes diferentes a los habituales, proceso conocido como variación inducida por el huésped (Waitz, 1960; Grabda-Kazubaska, 1967; O'Grady, 1987³; Pérez-Ponce de León, 1995). Este problema puede determinar un obscurecimiento de las verdaderas relaciones genealógicas entre las especies. Por lo tanto, se debe tener la seguridad de que los caracteres morfológicos empleados en cualquier análisis filogenético, no sean caracteres que puedan modificarse por factores externos.

Lo anterior no quiere decir que las relaciones entre grupos hermanos generadas a partir de los datos moleculares sean las correctas, sino que representan una hipótesis alternativa a las ya existentes. Asimismo, hay que tomar en cuenta que en este estudio únicamente se está presentando una hipótesis (árbol de genes) derivada de un solo conjunto de datos moleculares (gen ribosomal 28S), el cual no necesariamente representa la filogenia de las especies. Existen diversos trabajos que han discutido acerca de si los árboles de genes son equiparables a los árboles de especies y se ha visto, que cuando existe incongruencia entre las hipótesis filogenéticas generadas a partir de datos morfológicos con las derivadas de marcadores moleculares, las razones de tal incongruencia pueden deberse a alguno de los siguientes fenómenos biológicos: a) sorteo de linajes, b) coalescencia profunda, c) duplicación génica y d)

³ O'Grady, R. T. (1987)

transferencia génica horizontal (Avice, 1989, 1994; Doyle, 1992; Page & Holmes, 1998; Doyle & Davis, 1998; Wendel & Doyle, 1998; Slowinski & Page, 1999). Esto sugiere que sería deseable obtener más datos de distintos marcadores moleculares provenientes del DNA mitocondrial (genes *cox1*, *cob*, etc.) y del DNA ribosomal (ITS1 e ITS2) con el fin de contar con otras hipótesis filogenéticas y contrastarlas con la de los genes ribosomales 28S y con la hipótesis filogenética basada en caracteres morfológicos. Asimismo, sería interesante contar con diferentes conjuntos de datos y evaluar la manera de analizarlos, ya sea mediante la propuesta de combinar todos los datos disponibles en un solo análisis, a lo que se le denomina análisis simultáneos [= evidencia total] o analizar a cada conjunto de datos por separado bajo el concepto de congruencia taxonómica [= análisis divididos] (Kluge, 1989, Bull *et al.*, 1993; de Queiroz, 1993; Nixon & Carpenter, 1996; Kitching *et al.*, 1998). En el caso de la subclase Digenea ninguna de las dos propuestas han sido aplicadas, a pesar de que actualmente se cuenta con suficiente información para algunos grupos de digéneos (León-Régagnon *et al.* 1999; Tkach *et al.*, 2000a, 2002). Varios estudios filogenéticos en digéneos han incluido datos provenientes de distintos marcadores moleculares, provenientes del DNA mitocondrial y/o del DNA nuclear (Bowles *et al.*, 1995; Morgan & Blair, 1998; León-Régagnon *et al.*, 1999; Snyder & Tkach, 2001; Olson *et al.*, 2003). Sin embargo, en ninguno de éstos, los autores han argumentado los motivos por los cuales los datos fueron analizados por separado o de manera combinada, solo se han limitado a comparar las topologías obtenidas de los datos analizados por separado con las topologías resultantes de los datos combinados [ej. 18S vs. 28S ó 18S + 28S; ITS1, 5.8S, ITS2 vs. 28S ó ITS1 + 5.8S + ITS2 + 28S]. Finalmente, ya que se cuenta con distintos tipos de datos en algunos grupos de digéneos, esto permitiría realizar estudios que compararan las ventajas o desventajas de ambos planteamientos.

6.4. ESPECIES DE *GLYPHHELMINS* EN MÉXICO

Las nueve especies de *Glyphelmings* recolectadas en la República Mexicana fueron identificadas y asignadas al género antes de los estudios filogenéticos basados en caracteres morfológicos y en secuencias de los genes ribosomales 28S. Por ello, es necesario aclarar que en México, hasta el momento, solo se han registrado cinco especies del género *Glyphelmings*: *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. parva*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*. Estas especies pueden ser diferenciadas morfológicamente debido a la presencia de caracteres únicos o por la combinación de caracteres particulares. Asimismo, las especies *G. quieta*, *G. californiensis*, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis* fueron caracterizadas molecularmente a través de las secuencias de los genes *cox1*, 5.8S y 28S y de los ITS's (ITS1 e ITS2), lo cual combinado con

su morfología robustece su validez taxonómica. En cuanto a las cuatro especies restantes (*G. hepatica*, *G. linguatula*, *G. tineri* y *G. poncedeleoni*), éstas deben considerarse como miembros de los géneros: *Choledocystus* (*C. hepatica*) y *Rauschiella* (*R. linguatula*, *R. tineri*, *R. poncedeleoni*).

A pesar del escaso conocimiento de los digéneos que parasitan a los anuros de México, *Glyphelmins* es uno de los géneros con mayor representatividad en cuanto al número de especies y únicamente es superado por el género *Haematoloechus*, del cual se han registrado alrededor de 9 especies (León-Règagnon *et al.*, 1999; León-Règagnon & Paredes-Calderón, 2002). Según algunas estimaciones acerca de la helmintofauna de los diferentes grupos de vertebrados de México, actualmente solo se conoce alrededor del 20% de las especies de helmintos que parasitan a anfibios y reptiles mexicanos (Pérez Ponce de León, 2001; Pérez-Ponce de León & García-Prieto, 2001a). Asimismo, la mayoría de los estudios que han registrado la helmintofauna de ambos grupos de vertebrados han sido limitados, debido a que varios de estos presentan registros aislados y casi nunca se ha analizado a los huéspedes de manera extensiva, es decir, no se ha estudiado a una especie particular de huésped a todo lo largo de su distribución geográfica. Esto implica que al ir conociendo la helmintofauna de las diversas especies de anuros de México, se amplíe la distribución geográfica y el rango hospedatorio de las especies de *Glyphelmins*, con la posibilidad de coleccionar especies que resulten ser nuevas para la ciencia, como podría ser el caso de los dos tipos morfológicos (morfortipos) coleccionados de *Rana vaillanti* de Chiapas y Oaxaca, que no pudieron ser identificados a nivel específico debido al escaso número de ejemplares y a la variación morfológica que presentan. Por lo tanto, se hace necesario contar con más ejemplares para definir desde una perspectiva morfológica y molecular si éstos pertenecen a alguna de las especies ya descritas o representan especies nuevas.

Por otro lado, resulta interesante el hecho de que en nuestro país se presente el 50% de las especies de *Glyphelmins* y que todas parasiten a miembros del género *Rana*, de los complejos denominados como "*R. pipiens*" y "*R. palmipes*" (*sensu* Hillis *et al.*, 1983; Hillis & Frost, 1985; Hillis, 1988; Hillis & de Sá, 1988). Las cinco especies de *Glyphelmins* pueden dividirse en tres grupos de acuerdo a su distribución geográfica. El primer grupo se compone de especies con amplia distribución geográfica y con influencia neártica, tal es el caso de *G. quieta* y *G. californiensis*. El segundo grupo está constituido por especies que por el momento pueden ser consideradas endémicas, *G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis* y que habitan zonas bajas con influencia neotropical. Finalmente, el último grupo incluye a *G. parva*, que presenta una amplia distribución geográfica, pero tal distribución netamente influenciada por la región Neotropical. Al

igual que en otros grupos de seres vivos que habitan el territorio nacional, la riqueza de especies de *Glyphelmings* se debe a que nuestro país representa un eslabón entre las regiones biogeográficas neártica y neotropical y a su historia geológica que ha dado origen a diversos escenarios geográficos (Toledo, 1988; Ceballos & Eccadi, 1993; Flores-Villela & Gerez, 1994, Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000). Aunado a estos factores, la estrecha relación de *Glyphelmings* con las diversas especies del género *Rana*, ha permitido que algunas de las especies del género colonicen diferentes especies de ranas y que en consecuencia, hayan ampliado su distribución geográfica. Asimismo, este último factor ha promovido la especiación en el género *Glyphelmings* (*G. brownorumae* y *G. tuxtlasensis*) en ránidos distribuidos en México.

6.5. IMPLICACIONES BIOGEOGRÁFICAS Y DE RELACIÓN HUÉSPED – PARÁSITO

Actualmente se tiene el conocimiento de que aproximadamente 34 géneros de digéneos parasitan a las distintas especies de ranas y sapos de México, Estados Unidos y Canadá (Brooks *et al.*, 2001). Nuestro país presenta una gran diversidad de este tipo de vertebrados, ya que se han registrado alrededor de 230 especies, varias de ellas endémicas al país (Flores-Villela & Goyenechea, 2003). Sin embargo, la información que se tiene acerca de la helmintofauna de los anuros mexicanos es escasa, debido a que solo 41 especies han sido estudiadas desde una perspectiva parasitológica. Particularmente, se sabe que estas 41 especies de anuros albergan 48 especies de digéneos (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2002).

La combinación de información de parásitos y huéspedes anuros ha permitido proponer distintas ideas sobre la historia evolutiva y biogeográfica de estos organismos (Brooks, 1977; Brooks & McLennan, 1993; Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000). Asimismo, los parásitos han sido empleados como sofisticados indicadores ecológicos del hábitat y hábitos alimenticios de sus huéspedes (Brooks, 1976b; Brooks *et al.*, 2001, Pérez-Ponce de León & García-Prieto, 2001b). A pesar de lo anterior, pocos son los trabajos que han integrado ambas fuentes de información, ya que en la mayoría de los casos se desconocen las relaciones de los géneros de digéneos y/o las de sus huéspedes, lo cual no ha permitido proponer posibles patrones coevolutivos o biogeográficos.

El género *Glyphelmings* (*sensu lato*) es uno de los pocos grupos de digéneos que han sido empleados en estudios clásicos tipo *parascript*. Brooks & McLennan (1993) fueron los primeros en combinar la información filogenética del género *Glyphelmings* con los datos de la distribución geográfica de las especies. Al optimizar esta información en un esquema de la tierra durante la Pangea, descubrieron dos grupos de especies tropicales. El clado ocurrente en

Gondwana (Sudamérica), es el grupo hermano del resto de las especies del género, todas ellas distribuidas en Laurasia. El clado ocurrente en Laurasia está conformado por dos subclados, uno de ellos integrado por tres especies con distribución en Eurasia, y el otro limitado a Norte y Centroamérica. A partir de estas observaciones, Brooks & McLennan (1993) sugirieron que el género *Glyphelmims* es un linaje relativamente antiguo, el cual se distribuyó desde Sudamérica hasta Laurasia antes de que se desplazaran los continentes a su lugar actual. Sin embargo, nuestros resultados no concuerdan con dicha sugerencia, ya que las especies que consideramos miembros de *Glyphelmims* no presentan una distribución mundial amplia, sino más bien restringida a Norteamérica, excepto por *G. facioi* que habita en Centroamérica (Costa Rica) y *G. parva* que también ha sido registrada en Sudamérica (Brasil y Perú). Por lo tanto, no es posible hipotetizar que el género se haya distribuido hacia una parte de Laurasia (Norteamérica) a partir de Sudamérica antes del rompimiento del supercontinente conocido como Pangea. Una hipótesis probable sería que el ancestro de *Glyphelmims* haya surgido en alguna región de Norteamérica después de que los continentes se separaron y la existencia de las especies en Centro y Sudamérica se deba a un intercambio de helmintofauna entre Norteamérica y Sudamérica, a partir de la unión de ambas regiones a través del Istmo de Panamá, mismo que se formó a inicios del Plioceno [~3.5 – 5 millones de años] (Savage, 1966). Una hipótesis alternativa, sería que el ancestro de *Glyphelmims* se haya originado en alguna región entre Centro y Norteamérica, después de la unión de Sudamérica y Norteamérica y que la presencia de *G. parva* en Sudamérica, se deba a la dispersión hacia el sur por parte de algunos de los ancestros de anuros a los que parasita. El argumento que robustece este último planteamiento es el propuesto por Vanzolini & Heyer (1985), el cual plantea que hubo una modesta radiación de ránidos en Centroamérica derivada de la radiación ocurrida en Norteamérica y que la especie *R. palmipes* fue la que penetró en Sudamérica después de la unión entre Norte y Sudamérica. Hasta el momento no se ha registrado a *G. parva* en *R. palmipes*, sin embargo si ha sido colectada en la especie hermana de ésta, *R. vaillanti* (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2000).

Como se mencionó anteriormente, algunas de las especies de *Glyphelmims* colectadas en México, parasitan a varios miembros del complejo "*R. pipiens*", el cual está constituido por más de 20 especies, de las cuales más de la mitad son endémicas a México (Hillis *et al.*, 1983; Hillis, 1988, Zaldívar-Riverón *et al.*, 2004). Esto es sumamente interesante ya que es posible combinar la información de estos organismos con los datos del género *Glyphelmims* generados en este trabajo. Al optimizar a los huéspedes en los árboles filogenéticos de *Glyphelmims*, obtenidos de los datos morfológicos y moleculares, se observa que los ránidos son el huésped

plesiomórfico de ambos clados (Figs. 99a y 99b). Esto último concuerda con lo propuesto por Brooks & McLennan (1993), sin embargo es necesario considerar que dicha hipótesis consideraba al género *Glypthelmins* constituido por especies distribuidas en diferentes partes del mundo. De acuerdo con nuestros resultados, consideramos a *Glypthelmins* como un género que se distribuye únicamente en el continente americano.

En el árbol filogenético basado en caracteres morfológicos se presentan dos clados, uno de ellos constituido por las especies (*G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*), ambas parásitas de hílidos, principalmente del género *Pseudacris*. Se ha postulado en varias ocasiones que esto es resultado de un cambio de huésped de ránidos a hílidos en el ancestro de estas especies (O'Grady, 1987³; Brooks & McLennan, 1993; Brooks *et al.*, 2001). Las especies del segundo clado ((*G. intestinalis*, (*G. shastai*, *G. brownorumae*)), (*G. facioi*, (*G. tuxtlasensis*, (*G. parva*, (*G. quieta*, *G. californiensis*))))), primordialmente parasitan a ránidos, excepto por *G. shastai* que es parásito del intestino de *B. boreas* en el norte de California, Estados Unidos y en Alberta Canadá, lo cual sugiere otro evento de cambio de huésped de ránidos a bufónidos. A pesar de que el árbol filogenético basado en secuencias del rDNA presenta una topología distinta al morfológico, este concuerda con las observaciones realizadas, excepto en el hecho de que solo es posible hipotetizar un cambio de huésped de ránidos a hílidos en el clado integrado por (*G. pennsylvaniensis* + *G. hyloreus*) ya que esta hipótesis no incluyó a *G. shastai*, parásito de bufónidos.

Las relaciones de grupos hermanos de las especies de *Glypthelmins* en ambas hipótesis muestran un patrón interesante de asociación referente a la evolución de algunas de las especies de huéspedes y de la historia geológica de la región oeste de Norteamérica, sureste de México y Centroamérica. Las especies que parasitan a hílidos, *G. pennsylvaniensis* y *G. hyloreus*, presentan patrones de distribución diferentes. *G. pennsylvaniensis* se distribuye principalmente en la costa este de los Estados Unidos. Mientras que *G. hyloreus* ha sido registrada al este y oeste de las montañas Rocallosas. Dos de las especies que constituyen parte del segundo clado de las especies de *Glypthelmins*, *G. intestinalis* y *G. shastai* se distribuyen principalmente al norte de las montañas Rocallosas y en las cadenas montañosas de las costas. Esperaríamos que ambas especies aparecieran como especies hermanas, sin embargo este grupo también incluye a *G. brownorumae*, la cual es la especie hermana de *G. shastai*. Desafortunadamente, la hipótesis molecular no incluyó a *G. shastai*, lo cual vendría a robustecer o a contradecir si esta es la especie hermana de *G. intestinalis*. Esta última especie

³ O'Grady, R. T. (1987)

parasita a *R. pretiosa* y *R. luteiventris*, ambas miembros del grupo "*R. boylii*", conocido también como "ranas del Oeste" (Fig. 99).

Las especies *G. facioi* (Centroamérica), *G. tuxtlasensis* (sureste de México), *G. parva* (sureste de México, Brasil y Perú) y *G. brownorumae* (sureste de México) se distribuyen en localidades con influencia neotropical. A excepción de *G. brownorumae*, las especies restantes son parásitas de miembros del grupo "*R. palmipes*" (*sensu* Hillis & de Sá, 1988) (Fig. 99). El registro original de *G. facioi* menciona que el huésped tipo pertenecía a la especie *R. pipiens*, lo cual no concuerda con la distribución de esa especie de anfibio, que solo se encuentra en los Estados Unidos y Canadá. Actualmente, se sabe que *G. facioi* parasita a *R. vaillanti* y *R. palmipes* de Costa Rica. En México, esta especie había sido registrada en *R. vaillanti* del estado de Veracruz (Razo-Mendivil *et al.* 1999), sin embargo con este estudio se descubrió que los ejemplares asignados a esta especie pertenecían a lo que resultó ser una nueva especie, *G. tuxtlasensis*. La especie *G. parva* es la única especie del género que se distribuye en Sudamérica y las especies de anuros que parasita no solo pertenecen al género *Rana*, sino también a miembros de *Leptodactylus*, *Phrynohyas* y *Scinax*.

El resto de las especies de *Glythelmins* (*G. californiensis*, *G. quieta* y *G. brownorumae*) habitan principalmente huéspedes del complejo "*R. pipiens*". *Glythelmins quieta* se ha registrado en 13 especies del complejo "*pipiens*" de ambas divisiones (Alfa y Beta *sensu* Hillis, 1988), de las cuales siete de ellas son endémicas de México (Figs. 99 y 100). De la misma manera, se sabe que parasita a algunos miembros de los grupos hermanos del complejo "*R. pipiens*" (grupos "*R. catesbeiana*" y "*R. tarahumarae*"). El rango de distribución de la especie tipo del género es amplio, ya que se distribuye en el sureste de Canadá, al este de las montañas Rocallosas y sureste de Estados Unidos, así como en el centro, suroeste y noreste de México. Sabiendo que un gran número de especies del complejo "*R. pipiens*", así como de sus grupos hermanos, son parasitadas por *G. quieta* se postularía que esta especie de parásito habitaba al ancestro de los distintos grupos de ranas emparentados. Otra de las especies de *Glythelmins* que ha sido registrada en miembros del complejo "*R. pipiens*" es *G. brownorumae* (descrita en este trabajo), que parasita el intestino de *R. brownorum* en el estado de Tabasco. Por su parte, *G. californiensis* habita en distintos huéspedes del grupo de las "ranas del Oeste" (*R. aurora*, *R. pretiosa* y *R. boylii*) en Estados Unidos, aunque en México esta especie ha sido colectada en *R. montezumae* y *R. dunni* (miembros de la división alfa del complejo "*R. pipiens*"), del Distrito Federal, Estado de México y Michoacán, respectivamente. A partir de las hipótesis filogenéticas del clado "norteamericano" del género *Glythelmins* (*sensu lato*), varios autores han postulado que las especies que constituyen el clado (*G. facioi*, (*G. quieta*, *G. californiensis*))

podieron haberse originado junto con el ancestro de las ranas del complejo "*R. pipiens*" y la existencia de *G. californiensis* en especies del grupo "*R. boylii*" se explica como un cambio de huésped (O'Grady, 1987³; Brooks & McLennan, 1993; Brooks *et al.*, 2001). Sin embargo, *G. facioi* no ha sido registrada en miembros del complejo "*R. pipiens*" y sólo ha sido colectada en *R. vaillanti* y *R. palmipes* (grupo "*R. palmipes*"). La hipótesis filogenética morfológica generada en este trabajo permite suponer que el ancestro de *G. quieta* y *G. californiensis* habitaba en el ancestro de las ranas del complejo "*R. pipiens*", y la asociación del resto de las especies con sus grupos de huéspedes se haya dado a partir de varios fenómenos de colonización hacia otros grupos o complejos de huéspedes ("*R. tarahumarae*", "*R. catesbeiana*", "*R. boylii*", "*R. palmipes*"). En las hipótesis basadas en morfología y en datos moleculares parece ser que la presencia de *G. brownorumae* en miembros del complejo "*R. pipiens*", se debe a un evento de colonización secundaria.

Al combinar la información filogenética del género *Glythelmins* con la distribución geográfica de sus especies y de los huéspedes que parasitan, se observa que las especies que habitan en hilidos-bufónidos presentan un patrón de distribución norteño, mientras que las especies de ránidos muestran un patrón de distribución sureño. Adicionalmente, entre las especies que habitan ránidos se presenta un grupo que se distribuye en zonas de la región neártica (*G. quieta*, *G. californiensis* y *G. intestinalis*) y otras con influencia neotropical (*G. facioi*, *G. brownorumae*, *G. tuxtlasensis* y *G. parva*).

Brooks *et al.*, (2001) mencionaron que el complejo "*R. pipiens*" aparentemente surgió en la parte sur de Centro/Norteamérica y se trasladó hacia el norte, mostrando un patrón vicariante que además está presente en otros grupos de organismos (plantas, peces, salamandras, etc.), los cuales se remontan a los cambios orogénicos y climáticos del Oligoceno (hace 24-37 millones de años). A partir de esto, se cree que los miembros del complejo *R. pipiens* estuvieron en contacto con especies del grupo "*R. boylii*", lo cual le permitió a *G. californiensis* seguirse desplazando hacia el norte al colonizar a nuevas especies de huéspedes, es decir, entre especies del complejo "*R. pipiens*" y "ranas del Oeste". Sin embargo, *G. californiensis* no ha sido registrada en localidades contiguas, ya que sólo ha sido recolectada en la parte central de México (Michoacán, Estado de México y Distrito Federal), en el suroeste de Estados Unidos (California) y en el suroeste de Canadá (British Columbia). Asimismo, las especies de huéspedes que albergan a *G. californiensis* del centro de México no son simpátricas con otras especies del complejo "*R. pipiens*" de Estados Unidos ni con miembros de "ranas del Oeste". Un

³ O'Grady, R. T. (1987)

aspecto que vendría a reforzar la idea de colonización de *G. californiensis* a especies del grupo de "ranas del Oeste", sería que las especies de huéspedes (*R. chiricahuensis* y *R. megapoda*) que habitan en las áreas intermedias entre Estados Unidos y México albergaran a dicha especie, asumiendo que en el pasado, los ancestros de las "ranas del Oeste" y del complejo "*pipiens*" estuvieron en simpatria. Sin embargo, ambas especies de anuros han sido escasamente estudiadas y sólo se sabe que son huéspedes de *G. quieta* (Goldberg *et al.*, 1998; Razo-Mendivil *et al.*, 1999).

Como se ha visto, la combinación de las hipótesis filogenéticas del género *Glyphelmis*, de sus huéspedes y de su distribución geográfica permite proponer hipótesis de biogeografía histórica y de evolución entre huéspedes y parásitos. Sin embargo, es necesario seguir estudiando la helmintofauna de las distintas especies de anuros, así como sus relaciones filogenéticas con el objetivo de encontrar patrones biogeográficos similares. Asimismo, cuando se cuente con suficiente información de huéspedes y parásitos se deberán aplicar los métodos de análisis apropiados para dilucidar de manera más claras los posibles patrones biogeográficos. Para tal caso, podrían emplearse métodos tales como el Análisis de Parsimonia de Brooks (BPA por sus siglas en inglés) o bien el método de árboles reconciliados. De esta manera, sería posible contrastar las hipótesis biogeográficas resultantes y las bondades y debilidades de ambas metodologías, ya que en la actualidad existe controversia entre ambos métodos.

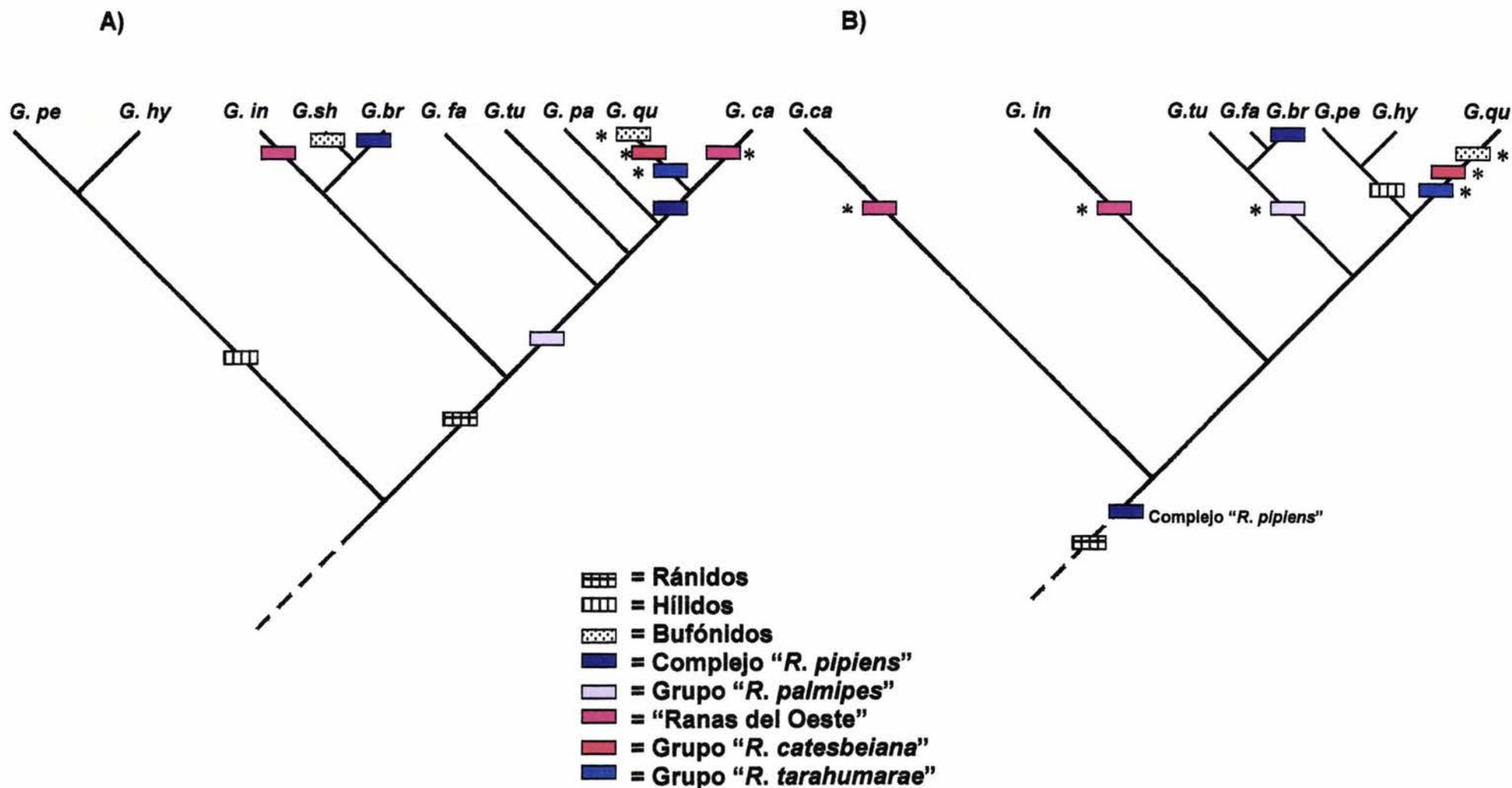


Figura 99. Optimización de los huéspedes en las hipótesis filogenéticas de *Glypthelmis* generadas de los datos morfológicos (A) y moleculares (B). * = colonización de nuevos grupos de huéspedes a partir de un miembro del complejo "*R. pipiens*". *G. pe*= *G. pennsylvaniensis*, *G. hy*= *G. hyloreus*, *G. in*= *G. intestinalis*, *G. sh*= *G. shastai*, *G. br*= *G. brownorumae*, *G. fa*= *G. facioi*, *G. tu*= *G. tuxtlasensis*, *G. pa*= *G. parva*, *G. qu*= *G. quieta*, *G. ca*= *G. californiensis*.

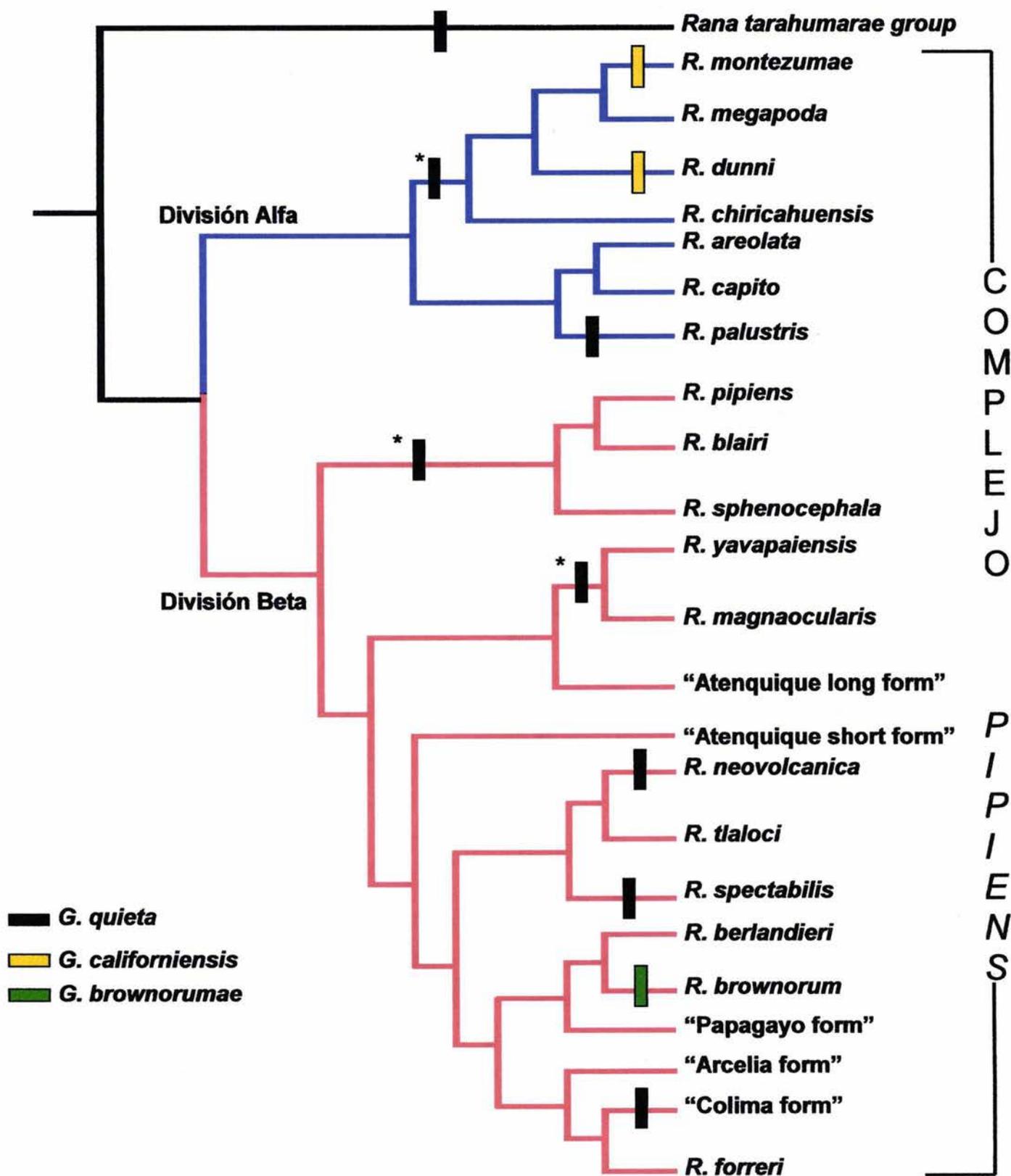


Figura 100. Optimización de las especies *G. quieta*, *G. californiensis* y *G. brownorumae* en la hipótesis filogenética del complejo "*R. pipiens*", propuesta por Hillis *et al.* (1983) y modificada por Zaldivar-Riverón *et al.*, (2004). * La optimización de *G. quieta* en la base de algunos de los grupos, refiere a que todas las especies de huéspedes de algunos grupos albergan a *G. quieta*.

