

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**“Variabilidad genética de algunas poblaciones de
Pseudocorynosoma constrictum Van Cleave, 1918
(ACANTHOCEPHALA) usando secuencias de
genes mitocondriales (Citocromo Oxidasa Subunidad I)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A

FRANCISCO JAVIER ALCÁNTAR ESCALERA



DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA

México, D.F., 2008



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.

Dedicatorias

Sin lugar a dudas dedico este esfuerzo a mis padres por haber forjado lo que soy ahora. Gracias papá por haberme inculcado el trabajo, honestidad y sencillez para realizarme. Gracias por tu apoyo, sobre todo moral, que es aún el más importante, gracias por ser mi ejemplo de superación.

Por supuesto al ser humano, que aparentemente es el más débil y frágil, pero que esconde en su naturaleza de madre una fortaleza que me ha cobijado. Su calidez ha sido determinante para que me haya conducido con seguridad y rectitud. Sin duda sin su sola presencia no hubiera sido posible la culminación de este esfuerzo. Gracias mami.

A esas tres mujeres que también pusieron su grano de arena para que pudiera llegar a la meta.

Gracias por esa unión fraternal que me han brindado y que también es otro elemento fundamental que me impulso para cumplir mi objetivo.

Gracias Isabela, Berende y a la tucita Maricruz.

No puede faltar el otro cimiento importante en la vida de una persona para sentirse plena. Esta tesis también esta dedicada a mi persona especial, esa que ha sido mi escucha, mi respaldo y que me reconforta en mis tropiezos. A mi niña, que cuando volteo, esta ahí acompañándome, y que con ella, comparto momentos buenos y malos. Gracias corazón por corresponderme, por tu motivación y consejos: para ti es este trabajo.

Agradecimientos

Por su tiempo y confianza agradezco al Dr. Martín García Varela por facilitarme las condiciones para que pudiera realizar este trabajo así como por permitirme ser participe de su equipo de investigación. Agradezco al Dr. Gerardo Pérez-Ponce de León, al M. en C. Luis García Prieto, al

M. en C. Andrés Martínez Aquino y a la M. en C. Mirza Patricia Ortega Olivares por sus sugerencias y correcciones además por ser parte de mi jurado.

A la M. en C. Berenit Mendoza por las imágenes de microscopía electrónica, a la M. en C. Laura Marquéz por la secuenciación de fragmentos de ácidos nucleicos.

A mis amigos: Ross, Betty, Polo “Simón” Alejandro, Daniel el “salcitas”, Roberto “tripas” Salazar, al “Jar”, Mirza y Ana Lucía por su sincero consejo, a las “poks” Monica y Diana, Andrés, Miriam, Ariel el “Hoover”, Arturo Wilkins, a mi compa Luis Alberto, a Guillermo el “coreano” y Sandrilú.

Índice

I. INTRODUCCIÓN	
I.I. Características generales del phylum Acanthocephala	3
I.II. Características generales de la familia Polymorphidae Meyer, 1931.....	3
I.III. Historia del género <i>Pseudocorynosoma</i> Aznar F. J., Pérez-Ponce de León G., y Raga J.A.,.....	4
I.IV. Ciclo de vida de <i>Pseudocorynosoma constrictum</i>	5
I.V. Generalidades de la familia Anatidae Vigors, 1825	7
I.VI. Marcadores moleculares	8
II. JUSTIFICACIÓN	9
III. OBJETIVOS	
III.I. Generales	9
III.II. Particulares	9
IV. MATERIAL Y MÉTODO	
IV.I. Recolecta del material biológico	10
IV.II. Aislamiento del DNA genómico	10
IV.III. Amplificación y secuenciación del gen Citocromo Oxidasa Subunidad I (cox I)	11
IV.IV. Purificación de los productos de PCR, clonación y secuenciación	12
IV.V. Alineación múltiple y análisis filogenéticos	13
V. RESULTADOS	
V.I. Morfología	13
V.II. Datos moleculares	16
VI. DISCUSIÓN	20
VII. CONCLUSIONES	23
VIII. Literatura citada	24
IX. Apéndice	
IX.I. Alineamiento	28

I. INTRODUCCIÓN

I.I. *Características generales del phylum Acanthocephala*

El phylum Acanthocephala está constituido por más de 1, 100 especies de endoparásitos, que alternativamente usan vertebrados e invertebrados para completar su ciclo de vida. Estos helmintos parásitos son organismos pseudocelomados, de cuerpo blando, cilíndricos, de simetría bilateral y se caracterizan por tener una estructura retráctil cubierta de ganchos llamada proboscis, carecen de sistema respiratorio, circulatorio y aparato digestivo, por lo que absorben los nutrientes a través del tegumento del cuerpo y son depositados en el sistema lacunar que funciona como un aparato circulatorio (Nickol, 1985; Kennedy, 2006).

El phylum Acanthocephala está dividido en cuatro clases: Archiacanthocephala Meyer, 1931; Eoacanthocephala Van Cleave, 1936; Polyacanthocephala Amin, 1987 y Palaeacanthocephala Meyer, 1931; considerando caracteres morfológicos, ecológicos y moleculares (Amin, 1985; Brusca y Brusca 2002; Near, et al., 1998; García-Varela et al., 2002). Las clases se diferencian con base en caracteres morfológicos como la localización del sistema lacunar, la persistencia del saco de ligamento en hembras, el número y forma de las glándulas de cemento presentes en machos, el número y tamaño de ganchos en la proboscis, el tipo de hospedero definitivo e intermediario (Amin, 1985).

I.II. *Características generales de la familia Polymorphidae Meyer, 1931*

La familia Polymorphidae (Palaeacanthocephala) es un grupo de endoparásitos que en estadio adulto se asocian con aves marinas ictiófagas, anátidos y mamíferos marinos. La familia está constituida por 127 especies clasificadas en 10 géneros (Schmidt, 1973; Nickol, 1985; Aznar et al., 2006). Los géneros se distinguen morfológicamente por la forma de la proboscis, el patrón de espinas en el tronco, el número de glándulas de cemento (4 a 8) y por el tipo de hospedero intermediario y definitivo (Tabla 1).

Tabla 1. Géneros de la familia Polymorphidae

Género	Hospedero intermediario	Hospedero definitivo
<i>Andracantha</i> Schmidt, 1975	Crustáceos	Aves ictiófagas
<i>Arhythmorhynchus</i> Luhe, 1911	Crustáceos	Aves ictiófagas
<i>Bolbosoma</i> Porta, 1908.	Crustáceos	Cetáceos
<i>Pseudocorynosoma</i> Aznar, et al., 2006	Anfípodos	Anátidos
<i>Diplospinifer</i> Fukui, 1929	Crustáceos	Cetáceos
<i>Proflicollis</i> Luhe, 1911	Decápodos	Aves ictiófagas
<i>Hexaglandula</i> Petrochenko 1950	Decápodos	Aves ictiófagas
<i>Polymorphus</i> Luhe, 1911	Anfípodos	Aves ictiófagas y Anátidos
<i>Southwellina</i> Witenberg 1932	Decápodos	Aves ictiófagas, Aves filtradoras
<i>Corynosoma</i> Luhe, 1904	Anfípodos e Isópodos	Pinípedos

I.III. Historia del género Pseudocorynosoma Aznar F. J., Pérez-Ponce de León G. y Raga J.A., 2006.

Las especies del género *Pseudocorynosoma* se distribuyen en Norte y Sudamérica como endoparásitos de anátidos dulceacuícolas. Con base en caracteres morfológicos, el género contiene 5 especies: *P. constrictum* Van Cleave, 1918 (especie tipo); *P. anatarium* Van Cleave, 1945; *P. enrietti* Molfie y Freitas, 1953; *P. iheringi* Machado Filho, 1961 y *P. peposacae* Porta, 1914 (Aznar et al., 2006).

Van Cleave (1918) describió a *Pseudocorynosoma constrictum* (antes clasificado en el género *Corynosoma* Luhe, 1904) del intestino de *Anas americana* Gmelin, 1789, en el lago de Yellowstone, Wyoming, E.U. *Pseudocorynosoma constrictum* se caracteriza por presentar una proboscis ovoide armada con 16 hileras de ganchos, en donde cada hilera contiene de 10 a 12 ganchos. Los ganchos basales y apicales de la proboscis son los más pequeños, midiendo de 0.035 mm a 0.041 mm y 0.030 a 0.041 mm, respectivamente, mientras que los ganchos de la parte media de la proboscis son más grandes midiendo de 0.041 mm a 0.047 mm de longitud. *Pseudocorynosoma constrictum* presenta una constricción en la región anterior del tronco cubierta de espinas de forma triangular que se extiende hasta la tercera parte del tronco. Los machos y las hembras presentan espinas cuticulares en la región genital, de forma curvada y son de diferentes tamaños; poseen lemniscos tubulares más largos que el receptáculo de la proboscis, el aparato reproductor masculino está conformado por 2 testículos arreglados en tándem y 4

glándulas de cemento tubulares (Aznar et al., 2006). Los huevos embrionados tienen una longitud de 0.0799 a 0.108 mm y un diámetro de 0.12 a 0.16 mm. El cuerpo es fusiforme y en los machos mide de 2.28 mm a 4.3 mm de longitud con un diámetro máximo de 0.5 mm a 0.6 mm. Las hembras miden aproximadamente 3.3 mm con un diámetro de 0.8 mm.

I.IV. Ciclo de vida de *Pseudocorynosoma constrictum*

Pseudocorynosoma constrictum es un parásito generalista que se ha registrado en el intestino de más de 13 especies de anátidos (Keithly, 1968) y es considerado como el acantocéfalo más abundante en Norteamérica (Tabla 2). Las hembras sexualmente maduras, liberan huevos a través de las heces de su hospedero definitivo (patos), los cuales son ingeridos por un anfípodo, *Hyalella azteca* Saussure, 1858, que funciona como hospedero intermediario (Keithly, 1968). En *H. azteca* se desarrollan tres estadios larvales: acantor, acantela y cistacanto, este último es la fase infectiva (Fig. 1). La transmisión ocurre cuando el hospedero definitivo ingiere al cistacanto completamente formado que se encuentra en el hemocele de *H. azteca* (Keithly, 1968; Podesta y Holmes, 1970). En *H. azteca* se presentan cambios en su comportamiento, coloración y algunas veces su castración o muerte, debido a la presencia de las larvas de *P. constrictum* en su cuerpo; estas son estrategias del parásito para completar su ciclo de vida. (Podesta y Holmes, 1970; Benesh et al., 2005; Duclos et al., 2006).