7. LITERATURA CITADA

- Anderson, G. R. & Barker, S. C.** (1998) Inference of phylogeny and taxonomy within the Didymozoidae (Digenea) from the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA. *Systematic Parasitology*, **41**, 87-94.
- Andrews, K. D., Lampley, R. L., Gillman, M. A., Corey, D. T., Ballard, S. R., Blasczyk, M. J. & Dyer, W. G.** (1992) Helminths of *Rana catesbeiana* in Southern Illinois with a checklist of helminths in bullfrogs of North America. *Transactions of the Illinois State Academy of Science*, **85**, 147-172.
- Arandas-Rego, A., Julio-Vicente, J. & Corrêa-Gomes, D.** (1979) List of holotypes in the helminthological collection of the Oswaldo Cruz Institute. *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro* **19** (Suplemento), 1-29.
- Artigas, P. de T. & Zerpa, P. G.** (1961) *Plagiorchis rangeli* n. sp., parásito de *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Trematoda, Plagiorchiidae). *Anais da Faculdade de Farmacia e Odontologia de Universidade de Sao Paulo*, **18**, 18-25.
- Ashton, A. D. & Rabalais, F. C.** (1978) Helminth parasites of some anurans of northwestern Ohio. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **45**, 141-142.
- Avise, J. C.** (1989) Gene trees and organismal histories: A phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, **43**, 1192-1208.
- Avise, J. C.** (1994) *Molecular markers, natural history & evolution*. Chapman & Hall, New York. pp. 44-91.
- Babero, B. B.** (1951a) Notes on the trematode genus *Glypthelmins* Stafford, 1905. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **18**, 103-106.
- (1951b) *Rauschiella tineri* n. g., n. s., a trematode (Plagiorchiinae) from a frog. *Journal of Parasitology*, **37**, 560-562.
- & **Golling, K.** (1974) Some helminth of Nevada bullfrogs, *Rana catesbeiana* Shaw. *Revista de Biología Tropical*, **21**, 207-220.
- Barker, S. C. & Blair, D.** (1996) Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groupings within the genus. *Journal of Parasitology*, **82**, 292-298.
- Bell, A. S., Sommerville, C. & Valtonen, E. T.** (2001) A molecular phylogeny of the genus *Ichthyocotylurus* (Digenea, Strigeidae). *International Journal for Parasitology*, **31**, 833-842.
- Belous, B.** *Glypthelmins diana*. Skrjabin, K. I. (Ed.) *Trematodes of Animals and Man: Principles of Trematodology*. Vol. 14: 75:631 (En Ruso).
- Bennett, H. J.** (1938) A partial list of the trematodes of Louisiana vertebrates. *Proceedings of Louisiana Academy of Science*, **4**, 178-181.
- Beverly-Burton, M.** (1963) Some digenetic trematodes from amphibians and reptiles in southern Rhodesia including two new species and a new genus: *Sarumitrema hystatorchis* n. gen., n.sp. (Plagiorchiidae) and *Halipegus rhodesiensis* n. sp. (Halipegidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **30**, 49-59.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

- Blair, D., Campos A., Cummings, M. P. & Laclette, J. P.** (1996) Evolutionary biology of parasitic platyhelminthes: The role of molecular phylogenetics. *Parasitology Today*, **12**, 66-71.
- Bolek, M. G & Coggins J. R.** (1998). Endoparasites of Cope's gray treefrog, *Hyla chrysoscelis*, and western chorus frog, *Pseudacris t. triseriata*, from southeastern Wisconsin. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **65**, 212-218.
- Bouchard, L. J.** (1951) The platyhelminthes parasitizing some northern Maine Amphibians. *Transactions of the American Microscopical Society*, **70**, 245-250.
- Bowles, J., Blair, D. & McManus, D. P.** (1995) A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **2**, 103-109.
- Brandt, B. B.** (1936) Parasites of certain North Carolina Saliencia. *Ecological Monographs*, **6**, 491-532.
- Bravo, H. M.** (1948) Descripción de dos especies de tremátodos parásitos de *Bufo marinus* L. procedentes de Tuxtepec, Oaxaca. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, **19**, 153-161.
- Bremer, K.** (1994) Branch support and tree stability. *Cladistics*, **10**, 295-304.
- Brenes, R. R.** (1961) Catálogo de los helmintos parásitos de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, **9**, 67-95.
- , **Arroyo, G., Jimenez-Quiroz, O. & Delgado-Flores, E.** (1959) Algunos tremátodos de *Rana pipiens*. Descripción de *Glythelmins facioi* n. sp. *Revista de Biología Tropical*. **7**, 191-197.
- Britt, H. G.** (1947) Chromosomes of digenetic trematodes. *The American Naturalist*, **81**, 276-296.
- Brooks, D. R.** (1976a) Five species of platyhelminths from *Bufo marinus* L. (Anura: Bufonidae) in Colombia with descriptions of *Creptotrema lynchi* sp. n. (Digenea: Allocreadiidae) and *Glythelmins robustus* sp. n. (Digenea: Macroderoididae). *Journal of Parasitology*, **62**, 429-433.
- (1976b) Parasites of Amphibians of the Great Plains Part 2. Platyhelminths of amphibians in Nebraska. *Bulletin of the University of Nebraska State Museum*, **10**, 65-92.
- (1977) Evolutionary history of some plagiorchoid trematodes of anurans. *Systematic Zoology*, **26**, 277-289.
- & **McLennan, D. A.** (1993) *Parascript. Parasites and the language of evolution*. Smithsonian Institution Press, Washington. 429 pp.
- , **León-Règagnon, V. & Pérez-Ponce de León, G.** (2001) Los parásitos y la biodiversidad. *Enfoques contemporáneos para el estudio de la biodiversidad*. Hernández, H. M., García-Aldrete, A. N., Álvarez, F. & Ulloa, M. (comps). Instituto de Biología, UNAM, México, pp. 245-289.
- Bull, J. J. Huelsenbeck, J. P., Cunningham, C. W., Swofford, D. L. & Waddell, P. J.** (1993) Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*, **42**, 384-397.

- Burse** C. R. & **Goldberg**, S. R.. (2001) *Falcaustra lowei* n. sp. and other helminths from the Tarahumara frog, *Rana tarahumarae* (Anura: Ranidae), from Sonora, Mexico. *Journal of Parasitology*, **87**, 340-344.
- , ————— & **Parmelee**, J. R. 2001 Gastrointestinal helminths of 51 species of anurans from Reserve Cuzco Amazónico, Peru. *Comparative Parasitology*, **68**, 21-35.
- Byrd** E. E. (1950) *Alloglyptus crenshawii*, a new genus and species of digenetic trematode (Plagiorchiinae) from the chameleon. *Transactions of the American Microscopical Society*, **69**, 280-286.
- & **Maples**, W. P. (1963a) The glythelminths (Trematoda: Digenea), and the erection of a new genus. *Zeitschrift fur Parasitenkunde*, **22**, 521-536.
- & ————— (1963b) Excretory system of *Choledocystus pennsylvaniensis* (Cheng, 1959b) Byrd and Maples, 1963 (Trematoda). *Journal of Parasitology*, **49** Secc.2, 42.
- Caballero**, E. (1942) Tremátodos de las ranas de la ciénaga de Lerma, Estado de México. III. Redescripción de una forma norteamericana de *Haematoloechus* y algunas consideraciones sobre *Glythelmins californiensis* (Cort, 1919). *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, **13**, 71-79.
- & **Sokoloff** D. (1934) Tercera contribución al conocimiento de la parasitología de *Rana montezumae*. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México*, **5**, 337-340.
- & **Diaz-Ungria**, C. (1958) Intento de un catálogo de los tremátodos digéneos registrados en territorio venezolano. *Memoria de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 19-36.
- , **Bravo** H. M. & **Cerecero**, C. (1944) Estudios helmintológicos de la región Oncocercosa de México y de la República de Guatemala. Trematoda I. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, **15**, 59-72.
- Campbell** R. A. (1968) A comparative study of the parasites of certain Salientia from Pocahontas State Park, Virginia. *The Virginia Journal of Science*, **19**, 13-20.
- Campos**, A., **Cummings**, M. P., **Reyes**, J.L. & **Laclette**, J. P. (1998) Phylogenetic relationship of platyhelminthes based on 18S Ribosomal Gene Sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **10**, 1-10
- Carranza** S., **Giribet**, G., **Ribera**, C., **Baguña**, J. & **Riutort**, M. (1996) Evidence that two types of 18S rDNA coexist in the genome of *Dugesia (Schmidtea) mediterranea* (Platyhelminthes, Turbellaria, Tricladida). *Molecular Biology and Ecology*, **13**, 824-832.
- Cevallos**, G. & **Eccardi**, F. (1993) *Diversidad de Fauna Mexicana*. Agrupación Sierra Madre, México, D. F. 190 pp.
- Cordero** E. H. (1944) Dos nuevas especies de tremátodos del género *Glythelmins* de los batracios del Uruguay. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, **16**, 1-8.

- Cort W. W.** (1919) A new distome from *Rana aurora*. *University of California. Publications in Zoology*, **19**, 283-298.
- Current, W. L. & Lang, B. Z.** (1975) Three new snail hosts for *Haplometrana intestinalis* Lucker, 1931 (Trematoda: Plagiorchiidae) from Washington State. *Journal of Parasitology*, **61**, 681.
- Cheng T. C.** (1959) Studies on the trematode family Brachycoeliidae, II. Revision of the genera *Glyphelmins* (Stafford, 1900) Stafford, 1905, and *Margeana* Cort, 1919; and the description of *Renoldstrema* n. g. (Glyphelminae, n. subfam.). *American Midland Naturalist*, **61**, 68-88.
- (1960) The life history of *Brachycoelium obesum* Nicoll, 1914, with a discussion of the systematic status of the trematode family Brachycoeliidae Johnston 1912. *Journal of Parasitology*, **46**, 464-474.
- (1961a) Description, life history, and developmental pattern of *Glyphelmins pennsylvaniensis* n. sp. (Trematoda: Brachycoeliidae), new parasite of frogs. *Journal of Parasitology*, **47**, 469-477.
- (1961b). Studies on the morphogenesis, developmental and germ cell cycle in the sporocysts and cercariae of *Glyphelmins pennsylvaniensis* Cheng, 1961 (Trematoda: Brachycoeliidae). *Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science*, **35**, 10-22
- & **Snyder, R. W.** (1962) Studies on host-parasite relationships between larval trematodes and their hosts. III. Certain aspects of lipid metabolism in *Helisoma trivolvis* (Say) infected with the larvae of *Glyphelmins pennsylvaniensis* Cheng and related phenomena. *Transactions of the American Microscopical Society*, **81**, 327-331.
- & **Cooperman, J. S.** (1964) Studies on host-parasite relationships between larval trematodes and their hosts. V. The invasion of the reproductive system of *Helisoma trivolvis* by the sporocysts and cercariae of *Glyphelmins pennsylvaniensis*. *Transactions of the American Microscopical Society*, **83**, 12-23.
- De Queiroz, A.** (1993) For consensus (sometimes). *Systematic Biology*, **42**, 368-372.
- Deblock, S. & Capron, A.** (1962) Description d'*Astiotrema (Biguetrema) tananavivense* n. subgen., n. sp., Plagiorchiidae intestinal d'amphibiens malgaches. *Annales de Parasitologie*, **37**, 97-107.
- Dobbin, J. E. Jr.** (1958) *Glyphelmins vitellinophilum* sp. n., parasito de *Hyla raniceps*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **56**, 153-161.
- Dollfus, R. Ph.** (1950) Trematodes recoltés au Congo Belge par le professeur Paul Brien (Mae-aout 1937). *Annales du Musée Royal du Congo Belge, Zoologique* (5) Fasc. 1, 48-50.
- Doyle, J. J.** (1992) Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, **17**, 144-163.
- & **Davis, J. I.** (1998) Homology in molecular phylogenetics: A parsimony perspective. *In Molecular Systematics of Plants II: DNA sequencing*. Soltis, D., Soltis, P. & Doyle, J. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, pp. 101-131.
- Eriksson, T.** (1998) AutoDecay ver. 4.0 (program distributed by the author). Department of Botany, Stockholm University. Stockholm.

- Fernández, M., Aznar, F. J., Latore, A. & Raga, J. A.** (1998) Molecular phylogeny of the families Campulidae (trematoda) based on mtDNA sequence comparison. *International Journal for Parasitology*, **28**, 767-775
- Fischthal, J. H. & Thomas, J. D.** (1968) Digenetic trematodes of amphibians and reptiles from Ghana. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **35**, 1-15.
- Flores-Villela, O.** (1993) Herpetofauna Mexicana. *Carnegie Museum of Natural History, Pittsburgh, Special Publication*, **17**, 1-73.
- & **Gerez, P.** (1994) *Biodiversidad y conservación en México: vertebrados, vegetación y uso del suelo*. CONABIO. pp. 6-31.
- & **Goyenechea, I.** (2003) Patrones de distribución de anfibios y reptiles de México. *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía*. Morrone, J. J. & Llorente-Bousquets, J. (eds.). Las Prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM. pp. 289-296.
- Grabda-Kazubska, B.** (1967) Morphological variability of adult *Opisthioglyphe ranae* (Frölich, 1791) (Trematoda, Plagiorchiidae). *Acta Parasitologica Polonica*, **15**, 15-34.
- Goldberg, S. R. & Bursey, C. R.** (2002) Helminth parasites of seven anuran species from northwestern Mexico. *Western North American Naturalist*, **62**, 160-169.
- , ————— & **Cheam H.** (1998) Helminths of two native frogs species (*Rana chiricahuensis*, *Rana yavapaiensis*) and one introduced frog species (*Rana catesbeiana*) (Ranidae) from Arizona. *Journal of Parasitology*, **84**, 175-177.
- , ————— & **Platz, J. E.** (2000) Helminths of the plains leopard frog, *Rana blairi* (Ranidae). *Southwestern Naturalist*, **45**, 362-366.
- , —————, **Mckinell, R. & Tan, I.** (2001) Helminths of northern leopard frogs, *Rana pipiens* (Ranidae), from North Dakota and South Dakota. *Western North American Naturalist*, **61**, 248-251.
- , —————, **Salgado-Maldonado, G., Báez, R. & Cañeda, C.** (2002) Helminths of six species of anurans from Los Tuxtlas and Catemaco Lake, Veracruz, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, **47**, 293-299.
- González D.** (1997) El uso de secuencias génicas para estudios taxonómicos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **60**, 137-157.
- Guillén, S. Salgado, M. G. & Lamothe-Argumedo, R.** (2000) Digeneans (Platyhelminthes: Trematoda) of seven sympatric species of anurans from Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Studies on Neotropical Fauna & Environment*, **35**, 10-13.
- Hall, T. A.** (1999) Bioedit: A user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, 95-98.
- Hall, K. A., Cribb, T. H. & Barker, S. C.** (1999) V4 region of small subunit rDNA indicates polyphyly of the Fellodistomidae (Digenea) which is supported by morphology and life-cycle data. *Systematic Parasitology*, **43**, 81-92.

- Harwood, P. D.** (1932) The helminths parasitic in the amphibia and reptilia of Houston, Texas and vicinity. *Proceedings of the United States National Museum*, **81**, 13-15.
- Hillis, D.** (1988) Systematics of the *Rana pipiens* complex: puzzle and paradigm. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **19**, 39-63.
- & **Frost, J. S.** (1985) Three new species of leopard frogs (*Rana pipiens* complex) from the Mexican plateau. *Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas*, **117**, 1-14.
- & **De Sá, R.** (1988) Phylogeny and taxonomy of the *Rana palmipes* group (Salientia: Ranidae). *Herpetological Monographs*, **2**, 1-26.
- , **Frost, J. S.** & **Wright, D. A.** (1983) Phylogeny and biogeography of the *Rana pipiens* complex: a biochemical evaluation. *Systematic Zoology*, **32**, 132-143.
- , **Mable, B. K.** & **Moritz, C.** (1996) Nucleic acids IV: Sequencing and cloning. In *Molecular Systematics*, Hillis, D., Moritz, C. & Mable B. K. (eds.). Sinauer, Sunderland, Massachusetts, pp. 321-383.
- Hollis, P. D.** (1972) A survey of parasites of the bullfrog, *Rana catesbeiana* Shaw, in central Texas. *Southwestern Naturalist*, **17**, 198-200.
- Ingles, L. G.** (1936) Worm parasites of California amphibia. *Transactions of the American Microscopical Society*, **55**, 73-92.
- Iwagami, M., Ho, L. Y., Su, K., Lai, P. F., Fukushima, M., Nakano, M., Blair, D., Kawashima, K., & Agatsuma, T.** (2000) Molecular phylogeographic studies on *Paragonimus westermani* in Asia. *Journal of Helminthology*, **74**, 315-322.
- Jinks, J. L. & Johnson, J. C. Jr.** (1971) Trematodes of *Rana catesbeiana* from three strip-mine lakes in southeast Kansas. *Transactions of the Kansas Academy of Sciences*, **73**, 519-520
- Johnston, D. A., Kane, R. A. & Rollinson, D.** (1993) Small subunit (18S) ribosomal RNA gene divergence in the genus *Schistosoma*. *Parasitology*, **107**, 147-156.
- Joy, J. E. & Dowell, B.** (1994) *Glythelmins pennsylvaniensis* (Trematoda: Digenea) in the spring peeper, *Pseudacris c. crucifer* (Anura: Hylidae), from southwestern West Virginia. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **61**, 227-229.
- Kitching, I. J., Forey, P. L., Humphries, C. J. & Williams, D. M.** (1998) *Cladistics. The theory and practice of parsimony analysis*. Oxford University Press, New York, pp. 151-167.
- Kluge, A. G.** (1989) A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, **38**, 7-25.
- Lamothe, A. R., García, P. L., Osorio, S. D. & Pérez-Ponce de León, G.** (1997) *Catálogo de la Colección Nacional de Helminths*. IBUNAM. CONABIO, México: 211 pp.
- Lank, D. R. Jr.** (1971) Parasites of the bullfrog in Indiana. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, **81**, 359-364.

- Le, T. H., Blair, D. & McManus, D. P.** (2000) Mitochondrial genomes of human helminths and their use as markers in population genetics and phylogeny. *Acta Tropica*, **77**, 243-256.
- , —————, & ————— (2002) Mitochondrial genomes of parasitic flatworms. *Trends in Parasitology*, **18**, 206-213.
- Lehmann, D. L.** (1960) Some parasites of central California amphibians. *Journal of Parasitology*, **46**, 10
- (1965) Intestinal parasites of northwestern amphibians. *Yearbook, American Philosophic Society*, 284-285
- Leigh, W. H.** (1937a) The life-cycle of a trematode of frogs. *Science*, **86**, 423.
- (1937b) The life-cycle of a trematode of frogs. *Journal of Parasitology*, **23**, 563.
- , (1946) Experimental studies on the life cycle of *Glyphelmims quieta* (Stafford, 1900), a trematode of frogs. *American Midland Naturalists*, **35**, 460-483.
- & **H. Van Cleave.** (1945) Metamorphosis of the frog host as a factor in cercarial penetration by *Glyphelmims quieta*. *Journal of Parasitology* **31**, 205-209.
- León-Règagnon, V.** (1992) Fauna helmintológica de algunos vertebrados acuáticos de la ciénaga de Lerma, Estado de México. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México Serie Zoológica*, **63**, 151-153.
- , **Brooks, D. & Pérez-Ponce de León, G.** (1999) Differentiation of mexican species of *Haematoloechus* Looss, 1899 (Digenea: Plagiorchiformes): molecular and morphological evidence. *Journal of Parasitology*, **85**, 935-946.
- , ————— & **Zelmer, D. A.** (2001) Morphological and molecular description of *Haematoloechus meridionalis* n. sp. (Digenea: Plagiorchioidea: Haematoloechidae) from *Rana vaillanti* Brocchi of Guanacaste, Costa Rica. *Journal of Parasitology*, **87**, 1423-1427.
- & **Paredes-Calderón, E.** (2002) *Haematoloechus danbrooksi* n. sp. (Digenea: Plagiorchioidea) from *Rana vaillanti* from Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico. *Journal of Parasitology*, **88**, 1215-1221.
- **Brooks, D.** (2003) Molecular phylogeny of *Haematoloechus* Looss, 1899 (Digenea: Plagiorchiidae), with emphasis on North American species. *Journal of Parasitology*, **89**, 1206-1211.
- Littlewood, D.T. & Johnston, D. A.** (1995) Molecular phylogenetics of the four *Schistosoma* species groups determined with partial 28S ribosomal RNA gene sequences. *Parasitology*, **111**, 167-175.
- Lucker, J. T.** (1931) A new genus and new species of trematode worms of the family Plagiorchiidae. *Proceedings of the United States National Museum*, **79**, 1-8.
- Luton, K., Walker, D. & Blair, D.** (1992) Comparisons of ribosomal internal transcribed spacers from two congeneric species of flukes (Platyhelminthes: Trematoda: Digenea). *Molecular and Biochemical Parasitology*, **56**, 323-328.
- Lutz, A.** (1928) Estudios de zoología y parasitología venezolana. Rio de Janeiro, 133 pp.

- MacCarthy, C.** (1996-1997) School of biomolecular and biomedical science, faculty of science and technology. Griffith University, Brisbane, Queensland, Australia.
- Macey, J. R., Strasburg, J. L., Brisson, J. A., Vredenburg, V. T., Jennings, M. & Larson, A.** (2001) Molecular phylogenetics of western north american frogs of the *Rana boylei* species group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **19**, 131-143.
- Manter, H. W.** (1938) A collection of trematodes from Florida amphibia. *Transactions of the American Microscopical Society*, **57**, 26-37.
- & **Pritchard, M. H.** (1964) Mission de zoologie médicale au Maniema (Congo, Leopoldville) (P. L. G. Beroit, 1959). 5. Vermes-Trematoda. *Annales du Museum Royal de l'Afrique Central*, **132**, 75-101.
- Mañé-Garzon, F. & Holcman-Spector, B.** (1967a) Una nueva especie del género *Margeana* (Digenea), parásita de *Pseudis mantidactylus* (Cope). *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo*, **9**, 1-4.
- & ————— (1967b) *Margeana chaquensis* n. sp., (Digenea) parasita de *Leptodactylus laticeps* del chaco argentino. *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia. Natural de Montevideo*, **9**, 1-4.
- & ————— (1974) Tremátodos de los anfibios del Uruguay. I. *Revista de Biología del Uruguay*, **11**, 101-117.
- Martin, G. W.** (1969) Description and life cycle of *Glyphelmis hylareus* sp. n. (Digenea: Plagiorchiidae). *Journal of Parasitology*, **55**, 747-752.
- McAllister, C. T., Trauth, S. E. & Bursey, C. R.** (1995). Parasites of the pickerel frog, *Rana palustris* (Anura: Ranidae), from the southern part of its range. *Southwestern Naturalist*, **40**, 111-116.
- Miller, E. L.** (1930) Studies on *Glyphelmis quieta* Stafford. *Journal of Parasitology*, **16**, 237-243.
- (1935) Studies on North American cercariae. *Journal of Parasitology*, **16**, 237-243.
- Moravec, F.** (1984) Some helminth parasites from amphibians of Vancouver Island, B.C., Western Canada. *Vestnik Československe Spolecnosti Zoologicke*, **48**, 107-114.
- Morgan, J. A. T. & Blair, D.** (1998) Relative merits of nuclear ribosomal internal transcribed spacers and mitochondrial CO1 and ND1 genes for distinguishing among *Echinostoma* species (Trematoda). *Parasitology*, **116**, 289-297.
- Muzzall, P. M. & Peebles, C. R.** (1991) Helminths of the wood frog, *Rana sylvatica*, and spring peeper, *Pseudacris c. crucifer*, from southern Michigan. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **58**, 263-265.
- Najarian, H. H.** (1955) Trematodes parasitic in the Salientia in the vicinity of Ann Arbor, Michigan. *American Midland Naturalist*, **53**, 195-197.

- Nasir, P. (1966) Two new species of digenetic trematodes from venezuelan amphibians. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **33**, 166-170.
- & Diaz, M. T. (1970) A redescription of *Glythelmins linguatula* (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924 and *G. vesicalis* (Ruiz & Leao, 1942) Yamaguti, 1958 with a key to the valid species. *Rivista di Parassitologia*, **31**, 261-274.
- Nixon, K. C. & Carpenter, J. M. (1996) On simultaneous analysis. *Cladistics*, **12**, 221-241.
- Norén, M. & Jondelius, U. (1999) Phylogeny of the Prolecithophora (Platyhelminthes) inferred from 18S rDNA sequences. *Cladistics*, **15**, 103-112.
- Odening, K. V. (1961) Zur kenntnis des exkretions systems einiger digenetischer trematoden (Unterordnungen Plagiorchiata, Brachylaemata, Strigeata). *Zeitschrift fur Parasitenkunde*, **22**, 521-536.
- Odening, K. V. (1964) Zur taxionomie der trematodenunterordnung Plagiorchiata. *Monatsberichte der Deutschen Akademie der Wissenschaften*, **6**, 191-198.
- (1968) Einige Trematoden aus Fröschen und Schildkröten in Vientnam und Kuba. *Zoologischer Anzeiger*, **181**, 289-302.
- Odlaug, T. O. (1954) Parasites of some Ohio Amphibia. *The Ohio Journal of Science*, **54**, 126-128.
- Olsen, O. W. (1937a) A systematic study of the trematode subfamily Plagiorchiinae Pratt, 1902. *Transactions of the American Microscopical Society*, **56**, 311-339.
- (1937b) Description and life-history of the trematode *Haplometrana utahensis* sp.nov. (Plagiorchiidae) from *Rana pretiosa*. *Journal of Parasitology*, **23**, 499-503.
- Olson, P., Cribb, T., Tkach, V., Bray, R. & Littlewood, D. (2003) Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, **33**, 733-755.
- Overstreet, R. M., Curran, S. S., Pote, L. M., King, D. T., Blend, C. K. & Grater, W. D. (2002) *Bolbophorus damnificus* n. sp. (Digenea: Bolbophoridae) from the channel catfish *Ictalurus punctatus* and American white pelican *Pelecanus erythrorhynchos* in the USA based on life-cycle and molecular data. *Systematic Parasitology*, **52**, 81-96.
- Page, R. & Holmes, E. (1998) *Molecular evolution: A phylogenetic approach*. Blackwell Science, Oxford, pp. 281-313.
- Parker, H. W. (1941) The trematode parasites from a collection of amphibians and reptiles. *Journal of the Tennessee Academy of Science*, **16**, 27-45.
- Parry, J. E. & Grundmann, A. W. (1965) Species composition and distribution of the parasites of some common amphibians of Iron and Washington counties, Utah. *Proceedings of the Utah Academy of Science*, **42**, 271-279.
- Pereira, C. & Cuocolo, R. (1941) Processo papilomatoso das vias biliares de "*Leptodactylus ocellatus* (L.)", determinado por "*Choledocystus eucharis*", n. g., n. sp. (Trematoda: Plagiorchiidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, **12**, 311-324.

- Pérez-Ponce de León, G.** (1995) Host-induced morphological variability in adult *Posthodiplostomum minimum* (Digenea: Neodiplostomidae). *Journal of Parasitology*, **81**, 818-820.
- _____ (2001) The diversity of digeneans (Platyhelminthes: Cercomeria: Trematoda) in vertebrates in Mexico. *Comparative Parasitology*, **68**, 1-8.
- _____ & **García-Prieto, L.** (2001a) Diversidad de helmintos parásitos de vertebrados silvestres de México. *Biodiversitas*, **37**, 7-11.
- _____ & _____ (2001b) Los parásitos en el contexto de la biodiversidad y la conservación. *Biodiversitas*, **34**, 11-15.
- _____, _____ & **Razo-Mendivil, U.** (2002) Species richness of helminth parasites in Mexican amphibians and reptiles. *Diversity and Distributions*, **8**, 211-218.
- _____, **León-Régagnon, V., García-Prieto, L., Razo-Mendivil, U. & Sánchez-Alvarez, A.** (2000) Digenean Fauna of Amphibians from Central Mexico: Nearctic and Neotropical Influences. *Comparative Parasitology*, **67**, 92-106.
- Pratt, I. & McCauley, J. E.** (1961) Trematodes of the Pacific northwestern. An annotated catalog. *Oregon State Monographic Studies of Zoology*, **11**, 1-118.
- Prudhoe, S. & Bray, R. A.** (1982) *Platyhelminth parasites of the Amphibia*. Oxford University Press, Great Britain. pp 217.
- Pulido, F. G.** (1994) Helmintos de *Rana dunni* especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*, **65**, 205-207.
- Qu, L. H., Nicoloso, M. & Bachellerie, J. P.** (1988) Phylogenetic calibration of the 5' terminal domain of large rRNA achieved by determining twenty eucariotic sequences. *Journal of Molecular Evolution*, **28**, 113-124.
- Rannala, B. H.** (1990) Electrophoretic evidence concerning the relationship between *Haplometrana* and *Glypthelmins* (Digenea: Plagiorchiiformes). *Journal of Parasitology*, **76**, 746-748.
- _____ (1991) Evidence for host allozymes present on electrophoretic gels of trematode parasites (Digenea: Plagiorchiiformes). *Journal of Parasitology*, **77**, 805-808.
- _____ (1992) Comparative evolutionary genetics of trematode parasites (Plagiorchiidae) and their anuran hosts. *Canadian Journal of Zoology*, **70**, 993-1000.
- Rankin J. S. (Jr.)** (1944) A review of the trematode genus *Glypthelmins* Stafford, 1905, with an account of the life cycle of *G. quieta* (Stafford, 1900) Stafford, 1905. *Transactions of the American Microscopical Society*, **63**, 30-43
- _____ (1945) An ecological study of the helminth parasites of amphibians and reptiles of Western Massachusetts and vicinity. *Journal of Parasitology*, **31**, 142-150

- Razo-Mendivil, U., Laclette, J. P. & Pérez-Ponce de León, G.** (1999) New host and locality records for three species of *Glyphelmins* (Digenea: Macroderoididae) in anurans of Mexico. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **66**, 197-201.
- & **León-Règagnon, V.** (2001) *Glyphelmins poncedeleoni* n. sp. (Trematoda: Macroderoididae) of amphibians from the neotropical region of México. *Journal of Parasitology*, **87**, 686-691
- Robles-Gil, P.** (1996) *Diversidad de Fauna Mexicana*. CEMEX / Agrupación Sierra Madre SC. CEMEX, México. 190 pág.
- Rollinson D., Walker, T. K. & Simpson, A. J. G.** (1986) The application of recombinant DNA technology to problems of helminth identification. *Parasitology*, **92**, 53-71
- Rossen, R. & Manis, R.** (1976) Trematodes of Arkansas amphibians. *Journal of Parasitology*, **62**, 833-834.
- Ruiz, J. M.** (1949). Considerações sobre o gênero "*Choledocystus*" Pereira & Cuocolo, 1941 (Trematoda, Plagiorchiidae). *Revista Brasileira de Biologia*, **9**, 167-174.
- & **Leão, A. T.** (1942) *Choledocystus vesicalis* n. sp., parasita da vesícula biliar de *Bufo marinus* (L.). (Trematoda: Plagiorchiidae). *Memorias do Instituto Butantan*. **16**, 209-212.
- Russell, K. R. & Wallace, R. L.** (1991) Occurrence of *Halipegus occidualis* (Digenea: Derogenidae) and other trematodes in *Rana pretiosa* (Anura: Ranidae) from Idaho, USA. *Transactions of the American Microscopical Society*. **111**, 122-127.
- Savage, J. M.** (1966) The origins and history of the central american herpetofauna. *Copeia*, **4**, 719-766.
- Schell, S. C.** (1962) Development of the sporocyst generations of *Glyphelmins quieta* (Stafford, 1900) (Trematoda: Plagiorchioidea), a parasite of frogs. *Journal of Parasitology*, **48**, 587-593.
- (1985) *Handbook of trematodes of North America North of México*. University Press of Idaho, Moscow, Idaho. pp. 176-177.
- Skrjabin, K. I. & Antipin, D. N.** (1958) Superfamily Plagiorchioidea Dollfus, 1930. Skrjabin, K. I. (Ed.) *Trematodes of Animals and Man: Principles of Trematodology*. Vol. **14**: 75:631 (En Ruso).
- Slowinski, J. B. & Page, R.** (1999) How should species phylogenies be inferred from sequence data?. *Systematic Biology*, **48**, 814-825.
- Snyder, S. D. & Esch, G. W.** (1993) Trematode community structure in the pulmonate snail *Physa gyrina*. *Journal of Parasitology*, **79**, 205-215.
- & **Tkach, V.** (2001) Phylogenetic and biogeographical relationships among some holarctic frog lung flukes (Digenea: Haematoloechidae). *Journal of Parasitology*, **87**, 1433-1440.
- Stafford, J.** (1900) Some undescribed trematode. *Zoology Jahrbuch Abstracts System*, **13**, 399-415.

- (1905) Trematodes from canadian vertebrates. *Zoologischer Anzeiger*, **28**, 681-694.
- Sullivan, J. J.** (1976) The trematode genus *Glythelmins* Stafford, 1905 (Plagiorchioidea: Macroderoididae) with a redescription of *G. facioi* from Costa Rican frogs. *Proceedings of Helminthological Society of Washington*, **43**, 116-125.
- (1977a) Revision of the genus *Rauschiella* Babero, 1951 (Digenea: Plagiorchiidae) with a redescription of *R. palmipedis* (Lutz, 1928) n. comb. from venezuelan frogs. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **44**, 82-86.
- (1977b) Redescription of *Choledocystus hepaticus* (Lutz, 1928) n. comb., and the status of *C. linguatula* (Rudolphi, 1819) (Trematoda: Plagiorchioidea). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **44**, 162-170.
- & **Byrd, E. E.** (1970) *Choledocystus pennsylvaniensis*: life history. *Transactions of the American Microscopical Society*, **89**, 384-396.
- Suriano, D. M.** (1968) *Glythelmins biliaris*, n. sp. (Trematoda Brachycoeliidae) parásita de la vesícula biliar de *Leptodactylus ocellatus* (Amphibia-Leptodactylidae) de la República Argentina. *Neotropica*, **14**, 27-34.
- (1970) Estudios sobre la fauna parasitaria de *Leptodactylus ocellatus* (L.) (Amphibia-Leptodactylidae) de la República Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales*, **10**, 215-239.
- Swofford, D. L.** (1998) PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Teixeira de Freitas, J.** (1941) Sobre alguns trematódeos parasitos de rãs. *Revista Brasileira de Biologia*, **1**, 31-40.
- Thatcher V. E.** 1964. Estudios sobre los tremátodos de reptiles de Tabasco, México: lista de huéspedes y sus parásitos. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, **13**, 91-96.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J.** (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22**, 4673-4680.
- Tkach, V., Pawlowski, J. & Sharpilo, V.** (2000a) Molecular and morphological differentiation between species of the *Plagiorchis vespertilionis* group (Digenea, Plagiorchiidae) occurring in European bats, with a re-description of *P. vespertilionis* (Müller, 1780). *Systematic Parasitology*, **47**, 9-22.
- , ————— & **Mariaux, J.** (2000b) Phylogenetic analysis of the suborder Plagiorchiata (Platyhelminthes, Digenea) based on partial 18S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, **30**, 83-93.
- Tkach, V., Snyder, S. D. & Swiderski, Z.** (2001a) On the phylogenetic relationships of some members of Macroderoididae and Ochetosomatidae (Digenea, Plagiorchioidea). *Acta Parasitologica*, **46**, 267-275.

- , **Grabda-Kazubska, B. & Swiderski, Z.** (2001b) Systematic position and phylogenetic relationships of the family Omphalometridae (Digenea, Plagiorchiida) inferred from partial lsrDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, **31**, 81-85.
- , **Pawlowski, J., Mariaux, J. & Swiderski, Z.** (2001c) Molecular phylogeny of the suborder Plagiorchiata and its position in the system of Digenea. **Littlewood D.T.J., Bray R.A.** (eds.); *Interrelationships of the platyhelminthes*. Taylor & Francis, London (2001) pp. 186-193.
- , **Grabda-Kazubska, B., Pawlowski, J. & Swiderski, Z.** (1999) Molecular and morphological evidences for close phylogenetic affinities of the genera *Macrodera*, *Leptophallus*, *Metaleptophallus* and *Paralepoderma* (Digenea, Plagiorchioidea). *Acta Parasitologica*, **44**, 170-179.
- , **Lotz, J., Swiderski, Z. & Esteban, G.** (2002) On the systematic position of *Ophiosacculus* Macy, 1935 (Digenea: Lecithodendriidae), with the erection of the Ophiosacculinae n. subfam. *Systematic Parasitology*, **53**, 159-167.
- Toledo, V.** (1988) La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo*, **8**, 7-16.
- Travassos, L.** (1924) Contribuições para o conhecimento dos helminthos dos batraquios do Brasil. *Sciencia Medica*, **2**, 2-11.
- (1926) Trematodeos novos. (V). *Boletim Biologico*, **1**, 16-19.
- 1930. Pesquisas helminthologicas realizadas em Hamburgo I. Genero *Haplometra* Looss, 1899 (Trematoda: Plagiorchiidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **23**, 163-168.
- , **Teixeira de Freitas, J. & Kohn, A.** (1969) Trematódeos do Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, **67**, 226-242.
- Trowdbridge, A. H. & Hefley, H. M.** (1934) Preliminary studies on the parasitic fauna of Oklahoma anurans. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, **14**, 16-19.
- Tubanguí, M. A.** (1928) Trematode parasites of philippine vertebrates. *Philippine Journal of Science*, **36**, 351-360.
- Tucker, R. B. & Joy, J. E.** (1996) Relationships between *Glythelmins pennsylvaniensis* (Trematoda: Digenea) infections and host size. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, **63**, 42-46.
- Ubelaker, J. E., Dursynski, D. W. & Beaver, D. K.** (1967) Ocurrance of the trematode *Glythelmins pennsylvaniensis* Cheng, 1961, in chorus frogs, *Pseudacris triseriata*, in Colorado: *Bulletin of the Wildlife Disease Association*, **3**, 177.
- Uchida, A. & Itagaki, H.** (1975) Studies on the amphibian helminths in Japan II. The distribution of *Glythelmins rugocaudata* (Yoshida, 1916) (Trematoda: Plagiorchiidae) in Japan and its new hosts. *Japanese Journal of Parasitology*, **24**, 87-90.

- Ulmer, M. J.** (1970) Studies on the helminth fauna of Iowa I. Trematodes of amphibians. *The American Midland Naturalist*, **83**, 38-64.
- van Herwerden, L., Blair, D. & Agatsuma, T.** (1998) Intra- and inter-specific variation in nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 of the *Schistosoma japonicum* species complex. *Parasitology*, **116**, 311-317.
- , ————— & ————— (1999) Intra- and interindividual variation in ITS1 of *Paragonimus westermani* (Trematoda: Digenea) and related species: Implications for Phylogenetic Studies. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12**, 67-73.
- Vanzolini, P. E. & Heyer, R.** (1985) The American herpetofauna and the interchange. *The great American biotic interchange*. Stehli, F. G. & Webb, S. D. (eds.). Plenum Press, New York, pp. 475-487.
- Vercammen-Grandjean, P. H.** (1960) Les tremátodos du lac Kivu sud (Vermes). *Annales du Museum Royal de l'Afrique Central. Sciences Zoologiques*, **5**, 1-171.
- Waitz, J. A.** (1959) A revision of the genus *Haplometrana* Lucker, 1931 (Trematoda: Plagiorchidae) with notes on its distribution and specificity. *Journal of Parasitology*, **45**, 385-388.
- (1960) *Telorchis bonnerensis* (Trematoda: Digenea) from the intestine of larval *Ambystoma macrodactylum* Baird, from northern Idaho. *Journal of Parasitology*, **46**, 815-818.
- (1961) Parasites of Idaho amphibians. *Journal of Parasitology*, **47**, 89.
- (1962) Parasitic helminths as aids in studying the distribution of species of *Rana* in Idaho. *Transactions of the Illinois State Academy of Science*, **54**, 152-156.
- Walton, A. C.** (1938) The trematodes as parasites of amphibia list of host. *Contribution from the Biological Laboratories of Knox College*, **62**, 1-24.
- (1946) Parasites of the Hylidae (Amphibia: Hylinae). II. *Journal of Parasitology*, **32** (suplemento), 19.
- (1947) Parasites of the Ranidae (Amphibia). I. *The Journal of Parasitology*, **33** (suplemento), 25-26, 26, 26-27.
- (1962) The amphibia as host of trematode parasites. I, II & III. *Journal of Parasitology*, **48** (suplemento), 24, 24-25 and 25.
- Wendel, J. F. & Doyle, J. J.** (1998) Phylogenetic incongruence: Window into genome history and molecular evolution. In *Molecular systematics of plants II: DNA sequencing*. Soltis, D., Soltis, P. & Doyle, J. J. (ed.). Kluwer Academic Publishers, Massachussets, pp. 265- 295.
- Williams, D. D. & Taft, S. J.** (1980) Helminths of anurans from NW Wisconsin. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **47**, 278.
- Yahata, M.** (1934) Studies on the excretory system of *Glythelmins rugocaudata* (Yoshida). *Journal of Science of the Hiroshima University*, **3**, 77-86.

- Yamaguti, S.** (1958) *Systema helminthum Vol 1. The digenetic trematodes of vertebrates part I & II.* 1575 pp. Interscience Publishers, New York, Keigaku Publishing Co. Tokyo, Japan. I & II. 1075 pp.
- (1971) *Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates 1.* Keigaku Publishing Co. Tokyo, Japan. I & II. 1074 pp.
- (1975) *A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates with special reference to the morphology of their larval forms.* Keigaku Publishing Co. Tokyo, Japan. 590 pp.
- Yoshida, S.** (1916) On a new species of frog trematode (*Enodiotrema rugocaudatum* n.sp.). *Annotationes Zoologicae Japanenses*, **9**, 73-79
- Zaldívar-Riverón, A., León-Régagnon, V. & Nieto-Montes de Oca, A.** (2004) Phylogeny of the mexican coastal leopard frogs of the *Rana berlandieri* group based on mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **30**, 38-49.

8. Apéndice 1

8.1.0. ESPECIES DE HELMINTOS, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO

8.1.1. ESPECIES DE HUÉSPEDES, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

8.1.0. ESPECIES DE HELMINTOS, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO

- Alaria alata* (Goeze, 1782) Krause, 1914
Allassogonoporidae Odening, 1964
Allassogonoporus amphoraeformis (Mödlinger, 1930) Odening, 1964
Alloglossidium hirudicola Schmidt & Chaloupka, 1969
Astiotrema Looss, 1898
Astiotrema monticellii Stossich, 1904
Bolbophorus Dubois, 1935
Brachycoeliidae Johnston, 1912
Brachycoeliinae Loss, 1899,
Brachycoelium salamandrae (Froelich, 1789) Lühe, 1909
Campulidae Odhener, 1926
Cephalogonimus americanus Stafford, 1902
Choledocystus Pereira & Cuocolo, 1941
Choledocystus diana (Belous, 1958) n. comb.
Choledocystus elegans (Travassos, 1926) Ruiz, 1949
Choledocystus eucharis Pereira & Cuocolo, 1941
Choledocystus festina (Cordero, 1944) Byrd & Maples, 1963
Choledocystus hepaticus (Lutz, 1928) Sullivan, 1977
Choledocystus incurvatum (Nasir, 1966) n. comb.
Choledocystus intermedius Caballero, Bravo & Zerecero, 1944
Choledocystus linguatula (Travassos, 1924) Sullivan, 1977
Choledocystus mariavirginiae (Vercammen-Grandjean, 1960) n. comb.
Choledocystus pennsylvaniensis (Cheng, 1961) Byrd & Maples, 1963
Choledocystus ramitesticularis (Nasir, 1966) n. comb.
Choledocystus simulans (Teixeira de Freitas, 1921) n. comb.
Choledocystus vesicalis Ruiz & Leão 1942
Choledocystus vitellinophilum (Dobbin, 1958) n. comb.
Dasymetra nicolli Hall and Allison, 1935
Dicrocoelidae Odhner, 1910
Dicrocoelium dendriticum (Looss, 1899)
Dicrocoelium hospes Looss, 1907
Diplostomidae Poirier, 1886
Distomum linguatula Rudolphi, 1819
Distomum quietum Stafford, 1900
Distomum repandum Rudolphi, 1819
Echinoparyphium cinctum (Rudolphi, 1803)
Echinostomatidae Poche, 1926
Echinostoma Rudolphi, 1809
Enodiotrema Loss, 1902
Enodiotrema rugocaudata Yoshida, 1916
Euparyphium melis (Schrank 1788)
Glypthelminae Cheng, 1959
Glypthelmins africana Dollfus, 1950
Glypthelmins biliaris Suriano, 1968
Glypthelmins brownorumae Razo-Mendivil, León-Règagnon & Pérez Ponce de León, 2003
Glypthelmins californiensis (Cort, 1919) Miller, 1930
Glypthelmins chaquensis (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) Prudhoe & Bray, 1982
Glypthelmins diana Belous, 1958
Glypthelmins elegans Travassos, 1926
Glypthelmins facioi Brenes-Madrugal, Arroyo-Sancho, Jiménez-Quiroz & Delgado-Flores, 1959
Glypthelmins festina Cordero, 1944
Glypthelmins hepatica (Lutz, 1928) Sullivan, 1977
Glypthelmins hyloreus Martin, 1969
Glypthelmins incurvatum Nasir, 1966
Glypthelmins intermedia (Caballero, Bravo-Hollis & Zerecero, 1944) Yamaguti, 1958
Glypthelmins intestinalis (Lucker, 1931) O'Grady, 1987
Glypthelmins lenti (Teixeira de Freitas, 1941) Prudhoe & Bray, 1982
Glypthelmins linguatula (Rudolphi, 1819) Travassos, 1924
Glypthelmins palmipedis (Lutz, 1928) Travassos, 1930

- Glythelmins parva* Travassos, 1924
Glythelmins pennsylvaniensis Cheng, 1961
Glythelmins poncedeleoni Razo-Mendivil & León-Régagnon, 2001
Glythelmins proximus Teixeira de Freitas, 1941
Glythelmins pseudium (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) Prudhoe & Bray, 1982
Glythelmins quieta (Stafford, 1900) Stafford, 1905
Glythelmins ramitesticularis Nasir, 1966
Glythelmins rangeli (Artigas & Zerpa, 1961) Prudhoe & Bray, 1982
Glythelmins repandum (Rudolphi, 1818) Travassos, 1924
Glythelmins robustus Brooks, 1976
Glythelmins rugocaudata (Yoshida, 1916) Yahata, 1934
Glythelmins sanmartini (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974) Prudhoe & Bray, 1982
Glythelmins sera Cordero, 1944
Glythelmins shastai Ingles, 1936
Glythelmins simulans Teixeira de Freitas, 1941
Glythelmins staffordi Tubangui, 1928
Glythelmins subtropica Harwood, 1932
Glythelmins tineri (Babero, 1951) Brooks, 1977
Glythelmins tuxtlasensis Razo-Mendivil, León-Régagnon & Pérez Ponce de León, 2003
Glythelmins vesicalis (Ruiz & Leao, 1942) Yamaguti, 1958
Glythelmins vitellinophilum Dobbin, 1958
Glythelmins (*Rauschiella*) *tineri* (Babero, 1951) Brooks, 1977
Glythelminthinae Yamaguti, 1971
Gorgoderidae Looss, 1901
Gorgodera cygnoides (Zeder, 1800) Looss, 1899
Haematoloechidae Odening, 1964
Haematoloechus Looss, 1899
Haematoloechus abbreviatus (Bychowsky, 1932)
Haematoloechus asper Looss, 1899
Haematoloechus breviplexus Stafford, 1902
Haematoloechus complexus (Seely, 1906) Krull, 1933
Haematoloechus longiplexus Stafford, 1902
Haematoloechus medioplexus Stafford, 1902
Haematoloechus variegatus (Rudolphi, 1819) Looss, 1899
Haematoloechus varioplexus Stafford, 1902
Haplometrinae Pratt, 1902
Haplometra Looss, 1899
Haplometra cylindracea (Zeder, 1800) Looss, 1899
Haplometra africana Nasir & Diaz, 1970
Haplometra palmipedis Lutz, 1828
Haplometrana Lucker, 1931
Haplometrana intestinalis Lucker, 1931
Haplometroides Odhner, 1911
Hylotrema Sullivan, 1972
Ichthyocotylurus Odening, 1969
Laiogonimus Vercammen-Grandjean, 1960
Laiogonimus mariavirginiae Vercammen-Grandjean, 1960
Lecithodendriidae (Lühe, 1901) Odhner, 1910
Lecithodendrium linstowi Dollfus, 1931
Lecithopyge rastellus Perkins, 1928
Leptophallus nigrovenosus (Bellingham, 1844) Lühe, 1909
Lyperosomum transcarpathicus Bychovskaya-Pavlovskaja, Vyzotzkaja et Kulakova, 1970
Macrodera longicollis (Abildgaard, 1788) Lühe, 1909
Macroderidae (Goodman, 1952)
Macroderoides spiniferus Pearse, 1924
Macroderoididae McMullen, 1937
Macroderoidinae Odening, 1964
Margeana Cort, 1919
Margeana californiensis Cort, 1919
Margeana chaquensis Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967
Margeana pseudium Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967
Margeana sanmartini (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974) n. comb.
Margeana vitellinophilum (Dobbin, 1958) Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1967
Maritrema neomi Tkach, 1998
Maritrema subdolum Jägerskiöld, 1909
Mesocoelium Odhner, 1911
Metaleptophallus gracillimus (Lühe, 1909) Yamaguti, 1958

Metaplagiorchis Timofeeva, 1962
Metorchis leptodactylus Savazzini, 1930
Microderma Mehra, 1931
Microphallidae (Ward, 1961) Travassos, 1920
Nasitremitidae Yamaguti, 1951
Neoglyphe locellus (Kossack, 1910) Yamaguti, 1958
Neoglyphe sobolevi Schaldybin, 1953
Nephrotrema truncatum (Leuckart, 1842)
Ochetosomatiidae Leao, 1944
Ochetosoma kansense (Crow, 1913) Skrjabin & Antipin, 1957
Omphalometridae Bittner & Sprehn, 1928
Omphalometra flexuosa (Rudolphi, 1809) Loos, 1899
Opecoeliidae Ozaki, 1925
Opecoeloides furcatus (Bremser in Rudolphi, 1819) Odhner, 1928
Ophiosacculus mehelyi (Mödlinger, 1930) Macy, 1935
Opisthoglyphe Looss, 1899
Opisthioglyphe Looss, 1899
Opisthioglyphe endoloba (Dujardin, 1845) Looss, 1899
Opisthioglyphe ranae (Fröhlich, 1791) Looss, 1907
Ostiolooides Odening, 1960
Parabascus semisquamosus (Braun, 1900)
Paragonimus Braun, 1899
Paralepoderma cloacicola (Lühe, 1909)
Paramacroderoides echinus Venard, 1941
Plagiorchiata La Rue, 1957
Plagiorchiidae (Lühe, 1901) Ward, 1917
Plagiorchiinae Pratt, 1902
Plagiorchioidae Ward, 1917
Plagiorchis africana (Dollphus, 1950) Vercamen-Grandjean, 1960
Plagiorchis elegans (Rudolphi, 1802) Braun, 1902
Plagiorchis hepaticus Lutz, 1928
Plagiorchis koreanus Ogata, 1938
Plagiorchis lenti Teixeira de Freitas, 1941
Plagiorchis muelleri Tkach & Sharpilo, 1990
Plagiorchis vespertilionis (Müller, 1780) Braun, 1900
Pleurogenes claviger (Rudolphi, 1819) Loss, 1899
Pleurogenidae Looss 1899
Pleurogenoides medians (Olson, 1876)
Prosthodendrium chilostomum (Mehlis, 1831)
Prosthodendrium hurkovae (Mehlis, 1831)
Prosthodendrium longiforme (Bhalerao, 1926)
Prosthogonimidae (Lühe, 1909) Lahille, 1922
Prosthogonimus ovatus (Rudolphi, 1803) Lühe, 1899
Psilostomidae Looss, 1900
Psilochasmus oxyurus (Creplin, 1825) Lühe, 1909
Pycnoporos heteroporus (Dujardin, 1845) Loss, 1899
Pycnoporos megacotyle (Ogata, 1939)
Rauschiella Babero, 1951
Rauschiella chaquensis (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) n. comb.
Rauschiella lenti (Teixeira de Freitas, 1941) n. comb.
Rauschiella linguatula (Rudolphi, 1819) n. comb.
Rauschiella palmipedis (Lutz, 1928) Sullivan, 1977
Rauschiella poncedeleoni (Razo-Mendivil & León-Régagnon, 2001) n. comb.
Rauschiella proximus (Teixeira de Freitas, 1941) Sullivan, 1977
Rauschiella pseudium (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1967) n. comb.
Rauschiella repandum (Rudolphi, 1819) Babero, 1951
Rauschiella rugocaudata (Yoshida, 1916) n. comb.
Rauschiella sanmartini (Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1974) n. comb.
Rauschiella sera (Cordero, 1944) Sullivan, 1977
Rauschiella staffordi (Tubanguí, 1928) n. comb.
Rauschiella tineri Babero, 1951
Repandum Byrd & Maples, 1963
Repandum repandum Byrd & Maples, 1963
Reynoldstrema Cheng, 1959
Reynoldstrema africana Cheng, 1959
Reynoldstrema berghei (Vercamen-Grandjean, 1960) Fischthal & Thomas, 1968
Reynoldstrema laurenti (Vercamen-Grandjean, 1960) Fischthal & Thomas, 1968
Rubinstrema exasperatum (Rudolphi, 1819) Dollfus, 1949

Rubenstrema opisthovitellinus (Soltys, 1954)
Yamaguti, 1971
Telorchidae Dollfus, 1925
Telorchis assula (Dujardin, 1845) Dollfus, 1957
Tremiorchis Mehra & Negi, 1926

Troglorematidae (Odhner, 1914) Ward, 1918
Xenopodistomum MacNae, Rock & Makowski,
1973

8.1.1. ESPECIES DE HUÉSPEDES, AUTORIDADES Y FECHAS DE ESTABLECIMIENTO

Acris crepitans Baird, 1854
Anas platyrhynchos Linnaeus, 1758
Bombina variegata (Linnaeus, 1758)
Bufo Laurenti, 1768
Bufo americanus Holbrook, 1836
Bufo arenarum Hensel, 1867
Bufo boreas Baird and Girard, 1852
Bufo gemmifer Taylor, 1940
Bufo marinus (Linnaeus, 1758) Schneider, 1799
Bufo marmoratus Wiegmann, 1833
Bufo microscaphus Cope, 1867
Bufo valliceps Wiegmann, 1833
Bufo woodhousii Girard, 1854
Chthonerpeton indistinctum (Reinhardt & Lütken,
1862) Peters, 1880
Coniophanes imperialis clavatus (Peters)
Cystignathus ocellatus Wagler, 1830 =
Leptodactylus ocellatus
Drymarchon corais (Boie, 1827).
Eleutherodactylus Duméril and Bibron, 1841
Eleutherodactylus rhodopis (Cope, 1867) Noble,
1918
Eptesicus serotinus (Schreber, 1774)
Gastrophryne Fitzinger, 1843
Gastrophryne elegans (Boulenger, 1882)
Stejneger, 1910
Gastrophryne usta (Cope, 1866) Stejneger, 1910
Helisoma trivolvis (Say, 1816)
Helisoma trivolvis (Say, 1817)
Hyla Laurenti, 1768
Hyla arenicolor Cope, 1866
Hyla chrysoscelis Cope, 1880
Hyla cinerea (Schneider, 1799)
Hyla crucifer Wied-Neuwied, 1838 = *Pseudacris*
crucifer
Hyla crucifer crucifer Harper, 1939 = *Pseudacris*
crucifer

Hyla eximia Baird, 1864
Hyla leucophyllata (Beireis, 1783) Gmelin, 1789
Hyla pickeringii Holbrook, 1840
Hyla pickeringii Holbrook, 1840 = *Pseudacris*
crucifer
Hyla raniceps (Cope, 1862) = *Pseudacris*
crucifer
Hyla regilla Baird and Girard, 1852 = *Pseudacris*
regilla
Hyla regilla Boulenger, 1882
Hypopachus Keferstein, 1867
Hypopachus variolosus (Cope, 1866) Cope 1875
Lanius collurio Linnaeus, 1758
Lepisosteus osseus (Linnaeus, 1758)
Lepisosteus platostomus Rafinesque, 1820
Leptodactylus Fitzinger, 1826
Leptodactylus bolivianus Boulenger, 1898
Leptodactylus labialis (Cope, 1878) Brocchi, 1881
Leptodactylus laticeps Boulenger, 1918
Leptodactylus melanonotus (Hallowell, 1861)
Brocchi, 1881
Leptodactylus ocellatus (Linnaeus, 1758) Girard,
1853
Leptodactylus pentadactylus (Laurenti, 1768)
Boulenger, 1882
Lymnaea bulimoides Lea, 1841
Lymnaea stagnalis (Linnaeus, 1758)
Lymnaea stagnalis urasatchensis (Linnaeus,
1758)
Marmota bobak (Müller, 1776)
Mullus surmuletus Linnaeus, 1758
Myotis daubentoni (Kuhl, 1819)
Natrix natrix (Linnaeus, 1758)
Neomys anomalus Cabrera, 1907
Nerodia rhombifer (Hallowell, 1852)
Nyctalus noctula (Schreber, 1774)
Nyctereutes procyonoides (Gray, 1834)

Pachymedusa Duellman, 1968
Pachymedusa dacnicolor (Cope, 1864) Duellman, 1968
Phrynohyas Fitzinger, 1843
Phrynohyas coriacea (Peters, 1867) Duellman, 1968
Phrynohyas venulosa (Laurenti, 1768) Fitzinger, 1843
Physa gyrina Say, 1821
Pica pica (Linnaeus, 1758)
Pipistrellus kuhlii (Natterer, 1819)
Planorbis planorbis (Linnaeus, 1758)
Pseudacris crucifer crucifer Stevenson & Crowe, 1992
Pseudacris nigrita (LeConte, 1825) Fitzinger, 1843
Pseudacris triseriata (Wied-Neuwied, 1838)
Pseudacris triseriata triseriata Schwartz, 1957 = *Pseudacris triseriata*
Pseudis mantidactylus Boulenger, 1882
Pseudis paradoxa (Linnaeus, 1758) Savage & Carvalho, 1953
Ptychadena mascareniensis Deckert, 1938
Rana Linnaeus, 1758
Rana arvalis Nilsson, 1842
Rana aurora Baird and Girard, 1852
Rana aurora draytoni Camp, 1917 = *Rana aurora*
Rana berlandieri Baird, 1859
Rana blairi Meham, Littlejohn, Oldham, Brown & Brown, 1973
Rana boylei Baird, 1854
Rana brownorum Hillis, 1981
Rana catesbeiana Shaw, 1802
Rana chiricahuensis Platz and Meham, 1979
Rana clamitans Latreille, 1801
Rana dunni Zweifel, 1957
Rana forreri Boulenger, 1883
Rana lessonae Camerano, 1882 "1881"
Rana luteiventris Thompson 1913
Rana maculata Brocchi, 1877
Rana magnaocularis Frost and Bagnara, 1974
Rana mascareniensis Duméril & Bibron, 1841 = *Rana megapoda* Taylor, 1942
Rana montezumae Baird, 1854
Rana neovolcanica Hillis and Frost, 1985
Rana nigromaculata Hallowell, 1861
Rana palmipes Spix, 1824
Rana palustris LeConte, 1825
Rana pipiens Schreber, 1782
Rana pipiens sphenocephala Stejneger and Barbour, 1943 = *Rana sphenocephala*
Rana placyfukienensis Boring, 1938 = *Rana fukienensis* Pope, 1929
Rana pretiosa Baird and Girard, 1853
Rana psilonota Webb, 2001
Rana septentrionalis Baird, 1854
Rana spectabilis Hillis and Frost, 1985
Rana sphenocephala Cope, 1886
Rana sylvatica LeConte, 1825
Rana tarahumaræ Boulenger, 1917
Rana temporaria Linnaeus, 1758.
Rana utricularia Pace, 1974 = *Rana sphenocephala*
Rana vaillanti Brocchi, 1877
Rana virescens Kalm, 1761 = *Rana sphenocephala*
Rana vittigera Wiegmann, 1834 = *Fejervarya vittigera* Iskander, 1998
Rana yavapaiensis Platz and Frost, 1984
Rana zweifeli Hillis, Frost & Webb, 1984
Salamandra salamandra (Linnaeus, 1758) Lönnberg, 1896
Scinax pedromedinai (Henle, 1991) Duellman, 1993
Sibon nebulata (Linnaeus, 1758)
Smilisca Cope, 1865
Smilisca baudinii (Duméril & Bibron, 1841) Cope, 1866
Sorex araneus Linnaeus, 1758
Sorex minutus Linnaeus, 1766
Tringa erythropus (Pallas, 1764)
Tripion Cope, 1866
Tripion petasatus (Cope, 1865) Cope, 1866

8. Apéndice 2

8.2.1. TÉCNICAS DE TINCIÓN

8.2.1.0. *HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ALCOHÓLICA*

8.2.1.1. *HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ACUOSA*

8.2.1.2. *PARACARMÍN DE MAYER*

8.2.1.3. *TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ALCOHÓLICA*

8.2.1.4. *TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ACUOSA*

8.2.2. TÉCNICAS MOLECULARES

8.2.2.0. *DIGESTIÓN DE TEJIDOS*

8.2.2.1. *EXTRACCIÓN DEL DNA GENÓMICO CON FORMOL/CLOROFORMO*

8.2.2.2. *PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK GEL
EXTRACTION (QIAGEN)*

8.2.2.3. *PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK PCR
PURIFICATION (QIAGEN)*

8.2.2.4. *REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN*

8.2.2.5. *PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN CON
COLUMNS CENTRISEP*

8.2.2.6. *PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN POR
EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN CON ETANOL / ACETATO DE SODIO*

8.2.1. TÉCNICAS DE TINCIÓN

8.2.1.0. HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ALCOHÓLICA

- 1.- Los ejemplares conservados en OH 70% deben ser deshidratados en alcohol al 96% durante 15 minutos.
- 2.- Teñir con Hematoxilina durante 20 minutos.
- 3.- Lavar con alcohol al 96% para quitar el exceso de colorante.
- 4.- Diferenciar con alcohol al 96% acidulado al 2% hasta que el parénquima de los ejemplares este casi blanco o ligeramente rosado, los bordes transparentes y los órganos internos bien definidos.
- 5.- Deshidratar en alcohol absoluto de 15 a 20 minutos.
- 6.- Aclarar en salicilato de metilo, aceite de clavos o xilol.
- 7.- Montar en resina o en bálsamo de Canadá.
- 8.- Etiquetar.

8.2.1.1. HEMATOXILINA DE DELAFIELD TÉCNICA ACUOSA

- 1.- Los ejemplares conservados en formol al 4% o en OH 70% deben ser hidratados en alcoholes graduales al 50, 30, 10% y por último en agua destilada (5 a 10 minutos en cada uno).
- 2.- Teñir con hematoxilina de Delafield durante 15 minutos.
- 3.- Lavar con agua destilada para quitar el exceso de colorante.
- 4.- Diferenciar con agua acidulada al 2% hasta que los ejemplares adquieran un color rosa pálido.
- 5.- Lavar en agua destilada con la finalidad de detener la acción diferenciadora del agua acidulada.
- 6.- Virar en agua corriente hasta que las estructuras se tornen azules o púrpuras.
- 7.- Deshidratar en alcoholes graduales de 10, 30, 50, 70, 80, 96 y 100% de cinco a diez minutos en cada uno.
- 8.- Aclarar en salicilato de metilo, aceite de clavos o xilol.
- 9.- Montar en bálsamo de Canadá.
- 10.- Etiquetar.

8.2.1.2. PARACARMÍN DE MAYER

- 1.- Los ejemplares conservados en formol al 4% o en OH 70% deben ser deshidratados en alcohol al 96% durante 15 minutos.
- 2.- Teñir con Paracarmin de Mayer durante 10 minutos.
- 3.- Lavar con alcohol al 96% para quitar el exceso de colorante.
- 4.- Diferenciar con alcohol al 96% acidulado al 2% con HCl hasta que el parénquima de los ejemplares este casi blanco o ligeramente rosado, los bordes transparentes y los órganos internos bien definidos.
- 5.- Deshidratar en alcohol absoluto de 15 a 20 minutos.
- 6.- Aclarar en salicilato de metilo, aceite de clavos o xilol.
- 7.- Montar en resina o en bálsamo de Canada.
- 8.- Etiquetar.

8.2.1.3. TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ALCOHÓLICA:

- 1.- Los ejemplares conservados en OH 70% deben ser deshidratados en alcohol al 96% durante 15 minutos.
- 2.- Teñir con colorante diluido de Tricrómica de Gomori (1 gota de solución madre por cada ml de alcohol) durante 20 o 30 minutos.
- 3.- Lavar con alcohol al 96% para quitar el exceso de colorante.
- 4.- Diferenciar con alcohol 96% acidulado al 2% hasta que el parénquima de los ejemplares se torne ligeramente azul, los bordes verdes y los órganos internos bien definidos.
- 5.- Deshidratar en alcohol absoluto de 15 a 20 minutos.
- 6.- Aclarar en salicilato de metilo, aceite de clavos o xilol.
- 7.- Montar en resina o en bálsamo de Canadá.
- 8.- Etiquetar.

8.2.1.4. TRICRÓMICA DE GOMORI TÉCNICA ACUOSA:

- 1.- Los ejemplares conservados en OH 70% deben ser hidratados en alcoholes graduales al 50, 30, 10% y por último en agua destilada (5 a 10 minutos en cada uno).
- 2.- Teñir con el colorante diluido de tricrómica de Gomori (3 gotas de solución madre por cada ml de agua destilada) durante 20 o 30 minutos.
- 3.- Lavar con agua destilada para quitar el exceso de colorante.
- 4.- Diferenciar con agua acidulada al 2% hasta que los ejemplares adquieran un color rosa pálido.
- 5.- Lavar en agua destilada con la finalidad de detener la acción diferenciadora del agua acidulada.
- 6.- Virar en agua corriente hasta que las estructuras se tomen azules o púrpuras.
- 7.- Deshidratar en alcoholes graduales de 10, 30, 50, 70, 80, 96 y 100% de cinco a diez minutos en cada uno.
- 8.- Aclarar en salicilato de metilo, aceite de clavos o xilol.
- 9.- Montar en resina o en bálsamo de Canadá.
- 10.- Etiquetar.

8.2.2. TÉCNICAS MOLECULARES

8.2.2.0. DIGESTIÓN DE TEJIDOS

- 1.- Fragmentar el tejido y colocarlo en un tubo eppendorf de 1.5 ml.
- 2.- Adicionar al tubo con el tejido 500 µl de buffer STE, 20 µl de proteinasa K (25 mg/ml) y 75 µl de SDS al 10%.
- 3.- Agitar perfectamente e incubar durante 12 hrs a 55° C. Agitar ocasionalmente durante el período de incubación.

8.2.2.1. EXTRACCIÓN DEL DNA GENÓMICO CON FORMOL/CLOROFORMO

- 1.- Agregar 600 µl de fenol al tubo que contiene el tejido digerido. Mezclar suavemente e incubar durante 5 min a temperatura ambiente. Mezclar cada vez que las fases se separen.
- 2.- Centrifugar a 13,000 rpm por 5 min.
- 3.- Remover cuidadosamente la fase acuosa con una micropipeta y transferir a un tubo eppendorf limpio. Tener cuidado de no alterar la interfase.
- 4.- Repetir los pasos 1-3.
- 5.- Agregar 600 µl de Cl y mezclar suavemente e incubar a temperatura ambiente durante 2 min. Mezclar cada vez que las fases se separen.
- 6.- Centrifugar a 13,000 rpm por 3 min.
- 7.- Remover la fase acuosa y transferir a un tubo limpio cuidando de no alterar la interfase.
- 8.- Agregar 1/10 del volumen de la muestra (aproximadamente 45 µl) de 2 M NaCl y 2.5 volúmenes de OH 96% frío (-20° C).
- 9.- Precipitar el DNA a -20° C durante 12 hrs.
- 10.- Centrifugar el precipitado a 13,00 rpm durante 10 min.
- 11.- Desechar el sobrenadante y lavar el botón de DNA dos veces con OH 70%.
- 12.- Secar en una centrífuga con vacío.

8.2.2.2. PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK GEL EXTRACTION (QIAGEN)

- 1.- Cortar el fragmento de DNA del gel de agarosa con una navaja limpia (Minimizar el tamaño del gel removiendo la agarosa extra).
- 2.- Pesar el fragmento de gel en un tubo eppendorf. Adicionar 3 volúmenes de Buffer QG a un volumen de gel (100 mg ~ 100 µl). p. ej. Adicionar 300 µl de Buffer QG para c/ 100 mg de gel.
- 3.- Incubar a 50° C por 10 minutos (vortexear el tubo cada 2 ó 3 min.).

- 4.- Una vez disuelto el gel confirmar que el color de la mezcla sea amarillo. Si el color vira a anaranjado o morado adicionar 10 µl de 3 M Acetato de Sodio.
- 5.- Adicionar un volumen de isopropanol por cada volumen de gel (100 µl de isopropanol por 100 mg de gel). Vortexear.
- 6.- Colocar una columna en un tubo colector.
- 7.- Aplicar la muestra en la columna y centrifugar 1 min a 13,000 rpm. Desechar el líquido del tubo colector.
- 8.- Adicionar 500 µl de Buffer QG. Centrifugar 1 min y desechar el líquido del tubo colector.
- 9.- Adicionar 750 µl de buffer PE en el centro de la columna. Esperar entre 2 y 5 min y después centrifugar 1 min. Desechar el líquido del tubo colector y centrifugar nuevamente 1 min.
- 10.- Transferir la columna a un tubo eppendorf limpio.
- 11.- Para eluir el DNA, adicionar 50 µl de Buffer EB o H₂O en el centro de la membrana y centrifugar un minuto a 13,000 rpm. Alternativamente, para incrementar la concentración de DNA, adicionar 30 µl de Buffer, esperar un minuto y posteriormente, centrifugar un minuto.

8.2.2.3. PURIFICACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR CON EL KIT QIAQUICK PCR PURIFICATION (QIAGEN)

- 1.- Adicionar 5 volúmenes de buffer PB por cada volumen del producto de PCR. Agregar 125 µl de buffer PB a 25 µl de la muestra de PCR)
- 2.- Vortexear para mezclar el buffer PB y la muestra de PCR.
- 3.- Colocar una columna QIAquick dentro de un tubo colector de 2 ml.
- 4.- Aplicar la mezcla de buffer y muestra de PCR en el centro de la columna.
- 5.- Centrifugar a 13,000 rpm entre 30 y 60 s.
- 6.- Desechar el líquido del tubo colector.
- 7.- Colocar de nuevo la columna sobre el tubo colector.
- 8.- Adicionar 750 µl de buffer PE en el centro de la columna.
- 9.- Centrifugar a 13,000 rpm entre 30 y 60 seg.
- 10.- Desechar el líquido del tubo colector.
- 11.- Colocar de nuevo la columna sobre el tubo colector
- 12.- Centrifugar un minuto más a 13,000 rpm.
- 13.- Colocar la columna sobre un tubo eppendorf limpio de 1.5 ml
- 14.- Adicionar entre 30 y 50 µl de buffer EB o agua dependiendo del producto amplificado.
- 15.- Centrifugar a 13,000 rpm durante 1 min.
- 16.- Mantener los productos de PCR purificados a -20° C.

8.2.2.4. REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN

Una vez purificados y cuantificados los productos de PCR

Preparar en tubos de 0.2 µl la siguiente mezcla:

Byg Dye (terminator cycle sequencing ready reaction)	4 µl
Buffer 5x	4 µl
Producto de PCR 1-100 ng	2 µl*
Primer 3.2 pmol	1 µl
Agua desionizada	9 µl**

*, ** estas cantidades dependen del resultado de cuantificación espectrofotométrica.