Tabla 2. Registros de *P. constrictum* en Norteamérica.

Hospederos	Distribución	Referencias
<i>Anas acuta</i> Linnaeus, 1758	Illinois, USA.	Van Cleave and Starret, 1940
	Illinois, USA.	Van Cleave, 1945
	British Columbia, USA.	Van Cleave, 1945
	Michigan, USA.	Van Cleave, 1945
	Wisconsin, USA.	Van Cleave, 1945
	Alaska, USA.	Schmidt, 1965
	Alaska, USA.	Petrochenko, 1958
	Washington, USA.	Priebe, 1952
	Kansas, USA.	Buscher, 1965
	Manitoba, Canada.	Buscher, 1965
	Texas, USA.	Buscher, 1965
	New Mexico, USA.	Mayberry et al., 2000
	Texas, USA.	Mayberry et al., 2000
	Arizona, USA.	Mayberry et al., 2000
	Alberta, Canada.	Crichton and Welch, 1972
<i>Anas americana</i> Gmelin, 1789	Canada.	Turner and Threlfall, 1975
	Iowa, USA.	Van Cleave, 1945
<i>Anas clypeata</i> Linnaeus, 1758	Alaska, USA.	Petrochenko, 1958
	Kansas, USA.	Buscher, 1965
	Manitoba, Canada.	Buscher, 1965

	Texas, USA.	Buscher, 1965
	Texas, USA.	Broderson et al., 1977
	New México, USA.	Mayberry et al., 2000
	Texas, USA.	Mayberry et al., 2000
<i>Anas cyanoptera</i> Vieillot, 1816	New México, USA.	Mayberry et al., 2000
	Texas, USA.	Mayberry et al., 2000
	Texas, USA.	Wilkinson et al., 1977
	Texas, USA.	Canaris et al., 1981
<i>Anas discors</i> Linnaeus, 1766	British Columbia, USA.	Van Cleave, 1945
	North Dakota, USA.	Van Cleave, 1945
	Oklahoma, USA.	Van Cleave, 1945
	Alaska, USA.	Petrochenko, 1958
	Nebraska, USA.	Benesh et al., 2005
	Nebraska, USA.	Duclos et al., 2006
	Washington, USA.	Priebe, 1952
	Kansas, USA.	Buscher, 1965
	Manitoba, Canada.	Buscher, 1965
	Texas, USA.	Buscher, 1965
<i>Anas formosa</i> Georgi, 1775	North Dakota, USA.	Van Cleave, 1945
	New Jersey, USA.	Van Cleave, 1945
<i>Anas platyrhynchos</i> Linnaeus, 1758	Illinois, USA.	Van Cleave and Starret, 1940
	Iowa, USA.	Van Cleave, 1945
	British Columbia, USA.	Van Cleave, 1945
	Alaska, USA.	Petrochenko, 1958
	Alberta, Canada.	Crichton and Welch, 1972
<i>Anas platyrhynchos diazi</i> Linnaeus, 1758	Aguascalientes, Mexico.	Farias and Canaris, 1986
	Durango, México.	Farias and Canaris, 1986
	Jalisco, Mexico.	Farias and Canaris, 1986
	Chihuahua, México.	Farias and Canaris, 1986
	Texas, USA.	Farias and Canaris, 1986
	New México, USA.	Farias and Canaris, 1986
<i>Anas strepera</i> Linnaeus, 1758	New México, USA.	Mayberry et al., 2000
	Texas, USA.	Mayberry et al., 2000
	Alaska, USA.	Petrochenko, 1958
	Kansas, USA.	Buscher, 1965
	Manitoba, Canada.	Buscher, 1965
	Texas, USA.	Buscher, 1965
<i>Aythya affinis</i> Eyton, 1838	Alaska, USA.	Schmidt, 1965
	British Columbia, USA.	Van Cleave, 1945
<i>Bucephala albeola</i> Linnaeus, 1758	Washington D.C, USA.	Priebe, 1952
	Manitoba, Canada.	Ewart and McLaughlin, 1990
<i>Fulica americana</i> Gmelin, 1789	Ohio, USA.	Van Cleave, 1945
<i>Larus philadelphia</i> Ord, 1815	Alaska, USA.	Schmidt, 1965
<i>Melanitta perspicillata</i> Linnaeus, 1758	Alaska, USA.	Schmidt, 1965
<i>Oxyura jamaicensis</i> Gmelin, 1789	Illinois, USA.	Van Cleave, 1945
	Iowa, USA.	Van Cleave, 1945
	Ohio, USA.	Van Cleave, 1945
	Oklahoma, USA.	Van Cleave, 1945
	Illinois, USA.	Van Cleave and Starret, 1940

Continuación de la Tabla 2

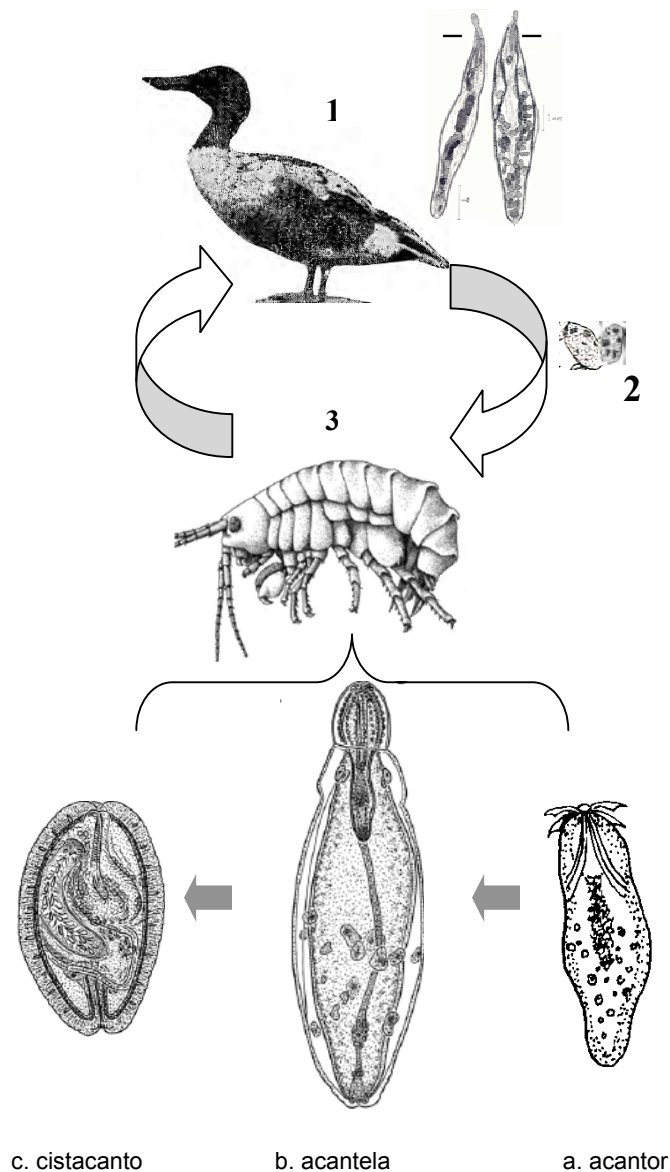


Fig. 1. Ciclo de vida de *Pseudocorynosoma constrictum*. 1) adultos en el intestino del hospedero definitivo; 2) huevos; 3) anfípodo, hospedero intermediario (*Hyalella azteca*); a) Acanthor; b) Acanthela; c) Cistacanto. Tomado y modificado de Duclos et al., 2006.

I.V. Generalidades de la familia Anatidae Vigors, 1825

La familia Anatidae está representada por patos, cisnes y gansos; presenta una distribución cosmopolita excepto en la Antártida. *Anatidae* cuenta con 5 subfamilias: Dendrocygninae, Anserinae, Stictonettinae, Tadorninae y Anatinae. *Anatidae* cuenta con 145 especies, de las cuales 43 anidan en Norteamérica y 5 que anidan en Eurasia visitan regularmente el Continente Americano (Ankney y Afton, 1988).

Los anátidos poseen una membrana interdigital. Esta membrana une los dedos desde la base a la punta, les permite nadar y bucear con gran velocidad. Poseen picos anchos y aplanados con pequeñas láminas filtrantes a lo largo de los bordes laterales que,

a simple vista, semeja una dentadura. Esta es una adaptación al tipo de hábitos alimenticios filtradores. Su dieta esta formada de granos, plantas acuáticas, invertebrados y peces. En los patos existen algunas variaciones en la forma de los dedos posteriores dependiendo de sus hábitos. Los patos que se alimentan en aguas someras (llamados patos de superficie), tienen el dedo posterior no lobulado, en cambio los que se alimentan en aguas profundas (patos buceadores), tienen el dedo libre lobulado; los patos arbóreos, tienen uñas más largas para posarse en las ramas. Los patos se distinguen de los cisnes y los gansos por poseer las patas y el cuello más corto con relación al tamaño del cuerpo. Generalmente presenta dimorfismo sexual y el cuidado del nido y las crías esta a cargo de las hembras (Ankney y Afton, 1988; Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2006).

I.VI. Marcadores moleculares

Los marcadores moleculares son moléculas (secuencias de DNA, RNA y proteínas) que aportan información genética y funcionan como señales de diferentes regiones del genoma que permiten detectar variación entre especies, poblaciones e individuos (Avisé, 2004). Los marcadores moleculares más utilizados para diferenciar especies o poblaciones de helmintos son las regiones de los espaciadores internos transcritos (ITS) del DNA nuclear y los genes del DNA mitocondrial como el Citocromo Oxidasa Subunidad I (cox I), la Subunidad mayor del RNA mitocondrial (16S) y la subunidad 4 deshidrogenasa (NDH4). Una de las razones que justifica su uso es que presentan regiones variables. En animales, el DNA mitocondrial es un genoma circular con aproximadamente 16,569 pares de bases y se ha utilizado como marcador molecular para delimitar especies, especies crípticas o poblaciones debido a su alta tasa de mutación y a su herencia materna la cual es independiente al DNA nuclear (Cruickshank, 2002; Steinauer et al., 2007). Sin embargo, en algunos organismos se ha reportado la presencia de pseudogenes mitocondriales, los cuales están asociados con el uso de primers universales (Benesh et al., 2006).

II. JUSTIFICACIÓN

Pseudocorynosoma constrictum presenta una alta variación fenotípica, amplia distribución geográfica en Norteamérica y además parásita el intestino de varias especies de anátidos de distribución simpátrida. Esto pudiera sugerir que *P. constrictum* también presentara una amplia variación genética intraespecífica debido a su alto potencial de colonización en diferentes especies de anátidos. Por lo tanto *P. constrictum* representa un modelo para someter a un estudio de prospección molecular (variación genética intraespecífica) y tratar de entender las asociaciones parasitarias entre distintas especies de anátidos con afinidades filogenéticas, que pueden ser explicadas por patrones ecológicos de activación de hospederos (host-sharing) (Brooks y McClenan, 1993).

La asociación de *P. constrictum* con los anátidos pudiera sugerir una transferencia horizontal, la cual puede ser probada con la comparación de las filogenias de las poblaciones de *P. constrictum* y con la de sus hospederos.

III. OBJETIVOS

III.I Generales

- Validar la identidad taxonómica de las 8 poblaciones de *Pseudocorynosoma constrictum* a través de un análisis morfológico y molecular, utilizando como marcador el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I.

III.II Particulares

- Estimar la variación genética entre las poblaciones de *Pseudocorynosoma constrictum* a través de un análisis de distancias genéticas.

IV. MATERIAL Y MÉTODO

IV.I *Recolecta del material biológico*

Durante el invierno de 2006 y 2007, se recolectaron siete especies de patos en diferentes localidades de México: *Anas clypeata*, *A. crecca*, *A. strepera*, *A. cyanoptera*, *A. diazi*, *Aythya americana* y *Aythya affinis* (Tabla 3). El intestino de cada ave fue extraído y colocado en cajas de Petri con solución salina al 0.75 %. Posteriormente el intestino se examinó bajo el microscopio estereoscópico en busca de acantocéfalos. Algunos ejemplares se preservaron directamente en etanol al 100%, este método permite la adecuada fijación de los organismos y del material genético. Otros ejemplares se colocaron en el refrigerador a 4 °C con agua destilada por 24 horas con el fin de que los organismos evertieran la proboscis. Posteriormente se preservaron en etanol al 70% para su identificación morfológica. Los ejemplares preservados para el estudio morfológico se tiñeron usando la técnica de tinción de Paracarmín de Meyer, posteriormente éstos fueron montados en preparaciones permanentes usando bálsamo de Canadá. Los organismos fueron determinados usando las claves morfológicas de Petrochenko, 1958 y Yamaguti, 1963. Adicionalmente se revisó la descripción original de la especie *P. constrictum* realizada por Van Cleave 1918. Además los ejemplares se midieron usando un microscopio óptico (Olympus modelo, BX40F-3, Japón) y un ocular micrométrico. Las medidas de los organismos están en milímetros y se tomaron de un analizador de imágenes. Los ejemplares se depositaron en la Colección Nacional de Helmintos del Instituto de Biología de la UNAM (Tabla 3).

IV.II *Aislamiento del DNA genómico*

Los organismos preservados directamente en etanol absoluto se colocaron en una solución de digestión que contenía 100 µl de la mezcla (100mM Tris HCl pH 7.6, 200mM NaCl, 10% Sarkosyl, Proteinasa K, Agua Ultrapura). Posteriormente la solución con el tejido se incubó a 56 °C por 12 horas. Finalmente el DNA fue aislado con el reactivo de DNazol (Chomczynski et al., 1997) (Invitrogene, CA, USA) y resuspendido en 25 µl de agua bidestilada.

Tabla 3. Registros de *Pseudocorynosoma constrictum*. Los números entre paréntesis son los accesos de las secuencias de los hospederos obtenidas de la base de datos del Gen Bank.

Hospedero No. de acceso de Genbank	Nombre común	Localidad	Coordenadas	No. de Catalogo
<i>Anas clypeata</i> (EF515737)	Pato cucharón	El Huizache, Sinaloa	23° 05' 28" N; 106° 15' 57" W	6271
<i>Anas clypeata</i>		Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	19° 11' 20" N; 99° 29' 30" W	5720
<i>Anas crecca</i> (EF515738)	Cerceta alas vedes	Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	19° 11' 20" N; 99° 29' 30" W	-----
<i>Anas cyanoptera</i> (DQ433311)	Cerceta canela	Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	19° 11' 20" N; 99° 29' 30" W	6270
<i>Anas platyrhynchos diazi</i> (AF059069)	Pato triguero	Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	19° 11' 20" N; 99° 29' 30" W	-----
<i>Anas strepera</i> (DQ432726)	Pato pinto	Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	19° 11' 20" N; 99° 29' 30" W	-----
<i>Aythya americana</i> (DQ434317)	Pato cabeza roja	Tecocomulco, Hidalgo	19° 42' 13.7" N; 98° 11' 30" W	----
<i>Aythya affinis</i> (DQ432757)	Pato boludo chico	Nueva Ideal, Durango	24° 53' 00" N; 104° 55' 26" W	5881

IV.III Amplificación y secuenciación del gen citocromo oxidasa subunidad I (*cox I*)

La amplificación del gen mitocondrial *cox I* se llevo a cabo por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La mezcla de reacción de PCR contenía un volumen final de 25 µl, con 2 µl de DNA genómico; 2.5 µl de buffer de reacción 10X, 1.5 µl de MgCl₂, 0.5 µl de dNTP's (Promega, Madison USA), 1 µl del primer 507 forward (5'-AGTTCTAATCATAARGATATYGG-3'); 1 µl del primer 588 reverse (3'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-5') (Folmer et al., 1994); 0.125µl de la enzima (equivalente a media unidad) Taq polimersa Platinum (Invitrogene, CA, USA) y 16.375 µl de agua destilada. Las muestras se incubaron en un termociclador (PTC 100, MJ Reesearch Inc) con un programa que consistía de un paso inicial de desnaturalización de 94°C por 3 minutos, un período de alineación de 1 min. a 40°C y un período de extensión por 72°C por 1 minuto, seguido por 35 ciclos. El programa se completó con un período de extensión final de 72°C por 5 minutos. Los productos amplificados fueron separados y evaluados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio en un buffer de Tris-Boratos (TBE 1X) (Fig. 2).

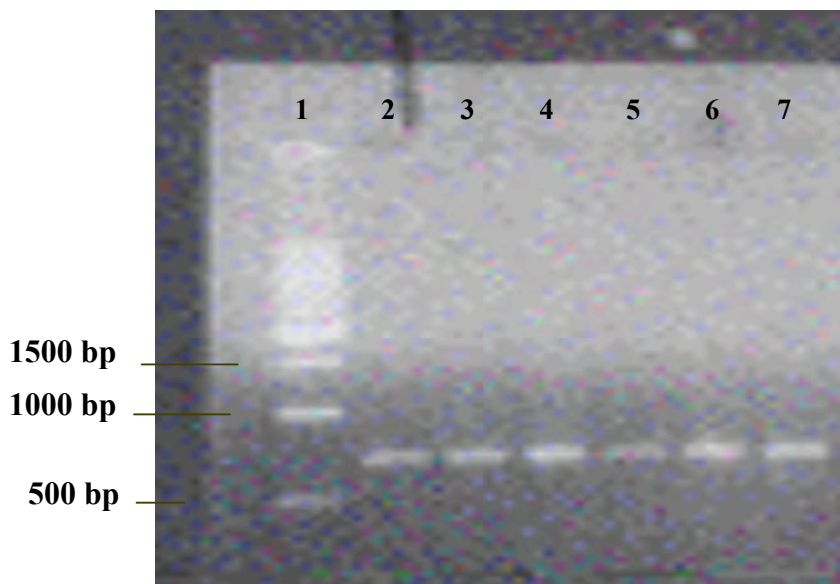


Fig. 2. Gel de agarosa teñido con bromuro de etidio al 1 %. Carril 1, marcador de peso molecular; carriles 2-7 muestran el producto de PCR del amplificado que corresponde a un fragmento del gen citocromo oxidasa subunidad I del DNA mitocondrial.

IV.IV Purificación de los productos de PCR, clonación y secuenciación

Los productos de PCR se limpiaron usando las enzimas EXO-SAP (USB®), seguido de una incubación a 37°C durante 15 minutos, posteriormente una incubación a 80°C por 15 min fue llevada a cabo para desactivar las enzimas. Otros productos de PCR se filtraron usando las columnas de millipore (Ultra-Free Mc, Amicon, Bedford, MA, USA), para posteriormente ser ligado al vector PGEM-T Vector system II (Promega, Madison, WI, USA) usando la siguiente mezcla de reacción, 5 µl Buffer 2X Ligation, 1 µl T4 DNA Ligase, 0.7 µl del Vector (50 ng) y 3.3 µl de producto PCR previamente filtrado con las columnas de millipore. Finalmente la reacción de ligación se incubó a 4 °C por 12 horas. Se utilizó 5 µl de la mezcla de ligación para realizar la transformación de los plásmidos recombinantes usando células competentes (*Escherichia coli* cepa JM109) y los reactivos IPTG, X-Gal y un antibiótico (Ampicilina 50 ng/ml). Se seleccionaron las colonias bacterianas con los plásmidos recombinantes que contenían el inserto de interés y se crecieron en medio bacteriano LB (Luria Broth) con ampicilina durante 24 horas, para posteriormente aislar el plásmido recombinante usando el kit de purificación (QIAGEN, CA, USA). La reacción de secuenciación de los productos de PCR y de los

plásmidos recombinantes se llevó a cabo en una mezcla de reacción de 10 μ l, que contenía: 2 μ l de buffer, 1 μ l del primer, 2 μ l Big Dye, 2 μ l de agua megapura y 3 μ l de DNA. Finalmente, la reacción de secuenciación fue analizada en un secuenciador automático marca Perkin Elmer modelo 310.