8.2.2.5. PURIFICACIÓN DE PRODUCTO DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN CON COLUMNAS CENTRISEP

- 1.- Golpear suavemente la columna para bajar todo el gel en el fondo.
- 2.- Agregar 0.8 µl de agua desionizada y tapar la columna, mezclar vigorosamente en el vórtex.
- 3.- Dejar hidratar la columna por 2 horas a temperatura ambiente.

- 4.- Remover las burbujas de aire invirtiendo la columna, permitiendo que el gel se escurra lentamente a la base de la columna.
- 5.- Remover la tapa superior y después la inferior insertar la columna en el tubo de lavado y permitir que el líquido drene por gravedad (aproximadamente se recuperan 250 μ l).
- 6.- Centrifugar la columna a 3,000 rpm durante 2 min.
- 7.- Manipular con cuidado, mantener la inclinación formada durante la centrifugación
- 8.- Desechar el líquido colectado.
- 9.- Agregar la reacción de secuenciación en el centro del gel. Colocar la columna en un tubo colector limpio.
- 10.- Centrifugar a 3,000 rpm durante 2 min teniendo cuidado de colocar la columna en la dirección correcta.
- 11.- Secar el líquido colectado en una centrifuga con vacío.

8.2.2.6. PURIFICACIÓN DE LOS PRODUCTOS DE LA REACCIÓN DE SECUENCIACIÓN POR EL MÉTODO DE PRECIPITACIÓN CON ETANOL / ACETATO DE SODIO

- 1.- Para cada reacción de secuenciación agregar 1 μ l de Acetato de Sodio (NaOH) 3M, pH 4.6 y 25 μ l de Etanol al 25 % (Checar que el volumen de la muestra sea de 10 μ l, ya que la concentración final de Etanol debe ser de alrededor del 65 %).
- 2.- Vortexear los tubos y dejar precipitar por 15 min a temperatura ambiente. (Tiempos de precipitación menores a 15 min no son recomendables debido a que se pierden los productos de extensión pequeños).
- 3.- Centrifugar los tubos en una microcentrifuga a 12,000 r.p.m. por 20 min.
- 4.- Cuidadosamente remover el sobrenadante con una punta de micropipeta y desechar.
- 5.- Enjuagar el botón con 150 μ l de OH al 70 % (No es necesario mezclar).
- 6.- Centrifugar los tubos en una microcentrifuga a 12,000 r.p.m. por 5 min. Remover el sobrenadante con una punta de micropipeta y desechar.
- 7.- Secar el botón en una centrifuga de vacío o al aire.

8. Apéndice 3

8.3.0. ALINEAMIENTO DE LAS SECUENCIAS PARCIALES DEL GEN RIBOSOMAL 28S.

8.3.1. MATRIZ DE DISTANCIAS PAREADAS DE NÚMERO DE NUCLEÓTIDOS DIFERENTES DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE *GLYPTHELMINS* Y OTROS MIEMBROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA.

8.3.2. MATRIZ DE DISTANCIAS PAREADAS DE PORCENTAJES DE DIFERENCIAS DE LOS GENES RIBOSOMALES 28S DE 11 ESPECIES DE *GLYPTHELMINS* Y OTROS MIEMBROS DEL SUBORDEN PLAGIORCHIATA.

	10	20	30	40	50	60
<i>P. megacotyle</i>	CGGCGAGTGA	CCAGGGAAAA	GCCCAGCACC	GAAGACTGTG	GCCAGTTGGC	TACTAGTCAA
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>G.A.
<i>P. hurkovaae</i>
<i>P. chilostomum</i>
<i>P. longiforme</i>T
<i>O. mehelyi</i>	ATG...TG.T.GT.....	...A.....
<i>P. semisquamosus</i>	.T.....	A.....TT.C.....	...T...T	C...G...
<i>A. amphoraeformis</i>	.T.....	A.....TT.C.....	...T...T	C...G...
<i>P. claviger</i>	.T.....	A.....T.C.....	.T..T....	C...G...
<i>P. medians</i>	.T.....	A.....TG.C.....	...T...T	C...G...
<i>P. ovatus</i>	.T.....	A.....TT.C.....	.T.....AT	C.T...G...
<i>M. subdolum</i>	.T.....	A.....T.TC.....	...T.....	...GA...
<i>M. neomi</i>	.T.....	A.....TT.TC.....	...T.....	...GA...
<i>M. gracillimus</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>M. longicollis</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>L. nigrovenosus</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>P. cloacicola</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>M. spiniferus</i>A.	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>M. typicus</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>O. ranae</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>T. assula</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>D. nicolli</i>	A.....G.C.....	...T...T	...G...
<i>O. kansense</i>	A.....G.C.....	...T...T	...G...
G. hepatica	?????????	A.....T.C.....	...T...T	...G...
<i>H. asper</i>	A.....C.....A.G...
<i>H. longiplexus</i>	A.....C.....	.T..T....	...G...
<i>H. variegatus</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>H. abbreviatus</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>H. complexus</i>	A.....G.C...A	...T...T	...G...
<i>H. medioplexus</i>	A.....T.C.....	...T...T	...G...
<i>H. varioplexus</i>	A.....T.C.....	...T...T	...G...
<i>H. breviplexus</i>	A.....TT.C.....	...T...T	...G...
G. quieta1	?????????	A.....G.	...C.....	...A.....	...G...
G. quieta 2	?????????	A.....G.	...C.....	...A.....	...G...
G. quieta3	?????????	A.....G.	...C.....	...A.....	...G...
G. quieta4	?????????	A.....G.	...C.....	...A.....	...G...
G. facioi	?????????	A.....G.	...C.....	...A...T	C...G...
G. brownorumae	?????????	?????????	?????????	?????????	?????????	?????????
G. tuxtlasensis	?????????	A.....G.	...C.....	...A...T	...G...
G. intestinalis	?????????	?????????	?????????	?????????	?????????	?????????
G. hyloreus	?????????	A.....G.	...C.....	...A...T	...G...
G. pennsylvaniensis 2	?????????	A.....G.	...C.....	...A...T	...G...
G. pennsylvaniensis 1	A.....G.	...C.....	...A...T	...G...
G. quieta5	A.....G.	...C.....	...A.....	...G...
G. californiensis 1	?????????	A.....G.T	...C.....	...A.....	...G...
G. californiensis 2	?????????	A.....G.T	...C.....	...A.....	...G...
G. poncedeleoni	?????????	A.....C.....	...GT....	...T...G...
G. tineri	?????????	A.....C.....	...GT....	...T...G...
<i>P. vespertilionis</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>P. muelleri</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>P. koreanus</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>P. elegans</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>L. rastellus</i>	A.....G.C.....	...T...T	C...G...
<i>H. cylindracea</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>N. locellus</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>R. exasperatum</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>N. sobolevi</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>R. opisthovitellinum</i>	A.....C.....	...GT....	...G...
<i>O. flexuosa</i>	A.....C.....	...GT....	C...G...
<i>B. salamandrae</i>	A.....C.....	...T...T	C...G...
<i>Mesocoelium sp.</i>	A.....C.....	...T...T	...G...
<i>D. dendriticum</i>	A.....C.....T	C.T...G...
<i>D. hospes</i>	A.....C.....T	C.T...G...
<i>L. transcarpathicus</i>	A.....C.....T	C...G...
<i>N. truncatum</i>	A.....C.....	.T..T....	C...G...
<i>A. monticellii</i>	A.....G.C.....	.T..T....	C...G...
<i>G. cygnoides</i>	A.....TG.C..T.	...T...T	C...G...
<i>E. melis</i>	AG.....G.C.....	...GT....	CC...G...
<i>E. cinctum</i>	A.....T.C.....	...GT....	CC...G...
<i>P. oxyurus</i>	A.....T.C.....	.T.GT....	CT...G...
<i>A. alata</i>	.T.....	AGG...TT.C..C.	.GT....	.G...G...
<i>O. furcatus</i>	A.....C..C.	.T.GT....	CG...G...

Apéndice 8.3.0. Alineamiento de las secuencias parciales del gen ribosomal 28S de 11 especies de *Glythelmins* y otros miembros del subórden Plagiorchiata. Los puntos (.) indican los mismos nucleótidos, los guiones (-) insertos y los asteriscos (*) los caracteres excluidos en el análisis.

	70	80	90	100	110	120
<i>P. megacotyle</i>	TGTGGTGTTA	TGGTTGTTCC	GGCGGCCTTG	CTGCTCCACC	CTAAGTCCAT	GAATGAGTAT
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>T	A.....A..C.
<i>P. hurkovaee</i>T	A.....	..T...A..C.
<i>P. chilostomum</i>T	A.....A..C.T.
<i>P. longiforme</i>T	A.....A..C.
<i>O. mehelyi</i>T	A...C.....	...A..CAG.	A.....A.C
<i>P. semisquamosus</i>C	A...C.....	...AAA.GC.	C.....C
<i>A. amphoraeformis</i>C	A.....	...AAA.ACA	C.....C
<i>P. claviger</i>C	A.....	...AAA.G.A	C.....C
<i>P. medians</i>T	A.....	...AAA.G.A	C.....C
<i>P. ovatus</i>CAAA.G.A	C.....C
<i>M. subdolum</i>C	A.....	...A.A.G.AC.....	CC.....GC
<i>M. neomi</i>C	A.....	...AAA.G..	CC.....GC
<i>M. gracillimus</i>T	A...C.....	ACA.AG..-	C.....C
<i>M. longicollis</i>T	A...C.....	ACA.AG..-	C.....C
<i>L. nigrovenosus</i>T	A...C.....	ACA.AG..-	C.....C
<i>P. cloacicola</i>T	A...C.....	ACA.AG..-T.	C.....C
<i>M. spiniferus</i>T	A...C.....	..CA.AG..-	C.....C
<i>M. typicus</i>T	A...C.....	..CA.AG..-	C.....C
<i>O. ranae</i>A	...C.....	..CA.AG..T	C.....C
<i>T. assula</i>T	A...C.....	..CA.AG..-	C.....C
<i>D. nicolli</i>T	A...C.....	..CA.AA..G-	C.....C
<i>O. kansense</i>T	A...C.....	..CA.AA..G-	C.....C
G. hepaticaT	A...C.....	..CA.AG..-	C.....C
<i>H. asper</i>T	A...C.....	..CG.AA..G-C.....	C.....C
<i>H. longiplexus</i>C	A...C.....	..CG.AA..G-C.....	C.....C
<i>H. variegatus</i>T	A...C.....	..CG.AG..-	C.....C
<i>H. abbreviatus</i>T	A...C.....	..CG.AG..-	C.....C
<i>H. complexus</i>T	A...C.....	..TG.ATA..-	C.....C
<i>H. medioplexus</i>T	A...C.....	..CG.AG..-	C.....C
<i>H. varioplexus</i>T	A...C.....	..CG.AG..-	C.....C
<i>H. breviplexus</i>C	A...C.....	..CG.AG..-T.	C.....C
G. quieta1C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. quieta 2C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. quieta3C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. quieta4C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. facioiC...ACG.AG..-C..C.....	C.....C
G. browmorumae	???????????	???????????	???????????	???????????	???????????	???????????
G. tuxtlasensisC...ACG.AG..-C..C.....	C.....C
G. intestinalis	???????????	???????????	???????????	???????????	???????????	???????????
G. hylorusC...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. pennsylvaniensis 2C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. pennsylvaniensis 1C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. quieta5C...T	A...C.....	..CA.AG..-C..C.....	C.....C
G. californiensis 1C...T	A...C...T.	ATA.AG..-C..C.....	C.....C
G. californiensis 2C...T	A...C...T.	ATA.AG..-C..C.....	C.....C
G. poncedeleoniC	A...C.....	..CA.AG..-G	C.....C
G. tineriC	A...C.....	..CA.AG..-G	C.....C
<i>P. vespertilionis</i>T	A...C.....	..CA.AG..-C.....G	C.....C
<i>P. muelleri</i>T	A...CA	..CA.AG..-C.....G	C.....C
<i>P. koreanus</i>T	A...CA	..CA.AG..-C.....G	C.....C
<i>P. elegans</i>T	A...C.....	..CA.AG..-C.....G	C.....C
<i>L. rastellus</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>H. cylindracea</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>N. locellus</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>R. exasperatum</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>N. sobolevi</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>R. opisthovitellinum</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>O. flexuosa</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-G	C.....C
<i>B. salamandrae</i>T	A...C.....	..CA.AG.C.-	C.....C
<i>Mesocoelium sp.</i>T	A...C.....	..CA.AT.C.-	C.....C
<i>D. dendriticum</i>T	A...C.....	..CA.AA.CG-C.....	C.....C
<i>D. hospes</i>T	A...C.....	..CA.AA.CG-C.....	C.....C
<i>L. transcarpathicus</i>T	A...C.....	..CA.AAACA-C.....	T.....GC
<i>N. truncatum</i>C	A...C.....	..TT.AG..G-G	C.....C
<i>A. monticellii</i>C	A...CA	..CG.AG..A-TTC.....GG	C.....C
<i>G. cygnoides</i>T	A...G.....	..CA.AG.CA-TG.....	C.....C
<i>E. melis</i>C	A...GCT.	..CG..GA.A-T.TA	T.....A
<i>E. cinctum</i>C	A...AGCT.	..CG..GA.G-TA	T.....A
<i>P. oxyurus</i>C	A...AGCT.	..CG.AG..G-TA	T.....A
<i>A. alata</i>C	A...C..CT.	T-T...A..AT.G	C..C.....
<i>O. furcatus</i>C	A...CAA.T.	..CA.AG.CG-A	AT.....C

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	* 130	* 140	150	160	170	180
<i>P. megacotyle</i>	GGTAA-A-AG	GACATGG-CC	CACAGAGGGT	GACAGGCCCG	TGGGGGTGGA	GAT-CAGGCA
<i>P. heteroporus</i>	...C.-T.-
<i>L. linstowi</i>-T.G.-.....
<i>P. hurkovaee</i>-T.
<i>P. chilostomum</i>-T.GT.....	.A.....
<i>P. longiforme</i>-T.A.....
<i>O. mehelyi</i>	...CTT.-T.TG.....	.TG.....-TTTG.
<i>P. semisquamosus</i>	...GT.-C.A.....	.T.....	...-T.T.
<i>A. amphoraeformis</i>	...GT.-C.G.....	.A.....-TC.T.
<i>P. claviger</i>	...GT.-C.A.....	.T.....	...-T.T.
<i>P. medians</i>	...GT.-C.A.....	.T.....	...-T.T.
<i>P. ovatus</i>	..C-GT.-C.A.....T.T..A...
<i>M. subdolum</i>	...GT.-T.	...C.-	.T.....	.A.....C-...T.
<i>M. neomi</i>	...GTT-T.	...CA.-	.T.....	.A.....C-...T.
<i>M. gracillimus</i>	...GT.-T.G.....	.A.....C-ATAATT
<i>M. longicollis</i>	...GT.-T.G.....	.A.....C-ATAATT
<i>L. nigrovenosus</i>	...GT.-T.G.....	.A.....C-ATAATT
<i>P. cloacicola</i>	...GT.-T.GT.....	.A.....C-ATAATT
<i>M. spiniferus</i>	...GT.-T.G.....	.A.....-TC.TTT
<i>M. typicus</i>	...GT.-T.G.....	.A.....-TC.TTT
<i>O. ranae</i>	...GT.-T.T.....	.A.....-TC.TTT
<i>T. assula</i>	...GT.-T.TT.....	.A.....-TC..T.
<i>D. nicolli</i>	...GT.-T.TT.....	.A.....CG-TC.ATT
<i>O. kansense</i>	...GT.-T.TT.....	.A.....CG-TC.ATT
G. hepatica	...GT.-T.T.....	.A.....-TC....
<i>H. asper</i>	...GT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
<i>H. longiplexus</i>	...GT.-T.A.....-TC..T.
<i>H. variegatus</i>	...TT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
<i>H. abbreviatus</i>	...TT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
<i>H. complexus</i>	...TT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
<i>H. medioplexus</i>	...TT.-T.A.....-TC..T.
<i>H. varioplexus</i>	...TT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
<i>H. breviplexus</i>	...TT.-T.T.....	.A.....-TC..T.
G. quieta 1	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. quieta 2	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. quieta 3	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. quieta 4	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. facioi	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. brownorumae	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
G. tuxtlasensis	...GT.-T.A...T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. intestinalis	??????????T.....	.A.....-TCCATT
G. hylareus	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. pennsylvaniensis 2	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. pennsylvaniensis 1	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TC.ATT
G. quieta 5	...GT.-T.T.....	.A.....G...-TCTATT
G. californiensis 1	...GT.-T.	...G.-	.G.....	.A.....G...-TC.ATT
G. californiensis 2	...GT.-T.	...G.-	.G.....	.A.....G...-TC.ATT
G. poncedeleoni	...GT.-C.A.....-TC....
G. tineri	...GT.-C.A.....-TC....
<i>P. vespertilionis</i>	...GT.-CAA.....-TC....
<i>P. muelleri</i>	...GT.-CAA.....-TC....
<i>P. koreanus</i>	...GT.-CAA.....-TC....
<i>P. elegans</i>	...GT.-CA	T.....A.....-TC....
<i>L. rastellus</i>	...GT.-C.T.....	.A.....-TC....
<i>H. cylindracea</i>	...GT.-C.T.....	.A.....-TC....
<i>N. locellus</i>	...GT.-C.A.....-TC....
<i>R. exasperatum</i>	...GT.-C.A.....-TC....
<i>N. sobolevi</i>	...GT.-C.A.....-TC....
<i>R. opisthovitellinum</i>	...GT.-C.A.....-TC....
<i>O. flexuosa</i>	...GT.-C.T.....	.A.....-TC....
<i>B. salamandrae</i>	...GT.-T.GT.....	.A.....-TC....
<i>Mesocoelium sp.</i>	...GT.-T.T.....	.A.....-TC...T
<i>D. dendriticum</i>	...GT.-CATG.....	.A.....	.TC.....	...-TC....
<i>D. hospes</i>	...GT.-CATG.....	.A.....	.TC.....	...-TC....
<i>L. transcarpathicus</i>	...GT.-CATG.....	.A.....	.TT.....	...-C....
<i>N. truncatum</i>	...GT.-C.T.....	.A.....
<i>A. monticellii</i>	...T.-C.T.....	.A.....	.T.....	...AG...A.
<i>G. cygnoides</i>	...GC.-T.TT.....	.A.....	.AA.....	.T...A...
<i>E. melis</i>	...T.CT-C.TT.....	.A.....GT...A.T
<i>E. cinctum</i>	...T.CT-C.A.....CT...ATT
<i>P. oxyurus</i>	...T.CT-C.	...G.-A.....CT...ATT
<i>A. alata</i>	..C-.TC-T.GG.....	.A.....A.TC
<i>O. furcatus</i>	..CTGT.CT.TG.....	.A.....TT

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	190	200	210	220	230	240
<i>P. megacotyle</i>	GGCCAGCGAC	GCCCTGGATA	GACCTTGGAG	TCGGGTTGTT	TGTGATTGCA	GCCCAAAGTG
<i>P. heteroporus</i>t...
<i>L. linstowi</i>
<i>P. hurkovaae</i>	A.....
<i>P. chilostomum</i>C.
<i>P. longiforme</i>C.
<i>O. mehelyi</i>T...	TT.....A...C.
<i>P. semisquamosus</i>TCC.	TTT.....A...
<i>A. amphoraeformis</i>T.T.	TTT.....A...
<i>P. claviger</i>T.C.	TTT.....G..A...
<i>P. medians</i>T.C.	TTT.....G..A...
<i>P. ovatus</i>TAC.	TTT.....A...
<i>M. subdolum</i>TAC.	TTT.....A...
<i>M. neomi</i>TAC.	TTT.....A...
<i>M. gracillimus</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>M. longicollis</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>L. nigrovenosus</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>P. cloacicola</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>M. spiniferus</i>	..A...A.C.	T.T...TG.A...
<i>M. typicus</i>	..A...A.C.	T.T...TG.A...
<i>O. ranae</i>GAC.	T.T...G.A...
<i>T. assula</i>AAC.	T.T...G.A...
<i>D. nicolli</i>	..T...TACT	T.T...G.A..A...
<i>O. kansense</i>	..T...TACT	T.T...G.A..A...
G. hepaticaAACT	T.T...G.A...
<i>H. asper</i>ACT	T.T...G.A...
<i>H. longiplexus</i>	..A....CT	T.T...G.A..A...
<i>H. variegatus</i>	..A...AAC.	T.T...G.A...
<i>H. abbreviatus</i>	..A...AAC.	T.T...G.A...
<i>H. complexus</i>	..A...AATA	TT.T...G.A...
<i>H. medioplexus</i>AACT	T...G.A...
<i>H. varioplexus</i>AACT	T...G.A...
<i>H. breviplexus</i>AACT	T...G.A..A...
<i>G. quieta 1</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. quieta 2</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. quieta 3</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. quieta 4</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. facioi</i>G.AAT.	T.T...G.A...
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
<i>G. tuxtlasensis</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. intestinalis</i>G.A.C.	T.T...G.	T.....A...
<i>G. hylorus</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. quieta 5</i>G.A.C.	T.T...G.A...
<i>G. californiensis 1</i>G.A.CT	T.T...AG..A...
<i>G. californiensis 2</i>G.A.CT	T.T...AG..A...
<i>G. poncedeleoni</i>	..A...A.C.	T.T...G.A..A...
<i>G. tineri</i>	..A...A.C.	T.T...G.A..A...
<i>P. vespertilionis</i>A.C.	T.T...G.A..A...
<i>P. muelleri</i>A.C.	T.T...G.A..A...
<i>P. koreanus</i>	..A...A.CT	T.T...G.A..A...
<i>P. elegans</i>	..A...A.C.	T.T...G.A..A...
<i>L. rastellus</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>H. cylindracea</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>N. locellus</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>R. exasperatum</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>N. sobolevi</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>R. opisthovitellinum</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>O. flexuosa</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>B. salamandrae</i>A.C.	T.T...G.A...
<i>Mesocoelium sp.</i>	..T...A.TG	T.T...G.A...
<i>D. dendriticum</i>	?.....T.CT	T.T...G.A...
<i>D. hospes</i>T.CT	T.T...G.A...C.
<i>L. transcarpathicus</i>T.TT	T.T...G.A...C.
<i>N. truncatum</i>T.C.	T.A...G.A...
<i>A. monticellii</i>TAC.	T.T...G.A...
<i>G. cygnoides</i>T.C.	T.T...TAA..A...
<i>E. melis</i>TAT.	T...AGC.A...
<i>E. cinctum</i>TAT.	T...AGC.A...C.
<i>P. oxyurus</i>TAT.	T...AG.CA...
<i>A. alata</i>	..A...TTTTAG..A...
<i>O. furcatus</i>T.T.	A.T...GG.A...

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	250	260	270	280	290	300
<i>P. megacotyle</i>	GGTGGTAAAC	TCCATCTAAG	GCTAAATACC	AACACGAGTC	CGATAGCAAA	CAAGTACCGT
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>TG
<i>P. hurkovaee</i>TG
<i>P. chilostomum</i>CTG
<i>P. longiforme</i>CTG
<i>O. mehelyi</i>CAGT
<i>P. semisquamosus</i>CAGG
<i>A. amphoraeformis</i>CAGG
<i>P. claviger</i>CAGG
<i>P. medians</i>CAGG
<i>P. ovatus</i>CAGG
<i>M. subdolum</i>CTGG
<i>M. neomi</i>CTGG
<i>M. gracillimus</i>CT	TG.....G
<i>M. longicollis</i>CT	TG.....G
<i>L. nigrovenosus</i>CT	TG.....G
<i>P. cloacicola</i>CT	TG.....G
<i>M. spiniferus</i>CTGG
<i>M. typicus</i>CTGG
<i>O. ranae</i>CT	TG.....G
<i>T. assula</i>CTGG
<i>D. nicolli</i>CTG
<i>O. kansense</i>CTG
<i>G. hepatica</i>CT	TG.....G
<i>H. asper</i>CT	TG.....G
<i>H. longiplexus</i>CT	TG.....G
<i>H. variegatus</i>CT	TG.....G
<i>H. abbreviatus</i>CT	TG.....G
<i>H. complexus</i>CT	TG.....G
<i>H. medioplexus</i>CT	TG.....G
<i>H. varioplexus</i>CT	TG.....G
<i>H. breviplexus</i>CT	TG.....G
<i>G. quieta 1</i>CTGG
<i>G. quieta 2</i>CTGG
<i>G. quieta 3</i>CTGG
<i>G. quieta 4</i>CTGG
<i>G. facioi</i>CTGG
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
<i>G. tuxtlasensis</i>CTGG
<i>G. intestinalis</i>CTGG
<i>G. hylureus</i>CTCG
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>CTGG
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>CT	TG.....G
<i>G. quieta 5</i>CT	TG.....G
<i>G. californiensis 1</i>CTGG
<i>G. californiensis 2</i>CTGG
<i>G. poncedeleoni</i>CTGG
<i>G. tineri</i>CTGG
<i>P. vespertilionis</i>CTGG
<i>P. muelleri</i>CTGG
<i>P. koreanus</i>CTGG
<i>P. elegans</i>CTGG
<i>L. rastellus</i>CTGG
<i>H. cylindracea</i>CTGG
<i>N. locellus</i>CTGG
<i>R. exasperatum</i>CTGG
<i>N. sobolevi</i>CTGG
<i>R. opisthovitellinum</i>CTGG
<i>O. flexuosa</i>CTGG
<i>B. salamandrae</i>CT	GG.....G
<i>Mesocoelium sp.</i>CT	TG.....G
<i>D. dendriticum</i>CAGG
<i>D. hospes</i>CAGG
<i>L. transcarpathicus</i>CAGG
<i>N. truncatum</i>CT	TG.....G
<i>A. monticellii</i>CT	TG.....G
<i>G. cygnoides</i>CAGG
<i>E. melis</i>CTGG
<i>E. cinctum</i>CT	TG.....G
<i>P. oxyurus</i>CTGG
<i>A. alata</i>CTGG
<i>O. furcatus</i>CTGG

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	310	320	330	340	350	360
<i>P. megacotyle</i>	GAGGGAAAGT	TGAAAAGTAC	TTTGAAGAGA	GAGTAAACAG	TGCGTGAAAC	CGATCAGAGG
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>
<i>P. hurkovaee</i>
<i>P. chilostomum</i>G.....
<i>P. longiforme</i>G.....
<i>O. mehelyi</i>C.....G.....
<i>P. semisquamosus</i>T.....G.....
<i>A. amphoraeformis</i>
<i>P. claviger</i>G.....
<i>P. medians</i>
<i>P. ovatus</i>
<i>M. subdolum</i>G.....
<i>M. neomi</i>G.....
<i>M. gracillimus</i>C.....
<i>M. longicollis</i>C.....
<i>L. nigrovenosus</i>C.....
<i>P. cloacicola</i>C.....
<i>M. spiniferus</i>C.....
<i>M. typicus</i>C.....
<i>O. ranae</i>C.....
<i>T. assula</i>C.....
<i>D. nicolli</i>C.....
<i>O. kansense</i>C.....
G. hepaticaC.....
<i>H. asper</i>C.....
<i>H. longiplexus</i>C.....
<i>H. variegatus</i>C.....
<i>H. abbreviatus</i>C.....
<i>H. complexus</i>C.....
<i>H. medioplexus</i>C.....A.
<i>H. varioplexus</i>C.....
<i>H. breviplexus</i>C.....
<i>G. quieta 1</i>C.....A.
<i>G. quieta 2</i>C.....A.
<i>G. quieta 3</i>C.....A.
<i>G. quieta 4</i>C.....A.
<i>G. facioi</i>C.....A.
<i>G. brownorumae</i>	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
<i>G. tuxtlasensis</i>C.....A.
<i>G. intestinalis</i>C.....A.
<i>G. hyloreus</i>C.....A.
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>C.....A.
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>C.....A.
<i>G. quieta 5</i>C.....A.
<i>G. californiensis 1</i>C.....A.
<i>G. californiensis 2</i>C.....A.
<i>G. poncedeleoni</i>T.....C.....
<i>G. tineri</i>T.....C.....
<i>P. vespertilionis</i>C.....
<i>P. muelleri</i>C.....
<i>P. koreanus</i>C.....
<i>P. elegans</i>C.....
<i>L. rastellus</i>C.....
<i>H. cylindracea</i>C.....
<i>N. locellus</i>C.....
<i>R. exasperatum</i>C.....
<i>N. sobolevi</i>C.....
<i>R. opisthovitellinum</i>C.....
<i>O. flexuosa</i>C.....
<i>B. salamandrae</i>C.....
<i>Mesocoelium sp.</i>C.....
<i>D. dendriticum</i>T.....C.....
<i>D. hospes</i>T.....C.....
<i>L. transcarpathicus</i>T.....C.....
<i>N. truncatum</i>C.....
<i>A. monticellii</i>C.....
<i>G. cygnoides</i>C.....
<i>E. melis</i>T.....
<i>E. cinctum</i>C.....
<i>P. oxyurus</i>C.....
<i>A. alata</i>C.....
<i>O. furcatus</i>C.....G.....T.....

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	*	370	380	390	*	400	410	420
<i>P. megacotyle</i>	T-AAACGGGT	GGAGTTGAAC	TGCAAGCTCT	GA-GAATTCA	GCCGGTGAGC	GTGGTTTGAG		
<i>P. heteroporus</i>	-							
<i>L. linstowi</i>	-G				T	T		
<i>P. hurkovaee</i>	-G				T	T		
<i>P. chilostomum</i>	-G				G-G	T	T	
<i>P. longiforme</i>	-G					T	T	
<i>O. mehelyi</i>	-					T	T	C.G.
<i>P. semisquamosus</i>	-				G	T	T	
<i>A. amphoraeformis</i>	-				G	A.T	T	
<i>P. claviger</i>	-					A.T.A	T	TC
<i>P. medians</i>	-					A.T.A	T	A.TC
<i>P. ovatus</i>	-				G	T	T	
<i>M. subdolum</i>	-G				G	T	T	
<i>M. neomi</i>	-		G.T	G		T	A	C
<i>M. gracillimus</i>	-			T		T.A	T	A
<i>M. longicollis</i>	-			T		T.A	T	A
<i>L. nigrovenosus</i>	-			T		T.A	T	A
<i>P. cloacicola</i>	-			T		T.A	T	A.C
<i>M. spiniferus</i>	-			T		T.A	T	
<i>M. typicus</i>	-			T		T.A	T	
<i>O. ranae</i>	-			T		T.A	T	
<i>T. assula</i>	-			T		T.A.A	T	
<i>D. nicolli</i>	-					T.A	T	
<i>O. kansense</i>	-					T.A	T	T
G. hepatica	-			T		T.A	G	T
<i>H. asper</i>	T				T	T.A	T	
<i>H. longiplexus</i>	-				T	T.A	T	
<i>H. variegatus</i>	-				G	A.T	T	
<i>H. abbreviatus</i>	-				G	A.T	T	A
<i>H. complexus</i>	-				G	A.T	T	T
<i>H. medioplexus</i>	-				G	A.T	T	
<i>H. varioplexus</i>	-				G	A.T	T	
<i>H. breviplexus</i>	-				G	A.T	T	
G. quieta 1	-	A		G		T.A	T	A.G
G. quieta 2	-	A		G		T.A	T	A.G
G. quieta 3	-	A		G		T.A	T	A.G
G. quieta 4	-	A		G		T.A	T	A.G
G. facioi	-	A		G		T.A	T	A.T
G. brownorumae	-	A		G		T.A	T	A.T
G. tuxtlasensis	-	A		G		T.A	T	A.T
G. intestinalis	-	A		T		T.A	T	A.G
G. hyloreus	-	A		G		T.A	T	A.G
G. pennsylvaniensis 2	-	A		G		T.A	T	A.G
G. pennsylvaniensis 1	-	A		G		T.A	T	A.G
G. quieta 5	-	A		G		T.A	T	A.G
G. californiensis1	-	A				T	T	T.A.G
G. californiensis 2	-	A				T	T	T.A.G
G. poncedeleoni	-					T	T	
G. tineri	-					T	T	
<i>P. vespertilionis</i>	-					T.A	T	
<i>P. muelleri</i>	-					T.A	T	
<i>P. koreanus</i>	-					T.A	T	
<i>P. elegans</i>	-A					T.A	T	C
<i>L. rastellus</i>	-					T.A	T	
<i>H. cylindracea</i>	-					T.A	T	A
<i>N. locellus</i>	-					T.A	T	
<i>R. exasperatum</i>	-					T.A	T	
<i>N. sobolevi</i>	-					T.A	T	
<i>R. opisthovitellinum</i>	-					T.A	T	
<i>O. flexuosa</i>	-					T.A	T	
<i>B. salamandrae</i>	-					T	T	A
<i>Mesocoelium sp.</i>	-			A		T.A	T	A
<i>D. dendriticum</i>	-G.A			T		T	G	T.G
<i>D. hospes</i>	-G.A			T		T	G	T.G
<i>L. transcarpathicus</i>	-G.A			CT		T	T.G	GT
<i>N. truncatum</i>	-			T		T	G	G
<i>A. monticellii</i>	-			A	A.T.G	T	A	T.C.G
<i>G. cygnoides</i>	-			T.C	T	T	A	T.T.G.G
<i>E. melis</i>	-				G	A.T	A	T.CG
<i>E. cinctum</i>	-				G	T	T	T.CA
<i>P. oxyurus</i>	-				G	A		A.CA
<i>A. alata</i>	-			T.C	G.G	T	T	TCA.G
<i>O. furcatus</i>	-			TG.T	TC	G.G	T	A.C.A.G.C