IV.V Alineamientos múltiples y análisis filogenéticos

Los electroferogramas derivados del secuenciador automático fueron evaluados y ensamblados con el programa de cómputo Codoncode corporation (VERSION1.5.2) Las secuencias consenso del cox I de cada población fueron alineadas con el programa de cómputo Clustal X. En total 8 secuencias del cox I de las poblaciones de *P. constrictum*, más una secuencia de *P. anatarium*, especie usada como grupo externo, fueron alineadas, formando una base de datos de 655 nucleótidos. Las secuencias del cox I de los hospederos definitivos en donde se recolectaron los parásitos fueron obtenidas de la base de datos del Genbank (Tabla 3), formando una base de datos de 8 taxa con 642 nucleótidos. Las distancias genéticas entre los taxa fueron estimadas usando el método de Jukes-Cantor (1969). Los análisis filogenéticos se llevaron a cabo con el método de Neighbor-joining (NJ). El soporte de las ramas de los árboles fue estimado usando el método de remuestreo de bootstrap con 10, 000 réplicas, utilizando el programa de cómputo PAUP (Swofford, 2002).

V. RESULTADOS

V.I Morfología

Los acantocéfalos extraídos del intestino de los patos fueron determinados como *Pseudocorynosoma constrictum* siguiendo la descripción de la especie realizada por Van Cleave, 1918. Los ejemplares presentan las siguientes características morfológicas: proboscis ovoide con una longitud de 0.39 a 0.55 mm y un diámetro de 0.13 a 0.24 mm en los machos; las hembras presentan una proboscis con una longitud de 0.41 a 1.3 mm con un diámetro de 0.19 a 1.9 mm. Los dos sexos poseen un cuello cónico, en el tronco presentan una constricción en la región anterior cubierta de espinas de forma triangular (Fig. 3A y 3B). Machos y hembras presentaron espinas cuticulares alrededor de la apertura genital, que es característico de la especie (Fig. 3C y 3D). El aparato reproductor masculino está formado por 2 testículos arreglados en tándem y 4 glándulas de cemento tubulares, mientras que en las hembras los huevos son ovoides (Fig. 4). El cuerpo de los machos es más pequeño con una longitud de 3.9 a 6.4 mm y un diámetro de 0.9 a 1.1 mm, mientras que las hembras tienen una longitud de 5.3 a 8.6 mm con un diámetro de 0.91 a 1.9 mm y (Tabla 4). La especie *Pseudocorynosoma anatarium* la cual fue registrada en el pato *Bucephala albeola* en los estado de Durango, Sinaloa y Baja California Sur, se diferencia de *P. constrictum* por presentar una proboscis armada con 14 hileras de ganchos con 8 o 9 ganchos en cada hilera. La determinación taxonómica de *P. anatarium* fue basada en la descripción original (Van Cleave, 1945).

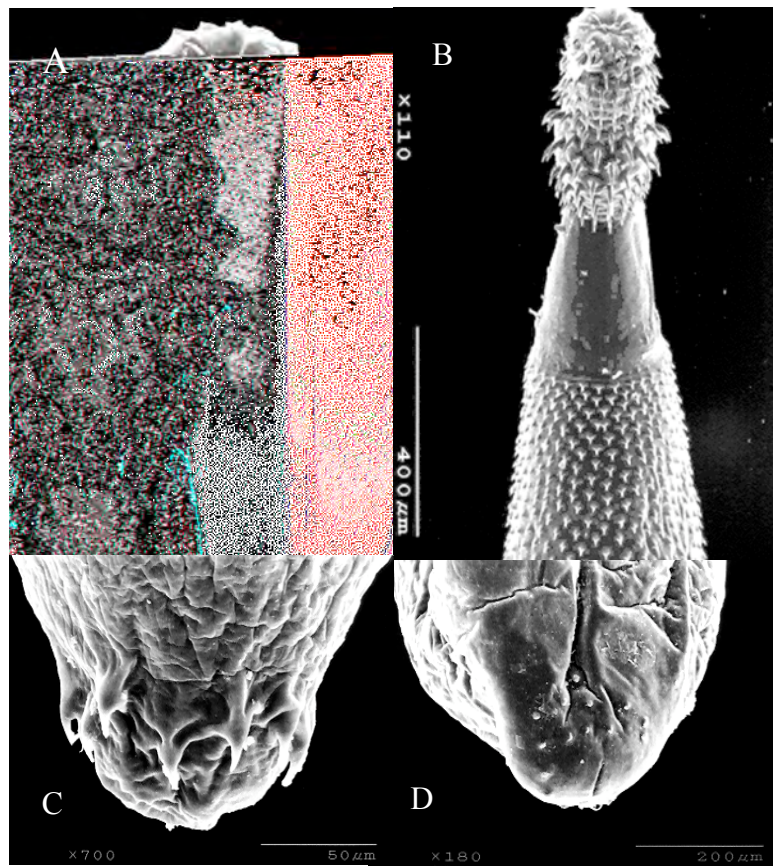


Fig. 3. Microfotografías electrónicas. A) Proboscis; B) Proboscis y tronco en donde se muestran las espinas triangulares; C) Espinas genitales de un macho; D) Espinas genitales de una hembra.

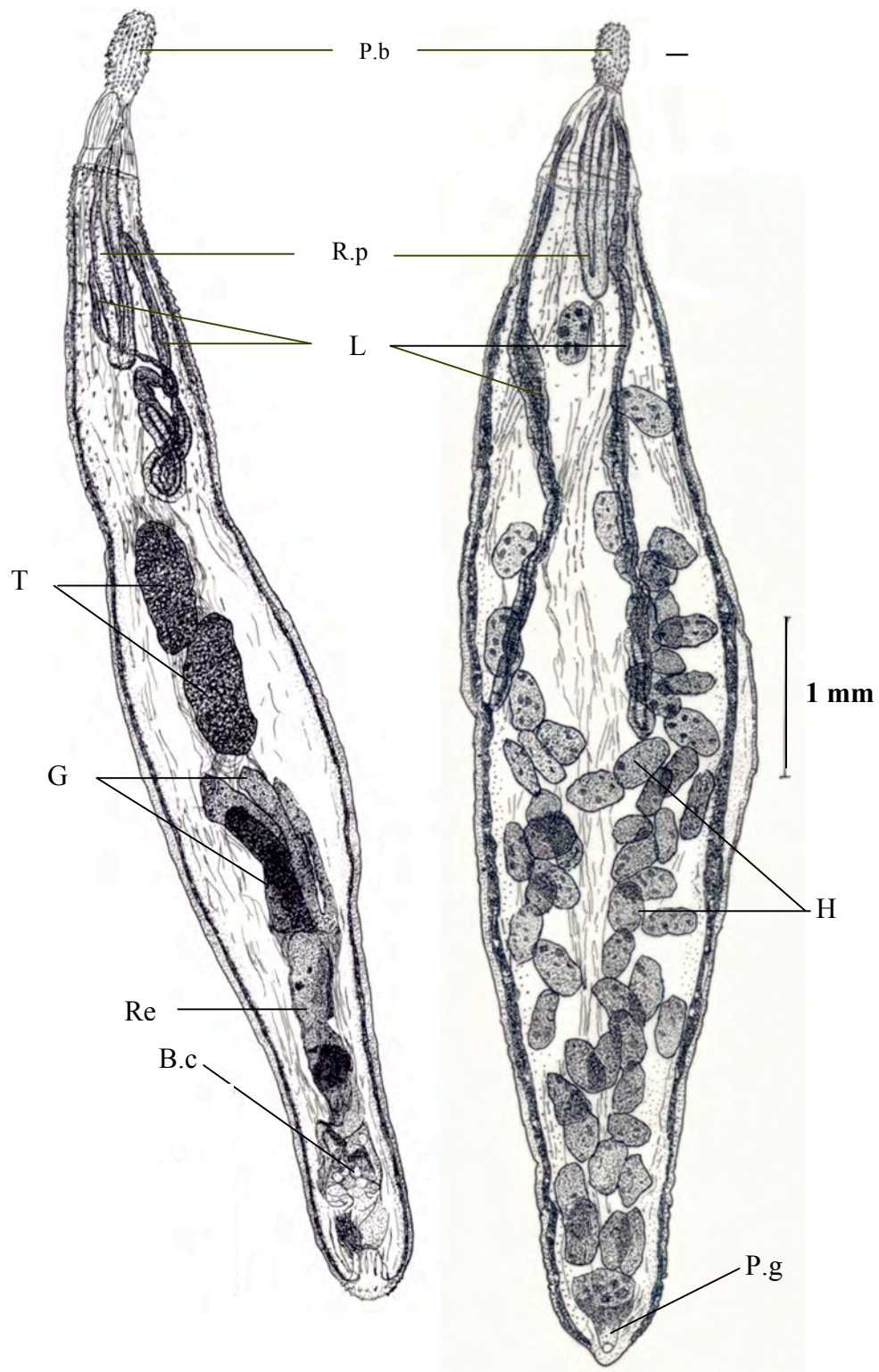


Fig. 4. Morfología del macho y hembra de *Pseudocorynosoma constrictum*. **P.b**, Proboscis; **R.p**, Receptáculo de la proboscis; **L**, Lemniscos; **T**, Testículos; **G**, Glándulas de cemento; **Re**, reservorio de cemento; **B.c**, bursa copulatrix; **H**, huevos; **P.g**, poro genital de la hembra.

Tabla 4. Medidas en milímetros del cuerpo y la proboscis de *Pseudocorynosoma constrictum*. La descripción así como las medidas mencionadas están basadas en 8 machos y 15 hembras.

Localidad del ejemplar	Hospedero	Longitud de la proboscis	Diámetro de la proboscis	Longitud del cuerpo	Diámetro del cuerpo
Laguna de Chicnahuapan Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,462	0,214	6,429	1,018
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,469	0,205	5,666	0,932
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,416	0,199	5,038	0,965
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,416	0,199	5,038	0,965
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,406	0,135	5,949	0,955
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,551	0,242	6,119	1,115
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas cyanoptera</i>	0,463	0,202	4,290	1,001
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,395	0,165	3,982	0,943
Nueva Ideal, Durango	<i>Aythya affinis</i>	0,458	0,221	7,722	1,563
Nueva Ideal, Durango	<i>Aythya affinis</i>	0,492	0,197	4,792	0,911
Nueva Ideal, Durango	<i>Aythya affinis</i>	0,455	0,221	4,912	1,511
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,540	1,972	4,792	0,911
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas cyanoptera</i>	0,453	0,243	5,730	1,966
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	0,469	0,205	5,663	0,932
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	1,180	0,201	7,492	1,234
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	1,234	0,801	7,965	1,621
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	1,013	0,203	7,050	1,114
Laguna de Chicnahuapan, Estado de México	<i>Anas clypeata</i>	1,364	0,635	7,080	1,418
El Huizache, Sinaloa	<i>Anas clypeata</i>	0,770	0,356	5,371	1,273
El Huizache, Sinaloa	<i>Anas clypeata</i>	0,412	0,261	5,863	1,748
El Huizache, Sinaloa	<i>Anas clypeata</i>	1,023	0,212	6,262	1,643
Nueva ideal, Durango	<i>Aythya affinis</i>	0,483	0,203	8,66	1,732

V.II Datos moleculares

Las distancias genéticas entre las poblaciones de *P. constrictum* y *P. anatarium*, (especie usada como grupo externo para realizar el cladograma) tienen un rango del 16 al 18 % de divergencia genética, mientras que las poblaciones de *P. constrictum* tienen un rango de divergencia entre el 0.03 al 4.5 % (Tabla 5). El análisis de NJ mostró que las 8 poblaciones analizadas de *P. constrictum* comparten un ancestro común, con un soporte de bootstrap del 100 % (Fig. 5). Por otro lado, las distancias genéticas entre los hospederos de *P. anatarium* (*Bucephala albeola* Linnaeus, 1758) y *P. constrictum*

(miembros de los géneros *Anas* y *Aythya*) presentan entre 8 al 11% de divergencia., Entre especies del género *Anas* es del 2 al 8 %., entre las especies del género *Aythya* fue del 17% y entre las especies del género *Anas* y las especies del género *Aythya* fue del 2 al 17% de divergencia genética. El análisis de NJ mostró que el pato *Bucephala albeola* es la especie hermana de dos grupos de patos conformados por 2 especies del género *Aythya* y 5 especies del género *Anas*, respectivamente (Fig. 6).

Tabla 5. Distancias genéticas entre las poblaciones de *Pseudocorynosoma constrictum* y *Pseudocorynosoma anatarium*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>P. anatarium</i>	-								
2 <i>P. const</i> Estado de México	17.2	-							
3 <i>P. const</i> Estado de México	16.6	4.5	-						
4 <i>P. const</i> Estado de México	18.2	3.4	3.2	-					
5 <i>P. const</i> Hidalgo	17.4	1	0.6	3.9	-				
6 <i>P. const</i> Estado de México	17.2	1	1.2	2.3	1.8	-			
7 <i>P. const</i> Sinaloa	17	0.7	0.3	3.5	0.9	1.5	-		
8 <i>P. const</i> Estado de México	17.4	2.8	2.6	4	3.2	2.9	2.9	-	
9 <i>P. const</i> Durango	16.6	0.7	0.3	3.2	0.9	1.5	0.6	2.6	-

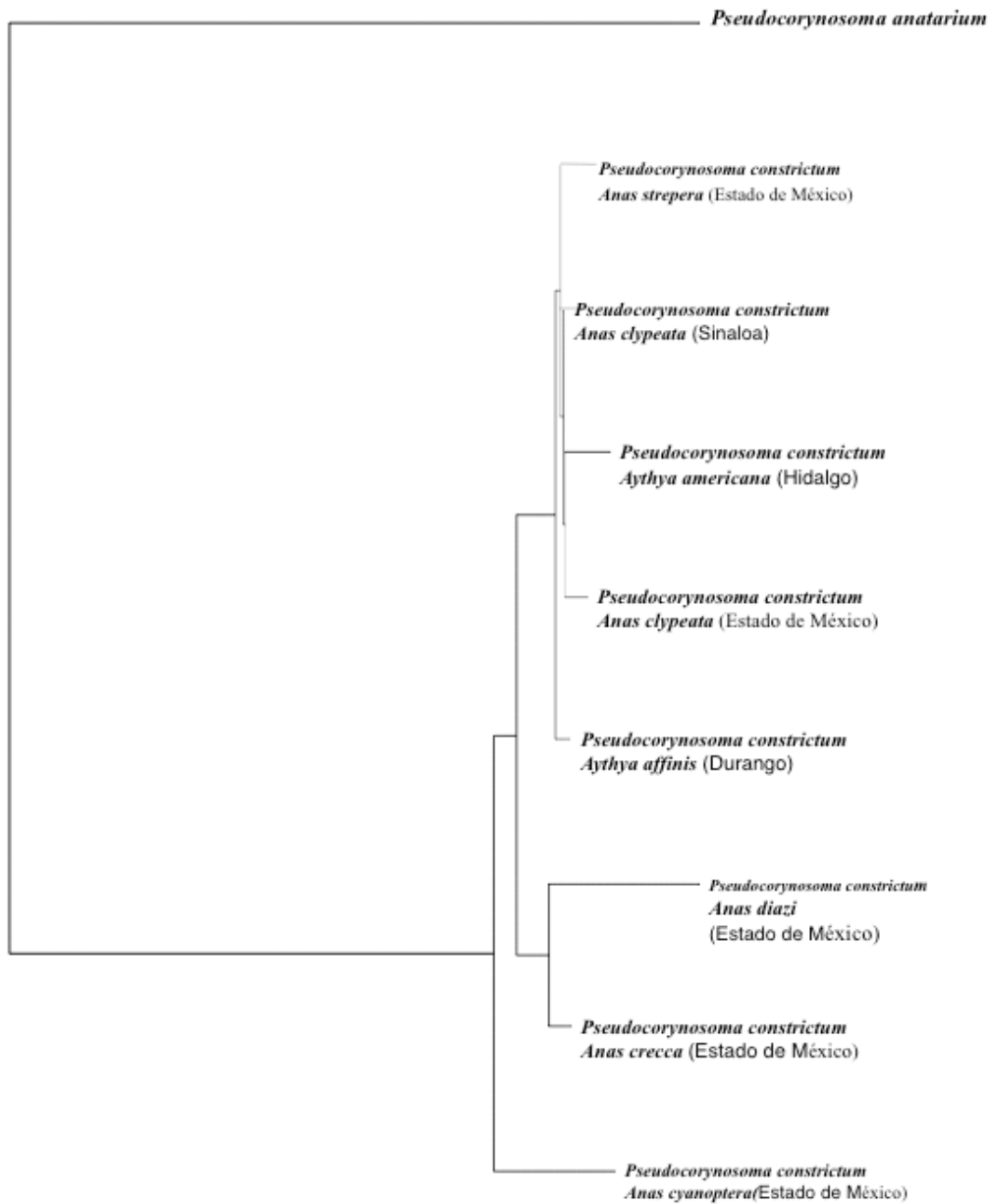


Fig. 5. Arbol filogenético basado en un análisis de Neighbor-joining donde se muestran las 8 poblaciones de *P. constrictum* con sus hospederos y localidad.

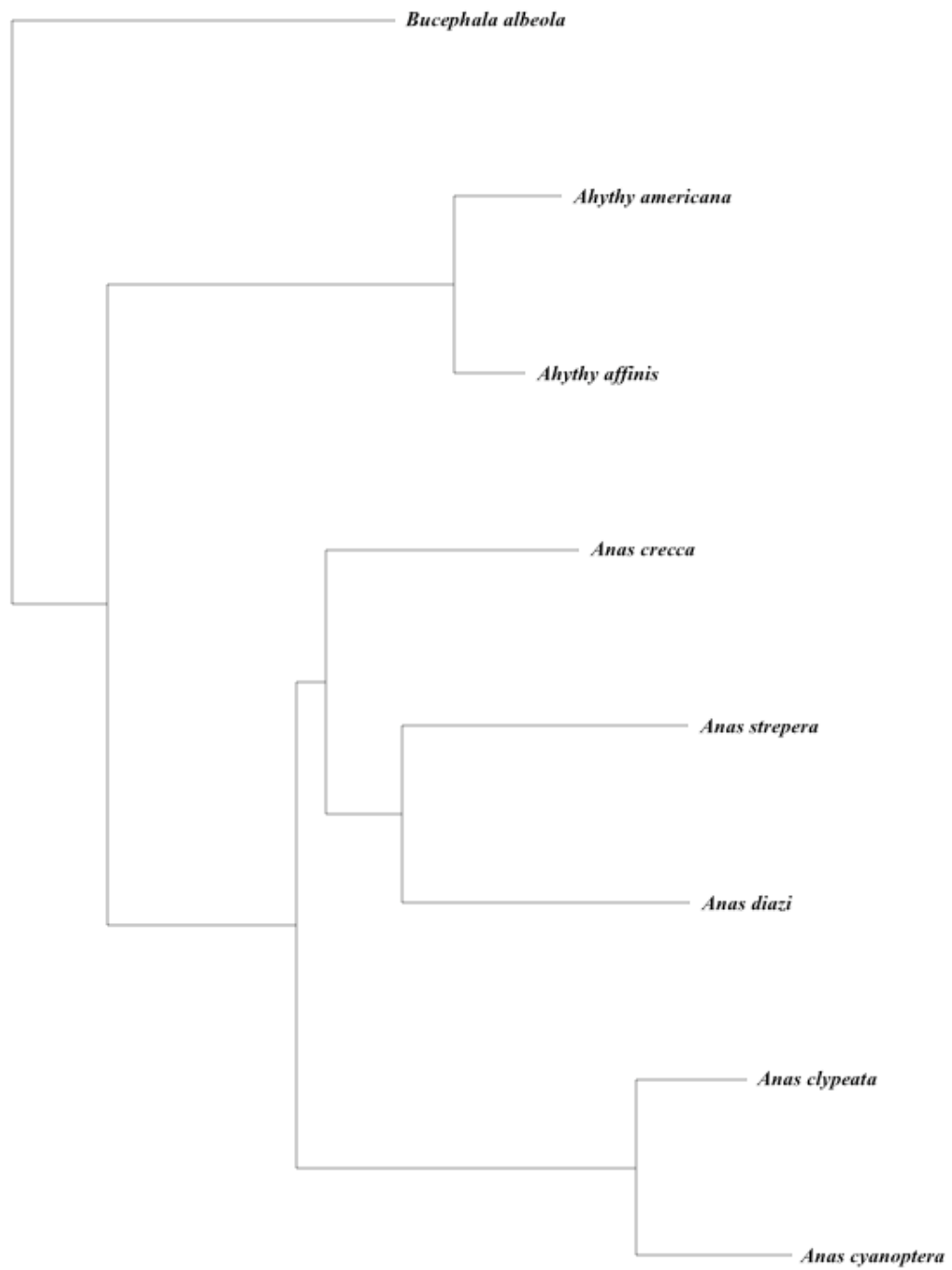


Fig. 6. Arbol filogenético basado en un análisis de Neighbor-joining de los hospederos de *Pseudocorynosoma constrictum*.