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	430	440	450	460	470	480
<i>P. megacotyle</i>	CTTGGTCAA-	-----	-----GT-	-----	CAG--TT--	-----GG
<i>P. heteroporus</i>	-----	-----	-----	-----	-----
<i>L. linstowi</i>	-----	-----	-----	-----	-----
<i>P. hurkovaee</i>	-----	-----	-----	-----	-----
<i>P. chilostomum</i>	-----	-----	-----	-----	-----
<i>P. longiforme</i>	-----	-----	-----	-----	-----
<i>O. mehelyi</i>C.GTG	ATCGATTGGA	GCCCGGA..C	TGTGTAGCAA	..GCC..--	-CCTT----
<i>P. semisquamosus</i>T..A	-TTGGTTGGG	CCCTAGA..C	TGCGTAGCAG	..GCC..T-	ACCTTTC..
<i>A. amphoraeformis</i>T..A	-TTGGTTGGG	CCCTGGA..C	TGCGTAGCAG	..GCC..C-	GCCTCTC..
<i>P. claviger</i>-GA	-T--GTTGGG	CCTTGAA..C	TGCGTAGCAG	..GCC..T-	GCTCCTC..
<i>P. medians</i>-GA	-T--GTTGGG	CCCTGGA..C	TGCATAGCAG	..GCC..T-	GCTCTTC..
<i>P. ovatus</i>T..A	-TCGGTTGGG	CCTAGA..C	TGCGTAGTAG	..GCC..T-	GCCTTTC..
<i>M. subdolum</i>T..A	-TTGGTTGGA	CCCTGGA..C	TGCGTAGCAG	..GCC..C-	ACCTCTC..
<i>M. neomi</i>T..A	-TTGGTTGGA	CCTCGGA..C	TGCGTAGCAG	..GCC..C-	GCCTCTC..
<i>M. gracillimus</i>	..G.....A	-TTGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGCGTATTTG	..GTC..C-	ACT-CTC..
<i>M. longicollis</i>	..G.....A	-TTGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGCGTATTTG	..GTC..C-	ACC-TTC..
<i>L. nigrovenosus</i>	..G.....A	-TTGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGCGTATTTG	..GTC..C-	ACT-TTC..
<i>P. cloacicola</i>	..G.....A	-TTGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGCGTATTTG	..GTC..C-	ACC-TTC..
<i>M. spiniferus</i>A	-TGGGT-GAG	CTCCGAG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>M. typicus</i>A	-TGGGT-GAG	CTCCGAG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>O. ranae</i>A	-TTGGT-GAG	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTCA.T-	GCC-TTC..
<i>T. assula</i>A	-TGGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTCA.T-	GCC-TTC..
<i>D. nicolli</i>TT	-TTGGT-GAG	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTCG.C-	ACC-TTC..
<i>O. kansense</i>A	-TTGGT-GAG	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTCG.C-	ACC-TTC..
G. hepaticaA	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTCCT-	GCC-TTC..
<i>H. asper</i>A	-TTGGT-GGA	CGTCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>H. longiplexus</i>TA	-TTGGT-GGA	CATTGGG..C	TGTGTACTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>H. variegatus</i>A	-TTGGT-GGA	CATCGGG..C	TGCGTAGCAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>H. abbreviatus</i>A	-TTGGT-GGA	CATCGGG..C	TGCGTAGAAG	..GTC..C-	GCC-TTC..
<i>H. complexus</i>A..A	-TTGGT-GGA	CATTGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..C-	GCC-TTC..
<i>H. medioplexus</i>TA	-TTGGT-GGA	CGTCGGG..C	TGCGTAGAAG	..GTC..C-	GCC-TTC..
<i>H. varioplexus</i>TA	-TTGGT-GGA	CGTCGGG..C	TGCGTAGAAG	..GTC..C-	GCC-TTC..
<i>H. breviplexus</i>TA	-TTGGT-GGA	CGTCGGG..C	TGCGTAGAAG	..GTC..C-	GCC-TTC..
G. quieta 1C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. quieta 2C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. quieta 3C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. quieta 4C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. facioiC..A	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. brownorumaeC..G	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. tuxtlasensisC..TA	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. intestinalisC..TG	-TTGTC-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. hylouresC..TG	-TTGGT-GGA	CTCTGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. pennsylvaniensis 2C..G	-TTGGT-GGA	CTCTGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. pennsylvaniensis 1C..G	-TTGGT-GGA	CTCTGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. quieta 5C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. californiensis 1C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. californiensis 2C..TG	-TTGGT-GGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
G. poncedeleoniA	-TTGGT-GAA	TCCGAG..C	TGTGTACTAG	..GTCC.TC	ACC-TTC..
G. tineriA	-TTGGT-GAA	TCCGAG..C	TGTGTACTAG	..GTCC.TC	ACC-TTC..
<i>P. vespertilionis</i>G	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>P. muelleri</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGCAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>P. koreanus</i>G	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>P. elegans</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-TTC..
<i>L. rastellus</i>A	-TTGGTTGAA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..CC-	GCC-TTC..
<i>H. cylindracea</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCAGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..C-	GCC-TTCC..
<i>N. locellus</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-CTC..
<i>R. exasperatum</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-CTC..
<i>N. sobolevi</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-CTC..
<i>R. opisthovitellinum</i>A	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC.CT-	GCC-CTC..
<i>O. flexuosa</i>G	-TTGGTTGGA	CTCCGGG..C	TGCGTAGTAG	..GTC..T-	GCC-CTC..
<i>B. salamandrae</i>A	-TGGGT-GAA	CTCCGAG..C	TGCCTAATTG	..GTC.CT-	GCC-TTC..
<i>Mesocoelium sp.</i>A	-TTGGT-GAA	CTCCGGG..C	TGTGTACTAG	..GTC.CT-	ACC-CTC..
<i>D. dendriticum</i>A	-TTGGTTGGG	CCCCGAA..A	CGTTAAACCA	.GTGTCC.TT	CCC-TTT..
<i>D. hospes</i>A	-TTGGTTGGG	CCCCGAA..A	CGTTCAACCA	.GTGTCC.TT	CCC-TTT..
<i>L. transcarpathicus</i>G	-TTGGTTGGA	CTCCGAA..A	CGTTCAACCA	.GTGTCC.TT	CCC-TTT..
<i>N. truncatum</i>G	-CTGGTTGAA	CATTGAG..C	TGTGTACTAG	..GTCCCT-	GCC-CTC..
<i>A. monticellii</i>A..A	-TTGGTTGAT	ACTTGGG..C	TGCGTAGCAG	..GTC..C-	GCCACTCT.T
<i>G. cygnoides</i>G	-TGGGGTAGA	CACTGAG..A	TGCTTAGCTG	..GTCCCC-G	GCC-TACA..
<i>E. melis</i>CG	-TGAGTGGTA	TTGCCGT..C	TGCTTAGCTG	..GTCC.C-	GCT-T-C..
<i>E. cinctum</i>TG	-TGGGTTGTG	TGTTCCG..C	TGCTTAGCTG	..GTCC.C-	GCC-TTT..
<i>P. oxyurus</i>	..G...-TA	-TTGGTTGAC	AGTTGGG..C	TGCTTAGCTG	..GTC..C-	GCC-TATC..
<i>A. alata</i>TT	TTCGGCCGGC	CTCTAGA..C	CGCTTAGCTG	..GTCCCT-	GCTTCTC..
<i>O. furcatus</i>	..A...GT..A	-TTGGTTGGA	CACTGGG..C	TGCGTAGCTG	..GTCC.C-	GCC-TCT..-

	490	500	510	520	530	540
<i>P. megacotyle</i>	ACGCTGTGGT	CCGAGAAGCA	CTTAGCAAGT	GTTGTGGGCC	ATGGTTGTT-	CTTCGGGCTG
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>	.T.....	T.C.....C.....G.....
<i>P. hurkovaee</i>	.TTC.....	TC.AG.....
<i>P. chilostomum</i>	.T....T	...C.G...A	GCA.G.....
<i>P. longiforme</i>	.TT....T	...T.T...C.....AT	GCAAGGC..-
<i>O. mehelyi</i>	--TG.G...	G..C.TA..	..GT.....C.T	TC..G..C-	G.....G.
<i>P. semisquamosus</i>	G-.TA.A...	G..C.TA..	...C.....C.T	C...G.....	.A...A.C.
<i>A. amphoraeformis</i>	G-.TG.A...	G..C.T...	...T.....C.T	TCA.G.....C.
<i>P. claviger</i>	-A.TGAA...	G..C.GT...	...T.....C.C.T	T...G.....	.A...AAA.C.
<i>P. medians</i>	-A.TG.A...	G..C.GT...	...T.....C.C.T	C...G.....	...AAA...
<i>P. ovatus</i>	G-.TGAG...	G..C.GT...	...T.....C.T	C.A.A.....	.A...A.C.
<i>M. subdolum</i>	G-.TG.G...	G..C.T...	..GT..C..	.C...C.T	C...G...T	.A...A.CA
<i>M. neomi</i>	G-.TG.A...	G..C.TA..	..TT.....	C...G...T	.A...A.CA
<i>M. gracillimus</i>	G--TG.G.A.	G..C.GT...	...T.....C.T	C.....C-	A...C.-CT
<i>M. longicollis</i>	G--TGTG.A.	G..C.GT...	...T.....C.T	C.....C-	A...C.-CT
<i>L. nigrovenosus</i>	G--TG.G.A.	G..C.GT...	...T.....C.T	C.....C-	A...C.-CT
<i>P. cloacicola</i>	G--TG.G.A.	G..C.GT...	...T.....C.T	C.....C-	A...C.-CT
<i>M. spiniferus</i>	G--TGAG.A.	G..C.TA..	..GT.....C.T	TC.....	...A-.CC
<i>M. typicus</i>	G--TGAG.A.	G..C.TA..	..GT.....C.T	TC.....	...A-.CC
<i>O. ranae</i>	G--TG...A.	G..C.T...	...T.....C..	CC.....	...-CT
<i>T. assula</i>	G--TA...A.	G..C.T...	...T.....C.T	CC.....	...-CT
<i>D. nicolli</i>	G--TGA..A.	G..C.T...	...T.....C..	CC..G.....	...-CA
<i>O. kansense</i>	G--TG...A.	G..C.T...	...T.....C.T	CC..G.....	...-CA
G. hepatica	G--TG...A.	G..C.T...	...C.....C.T	CC..G.....	...-C.
<i>H. asper</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	...T.....C..	CC.....	ACC...-CA
<i>H. longiplexus</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	...T.....C..	CCA.....	TCC...-CA
<i>H. variegatus</i>	G--TA.A.A.	G..C.T...	...T.....C..	TC.....	TCC...-CA
<i>H. abbreviatus</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	...T.....C..	TC.....	TCC...-CA
<i>H. complexus</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	...T.....C..	TCA..GA.CA	TAC..A-.CA
<i>H. medioplexus</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	...T.....C..	TC.....	-CC...-CA
<i>H. varioplexus</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	...T.....C..	TC.....	-CC...-CA
<i>H. breviplexus</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	...T.....C..	TC.....	-CC...-CA
G. quieta 1	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....A-	...-CT
G. quieta 2	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....A-	...-CT
G. quieta 3	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....A-	...-CT
G. quieta 4	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....A-	...-CT
G. facioi	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....	T...-CT
G. brownorumae	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...C.C.T	TC..G.....	T...-CT
G. tuxtlasensis	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....	T...-CA
G. intestinalis	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....	.C...-CT
G. hyloureus	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....	...-CT
G. pennsylvaniensis 2	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....	...-CA
G. pennsylvaniensis 1	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	TC.....	...-CA
G. quieta 5	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...CAC.T	CC.....A-	...-CT
G. californiensis 1	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...C.C.T	CC.....A-	...-CT
G. californiensis 2	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....	...C.C.T	CC.....A-	...-CT
G. poncedeleoni	G--TG.G.A.	G..C.GT...	..GT.....	...C.C.T	TC...T..-	---...-CA
G. tineri	G--TG.G.A.	G..C.GT...	..GT.....	...C.C.T	TC...T..-	---...-CA
<i>P. vespertilionis</i>	G--TA.A.A.	G..C.TT...	..GT.....	.C...C..	C..T.....	...-CT
<i>P. muelleri</i>	G--TA.A.A.	G..C.TT...	..GT.....	.C...C..	CC.T.....	...-CT
<i>P. koreanus</i>	G--TA.A.A.	G..C.TT...	..GT.....	.C...C..	C..T.....	...-CT
<i>P. elegans</i>	G--TA.A.A.	G..C.TT...	..T.....	.C...C..	C..T.....	...-CT
<i>L. rastellus</i>	G--TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....C..	C..T.....	.C...-CT
<i>H. cylindracea</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	...T.....C..	T..T.....	.C...-CT
<i>N. locellus</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	..GT.....C.T	CC.TA.....	.C...-CT
<i>R. exasperatum</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	..GT.....C.T	CC.TA.....	.C...-CT
<i>N. sobolevi</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	..GT.....C.T	CC.TA.....	.C...-CT
<i>R. opisthovitellinum</i>	G--TG.A.A.	G..C.T...	..GT.....C.T	CC.TA.....	.C...-CT
<i>O. flexuosa</i>	G--TA.A.A.	G..C.T...	...T.....C.T	CC.TA.....	.C...-CT
<i>B. salamandrae</i>	G--TG.G.A.	G..C.T...	..GC.....C..	TC.....	...-CT
<i>Mesocoelium sp.</i>	G--TG.A.A.	G..C.TA..	..GGT.....C..	TC.....	T...-CT
<i>D. dendriticum</i>	G--T..G.A.	GT.C.TA..	...C.....	...CAC.T	T..G.....	.A...A.CT
<i>D. hospes</i>	G--T..G.A.	GT.C.TA..	...C.....	...CAC.T	T..G.....	.A...A.CT
<i>L. transcarpathicus</i>	G--T..A.A.	GT.C.TA..	...T.....	...C.C.T	T..G.....	.A...A..T
<i>N. truncatum</i>	G-.TG.G.A.	G..C.TA..	...T.....C..	TC-T.....	T.....C.
<i>A. monticellii</i>	G-.TGCG.A.	G..C.GA..	...T.....C..	C..AGCTA..	---.AA.C.
<i>G. cygnoides</i>	---T..G.A.	G..C.TA.G	.C.T..T.C	...C.C..	TCT.....	TA..T.C.CT
<i>E. melis</i>	---TG.G.A.	G..C.TCTAG	...T...C	T...C.C.A	CG..AAC..-	---.AA..C
<i>E. cinctum</i>	---TG.G.A.	G..C.T.T.G	...T...CC..	CG--..C..-	-A...A.CT
<i>P. oxyurus</i>	---TG.G.A.	G..C.T.T..	..GT.....C..	CG-.A.TG..	-A...A.CA
<i>A. alata</i>	GA.TG.G.A.	GT.C.TT..G	..GT.....	.C...C.T	C...AG...-	-GC...A.CT
<i>O. furcatus</i>	--.TGAG.A.	GT.C.T...	..CGTT...	.C...C..	TCA.A..A..-	--.C..A..CT

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	*					
	550	560	570	580	590	600
<i>P. megacotyle</i>	GCTTGCC-GG	TGCACTTTCT	CAGAGTGATC	ACCACGACCG	GCATTGCTGT	CTGACTGGTG
<i>P. heteroporus</i>-
<i>L. linstowi</i>	A..C...-..G..C.....G.....
<i>P. hurkovaee</i>	A..C...-..G.....G.....C.....G.....
<i>P. chilostomum</i>	A..C...-A.G.....C.T..CG.C.A..
<i>P. longiforme</i>	A..C...-A.G.....C.T..CG..A..
<i>O. mehelyi</i>	A.....-A.AG..C.....G.C.T..
<i>P. semisquamosus</i>	...C..T-A.AG..C.....G..T..
<i>A. amphoraeformis</i>	...C...-A.AG..	.T.....C.....G..A..
<i>P. claviger</i>	-...T.-A.AG..CC.....G..T.A
<i>P. medians</i>	-...T.-A.AG..C.....G..T.A
<i>P. ovatus</i>	A..C...-A.AG..CC.....T.A
<i>M. subdolum</i>-A.G.....G.....G.....
<i>M. neomi</i>	.T.C...-A.G.....G.....G.....
<i>M. gracillimus</i>	...C.T.-A.A..AG..G.GAACA
<i>M. longicollis</i>	...C.T.CA.A..AG..G.GAACA
<i>L. nigrovenosus</i>	...C.T.-A.T.	..A..AG..G.GAACA
<i>P. cloacicola</i>	...C.T.-A.A..AG..G.GAACA
<i>M. spiniferus</i>	...C.T.-A.	TT...G..	A..CC.....G..TC.T
<i>M. typicus</i>	...C.T.-A.	TT...G..	A..CC.....G..TC.T
<i>O. ranae</i>	A...T.-A.G.....GC.....G..AC.T
<i>T. assula</i>	A...T.-A.T.G.....GC.....C.T
<i>D. nicolli</i>	A...T.-A.G.....GC..C..G..AC.T
<i>O. kansense</i>	A...T.-A.G.....GC..C..G..C.T
G. hepatica	A...T.-A.G.....GC.....G..C.T
<i>H. asper</i>	A..C.T.-A.G.....	G.-.....G.C.C.T
<i>H. longiplexus</i>	A..C.T.-A.G.....	GC-T.....G.C.C.T
<i>H. variegatus</i>	A..C..T-A.GCC.....G.CTC.A
<i>H. abbreviatus</i>	A..C..T-A.GCC.....G.CTC.A
<i>H. complexus</i>	...C..T-A.T.....GCC.....G.CTC.A
<i>H. medioplexus</i>	A..C..T-A.G.....CC.....	T..G.CAC..
<i>H. varioplexus</i>	A..C..T-A.G.....GCC.....	T..G.CAC..
<i>H. breviplexus</i>	A..C..T-A.G.....	A.GCC.....G.C.C..
G. quieta 1	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. quieta 2	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. quieta 3	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. quieta 4	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. facioi	T..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. brownorumae	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. tuxtlasensis	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. intestinalis	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. hylourea	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.T
G. pennsylvaniensis 2	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.T
G. pennsylvaniensis 1	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.T
G. quieta 5	A..C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..C.C.A
G. californiensis 1	...C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..AC.A
G. californiensis 2	...C.T.-A.T..T..A	..CC.....G..AC.A
G. poncedeleoni	...C.T.-A.AT..CC.....G..C.T
G. tineri	...C.T.-A.AT..CC.....G..C.T
<i>P. vesperilionis</i>	...T.-A.AG..C..C..	A.G..C.C.T
<i>P. muelleri</i>	...T.-A.AG..C..C..	TG.G..C.T
<i>P. koreanus</i>	...T.-A.AG..C..C..	TA.G..C.T
<i>P. elegans</i>	...T.-A.AG..C..C..	A.G..C.T
<i>L. rastellus</i>	...C.T.-A.G..AG..C..C.C	A.G..C.C.T
<i>H. cylindracea</i>	...C.T.-A.G..AG..CA..C..	A.G..C.C.T
<i>N. locellus</i>	...C.T.-A.G..AG..C.....	A.G..C.C
<i>R. exasperatum</i>	...C.T.-A.G..AG..C.....	A.G..C.C
<i>N. sobolevi</i>	...C.T.-A.G..AG..C.....	A.G..AC.C
<i>R. opisthovitellinum</i>	...C.T.-A.G..AG..C.....	A.G..AC.C
<i>O. flexuosa</i>	...C.T.-A.G..AG..-A...	A.G..AT.C
<i>B. salamandrae</i>	A..C.T.-A.G.....CC-TA.CG..C.A
<i>Mesocoelium sp.</i>	A..C.T.-A.G.....CC.....GT..C.A
<i>D. dendriticum</i>	C...T.-A.G.....	A.GCC.....	A.G..TCA
<i>D. hospes</i>	C...T.-A.G.....	A.GCC.....	A.G..TCA
<i>L. transcarpathicus</i>	C...-A.G..G..GC.....	A.....T..
<i>N. truncatum</i>	A..C...-A.T.....C.....G..T..
<i>A. monticellii</i>	T..C...-A.C.	T.....T..	A.G..AT..
<i>G. cygnoides</i>	-..C...-..T..G	G.....A..T..	..G.....	C.G..C.T
<i>E. melis</i>-A.T.....G..TC..G.....
<i>E. cinctum</i>	...C...-A.T.....G..TC..G.....
<i>P. oxyurus</i>	...C...-A.G.....G..T.....G..T..
<i>A. alata</i>	...C...-A.G..G..G..T.....T..C..
<i>O. furcatus</i>	..G.....-A.CCT.	GTGAC.G.C..C..	TG.C..T..

	610	620	630	* 640	650	660
<i>P. megacotyle</i>	AGGTTAAACC	GGTTTTGCAT	GG-C-CCAGT	GCCTC-TGCT	TGATCGGGAT	GGCAGGTAGC
<i>P. heteroporus</i>-.-.....-C.....
<i>L. linstowi</i>	G.....A	.T.-.TT.	.G.-.-.....
<i>P. hurkovaee</i>	G.....T.-.-.....	.G.C.-.-T.
<i>P. chilstomum</i>	G.....T.	.T.-.TT.	.G.-G-.....
<i>P. longiforme</i>	G.....T.-.TT.	.G.-.-T.
<i>O. mehelyi</i>	C.....T.	.A.C.....	T.T.-.C.	.G.-.-.....	.G.-.A.
<i>P. semisquamosus</i>	T.....	.T.C.C.....	T.T.-.TC.	.G.-.-.....
<i>A. amphoraeformis</i>	T.....	.T.C.C.....	T.T.-.TT.	.G.-.-.....
<i>P. claviger</i>	T.....	.T.C.C.....	T.T.-.TT.	.G.-.-.....G.
<i>P. medians</i>	T.....	.T.C.C.....	T.T.-.TT.	.G.-.-.....G.
<i>P. ovatus</i>	T.....	.T.C.....	C.T.-.T.	.G.-T-.....	C.T.....A
<i>M. subdolum</i>	C.....	T.T.-.TT.	.G.-T-..T.	.A.....
<i>M. neomi</i>	C.....GA..	T.T.-.TT.	.G.-T-...C
<i>M. gracillimus</i>	C.....	TT.....	T.T.-TTC.	.A.-T-..TA	A.....A
<i>M. longicollis</i>	C.....	TT.....	T.T.-TTC.	.A.-T-..TA	A.....A
<i>L. nigrovenosus</i>	C.....	TT.....	T.T.-TTC.	.A.-T-..TA	A.....A
<i>P. cloacicola</i>	C.....	TT.....	T.T.-TTC.	.A.-T-..TA	A.....A
<i>M. spiniferus</i>	C.....G..T.	A.T.-AT-AA	.G.-T-....	.T.....G
<i>M. typicus</i>	C.....G..T.	A.T.-AT-AA	.G.-T-....	.T.....G
<i>O. ranae</i>	T.....C.....	A.T.-.TT.	.G.-T-..T.	.G.....
<i>T. assula</i>	TA.....C.....	A.T.-.TT.	.G.-T-....	.G.....T.
<i>D. nicolli</i>	T.....C..C...	A.T.-.TT.	.G.-T-....	.AG.....
<i>O. kansense</i>	T.....C..C...	A.T.-.TT.	.G.-T-....	.AG.....
G. hepatica	T.....C.....	A.T.-.TT.	.G.-T-....	.G.....
<i>H. asper</i>	G.....G...G	.T.-.TT.	.G.C.G....	A.G.....C
<i>H. longiplexus</i>	T.....C.....	C.T.-.TT.	.G.-T-....	.G.....
<i>H. variegatus</i>	T.....C.....	A.T.-.-T.	.G.-T-....	.AG.....
<i>H. abbreviatus</i>	TA.....C.....	A.T.-.-T.	.G.-T-....	.AG.....
<i>H. complexus</i>	TA.....	A.T.-.TT.	.G.-T-....	.AG.....C
<i>H. medioplexus</i>	T.....	.AG.....	A.T.-.G...	.G.-T-..TA	A.G.....
<i>H. varioplexus</i>	T.....	.AG.....	A.T.-.G...	.G.-T-..TA	A.G.....
<i>H. breviplexus</i>	T.....	.AG.....	A.T.-.G...	.G.-T-....	.G.....
G. quieta 1	T.....A.....	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. quieta 2	T.....A.....	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. quieta 3	T.....A.....	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. quieta 4	T.....A.....	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. facioi	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. brownorumae	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. tuxtlasensis	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.T.A-...A	.AGA.....GA.
G. intestinalis	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. hylorus	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. pennsylvaniensis 2	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. pennsylvaniensis 1	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...A	.AGA.....GA.
G. quieta 5	T.....A.....C	AAT.-.TT.	.GT.A-...TA	.AGA.....GA.
G. californiensis 1	T.....	.AC.A.....C	A.T.-.TT.	.GT.A-...A	.AGC.....G.
G. californiensis 2	T.....	.AC.A.....C	A.T.-.TT.	.GT.A-...A	.AGC.....G.
G. poncedeleoni	T.....C.....T.	T.T.-.TT.	.G.-T-....
G. tineri	T.....C.....T.	T.T.-.TT.	.G.-T-....
<i>P. vespertilionis</i>	T.....	.T.C.C.....	C.C.-TTC.	.G.-T-....
<i>P. muelleri</i>	T.....	.T.C.C.....	C.C.-TTC.	.G.-T-....
<i>P. koreanus</i>	T.....	.T.C.C.T.	T.C.-TTC.	.G.-T-....
<i>P. elegans</i>	T.....	.T.C.C.T.	C.C.-TTC.	.G.-T-..A.
<i>L. rastellus</i>	T.....C...TC	A.T.-TTCA.	.G.-T-....	C.....
<i>H. cylindracea</i>	T.....	.T.C...T.	A.T.-TC.	.G.-T-..T.	C.....
<i>N. locellus</i>	T.....	.T.C.....	A.T.CTTT.	.G.-T-....
<i>R. exasperatum</i>	T.....	.T.C.....	A.T.CTTT.	.G.-T-....
<i>N. sobolevi</i>	T.....	.T.C.....	A.T.CTTT.	.G.-T-....
<i>R. opisthovitellinum</i>	T.....	.T.C.....	A.T.CTTT.	.G.-T-....
<i>O. flexuosa</i>	T.....	TT.C.....	A.T.C.TT.	.G.-T-....A...G
<i>B. salamandrae</i>	T.....	A.T.-TC.	.G.-T-....C
<i>Mesocoelium sp.</i>	T.....	T.CA-TC.	.G.-T-....
<i>D. dendriticum</i>	TA.....C...TG	T.T.-TT.	.G.AT-...C	.G.....
<i>D. hospes</i>	TA.....C...TG	T.T.-TT.	.G.AT-...C	.G.....
<i>L. transcarpathicus</i>	TA.....CC...A	T.T.-AC.C	.G.AT-..T.C	.G.....
<i>N. truncatum</i>	C.....GC..A.A	.T.-.TT.	.G.-T-..TA	.T.....A
<i>A. monticellii</i>C.....	T.T.-.TT.	.G.-T-....	.G.....
<i>G. cygnoides</i>	CA.....C..A.GC	.T-..TT.C	.G.GT-..T.	.G.....C
<i>E. melis</i>	C.....C...TG	.T.-.TT.	.G.CT-....	.G.....
<i>E. cinctum</i>	C.....CC...TG	.T.-.TT.	.G.CT-...C	.G.....
<i>P. oxyurus</i>	TA.....CC...TG	A.T.-.TT.	.G.-T-....	C.G.....
<i>A. alata</i>	TA..C.....CAG.TT.	.T.-.TT.	.G.-G-A...C
<i>O. furcatus</i>	TT.AC...T.GCG.TT.G	A.TT-..TT.C	.A.-T-..T.	..CGTC...

	*	670	680	690	700	710	720
<i>P. megacotyle</i>		TCGTT-GGCC	TGCTCGCGGT	T-CGCTGTGA	GCGT--GGTT	TTCGAGTGTA	-ATCAGCTGA
<i>P. heteroporus</i>	g	g-----	-----t..
<i>L. linstowi</i>	TTT...A-	-----	-----CC
<i>P. hurkovaae</i>	T	C-.T.C...-..C
<i>P. chilostomum</i>	TC...-..
<i>P. longiforme</i>	TC....	.T.C-....
<i>O. mehelyi</i>	T...C	-T...C.CAGTC....	G...G....
<i>P. semisquamosus</i>	A.TT.T...C.C.G	.A.TG...C	A.T.....
<i>A. amphoraeformis</i>	A.TT.T.C	-T...CAG	.A.TG...C	.T.....
<i>P. claviger</i>	A.TT.T.A	-TT...CAGTC...C	A.T.....
<i>P. medians</i>	A.TT.T.A	-TC...CAG	.AATAA..C	A.T.....
<i>P. ovatus</i>	A.TT.T.C	-T...CAG	.A.T--..CC....
<i>M. subdolum</i>	TT.T.C	-T...CAG	.A.TT...C
<i>M. neomi</i>	TT.T.C	-T...CAG	.T.TC..C
<i>M. gracillimus</i>	A.TT.T.C	-T...CAGTT....
<i>M. longicollis</i>	A.TT.T.C	-T...CAGTT....
<i>L. nigrovenosus</i>	A.TT.T.C	-T...CAGTT....
<i>P. cloacicola</i>	A.TT.T.C	-T...CAGTT....
<i>M. spiniferus</i>	A.TT.T...CAGTT....TT.....
<i>M. typicus</i>	A.TT.T...CAGTT....TT.....
<i>O. ranae</i>	A.TT.T.C	-T...CAGTAA...
<i>T. assula</i>	ATTT.T.C	-T...CA.	...CTAAA..
<i>D. nicolli</i>	A.TT.T.C	-T...CA.TC....
<i>O. kansense</i>	A.TT.TA.C	-T...CA.TC....
G. hepatica	A.TT.TA.C	-T...ACAGTC....
<i>H. asper</i>		...GA-A.TTT.T.C	-T...CTTG-.C..
<i>H. longiplexus</i>	TT.T.C	-T...CAGG-.C..
<i>H. variegatus</i>	A.TT.T...	-.T...CA.G-.T..
<i>H. abbreviatus</i>	A.TT...CAGG-.T..
<i>H. complexus</i>	A.TT.T...CA.	.T.G-.T..
<i>H. medioplexus</i>		...C-.A.T	CT..T.T...	.T...CA.A.	.T.T-.TC.	-.A...C..	...C.....
<i>H. varioplexus</i>		...C-.A.T	CT..T.T...	.T...CA.A.	.T.T-.TC.	-.A...C..	...C.....
<i>H. breviplexus</i>	A.TT.T...C.C..G-.T..A...	...C.....
G. quieta 1	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. quieta 2	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. quieta 3	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. quieta 4	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. facioi	A.A	G...T.T.C	TT..C.CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. brownorumae	A.A	G...T.T.C	TT..C.CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. tuxtlasensis	A.A	G.T.T.T.C	-T...C.CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. intestinalis	A.A	G.T.T.T.C	-T...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. hyloxeus	A.A	G.T.T.T.C	ATT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. pennsylvaniensis 2	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. pennsylvaniensis 1	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. quieta 5	A.A	G.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. californiensis 1	A.TA	A.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. californiensis 2	A.A	A.T.T.T.C	TT...CAT	T.A.T-.C.A	-T..AA..T	...T.....
G. poncedeleoni	A.TT.T.C	-T...CAGTC....
G. tineri	A.TT.T.C	-T...CAGTC....
<i>P. vespertilionis</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...CC...C
<i>P. muelleri</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...CC...C
<i>P. koreanus</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...CC...C
<i>P. elegans</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...CC...C
<i>L. rastellus</i>	A.TT...T...	-.A...C..	A...TC...C
<i>H. cylindracea</i>	A.TT...T...	-.T...C.G	A...CC...C
<i>N. locellus</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...TC...C
<i>R. exasperatum</i>	TT.T.T.C	-T...CA.	A...TC...C
<i>N. sobolevi</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...TC...C
<i>R. opisthovitellinum</i>	A.TT.T.T.C	-T...CA.	A...TC...C
<i>O. flexuosa</i>	A.TT.T.T.CCA.	A--CA...C
<i>B. salamandrae</i>	A.TT.T.C	-T...CA.TT....
<i>Mesocoelium sp.</i>	A.TG.TA.C	-T...ACTGC-....
<i>D. dendriticum</i>		.T.....T	C...T...C	-----C--	-----
<i>D. hospes</i>		.T.....T	C...T...C	-----C--	-----
<i>L. transcarpathicus</i>	TT	...CT...C	----.AC--	-----C	C.....
<i>N. truncatum</i>	T	A...T.A...	-TA...CAG	.ACAT...CT....	...C.....
<i>A. monticellii</i>	T.CTT	...C.ATA.A..G	...CTT..C.	.C..G....
<i>G. cygnoides</i>		CT...A.T	...T...T.C	-----C--	-----	...G..A..
<i>E. melis</i>		C...--TG	.AT.T-.TA-	---TA...--	-----C	...G....	...-...C..
<i>E. cinctum</i>		C...--TG	.A.T-...-	---TG...--	-----C	...G....	...-...C..
<i>P. oxyurus</i>		C...--ATG	.A.T-...-	---TG...--	-----	...G....
<i>A. alata</i>		...A...TT	G...T-...-	CC-----	-----A..C	.T.G....
<i>O. furcatus</i>	TT..A-	-----	-----C.	...G...A.	...-A...T

	730	740	750	760	770	780
<i>P. megacotyle</i>	CCACATCGGT	T-CTGTGCAG	TATGTCCGGAG	A-CGGCCGGC-	--TAGTGTGC	GTGCGTGCAT
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>C..
<i>P. hurkovaee</i>C..
<i>P. chilostomum</i>	G-.....A-.....C..
<i>P. longiforme</i>GAA-.....C..
<i>O. mehelyi</i>	..G.C.....	.G.....C	TG.T.....G.
<i>P. semisquamosus</i>G.....	--TT...TG.
<i>A. amphoraeformis</i>T...G.....	--TT...TG.
<i>P. claviger</i>	..T...A..G.....	--TT...T	A.....G.
<i>P. medians</i>	..T...A..G.....	--TT...T	A.....G.
<i>P. ovatus</i>	..TT...A..G.....	--TT...TG.
<i>M. subdolum</i>	.TG.....A...	.G...T...	--TT...TTG.
<i>M. neomi</i>	.TG.....G.T.G.	--TG...TG.
<i>M. gracillimus</i>	..GT.ATACC	A-T.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>M. longicollis</i>	..GT.ATACC	A-T.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>L. nigrovenosus</i>	..GT.ATACC	A-T.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>P. cloacicola</i>	..GT.ATACC	A-T.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>M. spiniferus</i>	..GG.GTA..	A-.....	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>M. typicus</i>	..GG.GTA..	A-.....	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>O. ranae</i>	..TTTGT...GC.....A...T	--GTG...T	...A...G.
<i>T. assula</i>	..TTA.GT...GC.....A...T	--GTG...T	...A...G.
<i>D. nicolli</i>	..G.GT...	..G...G.	.G...A..T	--GTG...T	...A...G.
<i>O. kansense</i>	..G.GT...	..G...G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
G. hepatica	..GGGT...GC.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>H. asper</i>	..TT.GT...G.	.G.....T	--GAG...T	...A...G.
<i>H. longiplexus</i>	..TT.GT...G.....T	--GAG...T	...A...G.
<i>H. variegatus</i>	.TGT.GT...G.....T	--GAG...T	...A...G.
<i>H. abbreviatus</i>	.TGT.GT...G.....T	--GAG...T	...A...G.
<i>H. complexus</i>	.TGTGGT...G.....T	--GAG...T	...A...G.
<i>H. medioplexus</i>	..GTGGT...G...G.T	--CGAG...T	...A...G.
<i>H. varioplexus</i>	..GT.GT...	T.....	.G...G.T	--CGAG...T	...A...G.
<i>H. breviplexus</i>	..GT.GT...G...G.T	--CGAG...T	...A...G.
<i>G. quieta 1</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. quieta 2</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. quieta 3</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. quieta 4</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. facioi</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. brownorumae</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. tuxtlasensis</i>	..T.GT...G...T...	G-.....T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. intestinalis</i>	..GT.GT...G...T...T	--GAGT...T	...AG.TG.
<i>G. hylorae</i>	..TGGT...G...T...T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>	..T.GT...G...T...T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>	..T.GT...G...T...T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. quieta 5</i>	..T.GT...G...T...T	--TAGT...T	...AG.TG.
<i>G. californiensis 1</i>	..T.GT...G...T...T	--GAGT...T	...AG.TG.
<i>G. californiensis 2</i>	..T.GT...G...T...T	--GAGT...T	...AG.TG.
<i>G. poncedeleoni</i>	..TT.GT...G.....T	--GTA...T	...AC..G.
<i>G. tineri</i>	..TT.GT...G.....T	--GTA...T	...AC..G.
<i>P. vespertilionis</i>	..TT.GT...G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>P. muelleri</i>	..TT.GT...G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>P. koreanus</i>	..TT.GT...G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>P. elegans</i>	..CT.GTA..G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>L. rastellus</i>	..T.GTA.ATG.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>H. cylindracea</i>	..TT.G.A..G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>N. locellus</i>	..TT.GTA..	A-.....	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>R. exasperatum</i>	..TT.GTA..	A-.....	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>N. sobolevi</i>	..TT.GTA..	A-.....G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>R. opisthovitellinum</i>	..TT.GTA..	A-.....G.	.G.....T	--GTG...T	...A...G.
<i>O. flexuosa</i>	..TT.GTA..	A-.....	.G...G.T	--GTG...T	...A...G.
<i>B. salamandrae</i>	..TT.GT...G.....T	--GAG...TG.
<i>Mesocoelium sp.</i>	..TT.GT.ACG.....T	--GAG...TG.
<i>D. dendriticum</i>	.TGTGA...GC.....C	--AGTG...T	...A...G.
<i>D. hospes</i>	.TGTGA...GC.....C	--AGTG...T	...A...G.
<i>L. transcarpathicus</i>	.TG..AT.A.GC.....C	--AGTG...T	...A...G.
<i>N. truncatum</i>	..GT.ATAT.G.....A...T	--GTGA.A.G.
<i>A. monticellii</i>AT...G.T	--GTG...T	TA..A...G.
<i>G. cygnoides</i>	.TGAGG...G	A-.....	.GC.....	C-T...C	--AGT...T	A...TC.TG.
<i>E. melis</i>	.TG.....G.	.C.....T	--GT...T	...A...G.
<i>E. cinctum</i>	.TG.....GA	.C.....T	--GT...T	...G...G.
<i>P. oxyurus</i>	.TG...A..A.G.	.C.....	.A...T	--GT...T	...C..TC
<i>A. alata</i>	.TG..GTA..A	.C.....T	--CGAG...AT	T...T.ATG.
<i>O. furcatus</i>	..TT..AT.TG	G-..A..G.	.G..C.....T	--GAG...TG.