VI. DISCUSIÓN

Los acantocéfalos recolectados del intestino de los patos fueron determinados como *Pseudocorynosoma constrictum*, por presentar las características diagnósticas de la especie descrita por Van Cleave en 1918. Por ejemplo una proboscis ovalada armada con 16 hileras de 10 a 12 ganchos en cada una; la región anterior del cuerpo esta cubierta por espinas triangulares alcanzando un tercio del tronco; los machos presentan espinas alrededor del poro genital; 2 testículos en tándem y 4 glándulas de cemento; las hembras presentan huevos ovoides.

Pseudocorynosoma constrictum es un parásito especialista de anátidos de Norteamérica (Tabla 2) y exhibe una diversidad morfológica en cuanto a su talla, sin embargo los caracteres diagnósticos que definen a la especie (mencionados anteriormente) son constantes. La divergencia genética entre individuos de las 8 poblaciones de *P. constrictum* usando el cox I como marcador molecular oscila entre 0.03 y el 4 %. Estos rangos de divergencia poblacional son similares con poblaciones de otras especies de polimorfidos, por ejemplo *Corynosoma strumosum* Lühe, 1904; *Southwellina hispida* Van Cleave, 1925; *Polymorphus brevis* Van Cleave, 1916; *Profilicollis altmani* Perry, 1942; *Profilicollis botulus* Van Cleave, 1916 y *Hexaglandula corynosoma* Travassos, 1915. El rango de divergencia genética poblacional de estos polimorfidos fue 1 al 5 %. (García-Varela y Pérez-Ponce de León, 2008; Guillén-Hernández et al., 2008).

El análisis de NJ mostró que las 8 poblaciones de *P. constrictum* forman un grupo monofilético, lo que apoya la identidad taxonómica de estas poblaciones. Al comparar el árbol filogenético de las poblaciones de *P. constrictum* con el árbol filogenético de los hospederos, observamos que no presentan un patrón filogenético similar, sino más bien un proceso de transferencia horizontal (Fig. 7). Esta evidencia sugiere que la presencia de *P. constrictum* en los anátidos es debido a que los acantocéfalos han adicionado diferentes especies de hospederos en su ciclo biológico que comparten una dieta en común (Kennedy, 2006). El anfípodo *Hyaella azteca* (hospedero intermediario de *P. constrictum*) forma parte de la dieta de los anátidos ya que representa una fuente rica en proteínas (Reinecke y Owen, 1980; Brown y Fredrickson, 1986; Ankney y Afton, 1988).

Pseudocorynosoma constrictum fue previamente registrado en el pato mexicano *Anas platyrhynchos diazi* Linnaeus, 1758 en los estados de Jalisco y Aguascalientes.

(Farias y Canaris, 1986). Sin embargo, en el presente trabajo de tesis, *P. constrictum* fue colectado en el centro (Estado de México) de México por lo que el nuevo registro amplía el intervalo de distribución de este parásito. Aparentemente el ciclo de vida de *P. constrictum* puede ser completado en los humedales del centro de México debido a la presencia del anfipodo *Hyaella azteca* (Barba y Sánchez, 2006).

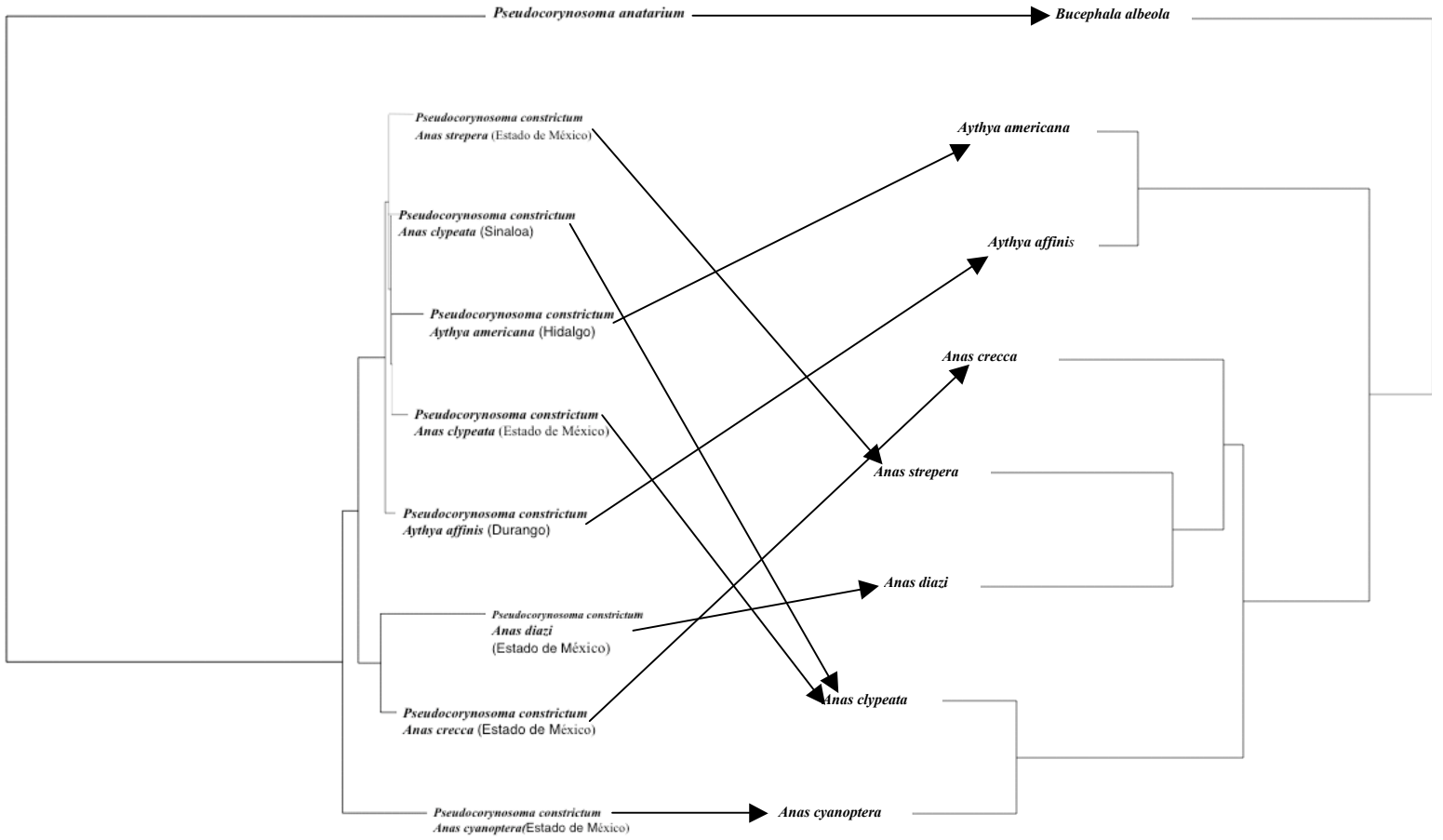


Fig. 7. Árboles filogenéticos de *Pseudocorynosoma constrictum* con sus hospederos.

VII. CONCLUSIONES

1. Los acantocéfalos recolectados de los intestinos de 7 especies de patos fueron determinados como *Pseudocorynosoma constrictum*.
2. La divergencia genética poblacional de *P. constrictum* usando cox I, como marcador molecular oscila entre el 0.03 al 4 %.
3. Los análisis filogenéticos indican que las 8 poblaciones de *P. constrictum* forman un grupo monofilético.
4. La presencia *P. constrictum* en los anátidos es debido a una transferencia horizontal debido que los anátidos se alimentan del anfípodo *Hyaella azteca* que funciona como hospedero intermediario de *P. constrictum*.
5. En el presente trabajo de tesis se amplía el intervalo de distribución de *P. constrictum* ya que se registro en humedales del centro de México, asociados a los anátidos. *Anas clypeata*, *Anas crecca*, *Anas cyanoptera*, *Anas strepera* y *Anas diazi*.

VIII. Literatura citada

Amin O. 1985. Cap: Classification, en *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press. 518 p.

Ankney D. C. and Afton A. D. 1988. Bioenergetics of breeding Northern Shovelers: diet, nutrient reserves, clutch size, and incubation. *The Condor* 90: 459- 472 p.

Avise J. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Sinauer associates, Inc. Miami. USA. 684 p.

Aznar F. J., Pérez-Ponce de León G. and Raga J.A. 2006. Status of *Corynosoma* (Acanthocephala: Polymorphidae) based on anatomical, ecological and phylogenetic evidence, with the erection of *Pseudocorynosoma* n. gen. *Journal of Parasitology*. 92 (3) 548-564 p.

Barba E. and A. J. Sánchez. 2007. A new record of *Hyaella azteca* Saussure, 1858 (amphipoda, hyalellidae) from the Lerma-Chapala basin, Mexican pacific coast. *Crustaceana* 80: 625-630 p.

Benesh D.P., Duclos L.M and Nickol B.B. 2005. The Behavioral response of amphipods harboring *Corynosoma constrictum* (ACANTHOCEPHALA) to various components of light. *Journal of Parasitology*, 91(4) 731-736 p.

Benesh D.P., Hasu T., Soumalainem L.R., Valtonen E.T. and Tirola M. 2006. Reability of mitochondrial DNA in an acanthocephalan: the problem of pseudogenes. *Journal of Parasitology*. 36: 247-254 p.

Broderson D., Canaris A.G. and Bristol J.R. 1977. Parasites of waterfowl from Southwest Texas: II. The shoveler, *Anas clypeata*. *Journal of Wildlife Diseases*. 13: 435-439 p.

Brooks D.R. and McLennan D.A. 1993. *Parascript: Parasites and the language of evolution*. Smithsonian Institution, Washington, D.C. 429 p.

Brown P.W., and Fredrickson L.H. 1986. Food habits of breeding white-winged scoters. *Canadian Journal of Zoology* 64:1652–1654 p.