		*	*	*	*	*	*
	790	800	810	820	830	840	
<i>P. megacotyle</i>	AGCTGTTCCGG	C-----GCGT	CCGGGTTTC-G	GTTGTTATGT	T-GCCTGTTT	GTGCA-GGCC	
<i>P. heteroporus</i>G.....	-----T.....C.....C.....G.....C.....	
<i>L. linstowi</i>G.....	-----T.....CT.....C.....G.....C.....	
<i>P. hurkovaae</i>G.T.....	-----T.....CT.....C.....G.....C.....	
<i>P. chilostomum</i>G.T.....	-----T.....CT.....C.....G.....C.....	
<i>P. longiforme</i>GCT.....	-----T.....T.....C.....CG.....C.....	
<i>O. mehelyi</i>	GC.....	C-GGC.....C.T.....C.....G.....	TC.....	
<i>P. semisquamosus</i>	GC.....CT.....	T-GAC.T.....T.....C.C.....T.....C.....	
<i>A. amphoraeformis</i>	GC.....CT.....	T-AAC.G.....T.....C.....C	ACT.....	
<i>P. claviger</i>	GC.A.....CT.....	C-GGC.T.....	T.....T.....AC.....C.....C.....	
<i>P. medians</i>	GC.A.....CT.....	T-GAC.T.....T.....A.....C.....C.....	
<i>P. ovatus</i>	GC.....CT.....	TTGACCTA.....T.....C.....C	A.....	
<i>M. subdolum</i>CT.....	TC-GATA.....	T.....TT.....A.....GA	A.....	
<i>M. neomi</i>C.....	TT-GAC.A.....	T.....T.....A.....GA	A.....	
<i>M. gracillimus</i>TTC.....	T-GACTTA.....	T.....T.....A.TA.....AA	AA.....	
<i>M. longicollis</i>TTC.....	T-GACTTA.....	T.....T.....A.TA.....AA	AA.....	
<i>L. nigrovenosus</i>TTCA.....	T-GACTTA.....	T.....T.....A.TA.....AA	AA.....	
<i>P. cloacicola</i>TTC.....	T-GACTTA.....	T.....T.....A.TA.....AA	AA.....	
<i>M. spiniferus</i>	GC.....T.....	T-GACTT.....A.....T.....A.....C	AA.....	
<i>M. typicus</i>	GC.....T.....	T-GACTT.....A.....T.....A.....C	AA.....	
<i>O. ranae</i>T.....	T-GACCTA.....A.....T.....A.....C	AA.....	
<i>T. assula</i>T.....	CTC.....	T-GACTG.....CA.....GA	A.....	
<i>D. nicolli</i>T.....	TC.....	T-GACTT.....A.....T.....A.C.....AAA.....	
<i>O. kansense</i>T.....	TC.....	T-GACTT.....A.....T.....A.....AAA.....	
G. hepaticaT.....	C.....	T-GACCTA.....A.....T.....A.....	CA- AA.....	T.....
<i>H. asper</i>	TT.G.....	T-GACTT.....A.....T.....A.....G.A	AAC.....	T.....
<i>H. longiplexus</i>	TT.G.....	T-GACTT.....T.....A.TA.....A	AAC.....	T.....
<i>H. variegatus</i>TT.....	T-GACTGA.....	T.A.....T.....A.....C	AAT.....	T.....
<i>H. abbreviatus</i>TT.....	T-GACTG.....	T.A.....T.....A.....C	AAT.....	T.....
<i>H. complexus</i>T.....	T-GACTG.....	T.A.....T.....A.....GC	A.A.....	T.....
<i>H. medioplexus</i>	T.....	GT.....	T-GACTG.....A.....GT.....A.....	A.....	C AAT.....
<i>H. varioplexus</i>	T.....	C.TT.....	TT-GACTG.....A.....T.....A.....	A.....	C AAT.....
<i>H. breviplexus</i>	T.....	T-GACTG.....A.....T.....A.....	A.....	C AAT.....
G. quieta 1	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. quieta 2	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. quieta 3	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. quieta 4	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. facioi	TT.....	C.-T.....	T-GACTT.....CT.....A.....	CCA.....
G. brownorumae	TT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CCA.....
G. tuxtlasensis	TT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. intestinalis	TT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. hylureus	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. pennsylvaniensis 2	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. pennsylvaniensis 1	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. quieta 5	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	CAA.....
G. californiensis 1	TT.....	T-GACTT.....T.....A.....	AAA.....
G. californiensis 2	TT.....	T-GACTT.....T.....A.....	AAA.....
G. poncedeleoni	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	G.A	ACC.....
G. tineri	CT.....	C.-T.....	T-GACTT.....T.....A.....	G.A	ACC.....
<i>P. vespertilionis</i>	GC.....	A.C.TA	TG-GACCT.....A.....T.....C	AA.....	
<i>P. muelleri</i>	GC.....	A.C.TA	TG-GACCT.....A.....T.....C	AA.....	
<i>P. koreanus</i>	GC.....	A.C.TA	TG-GACTT.....	T.A.....T.....C	AA.....	
<i>P. elegans</i>	GC.....	A.C.T.	G-GACCT.....A.....T.....C.....C	AA.....
<i>L. rastellus</i>	GCTCA.CTT.	TG-GACCT.....T.....C.....C	AA.....	
<i>H. cylindracea</i>	GCT.A.CTT.	A-GACCT.....T.....C.....C	AA.....	
<i>N. locellus</i>	GC.....	A.C.T.	T-GACCT.....T.....C	AA.....	
<i>R. exasperatum</i>	GC.....	A.C.T.	T-GACCT.....T.....C	AA.....	
<i>N. sobolevi</i>	GC.....	A.C.T.	T-GACCT.....T.....C	AA.....	
<i>R. opisthovitellinum</i>	GC.....	A.C.T.	T-GACCT.....T.....C	AA.....	
<i>O. flexuosa</i>	GC.....	A.CTT.	A-GACCT.....T.....C	AA.....	
<i>B. salamandrae</i>	CC.....	T-GACCTA.....T.....T.....	AG.....
<i>Mesocoeilium sp.</i>	TCA.....	TT-GACCTA.....T.....T.....	AA.....
<i>D. dendriticum</i>	GC.C.A.TT.	TT-GGC.TACT.....T.C.G.....G	TA.....	
<i>D. hospes</i>	GC.C.A.TT.	TT-GGC.TACT.....T.C.G.....G	TA.....	
<i>L. transcarpathicus</i>	GC.....	A.TC.	T-GGC.T.....C.....T.C.G.....G	TA.....
<i>N. truncatum</i>	GCT.....	TT.	T-GGC.TTCT.....A.C.....	A.....
<i>A. monticellii</i>	A.GC-..	T-GGC.TA.....T.....G.....T.....	GC AAA-A.....
<i>G. cygnoides</i>	GT.ATGC.TT	C-GAA.GA.T.T.....	A.C.C.....	CG.G-T.....
<i>E. melis</i>	GC.....	-GT.	T-GGC.GC.T.....CT.....CCT.....T.....
<i>E. cinctum</i>	GC.....	T-GGC.GC.T.....CT.....CCT.....T.....
<i>P. oxyurus</i>	GCTCAG.GT.	T-GGC.GTG	TT.A.....CT.....CCG.....T.C.	AA A.A.-A.....
<i>A. alata</i>	C.....	-GCGAGTGT.....AC.....GCG.....T.A.....
<i>O. furcatus</i>	C-TT	T-GAC.T.....T.....CA.....C.CA.....T.CACC- TA.TG.....

	850	860	870	880	890	900
<i>P. megacotyle</i>	TGGTGATGGC	TCGGATGTGT	TCGGCTGGCT	GTTGCGTGCG	TG-CATAAT-	--ATGGGGCC
<i>P. heteroporus</i>	tc..g..	--.....
<i>L. linstowi</i>	.A.....TC..C...-	--C.....
<i>P. hurkovaee</i>	.A.A.....TC..T.C...-	--.....
<i>P. chilostomum</i>	.A...A..TC..	...A.....CG..A	C-C.....
<i>P. longiforme</i>	.A.A.....TC..T.CG..T	C-.....
<i>O. mehelyi</i>CTC..	G...TC..G	.C.....	C.T..C.G.-	--G..A...
<i>P. semisquamosus</i>	.A.A.A..TC..	.T...T..GG..C...T	--CAT.A...
<i>A. amphoraeformis</i>	.A...A..TC.C	.T..T...GG..C.G.T	--CAT.....
<i>P. claviger</i>A...	C.....TC..T...GAG..C.GCT	--CAT.....
<i>P. medians</i>TC..T...GAG..C.GCT	--CAT.....
<i>P. ovatus</i>	.AA.....T...G	.A.T...GA..CG..T	--CAA.....
<i>M. subdolum</i>	.AA...A..	C.....TC..G	.G..A...A..CGT.T	T-CAT.....
<i>M. neomi</i>	.AA.....	C..G.....	AT...G	.G.....G..CG..T	T-CAT.....
<i>M. gracillimus</i>	C..G.A...	TA.ATG	T.....T.	TA..CT.GT	C-CAA.....
<i>M. longicollis</i>	C..G.A...	TA.ATG	T.....T.	TA..CT.AT	C-CAA.....
<i>L. nigrovenosus</i>	C..G.A...	TA.AAG	T.....T.	TA..CT.AT	C-CAA.....
<i>P. cloacicola</i>	C..G.A...	TA.ATG	T.....T.	TA..CT.AT	C-CAA.....
<i>M. spiniferus</i>TC..TG...GT.	TG..CTT.T	C---A.....
<i>M. typicus</i>TC..TG...GT.	TG..CTT.T	C---A.....
<i>O. ranae</i>T...G	TA...AT.	TG..CT..T	C-CAA.....
<i>T. assula</i>	.A.....T...G	TG..TGT.	TA..G..T	C-CGA.....
<i>D. nicolli</i>TC..TG...G	.C.....T.G..CT..T	C-CAA.....
<i>O. kansense</i>T...G	TG...G	.C.....T.G..CT..T	C-CAA.....
G. hepaticaT...G	TG...GT.T..CT..T	C-TAA.....
<i>H. asper</i>	.TT.....TC..TG.A.AT.G...T.T	C-CAA.....
<i>H. longiplexus</i>	GTT.A....TC..TG.A.AT.G...TG.T	C-CAA.....
<i>H. variegatus</i>AG.A..C.....ATGT.G...TG.T	C-CAA.....
<i>H. abbreviatus</i>AG.A..T.....GT.G...TG.T	C-CAA.....
<i>H. complexus</i>AG.A..	...A..T...G	AC.....T.G...TT.T	C-CAA.....
<i>H. medioplexus</i>	..T.AG....T.....A.G	C.G.....T.G...CTG.T	C-CAA.....
<i>H. varioplexus</i>AG.A..T.....G	.G.....T.G...TG.T	C-CAA.....
<i>H. breviplexus</i>AG.A..T.....G	.G.....T.G...TG.T	C-CAA.....
<i>G. quieta 1</i>	.A.....TC..TGA.TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. quieta 2</i>	.A.....TC..TGA.TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. quieta 3</i>	.A.....TC..TGA.TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. quieta 4</i>	.A.....TC..TGA.TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. facioi</i>	.A.....G.TC..TG..T.A.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. brownorumae</i>	.A.....G.TC..TGA.TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. tuxtlasensis</i>G.TC..TG..TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. intestinalis</i>TC..TG..TGA.TT.	.A.T.C..T	TTC.....
<i>G. hyloueus</i>	.A.....TC..TGAATGA.TT.	C.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>	.A.....TC..T...TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>	.A.....TC..T...TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. quieta 5</i>	.A.....TC..TG..TGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. californiensis 1</i>	.AT...A..TC..TG.ATGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. californiensis 2</i>	.AT...A..TC..TG.ATGA.TT.	.A.T.C..T	T-C.....
<i>G. poncedeleoni</i>	.A.A.....TC..TG...AT.G..CTT.T	G--CA.....
<i>G. tineri</i>	.A.A.....TC..TG...AT.G..CTT.T	G--CA.....
<i>P. vespertilionis</i>	.AA.....T...G	T.TG..TGT.A..CT.AA	C-CAA.....
<i>P. muelleri</i>	.AA.....T...G	T.TG..TGT.A..CT.AA	C-CAA.....
<i>P. koreanus</i>	.AA.....	...A..T...	T.TG..TGT.G..CT.AA	C-CAA.....
<i>P. elegans</i>	.A.....G.T...G	T.TG..TGT.A..CT.AA	C-CAA.....
<i>L. rastellus</i>	.AA.A....T...G	T.TGA.TGAT.T..CT..T	C-CAA.....
<i>H. cylindracea</i>	.AA.....T...G	T.TG..TGAT.T..CT..T	C-CCA.....
<i>N. locellus</i>	.A...A..T...G	T.TG..TGT.G..CT..T	C-CAA.....
<i>R. exasperatum</i>	.A...A..T...G	T.TG..TGT.G..CT..T	C-CAA.....
<i>N. sobolevi</i>	.A...A..T...G	T.TG..TGT.G..CT..T	C-CAA.....
<i>R. opisthovitellinum</i>	.A...A..T...G	T.TG..TGT.G..CT..T	C-CAA.....
<i>O. flexuosa</i>	.A.....T...G	T.TGA.TGT.G..CT..T	C-CAA.....
<i>B. salamandrae</i>	.TA.A....A..C	.A..TG.AAG	.G.....G..CT..T	A-CAA.....
<i>Mesocoelium sp.</i>	.TA.A....T...GG..G	.G.G..A..G..CT.AT	C-CCA.....
<i>D. dendriticum</i>	.A..T....	.G..G.TC..GAATGT.G..CTTC-	--CAA.....
<i>D. hospes</i>	.A..T....	.G..G.TC..GAATGT.G..CTTC-	--CAA.....
<i>L. transcarpathicus</i>	CA..T....	.G..G.TC..	.A..TG.ATGT.G..CTT.-	--CAA.....
<i>N. truncatum</i>AT.	CG..GATC..TG.A.GT.GT..TG.T	--CGAT.....
<i>A. monticellii</i>	CAA.....	C..G.TC..TA.T.GAT.A.GCT.-	--CCA.....
<i>G. cygnoides</i>	.A.C.G.A.G	CG..G.TCTA	.T..T...TG	...C..C.G.	TG..CTT.A	C---A.....
<i>E. melis</i>	A.....GGTC..TGT..GT.G..CTT.-	--GAA.....
<i>E. cinctum</i>	A.....	CT..GGTC..	.T..TGT..GT.G..CTT.-	--AA.....
<i>P. oxyurus</i>	C.....TATC..TAT..A	.C.T.....G..CTT.-	--GAA.....
<i>A. alata</i>	C.T..G.A..	C...TGC...T...GA.TT.AT.CCGCT	--CAT.....
<i>O. furcatus</i>	AA.C.GC.A.	.G...A...	.T..GA...AA..CG.A	--C.T.....

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	910	920	930	940	950	960
<i>P. megacotyle</i>	GATAGTCTGT	GGTGTAGTGG	TA-ACTATCC	ACCTGACCCG	TCTTGAAACA	CGGACCAAGG
<i>P. heteroporus</i>-.	..C.
<i>L. linstowi</i>	A.....-T.	..C.
<i>P. hurkovaae</i>-T.
<i>P. chilostomum</i>	A.....-.	..G.
<i>P. longiforme</i>-.
<i>O. mehelyi</i>G.
<i>P. semisquamosus</i>	A.....G..T.
<i>A. amphoraeformis</i>	A.....	A.....	..G.
<i>P. claviger</i>	A.....G.
<i>P. medians</i>	A.....G.
<i>P. ovatus</i>	A.....G.
<i>M. subdolum</i>	A.....G.C.
<i>M. neomi</i>	A.....G..G.	..T.C.
<i>M. gracillimus</i>	A.....G..T.
<i>M. longicollis</i>	A.....G..T.
<i>L. nigrovenosus</i>	AT.....G..T.
<i>P. cloacicola</i>	A.....G..T.
<i>M. spiniferus</i>	A.....G..T.C.
<i>M. typicus</i>	A.....G..T.C.
<i>O. ranae</i>	A.C.....G..T.C.
<i>T. assula</i>G..T.C.
<i>D. nicolli</i>	A.....G..T.C.
<i>O. kansense</i>	A.....G..T.C.
<i>G. hepatica</i>	A.....G..T.C.
<i>H. asper</i>	A.....G.
<i>H. longiplexus</i>	A.....G.
<i>H. variegatus</i>	A.....G.
<i>H. abbreviatus</i>	A.....G.
<i>H. complexus</i>	A.....G..G.
<i>H. medioplexus</i>	A.C.....G..G.
<i>H. varioplexus</i>	A.C.....G..G.
<i>H. brevoplexus</i>	A.C.....G..G.
<i>G. quieta 1</i>	A.....G..T..T
<i>G. quieta 2</i>	A.....G..T..T
<i>G. quieta 3</i>	A.....G..T..T
<i>G. quieta 4</i>	A.....G..T..T
<i>G. facioi</i>	A.....G..T..T
<i>G. brownorumae</i>	A.....G..T..T
<i>G. tuxtlasensis</i>	A.....G..T..T
<i>G. intestinalis</i>	A.A.....G..T..T
<i>G. hyloureus</i>	A.....G..T..T	A.....
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>	A.....G..T..T
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>	A.....G..T..T
<i>G. quieta 5</i>	A.....G..T..T
<i>G. californiensis 1</i>	A.A.....G..T..T
<i>G. californiensis 2</i>	A.A.....G..T..T
<i>G. poncedeleoni</i>	A.....G..T.
<i>G. tineri</i>	A.....G..T.
<i>P. vespertilionis</i>	A.C.....G..G.
<i>P. muelleri</i>	A.C.....G..G.
<i>P. koreanus</i>	T.C.....G..G.
<i>P. elegans</i>	A.C.....G..G.
<i>L. rastellus</i>	T.C.....G..G.
<i>H. cylindracea</i>	A.C.....G..G.
<i>N. locellus</i>	A.C.....G..G.
<i>R. exasperatum</i>	A.C.....G..G.
<i>N. sobolevi</i>	A.C.....G..G.
<i>R. opisthovitellinum</i>	A.C.....G..G.
<i>O. flexuosa</i>	A.....G..G.
<i>B. salamandrae</i>	A.....G..T.
<i>Mesocoelium sp.</i>	A.....A.....G..T.C.
<i>D. dendriticum</i>	A.....G.
<i>D. hospes</i>	A.....G.
<i>L. transcarpathicus</i>	A.....G.
<i>N. truncatum</i>	A.C.....G.
<i>A. monticellii</i>	A.....G.
<i>G. cygnoides</i>	A.A.....T.C.	..G.
<i>E. melis</i>	A.....G.C.
<i>E. cinctum</i>	T.C.....G.
<i>P. oxyurus</i>	A.....G.
<i>A. alata</i>	C.....CA.	C.A..G.
<i>O. furcatus</i>	A.....T.C.	..G..G.

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	970	980	990	1000	1010	1020
<i>P. megacotyle</i>	AGAGTAACAT	GTGCGCGAGT	CGTTGGGTAT	TACG-AAGCC	CAAAGGCGCA	GCGAAAGTAA
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>	A.....A..
<i>P. hurkovaee</i>	A.....
<i>P. chilostomum</i>C.....	A.....	T.....G.
<i>P. longiforme</i>C.....	A.....	T.....G.
<i>O. mehelyi</i>G.	A.....CG.A..	T.....G.
<i>P. semisquamosus</i>	AA.....CG.A..	A.....	T.....
<i>A. amphoraeformis</i>	A.....CG.A..	T.....
<i>P. claviger</i>	...A.....	.C.....	A.....CG.	A.....A..	T.....	T.....
<i>P. medians</i>	...A.....	.C.....	A.....CG.	A.....A..	T.....	T.....
<i>P. ovatus</i>	AA.....CG.A..	T.....
<i>M. subdolum</i>	A.....CG.A..	A.....	T.....
<i>M. neomi</i>	A.....CG.A..	T.....	T.....G.
<i>M. gracillimus</i>	A.....CG.A..	T.....
<i>M. longicollis</i>	A.....CG.A..	T.....
<i>L. nigrovenosus</i>	A.....CG.A..	A.....	T.....
<i>P. cloacicola</i>A.....	A.....CG.A..	T.....
<i>M. spiniferus</i>A.....	A.....CG.A..	C.....	T.....
<i>M. typicus</i>A.....	A.....CG.A..	C.....	T.....
<i>O. ranae</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>T. assula</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>D. nicolli</i>	A.....CG.A..	T.....G.
<i>O. kansense</i>	A.....CG.A..	T.....G.
G. hepatica	A.....CGCA..	T.....G.
<i>H. asper</i>	A.....CT.A..	A.....	T.....G.
<i>H. longiplexus</i>	A.....CT.A..	T.....A.	AT.....
<i>H. variegatus</i>	A.....CT.A..	A.....	T.....
<i>H. abbreviatus</i>	A.....CT.A..	T.....A.	T.....
<i>H. complexus</i>	A.....CTCA..	T.....A.	T.....
<i>H. medioplexus</i>	A.....CCCA..	A.....	T.....
<i>H. varioplexus</i>	A.....CCCA..	A.....	AT.....
<i>H. breviplexus</i>	A.....CCA..	A.....	T.....
G. quieta 1	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. quieta 2	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. quieta 3	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. quieta 4	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. facioi	...G.....	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. brownorumae	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. tuxtlasensis	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. intestinalis	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. hyloreus	...G.....	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. pennsylvaniensis 2	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. pennsylvaniensis 1	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. quieta 5A.....	A.....CG.A..	C.....A.	T.....
G. californiensis 1	A.....CG.A..	C.....A.	AT.....
G. californiensis 2	A.....CG.A..	C.....A.	AT.....
G. poncedeleoniA.....	A.....CG.A..	T.....
G. tineriA.....	A.....CG.	G...G..A.	T.....
<i>P. vespertilionis</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>P. muelleri</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>P. koreanus</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>P. elegans</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>L. rastellus</i>A.....	A.....CG.A..	A.....	T.....G.
<i>H. cylindracea</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>N. locellus</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>R. exasperatum</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>N. sobolevi</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>R. opisthovitellinum</i>A.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>O. flexuosa</i>A.....	A.....CG.A..	A.....	T.....G.
<i>B. salamandrae</i>	A.....CGCA..	T.....
<i>Mesocoelium sp.</i>	A.....CG.A..	T.....
<i>D. dendriticum</i>A.....	A.....CG.	A.....A..	C.....	T.....
<i>D. hospes</i>A.....	A.....CG.	A.....A..	C.....	T...T...
<i>L. transcarpathicus</i>A.....	A.....CGC	A.....A..	T.....
<i>N. truncatum</i>	A.....CG.	A.....A..	C.....	T.....
<i>A. monticellii</i>	A.....CG.	A.....A..	T.....
<i>G. cygnoides</i>	A.....CG.	A.....A..T.	T.....
<i>E. melis</i>	A.....CG.A..	T.....
<i>E. cinctum</i>	A.....CG.A..	A.....	T.....
<i>P. oxyurus</i>	A.....CGGA..	T.....
<i>A. alata</i>	...TT.....	A.....CG.A..	T.....G.
<i>O. furcatus</i>	...T.....	A.....CG.	A.....A..	C.....	T.....G.

	1030	1040	1050	1060	1070	1080
<i>P. megacotyle</i>	AGGTTTGGCT	TGTCAGACT	GTGGTGAGAT	CCTGTCGTTT	CC--TTCATG	GTACTACCAA
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>C.....	---GC.....
<i>P. hurkovaae</i>A.....	.C.....	---G.....
<i>P. chilostomum</i>	.T.....A.....	---.....
<i>P. longiforme</i>	.T.....A.....	---.....
<i>O. mehelyi</i>	..C.....	..G....	.A.....	TCA.G.GC.	..C....
<i>P. semisquamosus</i>	..C.....	..G....	AA.....	TCA.G.G..	..C....
<i>A. amphoraeformis</i>	..C.....	..G....	.A.....	TCA.G.G..	..C....
<i>P. claviger</i>A.....	ACACGTT..	..TC....
<i>P. medians</i>A.....	ACACGTT..	..TC....
<i>P. ovatus</i>	..C.....C	.A.....	TCA.G.G..	..C....
<i>M. subdolum</i>	..C.G....	..T.G..	.A.....	TCA.G..C.	..C....
<i>M. neomi</i>	..C.G....	..T.G..	.A.....CA.G.GC.
<i>M. gracillimus</i>	..C.A..	..T..T.	.A.....	TCACG.....	..C....
<i>M. longicollis</i>	..C.A..	..T..T.	.A.....	TCACG.....	..C....
<i>L. nigrovenosus</i>	..C.A..	..T..T.	.A.....	TCACG.....	..C....
<i>P. cloacicola</i>	..C.A..	..T..T.	.A.....	TCACG.....	..C....
<i>M. spiniferus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
<i>M. typicus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
<i>O. ranae</i>	..C.A..	..T..AG.	.A.....	TTACG.GC.	..T....
<i>T. assula</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
<i>D. nicolli</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
<i>O. kansense</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
G. hepatica	..C.A..	..T..G.	.A.....	TCACG.GC.
<i>H. asper</i>	..C.....	..T.....	.A.....	.A.T....	TTACG.G..	..T....
<i>H. longipléxus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	.A.T....	TCACG.GC.
<i>H. variegatus</i>	..C.A..	..T.....	.A.....	.G.....	TCACG.GC.
<i>H. abbreviatus</i>	..C.A..	..T..G.	AA.....	.A.....	TCACG.GC.
<i>H. complexus</i>	..C.A..	C.GT..G.	AA.....	.A.....	TCACG.G..
<i>H. medioplexus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	.A.....	TCACG.G..
<i>H. varioplexus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	.A.....	TCACG.G..
<i>H. breviplexus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....	.A.....	TCACG.G..
<i>G. quieta 1</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. quieta 2</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. quieta 3</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. quieta 4</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. facioi</i>	..C.A..	..T.....	.A.....CACG.GC.
<i>G. brownorumae</i>	..C.A..	..T.....	.A.....	GGGACG.GC.
<i>G. tuxtlasensis</i>	..C.A..	..T.....	.A.....CACG.GC.
<i>G. intestinalis</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....TCACG.GC.
<i>G. hylureus</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.	..GTCC..
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. quieta 5</i>	..C.A..	..T..G.	.A.....CACG.GC.
<i>G. californiensis 1</i>	..C.A..	..T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>G. californiensis 2</i>	..C.A..	..T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>G. poncedeleoni</i>	.T.C.A..	C.T.....	.A.....TCA.G.GC.	..T....
<i>G. tineri</i>	.T.C.A..	C.T.....	.A.....TCA.G.GC.	..T....
<i>P. vespertilionis</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....CACG.GC.
<i>P. muelleri</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....CACG.GC.
<i>P. koreanus</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....CACG.GC.
<i>P. elegans</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....CACG.GC.
<i>L. rastellus</i>	..A.C.A..	C.T..T.	.C.....CACG.GC.
<i>H. cylindracea</i>	..C.A..	..T..T.	.C.....CACG.G..
<i>N. locellus</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>R. exasperatum</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>N. sobolevi</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>R. opisthovitellinum</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....TCACG.GC.
<i>O. flexuosa</i>	..C.A..	..T.....	.A.....TCACG.G..
<i>B. salamandrae</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....TCACG.G..	..C....
<i>Mesocoelium sp.</i>	C.T.....	.A.....TTACG.G..	..CG....
<i>D. dendriticum</i>A.....G.	..CACG.G..	..GTCC..
<i>D. hospes</i>A.....G.	..CACG.G..	..GTCC..
<i>L. transcarpathicus</i>	..C.A..	C.T.....	.A.....CACG.GC.	..C.TC..
<i>N. truncatum</i>	..C.....	..T..C	.A.....	T.-ACG..	..C....
<i>A. monticellii</i>	..C.A..	..CT-	.A.....TCACG.GC.	..TC....
<i>G. cygnoides</i>	..AC.....	..T..T.	.A.....TCA.G.G..	..C....
<i>E. melis</i>	..C.....	..G.G.	.A.....	.T.....	..CACG.....
<i>E. cinctum</i>	..C.....	..TG....	.A.....TCACG.G..
<i>P. oxyurus</i>	..C.....	..G....	.A.....TCACG.....
<i>A. alata</i>	..C.....	..GAG..G.C.	..TCG.G.GA.	..C....
<i>O. furcatus</i>	..C.....	..G....	TA.....	..CT....	..TA.G.GC.	..A....T

	*				*****		
		1090	1100	1110	1120	1130	1140
<i>P. megacotyle</i>		GCATC-GAGC	GGCAGGCGCA	TCACCGGCC	GTCCCATGAC	--AATTGTT-	----CTT-GA
<i>P. heteroporus</i>	
<i>L. linstowi</i>	T.....C-	----...-
<i>P. hurkovaae</i>	T.....	----...G
<i>P. chilostomum</i>	AT.....TC-	----...C..
<i>P. longiforme</i>	AT.....C-	----...-
<i>O. mehelyi</i>		.T.....	----T.C-G
<i>P. semisquamosus</i>		.T.....CC-	----T.C-G
<i>A. amphoraeformis</i>		.T.....C-	----T.C-G
<i>P. claviger</i>		.T...T.TT.....CC-	----TCC-G
<i>P. medians</i>		.T...T.TT.....CC-	----AC-G
<i>P. ovatus</i>		.T.....	----T.C..
<i>M. subdolum</i>		.T.....	----T.C-G
<i>M. neomi</i>		.TA.....T.....G.	--G.A....	----T.C..
<i>M. gracillimus</i>		.TCA.....G.....	----...T.-
<i>M. longicollis</i>		.TCA.....G.....	----...T.-
<i>L. nigrovenosus</i>		.TCA.....G.....	----...T.-
<i>P. cloacicola</i>		.TA.....G.....	----...T.-
<i>M. spiniferus</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>M. typicus</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>O. ranae</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>T. assula</i>	G.	--C.....	----T.C.G
<i>D. nicolli</i>	G.	--T.....	----T.CA.
<i>O. kansense</i>	G.	--T.....	----T.CA.
G. hepatica		--A.....	----T.CA.
<i>H. asper</i>	T.....G.	--G.....	----T.CC..
<i>H. longiplexus</i>		A.T.....G.	--G.....	----T.CC..
<i>H. variegatus</i>	T.....G.	----T.ACCG
<i>H. abbreviatus</i>	T.....G.	----T.ACCG
<i>H. complexus</i>	T.....G.	--G.....	----T.ACCG
<i>H. medioplexus</i>	T.....G.	--T.....	----T.ACCG
<i>H. varioplexus</i>	T.....G.	--T.....	----T.ACCG
<i>H. breviplexus</i>	T.....G.	--T.....	----T.ACCG
G. quieta 1	G.	--T...A--	----T.C.G
G. quieta 2	G.	--T...A--	----T.C.G
G. quieta 3	G.	--T...A--	----T.C.G
G. quieta 4	G.	--T...A--	----T.C.G
G. facioi	G.	--T...G--	----T.T..
G. brownorumae	T.	--T...GC-	----T.C.G
G. tuxtlasensis	G.	--T...G--	----T.C.G
G. intestinalis	G.	--T...A--	----T.C.G
G. hyloreus	G.	--T...A--	----T.C.G
G. pennsylvaniensis 2	G.	--T...A--	----T.C.G
G. pennsylvaniensis 1	G.	--T...A--	----T.C.G
G. quieta 5	G.	--T...A--	----T.C.G
G. californiensis 1	G.	--G...A-	----T.C.G
G. californiensis 2	G.	--G...A-	----T.C.G
G. poncedeleoni		.TC.....	--T.....	----T.C..
G. tineri		.TC.....	--T.....	----T.C..
<i>P. vespertilionis</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>P. muelleri</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>P. koreanus</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>P. elegans</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>L. rastellus</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>H. cylindracea</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>N. locellus</i>	G.	----T.C.G
<i>R. exasperatum</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>N. sobolevi</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>R. opisthovitellinum</i>	G.	--G.....	----T.C.G
<i>O. flexuosa</i>	G.	--G.....	----TC.C.G
<i>B. salamandrae</i>	G.	--G.....	----...C.G
<i>Mesocoelium sp.</i>		--G.....	----T.C.G
<i>D. dendriticum</i>		...CG-G.....	GT.G.CTCAT	----...C.G
<i>D. hospes</i>		...CG-G.....	GT.G.CTCAT	----...C.G
<i>L. transcarpathicus</i>		...CCG-AA.....	GT.G.CTCGT	----...C.C.G
<i>N. truncatum</i>		GT.GACACAC	AGTCT.CG..
<i>A. monticellii</i>	G.	GT.GACACAT	AGTC..CG..
<i>G. cygnoides</i>		.T.G-	.AT.....T	GT.GACACGG	--TCA..GT.
<i>E. melis</i>		GT.G.G.CGG	---CT.CGTG
<i>E. cinctum</i>		GT.GAA.CGG	---C..CGTG
<i>P. oxyurus</i>	G.	GT.GAA.CGG	---C..GTG
<i>A. alata</i>		...TT.....	TATG.....	...A.....	...T...GT	GT.G.CA.GT	GACCTCGT.T
<i>O. furcatus</i>		...T.....	A.TG.....T.....	--T.C.GCA	GTTGA..TAT