Brusca R.C. and Brusca G.J. 2002. *Invertebrates*. Second Edition, Sinauer Associates, INC., Publisher, USA. 936 p.

Buscher H. N1965. Dynamics of the Intestinal Helminth Fauna in Three Species of Ducks. *The Journal of Wildlife Management*. 29 (4): 772-781 p.

Canaris A.G., Mena A.C. and Bristol J.R. 1981. Parasites of waterfowl from Southwest Texas. III. The green-winged teal. *Journal of Wildlife Diseases*. 17: 57-64 p.

Chomezynski P., Mackey K., Drews R., and Wilfinger W.1997. DNAzol: A Reagent for the Rapid Isolation of Genomic DNA. *Biotechniques* 22: 550-553 p.

Crichton V.F. and Welch H. E. 1972. Helminths from the digestive tracks of mallards and pintails in the delta Marsh, Manitoba. *Journal of Zoology*. 50 (5): 633-7 p.

Cruickshank H.R. 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic and Applied Acarology* 7: 3-14 p.

Duclos L., Danner M., Bradford J. and Nickol B.B. 2006. Virulence of *Corynosoma constrictum* (Acanthocephala: Polymorphidae) in *Hyalella azteca* (Amphipoda) throughout parasite ontogeny. *Journal of Parasitology*. 92 (4): 749-755 p.

Ewart M. J. and McLaughlin J. D. 1990. Helminths from spring and fall migrant bufflehead ducks (*Bucephala albeola*) at delta, Manitoba, Canada. *Canadian Journal of Zoology*. 68 (10): 2230-2233 p.

Farias J. D. and A. G. Canaris 1986. Gastrointestinal helminths of the Mexican duck, *Anas platyrhynchos diazi*, from north central México and Southwestern USA. *Journal of Wildlife Disease* 22: 51-54 p.

Folmer O., Black M., Hoen W. R. and Vrijen H. R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology of Biotechnology*. 3: 294-299 p.

García-Varela M., Cummings P.M., Pérez-Ponce de León G., Gardner S.L. and Laclette J.P. 2002. Phylogenetic analysis based on 18S Ribosomal RNA gene sequences support the existence of class polyacanthocephalan (acanthocephala). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 23: 288-292.

García-Varela M and Pérez-Ponce de León G. 2008. Validating the systematic position of *Proflicollis* Meyer, 1931 and *Hexaglandula* Petrochenko, 1950 (ACANTHOCEPHALA: POLYMORPHIDAE) using Citocromo oxidasa (COI). *Journal of Parasitology*. 94(1): 91-96.

Guillén-Hernández S., García-Varela M. and Pérez-Ponce de León G. 2008. First record of *Hexaglandula corynosoma* (Travassos, 1915) Petrochenko, 1958 (Acanthocephala: Polymorphidae) in intermediate and definitive hosts in Mexico. *Zootaxa*. *En prensa*.

Keithly J.S. 1968. Life history of *Corynosoma constrictum* Van Cleave (Acanthocephala; Polymorphidae) Ph. D. Thesis. Iowa State University, Ames, Iowa, p. 203

Kennedy C. R. 2006. Ecology of the Acanthocephala. Cambridge University Press, New York. 249 p.

Mayberry L. F., Canaris A. G., Bristol J. R. and Gardner S. L. 2000. Bibliography of parasites and vertebrate host in Arizona, New México and Texas (1883-1984). The world-wide-web 11 on the University of Nebraska Harold W. Manter Laboratory of Parasitology Web Server.

Near T.J., Garey J.R and Nadler S. A. 1998. Phylogenetic relationships of the Acanthocephala inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolutions*. 10: 287-298 p.

Nickol B.B. (1985). *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge: Cambridge University Press 307 p.

Podesta R.B. and Holmes J.C. 1970. The life cycles of three polymorphids (Acanthocephala) occurring as juveniles in *Hyalella azteca* (Amphipoda) at Cooking Lake, Alberta. *Journal of Parasitology*. 56: 1118-1123 p.

Petrochenko V. I. 1958. Acanthocephala of domestic and wild animals. Volumen II. Moscow: Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR, Vsesoyuznoe Obshchestvo Gel'mintologov, Moscow, Russia, 478 p. (In Russian).

Priebe M. 1952. Acanthocephalan parasites of waterbirds in Eastern Washington. *Transactions of the American Microscopical Society*. 71 (4): 347-349 p.

Reinecke K. J. and Owen R. B. 1980. Food use and nutrition of Black Ducks nesting in Maine. *Journal Wildlife Manage* 44: 549-558 p.

Schmith G. D. 1965. *Corynosoma bipapillum* sp. n. from Bonaparte's Gull *Larus Philadelphia* in Alaska, with a Note on *C. constrictum* Van Cleave, 1918. *Journal of Parasitology*. 51 (5): 814-816 p.

Schmith G. D. 1973. Resurrection of *Southwellina* Witenberg, 1932, with a description of *Southwellina dimorpha* sp. n., and a Key to Genera in Polymorphidae (Acanthocephala). *Journal of Parasitology*. 59 (2): 299-305 p.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2006. Proyecto para la conservación, manejo y aprovechamiento sustentable de las Aves Acuáticas y su hábitat en México. Serie: Proyecto de Recuperación de Especies Prioritarias. 1-53

Steinauer M.L., Parham J. E. and Nickol B.B. 2007. Cryptic speciation and patterns of phenotypic variation of a highly variable acanthocephalan parasite. *Molecular Ecology* 16(19): 4097-109 p.

Swofford D. L. 2002. PAUP 4.0b10. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Turner B.C. and Threlfall W. 1975. The metazoan parasites of green-winged teal (*Anas crecca* L.) and blue-winged teal (*Anas discors* L.) from eastern Canada. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 42: 157-169 p.

Van Cleave J. H. 1918. The acanthocephala of North American birds. *Transactions of the American of Microscopical Society*. 37 (1): 20-47 p.

Van Cleave J. H. and Starret W. 1940. The acanthocephalan of wild ducks in Central Illinois, with descriptions of two new species. *Transactions of the American Microscopical Society*. 59 (3): 348-353 p.

Van Cleave J. H. 1945. The Acanthocephalan genus *Corynosoma*. The species found in waters birds of North America. *Journal of Parasitology*. 31 (5) 332-340 p.

Yamaguti S. 1963. Systema helminthum. Vol. V, Acanthocephala. Interscience Publishers, New York, New York, 423 p.

Wilkinson J.N., Canaris A.G. and Broderson D. 1977. Parasites of waterfowl from Southwest Texas: II. The shoveler *Anas clypeata*. *Journal of Wildlife Diseases*. 13: 62-63 p.

IX. Apéndice

IX. Alineamiento

P.const_Astrepara	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTGTGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_Aclypeata	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_Adiazi	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_Aamericana	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_Acrecca	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_AclypeataEdo	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.const_Acyanoptera	GTTTATGTAT	GTTTTAGTAA	GGGTATGGAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGAT
P.const_Aaffinis	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTGGGT
P.anatarium_Dura	TTTTATATAT	GTTTTGGTTA	GGGTATGGAG	GGGTATAATG	GTTTTCGGTT
P.const_Astrepara	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aclypeata	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Adiazi	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aamericana	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAA	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Acrecca	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_AclypeataEdo	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Acyanoptera	TAAGTATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aaffinis	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.anatarium_Dura	TAAGGATAAT	TATTCGGTTG	GAGTTGGGTG	GAGGAGGGCA	ATGGTTAGGG
P.const_Astrepara	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Aclypeata	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Adiazi	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Aamericana	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Acrecca	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_AclypeataEdo	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Acyanoptera	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGCT
P.const_Aaffinis	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.anatarium_Dura	GATGAGTATT	TGTATAATTT	GATTGTTACT	AGCCATGGGG	TAATAATGTT
P.const_Astrepara	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Aclypeata	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Adiazi	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGCT	AATTGATTGA
P.const_Aamericana	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Acrecca	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_AclypeataEdo	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Acyanoptera	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTGA
P.const_Aaffinis	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.anatarium_Dura	ATTCCTTTTG	GTGATACCTA	TGTTTATAGG	GGGTTTGGG	AATTGGCTAA
P.const_Astrepara	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aclypeata	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Adiazi	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aamericana	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Acrecca	TCCTGTAAAT	ATTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_AclypeataEdo	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Acyanoptera	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aaffinis	TCCTGTAAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.anatarium_Dura	TCCTGTGAT	ATTAGGGCTG	GAGGATATGT	TATTGCCCCG	GTTAATAAAT
P.const_Astrepara	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aclypeata	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Adiazi	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aamericana	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	CTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Acrecca	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_AclypeataEdo	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Acyanoptera	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aaffinis	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.anatarium_Dura	TTAAGGTTTT	TAATAGTACC	TATGGCATTG	TTTATGTTTT	GTATGTCTAT
P.const_Astrepara	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Aclypeata	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Adiazi	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Aamericana	GTTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT

P.const_Acrecca	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_AclypeataEdo	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Acyanoptera	AGTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCATTAATTT
P.const_Aaffinis	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.anatarium_Dura	AGTGGTGAAA	GGTAGAGCTG	GGGGTTGGAC	AATATATCCA	CCATTAATTT

P.const_Astrepara	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Aclypeata	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Adiazi	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Aamericana	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Acrecca	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_AclypeataEdo	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Acyanoptera	TGAGAGATTA	TAGAACTAGT	TTTTCTGTGG	ATTTAATGAT	TTTAAGTCTT
P.const_Aaffinis	TGAGGGATTA	TAGAACTAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATGAT	TTTAAGTCTT
P.anatarium_Dura	TGGGGGATTA	TAGATCCAGG	TTTTCTGTGG	ATTTGATAAT	TTTAAGACTC

P.const_Astrepara	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.const_Aclypeata	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.const_Adiazi	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGT	TCAATTAACA	TTGTAGTGAC
P.const_Aamericana	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.const_Acrecca	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAACA	TTGTAGTGAC
P.const_AclypeataEdo	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.const_Acyanoptera	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.const_Aaffinis	CATGTTGCTG	GATTATCTTC	ATTATTGGGC	TCAATTAATA	TTGTAGTGAC
P.anatarium_Dura	CATGTGGCAG	GTTGTCTTC	TTTGTGGGT	TCTATTAATA	TTGTAGTTAC