	1150	1160	1170	1180	1190	1200
<i>P. megacotyle</i>	ACAGTACCCA	GTCGGGGCGG	AGCATGAGCG	TACATGTTGA	GACCCGAAAG	ATGGTGAACT
<i>P. heteroporus</i>	. . . t					
<i>L. linstowi</i>	G					
<i>P. hurkovaae</i>					
<i>P. chilostomum</i>	G A T G		
<i>P. longiforme</i>	G A T G		
<i>O. mehelyi</i>	. TCTA C C	
<i>P. semisquamosus</i>	G . . T A				
<i>A. amphoraeformis</i>	. . . T A C		
<i>P. claviger</i>	G . . T A G T	
<i>P. medians</i>	G . . T A G T	
<i>P. ovatus</i>	T . . T C		
<i>M. subdolum</i>	G . . T					
<i>M. neomi</i>	G . . A . . TT A				
<i>M. gracillimus</i> TTT . G A				
<i>M. longicollis</i> TTT . G A				
<i>L. nigrovenosus</i> TTT . G A				
<i>P. cloacicola</i> TTT . G A				
<i>M. spiniferus</i> TTT . G					
<i>M. typicus</i> TTT . G					
<i>O. ranae</i> TTT C		
<i>T. assula</i> ATTT . G					
<i>D. nicolli</i> TTT C		
<i>O. kansense</i> TTT C		
<i>G. hepatica</i> TTT . G					
<i>H. asper</i> TTT . G					
<i>H. longiplus</i> TTT . G					
<i>H. variegatus</i> TTT . G					
<i>H. abbreviatus</i> TTT . G					
<i>H. complexus</i> TTT . G					
<i>H. medioplexus</i> TAT . G					
<i>H. varioplexus</i> TAT . G					
<i>H. breviplexus</i> TAT . G					
<i>G. quieta 1</i>	T TTT . G					
<i>G. quieta 2</i>	T TTT . G					
<i>G. quieta 3</i>	T TTT . G					
<i>G. quieta 4</i>	T TTT . G					
<i>G. facioi</i>	C TTT . G					
<i>G. brownorumae</i>	T TTT . G					
<i>G. tuxtlasensis</i>	T TTT . G					
<i>G. intestinalis</i>	T TTT . G					
<i>G. hylorus</i>	T TTT . G					
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>	T TTT . G					
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>	T TTT . G					
<i>G. quieta 5</i>	T TTT . G					
<i>G. californiensis 1</i>	T TTT . G					
<i>G. californiensis 2</i>	T TTT . G					
<i>G. poncedeleoni</i>	G TT . . G					
<i>G. tineri</i>	G TT . . G					
<i>P. vespertilionis</i> TTT					
<i>P. muelleri</i> TTT					
<i>P. koreanus</i> TTT					
<i>P. elegans</i> TTT					
<i>L. rastellus</i>	. . . C . ATTT . G T			
<i>H. cylindracea</i>	. . . C . ATTT . G T			
<i>N. locellus</i> TTT . G					
<i>R. exasperatum</i> TTT . G					
<i>N. sobolevi</i> TTT . G					
<i>R. opisthovitellinum</i> TTT . G					
<i>O. flexuosa</i> TT . G					
<i>B. salamandrae</i> ATTT . G					
<i>Mesocoelium sp.</i>	G TTT . G					
<i>D. dendriticum</i>	. . . TT . G . ATC T				
<i>D. hospes</i>	. . . TT . G . ATC T				
<i>L. transcarpathicus</i>	. . . TT . G . ATC T				
<i>N. truncatum</i>	T G . A . C					
<i>A. monticellii</i>	C G . A . C C				
<i>G. cygnoides</i>	CTC . . G . A . C C C	
<i>E. melis</i>	CTT . CT . ATC T				
<i>E. cinctum</i>	CTT . CT . ATC					
<i>P. oxyurus</i>	CTG . CT . ATC					
<i>A. alata</i>	TGT . . G . ATC . AC C C			
<i>O. furcatus</i>	CA . T . GTA A C C		

	1210	1220	1230	1240	1250	1260
<i>P. megacotyle</i>	ATGCTTGCGC	AGGTTGAAGC	CAGAGGAAAC	TCTGGTGGAG	GACCGAAGCG	GTTCTGACGT
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>T..
<i>P. hurkovaee</i>T..
<i>P. chilostomum</i>
<i>P. longiforme</i>
<i>O. mehelyi</i>A
<i>P. semisquamosus</i>
<i>A. amphoraeformis</i>
<i>P. claviger</i>
<i>P. medians</i>
<i>P. ovatus</i>AT...
<i>M. subdolum</i>
<i>M. neomi</i>T
<i>M. gracillimus</i>C...A
<i>M. longicollis</i>C...A
<i>L. nigrovenosus</i>C...A
<i>P. cloacicola</i>C...A
<i>M. spiniferus</i>C...A
<i>M. typicus</i>C...A
<i>O. ranae</i>C...A
<i>T. assula</i>C...A
<i>D. nicolli</i>C...A
<i>O. kansense</i>C...A
<i>G. hepatica</i>C...A
<i>H. asper</i>C...A
<i>H. longiplexus</i>C...A
<i>H. variegatus</i>C...A
<i>H. abbreviatus</i>C...A
<i>H. complexus</i>C...A
<i>H. medioplexus</i>C...A
<i>H. varioplexus</i>C...A
<i>H. breviplexus</i>C...A
<i>G. quieta 1</i>C...A
<i>G. quieta 2</i>C...A
<i>G. quieta 3</i>C...A
<i>G. quieta 4</i>C...A
<i>G. facioi</i>C...A
<i>G. brownorumae</i>C...A
<i>G. tuxtlasensis</i>C...A
<i>G. intestinalis</i>C...A
<i>G. hyllorens</i>C...A
<i>G. pennsylvaniensis 2</i>C...A
<i>G. pennsylvaniensis 1</i>C...A
<i>G. quieta 5</i>C...A
<i>G. californiensis 1</i>C...A
<i>G. californiensis 2</i>C...A
<i>G. poncedeleoni</i>C...A
<i>G. tineri</i>C...A
<i>P. vespertilionis</i>C...A
<i>P. muelleri</i>C...A
<i>P. koreanus</i>C...A
<i>P. elegans</i>C...A
<i>L. rastellus</i>C...A
<i>H. cylindracea</i>C...A
<i>N. locellus</i>C...A
<i>R. exasperatum</i>C...A
<i>N. sobolevi</i>C...A
<i>R. opisthovitellinum</i>C...A
<i>O. flexuosa</i>C...A
<i>B. salamandrae</i>C...A
<i>Mesocoelium sp.</i>C...A
<i>D. dendriticum</i>C.AA
<i>D. hospes</i>C.AA
<i>L. transcarpathicus</i>C...A
<i>N. truncatum</i>C...A
<i>A. monticellii</i>T...A
<i>G. cygnoides</i>C...A
<i>E. melis</i>C...A
<i>E. cinctum</i>C...A
<i>P. oxyurus</i>T...A
<i>A. alata</i>GC...A
<i>O. furcatus</i>T..G...C...A

Apéndice 8.3.0. (Continuación)

	1270	1280	1293
<i>P. megacotyle</i>	GCAAATCGAT	CGCCAGACGT	GAGTATAGGG GCG
<i>P. heteroporus</i>
<i>L. linstowi</i>A.
<i>P. hurkovaae</i>A.
<i>P. chilostomum</i>
<i>P. longiforme</i>
<i>O. mehelyi</i>
<i>P. semisquamosus</i>
<i>A. amphoraeformis</i>
<i>P. claviger</i>
<i>P. medians</i>
<i>P. ovatus</i>
<i>M. subdolum</i>
<i>M. neomi</i>
<i>M. gracillimus</i>T..A...
<i>M. longicollis</i>T..A...
<i>L. nigrovenosus</i>T..A...
<i>P. cloacicola</i>T..A...
<i>M. spiniferus</i>T..A...
<i>M. typicus</i>T..A...
<i>O. ranae</i>T..A...
<i>T. assula</i>T..A...
<i>D. nicolli</i>T..A...
<i>O. kansense</i>T..A...
G. hepaticaT..A...
<i>H. asper</i>T..A...
<i>H. longiplexus</i>T..A...
<i>H. variegatus</i>T..A...
<i>H. abbreviatus</i>T..A...
<i>H. complexus</i>T..A...
<i>H. medioplexus</i>T..A...
<i>H. varioplexus</i>T..A...
<i>H. breviplexus</i>T..A...
G. quieta 1T..A...
G. quieta 2T..A...
G. quieta 3T..A...
G. quieta 4T..A...
G. facioiT..A...
G. brownorumaeT..A...
G. tuxtlasensisT..A...
G. intestinalisT..A...
G. hylourensT..A...
G. pennsylvaniensis 2T..A...
G. pennsylvaniensis 1T..A...
G. quieta 5T..A...
G. californiensis 1T..A...
G. californiensis 2T..A...
G. poncedeleoniT..A...
G. tineriT..A...
<i>P. vespertilionis</i>T..A...
<i>P. muelleri</i>T..A...
<i>P. koreanus</i>T..A...
<i>P. elegans</i>T..A...
<i>L. rastellus</i>T..A...?
<i>H. cylindracea</i>T..A...
<i>N. locellus</i>T..A...
<i>R. exasperatum</i>T..A...
<i>N. sobolevi</i>T..A...
<i>R. opisthovitellinum</i>T..A...
<i>O. flexuosa</i>T..A...
<i>B. salamandrae</i>T..A...
<i>Mesocoelium sp.</i>T..A...
<i>D. dendriticum</i>T..A...
<i>D. hospes</i>T..A...
<i>L. transcarpathicus</i>T..A...
<i>N. truncatum</i>T..A...
<i>A. monticellii</i>T..A...
<i>G. cygnoides</i>T..A...
<i>E. melis</i>T..A...
<i>E. cinctum</i>T..A...
<i>P. oxyurus</i>T..A...
<i>A. alata</i>T..TA...
<i>O. furcatus</i>T...A.

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1 <i>Pycnoporus megacotyle</i>	-														
2 <i>Pycnoporus heteroporus</i>	11	-													
3 <i>Lecithodendrium linstowi</i>	57	62	-												
4 <i>Prosthodendrium hurkovae</i>	55	59	38	-											
5 <i>Prosthodendrium chilostomum</i>	77	81	62	61	-										
6 <i>Prosthodendrium longiforme</i>	78	80	66	52	34	-									
7 <i>Ophiossaculus mehelyi</i>	135	130	129	136	141	140	-								
8 <i>Parabascus semisquamosus</i>	131	128	122	125	132	129	137	-							
9 <i>Allassogonoporus amphoraeformis</i>	131	126	118	129	131	132	127	53	-						
10 <i>Pleurogenes claviger</i>	148	145	140	147	155	148	151	88	86	-					
11 <i>Pleurogenoides medians</i>	144	138	134	148	154	148	153	83	79	26	-				
12 <i>Prosthogonimus ovatus</i>	138	134	133	143	150	150	141	83	78	100	95	-			
13 <i>Maritrema subdolum</i>	138	137	127	146	147	147	144	106	99	124	128	114	-		
14 <i>Maritrema neomi</i>	152	152	138	162	157	157	166	125	119	141	143	134	72	-	
15 <i>Metaleptophallus gracillimus</i>	173	176	173	182	181	181	193	162	150	162	157	154	156	161	-
16 <i>Macrodera longicollis</i>	174	177	174	183	182	182	192	161	151	164	158	152	157	162	4
17 <i>Leptophallus nigrovenosus</i>	178	181	178	187	186	186	197	164	156	168	161	158	160	166	8
18 <i>Paralepoderma cloacicola</i>	176	179	176	185	180	184	192	163	153	165	158	155	157	161	8
19 <i>Macroderoides spiniferus</i>	156	158	149	158	163	164	173	141	133	148	147	141	152	160	102
20 <i>Macroderoides typicus</i>	156	158	149	158	163	164	173	141	133	148	147	141	152	160	102
21 <i>Opisthioglyphe ranae</i>	152	153	147	157	159	159	173	143	132	152	141	129	146	151	104
22 <i>Telorchis assula</i>	153	152	150	163	162	156	174	148	139	159	146	134	144	150	118
23 <i>Dasymetra nicolli</i>	156	154	141	155	157	157	167	140	128	151	143	141	147	153	123
24 <i>Ochetosoma kansense</i>	153	155	140	154	156	154	166	138	126	149	139	137	141	147	119
25 <i>Glypthelmins hepatica</i>	149	150	141	153	154	152	163	135	127	146	137	127	140	139	108
26 <i>Haematoloechus asper</i>	157	157	144	154	156	159	182	157	146	164	161	152	159	161	130
27 <i>Haematoloechus longiplexus</i>	163	163	152	161	162	163	177	145	133	148	151	143	153	162	126
28 <i>Haematoloechus variegatus</i>	150	153	147	154	158	164	183	140	134	154	157	150	151	160	126
29 <i>Haematoloechus abbreviatus</i>	152	154	149	155	158	164	177	138	128	156	158	146	146	159	126
30 <i>Haematoloechus complexus</i>	174	176	171	176	174	175	199	154	147	173	176	162	160	171	143
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	171	172	163	165	176	174	188	157	148	178	178	164	169	171	137
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	170	171	164	166	172	174	188	156	147	178	178	165	165	168	141
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	157	160	156	158	160	168	178	142	135	167	168	155	158	165	141
34 <i>Glypthelmins quieta 1</i>	185	182	174	187	194	194	195	172	167	177	170	172	176	191	149
35 <i>Glypthelmins quieta 2</i>	185	182	174	187	194	194	195	172	167	177	170	172	176	191	149
36 <i>Glypthelmins quieta 3</i>	185	182	174	187	194	194	195	172	167	177	170	172	176	191	149
37 <i>Glypthelmins quieta 4</i>	185	182	174	187	194	194	195	172	167	177	170	172	176	191	149
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	186	182	176	187	196	196	203	174	166	180	172	170	180	193	153
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	148	143	134	148	157	158	148	141	135	148	143	137	148	161	132
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	181	178	173	185	192	192	197	171	166	176	168	170	178	191	147

Apéndice 8.3.1. Matriz de distancias pareadas de los genes ribosomales 28S de 11 especies de *Glypthelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata. Los números indican diferencias en nucleótidos entre los distintos taxa.

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	163	160	152	166	173	174	167	155	149	164	158	151	158	174	139
42 <i>Glypthelmins hyloreus</i>	190	186	178	192	200	200	199	175	170	183	174	176	181	196	155
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	182	179	170	184	191	191	196	167	161	175	166	167	172	186	148
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	183	180	171	184	192	192	196	169	161	175	168	169	174	188	148
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	189	186	177	189	198	196	197	174	169	181	173	174	177	193	147
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	192	189	181	197	204	205	204	179	172	188	181	179	182	201	147
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	191	188	182	196	203	204	203	178	171	187	180	178	181	200	146
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	151	150	139	151	157	152	162	131	120	138	143	123	143	157	118
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	152	151	140	152	158	153	163	132	121	138	143	124	144	158	119
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	154	156	151	162	169	164	179	139	131	148	142	128	150	155	120
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	157	159	154	163	170	165	180	140	130	149	143	131	151	156	123
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	161	163	157	169	175	171	185	147	139	152	149	141	157	160	127
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	160	160	157	168	173	170	186	142	134	148	143	134	161	161	121
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	167	171	164	168	174	168	194	145	147	164	162	142	165	166	128
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	156	159	152	154	162	158	185	138	135	149	147	127	159	158	118
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	154	156	146	156	160	158	170	128	112	137	133	116	143	147	107
57 <i>Rubestrema exasperatum</i>	154	156	146	156	160	158	170	130	114	139	135	118	143	147	107
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	157	159	149	159	163	159	173	131	115	140	136	119	146	148	106
59 <i>Rubestrema opisthovitellinum</i>	157	159	149	159	163	159	173	131	115	140	136	119	146	148	106
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	155	159	151	155	159	156	178	125	119	142	134	120	152	156	112
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	147	151	142	146	149	151	170	138	128	149	149	128	148	155	109
62 <i>Mesocoelium</i> sp.	156	157	147	155	162	163	180	147	140	160	159	144	153	160	115
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	187	188	178	184	185	187	196	164	172	162	161	167	184	186	170
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	189	190	180	186	185	187	196	166	174	164	163	169	186	188	172
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	188	188	177	187	192	192	191	167	171	175	171	177	188	194	181
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	164	159	160	163	170	167	181	156	143	157	161	148	166	176	148
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	176	177	166	178	175	175	201	165	160	171	172	165	171	169	165
68 <i>Gorgoderia cygnoides</i>	214	215	206	213	214	218	228	209	198	217	213	207	213	222	217
69 <i>Euparyphium melis</i>	174	172	167	180	179	180	199	190	181	195	184	189	186	189	196
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	171	170	170	173	178	174	195	177	171	190	190	181	177	180	185
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	177	176	180	189	193	193	203	187	180	192	193	189	181	181	187
72 <i>Alaria alata</i>	220	221	218	225	221	220	243	226	216	232	231	225	218	236	240
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	231	232	234	230	234	233	244	227	216	238	237	222	225	225	238

Apéndice 8.3.1. (Continuación)

Taxa	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
16 <i>Macrodera longicollis</i>	-														
17 <i>Leptophallus nigrovenosus</i>	8	-													
18 <i>Paralepoderma cloacicola</i>	6	12	-												
19 <i>Macroderoides spiniferus</i>	100	106	101	-											
20 <i>Macroderoides typicus</i>	100	106	101	0	-										
21 <i>Opisthioglyphe ranae</i>	103	108	101	73	73	-									
22 <i>Telorchis assula</i>	117	121	115	87	87	50	-								
23 <i>Dasymetra nicolli</i>	121	127	122	83	83	59	74	-							
24 <i>Ochetosoma kansense</i>	118	123	118	82	82	57	68	9	-						
25 <i>Glypthelmins hepatica</i>	107	112	107	84	84	45	59	64	56	-					
26 <i>Haematoloechus asper</i>	129	132	129	112	112	86	101	96	94	90	-				
27 <i>Haematoloechus longiplexus</i>	125	128	127	101	101	83	94	89	89	85	49	-			
28 <i>Haematoloechus variegatus</i>	125	129	125	99	99	90	94	98	95	90	84	72	-		
29 <i>Haematoloechus abbreviatus</i>	125	128	125	92	92	88	94	94	91	88	83	68	18	-	
30 <i>Haematoloechus complexus</i>	142	145	142	115	115	116	118	119	116	112	107	90	55	45	-
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	136	139	138	118	118	109	125	117	117	106	101	92	68	61	80
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	140	143	140	119	119	106	119	113	113	104	100	91	62	53	75
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	140	143	138	109	109	101	111	104	102	98	92	79	53	44	68
34 <i>Glypthelmins quieta 1</i>	148	152	148	117	117	120	117	118	117	119	128	121	130	126	152
35 <i>Glypthelmins quieta 2</i>	148	152	148	117	117	120	117	118	117	119	128	121	130	126	152
36 <i>Glypthelmins quieta 3</i>	148	152	148	117	117	120	117	118	117	119	128	121	130	126	152
37 <i>Glypthelmins quieta 4</i>	148	152	148	117	117	120	117	118	117	119	128	121	130	126	152
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	152	156	152	126	126	125	124	129	125	127	128	128	132	130	152
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	131	135	131	106	106	111	109	102	99	106	109	104	114	112	127
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	146	150	146	119	119	122	123	121	119	122	124	120	125	123	149
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	138	142	137	107	107	111	112	108	107	112	113	107	117	113	135
42 <i>Glypthelmins hyloreus</i>	154	158	154	123	123	125	123	124	123	123	133	125	136	134	156
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis 1</i>	147	151	147	114	114	118	115	116	113	116	125	119	126	122	146
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis 2</i>	147	151	147	114	114	118	117	118	115	116	125	119	124	120	144
45 <i>Glypthelmins quieta 5</i>	146	150	144	119	119	118	119	122	121	119	129	123	132	128	153
46 <i>Glypthelmins californiensis 1</i>	146	150	147	124	124	127	127	124	124	128	127	121	132	132	152
47 <i>Glypthelmins californiensis 2</i>	145	149	146	123	123	126	128	123	123	127	128	120	131	131	151
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	117	122	119	86	86	85	94	96	94	89	105	86	106	101	123
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	118	123	120	87	87	86	95	97	95	90	106	87	107	102	124
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	118	120	118	96	96	83	90	95	92	90	110	101	109	112	135
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	121	123	121	97	97	84	91	97	93	91	111	102	108	112	136
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	125	127	125	102	102	91	97	98	95	97	115	105	110	115	135
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	119	123	117	99	99	89	98	98	96	95	116	105	111	114	137
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	127	129	127	104	104	103	105	115	111	101	124	118	118	116	135

Apéndice 8.3.1. (Continuación)

Taxa	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	117	121	115	97	97	91	96	110	106	96	114	110	108	107	130
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	108	112	108	80	80	76	82	95	89	75	104	93	95	96	119
57 <i>Rubensstrema exasperatum</i>	108	112	108	80	80	76	83	96	90	77	102	91	97	98	119
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	107	111	107	80	80	75	84	93	89	78	103	94	97	98	119
59 <i>Rubensstrema opisthovitellinum</i>	107	111	107	80	80	75	84	93	89	78	103	94	97	98	119
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	113	115	111	89	89	84	88	103	100	89	108	103	99	102	122
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	108	112	108	86	86	85	93	102	98	84	102	97	96	99	117
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	115	120	115	98	98	84	104	104	98	86	108	101	105	106	126
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	169	175	169	155	155	144	146	159	155	135	158	156	157	164	178
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	171	177	171	157	157	146	148	161	157	137	160	158	159	166	180
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	180	186	180	164	164	156	144	161	158	146	170	163	166	171	183
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	149	154	149	136	136	130	143	150	149	131	147	132	143	142	157
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	165	171	162	160	160	149	157	155	153	141	155	152	154	149	166
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	216	219	216	198	198	195	190	206	203	188	204	205	199	198	213
69 <i>Euparyphium melis</i>	197	200	193	177	177	173	169	169	169	170	185	187	186	183	191
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	184	187	184	175	175	165	170	167	170	168	168	167	174	174	181
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	186	189	186	180	180	172	178	171	173	172	177	178	173	171	179
72 <i>Alaria alata</i>	243	246	240	227	227	223	219	223	221	213	227	217	211	214	222
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	236	239	236	217	217	207	207	215	210	211	226	209	217	215	229

Taxa	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	-														
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	14	-													
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	32	25	-												
34 <i>Glypthelmins quieta</i> 1	147	144	141	-											
35 <i>Glypthelmins quieta</i> 2	147	144	141	0	-										
36 <i>Glypthelmins quieta</i> 3	147	144	141	0	0	-									
37 <i>Glypthelmins quieta</i> 4	147	144	141	0	0	0	-								
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	150	148	144	24	24	24	24	-							
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	131	128	121	18	18	18	18	13	-						
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	142	139	135	18	18	18	18	14	15	-					
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	132	128	122	20	20	20	20	31	28	23	-				
42 <i>Glypthelmins hylorus</i>	150	151	148	14	14	14	14	32	26	26	27	-			
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	144	141	138	10	10	10	10	24	21	18	21	12	-		
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	142	139	136	12	12	12	12	26	20	20	23	14	2	-	
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	147	144	143	8	8	8	8	28	22	22	21	18	12	12	-
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	143	143	142	40	40	40	40	55	40	50	38	48	44	46	42
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	142	142	141	39	39	39	39	54	39	49	37	47	43	45	41

Apéndice 8.3.1. (Continuación)

Taxa	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	123	125	113	128	128	128	128	133	107	129	117	136	126	126	130
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	124	126	114	129	129	129	129	134	108	130	118	137	127	127	131
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	128	128	118	131	131	131	131	142	120	137	124	137	129	131	133
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	126	126	118	134	134	134	134	143	122	138	126	140	132	134	136
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	131	131	123	141	141	141	141	152	126	147	132	147	139	141	143
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	132	134	122	140	140	140	140	147	124	140	130	146	138	140	142
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	132	129	122	139	139	139	139	146	127	142	127	143	137	139	143
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	122	121	113	137	137	137	137	146	127	140	127	143	135	135	136
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	113	113	104	120	120	120	120	129	108	122	108	127	119	121	122
57 <i>Rubensstrema exasperatum</i>	114	114	105	119	119	119	119	128	107	121	107	126	118	120	121
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	113	113	106	122	122	122	122	131	110	124	110	129	121	123	124
59 <i>Rubensstrema opisthovitellinum</i>	113	113	106	122	122	122	122	131	110	124	110	129	121	123	124
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	117	116	109	126	126	126	126	137	114	131	115	133	127	129	130
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	112	114	105	119	119	119	119	125	106	123	112	123	119	118	122
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	125	123	116	133	133	133	133	134	113	133	124	139	133	131	135
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	181	178	174	179	179	179	179	184	152	183	166	182	180	180	180
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	183	180	176	181	181	181	181	186	153	185	168	184	182	182	182
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	186	183	179	187	187	187	187	190	153	191	172	191	185	185	188
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	157	153	147	166	166	166	166	167	136	163	148	166	161	159	165
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	165	165	160	184	184	184	184	183	154	183	166	190	181	181	184
68 <i>Gorgoderia cygnoides</i>	220	216	208	222	222	222	222	222	182	222	196	222	215	215	220
69 <i>Euparyphium melis</i>	200	199	187	206	206	206	206	203	164	203	173	210	205	207	208
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	181	182	174	201	201	201	201	197	158	199	167	205	202	202	201
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	181	181	174	218	218	218	218	213	178	214	187	224	219	221	221
72 <i>Alaria alata</i>	230	228	215	246	246	246	246	252	204	248	213	251	244	246	249
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	230	228	225	240	240	240	240	242	206	245	219	245	239	239	239

Taxa	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
46 <i>Glypthelmins californiensis 1</i>	-														
47 <i>Glypthelmins californiensis 2</i>	1	-													
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	133	132	-												
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	134	133	1	-											
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	135	134	87	88	-										
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	138	137	88	89	6	-									
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	143	142	90	91	14	16	-								
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	144	143	91	92	17	21	23	-							
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	145	144	104	105	61	65	69	68	-						
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	142	141	94	95	53	57	63	58	37	-					
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	121	120	74	75	40	42	47	43	56	49	-				
57 <i>Rubensstrema exasperatum</i>	119	118	75	76	40	42	47	43	56	49	2	-			
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	120	119	76	77	39	41	46	42	55	48	3	3	-		
59 <i>Rubensstrema opisthovitellinum</i>	120	119	76	77	39	41	46	42	55	48	3	3	0	-	
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	130	129	92	93	54	58	63	59	64	52	29	29	28	28	-
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	126	125	85	86	90	91	100	99	93	93	77	77	78	78	87
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	139	138	92	93	95	96	99	105	105	98	87	87	88	88	100
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	187	186	150	150	152	154	154	155	163	156	153	151	154	154	150
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	189	188	152	152	154	156	156	157	165	158	155	153	156	156	152
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	189	190	159	159	148	152	154	152	164	157	150	148	151	151	151
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	164	163	135	135	146	149	154	146	145	138	130	128	131	131	131
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	187	188	153	153	153	153	161	155	150	147	147	146	144	144	145
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	228	227	196	196	203	204	213	211	203	197	193	191	194	194	195
69 <i>Euparyphium melis</i>	207	208	175	176	179	181	184	177	186	181	178	176	177	177	175
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	193	194	169	170	176	176	175	172	178	176	172	170	171	171	173
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	210	211	174	175	184	182	183	179	184	181	175	175	174	174	178
72 <i>Alaria alata</i>	237	238	227	228	228	230	226	223	234	230	211	209	212	212	218
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	247	246	217	217	213	207	213	218	222	214	208	207	208	208	212

Taxa	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	-												
62 <i>Mesocoelium</i> sp.	67	-											
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	147	155	-										
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	149	157	3	-									
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	156	162	77	76	-								
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	135	137	150	152	159	-							
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	157	160	173	175	170	147	-						
68 <i>Gorgoderia cygnoides</i>	188	207	190	192	198	185	207	-					
69 <i>Euparyphium melis</i>	180	193	192	194	192	166	174	208	-				
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	173	189	190	190	191	150	160	201	65	-			
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	182	195	199	201	207	173	167	226	112	88	-		
72 <i>Alaria alata</i>	224	236	244	246	241	222	229	246	210	204	217	-	
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	217	219	235	237	234	213	225	249	237	231	233	248	-

Apéndice 8.3.1. (Continuación)

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>Pycnoporos megacotyle</i>	-										
2 <i>Pycnoporos heteroporus</i>	0.0093	-									
3 <i>Lecithodendrium linstowi</i>	0.0488	0.0530	-								
4 <i>Prosthodendrium hurkovaae</i>	0.0464	0.0503	0.0325	-							
5 <i>Prosthodendrium chilostomum</i>	0.0649	0.0690	0.0529	0.0514	-						
6 <i>Prosthodendrium longiforme</i>	0.0658	0.0682	0.0564	0.0438	0.0286	-					
7 <i>Ophiossaculus mehelyi</i>	0.1146	0.1115	0.1109	0.1154	0.1195	0.1187	-				
8 <i>Parabascus semisquamosus</i>	0.1109	0.1093	0.1046	0.1057	0.1115	0.1089	0.1118	-			
9 <i>Allassogonoporus amphoraeformis</i>	0.1108	0.1077	0.1012	0.1091	0.1106	0.1114	0.1035	0.0429	-		
10 <i>Pleurogenes claviger</i>	0.1256	0.1243	0.1204	0.1247	0.1312	0.1253	0.1239	0.0717	0.0701	-	
11 <i>Pleurogenoides medians</i>	0.1223	0.1185	0.1154	0.1256	0.1305	0.1254	0.1256	0.0676	0.0643	0.0211	-
12 <i>Prosthogonimus ovatus</i>	0.1170	0.1148	0.1142	0.1211	0.1269	0.1268	0.1152	0.0673	0.0633	0.0816	0.0776
13 <i>Maritrema subdolum</i>	0.1168	0.1172	0.1089	0.1236	0.1241	0.1241	0.1175	0.0858	0.0801	0.1011	0.1043
14 <i>Maritrema neomi</i>	0.1286	0.1300	0.1183	0.1371	0.1325	0.1325	0.1355	0.1013	0.0964	0.1151	0.1167
15 <i>Metaleptophallus gracillimus</i>	0.1474	0.1514	0.1492	0.1549	0.1537	0.1537	0.1584	0.1321	0.1224	0.1330	0.1289
16 <i>Macrodera longicollis</i>	0.1483	0.1523	0.1500	0.1558	0.1546	0.1546	0.1576	0.1313	0.1232	0.1347	0.1297
17 <i>Leptophallus nigrovenosus</i>	0.1517	0.1557	0.1535	0.1592	0.1580	0.1580	0.1617	0.1338	0.1272	0.1379	0.1322
18 <i>Paralepoderma cloacicola</i>	0.1500	0.1540	0.1518	0.1575	0.1529	0.1563	0.1576	0.1330	0.1248	0.1355	0.1297
19 <i>Macroderoides spiniferus</i>	0.1325	0.1355	0.1281	0.1341	0.1380	0.1388	0.1417	0.1148	0.1084	0.1214	0.1206
20 <i>Macroderoides typicus</i>	0.1325	0.1355	0.1281	0.1341	0.1380	0.1388	0.1417	0.1148	0.1084	0.1214	0.1206
21 <i>Opisthioglyphe ranae</i>	0.1290	0.1313	0.1265	0.1332	0.1346	0.1346	0.1415	0.1162	0.1073	0.1245	0.1155
22 <i>Telorchis assula</i>	0.1298	0.1303	0.1289	0.1382	0.1370	0.1319	0.1423	0.1203	0.1130	0.1302	0.1195
23 <i>Dasymetra nicolli</i>	0.1325	0.1322	0.1214	0.1316	0.1330	0.1330	0.1367	0.1139	0.1042	0.1239	0.1173
24 <i>Ochetosoma kansense</i>	0.1298	0.1329	0.1204	0.1306	0.1319	0.1303	0.1357	0.1121	0.1024	0.1221	0.1139
25 <i>Glypthelmins hepatica</i>	0.1266	0.1289	0.1215	0.1300	0.1305	0.1288	0.1335	0.1099	0.1034	0.1198	0.1124
26 <i>Haematoloechus asper</i>	0.1334	0.1349	0.1241	0.1308	0.1322	0.1348	0.1494	0.1280	0.1190	0.1347	0.1323
27 <i>Haematoloechus longiplexus</i>	0.1384	0.1399	0.1308	0.1367	0.1372	0.1381	0.1452	0.1182	0.1084	0.1216	0.1241
28 <i>Haematoloechus variegatus</i>	0.1271	0.1310	0.1262	0.1304	0.1334	0.1385	0.1499	0.1139	0.1090	0.1263	0.1287
29 <i>Haematoloechus abbreviatus</i>	0.1288	0.1318	0.1278	0.1313	0.1335	0.1386	0.1449	0.1123	0.1042	0.1281	0.1297
30 <i>Haematoloechus complexus</i>	0.1474	0.1507	0.1469	0.1491	0.1471	0.1479	0.1630	0.1255	0.1198	0.1421	0.1445
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	0.1450	0.1475	0.1401	0.1398	0.1488	0.1471	0.1541	0.1279	0.1206	0.1462	0.1462
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	0.1441	0.1466	0.1410	0.1407	0.1454	0.1471	0.1541	0.1271	0.1198	0.1462	0.1462
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	0.1331	0.1370	0.1340	0.1339	0.1353	0.1421	0.1460	0.1157	0.1101	0.1373	0.1381

Apéndice 8.3.2. Matriz de distancias pareadas de los genes ribosomales 28S de 11 especies de *Glypthelmins* y otros miembros del suborden Plagiorchiata. Los números indican porcentaje de diferencias entre los distintos taxa.

Taxa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
34 <i>Glypthelmins quieta</i> 1	0.1570	0.1563	0.1497	0.1586	0.1641	0.1642	0.1601	0.1403	0.1362	0.1454	0.1397
35 <i>Glypthelmins quieta</i> 2	0.1570	0.1563	0.1497	0.1586	0.1641	0.1642	0.1601	0.1403	0.1362	0.1454	0.1397
36 <i>Glypthelmins quieta</i> 3	0.1570	0.1563	0.1497	0.1586	0.1641	0.1642	0.1601	0.1403	0.1362	0.1454	0.1397
37 <i>Glypthelmins quieta</i> 4	0.1570	0.1563	0.1497	0.1586	0.1641	0.1642	0.1601	0.1403	0.1362	0.1454	0.1397
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	0.1580	0.1565	0.1516	0.1587	0.1660	0.1660	0.1667	0.1419	0.1354	0.1479	0.1414
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	0.1791	0.1756	0.1652	0.1787	0.1892	0.1903	0.1694	0.1616	0.1549	0.1712	0.1656
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	0.1539	0.1529	0.1489	0.1572	0.1627	0.1627	0.1619	0.1396	0.1355	0.1448	0.1382
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	0.1566	0.1556	0.1481	0.1593	0.1654	0.1664	0.1542	0.1422	0.1369	0.1517	0.1462
42 <i>Glypthelmins hylareus</i>	0.1613	0.1598	0.1532	0.1629	0.1693	0.1693	0.1634	0.1427	0.1387	0.1504	0.1430
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	0.1545	0.1538	0.1464	0.1561	0.1617	0.1617	0.1609	0.1362	0.1313	0.1438	0.1364
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	0.1554	0.1547	0.1473	0.1561	0.1625	0.1625	0.1609	0.1378	0.1313	0.1438	0.1381
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	0.1606	0.1599	0.1525	0.1605	0.1677	0.1660	0.1619	0.1420	0.1380	0.1488	0.1422
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	0.1630	0.1624	0.1558	0.1671	0.1727	0.1735	0.1676	0.1461	0.1404	0.1543	0.1485
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	0.1621	0.1615	0.1567	0.1663	0.1718	0.1727	0.1668	0.1453	0.1396	0.1534	0.1477
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	0.1288	0.1294	0.1201	0.1288	0.1336	0.1293	0.1331	0.1070	0.0980	0.1136	0.1177
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	0.1297	0.1302	0.1210	0.1296	0.1344	0.1302	0.1340	0.1079	0.0989	0.1136	0.1177
50 <i>Plagiorchis vesperilionis</i>	0.1303	0.1335	0.1296	0.1370	0.1427	0.1385	0.1462	0.1128	0.1064	0.1210	0.1161
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	0.1329	0.1361	0.1322	0.1379	0.1436	0.1393	0.1470	0.1137	0.1056	0.1218	0.1169
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	0.1362	0.1395	0.1348	0.1430	0.1478	0.1445	0.1511	0.1194	0.1129	0.1242	0.1218
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	0.1355	0.1370	0.1348	0.1422	0.1462	0.1436	0.1519	0.1153	0.1088	0.1209	0.1169
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	0.1417	0.1467	0.1411	0.1425	0.1472	0.1422	0.1585	0.1178	0.1195	0.1342	0.1326
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	0.1324	0.1364	0.1308	0.1306	0.1371	0.1337	0.1511	0.1121	0.1097	0.1219	0.1203
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	0.1305	0.1337	0.1255	0.1322	0.1352	0.1335	0.1388	0.1039	0.0909	0.1120	0.1087
57 <i>Rubensstrema exasperatum</i>	0.1305	0.1337	0.1255	0.1322	0.1353	0.1336	0.1388	0.1055	0.0926	0.1136	0.1104
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.1330	0.1362	0.1280	0.1347	0.1378	0.1344	0.1413	0.1063	0.0934	0.1144	0.1112
59 <i>Rubensstrema opisthovitellinum</i>	0.1330	0.1362	0.1280	0.1347	0.1378	0.1344	0.1413	0.1063	0.0934	0.1144	0.1112
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.1314	0.1361	0.1296	0.1314	0.1345	0.1320	0.1457	0.1017	0.0968	0.1163	0.1098
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.1247	0.1295	0.1221	0.1238	0.1261	0.1278	0.1391	0.1122	0.1041	0.1220	0.1220
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	0.1323	0.1346	0.1264	0.1314	0.1370	0.1379	0.1475	0.1195	0.1139	0.1312	0.1304
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1601	0.1615	0.1533	0.1576	0.1583	0.1600	0.1622	0.1347	0.1415	0.1342	0.1334
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1617	0.1631	0.1549	0.1592	0.1582	0.1599	0.1621	0.1363	0.1430	0.1357	0.1350
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1608	0.1615	0.1524	0.1600	0.1642	0.1642	0.1580	0.1371	0.1406	0.1449	0.1415
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1389	0.1362	0.1374	0.1379	0.1437	0.1412	0.1480	0.1268	0.1163	0.1284	0.1317
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1495	0.1520	0.1428	0.1512	0.1485	0.1486	0.1646	0.1344	0.1304	0.1403	0.1412
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	0.1836	0.1851	0.1780	0.1829	0.1834	0.1869	0.1894	0.1726	0.1637	0.1804	0.1771
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1496	0.1484	0.1442	0.1547	0.1538	0.1547	0.1652	0.1569	0.1497	0.1622	0.1532
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1471	0.1467	0.1468	0.1489	0.1531	0.1498	0.1620	0.1459	0.1413	0.1579	0.1580
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1522	0.1518	0.1554	0.1626	0.1658	0.1659	0.1686	0.1544	0.1488	0.1595	0.1604
72 <i>Alaria alata</i>	0.1893	0.1904	0.1882	0.1936	0.1897	0.1888	0.2016	0.1860	0.1780	0.1922	0.1916
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.2003	0.2010	0.2029	0.1993	0.2025	0.2016	0.2039	0.1884	0.1795	0.1993	0.1986

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
12 <i>Prosthogonimus ovatus</i>	-										
13 <i>Maritrema subdolum</i>	0.0925	-									
14 <i>Maritrema neomi</i>	0.1089	0.0583	-								
15 <i>Metaleptophallus gracillimus</i>	0.1260	0.1272	0.1314	-							
16 <i>Macrodera longicollis</i>	0.1244	0.1280	0.1323	0.0032	-						
17 <i>Leptophallus nigrovenosus</i>	0.1292	0.1305	0.1355	0.0065	0.0065	-					
18 <i>Paralepoderma cloacicola</i>	0.1268	0.1280	0.1314	0.0065	0.0048	0.0097	-				
19 <i>Macroderoides spiniferus</i>	0.1152	0.1238	0.1305	0.0832	0.0816	0.0865	0.0824	-			
20 <i>Macroderoides typicus</i>	0.1152	0.1238	0.1305	0.0832	0.0816	0.0865	0.0824	0.0000	-		
21 <i>Opisthioglyphe ranae</i>	0.1050	0.1187	0.1229	0.0848	0.0840	0.0881	0.0824	0.0594	0.0594	-	
22 <i>Telorchis assula</i>	0.1092	0.1170	0.1221	0.0962	0.0953	0.0986	0.0937	0.0707	0.0707	0.0406	-
23 <i>Dasymetra nicolli</i>	0.1150	0.1197	0.1247	0.1003	0.0987	0.1036	0.0995	0.0676	0.0676	0.0479	0.0601
24 <i>Ochetosoma kansense</i>	0.1116	0.1146	0.1196	0.0970	0.0962	0.1002	0.0962	0.0667	0.0667	0.0463	0.0551
25 <i>Glypthelmins hepatica</i>	0.1036	0.1140	0.1133	0.0882	0.0874	0.0915	0.0874	0.0684	0.0684	0.0366	0.0479
26 <i>Haematoloechus asper</i>	0.1242	0.1297	0.1315	0.1061	0.1053	0.1077	0.1053	0.0914	0.0914	0.0702	0.0823
27 <i>Haematoloechus longiplexus</i>	0.1168	0.1248	0.1323	0.1028	0.1020	0.1045	0.1037	0.0824	0.0824	0.0677	0.0766
28 <i>Haematoloechus variegatus</i>	0.1223	0.1228	0.1303	0.1028	0.1019	0.1052	0.1019	0.0806	0.0806	0.0733	0.0764
29 <i>Haematoloechus abbreviatus</i>	0.1191	0.1189	0.1296	0.1029	0.1021	0.1045	0.1021	0.0750	0.0750	0.0717	0.0765
30 <i>Haematoloechus complexus</i>	0.1322	0.1303	0.1395	0.1168	0.1159	0.1184	0.1159	0.0937	0.0937	0.0945	0.0960
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	0.1339	0.1378	0.1395	0.1119	0.1111	0.1135	0.1127	0.0962	0.0962	0.0888	0.1017
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	0.1347	0.1345	0.1370	0.1152	0.1144	0.1168	0.1144	0.0970	0.0970	0.0864	0.0969
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	0.1266	0.1289	0.1347	0.1152	0.1143	0.1168	0.1127	0.0889	0.0889	0.0824	0.0905
34 <i>Glypthelmins quieta</i> 1	0.1405	0.1435	0.1559	0.1216	0.1208	0.1241	0.1208	0.0954	0.0954	0.0978	0.0953
35 <i>Glypthelmins quieta</i> 2	0.1405	0.1435	0.1559	0.1216	0.1208	0.1241	0.1208	0.0954	0.0954	0.0978	0.0953
36 <i>Glypthelmins quieta</i> 3	0.1405	0.1435	0.1559	0.1216	0.1208	0.1241	0.1208	0.0954	0.0954	0.0978	0.0953
37 <i>Glypthelmins quieta</i> 4	0.1405	0.1435	0.1559	0.1216	0.1208	0.1241	0.1208	0.0954	0.0954	0.0978	0.0953
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	0.1389	0.1468	0.1576	0.1249	0.1241	0.1274	0.1241	0.1028	0.1028	0.1019	0.1010
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	0.1573	0.1688	0.1843	0.1516	0.1504	0.1550	0.1506	0.1216	0.1216	0.1270	0.1246
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	0.1390	0.1453	0.1560	0.1201	0.1193	0.1226	0.1193	0.0971	0.0971	0.0996	0.1003
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	0.1389	0.1449	0.1598	0.1279	0.1270	0.1306	0.1261	0.0981	0.0981	0.1018	0.1027
42 <i>Glypthelmins hyloreus</i>	0.1438	0.1476	0.1600	0.1265	0.1257	0.1290	0.1257	0.1003	0.1003	0.1019	0.1002
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	0.1364	0.1403	0.1518	0.1208	0.1200	0.1233	0.1200	0.0930	0.0930	0.0962	0.0937
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	0.1381	0.1419	0.1534	0.1208	0.1200	0.1233	0.1200	0.0930	0.0930	0.0962	0.0953
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	0.1423	0.1445	0.1577	0.1201	0.1193	0.1225	0.1176	0.0971	0.0971	0.0963	0.0970
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	0.1464	0.1486	0.1642	0.1201	0.1193	0.1225	0.1201	0.1012	0.1012	0.1036	0.1035
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	0.1456	0.1477	0.1634	0.1193	0.1184	0.1217	0.1193	0.1004	0.1004	0.1028	0.1043
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	0.1007	0.1169	0.1284	0.0965	0.0956	0.0997	0.0973	0.0702	0.0702	0.0694	0.0767
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	0.1015	0.1177	0.1292	0.0973	0.0965	0.1006	0.0981	0.0710	0.0710	0.0702	0.0775
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	0.1042	0.1217	0.1259	0.0977	0.0961	0.0977	0.0961	0.0780	0.0780	0.0674	0.0730
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	0.1066	0.1226	0.1268	0.1001	0.0985	0.1001	0.0985	0.0789	0.0789	0.0682	0.0738

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	0.1148	0.1274	0.1300	0.1034	0.1018	0.1034	0.1018	0.0829	0.0829	0.0739	0.0787
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	0.1091	0.1307	0.1308	0.0985	0.0969	0.1001	0.0953	0.0805	0.0805	0.0723	0.0795
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	0.1157	0.1341	0.1350	0.1043	0.1035	0.1051	0.1035	0.0847	0.0847	0.0837	0.0853
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	0.1034	0.1292	0.1285	0.0961	0.0953	0.0986	0.0937	0.0789	0.0789	0.0739	0.0779
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	0.0944	0.1161	0.1194	0.0871	0.0879	0.0912	0.0879	0.0650	0.0650	0.0617	0.0665
57 <i>Rubenstrema exasperatum</i>	0.0960	0.1161	0.1194	0.0871	0.0879	0.0912	0.0879	0.0650	0.0650	0.0617	0.0673
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.0968	0.1185	0.1203	0.0863	0.0871	0.0904	0.0871	0.0650	0.0650	0.0609	0.0681
59 <i>Rubenstrema opisthovitellinum</i>	0.0968	0.1185	0.1203	0.0863	0.0871	0.0904	0.0871	0.0650	0.0650	0.0609	0.0681
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.0979	0.1237	0.1271	0.0914	0.0922	0.0939	0.0906	0.0725	0.0725	0.0684	0.0715
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.1044	0.1203	0.1261	0.0888	0.0880	0.0912	0.0880	0.0700	0.0700	0.0691	0.0755
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	0.1173	0.1245	0.1303	0.0937	0.0937	0.0978	0.0937	0.0797	0.0797	0.0683	0.0845
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1375	0.1515	0.1532	0.1403	0.1395	0.1444	0.1395	0.1278	0.1278	0.1186	0.1201
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1391	0.1530	0.1547	0.1419	0.1411	0.1460	0.1411	0.1294	0.1294	0.1202	0.1217
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1457	0.1547	0.1597	0.1494	0.1485	0.1534	0.1485	0.1352	0.1352	0.1285	0.1184
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1207	0.1350	0.1433	0.1207	0.1215	0.1256	0.1215	0.1107	0.1107	0.1058	0.1162
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1348	0.1393	0.1378	0.1352	0.1352	0.1401	0.1327	0.1309	0.1309	0.1220	0.1283
68 <i>Gorgoderia cygnoides</i>	0.1714	0.1760	0.1835	0.1799	0.1790	0.1815	0.1790	0.1638	0.1638	0.1615	0.1571
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1564	0.1540	0.1565	0.1624	0.1632	0.1657	0.1599	0.1467	0.1467	0.1433	0.1398
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1497	0.1464	0.1488	0.1530	0.1522	0.1546	0.1521	0.1449	0.1449	0.1365	0.1405
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1563	0.1498	0.1498	0.1549	0.1540	0.1565	0.1540	0.1492	0.1492	0.1424	0.1472
72 <i>Alaria alata</i>	0.1855	0.1798	0.1948	0.1990	0.2015	0.2040	0.1990	0.1880	0.1880	0.1843	0.1811
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.1849	0.1872	0.1872	0.1983	0.1966	0.1991	0.1966	0.1810	0.1810	0.1724	0.1721

Taxa	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
23 <i>Dasymetra nicolli</i>	-										
24 <i>Ochetosoma kansense</i>	0.0073	-									
25 <i>Glypthelmins hepatica</i>	0.0521	0.0455	-								
26 <i>Haematoloechus asper</i>	0.0783	0.0766	0.0735	-							
27 <i>Haematoloechus longiplexus</i>	0.0726	0.0725	0.0694	0.0398	-						
28 <i>Haematoloechus variegatus</i>	0.0797	0.0772	0.0733	0.0684	0.0586	-					
29 <i>Haematoloechus abbreviatus</i>	0.0766	0.0741	0.0718	0.0676	0.0554	0.0146	-				
30 <i>Haematoloechus complexus</i>	0.0970	0.0944	0.0913	0.0871	0.0732	0.0447	0.0366	-			
31 <i>Haematoloechus medioplexus</i>	0.0953	0.0952	0.0865	0.0822	0.0749	0.0553	0.0496	0.0651	-		
32 <i>Haematoloechus varioplexus</i>	0.0921	0.0920	0.0849	0.0814	0.0741	0.0504	0.0431	0.0610	0.0113	-	
33 <i>Haematoloechus breviplexus</i>	0.0848	0.0831	0.0800	0.0749	0.0643	0.0432	0.0358	0.0554	0.0260	0.0203	-
34 <i>Glypthelmins quieta 1</i>	0.0962	0.0953	0.0971	0.1042	0.0985	0.1059	0.1026	0.1238	0.1195	0.1171	0.1148
35 <i>Glypthelmins quieta 2</i>	0.0962	0.0953	0.0971	0.1042	0.0985	0.1059	0.1026	0.1238	0.1195	0.1171	0.1148
36 <i>Glypthelmins quieta 3</i>	0.0962	0.0953	0.0971	0.1042	0.0985	0.1059	0.1026	0.1238	0.1195	0.1171	0.1148

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
37 <i>Glypthelmins quieta</i> 4	0.0962	0.0953	0.0971	0.1042	0.0985	0.1059	0.1026	0.1238	0.1195	0.1171	0.1148
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	0.1052	0.1018	0.1037	0.1042	0.1042	0.1075	0.1059	0.1238	0.1220	0.1204	0.1173
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	0.1168	0.1131	0.1214	0.1243	0.1186	0.1304	0.1283	0.1453	0.1497	0.1464	0.1387
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	0.0988	0.0970	0.0997	0.1010	0.0978	0.1019	0.1002	0.1214	0.1156	0.1132	0.1100
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	0.0992	0.0981	0.1029	0.1033	0.0978	0.1072	0.1035	0.1238	0.1208	0.1172	0.1117
42 <i>Glypthelmins hyloreus</i>	0.1011	0.1001	0.1004	0.1083	0.1017	0.1108	0.1091	0.1270	0.1220	0.1228	0.1205
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	0.0946	0.0920	0.0947	0.1018	0.0969	0.1026	0.0994	0.1189	0.1171	0.1147	0.1123
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	0.0962	0.0936	0.0947	0.1018	0.0969	0.1010	0.0977	0.1173	0.1154	0.1130	0.1107
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	0.0996	0.0986	0.0972	0.1051	0.1002	0.1076	0.1043	0.1247	0.1196	0.1172	0.1165
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	0.1012	0.1010	0.1045	0.1034	0.0985	0.1076	0.1076	0.1239	0.1163	0.1163	0.1156
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	0.1004	0.1002	0.1037	0.1042	0.0977	0.1068	0.1067	0.1231	0.1155	0.1155	0.1148
48 <i>Glypthelmins poncedelegoni</i>	0.0783	0.0766	0.0727	0.0857	0.0702	0.0865	0.0825	0.1005	0.1004	0.1021	0.0922
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	0.0792	0.0775	0.0735	0.0865	0.0710	0.0873	0.0833	0.1013	0.1012	0.1029	0.0930
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	0.0771	0.0746	0.0731	0.0895	0.0822	0.0885	0.0910	0.1097	0.1041	0.1041	0.0960
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	0.0788	0.0754	0.0739	0.0904	0.0830	0.0877	0.0910	0.1106	0.1025	0.1025	0.0960
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	0.0796	0.0771	0.0789	0.0937	0.0855	0.0894	0.0935	0.1098	0.1066	0.1066	0.1001
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	0.0796	0.0779	0.0772	0.0944	0.0854	0.0901	0.0927	0.1114	0.1074	0.1090	0.0993
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	0.0935	0.0901	0.0822	0.1011	0.0961	0.0960	0.0944	0.1099	0.1075	0.1051	0.0994
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	0.0894	0.0860	0.0781	0.0929	0.0896	0.0878	0.0870	0.1058	0.0993	0.0985	0.0920
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	0.0771	0.0722	0.0609	0.0847	0.0757	0.0772	0.0780	0.0967	0.0919	0.0919	0.0846
57 <i>Rubensstrema exasperatum</i>	0.0780	0.0730	0.0626	0.0830	0.0740	0.0788	0.0797	0.0967	0.0927	0.0927	0.0854
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.0755	0.0722	0.0634	0.0838	0.0765	0.0788	0.0797	0.0967	0.0919	0.0919	0.0862
59 <i>Rubensstrema opisthovitellinum</i>	0.0755	0.0722	0.0634	0.0838	0.0765	0.0788	0.0797	0.0967	0.0919	0.0919	0.0862
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.0839	0.0813	0.0725	0.0882	0.0840	0.0806	0.0831	0.0994	0.0954	0.0946	0.0889
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.0829	0.0796	0.0683	0.0831	0.0790	0.0780	0.0805	0.0951	0.0911	0.0928	0.0855
62 <i>Mesocoelium</i> sp.	0.0846	0.0796	0.0700	0.0879	0.0822	0.0853	0.0862	0.1025	0.1017	0.1001	0.0944
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1310	0.1276	0.1112	0.1305	0.1286	0.1292	0.1350	0.1467	0.1493	0.1468	0.1435
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1326	0.1291	0.1128	0.1320	0.1302	0.1308	0.1366	0.1482	0.1508	0.1483	0.1451
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1325	0.1299	0.1203	0.1403	0.1343	0.1366	0.1407	0.1507	0.1533	0.1508	0.1475
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1221	0.1211	0.1067	0.1200	0.1076	0.1164	0.1157	0.1279	0.1281	0.1248	0.1199
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1268	0.1252	0.1155	0.1267	0.1243	0.1258	0.1219	0.1358	0.1349	0.1349	0.1307
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	0.1706	0.1678	0.1559	0.1692	0.1699	0.1647	0.1636	0.1763	0.1823	0.1790	0.1723
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1401	0.1399	0.1408	0.1536	0.1550	0.1540	0.1516	0.1583	0.1659	0.1651	0.1549
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1381	0.1404	0.1390	0.1393	0.1382	0.1438	0.1439	0.1499	0.1499	0.1508	0.1439
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1416	0.1431	0.1425	0.1469	0.1474	0.1431	0.1416	0.1484	0.1501	0.1501	0.1441
72 <i>Alaria alata</i>	0.1847	0.1828	0.1765	0.1881	0.1797	0.1747	0.1772	0.1840	0.1903	0.1888	0.1777
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.1791	0.1749	0.1757	0.1884	0.1740	0.1806	0.1789	0.1908	0.1916	0.1901	0.1870

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
34 <i>Glypthelmins quieta</i> 1	-										
35 <i>Glypthelmins quieta</i> 2	0.0000	-									
36 <i>Glypthelmins quieta</i> 3	0.0000	0.0000	-								
37 <i>Glypthelmins quieta</i> 4	0.0000	0.0000	0.0000	-							
38 <i>Glypthelmins facioi</i>	0.0195	0.0195	0.0195	0.0195	-						
39 <i>Glypthelmins brownorumae</i>	0.0204	0.0204	0.0204	0.0204	0.0147	-					
40 <i>Glypthelmins tuxtlasensis</i>	0.0146	0.0146	0.0146	0.0146	0.0113	0.0172	-				
41 <i>Glypthelmins intestinalis</i>	0.0181	0.0181	0.0181	0.0181	0.0282	0.0318	0.0209	-			
42 <i>Glypthelmins hyloreus</i>	0.0113	0.0113	0.0113	0.0113	0.0260	0.0298	0.0211	0.0246	-		
43 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 1	0.0081	0.0081	0.0081	0.0081	0.0195	0.0239	0.0146	0.0190	0.0097	-	
44 <i>Glypthelmins pennsylvaniensis</i> 2	0.0097	0.0097	0.0097	0.0097	0.0211	0.0227	0.0162	0.0208	0.0113	0.0016	-
45 <i>Glypthelmins quieta</i> 5	0.0065	0.0065	0.0065	0.0065	0.0227	0.0251	0.0179	0.0190	0.0146	0.0097	0.0097
46 <i>Glypthelmins californiensis</i> 1	0.0325	0.0325	0.0325	0.0325	0.0447	0.0461	0.0407	0.0348	0.0390	0.0358	0.0374
47 <i>Glypthelmins californiensis</i> 2	0.0317	0.0317	0.0317	0.0317	0.0439	0.0451	0.0399	0.0339	0.0382	0.0349	0.0366
48 <i>Glypthelmins poncedeleoni</i>	0.1045	0.1045	0.1045	0.1045	0.1086	0.1231	0.1055	0.1075	0.1110	0.1029	0.1029
49 <i>Glypthelmins tineri</i>	0.1053	0.1053	0.1053	0.1053	0.1095	0.1243	0.1063	0.1084	0.1118	0.1037	0.1037
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	0.1066	0.1066	0.1066	0.1066	0.1155	0.1373	0.1116	0.1137	0.1114	0.1050	0.1066
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	0.1090	0.1090	0.1090	0.1090	0.1164	0.1396	0.1124	0.1155	0.1139	0.1074	0.1090
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	0.1148	0.1148	0.1148	0.1148	0.1237	0.1439	0.1198	0.1210	0.1196	0.1131	0.1148
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	0.1139	0.1139	0.1139	0.1139	0.1196	0.1419	0.1140	0.1192	0.1188	0.1123	0.1139
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	0.1133	0.1133	0.1133	0.1133	0.1190	0.1451	0.1158	0.1165	0.1165	0.1116	0.1132
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	0.1115	0.1115	0.1115	0.1115	0.1189	0.1449	0.1141	0.1164	0.1164	0.1099	0.1099
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	0.0976	0.0976	0.0976	0.0976	0.1049	0.1240	0.0993	0.0989	0.1033	0.0968	0.0984
57 <i>Rubestrema exasperatum</i>	0.0968	0.0968	0.0968	0.0968	0.1041	0.1227	0.0985	0.0980	0.1025	0.0960	0.0976
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.0992	0.0992	0.0992	0.0992	0.1066	0.1263	0.1009	0.1007	0.1049	0.0984	0.1000
59 <i>Rubestrema opisthovitellinum</i>	0.0992	0.0992	0.0992	0.0992	0.1066	0.1263	0.1009	0.1007	0.1049	0.0984	0.1000
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.1028	0.1028	0.1028	0.1028	0.1118	0.1312	0.1070	0.1055	0.1085	0.1036	0.1053
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.0968	0.0968	0.0968	0.0968	0.1017	0.1217	0.1002	0.1027	0.1001	0.0968	0.0960
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	0.1082	0.1082	0.1082	0.1082	0.1091	0.1293	0.1084	0.1136	0.1131	0.1083	0.1066
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1479	0.1479	0.1479	0.1479	0.1521	0.1768	0.1512	0.1544	0.1504	0.1487	0.1487
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1495	0.1495	0.1495	0.1495	0.1537	0.1778	0.1528	0.1562	0.1520	0.1503	0.1503
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1544	0.1544	0.1544	0.1544	0.1569	0.1779	0.1577	0.1601	0.1577	0.1528	0.1528
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1355	0.1355	0.1355	0.1355	0.1363	0.1557	0.1331	0.1360	0.1355	0.1314	0.1297
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1508	0.1508	0.1508	0.1508	0.1502	0.1777	0.1503	0.1532	0.1557	0.1484	0.1484
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	0.1845	0.1845	0.1845	0.1845	0.1845	0.2126	0.1844	0.1833	0.1845	0.1787	0.1787
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1713	0.1713	0.1713	0.1713	0.1688	0.1913	0.1688	0.1620	0.1746	0.1704	0.1721
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1669	0.1669	0.1669	0.1669	0.1637	0.1840	0.1653	0.1563	0.1703	0.1678	0.1678
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1811	0.1811	0.1811	0.1811	0.1771	0.2085	0.1779	0.1751	0.1861	0.1820	0.1837
72 <i>Alaria alata</i>	0.2038	0.2038	0.2038	0.2038	0.2089	0.2366	0.2055	0.1984	0.2080	0.2022	0.2038
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.2006	0.2006	0.2006	0.2006	0.2023	0.2423	0.2048	0.2062	0.2047	0.1998	0.1998

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55
45 <i>Glyphelmins quieta</i> 5	-										
46 <i>Glyphelmins californiensis</i> 1	0.0341	-									
47 <i>Glyphelmins californiensis</i> 2	0.0333	0.0008	-								
48 <i>Glyphelmins poncedeleoni</i>	0.1062	0.1086	0.1078	-							
49 <i>Glyphelmins tineri</i>	0.1070	0.1095	0.1086	0.0008	-						
50 <i>Plagiorchis vespertilionis</i>	0.1083	0.1099	0.1091	0.0709	0.0717	-					
51 <i>Plagiorchis muelleri</i>	0.1107	0.1123	0.1115	0.0717	0.0725	0.0048	-				
52 <i>Plagiorchis koreanus</i>	0.1165	0.1165	0.1156	0.0734	0.0742	0.0113	0.0129	-			
53 <i>Plagiorchis elegans</i>	0.1156	0.1172	0.1164	0.0741	0.0750	0.0137	0.0170	0.0186	-		
54 <i>Lecithopyge rastellus</i>	0.1166	0.1182	0.1174	0.0849	0.0857	0.0494	0.0527	0.0560	0.0551	-	
55 <i>Haplometra cylindracea</i>	0.1108	0.1157	0.1149	0.0767	0.0775	0.0429	0.0462	0.0511	0.0470	0.0300	-
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	0.0993	0.0985	0.0976	0.0603	0.0611	0.0324	0.0340	0.0381	0.0348	0.0454	0.0397
57 <i>Rubenstrema exasperatum</i>	0.0985	0.0968	0.0960	0.0611	0.0619	0.0324	0.0340	0.0381	0.0348	0.0454	0.0397
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.1009	0.0977	0.0968	0.0619	0.0627	0.0316	0.0332	0.0373	0.0340	0.0446	0.0389
59 <i>Rubenstrema opisthovitellinum</i>	0.1009	0.0977	0.0968	0.0619	0.0627	0.0316	0.0332	0.0373	0.0340	0.0446	0.0389
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.1062	0.1061	0.1053	0.0751	0.0760	0.0438	0.0471	0.0512	0.0479	0.0520	0.0422
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.0994	0.1026	0.1018	0.0693	0.0701	0.0730	0.0738	0.0812	0.0803	0.0755	0.0755
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	0.1100	0.1132	0.1124	0.0751	0.0759	0.0771	0.0779	0.0804	0.0853	0.0854	0.0796
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1489	0.1546	0.1538	0.1239	0.1239	0.1249	0.1266	0.1265	0.1274	0.1341	0.1282
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1505	0.1562	0.1554	0.1255	0.1255	0.1265	0.1281	0.1281	0.1290	0.1357	0.1298
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1554	0.1562	0.1570	0.1313	0.1313	0.1215	0.1248	0.1264	0.1248	0.1348	0.1290
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1347	0.1339	0.1331	0.1103	0.1103	0.1185	0.1210	0.1250	0.1186	0.1179	0.1121
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1510	0.1534	0.1542	0.1250	0.1250	0.1248	0.1248	0.1312	0.1264	0.1225	0.1200
68 <i>Gorgoderia cygnoides</i>	0.1830	0.1894	0.1886	0.1626	0.1626	0.1675	0.1683	0.1756	0.1741	0.1677	0.1623
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1731	0.1722	0.1730	0.1452	0.1460	0.1479	0.1496	0.1520	0.1463	0.1538	0.1495
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1671	0.1603	0.1612	0.1399	0.1408	0.1453	0.1453	0.1445	0.1420	0.1472	0.1452
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1836	0.1746	0.1754	0.1443	0.1451	0.1521	0.1504	0.1512	0.1479	0.1523	0.1494
72 <i>Alaria alata</i>	0.2065	0.1965	0.1973	0.1882	0.1890	0.1884	0.1901	0.1867	0.1843	0.1936	0.1899
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.2000	0.2066	0.2058	0.1807	0.1807	0.1769	0.1719	0.1769	0.1812	0.1847	0.1778

Apéndice 8.3.2. (Continuación)

Taxa	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66
56 <i>Neoglyphe locellus</i>	-										
57 <i>Rubenstrema exasperatum</i>	0.0016	-									
58 <i>Neoglyphe sobolevi</i>	0.0024	0.0024	-								
59 <i>Rubenstrema opisthovitellinum</i>	0.0024	0.0024	0.0000	-							
60 <i>Omphalometra flexuosa</i>	0.0235	0.0235	0.0227	0.0227	-						
61 <i>Brachycoelium salamandrae</i>	0.0624	0.0625	0.0633	0.0633	0.0708	-					
62 <i>Mesocoelium sp.</i>	0.0706	0.0706	0.0715	0.0715	0.0814	0.0544	-				
63 <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	0.1258	0.1241	0.1266	0.1266	0.1233	0.1211	0.1275	-			
64 <i>Dicrocoelium hospes</i>	0.1273	0.1257	0.1282	0.1282	0.1249	0.1227	0.1291	0.0024	-		
65 <i>Lyperosomum transcarpathicus</i>	0.1232	0.1216	0.1240	0.1240	0.1240	0.1284	0.1332	0.0630	0.0622	-	
66 <i>Nephrotrema truncatum</i>	0.1055	0.1039	0.1064	0.1064	0.1066	0.1098	0.1115	0.1232	0.1248	0.1305	-
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	0.1198	0.1190	0.1174	0.1174	0.1184	0.1283	0.1309	0.1425	0.1440	0.1399	0.1200
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	0.1594	0.1577	0.1602	0.1602	0.1610	0.1556	0.1709	0.1568	0.1584	0.1633	0.1528
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1472	0.1455	0.1463	0.1463	0.1447	0.1490	0.1597	0.1586	0.1601	0.1585	0.1372
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1421	0.1405	0.1413	0.1413	0.1430	0.1431	0.1561	0.1567	0.1566	0.1574	0.1238
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1448	0.1448	0.1439	0.1439	0.1472	0.1508	0.1613	0.1642	0.1657	0.1706	0.1429
72 <i>Alaria alata</i>	0.1744	0.1728	0.1752	0.1752	0.1803	0.1854	0.1954	0.2019	0.2035	0.1994	0.1835
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.1728	0.1720	0.1729	0.1729	0.1763	0.1808	0.1824	0.1958	0.1974	0.1951	0.1773

Taxa	67	68	69	70	71	72	73
67 <i>Astiotrema monticelli</i>	-						
68 <i>Gorgodera cygnoides</i>	0.1712	-					
69 <i>Euparyphium melis</i>	0.1438	0.1727	-				
70 <i>Echinoparyphium cinctum</i>	0.1321	0.1669	0.0536	-			
71 <i>Psilochasmus oxyurus</i>	0.1378	0.1874	0.0924	0.0725	-		
72 <i>Alaria alata</i>	0.1892	0.2045	0.1748	0.1695	0.1801	-	
73 <i>Opecoeloides furcatus</i>	0.1872	0.2088	0.1978	0.1925	0.1944	0.2069	-

Apéndice 8.3.2. (Continuación)