P.const_Astrepara	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Aclypeata	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Adiazi	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Aamericana	AAGGGTAGCG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Acrecca	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_AclypeataEdo	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Acyanoptera	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGGAG	GGTTGAGCGG	GTACCTTTAT
P.const_Aaffinis	AAGGGTAGTG	GCTACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTTGAGCGG	GCACCTTTAT
P.anatarium_Dura	TAGGGTGGTA	GCCACTAAGG	CTATAGGAAG	GGTGGAGCGA	GTACCTTTGT

P.const_Astrepara	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACCGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_Aclypeata	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACCGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_Adiazi	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACTGCAGTTT	TCGTATTGTT	AACTATTGTT
P.const_Aamericana	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACCGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_Acrecca	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACTGCAGTTC	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_AclypeataEdo	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACCGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_Acyanoptera	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACTGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.const_Aaffinis	TGGTTTGGTC	TTTAATAAAT	ACCGCAGTTT	TGGTATTGTT	AACTATTCCCT
P.anatarium_Dura	TAGTGTGGTC	TTTAATGATT	ACTGCTGTTT	TAGTTTTGTT	AACTATTCCCT

P.const_Astrepara	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Aclypeata	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Adiazi	GTGTTGGCAG	CAGCTTCAAG	CATGTTGTTG	TTATATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Aamericana	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Acrecca	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_AclypeataEdo	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Acyanoptera	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTAGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.const_Aaffinis	GTGTTGGCAG	CAGCTTTAAC	AATGTTATTG	TTGGATCGTA	ATTTTAGGAC
P.anatarium_Dura	GTATTGGCGG	CAGCTTTAAC	TATGTTGTTG	CTGGATCGTA	ATTTTAGGAC

P.const_Astrepara	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Aclypeata	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Adiazi	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Aamericana	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Acrecca	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_AclypeataEdo	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Acyanoptera	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.const_Aaffinis	AAGGTTTTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGTAG	GCCTTTATTG	TATCAGCATT
P.anatarium_Dura	AAGTTTTCTTT	GATCCTGTGG	GGGGAGGGAG	TCCTTTGTTA	TATCAGCATT

P.const_Astrepara	TGTTTT
P.const_Aclypeata	TGTTTT
P.const_Adiazi	TGTTTT
P.const_Aamericana	TGTTTT

P.const_Acrecca	TGTTT
P.const_AclypeataEdo	TGTTT
P.const_Acyanoptera	TGTTT
P.const_Aaffinis	TGTTT
P.anatarium_Dura	TATTT

IX. Apéndice

IX. Alineamiento

P.const_Astrepara	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTGTGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_Aclypeata	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_Adiazi	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_Aamericana	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_Acrecca	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_AclypeataEdo	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.const_Acyanoptera	GTTTATGTAT	GTTTTAGTAA	GGGTATGGAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGAT
P.const_Aaffinis	GTTTATGTAT	GTTTTGGTAA	GGGTATGAAG	GGGTGTGGTG	GGGTTTGGGT
P.anatarium_Dura	TTTTATATAT	GTTTTGGTTA	GGGTATGGAG	GGGTATAATG	GGTTTCGGTT
P.const_Astrepara	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aclypeata	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Adiazi	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aamericana	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAA	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Acrecca	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_AclypeataEdo	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Acyanoptera	TAAGTATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.const_Aaffinis	TAAGCATAAT	TATTCGTATG	GAGTTAGGAG	CAGGTGGGCA	GTGGTTGGGG
P.anatarium_Dura	TAAGGATAAT	TATTCGGTTG	GAGTTGGGTG	GAGGAGGGCA	ATGTTTAGGG
P.const_Astrepara	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Aclypeata	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Adiazi	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Aamericana	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Acrecca	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_AclypeataEdo	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.const_Acyanoptera	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGCT
P.const_Aaffinis	GATGAGTATT	TATATAATTT	GATTGTTACT	AGACATGGTG	TAATAATGTT
P.anatarium_Dura	GATGAGTATT	TGTATAATTT	GATTGTTACT	AGCCATGGGG	TAATAATGTT
P.const_Astrepara	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Aclypeata	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Adiazi	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGCT	AATTGATTGA
P.const_Aamericana	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Acrecca	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_AclypeataEdo	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.const_Acyanoptera	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATGGG	GGGATTTGGC	AATTGACTGA
P.const_Aaffinis	ATTTTTCTTA	GTGATGCCTA	TATTTATAGG	GGGATTTGGC	AATTGACTTA
P.anatarium_Dura	ATTCCTTTTG	GTGATACCTA	TGTTTATAGG	GGGTTTGGG	AATTGGCTAA
P.const_Astrepara	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aclypeata	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Adiazi	TCCCTGTAAT	ATTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aamericana	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Acrecca	TCCCTGTAAT	ATTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_AclypeataEdo	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Acyanoptera	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.const_Aaffinis	TCCCTGTAAT	ACTAGGATTG	GAGGATATAC	TTTTACCTCG	TTTGAATAAT
P.anatarium_Dura	TCCCTGTGAT	ATTAGGGCTG	GAGGATATGT	TATTGCCCCG	GTTAATAAT
P.const_Astrepara	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aclypeata	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Adiazi	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aamericana	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	CTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Acrecca	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_AclypeataEdo	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Acyanoptera	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTCATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.const_Aaffinis	TTGAGGTTTT	TAATAGTCCC	TTTAGCTTTG	TTTATGTTTT	GTGTGTCTAT
P.anatarium_Dura	TTAAGGTTTT	TAATAGTACC	TATGGCATTG	TTTATGTTTT	GTATGTCTAT
P.const_Astrepara	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Aclypeata	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT
P.const_Adiazi	ATTGGTAAAA	GGAGGGGCTG	GGGGTTGGAC	TATGTATCCC	CCGTTAATTT

P.const_Aamericana GTTGGTAAAA GGAGGGGCTG GGGGTTGGAC TATGTATCCC CCGTTAATTT
P.const_Acrecca ATTGGTAAAA GGAGGGGCTG GGGGTTGGAC TATGTATCCC CCGTTAATTT
P.const_AclypeataEdo ATTGGTAAAA GGAGGGGCTG GGGGTTGGAC TATGTATCCC CCGTTAATTT
P.const_Acyanoptera AGTGGTAAAA GGAGGGGCTG GGGGTTGGAC TATGTATCCC CCATTAATTT
P.const_Aaffinis ATTGGTAAAA GGAGGGGCTG GGGGTTGGAC TATGTATCCC CCGTTAATTT
P.anatarium_Dura AGTGGTGAAA GGTAGAGCTG GGGGTTGGAC AATATATCCA CCATTAATTT

P.const_Astrepara TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Aclypeata TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Adiazi TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Aamericana TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Acrecca TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_AclypeataEdo TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Acyanoptera TGAGAGATTA TAGAACTAGT TTTTCTGTGG ATTTAATGAT TTTAAGTCTT
P.const_Aaffinis TGAGGGATTA TAGAACTAGG TTTTCTGTGG ATTTGATGAT TTTAAGTCTT
P.anatarium_Dura TGGGGGATTA TAGATCCAGG TTTTCTGTGG ATTTGATAAT TTTAAGACTC

P.const_Astrepara CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.const_Aclypeata CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.const_Adiazi CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGT TCAATTAACA TTGTAGTGAC
P.const_Aamericana CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.const_Acrecca CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAACA TTGTAGTGAC
P.const_AclypeataEdo CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.const_Acyanoptera CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.const_Aaffinis CATGTTGCTG GATTATCTTC ATTATTGGGC TCAATTAATA TTGTAGTGAC
P.anatarium_Dura CATGTGGCAG GGTGTCTTC TTTGTTGGGT TCTATTAATA TTGTAGTTAC

P.const_Astrepara AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Aclypeata AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Adiazi AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Aamericana AAGGGTAGCG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Acrecca AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_AclypeataEdo AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Acyanoptera AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAG GGTGAGCGG GTACCTTTAT
P.const_Aaffinis AAGGGTAGTG GCTACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGG GCACCTTTAT
P.anatarium_Dura TAGGGTGGTA CCCACTAAGG CTATAGGAAG GGTGAGCGA GTACCTTTGT

P.const_Astrepara TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACCGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_Aclypeata TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACCGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_Adiazi TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACTGCAGTTT TCGTATTGTT AACTATTGTT
P.const_Aamericana TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACCGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_Acrecca TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACTGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_AclypeataEdo TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACCGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_Acyanoptera TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACTGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.const_Aaffinis TGGTTTGGTC TTTAATAAAT ACCGCAGTTT TGGTATTGTT AACTATTCCCT
P.anatarium_Dura TAGTGTGGTC TTTAATGATT ACTGCTGTTT TAGTTTGGTT AACTATTCCCT

P.const_Astrepara GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTATTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Aclypeata GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTATTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Adiazi GTGTTGGCAG CAGCTTCAAG CATGTTGTTG TTATATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Aamericana GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTATTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Acrecca GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTATTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_AclypeataEdo GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTATTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Acyanoptera GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTGTTG TTGATCGTA ATTTTAGGAC
P.const_Aaffinis GTGTTGGCAG CAGCTTTAAC AATGTTGTTG TTGGATCGTA ATTTTAGGAC
P.anatarium_Dura GTATTGGCGG CAGCTTTAAC TATGTTGTTG CTGGATCGTA ATTTTAGGAC

P.const_Astrepara AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Aclypeata AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Adiazi AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Aamericana AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Acrecca AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_AclypeataEdo AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Acyanoptera AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.const_Aaffinis AAGGTTTTTT GATCCTGTGG GGGGAGGTAG GCCTTTATTG TATCAGCATT
P.anatarium_Dura AAGTTTCTTT GATCCTGTGG GGGGAGGGAG TCCTTTGTTA TATCAGCATT

P.const_Astrepara TGTTT
P.const_Aclypeata TGTTT
P.const_Adiazi TGTTT

P.const_Aamericana	TGTTT
P.const_Acrecca	TGTTT
P.const_AclypeataEdo	TGTTT
P.const_Acyanoptera	TGTTT
P.const_Aaffinis	TGTTT
P.anatarium_Dura	TATTT